Copyright 1944 by: Schweizerische chemische Gesellschaft, Basel — Société suisse de Chimie, Bâle — Società svizzera di chimica, Basilea. Nachdruck verboten. — Tous droits réservés. — Printed in Switzerland.

25. Über Thiophanverbindungen V[1])

von **P. Karrer, R. Keller** und **E. Usteri.**

(21. XII. 43.)

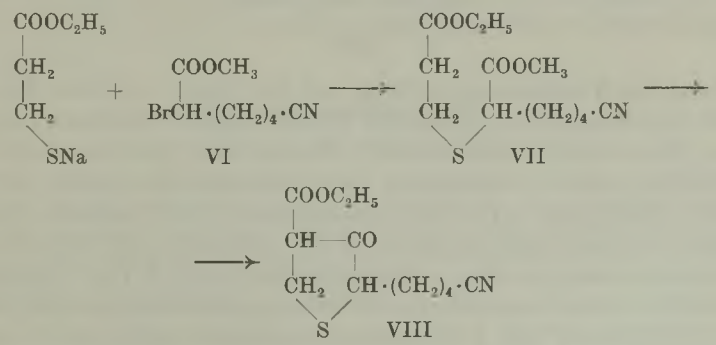
In dieser Abhandlung werden eine Reihe von Thiophanderivaten beschrieben, die in 2-Stellung die Seitenkette $-(CH_2)_4CN$ oder $-(CH_2)_4COOH$ enthalten.

Aus 1-Brom-4-cyan-butan[2]) (I) und Natriummalonester wurde der ω-Cyan-butyl-malonester (II) und aus diesem durch Verseifung die ω-Cyan-butyl-malonsäure (III) dargestellt. Die Bromierung dieser Substanz führte zur 1-Brom-5-cyan-pentandicarbonsäure-(1,1) (IV), die durch Destillation in die α-Brom-ω-cyan-capronsäure (V) überging. Für die weiteren Umsetzungen wurde aus letzterer der Methylester (VI) hergestellt.

$$\underset{\text{I}}{NC\cdot(CH_2)_4\cdot Br} \rightarrow \underset{\text{II}}{NC\cdot(CH_2)_4\cdot CH(COOC_2H_5)_2} \rightarrow \underset{\text{III}}{NC\cdot(CH_2)_4\cdot CH(COOH)_2} \rightarrow$$

$$\rightarrow \underset{\text{IV}}{NC\cdot(CH_2)_4\cdot CBr(COOH)_2} \rightarrow \underset{\text{V}}{NC\cdot(CH_2)_4\cdot CHBr\cdot COOH} \rightarrow \underset{\text{VI}}{NC\cdot(CH_2)_4\cdot CHBr\cdot COOCH_3}$$

Den α-Brom-ω-cyan-capronsäure-methylester (VI) kondensierte man mit dem Natriumsalz des β-Mercapto-propionsäure-äthylesters zum [β-Carbäthoxy-äthyl]-[α'-carbmethoxy-ω'-cyan-n-amyl]-sulfid (VII), das sich durch Einwirkung von Natriumalkoholat in den 2-[ω-Cyanbutyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylester (VIII) überführen liess.

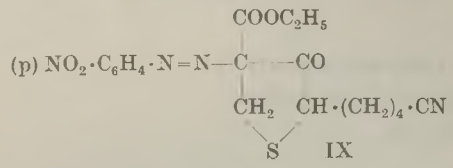


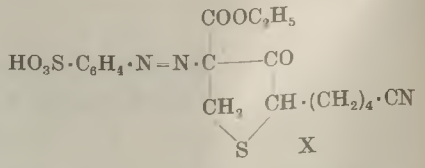
Die Verbindung lässt sich mit p-Nitrophenyldiazoniumchlorid und mit diazotierter Sulfanilsäure zu Azofarbstoffen kuppeln (For-

[1]) IV. Mitteil., vgl. Helv. **27**, 142 (1944).

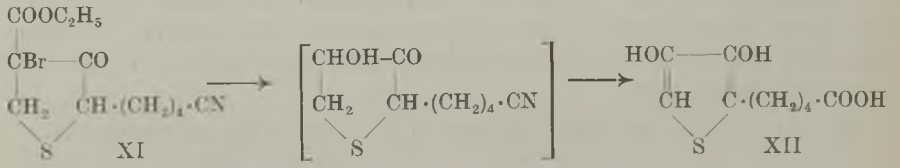
[2]) *Cloke* und *Ayers*, Am. Soc. **56**, 2144 (1934); *Allen*, Org. Synth. **8**, 52 (1928).

meln IX und X), die indessen nicht zum Aminoderivat der Thiophanonverbindung reduziert werden konnten.



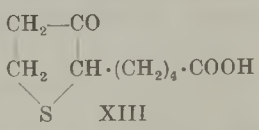


Bei der Einwirkung von Brom auf den 2-[ω-Cyanbutyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylester (VIII) bildet sich ein unbeständiges Monobromderivat (XI), das beim Kochen mit verdünnter Mineralsäure allmählich verseift und durch den Luftsauerstoff oxydiert wird und dabei in das 2-[ω-Carboxybutyl]-3,4-dioxy-thiophen (XII) übergeht.



Das Dioxy-thiophenderivat XII gibt mit Eisen(III)-chlorid nach Art der Phenole Blaufärbung.

Beim Kochen des 2-[ω-Cyanbutyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylesters (VIII) mit einer Mischung von verdünnter Schwefelsäure und Eisessig wurde er verseift und decarboxyliert und in das 2-[ω-Carboxybutyl]-thiophanon-3 (XIII) übergeführt.



Dieselbe Verbindung stellten wir auf einem zweiten Wege her, der für die Herstellung grösserer Mengen dieser Substanz geeigneter ist. ω-Brom-valeriansäure-ester[1]) wurde mit Natrium-malonsäure-diäthylester zum α-Carbäthoxy-pimelinsäure-diäthylester XIV kondensiert, dieser zur α-Carboxy-pimelinsäure (XV) verseift, diese zur α-Brom-α-carboxy-pimelinsäure (XVI) bromiert und letztere durch Decarboxylierung in die α-Brompimelinsäure (XVII) übergeführt. Den Diäthylester dieser Säure (XVIII) kondensierten wir hierauf mit dem Natriumsalz des β-Mercapto-propionsäure-äthylesters zum [β-Carbäthoxy-äthyl]-[α', ε'-dicarbäthoxy-amyl]-sulfid (XIX) und führten mit diesem die Esterkondensation zum 2-[ω-Carbäthoxy-butyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylester (XX) aus, der durch saure

[1]) *H. Hunsdiecker*, B. **75**, 291 (1942).

Ketonspaltung in das 2-[δ-Carboxy-butyl]-thiophanon-3 (XIII) überging. Dieses erwies sich mit dem nach der oben beschriebenen Methode dargestellten Präparat identisch.

$$Br\cdot(CH_2)_4\cdot COOC_2H_5 \rightarrow (H_5C_2OOC)_2CH\cdot(CH_2)_4\cdot COOC_2H_5 \rightarrow (HOOC)_2CH\cdot(CH_2)_4\cdot COOH$$

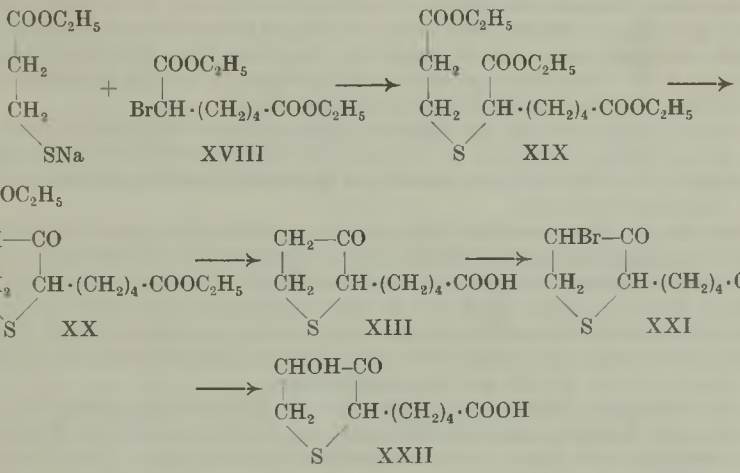
XIV XV

$$\rightarrow (HOOC)_2CBr\cdot(CH_2)_4\cdot COOH \rightarrow HOOC\cdot CHBr\cdot(CH_2)_4\cdot COOH \rightarrow$$

XVI XVII

$$\rightarrow C_2H_5OOC\cdot CHBr\cdot(CH_2)_4\cdot COOC_2H_5$$

XVIII



Endlich wurde das 2-[δ-Carboxy-butyl]-thiophanon-3 (XIII) zum 2-[δ-Carboxy-butyl]-4-brom-thiophanon-3 bromiert (XXI) und dieses, ohne vorgängige Isolierung, in das 2-[δ-Carboxy-butyl]-4-oxy-thiophanon-3 (XXII) übergeführt. Über weitere Umsetzungen mit der letztgenannten Verbindung wird in einer folgenden Abhandlung berichtet werden.

Experimenteller Teil.

ω-Cyan-butyl-malonester (Formel II).

Als Ausgangsmaterial diente das 1-Brom-4-cyanbutan[1]). Zu einer alkoholischen Suspension des Natriummalonesters, der aus 1,42 g Natrium, gelöst in 30 cm³ absolutem Alkohol und 10 g frisch destilliertem Malonsäure-diäthylester hergestellt worden war, wurden 2 g δ-Bromvaleronitril zugetropft und die Reaktion durch Erwärmen auf 50° in Gang gebracht. Hierauf liess man weitere 8 g δ-Brom-valeronitril allmählich zutropfen und kochte schliesslich das Reaktionsgemisch 6 Stunden am Rückflusskühler. Nach dieser Zeit war die Lösung annähernd neutral geworden (p_H = 7—8). Das ausgeschiedene Natriumbromid wurde abfiltriert und aus der Lösung der Alkohol durch Eindampfen im Vakuum entfernt. Den öligen Rückstand versetzte man hierauf mit der dreifachen Menge Äther, trennte den Ätherextrakt ab, wusch ihn mehrmals mit kleinen Mengen Wasser, trocknete über Calciumchlorid und verdampfte schliesslich das Lösungsmittel.

[1]) Am. Soc. **56**, 2144 (1934); Org. Synth. **8**, 52 (1928).

Bei der Destillation des Rückstandes erhielt man folgende Fraktionen:

Vorlauf: bis 100°, 11 mm Druck, vermutlich z. T. aus Malonester bestehend.

Mittellauf: Sdp. 127—129° bei 0,01 mm Druck, Ausbeute: 8 g.

Rückstand: teilweise bei ca. 200° im Hochvakuum destillierend, z. T. krystallin erstarrend.

Die Mittelfraktion besteht aus dem ω-Cyan-butyl-malonsäure-diäthylester. Ausbeute: 56—59% der Theorie (auf eingesetztes Brom-valeronitril berechnet).

$C_{12}H_{19}O_4N$	Ber. C 59,75	H 7,95	N 5,81%
(241,16)	Gef. „ 59,70	„ 8,04	„ 6,00%

ω-Cyan-butyl-malonsäure (Formel III).

Zu einer Mischung von 54,5 g ω-Cyan-butyl-malonsäure-diäthylester und 9 cm³ Alkohol gab man in Anteilen die Lösung von 30 g Kaliumhydroxyd in 25 cm³ Wasser und schüttelte gut durch. Alsbald setzte die Verseifung unter Erwärmung ein. Durch Kühlen wurde die Temperatur unterhalb +45° gehalten; schliesslich liess man die Reaktionsmischung 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen.

Hierauf extrahierten wir die alkalische Reaktionsmasse im Scheidetrichter dreimal mit je 50 cm³ Äther, trockneten die Extrakte mit Natriumsulfat und verdampften das Lösungsmittel. Es blieb sehr wenig eines öligen Rückstandes zurück, der sich unter 11 mm Druck nicht destillieren liess.

Der von den Äther-löslichen Nebenprodukten befreite Rückstand, der das Kaliumsalz der Cyan-butyl-malonsäure enthielt, wurde unter sehr guter Kühlung durch allmähliche Zugabe von konz. Salzsäure zersetzt. Nachdem die Flüssigkeit saure Reaktion angenommen hatte ($p_H = 2$), schied sich die freie ω-Cyan-butyl-malonsäure als Öl ab. Sie wurde durch 6malige Extraktion mit je 50 cm³ Äther ausgezogen. Durch Extraktion der etwas verdünnten wässerigen Phase mit Äther im Extraktionsapparat liessen sich noch weitere geringe Anteile der Säure extrahieren.

Die vereinigten Ätherauszüge haben wir mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Nachdem man den Rückstand zur Entfernung geringer Mengen flüchtiger Anteile eine halbe Stunde auf dem siedenden Wasserbad unter 11 mm Druck erhitzt hatte, erstarrte er beim Abkühlen und Kratzen. Die Krystallmasse wurde nach dem Zerreiben in kochendem Äther gelöst und die Ätherlösung eingeengt, worauf die ω-Cyan-butyl-malonsäure in farblosen Krystallen vom Smp. 116° auskrystallisierte.

Ausbeute bei verschiedenen Ansätzen: 90—93%.

$C_8H_{11}O_4N$	Ber. C 51,89	H 5,94	N 7,56%
(185,10)	Gef. „ 51,93	„ 6,10	„ 7,73%

1-Brom-5-cyan-pentandicarbonsäure-(1,1) (Formel IV).

13,5 g ω-Cyan-butyl-malonsäure wurden in 400 cm³ absolutem Äther in der Wärme gelöst, die Lösung in einen mit Kühler und Rührwerk versehenen Dreihalskolben von 500 cm³ filtriert, 200 cm³ des Lösungsmittels wegdestilliert und hierauf 50 cm³ Tetrachlorkohlenstoff zugesetzt. Dann liess man im Verlaufe von 45 Minuten bei 20° unter Rühren und Belichten eine Lösung von 3,9 cm³ Brom in 10 cm³ Tetrachlorkohlenstoff zutropfen. Das Brom wurde an der Eintropfstelle sogleich unter Entfärbung gebunden. Erst am Ende der Zugabe der Bromlösung trat eine schwache Rotgelbfärbung auf, die einen leichten Bromüberschuss anzeigte.

Der Äther wurde abdestilliert, das verbleibende Öl erneut dreimal mit Äther aufgenommen und das Lösungsmittel jeweilen wieder abgedampft. Die zurückgebliebene 1-Brom-5-cyan-pentan-dicarbonsäure-(1,1) konnte nicht krystallisiert werden. Sie wurde im Rohzustand direkt in die α-Brom-ω-cyan-capronsäure übergeführt.

α-Brom-ω-cyan-capronsäure (Formel V).

Zur Decarboxylierung haben wir die vorbeschriebene Dicarbonsäure 7 Stunden unter Wasserstrahlpumpen-Vakuum auf dem siedenden Wasserbad gehalten. Am Schlusse

hatte die anfangs kräftige Kohlendioxyd-Entwicklung vollständig aufgehört. Der Rückstand hatte dunkle Farbe angenommen. Nach dem Erkalten liess sich durch Zugabe der 15fachen Menge Äther ein grosser Teil der braunen Nebenprodukte abscheiden, die sich beim Schütteln der Lösung an der Gefässwand festsetzten.

Die filtrierte Ätherlösung der Monocarbonsäure haben wir eingeengt. Die α-Brom-ω-cyan-capronsäure konnte nicht krystallisiert erhalten werden und bei der Hochvakuumdestillation zersetzte sich ein erheblicher Anteil. Deshalb haben wir aus dem Rohprodukt direkt den Methylester dargestellt.

α-Brom-ω-cyan-capronsäure-methylester (Formel VI).

Die Veresterung erfolgte durch Zugabe einer ätherischen Diazomethanlösung zur ätherischen Lösung der Säure bei 0°. Nach ca. 2 Stunden wurden überschüssiges Diazomethan und das Lösungsmittel abdestilliert und der ölige Rückstand im Vakuum fraktioniert. Der α-Brom-ω-cyan-capronsäure-methylester destillierte bei 114—116° unter 0,02 mm Druck, wurde aber nicht ganz rein erhalten, indem der Bromgehalt etwas tief und der Kohlenstoffwert dementsprechend etwas hoch ausfielen.

$C_8H_{12}O_2NBr$	Ber. C 41,02	H 5,17	N 5,98	Br 34,15%
(234,02)	Gef. „ 41,96	„ 5,28	„ 6,25	„ 32,00%

[β-Carbäthoxy-äthyl]-[α′-carbmethoxy-ω′-cyan-n-amyl]-sulfid (Formel VII).

Zu einer Natriumäthylatlösung, die aus 3,98 g Natrium und 80 cm³ absolutem Alkohol bereitet worden war, wurden bei 0° 25,5 g β-Mercapto-propionsäure-äthylester zugetropft. Hierauf gab man unter Schütteln und Kühlen mit Eis-Kochsalz-Mischung 38 g α-Brom-ω-cyan-capronsäure-methylester in Anteilen während ca. 40 Minuten hinzu. Es erfolgte sogleich Ausscheidung von Natriumbromid. Nachdem das Reaktionsgemisch eine Stunde in der Kälte und hierauf 2 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatte, wurde es eine halbe Stunde auf dem Wasserbad gekocht.

Nach dem Erkalten nutschte man das ausgefallene Natriumbromid ab und engte die alkoholische Lösung im Vakuum stark ein. Hierauf nahm man den öligen Rückstand mit Äther auf. Das ungelöste Natriumbromid wurde in wenig Wasser gelöst und mit dieser Lösung die Ätherphase gewaschen. Diese wurde hierauf mit Natriumbicarbonatlösung, dann mit Wasser mehrmals ausgeschüttelt, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand gab bei der Hochvakuumdestillation folgende Fraktionen:

Vorlauf: bis ca. 120° bei 0,01—0,02 mm Druck.

Hauptfraktion: Sdp. 162—165°, schwach gelbstichiges Öl.

Die Hauptfraktion ist das [β-Carbäthoxy-äthyl]-[α′-carbmethoxy-ω′-cyan-n-amyl]-sulfid. Ausbeute 78% der Theorie.

$C_{13}H_{21}O_4NS$	Ber. C 54,31	H 7,37	N 4,87	S 11,16%
(287,23)	Gef. „ 54,50	„ 7,35	„ 4,92	„ 10,50%

2-[ω-Cyan-butyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylester (Formel VIII).

5,85 g (2 Äquivalente) Natrium wurden unter heissem Xylol fein zerteilt, hierauf das Xylol durch 100 cm³ Toluol ersetzt und zu dieser Mischung im Laufe einer Stunde unter gelegentlichem Umschütteln 14,1 cm³ Äthylalkohol (2 Äquivalente) unter Feuchtigkeits- und Kohlendioxyd-Ausschluss zugegeben. Die Reaktionsmischung blieb dann 14 Stunden stehen.

Das so dargestellte amorphe Natriumäthylat haben wir in einen Dreihalskolben übergeführt und hierauf unter Ausschluss von Feuchtigkeit und Kohlendioxyd und unter Rühren die Lösung von 36 g [β-Carbäthoxy-äthyl]-[α′-carbmethoxy-ω′-n-amyl]-sulfid, gelöst in 50 cm³ Toluol, im Verlaufe einer Stunde bei 35° zugetropft. Nachher rührt man bei 45° das Reaktionsgemisch 6 Stunden weiter. Es färbte sich dabei allmählich braun. Gleichzeitig ging das Natriumäthylat in Lösung und das Natriumsalz der Enolform des gebildeten Thiophanonderivates schied sich als ein in Toluol unlösliches Öl ab.

Die Reaktionsmischung wurde auf 200 g Eis-Wasser gegossen, dem 30 cm³ Eisessig zugesetzt worden waren, und die Toluolphase nach dem Durchschütteln von der wässerigen Schicht getrennt.

Den Toluolauszug haben wir zur Entfernung saurer Bestandteile mit Natriumbicarbonatlösung, hierauf mit Wasser gewaschen, getrocknet und das Toluol im Vakuum entfernt. Der Rückstand ergab bei der Destillation im Hochvakuum aus einer Kugelröhre 24 g eines kaum gefärbten Öles vom Sdp. 153—155° (Luftbadtemperatur) bei 0,01—0,02 mm Druck. Vor- und Nachlauf waren sehr gering. Ausbeute 74% der Theorie. Die Verbindung ist der 2-[ω-Cyan-butyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylester.

$C_{12}H_{17}O_3NS$	Ber. C 56,46	H 6,74	N 5,49	S 12,57%
(255,2)	Gef. „ 56,35	„ 6,54	„ 5,81	„ 12,05%

Aus der wässerig-essigsauren Schicht liess sich nach der Neutralisation mit Natriumbicarbonat und Ausziehen mit Äther eine kleine Menge (2 g) derselben Verbindung isolieren.

2-[ω-Carboxy-butyl]-3,4-dioxy-thiophen (Formel XII).

4 g des 2-[ω-Cyan-butyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylesters (VIII) wurden in 40 cm³ trockenem Tetrachlorkohlenstoff gelöst und zu der in einem mit Calciumchloridrohr verschlossenen Dreihalskolben befindlichen Flüssigkeit unter Rühren im Laufe von 60 Minuten bei 0° eine Lösung von 2,6 g Brom (4% Überschuss) in 25 cm³ Tetrachlorkohlenstoff zugetropft. Die Entfärbung des Broms erfolgte im Ausmass des Zutropfens. Die Lösung färbte sich rötlich und trübte sich durch Ausscheidung zähflüssiger rötlicher Anteile (A), die sich an der Gefässwand absetzten.

Hierauf haben wir die Tetrachlorkohlenstofflösung von den unlöslichen Anteilen (A) abgegossen und das Lösungsmittel im Vakuum bei 20° entfernt. Der Eindampfungsrückstand (B) und die vorher ausgefallenen Anteile (A) wurden getrennt mit Wasser sorgfältig durchgerührt und 2 Stunden stehen gelassen. Dabei ging die ursprünglich rotbraune Farbe der Niederschläge in gelb über. Durch Ausschütteln mit Äther liess sich die Hauptmenge der Reaktionsprodukte in diesen überführen.

Die Ätherlösungen von A und B wurden hierauf vereinigt, durch 5maliges Ausschütteln mit je 3 cm³ Natriumbicarbonatlösung in saure (C) und neutrale Anteile (D) getrennt. Die Bicarbonatlösung liessen wir sogleich in verdünnte Schwefelsäure einfliessen und nahmen das ausgeschiedene Öl in Äther auf. Nach dem Abdestillieren des Äthers blieben 20 mg einer krystallisierten Substanz zurück, die etwa 7% Brom enthielt.

Die mit Bicarbonat nicht extrahierbaren Anteile (D) betrugen 3,6 g. Sie wurden mit 130 cm³ einer Mischung, die 45 Vol.% Wasser, 45 Vol.% Alkohol und 10 Vol.% Schwefelsäure enthielt, während 6 Stunden gekocht. Hierauf engte man die Flüssigkeit auf das halbe Volumen ein, neutralisierte den grösseren Teil der Schwefelsäure mit Soda, zog mit Äther aus und trennte die in die Ätherschicht gegangenen Anteile durch Ausschütteln mit wässeriger Natriumbicarbonatlösung in eine saure und neutrale Fraktion.

Die in Bicarbonat gegangenen sauren Anteile, die beim Ansäuern ausfielen, bildeten ein braunes Öl. Es wurde mit Wasser ausgekocht und die Lösung heiss filtriert. Dabei blieben die braunen öligen Anteile auf dem Filter zurück und aus dem Filtrat krystallisierte beim Abkühlen eine Verbindung, die nach dem Umkrystallisieren aus Wasser farblose Krystalle vom Smp. 183° bildete. Sie gab mit Eisen(III)-chlorid tiefblaue Färbung. Ausbeute 0,15 g. Die Verbindung ist das 2-[ω-Carboxy-butyl]-3,4-dioxy-thiophen.

$C_9H_{12}O_4S$	Ber. C 50,0	H 5,54%
(216,1)	Gef. „ 50,3	„ 5,48%

Die aus der sauren Hydrolyse zurückgewonnenen neutralen Anteile, die immer noch die Hauptmenge der eingesetzten Substanz bildeten, wurden noch zweimal in gleicher Weise in der Hitze weiter hydrolysiert. Dabei konnten weitere 0,2 g des vorgenannten Thiophen-Derivates isoliert werden.

2-[δ-Carboxy-butyl]-thiophanon-3 (Formel XIII).

1 Teil 2-[ω-Cyan-butyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylester (Formel VIII) wurde mit der 7fachen Gewichtsmenge eines Gemisches, das aus 42,5 Vol.% Wasser, 42,5 Vol.% Eisessig und 15 Vol.% konz. Schwefelsäure bestand, 8 Stunden gekocht. Nachher blieb die Lösung noch einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen und wurde, nachdem man die Schwefelsäure und einen Teil der Essigsäure durch Sodazusatz teilweise neutralisiert hatte, mit Äther ausgezogen. Den Ätherextrakt haben wir zur Entfernung gelöster Essigsäure mehrmals mit Wasser gewaschen und ihm hierauf durch Ausschütteln mit wässeriger Sodalösung das gebildete 2-[δ-Carboxy-butyl]-thiophanon-3 entzogen. Nach dem Ansäuern der Sodalösung schied sich die Verbindung als Öl aus, das bald erstarrte. Beim Umkrystallisieren aus Wasser erhielt man farblose Blättchen vom Smp. 68°. Ausbeute ca. 60%.

$C_9H_{14}O_3S$	Ber. C 53,46	H 6,98	S 15,84%
(202,17)	Gef. „ 53,28	„ 6,90	„ 16,31%

α-Carbäthoxy-pimelinsäure-diäthylester (Formel XIV).

Zu einer Lösung, die 38,2 g Natrium in 580 cm³ absolutem Alkohol enthielt, wurden 400 g Malonsäure-diäthylester und hierauf 130 cm³ Benzol gegeben. Dann liess man dazu allmählich 400 g ω-Brom-valeriansäure-äthylester fliessen und kochte die Mischung 3 Stunden. Das ausgefallene Natriumbromid wurde abgenutscht, das Filtrat zur Entfernung der Lösungsmittel im Vakuum eingeengt und das zurückbleibende Öl in Äther aufgenommen. Diese Lösung haben wir mit der gesättigten wässerigen Auflösung des ausgefallenen Natriumbromids und hierauf mehrmals mit Wasser gewaschen, getrocknet und nachher fraktioniert. Der α-Carbäthoxy-pimelinsäure-diäthylester ging bei 184° und 15 mm Druck als farblose Flüssigkeit über. Ausbeute 84%.

$C_{14}H_{24}O_6$	Ber. C 58,31	H 8,39%
(288,33)	Gef. „ 58,08	„ 8,41%

α-Carboxy-pimelinsäure (Formel XV).

470 g des vorbeschriebenen Äthylesters haben wir in kleinen Anteilen unter Umschütteln und Kühlen zu einer Lösung von 350 g Kaliumhydroxyd in 300 cm³ Wasser gegeben und hierauf die Lösung 4 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die abgekühlte Lösung wurde mit Salzsäure angesäuert und anschliessend im Extraktor mit Äther 20 Stunden extrahiert. Der Ätherextrakt hinterliess nach dem Verdampfen des Lösungsmittels einen viskosen Rückstand, den man bei 70° und 11 mm Druck 4 Stunden trocknete. Hierauf krystallisierte er beim Reiben mit dem Glasstab in kurzer Zeit vollständig. Die farblosen Krystalle schmolzen bei 88—89°. Ausbeute über 93%.

$C_8H_{12}O_6$	Ber. C 47,05	H 5,92%
(204,17)	Gef. „ 47,00	„ 6,10%

α-Brom-α-carboxy-pimelinsäure (Formel XVI).

Man löste 310 g α-Carboxy-pimelinsäure in 750 cm³ Äther und tropfte bei 25° unter Rühren 1,05 Äquivalente Brom, die in 150 cm³ Tetrachlorkohlenstoff gelöst waren, im Verlaufe von 2 Stunden zu. Nach 3-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurden Lösungsmittel und überschüssiges Brom durch Destillation im Vakuum entfernt. Schon während des Einengens der Lösung krystallisierte die α-Brom-α-carboxy-pimelinsäure aus. Sie liess sich durch Auflösen in Äther und Zugabe von Tetrachlorkohlenstoff leicht umkrystallisieren und bildete farblose Krystalle vom Zersetzungspunkt 136—137°.

$C_8H_{11}O_6Br$ (283,08) Ber. Br 28,23 Gef. Br 28,20%

α-Brom-pimelinsäure (Formel XVII).

Die α-Brom-α-carboxy-pimelinsäure wurde während 4 Stunden im Wasserstrahlpumpen-Vakuum auf 120—145° erhitzt. Dabei erfolgte Kohlendioxyd-Abspaltung und

leichte Braunfärbung. Da es uns nicht gelang, die entstandene α-Brom-pimelinsäure zur Krystallisation zu bringen, haben wir sie ohne weitere Reinigung verestert.

Zu diesem Zweck wurden 370 g der rohen Säure mit 3 Liter absolutem Alkohol und 30 cm³ konz. Schwefelsäure 8 Stunden im Sieden gehalten. Hierauf neutralisierte man mit Natriumcarbonat und entfernte den Alkohol unter vermindertem Druck. Den Rückstand nahm man mit Äther auf, nutschte das ungelöste Natriumsulfat ab, verdampfte aus dem Filtrat den Äther und nahm mit dem Rückstand eine zweite Veresterung vor, indem man ihn mit 2 Liter absolutem Alkohol und 20 cm³ konz. Schwefelsäure erneut 7 Stunden kochte. Die Aufarbeitung erfolgte wie nach der ersten Veresterung.

Der gebildete α-Brom-pimelinsäure-diäthylester wurde zur weiteren Reinigung in ätherischer Lösung mit wässeriger Natriumbicarbonatlösung ausgeschüttelt und nach dem Verdampfen des Äthers im Hochvakuum fraktioniert. Farbloses Öl, Sdp. 101—103° unter 0,005 mm Druck. Ausbeute 390 g.

$C_{11}H_{19}O_4Br$	Ber. C 44,74	H 6,44%
(295)	Gef. „ 45,10	„ 6,58%

[β-Carbäthoxy-äthyl]-[α′,ε′-dicarbäthoxy-amyl]-sulfid (Formel XIX).

In einem 1-Liter-Dreihalskolben, der mit Tropftrichter und einem Einleitungsrohr für Stickstoff versehen war, wurden 14,81 g Natrium in 220 cm³ Alkohol gelöst, worauf man bei 0° eine Lösung von 95,0 g β-Mercapto-propionsäure-ester in 75 cm³ absolutem Alkohol innerhalb einer Viertelstunde zutropfen liess. Hierauf haben wir die Mischung auf −20° gekühlt und innerhalb 2 Stunden die Lösung von 190 g α-Brom-pimelinsäure-diäthylester in 100 cm³ Alkohol unter Rühren zugetropft. Die Temperatur blieb stets zwischen −20 bis −15°. Hierauf liess man die Flüssigkeit sich auf Zimmertemperatur erwärmen, rührte 4 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur weiter und erhitzte schliesslich noch 1½ Stunden am Rückflusskühler zum Sieden.

Das ausgefallene Natriumbromid wurde abgenutscht und aus dem Filtrat der Alkohol im Vakuum abdestilliert. Den Rückstand nahmen wir mit etwas Wasser und Äther auf. Nach der Abtrennung der Ätherschicht wurde diese mit wässeriger Natriumbicarbonat-Lösung, hierauf mit Wasser gewaschen, getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand haben wir einer Hochvakuumdestillation unterworfen. Nach einem kleinen Vorlauf destillierte das Reaktionsprodukt, das [β-Carbäthoxy-äthyl]-[α′,ε′-dicarbäthoxy-amyl]-sulfid unter 0,02 mm bei 165—170°. Ausbeute 186 g = 83% der Theorie.

$C_{16}H_{28}O_6S$	Ber. C 55,17	H 8,04	S 9,19	OC_2H_5	38,79%
(348)	Gef. „ 54,83	„ 8,15	„ 9,03	„	38,52%

2-[ω-Carbäthoxy-butyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylester. (Formel XX).

6,60 g Natrium wurden unter heissem Xylol pulverisiert, das Xylol abgegossen und durch 150 cm³ trockenes Toluol ersetzt; hierauf liess man unter Kühlung 13,2 g absoluten Äthylalkohol zufliessen und liess die Reaktionsmischung unter Calciumchlorid-Verschluss über Nacht stehen. Dann haben wir unter ständigem Rühren und Einleiten von trockenem Stickstoff 50 g [β-Carbäthoxy-äthyl]-[α′,ε′-dicarbäthoxy-amyl]-sulfid (XIX), gelöst in 70 cm³ Toluol, bei Zimmertemperatur innerhalb 2 Stunden zutropfen lassen. Die Reaktionstemperatur soll 20—30° nicht übersteigen und muss evt. durch Wasserkühlung geregelt werden. Man rührte 6 Stunden bei Zimmertemperatur, erwärmte hierauf 2 Stunden auf 35—40° und liess das Reaktionsgemisch über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Hierauf wurde es auf Eis, dem 20 cm³ Eisessig zugesetzt worden waren, gegossen und mit Äther ausgezogen. Die Ätherlösung wurde mit Natriumbicarbonat entsäuert, getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft und der Rückstand aus einer Kugelröhre im Hochvakuum destilliert. Der 2-[ω-Carbäthoxy-butyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylester destillierte ohne wesentliche Zersetzung unter 0,02 mm Druck aus einem Luftbad von 148—155°. Ausbeute 36 g = 82% der Theorie.

$C_{14}H_{22}O_5S$	Ber. C 55,62	H 7,28	S 10,59	OC_2H_5	29,80%
(302)	Gef. „ 55,31	„ 7,43	„ 9,98	„	29,67%

2-[δ-Carboxy-butyl]-thiophanon-3 (Formel XIII).

Zur Ketonspaltung wurden 100 g der vorbeschriebenen Verbindung (XX) in 200 cm³ Eisessig gelöst, eine Mischung von 400 cm³ Wasser und 60 cm³ konz. Schwefelsäure hinzugefügt und die Flüssigkeit 4 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die Verseifung vollzog sich unter starker Kohlendioxyd-Entwicklung. Hierauf wurde mit 90 g Soda der grösste Teil der Schwefelsäure neutralisiert, die Lösung im Vakuum eingeengt, mit Wasser wieder verdünnt und wieder eingedampft und der letztere Vorgang zur Entfernung der Essigsäure ein drittes Mal wiederholt. Ein Teil des gebildeten 2-[δ-Carboxy-butyl]-thiophanons-3 krystallisierte bereits aus der eingeengten Lösung aus. Diese wurde mit Äther ausgezogen, die Ätherlösung eingedampft und der krystallisierte Rückstand umkrystallisiert. Ausbeute 66 g = 100% der Theorie. Die Verbindung erwies sich identisch mit der aus 2-[ω-Cyan-butyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylester (VIII) hergestellten Verbindung, über die weiter oben berichtet ist.

2-[δ-Carboxy-butyl]-4-oxy-thiophanon-3 (Formel XXII).

25 g 2-[δ-Carboxy-butyl]-thiophanon-3 (XIII) wurden in einem mit Rührwerk versehenen Dreihalskolben in 100 cm³ Methanol gelöst. Dann setzte man 70 cm³ Wasser hinzu und leitete unter Eiskühlung und Turbinieren mittelst eines Kohlendioxyd-Stromes 20,0 g Brom ein. Innerhalb der ersten Stunde gaben wir allmählich weitere 70 cm³ Wasser hinzu. Der entstehende Bromwasserstoff wurde durch portionenweisen Zusatz von Calciumcarbonat gebunden, wobei die Menge des Calciumcarbonats stets so bemessen wurde, dass die Lösung noch kongosauer blieb. Das im Laufe der Reaktion (5 Stunden) fast vollständig ausgefallene Reaktionsprodukt wurde abgenutscht und mit 50-proz. Methanol gewaschen. Im Filtrat blieben ölige Anteile gelöst, die sich beim Einengen im Vakuum ausschieden.

Das krystalline Umsetzungsprodukt wurde zweimal aus Äthanol umkrystallisiert. Es ist das 2-[δ-Carboxy-butyl]-4-oxy-thiophanon-3 (XXII), Smp. 117—118°. Die Verbindung reduziert ammoniakalische Silbernitratlösung stark. Ausbeute: 30% der Theorie.

$C_9H_{14}O_4S$	Ber. C 49,53	H 6,46	S 14,71%
(218,17)	Gef. „ 49,72	„ 6,16	„ 15,0%

Zur Herstellung des Dioxims kochte man die Lösung von 0,4 g der Oxy-Ketosäure XXII in einer Mischung von 6 cm³ Äthylalkohol und 8 cm³ Wasser mit 4 Äquivalenten Hydroxylaminhydrochlorid und der entsprechenden Menge Kaliumacetat während 2½ Stunden. Nach dem Erkalten der Lösung wurde das schon während des Kochens der Flüssigkeit ausgeschiedene Dioxim abfiltriert; durch Wasserzugabe zum Filtrat und teilweise Entfernung des Alkohols im Vakuum konnte eine weitere Menge der Verbindung erhalten werden. Das Dioxim ist in Alkohol und Aceton schwer löslich und schmilzt unter Zersetzung bei ca. 215°; der Zersetzungspunkt ist aber wesentlich abhängig von der Geschwindigkeit des Erwärmens und der Krystallgrösse.

$C_9H_{14}O_4N_2S$	Ber. C 43,90	„ 5,75	„ 11,38%
(246,1)	Gef. „ 43,43	„ 5,87	„ 10,90%

Azofarbstoffe aus 2-[ω-Cyan-butyl]-thiophanon-(3)-carbonsäure-(4)-äthylester (Formel VIII).

Ein Azofarbstoff aus der Verbindung VIII und diazotiertem p-Nitranilin liess sich in folgender Weise herstellen. Zu einer Lösung von 2 g der Verbindung VIII in 60 cm³ Alkohol wurden 7,5 g wasserfreies Kaliumacetat und hierauf unter Umschütteln eine aus 2 Äquivalenten p-Nitranilin hergestellte p-Nitrophenyl-diazoniumsalzlösung zugesetzt; die in der Diazoniumsalzlösung vorhandene Salzsäure war so bemessen, dass ca. 50% Kaliumacetat im Überschuss vorlagen. Das Kupplungsprodukt schied sich teilweise in Form eines roten Öles aus. Nach einstündigem Stehen setzte man 250 cm³ Wasser hinzu, wodurch der Farbstoff vollständig gefällt wurde. Wir haben ihn mit Benzol ausgezogen, die Benzollösung mit 5-proz. wässeriger Salzsäure, mit Wasser, Natriumbicarbonatlösung und wieder mit Wasser gewaschen, getrocknet und filtriert. Nach dem Abdampfen des Lösungs-

mittels blieb ein zähflüssiges rotes Öl zurück, das in Alkohol schwer löslich war und durch mehrmaliges Umlösen aus heissem Alkohol gereinigt werden konnte. Die Ausbeute an dem Azofarbstoff IX betrug 2,8 g = 85% der Theorie.

$C_{18}H_{20}N_4O_5S$	Ber. C 53,46	H 4,98	N 13,85	OC_2H_5	11,1%
(404,22)	Gef. „ 52,78	„ 4,90	„ 13,75	„	11,8%

Zu 2 g der Verbindung VIII, die zusammen mit 3,17 g pulverisiertem Kaliumacetat gelöst worden waren, setzte man unter Rühren eine wässerige Aufschlämmung von 2 g diazotierter Sulfanilsäure. Es bildete sich eine klare, rote Lösung des Reaktionsproduktes. Nach der Entfernung des Alkohols im Vakuum wurde der Rückstand in 30 cm³ Wasser aufgenommen und zur Entfernung ätherlöslicher Anteile mit diesem Lösungsmittel ausgeschüttelt. Die so gereinigte Lösung des Azofarbstoffs (X) haben wir direkt zu Reduktionsversuchen verwendet.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

---

26. Diginin.

3. Mitteilung[1]).

Abbau des Diginigenins zu einem Kohlenwasserstoff Diginan $C_{21}H_{36}$

von **C. W. Shoppee**[2]).

(5. I. 44.)

In der ersten Mitteilung[3]) über Diginin wurde gezeigt, dass sich dieses von *W. Karrer*[4]) aus Digitalis purpurea isolierte, aber nicht herzwirksame Glycosid durch Hydrolyse in „Diginose", einen Desoxy-Zucker der Formel $C_7H_{14}O_4$, und „Diginigenin", ein Aglycon der Formel $C_{21}H_{28}O_4$ spalten lässt. Diginigenin (I) unterscheidet sich weitgehend von den Aglyconen der herzwirksamen Digitalis-Glycoside und besitzt vor allem keine Lactongruppe. Bisher konnte neben einer Doppelbindung eine sehr reaktive Carbonylgruppe (Sauerstoffatom als O^a gekennzeichnet) und eine sekundäre Hydroxylgruppe (O^b) nachgewiesen werden, während ein drittes Sauerstoffatom (O^c) wahrscheinlich in Form einer stark gehinderten Carbonylgruppe vorliegt. Die Funktion des letzten noch verbleibenden Sauerstoffatoms (O^d) ist unsicher. Möglicherweise ist es ätherartig gebunden. Im Nachfolgenden werden einige Ergebnisse des Abbaus dieses eigenartigen Aglycons beschrieben.

Versuche zum direkten oxydativen Abbau des Diginigenins (I) gaben keine eindeutigen Resultate. Es wurden dabei Gemische von sauren und neutralen Oxydationsprodukten erhalten, aus denen es nicht möglich war, einheitliche Substanzen zu isolieren. Bedeutend

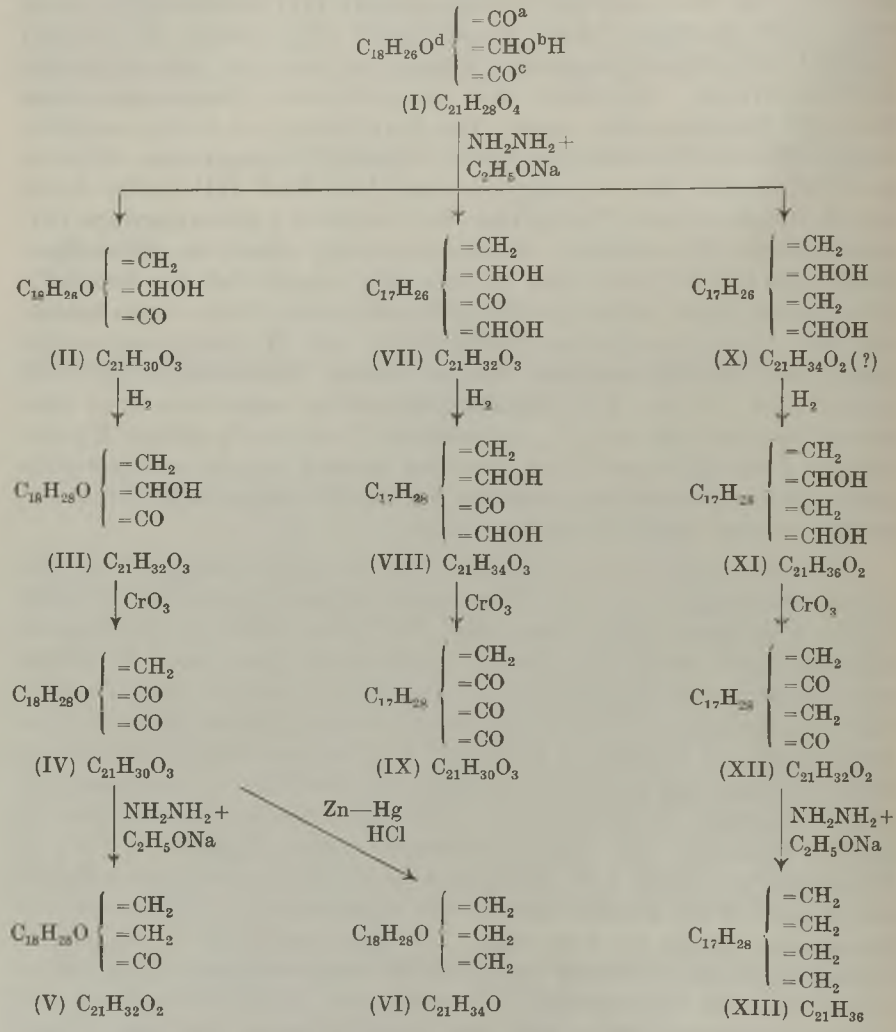
[1]) 2. Mitteilung: *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. **25**, 1611 (1942).
[2]) Rockefeller Research Fellow an der Universität Basel.
[3]) *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. **23**, 975 (1940).
[4]) „Festschrift für *E. C. Barell*", Basel 1936, S. 238.

glatter verlief der Abbau nach vorheriger Reduktion der reaktiven Carbonylgruppe nach *Wolff-Kishner*, wobei sich drei Reihen gut definierter Reaktionsprodukte ergaben. Obwohl Diginigenin gegen Anionen (OH', OCH'_3) allein recht empfindlich ist, gelingt es doch, durch Erhitzen des freien Aglycons oder seines Semicarbazons mit Hydrazin und Natriumäthylat in relativ guter Ausbeute ein Stoffgemisch zu erhalten, aus dem sich das Hauptprodukt (II) in Krystallen vom Smp. 163° gewinnen lässt. Dieser Stoff (II) besitzt die Formel $C_{21}H_{30}O_3$ und enthält noch eine Doppelbindung und eine sekundäre Hydroxylgruppe, die durch ein krystallisiertes Monoacetat vom Smp. 61° charakterisiert wurde. Die Funktionen der beiden anderen, trägen Sauerstoffatome sind nicht ermittelt, entsprechen offenbar noch denjenigen im Ausgangsmaterial. Der Stoff (II) dürfte somit aus (I) durch normale Reduktion der reaktiven Carbonylgruppe entstanden sein. Er reduziert dementsprechend alkalische Silberdiamminlösung bei 20° nicht und verhält sich negativ bei der *Raudnitz-Pulvj*'schen, *Legal*'schen und *Zimmermann*'schen Probe. Auch konnte aus ihm unter energischen Bedingungen mit Hydroxylamin-acetat kein Oxim erhalten werden. Neben diesem Desoxo-genin (II) entstehen aber bei der *Wolff-Kishner*-Reduktion zumindest noch zwei weitere Stoffe (VII) und (X), von denen (X) erst nach völliger Hydrierung in krystallisierter Form erhalten werden konnte, so dass seine genaue Zusammensetzung unsicher ist. Die Substanzen (VII) und (X) werden weiter unten noch besprochen.

Desoxo-diginigenin (II) nimmt bei der Hydrierung mit Platinoxyd in Eisessig leicht 1 Mol Wasserstoff auf und lieferte das Dihydro-desoxo-diginigenin (III) vom Smp. 191°, das durch ein Monoacetat charakterisiert wurde. In diesem Stoff ist offenbar bei der Hydrierung lediglich die Doppelbindung abgesättigt worden. Ein Versuch, durch nochmaliges Erhitzen mit Hydrazin und Alkali die träge Carbonylgruppe zu entfernen, misslang. Ein Teil des Materials blieb bei dieser Behandlung unverändert, während der Rest in amorphe Produkte überging. Oxydation von (III) mit Chromtrioxyd lieferte in glatter Reaktion das Dihydro-dehydro-desoxo-diginigenin (IV) in Krystallen vom Smp. 179°. Reduktion dieses Ketons mit Hydrazin und Alkali nach *Wolff-Kishner* lieferte das krystallisierte Dihydro-desoxy-desoxo-diginigenin (V) vom Smp. 115° und der Formel $C_{21}H_{32}O_2$. In diesem Stoff sind offenbar nur noch die zwei reaktionsträgen Sauerstoffatome des Diginigenins (I) enthalten; seine Behandlung mit Acetanhydrid bei 200°[1]) gab kein krystallisiertes Produkt. Wurde (IV) dagegen mit amalgamiertem Zink und Salzsäure nach *Clemmensen* reduziert und das Rohprodukt mit Platinoxyd in Eisessig nachhydriert, so resultierte ein flüssiger Stoff (VI) der Formel

[1]) *R. E. Marker, E. Rohrmann*, Am. Soc. **61**, 3592 (1939).

$C_{21}H_{32-34}O$, der nur noch ein Sauerstoffatom enthielt[1]). Da die Möglichkeit besteht, dass während der *Clemmensen*-Reduktion Umlagerungen eingetreten sind, wurde dieser Stoff nicht weiter untersucht, insbesondere da das oben erwähnte Nebenprodukt (X) ein einfacheres Ausgangsmaterial darstellte, um von ihm zu einem Kohlenwasserstoff zu gelangen.



[1]) Somit verträgt die träge Carbonylgruppe (O^c) in (I) zwei *Wolff-Kishner*-Reduktionen, wird aber in der Stufe (IV)→(VI) bei der *Clemmensen*-Reduktion angegriffen. 11-Keto-androstan-Derivate (z. B. 3,17-Dioxy-androstan-on-(11)) vertragen ebenfalls *Wolff-Kishner*-Reduktionen[2]), lassen sich aber ebenso wie 11-Keto-allo-pregnan-Derivate nach *Clemmensen* reduzieren.

[2]) *C. W. Shoppee*, nicht publizierte Beobachtung.

Wurde das durch Erhitzen von (I) mit Hydrazin und Alkali entstehende Stoffgemisch chromatographisch getrennt, so konnte eine zweite krystallisierte Substanz (VII) vom Smp. 147° isoliert werden. Diese Verbindung besitzt die Zusammensetzung $C_{21}H_{32}O_3$, enthält eine Doppelbindung und zwei sekundäre Hydroxylgruppen. Das Diacetyl-Derivat konnte nicht zur Krystallisation gebracht werden, gab aber bei der quantitativen Verseifung ungefähr die richtigen Werte und lieferte wiederum (VII). Die Substanz (VII) gab keine Carbonylreaktionen mehr; auch fielen die *Raudnitz-Puluj*'sche, die *Legal*'sche und die *Zimmermann*'sche Probe negativ aus. Die Substanz (VII) zeigte eine starke Gelbfärbung mit Tetranitromethan und nahm bei der Hydrierung mit Platinoxyd in Eisessig leicht 1 Mol Wasserstoff auf, wobei ein Stoff (VIII) vom Smp. 196° erhalten wurde, der ein gesättigtes Diol darstellt. Auch dessen Diacetyl-Derivat liess sich nicht krystallisieren, gab aber wieder bei der quantitativen Verseifung ungefähr die richtigen Werte und lieferte (VIII) unverändert zurück. Oxydation von (VIII) mit 2 Mol Chromtrioxyd gab ein Keton (IX), das wegen seiner grossen Löslichkeit und der geringen zur Verfügung stehenden Menge nicht vollständig gereinigt werden konnte. Es gab ein 2,4-Dinitro-phenylhydrazon, unter energischen Bedingungen ein Dioxim und stellt wahrscheinlich ein Triketon dar, in dem die reaktionsträge Carbonylgruppe derjenigen des Ausgangsmaterials (I) entspricht. Materialmangel verhinderte jedoch die weitere Untersuchung von (IX); vermutlich würde es bei der *Wolff-Kishner*-Reduktion den Kohlenwasserstoff (XIII) geben, weshalb die Stoffe (VII), (VIII) und (IX) vorläufig als Diginan-Derivate bezeichnet werden.

Der Übergang (I → VII), der mit dem Verlust von einem O-Atom und der Aufnahme von vier H-Atomen verbunden ist, kann folgendermassen gedeutet werden. Die normale Reduktion $=CO^a \rightarrow =CH_2$ erklärt die Aufnahme von zwei H-Atomen und den Verlust eines O-Atoms. Was den Mehrbetrag von zwei H-Atomen anbetrifft, so kann entweder eine partielle Reduktion einer trägen Carbonylgruppe stattgefunden haben ($=CO^c \rightarrow =CHOH$), oder ein Oxydring reduktiv aufgespalten worden sein ($=\overline{C-O^d-C}= \rightarrow =\overline{C-OH\ CH}=$). Da die Reduktion nach *Wolff-Kishner* in Gegenwart von überschüssigem Hydrazin, soweit bisher bekannt, immer die vollständige und nicht nur partielle Reduktion von Carbonylgruppen zur Folge hat, ist die letztere Erklärung vorzuziehen.

Bei der chromatographischen Trennung des durch Erhitzen von (I) mit Hydrazin und Alkali erhaltenen Gemisches wurden nach Abtrennung aller krystallisierbaren Anteile von (II) und (VII) noch reichliche Mengen amorpher Stoffe gewonnen. Diese Mutterlaugen enthielten neben kleinen Resten von (II) und (VII) voraussichtlich noch das hypothetische Produkt (X), denn nach Hydrierung des

Reaktions-Gemisches mit Platinoxyd in Eisessig liess sich ein krystallisierter Stoff der Formel $C_{21}H_{36}O_2$ isolieren, der als Dioxy-diginan (XI) zu bezeichnen ist. Dieser Stoff zeigte einen doppelten Schmelzpunkt von 142° und 156° und besass zwei sekundäre Hydroxylgruppen. Das Diacetyl-Derivat war zwar wiederum flüssig, gab aber bei der quantitativen Verseifung die richtigen Werte und lieferte (XI) zurück. Durch Oxydation von (XI) mit Chromtrioxyd wurde glatt das krystallisierte Dioxo-diginan (XII) vom Smp. 141° erhalten, das bei der Reduktion nach *Wolff-Kishner* einen krystallisierten Kohlenwasserstoff (XIII) vom Smp. 75—77° lieferte. Er wies eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +24°$ (Chloroform) auf und wird vorläufig als „Diginan" bezeichnet. Von den gesättigten Kohlenwasserstoffen der Formel $C_{21}H_{36}$ sind die folgenden bekannt:

	Smp.	$[\alpha]_D$
Pregnan[1])	82°	+19,6° ($CHCl_3$)
Allo-pregnan[2])	84°	+12,7° ($CHCl_3$)
17a-Methyl-D-homo-androstan[3])	107—109°	− 3,0° (Dioxan)
17a-Methyl-D-homo-ätiocholan[4])	86— 88°	0° ($CHCl_3$ u. Dioxan)
Uran[5])	127—128°	—

Schon aus den Daten für die Schmelzpunkte und die spez. Drehungen ist zu ersehen, dass Diginan von den genannten Stoffen verschieden ist. Ausserdem wurden noch die Mischproben mit den ersten vier in der Tabelle genannten Stoffen durchgeführt, die alle deutliche Schmelzpunktserniedrigungen ergaben. Depressionen wurden auch bei den Mischproben mit Cholestan [Smp. 79—80°, $[\alpha]_D = +24°$[6]), $+22°$[7]) (Chloroform)], Ätiocholan [Smp.79°, $[\alpha]_D = +3°$[8]) (Chloroform)] und Norcafestan [Smp. 81°, $[\alpha]_D = -48°$[9]) (Hexan)] erhalten.

Diginan ist somit ein noch unbekannter Kohlenwasserstoff und aus diesem Grunde ist ihm ein besonderer Name gegeben worden. Es ist natürlich nicht sicher dass er wirklich den Grundkohlenwasserstoff des Diginigenins darstellt, da der unübersichtliche Übergang (I → X) sowie die Hydrierung (X → XI)[10]) möglicherweise mit Umlagerungen verbunden sind.

---

[1]) *A. Butenandt*, B. **64**, 2529 (1931).
[2]) *M. Steiger, T. Reichstein*, Helv. **21**, 161 (1938).
[3]) *L. Ruzicka, H. F. Meldahl*, Helv. **23**, 371, 518 (1940).
[4]) *C. W. Shoppee*, Helv. **27**, 8 (1944).
[5]) *R. E. Marker, O. Kamm, T. S. Oakwood, E. L. Wittle, E. J. Lawson*, Am. Soc. **60**, 1061 (1938). [6]) *F. Mauthner*, M. **30**, 635 (1909).
[7]) *B. Heath-Brown, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones*, Soc. **1940**, 1482.
[8]) Vgl. experimenteller Teil dieser Arbeit.
[9]) *A. Wettstein, H. Fritzsche, F. Hunziker, K. Miescher*, Helv. **24**, 358E (1941).
[10]) Ebenso diejenigen (II → III) und (VII → VIII).

Obwohl eine Identifizierung des Diginins bisher nicht gelang, muss doch weiter mit der Möglichkeit gerechnet werden, dass Diginigenin und sein Diginosid Steroide oder nahe Verwandten dieser Stoffgruppe darstellen.

Der Verfasser dankt Hrn. Prof. Dr. *T. Reichstein* für sein stetes Interesse und für viele anregende Diskussionen.

Erratum.

Helv. 25, 1612 (1942) (2. Mitteilung dieser Reihe), Fussnote 4, lies S. „2264" statt S. „22".

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert.

(Fehlergrenze ca. $\pm 2^0$)

Desoxo-diginigenin (II).

a) Aus Diginigenin-semicarbazon. 100 mg Diginigenin-semicarbazon vom Smp. 290°[1]), 0,2 cm³ Hydrazin-hydrat und die Lösung von 100 mg Natrium in 4 cm³ absolutem Alkohol wurden in einem Bombenrohr im Vakuum eingeschmolzen und acht Stunden auf 180° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Inhalt mit 2 cm³ 2-n. Salzsäure vermischt und dreimal mit Äther-Chloroform ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Salzsäure, Natronlauge und Wasser gewaschenen und über Natriumsulfat getrockneten Auszüge lieferten beim Eindampfen 80 mg Rohprodukt, das beim Anfeuchten mit wenig Äther sehr langsam krystallisierte. Die Abscheidung wurde durch vorsichtigen Zusatz von Pentan möglichst vervollständigt und die abgenutschten Krystalle nochmals aus Äther-Pentan bei 0° umkrystallisiert, wobei sich langsam 20 mg zu Büscheln vereinigter farbloser Nadeln abschieden, die bei 86° schmolzen. Die Schmelze erstarrte bei weiterem Wärmen rasch, um bei 161—163° erneut zu schmelzen. Es handelt sich um ein Hydrat. Zur Analyse und Drehung wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{15} = -71{,}5^0 \pm 4^0$ (c = 0,517 in Aceton).

5,235 mg Subst. zu 1,125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = -0{,}37^0 \pm 0{,}02^0$.

4,269 mg Subst. gaben 11,915 mg CO_2 und 3,480 mg H_2O

$C_{21}H_{30}O_3$ (330,45) Ber. C 76,32 H 9,08%
Gef. „ 76,17 „ 9,12%

Der Stoff reduziert alkalische Silberdiamminlösung bei Zimmertemperatur nicht, auch die *Legal*'sche Probe und die Reaktion mit 1,4-Dioxy-naphtalin nach *Raudnitz* und *Pulu*j waren negativ. Hingegen gab er, in wenig Chloroform gelöst, auf Zusatz von Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung.

Die Mutterlaugen (60 mg) lieferten keine Krystalle mehr. Sie wurden durch 10 Minuten langes Kochen mit Essigsäure-anhydrid acetyliert. Aus dem Gemisch der Acetylierungsprodukte konnten aber auch nach chromatographischer Trennung keine Krystalle erhalten werden. Ein zweiter Ansatz mit 330 mg Semicarbazon gab 60 mg krystallisiertes Desoxo-diginigenin (II) vom Smp. 163°. Die ganze nicht krystallisierte Mutterlauge wurde im Molekularkolben bei 145—150° und 0,02 mm destilliert und gab 220 mg farbloses Destillat, das zur Hydrierung (Ansatz A) verwendet wurde. Die durch Extraktion des rohen Reduktionsproduktes mit Natronlauge erhaltenen Auszüge gaben nach Ansäuern und Ausschütteln mit Äther nur 3 mg saurer Anteile.

b) Aus freiem Diginigenin. In einem Bombenrohr wurden 1,5 cm³ Hydrazinhydrat mit einem Tropfen Natriumäthylatlösung versetzt. Hierauf wurden 675 mg Diginigenin zugegeben und nach vorsichtigem Durchschütteln die Lösung von 650 mg Natrium in 25 cm³ absolutem Alkohol, worauf wieder vermischt wurde. Nun wurde das

[1]) *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. 23, 982 (1940).

Rohr verengt, nach teilweisem Evakuieren zugeschmolzen und 8 Stunden auf 180° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde mit wässriger Salzsäure fast neutralisiert, der Alkohol im Vakuum entfernt und der Rückstand wie oben beschrieben aufgearbeitet, wobei 570 mg Rohprodukt erhalten wurden, das durch Umkrystallisieren aus einem Gemisch von trockenem Aceton und absolutem Äther 280 mg Krystalle vom Smp. 160° lieferte. Diese wurden nochmals aus Methanol-Wasser (1 : 2) umkrystallisiert und gaben 250 mg lange Nadeln, die bei 85—90° opak wurden und bei 163—164° schmolzen. Bei raschem Erhitzen trat wieder vorübergehendes Schmelzen ein.

Die vereinigten Mutterlaugen gaben bei der Destillation im Molekularkolben bei 0,02 mm und 145—150° Badtemperatur 225 mg farbloses, teilweise krystallines Destillat, das zur Hydrierung (Ansatz B) benützt wurde. Die durch Extraktion des rohen Reduktionsproduktes mit Natronlauge erhaltenen Auszüge gaben beim Ansäuern 16 mg saurer Anteile.

Ein dritter grösserer Ansatz wurde analog reduziert, aber das Reduktionsprodukt nicht getrennt, sondern direkt hydriert (vgl. Ansatz D). Ein vierter Ansatz wurde 16 Stunden bei 180° reduziert und das Reduktionsprodukt chromatographisch untersucht (vgl. Ansatz C).

Desoxo-diginigenin-acetat.

20 mg Desoxo-diginigenin (II) vom Smp. 163° wurden mit 0,5 cm³ reinstem Essigsäure-anhydrid 5 Minuten zum Sieden erhitzt. Dann wurde im Vakuum vollständig getrocknet, der Rückstand in wenig Pentan gelöst und gut verschlossen bei −15° stehen gelassen. Die allmählich ausgeschiedenen Krystalle wurden mit kaltem Pentan gewaschen und nochmals analog umkrystallisiert, wobei lange dünne Prismen vom Smp. 61—62° erhalten wurden. Der Stoff wurde im Hochvakuum bei 0,01 mm und 100—110° Badtemperatur destilliert und das glasige Destillat in wenig Pentan aufgenommen, wobei es rasch krystallisierte. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 20° getrocknet.

4,344 mg Subst. gaben 11,660 mg CO_2 und 3,40 mg H_2O
8,902 mg Subst. verbr. 1,23 cm³ 0,02-n. KOH[1])
$C_{23}H_{32}O_4$ (372,48) Ber. C 74,16 H 8,66 $-COCH_3$ 11,5%
Gef. „ 73,25 „ 8,76 „ 11,9%

Der austitrierte Verseifungsansatz wurde im Vakuum von Methanol befreit, das ausgefallene Produkt abgenutscht und aus verdünntem Methanol umkrystallisiert. Es schmolz bei 86° und nach Wiedererstarren bei 160°. Die Mischprobe mit freiem (II) gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Dihydro-desoxo-diginigenin (III).

50 mg Desoxo-diginigenin (II) vom Smp. 163° wurden in 1 cm³ reinstem Eisessig gelöst und in Gegenwart von 26 mg Platin(IV)-oxyd hydriert. Nach 10 Minuten waren 8,3 cm³ Wasserstoff aufgenommen, und die Hydrierung stand praktisch still (ber. für den Katalysator 4,8 cm³; für eine Doppelbindung 3,4 cm³; total 8,2 cm³). Es wurde filtriert, mit Äther nachgewaschen und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der krystalline Rückstand wurde in Äther-Chloroform aufgenommen, die Lösung mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der krystalline Rückstand wurde in wenig Aceton gelöst und die Lösung mit Äther versetzt, wobei lange farblose Nadeln auskrystallisierten, deren Abscheidung durch Zusatz von etwas Pentan möglichst vervollständigt wurde. Sie wurden abgenutscht und mit Äther-Pentan (1 : 1) und Pentan gewaschen; sie wogen 30 mg und schmolzen bei 190—191°. Zur Analyse und Drehung wurde im Hochvakuum bei 100° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{16} = +7{,}9^0 \pm 2^0$ (c = 1,013 in Aceton).

10,254 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0{,}08^0 \pm 0{,}02^0$.
3,756 mg Subst. gaben 10,430 mg CO_2 und 3,27 mg H_2O
$C_{21}H_{32}O_3$ (332,47) Ber. C 75,86 H 9,70%
Gef. „ 75,78 „ 9,74%

[1]) Vgl. *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. **23**, 979 (1940).

Die Substanz gab eine negative *Legal*-Probe und mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Sie reduzierte alkalische Silberdiamminlösung bei 20° nicht.

Dihydro-desoxo-diginigenin-acetat.

15 mg Dihydro-desoxo-diginigenin (III) vom Smp. 190° wurden mit 0,5 cm³ reinstem Essigsäure-anhydrid 5 Minuten zum Sieden erhitzt. Nach vollständigem Eindampfen im Vakuum blieb ein Öl zurück, das in Pentan leicht löslich war und auch nach langem Stehen bei −15° nicht krystallisierte. Es wurde bei 0,02 mm und 130—140° Badtemperatur destilliert und das Destillat zur Acetylbestimmung quantitativ verseift.

15,103 mg Subst. verbr. 2,05 cm³ 0,02-n. KOH

$C_{23}H_{34}O_4$ (374,5) Ber. $-COCH_3$ 11,2%
Gef. „ 11,4%

Das nach der Aufarbeitung des austitrierten Verseifungsansatzes erhaltene Material war nach Schmelzpunkt und Mischprobe mit dem Ausgangsprodukt (III) identisch.

Versuche zur Oximierung und zur Reduktion nach *Wolff-Kishner*.

Versuche zur Oximierung mit Hydroxylaminhydrochlorid + Natriumacetat und zur Reduktion nach *Wolff-Kishner* mit Hydrazinhydrat + Natriumäthylat liessen das Dihydro-desoxo-diginigenin unverändert.

Dihydro-dehydro-desoxo-diginigenin (IV).

20 mg Dihydro-desoxo-diginigenin (III) vom Smp. 190—191° wurden in 0,4 cm³ Eisessig gelöst und mit 0,4 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 8 mg CrO_3) versetzt. Es entstand sofort eine braune Fällung, die nach ½ Stunde in Lösung ging. Die Mischung wurde 16 Stunden bei 20° stehen gelassen, hierauf im Vakuum bei 30° Badtemperatur stark eingeengt, der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die wässrige Lösung enthielt noch unverbrauchtes Chromtrioxyd. Die Ätherlösung wurde mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Die Sodaauszüge lieferten nach Ansäuern keine sauren Anteile. Das Neutralprodukt krystallisierte aus Äther in farblosen Blättchen, die nach dem Waschen mit Pentan 9 mg wogen und bei 176—178° schmolzen. Sie wurden im Vakuum bei 80° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{16} = +21{,}5° \pm 2{,}5°$ (c = 0,836 in Aceton).

8,457 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0{,}18° \pm 0{,}02°$.

Das von der Drehung zurückgewonnene Material wurde im Molekularkolben bei 0,03 mm und 140—150° Badtemperatur sublimiert und anschliessend aus Äther umkrystallisiert. Es schmolz bei 178—179°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,461 mg Subst. gaben 9,650 mg CO_2 und 2,76 mg H_2O

$C_{21}H_{30}O_3$ (330,45) Ber. C 76,32 H 9,15%
Gef. „ 76,10 „ 8,92%

Eine weitere Menge desselben Stoffes (IV) (Mischprobe) wurde auch aus dem Ansatz D (vgl. weiter unten) erhalten.

Dihydro-dehydro-desoxo-diginigenin-oxim.

15 mg Dihydro-dehydro-desoxo-diginigenin (IV) vom Smp. 188° wurden mit der Lösung von 50 mg Hydroxylamin-hydrochlorid und 75 mg krystallisiertem Natriumacetat in 2 Tropfen Wasser und 1 cm³ Methanol 3 Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurde etwas Wasser zugegeben, das Methanol im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess einen glasigen Rückstand, der nach längerem Stehen in wenig absolutem Methanol bei −15° krystallisierte. Die mit etwas Pentan gewaschenen Krystalle wurden zur Reinigung in einer Spur Äther gelöst und die Lösung

mit dem 10-fachen Volumen Pentan versetzt, wobei ein Teil der Substanz ausfiel. Sobald die überstehende Flüssigkeit sich geklärt hatte, wurde abgegossen und die Fällung noch mehrmals analog umgefällt. Die vereinigten Lösungen wurden stark eingeengt und nach Impfen bei Zimmertemperatur stehen gelassen, wobei sich das Oxim in Krystallwarzen ausschied, die nach dem Waschen mit Pentan bei 159—160° schmolzen. Zur Analyse wurde bei 85° im Hochvakuum getrocknet.

4,883 mg Subst. gaben 0,177 cm³ N_2 (19,5°; 726 mm).
$C_{21}H_{31}O_3N$ (345,64) Ber. N 4,05 Gef. N 4,04%

Dihydro-desoxy-desoxo-diginigenin (V).

50 mg Dihydro-dehydro-desoxo-diginigenin (IV) vom Smp. 174—176° wurden mit 0,25 cm³ Hydrazin-hydrat und der Lösung von 50 mg Natrium in 2 cm³ absolutem Alkohol im Bombenrohr 8 Stunden auf 185° erhitzt. Hierauf wurde mit verdünnter Salzsäure fast neutralisiert, der Alkohol im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Salzsäure, Natronlauge und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 40 mg Rückstand, der beim Anfeuchten mit Pentan sofort krystallisierte. Zweimaliges Umkrystallisieren aus wenig Methanol gab farblose, lange Prismen, die Lösungsmittel enthielten. Sie wurden bei 60—70° opak und schmolzen bei 113—115°. Zur Analyse und Drehung wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{13} = +10^0 \pm 3^0$ (c = 0,606 in Aceton).

6,136 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +0,06^0 \pm 0,02^0$.

3,333 mg Subst. gaben 9,700 mg CO_2 und 3,01 mg H_2O
$C_{21}H_{32}O_2$ (316,46) Ber. C 79,69 H 10,2%
Gef. „ 79,43 „ 10,1%

Die Substanz blieb beim Kochen mit Hydroxylaminacetat unverändert. Beim Erhitzen mit Essigsäure-anhydrid im Bombenrohr auf 200° trat Reaktion ein; aus dem Reaktionsprodukt liessen sich jedoch keine Krystalle erhalten.

Reduktion des Dihydro-dehydro-desoxo-diginigenins (IV) nach *Clemmensen*.

In einem mit eingeschliffenem Rückflusskühler versehenen Rundkolben wurde 1 g Zinkwolle mit 20 cm³ 5-proz. wässriger Quecksilber(II)-chloridlösung übergegossen und 15 Minuten bei 20° stehen gelassen. Hierauf wurde die wässrige Lösung möglichst abgegossen, zur amalgamierten Zinkwolle 85 mg Dihydro-dehydro-desoxo-diginigenin (IV) vom Smp. 179° sowie 2 cm³ konz. Salzsäure und 0,5 cm³ Eisessig zugegeben und das Ganze auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Durch ein durch den Kühler bis fast auf die Oberfläche der Flüssigkeit reichendes Glasrohr wurde langsam Salzsäuregas durchgeleitet. Da das Zink nach etwa 2 Stunden gelöst war, wurden nach dieser Zeit noch 1 g gröbere, wie oben amalgamierte Zinkspäne zugesetzt und das Ganze im Chlorwasserstoff-Strom noch 3 Stunden erhitzt. Hierauf wurde zur Entfernung der Hauptmenge der Salzsäure im Vakuum teilweise eingeengt und das in Öltröpfchen ausgeschiedene Reaktionsprodukt durch viermaliges Ausschütteln mit Pentan gesammelt. Die mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Pentanlösung wurde eingedampft und der Rückstand im Molekularkolben bei 0,03 mm und 70—90° Badtemperatur destilliert. Es wurden 73 mg farbloses, öliges Destillat erhalten, das sich in wenig Pentan gelöst, auf Zusatz von Tetranitromethan stark gelb färbte. Daher wurde das gesamte Destillat in 1 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 75 mg Platin(IV)-oxyd versetzt und 8 Stunden in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt, wobei von der Substanz in den ersten 3 Stunden 3,6 cm³ Wasserstoff aufgenommen wurden. Das wie üblich aufgearbeitete Produkt gab jetzt keine Färbung mehr mit Tetranitromethan. Es wurde in Pentan gelöst und über eine mit Pentan bereitete Säule von 2,25 g Aluminiumoxyd

(*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*[1])) filtriert. Das mit Pentan eluierbare Material wog 63 mg, krystallisierte aber auch bei -15^0 nicht. In der Vermutung, dass es sich um einen Kohlenwasserstoff handle, wurde das Material in Pentan gelöst und mehrmals mit kleinen Portionen konz. Schwefelsäure gewaschen, bis sich diese nicht mehr gelb färbte. Hierauf wurde noch mit Wasser und Sodalösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog nur noch 21 mg und gab wiederum eine starke Färbung mit Tetranitromethan. Daher wurde nochmals in Eisessig mit 20 mg Platinoxyd hydriert, bis keine Spur Wasserstoff mehr aufgenommen wurde. Nach erneuter Aufarbeitung und Destillation bei 0,03 mm und 70—90° Badtemperatur wurden 20 mg farbloses Öl erhalten, das in Pentan mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung mehr gab und auch nach langem Stehen bei -15^0 nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Zur Analyse wurde nochmals im Hochvakuum destilliert.

3,694; 3,784 mg Subst. gaben 11,361; 11,666 mg CO_2 und 3,691; 3,785 mg H_2O

$C_{21}H_{32}O$ (300,47)	Ber. C 83,94	H 10,74%
$C_{21}H_{34}O$ (302,48)	Ber. „ 83,40	„ 11,33%
	Gef. „ 83,93; 84,13	„ 11,18; 11,19%

$\Delta^?$-Dioxy-oxo-diginen (VII).

600 mg Diginigenin (I) wurden in einem Bombenrohr mit Natriumäthylat und überschüssigem Hydrazin-hydrat 16 Stunden bei 180° reduziert (Ansatz C). Das Reaktionsprodukt enthielt nur wenig der Substanz (II), die durch Krystallisation aus verdünntem Methanol möglichst weitgehend entfernt wurde. Das verbliebene Produkt (490 mg) wurde über eine mit Petroläther bereitete Säule von 15 g Aluminiumoxyd chromatographiert (Eluate von 50 cm^3) und die einzelnen Fraktionen aus Äther-Pentan umkrystallisiert. Alle Krystallisate enthielten Lösungsmittel, das bei 100—120° abgegeben wurde. Die endgültigen Schmelzpunkte sind in der Tabelle aufgeführt.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand
1	Petroläther	Spur Öl
2—3	Benzol-Petroläther (1 : 1)	wenig Öl
4—6	abs. Benzol	Krystalle, Smp. 136—137°
7	„ „ +2% Äther	„ Smp. 136—137°
8	„ „ +4% „	Öl, kryst. nicht
9	„ „ +8% „	Krystalle, Smp. 135—137°
10	„ „ +15% „	„ , Smp. 135—136°
11	„ „ +30% „	„ , Smp. 133—136°
12	„ „ +50% „	„ , Smp. 132—133°
13—20	abs. Äther	„ , Smp. 132—135°
21	Äther-Aceton (1 : 1)	„ , Smp. 132—134°
22—23	„ „ „	etwas Öl, kryst. nicht
24	Aceton	Spur Öl
25	Chloroform-Aceton (1 : 1)	—

Die Fraktionen 4—7 wurden vereinigt und nochmals aus Äther-Pentan umkrystallisiert, wobei Bättchen vom endgültigen Smp. 138—139° erhalten wurden (*a*). Ebenfalls gaben die Fraktionen 9—12 Blättchen vom endgültigen Smp. 138° (*b*). Die Fraktionen 13—20, aus Äther-Pentan und dann aus Äther umkrystallisiert, gaben Blättchen vom endgültigen Smp. 146—147° (*c*), und aus der Fraktion 21 wurden wieder Blättchen vom endgültigem Smp. 137° (*d*) erhalten.

[1]) im Folgenden abgekürzt: *M.-B.*

Zur Analyse wurden die Krystalle (*c*) vom Smp. 146° (15 mg) bei 160° Blocktemperatur und 0,01 mm destilliert. Das erstarrte Destillat zeigte einen Schmelzpunkt von 147° ohne vorherige Umwandlung und gab eine starke Gelbfärbung mit Tetranitromethan.

3,669 mg Subst. gaben 10,063 mg CO_2 und 3,239 mg H_2O

$C_{21}H_{32}O_3$ (332,47) Ber. C 75,86 H 9,70%
Gef. „ 74,85 „ 9,88%

Eine zweite Probe vom endgültigen Smp. 146° wurde nicht destilliert, sondern im Hochvakuum bei 80° getrocknet und unmittelbar vor der Verbrennung im Platinschiffchen bei 150° kurz geschmolzen:

3,318 mg Subst. gaben 9,041 mg CO_2 und 2,829 mg H_2O

Gef. C 74,36 H 9,54%

Die spez. Drehung des destillierten Materials betrug $[\alpha]_D^{17} = -24^0 \pm 2^0$ (c = 0,983 in Aceton).

9,832 mg Subst. zu 0,9996 cm³: $l = 1$ dm: $\alpha_D^{17} = -0,24^0 \pm 0,02^0$.

Die Krystallisate *a*, *b* und *d* wurden vereinigt und aus Äther-Pentan umkrystallisiert. Die erste Fraktion (Blättchen, 47 mg) zeigte einen endgültigen Schmelzpunkt von 144°, die zweite (10 mg) einen solchen von 142°. Die Mutterlauge gab wenig Blättchen und viel Öl; nach langem Stehen schieden sich Nadeln aus, die nicht abgetrennt werden konnten, weil sie ebenso löslich waren wie das Öl. Ein Teil des Öls wurde in das p-Nitrobenzoat übergeführt und dieses chromatographisch untersucht, wobei nur die mit absolutem Benzol erhaltenen Eluate Spuren von Krystallen lieferten. Aus Äther-Methanol wurden 2 mg sechseckige Prismen vom Smp. 208—210° erhalten. Die anderen Eluate gaben reichliche Mengen Öl.

Diacetat. 20 mg (VII) vom Smp. 144° wurden mit 0,2 cm³ Acetanhydrid 15 Minuten zum Sieden erhitzt. Dann wurde im Vakuum eingedampft und wie üblich aufgearbeitet. Das Produkt stellte ein Öl dar, das nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Es wurde bei 170° Blocktemperatur und 0,02 mm destilliert und quantitativ verseift.

16,9 mg ± 0,2 mg Subst. verbrauchten 3,55 cm³ 0,02-n. KOH

$C_{25}H_{36}O_5$ (416,54) Ber. $-COCH_3$ 20,7 Gef. $-COCH_3$ 18,1%

Das Verseifungsprodukt wurde abgenutscht, gewaschen, getrocknet und im Molekularkolben bei 130° und 0,03 mm sublimiert. Aus Äther-Pentan wurden Blättchen (13 mg) erhalten, die Lösungsmittel enthielten, das bei 100—120° abgegeben wurde, und die endgültig bei 142° schmolzen.

Dioxy-oxo-diginan (VIII).

28 mg (VII) vom Smp. 144° wurden in 1 cm³ reinstem Eisessig gelöst und mit 15 mg Platin(IV)-oxyd in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. In 20 Minuten waren 4,9 cm³ H_2 aufgenommen (ber. für den Katalysator 2,7 cm³; für 1 Mol H_2 1,9 cm³, total 4,6 cm³), und die Hydrierung stand praktisch still. Nach üblicher Aufarbeitung wurden aus Äther 14 mg Prismen erhalten, die bei 195—196° schmolzen und keine Gelbfärbung mit Tetranitromethan gaben. Aus den Mutterlaugen wurde eine kleine Menge Krystalle von geringerer Reinheit erhalten. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{17} = -20^0 \pm 3^0$ (c = 0,703 in Aceton).

7,032 mg Subst. zu 0,9996 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,14^0 \pm 0,02^0$.

Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum 1 Stunde getrocknet. Unmittelbar vor der Verbrennung wurde nochmals bei 100° im Hochvakuum 2 Stunden getrocknet (kein Gewichtsverlust) und im Schweinchen eingewogen.

3,652 mg Subst. gaben 10,106 mg CO_2 und 3,370 mg H_2O

$C_{21}H_{34}O_3$ (334,49) Ber. C 75,40 H 10,25%
Gef. „ 75,51 „ 10,33%

Ein zweiter Ansatz von 14 mg (VII) (aus dem Diacetat von (VII) zurückerhalten) gab 7 mg (VIII) vom Smp. 189—192°.

Diacetat. 10 mg (VIII) wurden 15 Minuten mit 0,2 cm³ Acetanhydrid zum Sieden erhitzt. Nach üblicher Aufarbeitung wurde ein Öl erhalten, das sich nicht krystallisieren liess. Es wurde bei 130—150° Badtemperatur und 0,04 mm destilliert und quantitativ verseift.

9,5 mg ± 0,2 mg Subst. verbrauchten 2,10 cm³ 0,02-n. KOH
$C_{25}H_{38}O_5$ (418,56) Ber. $-COCH_3$ 20,6 Gef. $-COCH_3$ 19,0%

Das Verseifungsprodukt wurde abgenutscht, gewaschen, getrocknet und aus Äther umkrystallisiert, wobei Prismen vom Smp. 192° erhalten wurden. Sie zeigten keine Schmelzpunktserniedrigung mit dem Stoff (VIII).

Trioxo-diginan (IX).

14 mg (VIII) vom Smp. 186—190° wurden in 0,45 cm³ Eisessig gelöst, mit 0,45 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 9 mg CrO_3) versetzt und 16 Stunden bei 25° stehen gelassen. Bei der Aufarbeitung war kein überschüssiges Chromtrioxyd mehr nachzuweisen. Obwohl die soda-alkalischen Waschflüssigkeiten beim Ansäuern keine Fällung gaben, wurden doch nur 7 mg Neutralprodukt erhalten, das teilweise krystallisierte. Die Krystalle waren aber sehr leicht löslich und konnten nicht mit Erfolg umkrystallisiert werden. Aus diesem Grunde wurden aus ihnen die folgenden zwei Derivate dargestellt.

2,4-Dinitro-phenylhydrazon. Es fiel sofort aus bei der Behandlung in Methanol mit methanolischer 2,4-Dinitro-phenylhydrazinsulfatlösung nach *Brady*[1]) und wurde aus Methanol umgelöst, wobei ein gelbrotes, mikrokrystallines Pulver entstand, das abgenutscht und mit wenig Methanol und Pentan gewaschen wurde. Es schmolz unscharf bei 120°.

Zur Analyse wurde bei 65° im Hochvakuum getrocknet.

2,010 mg Subst. gaben 0,212 cm³ N_2 (22°; 728 mm)
$C_{27}H_{36}O_7N_4$ (528,6) Ber. N 10,60 Gef. N 11,7%

Dioxim. 20 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 30 mg krystallisiertes Natriumacetat wurden in möglichst wenig heissem Wasser gelöst und nach Zusatz der Lösung von 3—4 mg (IX) in ca. 1 cm³ Methanol 3 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von etwas Wasser wurde im Vakuum eingeengt und das amorph ausgefallene Produkt abgenutscht, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Es wurde aus Methanol umkrystallisiert, wobei ein mikrokrystallines Pulver erhalten wurde. Es schmolz nicht, sintert aber zwischen 180 und 200° (Zers.). Zur Analyse wurde 1 Stunde bei 85° im Hochvakuum getrocknet.

2,718 mg Subst. gaben 0,194 cm³ N_2 (17°; 721 mm)
$C_{21}H_{32}O_3N_2$ (360,48) Ber. N 7,77 Gef. N 7,97%

Dioxy-diginan (XI).

1,5 g Diginigenin (I) wurden in zwei Portionen mit Hydrazin-hydrat und Natriumäthylat 8 Stunden bei 180° reduziert (Ansatz D). Das rohe Reduktionsprodukt wurde nicht getrennt, sondern direkt im Molekularkolben bei 0,02 mm und 150° destilliert, wobei 1,23 g farbloses, teilweise krystallines Destillat resultieren. Das Destillat wurde in 3 cm³ Eisessig gelöst, mit 245 mg Platin(IV)-oxyd versetzt und in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Die Hydrierung war nach 20 Minuten beendet und es wurden nach Abzug der für das Platinoxyd berechneten Menge 115 cm³ Wasserstoff (= 1,33 Mol H_2 ber. auf $C_{21}H_{34}O_2$) aufgenommen. Nach Filtration wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand (1,23 g) zur Verseifung evtl. entstandener Ester mit der Lösung von 1,25 g Kaliumhydroxyd in 25 cm³ Methanol 10 Minuten unter Rückfluss gekocht. Nach Zu-

[1]) *O. L. Brady*, Soc. **1931**, 756.

satz von Wasser wurde das freie Alkali mit Kohlendioxyd neutralisiert, das Methanol im Vakuum entfernt und die krystalline Fällung abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Umkrystallisieren aus Äther gab 350 mg Dihydro-desoxo-diginigenin (III) in Form farbloser Nadeln vom Smp. 180—188°. Die ätherische Mutterlauge wurde eingedampft und der Rückstand aus Methanol umkrystallisiert, wobei 110 mg Dioxy-diginan in Form farbloser viereckiger Platten resultierten, die bei etwa 100° opak wurden, bei 135—140° teilweise schmolzen und sich in Nadeln umwandelten, die definitiv bei 152—153° schmolzen. Nochmaliges Umkrystallisieren aus Aceton lieferte Platten, die bei etwa 105° opak wurden und sich bei 140—142° ohne zu schmelzen in prismatische Nadeln umwandelten, die bei 153—154° schmolzen. Zur Analyse und Drehung wurde das Produkt im Hochvakuum bei 150° Blocktemperatur sublimiert. Das sublimierte Material zeigte einen Schmelzpunkt von 155—156° ohne vorherige Umwandlung und eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{22} = +25{,}4^0 \pm 2^0$ (c = 0,944 in Chloroform).

9,564 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = +0{,}24^0 \pm 0{,}02^0$.

3,765 mg Subst. gaben 10,85 mg CO_2 und 3,79 mg H_2O

$C_{21}H_{36}O_2$ (320,50) Ber. C 78,69 H 11,32%
Gef. „ 78,64 „ 11,26%

Das Diol gab mit Digitonin keine Fällung und lieferte, in wenig Chloroform gelöst, mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung.

Die vereinigten Mutterlaugen (0,79 g), aus denen (III) und (XI) durch Krystallisation abgetrennt worden waren, wurden über eine Säule von 25 g Aluminiumoxyd *(M.-B.)* chromatographisch getrennt. Aus den mit Benzol-Äther (1 : 1) eluierbaren Anteilen liessen sich noch 270 mg krystallisiertes (III) und aus den mit absolutem Äther eluierbaren Fraktionen noch 90 mg krystallisiertes (XI) gewinnen. Die mit anderen Lösungsmitteln erhaltenen Fraktionen lieferten noch sehr erhebliche Mengen öliges Material.

Dioxy-diginan-diacetat.

35 mg Dioxy-diginan (XI) vom Smp. 153° wurden mit 0,4 cm³ absolutem Pyridin und 0,3 cm³ Essigsäure-anhydrid 16 Stunden bei 20° stehen gelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurde ein Öl erhalten, das in Pentan leicht löslich war und auch bei −15° nicht krystallisierte. Es wurde bei 0,02 mm und 150° Badtemperatur destilliert und das Destillat durch 1,5-stündiges Kochen mit überschüssiger 0,02-n. methylalkoholischer Kalilauge quantitativ verseift.

28,102 mg Subst. verbrauchten 6,23 cm³ 0,02-n. KOH

$C_{25}H_{40}O_4$ (404,57) Ber. $-COCH_3$ 21,2 Gef. $-COCH_3$ 19,1%

Die Aufarbeitung des austitrierten Ansatzes gab 21 mg Dioxy-diginan, das die charakterischen Umwandlungen zeigte. Es stellte viereckige Platten dar, die bei ca. 110° opak wurden und sich bei 140° in Nadeln umwandelten, die bei 150—152° schmolzen.

Dioxo-diginan (XII).

a) Aus reinem Dioxy-diginan (XI). 20 mg Dioxy-diginan vom Smp. 153° wurden in 0,35 cm³ Eisessig gelöst, mit 0,7 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 14 mg CrO_3) versetzt und 16 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum stark eingeengt, mit wenig Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die wässrige Lösung enthielt noch freie Chromsäure. Die Ätherlösung wurde mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingeengt und mit Pentan versetzt. Beim Stehen schieden sich 14,5 mg farblose Nadeln aus, die bei 140—141° schmolzen. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{13} = +39{,}5^0 \pm 2^0$ (c = 1,012 in Aceton).

10,246 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +0{,}40^0 \pm 0{,}02^0$.

Zur Analyse wurde im Molekularkolben bei 0,01 mm und 120° Badtemperatur sublimiert, dann aus Äther-Pentan umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 20—30° getrocknet.

4,358 mg Subst. gaben 12,740 mg CO_2 und 3,97 mg H_2O

$C_{21}H_{32}O_2$ (316,46) Ber. C 79,70 H 10,20%
Gef. „ 79,78 „ 10,43%

b) Aus den Mutterlaugen von (II). 220 mg im Hochvakuum destillierte Mutterlaugen von (II) (Ansatz A) wurden mit Platin(IV)-oxyd in Eisessig hydriert. Nach üblicher Aufarbeitung liessen sich durch Umkrystallisieren aus Äther 48 mg Dihydro-desoxo-diginigenin (III) vom Smp. 186—188° abtrennen. Die ölige Mutterlauge (170 mg) wurde in 4 cm³ Eisessig gelöst, mit 4 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung (= 80 mg CrO_3) versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, worauf alle Chromsäure verbraucht war. Die übliche Aufarbeitung gab nur Neutralprodukt, aus dem sich durch chromatographische Trennung (analog wie bei Ansatz B; siehe unten) 42 mg Keton (IV) isolieren liessen.

In einem zweiten Versuch mit 225 mg solcher Mutterlaugen (Ansatz B) wurde wieder hydriert und das hydrierte Material analog mit 90 mg Chromtrioxyd oxydiert. Es war auch hier keine freie Chromsäure mehr nachweisbar. Das neutrale Oxydationsprodukt (216 mg) wurde in absolutem Benzol gelöst und über eine mit Benzol bereitete Säule aus 7 g Aluminiumoxyd *(M.-B.)* nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Zum Nachwaschen dienten je 50 cm³ der in folgender Tabelle genannten Lösungsmittel:

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand
1—2	abs. Benzol	Kryst., Smp. 137—141°
3—4	„ „	Öl
5—6	„ „	Spuren Kryst., Smp. ca. 170°
7	Benzol-Äther (19 : 1)	„ „ „ 170°
8	„ „ (9 : 1)	„ „ „ 170°
9—10	„ „ (4 : 1)	„ „ „ 170°
11—13	„ „ (1 : 1)	viel Öl
14—17	abs. Äther	„ „
18	Aceton-Äther (1 : 1)	Öl + Spur Kryst.
19	„ „	Spuren

Die Fraktionen 1—2 gaben nach Waschen mit etwas Pentan Krystalle, die nach nochmaligem Umkrystallisieren aus Methanol 8 mg farbloser Nadeln lieferten, die sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe als (XII) erwiesen.

Die Fraktionen 6—10 lieferten nach Umkrystallisieren aus Äther-Pentan und Aceton-Pentan 82 mg des Ketons (IV) vom Smp. 174—177°.

In beiden Versuchen ist offenbar für die Oxydation zu wenig Chromsäure verwendet worden.

Dioxo-diginan-bis-[2,4-dinitro-phenylhydrazon].

5 mg Dioxo-diginan wurden in wenig Methanol gelöst und mit der Lösung von 25 mg 2,4-Dinitro-phenylhydrazin-sulfat in Methanol nach *Brady*[1]) versetzt, wobei fast sofort eine orange Fällung entstand. Nach ½ Stunde wurde abgenutscht und aus Essigester-Alkohol umkrystallisiert, wobei ein orangegelbes mikrokrystallines Pulver erhalten

[1]) *O. L. Brady*, Soc. **1931**, 756.

wurde, das nach vorherigem Sintern bei 185° schmolz. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 85° getrocknet.

2,695 mg Subst. gaben 0,387 cm³ N_2 (18°; 726 mm)
$C_{33}H_{40}O_8N_8$ (676,65) Ber. N 16,55 Gef. N 16,09%

Diginan (XIII).

20 mg Dioxo-diginan (XII) vom Smp. 140°, 0,1 cm³ Hydrazin-hydrat und die Lösung von 20 mg Natrium in 1 cm³ absolutem Alkohol wurden im Bombenrohr 8 Stunden auf 180° erhitzt. Hierauf wurde mit Salzsäure angesäuert, mit Pentan ausgeschüttelt und die Pentanlösung mehrmals mit konz. Schwefelsäure, dann mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der krystallisierte Rückstand wurde im Molekularkolben bei 0,02 mm und 70—80° Badtemperatur sublimiert und das Sublimat aus Methanol umkrystallisiert, wobei 9 mg irisierender Blättchen vom Smp. 75—77° erhalten wurden. Nochmaliges Umkrystallisieren aus Aceton lieferte ebensolche Krystalle von unverändertem Schmelzpunkt. Das Produkt gab, in wenig Pentan gelöst, auf Zusatz von Tetranitromethan keine Gelbfärbung.

Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{20} = +24^0 \pm 4^0$; $[\alpha]_{5461}^{20} = +27{,}5^0 \pm 4^0$ (c = 0,445 in Chloroform).

5,512 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0{,}13^0 \pm 0{,}02^0$; $\alpha_{5461}^{20} = +0{,}15^0 \pm 0{,}02^0$.

Zur Analyse wurde das von der Drehung zurückgewonnene Material aus Methanol umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 70—80° sublimiert.

2,987 mg Subst. gaben 9,516 mg CO_2 und 3,286 mg H_2O
$C_{21}H_{36}$ (288,50) Ber. C 87,42 H 12,58%
Gef. „ 86,94 „ 12,31%

Die Krystalle gaben bei der Mischprobe mit Pregnan, Allopregnan, 17a-Methyl-D-homo-androstan und 17a-Methyl-D-homo-ätiocholan starke Schmelzpunktserniedrigungen.

Als Modellversuch wurden 20 mg Ätio-cholan-dion-(3,17)[1]) analog reduziert, wobei 14 mg Ätio-cholan[2]) in Form langer Nadeln vom Smp. 79° resultierten. Da die spez. Drehung dieses Stoffes noch nicht beschrieben ist, wurde sie bestimmt: $[\alpha]_D^{15} = +3^0 \pm 2^0$; $[\alpha]_{5461}^{15} = +5^0 \pm 2^0$ (c = 0,989 in Chloroform).

9,884 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0{,}03^0 \pm 0{,}02^0$; $\alpha_{5461}^{15} = +0{,}05^0 \pm 0{,}02^0$.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule Zürich (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

---

[1]) *A. Butenandt, K. Tscherning, H. Dannenbaum,* Z. physiol. Ch. **248**, 205 (1937).
[2]) *A. Butenandt, H. Dannenbaum,* Z. physiol. Ch. **229**, 199 (1934).

27. Hydrogénolyse des esters benzyliques au contact des catalyseurs au nickel

par **Y. R. Naves.**

(7 I 44)

Il y a trente ans, *Sabatier* et *Murat*[1]) ont constaté l'hydrogénolyse de l'acétate de benzyle à 180° sur nickel[2]). *Rosenmund* et *Zetsche*[3]) ont étendu l'hydrogénolyse au benzoate de benzyle, à l'anisate d'anisyle, au contact de palladium et à la température d'ébullition du xylène[4]). *Adkins* et ses collaborateurs ont observé l'hydrogénolyse de divers esters et anhydrides[5])[6])[7]) au contact de nickel-kieselguhr ou de « copper-chromite » à des températures de l'ordre de 150—250° et sous de fortes pressions d'hydrogène (100 à 200 atm.). Celle des glycérides à 200° sous 15 à 20 atmosphères, sur nickel-kieselguhr, a été appliquée industriellement à la production d'acides gras[8]).

La mise en contact de cinnamate de benzyle, d'hydrogène et de catalyseur de *Raney* élève la température à 45—47°. L'échauffement étant jugulé, l'absorption d'hydrogène atteint aisément, à 30°, 2 molécules, en deux phases distinctes (v_1/v_2 = environ 10); elle est moins sélective à 50°. Le produit de la réaction est un mélange de toluène et d'acide phényl-propionique. Après l'absorption d'une molécule d'hydrogène à 30°, il est constitué de cinnamate de benzyle, de phényl-propionate de benzyle, de toluène, d'acide phényl-propionique, il est exempt d'acide cinnamique. L'hydrogénation étant effectuée à 135—140° sous 10 atm. d'hydrogène, il se forme de l'acide dibenzyl-α,α′-succinique.

L'hydrogénolyse atteint le phényl-propionate de benzyle et non le cinnamate de benzyle, ainsi qu'en témoigne l'addition d'acide cinnamique au système.

La production d'acide dibenzyl-succinique à partir du cinnamate de benzyle doit être expliquée par l'hydrogénolyse de l'ester correspondant, engendré selon une réaction analogue à l'« hydrodimérisation » mentionnée par *Weidlich* et *Meyer-Delius*[9]). Deux molécules

---

[1]) C. r. **156**, 426 (1913).

[2]) Pour rendre la réaction complète il convient d'opérer en présence d'une amine neutralisante telle que la N-diméthyl-cyclohexylamine: *Covert, Adkins*, Am. Soc. **54**, 1651 (1932); *Adkins*, Reactions of hydrogen with organic compounds over Nickel and Copper chromite catalysts, 77, Wisconsin University (1937).

[3]) B. **54**, 641 (1921).

[4]) Ils ont noté une action empêchante du toluène: „Das Toluol wirkt als Antiferment der reduktiven Esterspaltung."

[5]) *Wocjik, Covert, Adkins*, Am. Soc. **55**, 1669 (1933).

[6]) *Wocjik, Adkins*, Am. Soc. **55**, 1095 (1933).

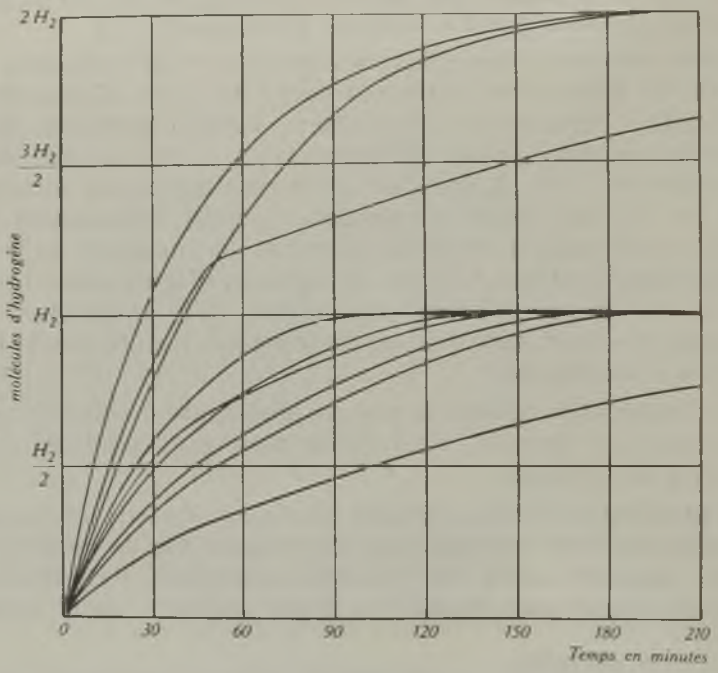
[7]) *Mc. Clellan, Connor*, Am. Soc. **63**, 484 (1941).

[8]) *Kaufmann*, Studien auf dem Fettgebiet, 231, 252, 260, Berlin (1936).

[9]) B. **74**, 1203 (1941).

d'ester cinnamique s'unissent en α et l'hydrogénation du complexe est sans doute facilitée par la faculté que possède le catalyseur de *Raney* de fixer l'hydrogène « atomique »[1]).

Ainsi que le montre le graphique 1, l'hydrogénolyse au contact du nickel de *Raney*, en présence d'alcool éthylique ou d'acétate d'éthyle, de l'acétate[2]), du laurate, du succinate, du benzoate, du salicylate de benzyle *est complète et rapide à basse température.* L'acétyl-acétate d'éthyle se comporte de manière assez particulière (voy. partie expérimentale) en raison de la décomposition simultanée de l'acide acétyl-acétique. L'emploi du dioxane comme dissolvant inhibe la réaction d'hydrogénolyse, la présence de diméthyl-aniline la ralentit.



Graphique 1.

Hydrogénolyse des esters benzyliques.

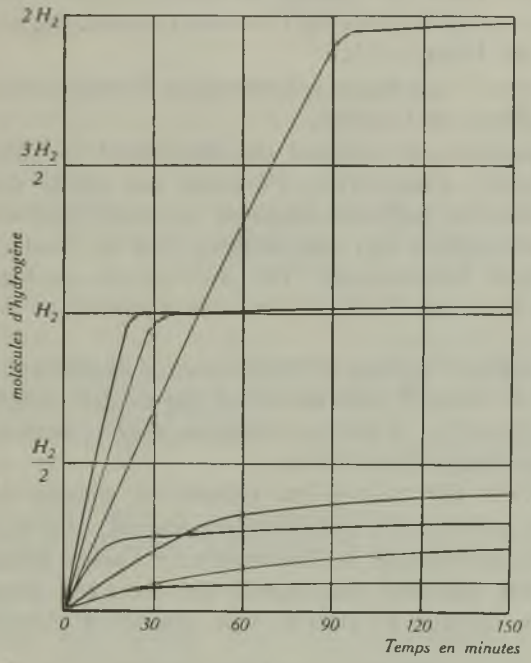
De haut en bas, aux points d'abscisse 120 minutes: cinnamate à 50°, succinate à 50°; cinnamate à 30°; acétate à 50°; acétate à 50° (acétate d'éthyle); laurate à 50°; salicylate à 50°; benzoate à 50°; phénylpropionate à 30° (dans l'alcool sauf indication contraire).

---

[1]) *Huntzicker, Kahlenberg,* Tr. Am. Electrochem. Soc. **63**, 349 (1933); *Paul,* Bl. [5] **7**, 312 (1940).

[2]) La présence d'acide acétique ne paraît pas nuire à l'activité du catalyseur. Le catalyseur de *Raney* a déjà été utilisé en milieu acétique: *Foresti,* Chimica & Industria **20**, 250 (1938).

L'hydrogénolyse, inscrite dans le graphique 2, des acétates d'anisyle, de p-crésyl-carbinyle, de p-cuminyle, de méthyl-phényl-carbinyle, d'éthyl-phényl-carbinyle, est peu active. Celle de l'acétate de diméthyl-phényl-carbinyle, de l'acétate et du phényl-acétate de β-phényl-éthyle, du phényl-acétate de p-crésyle est pratiquement nulle. Le cinnamate de cinnamyle, l'acétyl-trans-isoeugénol, le benzoyl-eugénol sont hydrogénés à l'exclusion d'hydrogénolyse appréciable.



Graphique 2.

Hydrogénation et (ou) hydrogénolyse d'esters divers.

De haut en bas, aux points d'abscisse 30 minutes: benzoate de l'eugénol à 50°; acétate de l'isoeugénol à 50°; cinnamate de cinnamyle à 30°; acétate de l'éthyl-phényl-carbinol à 50°; acétate de l'alcool p-toluique à 50°; acétate du méthyl-phényl-carbinol à 50°; acétate de l'alcool cuminique à 50° (tous dans l'alcool).

On a déjà mentionné l'hydrogénolyse aisée de l'alcool benzylique[1]), du diphényl-carbinol, du triphényl-carbinol, du diphényléthylène-glycol symétrique[2]), des éthers benzyliques[3]), de l'acide et du nitrile mandéliques, de l'indanone-(1), de l'indane-dione-(1,3)[4]) et la résistance des produits dont la liaison CO se trouve en β du radical arylique.

[1]) Voy. *Sabatier-Häuber*, Die Katalyse in der organischen Chemie, Leipzig (1927); *Adkins, Cramer*, Am. Soc. **52**, 43 (1930); *Diwoky, Adkins*, Am. Soc. **53**, 1869 (1931); *Kailan, Stüber*, M. **62**, 97 (1933); *Palfray*, Bl. [5] **7**, 407 (1940); *Adkins*, Reactions of hydrogen etc., 70, 123.

[2]) *Adkins, Cramer*, loc. cit.

[3]) *van Duzee, Adkins*, Am. Soc. **57**, 147 (1935).

[4]) *Zelinsky, Packendorf*, B. **67**, 301 (1934).

Henrich a précédemment montré[1]) qu'une liaison insaturée entre atomes de carbone accroît la réactivité des fonctions voisines. L'édifice phénylique tri-insaturé active les fonctions phényliques, pour autant que son influence ne se disperse point dans une chaîne plus longue ou ramifiée (alcools benzyliques secondaires ou tertiaires). Une substitution au noyau par un radical attractif (OCH_3, CH_3, C_3H_7) en o- ou en p- restreint la capacité affinitaire du carbone benzylique (acétates de p-crésyl-carbinyle, d'anisyle, de p-cuminyle).

Diverses huiles essentielles renferment des proportions notables de benzoate de benzyle (essences de feuille de cannelier, de canange, d'ylang-ylang[2]). Dans un grand nombre de parfums naturels de fleurs, cet ester est le satellite de l'acétate de benzyle, et chez certains du salicylate de benzyle[3])[4]).

Divers esters benzyliques entrent dans la composition de résines, de gommes-résines, de baumes.

L'hydrogénolyse au contact de catalyseur de *Raney* doit permettre de déceler, d'identifier, d'évaluer ces esters dans les huiles essentielles, dans les parfums naturels ou leurs distillats[5]), dans les fractions de distillation qui rassemblent l'un ou l'autre d'entre eux, dans les produits balsamiques. On peut encore envisager d'évaluer l'alcool benzylique par l'acétylation des essences et l'essai d'hydrogénolyse.

On doit utiliser l'acétate d'éthyle comme dissolvant de préférence à l'alcool, car ce dernier peut estérifier des acides libérés ou déplacer l'alcool benzylique[6]). A 50° la réduction de la pression partielle de l'hydrogène prolonge l'opération.

L'acidité est déterminée en retour au moyen d'acide chlorhydrique et en présence de phtaléine du phénol, afin de tenir compte des conditions spéciales de la titrimétrie de l'acide benzoïque[7])[8]).

Nous avons éprouvé une partie du domaine d'application en examinant une essence de jasmin, une essence d'ylang-ylang.

Partie expérimentale.

Les microanalyses ont été effectuées par Mlle *D. Hohl*.

Les p. de f. sont corrigés; δ représente la dispersion spécifique de la réfraction, à la puissance 10^4, dans l'intervalle F—C.

---

[1]) Théories de la chimie organique 148, Paris (1925).

[2]) *Glichitch, Naves*, Parfums France **10**, 40 (1932).

[3]) Cfr. *Naves, Mazuyer*, Les Parfums Naturels, 160, 378, Paris (1939); ég. *Naves, Grampoloff*, Helv. **25**, 1502 (1942).

[4]) Voy. ég. *Pfau*, Helv. **21**, 1524 (1938).

[5]) Voy. *Naves, Mazuyer*, loc. cit., 172.

[6]) Permutations entre esters: *Connor, Adkins*, Am. Soc. **54**, 4681 (1932); *Mc. Clellan, Connor*, Am. Soc. **63**, 485 (1941).

[7]) *Meyer, Hartmann*, B. **58**, 3956 (1905); *Grethe*, Z. Nahr. Genussm. **49**, 51 (1925); *Kolthoff*, Massanalyse, 2ème éd. 161, Berlin (1931).

[8]) Un mélange d'acide acétique, d'acide benzoïque et d'acide salicylique est étudié en déterminant l'acidité totale, l'acide salicylique par colorimétrie, la somme acide salicylique et acide benzoïque après transformation de ce dernier en acide salicylique. *Edwards Nauji, Hassan*, Analyst **62**, 172, 178 (1937).

La pureté des esters étudiés a été contrôlée par leur examen physique, par l'analyse fonctionnelle, éventuellement par l'analyse élémentaire. En vue de l'économie des frais d'impression nous ne rapportons ici que les caractères des esters inédits.

Acétate de d, l-méthyl-phényl-carbinyle. Le produit décrit par *Kenyon, Phillips, Taylor*[1]) (d_4^{20} = 0,930; n_D^{19} = 1,5048) n'est pas cet ester. P. d'éb. = 72—73°/4 mm.; d_4^{20} = 1,0277; $n_{\backslash}^{20}$ =1,49043; n_D^{20} = 1,49432; n_F^{20} = 1,50374; disp. = 133,1; δ = 129,5; RM_D tr. = 46,51 (RM_D calc. = 46,43); I.E. tr. = 341,3 (I.E. calc. = 343,0).

3,830 mgr. subst. ont donné 10,260 mgr. CO_2 et 2,590 mgr. H_2O

$C_{10}H_{12}O_2$ Calculé C 73,13 H 7,37%
Trouvé „ 73,06 „ 7,57%

Acétate de diméthyl-phényl-carbinyle.

p. d'éb. = 81—82°/2,8 mm.; d_4^{20} = 1,0200; n_C^{20} = 1,49347; n_D^{20} = 1,49734; n_F^{20} = 1,50673; disp. = 132,6; δ = 130,0; RM_D tr. = 51,13 (RM_D calc. = 51,05); I.E. tr. = 314,0 (I.E. calc. = 314,5).

3,470 mgr. subst. ont donné 9,430 mgr. CO_2 et 2,420 mgr. H_2O

$C_{11}H_{14}O_2$ Calculé C 74,11 H 7,92%
Trouvé „ 74,12 „ 7,80%

Techniques d'hydrogénation et d'hydrogénolyse.

Les hydrogénations à basse température et au voisinage de la pression atmosphérique ont été effectuées sur une secoueuse, dans un appareil du type *Kempf*[2]). L'hydrogénation à la pression superatmosphérique a été réalisée dans un autoclave en acier, muni d'un agitateur tournant à 140 t./m.

La température étant réglée à 28/30° ou à 50/52°, la pression partielle de l'hydrogène, en présence d'alcool 95,6%, au contact de la phase liquide était donc d'environ 650 ou 510 mm. Hg. et dès la saturation en toluène, env. 610 ou 415 mm. (en présence d'acétate d'éthyle: 540 ou 480 mm. et 500 ou 385 mm.).

Sauf spécification contraire, il a été utilisé par essai 15 gr. d'ester, 5 gr. de catalyseur pesé humide (3,1 à 3,3 gr. sec) et 50 cm³ de dissolvant. Mesures de volume effectuées toutes les cinq minutes au cours de la phase la plus active, toutes les 15 minutes autrement. Précision ± 15 cm³.

Vitesse et taux d'hydrogénolyse. Nous avons figuré graphiquement le cours de l'hydrogénation ou de l'hydrogénolyse traduit par l'absorption d'hydrogène. Terme de l'hydrogénolyse vérifié par acidimétrie par rapport à la consommation d'hydrogène, pour l'acétate d'éthyle comme dissolvant. Allure de la consommation d'hydrogène à 50° pour les esters résistants; voy. tableau.

Mol. H_2 fixé par	15 min.	30 min.	60 min.
acétate de p-crésyl-carbinyle	11	20,5	33
acétate de p-cuminyle	4	8	9
acétate de p-anisyle	4,3	6,7	8,2
acétate de *d, l*-méthyl-phényl-carbinyle	6	10	14
acétate de *d, l*-éthyl-phényl-carbinyle	22	24	26
trans-cinnamate de cinnamyle (Styracine)[3]) . .	1	2	4
acétyl-trans-isoeugénol[4])	0,5	1	2

[1]) Soc. **1933**, 173.

[2]) *Hinrichsen, Kempf*, B. **45**, 2110 (1912); *Kempf*, Ch. Z. **37**, 58 (1913).

[3]) Après 2 h. comme temps zéro. [4]) Après 1 h. comme temps zéro.

L'hydrogénolyse de l'acétate de diméthyl-phényl-carbinyle, de l'acétate et du phénylacétate de β-phényléthyle, du phénylacétate de p-crésyle et du benzoyleugénol est nulle.

Cas de l'acétyl-acétate de benzyle. L'hydrogénolyse de cet ester est perturbée en raison de la dégradation acétonique de l'acide[1]). Après une période d'absorption d'hydrogène, le volume mesuré au gazomètre croît en raison de la libération d'anhydride carbonique. Le renouvellement de l'atmosphère donne lieu à une nouvelle absorption apparente. Après deux purges, l'hydrogénolyse est totale. On agite encore jusqu'à fixité du volume gazométrique. CO_2 évalué par précipitation à l'état de carbonate de baryum correspond à 94% de la dégradation de l'acide libérable par l'hydrogénolyse complète. Une évaluation de l'acétone n'a pas été tentée car ce corps est hydrogéné dans les conditions de l'essai[2]).

Hydrogénolyse du phényl-propionate de benzyle.

Identification du toluène. Le toluène a été obtenu à partir de trois essais d'hydrogénolyse au départ de cinnamate de benzyle. Le distillat alcool-toluène a été dilué d'eau salée; la fraction toluénique traitée par boratisation, séchée sur sodium et distillée, pesait 15,3 gr.

p. d'éb. = 110,5—111°/760 mm.; $d_4^{15} = 0{,}8715$; $n_C^{20} = 1{,}49507$; $n_D^{20} = 1{,}49968$; $n_F^{20} = 1{,}51122$; $(n_F - n_C) \times 10^4 = 151{,}5$[3]).

Identification d'acide phényl-propionique. Le résidu cristallin demeurant après distillation du dissolvant et du toluène a été distillé, p. d'éb. = 128—129°/2,8 mm., et ensuite cristallisé dans l'eau.

p. de f. = 50,5—51°; $d_4^{51} = 1{,}0784$; $n_C^{51} = 1{,}50629$; $n_D^{51} = 1{,}51056$; $n_F^{51} = 1{,}52093$; $(n_F - n_C) \times 10^4 = 146{,}4$; $\delta = 135{,}7$; $RM_D = 41{,}66$ (calculée = 41,70); I. acide = 372,0 (calculé = 372,0).

0,5 gr. d'acide et 0,5 gr. d'hydrate d'hydrazine ont été chauffés 6 heures au bain-marie. Le produit brut, p. de f. = 97—99°, recristallisé dans l'acétate d'éthyle, a donné l'hydrazide β-phényl-propionique, p. de f. = 102,5—103° [4]).

Réactions partielles au départ de cinnamate de benzyle.

Le traitement de 15 gr. de cet ester a été répété trois fois, en limitant respectivement la consommation d'hydrogène à 25; 50 et 75% de 2 H_2/mol. Acidité des mélanges résultants calculée comme acide phényl-propionique en % mol. par rapport à l'ester mis en œuvre: trouvé 3,9; 8,9 et 53,6%. Acide brut isolé par l'intermédiaire du sel de potassium: p. de f. = 47—48°.

Acide dibenzyl-α,α'-succinique. L'acide phényl-propionique brut résultant du traitement de 2000 gr. de cinnaméine à 135—140° sur 40 gr. de catalyseur, et sous 10 atmosphères (durée 16 heures) a abandonné une fraction peu soluble dans le chloroforme (35 gr.). Après recristallisations dans l'éther, puis dans l'eau, il est demeuré 8,4 gr. de produit, p. de f. = 197—202° (déc.); indistillé au-dessous de 160°/2 mm.

3,890 mgr. subst. ont donné 10,364 mgr. CO_2 et 2,150 mgr. H_2O

$C_{18}H_{18}O_4$	Calculé C 72,45	H 6,09%
	Trouvé „ 72,63	„ 6,18%

[1]) Cfr. *Widmark*, Acta Med. Scand. **53**, 394 (1920), C. **1921**, I, 9; *Ljunggen*, B. **56**, 2469 (1923).

[2]) Cfr. *Adkins, Covert*, Am. Soc. **54**, 4116 (1932).

[3]) Cfr. *Timmermans, Martin*, J. chim. phys. **23**, 744 (1926).

[4]) *Curtius, Jordan*, J. pr. [2] **64**, 300 (1901).

0,2 gr.; 0,15 gr. de résorcine; 1 cm³ d'acide sulfurique ont été chauffés 5 minutes à 200°, en malaxant. Le produit, coulé dans un excès d'ammoniaque à 10%, a donné une solution rose brunâtre fluorescant en jaune-vert.

1 gr. et 10 cm³ d'anhydride acétique chauffés 20 minutes au bain-marie ont conduit à l'anhydride de l'acide cis-dibenzyl-succinique inactif, p. de f. = 104°, qui, chauffé 6 heures avec 10 cm³ du même réactif et après hydrolyse, a donné l'acide racémique, p. de f. = 172°[1]).

Essences de jasmin et d'ylang-ylang.

I. Essence de jasmin obtenue par distillation d'extrait éthéropétrolique[2]).

$d_4^{20} = 0{,}9967$; $\alpha_D^{20} = +0{,}23°$; $n_C^{20} = 1{,}49312$; $n_D^{20} = 1{,}49694$; $n_F^{20} = 1{,}50621$; $(n_F - n_C) \times 10^3 = 130{,}9$; esters (par saponification, exprimés comme acétate de benzyle) = 53,6%.

II. Essence d'ylang-ylang de Manille:

$d_4^{20} = 0{,}9533$; $\alpha_D^{20} = -24{,}70°$; $n_C^{20} = 1{,}49217$; $n_D^{20} = 1{,}49602$; $n_F^{20} = 1{,}50537$; $(n_F - n_C) \times 10^4 = 132{,}0$; esters (par saponification, exprimés comme acétate de benzyle) = 56,4%; alcools libres (par formylation, exprimés comme alcool benzylique) = 15,2%.

III. Fraction de l'essence d'ylang-ylang (72%), distillant au-dessous de 120°/3,5 mm.

IV. Fraction de la même essence (27%), non distillée dans ces conditions.

V. Mélange de 0,500 gr. d'essence d'ylang-ylang; 0,250 gr. d'acétate de benzyle; 0,250 gr. de benzoate de benzyle.

Il a été utilisé environ 1 gr. de chacun des produits I à V; 0,2 gr. de catalyseur *Raney*; 10 cm³ d'acétate d'éthyle, à 30°. Dès ralentissement de l'absorption d'hydrogène, il a été ajouté encore 0,2 gr. de nickel. Les acidités initiale et résultante ont été titrées en retour.

Par gr. de subst. de	I	II	III	IV	V
cm³ d'hydrogène absorbés (corr.)	86	95	112	49	114
IA initial	1,6	1,8	2,4	5,6	1,1
IA après hydrogénolyse	172	188	228	96	257
Acidité d'hydrogénolyse exprimée en acétate de benzyle	45,2	49,8	60,3	25,65	68,1
Acidité d'hydrogénolyse exprimée en benzoate de benzyle	—	—	—	34,45	—
Acidité d'hydrogénolyse exprimée en cm³ d'hydrogène	67,5	74,2	90,5	36	103

Le pourcentage d'esters trouvé dans III et IV a permis le calcul des esters décelables dans l'essence initiale: 50,25%. Le pourcentage des esters existant dans l'essence II calculé d'après l'hydrogénolyse de V et l'addition d'ester est 50,8%.

RÉSUMÉ.

Les esters de l'alcool benzylique sont hydrogénolysés rapidement au contact du nickel de *Raney*, à la température atmosphérique et sous des pressions d'hydrogène inférieures à l'atmosphère. Dans les

[1]) Cfr. *Cordier*, C. r. **192**, 362 (1931) et *Stobbe, de Vigier*, B. **37**, 2668 (1904).

[2]) *Naves, Grampoloff*, Helv. **25**, 1506 (1942); technique, voy. *Naves, Mazuyer*, Les Parfums Naturels, **173**, Paris (1939).

mêmes conditions divers esters d'alcools et de phénols apparentés de près à l'alcool benzylique en sont que lentement ou pas hydrogénolysés.

Cette constatation se prête à la recherche, à l'identification et à l'évaluation des esters benzyliques dans des huiles essentielles, des parfums naturels, des baumes et des drogues apparentées.

Laboratoires Scientifiques de *L. Givaudan & Cie, S. A.*,
Vernier-Genève

---

28. Spektralanalytische Natrium-Spurenbestimmung in Reinstaluminium

von **F. Rohner.**

(7. I. 44.)

Keine der zahlreichen bisher vorgeschlagenen gravimetrischen und volumetrischen Analysenvorschriften zur Bestimmung von Natrium in Aluminium arbeitet bei Gehalten unter 0,01% befriedigend. Trotz zeitraubender Arbeitsweise ergeben sie Resultate von mangelhafter Reproduzierbarkeit. Es sollte deshalb versucht werden, eine zuverlässige und im Betriebslaboratorium leicht durchführbare Bestimmungsmethode für Natrium-Gehalte bis herunter zu mindestens 0,001% in Raffinal (Reinstaluminium 99,99–99,998%) auszuarbeiten.

Im Jahr 1932 wurde von *Bridges* und *Lee*[1]) eine spektralanalytische Bestimmungsmethode für Natrium in Aluminium und seinen Legierungen vorgeschlagen. Es kann ihr aber nur halbquantitativer Charakter zuerkannt werden, bedingt durch die Anwendung von einfacher Gleichstrom-Bogenanregung und Auswertung durch visuellen Linienvergleich ohne Bezugnahme auf eine Grundmetall- oder andere Vergleichslinie. Zudem machen die dem gewöhnlichen Gleichstrombogen an Aluminium-Elektroden innewohnenden Störmöglichkeiten umständliche Einrichtungen nötig: Kohleträgerelektrode auf rotierendem Elektrodenhalter und strombetätigte Expositionsuhr. Nachfolgend wird eine quantitative spektralanalytische Arbeitsvorschrift mitgeteilt, die zuverlässige Werte bis herunter zu 0,0005% Natrium liefert. Diese Methode arbeitet mit Abreissbogen-Anregung nach *Pfeilsticker*[2]) und Auswertung durch objektive photometrische Bestimmung von Linien-Schwärzungsdifferenzen. Zuerst soll die Arbeitsvorschrift in Kurzfassung wiedergegeben werden. Anschliessend folgt eine Diskussion ihrer Einzelpunkte mit Beschreibung der apparativen Einrichtung und Hinweisen auf etwa mögliche Abänderungen.

[1]) Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. **4**, 265 (1932).

[2]) Z. El. Ch. **43**, 719 (1937); Z. Metallkde. **30**, 211 (1938).

Arbeitsvorschrift.

Probeelektroden: Durch Abschreckguss erhaltene Rundstäbchen von 4½ mm ⌀, flach abgedrehte Stirnflächen, vor der Aufnahme mit Alkohol zu reinigen; Elektrodenabstand 2 mm.

Anregung: *Pfeilsticker*-Abreissbogen, 2 A Wechselstrom, durch rotierenden Synchronschalter 100mal pro Sekunde gezündet; Vorbogen 1 min; Exponieren 1 min; Spektrographen-Spaltbreite 0,03 mm; Zwischenabbildung nach *Zeiss* Mess 266; Ausblenden des Funkenbildes vor dem 2. Kondensor auf 1—2 mm (je nach Spektrographen-Lichtstärke). Aufnahme auf Agfa-Isopan-F-Platte.

Auswertung: Analysenlinie Na I 5889,95 Å, zu beziehen auf Untergrundschwärzung vor dem Aluminium-Bandenkopf 4842,2 Å; die Schwärzungen sind photometrisch zu bestimmen und auf Grund von Leit- resp. Eichprobenaufnahmen nach einem der üblichen Verfahren auszuwerten. Es empfiehlt sich, jedes Stäbchenpaar 4mal aufzunehmen, wobei nach jeder Aufnahme die Funkflächen neu zu überdrehen sind. Die Ergebnisse der Parallelaufnahmen werden gemittelt.

Probestäbchen.

Das Giessen der Probestäbchen kann wie sonst für Spektralproben üblich vorgenommen werden. Das Natrium neigt zwar beim Giessen grösserer Stücke stark zu inhomogener Verteilung. Die kleinen Abmessungen der Spektralstäbchen und das übliche Vergiessen in Abschreckkokille wirken dieser Störungsmöglichkeit aber vorteilhaft entgegen. Für die Bestimmung von Natrium noch eher als für andere Elemente ist jedoch die Bevorzugung kleiner Stäbchendurchmesser ratsam. Bei Schmelzen von normalem Formfüllungsvermögen kann herunter bis zu 4½ mm ⌀ gegangen werden. Vorsicht ist geboten, wenn der Natrium-Gehalt grösserer Fertiggusstücke bestimmt werden soll. Es müssen dazu mehrere Proben an verschiedenen Stellen aus dem Gusstück herausgearbeitet werden; die Ergebnisse der Einzelbestimmungen sind zu mitteln.

Verunreinigungsgefahr.

Die hohe Empfindlichkeit des spektralanalytischen Nachweises – unsere Versuche haben für die von uns angewandte Bogenanregung eine Nachweisgrenze von 0,00002 mg Natrium ergeben – im Verein mit der „Allgegenwart" des Natriums machen ein peinlich sauberes Arbeiten nötig. Die Funkflächen der Probeelektroden werden vor der Aufnahme mit Alkohol gereinigt und müssen dann vor jeder Verunreinigungsmöglichkeit behütet werden. Gerade in dieser Einschleppungsgefahr liegt aber die Überlegenheit der spektralanalytischen Natrium-Spurenbestimmung begründet: Alle bisher vorgeschlagenen Verfahren sind durch langwierige Löse-, Trenn- und Anreicherungsoperationen mit zum Teil grossem Reagenzienverbrauch solcher Natrium-Einschleppungsgefahr weit mehr ausgesetzt als die Spektralanalyse, die an Vorbehandlung wirklich mit einem Minimum auskommt.

Abreissbogen.

Die zur Ausarbeitung des Verfahrens benutzte *Pfeilsticker*-Apparatur ist als Zusatzgerät zum Funkenerzeuger nach *Feussner*[1]) aufgebaut. Fig. 1 zeigt das Schaltschema. Mit dem *Feussner*-Funkenerzeuger unter Hinzufügung eines *Tesla*-Transformators wird der die Zündung des Bogens besorgende Hochfrequenzfunke erzeugt. Die Kapazität des *Feussner*-Funkenerzeugers wird auf 1000 cm reduziert und die Selbstinduktion ganz abgeschaltet. Als Bogenstrom wird anderseits aus dem Lichtnetz über einen Regulierwiderstand Wechselstrom zugeleitet unter Zwischenschaltung einer Siebkette, die die Zuleitung aus dem Netz für den Hochfrequenzstrom sperrt. Der rotierende Synchronunterbrecher des *Feussner*'schen Funkenerzeugers ersetzt zugleich den verstellbaren rotierenden Schalter und die Löschfunkenstrecke der ursprünglichen *Pfeilsticker*-Schaltung. Die Periodizität des Bogens ist auf diese Weise an die Frequenz des Wechselstroms gebunden, man erhält mit 50 Hertz einen 100mal pro Sekunde unterbrochenen Bogen. Eine durch einstellbaren Schalter wählbare Bogenperiodizität würde kaum Vorteile bringen, erfahrungsgemäss aber Störungsmöglichkeiten in dem heiklen Schalter[2]). Diese einfache Schaltung hat sich im Betrieb sehr gut bewährt. Bei geeigneter Anwendung dürften aber auch andere Schaltungen des hochfrequenzgezündeten Abreissbogens zur Natrium-Bestimmung verwendbar sein.

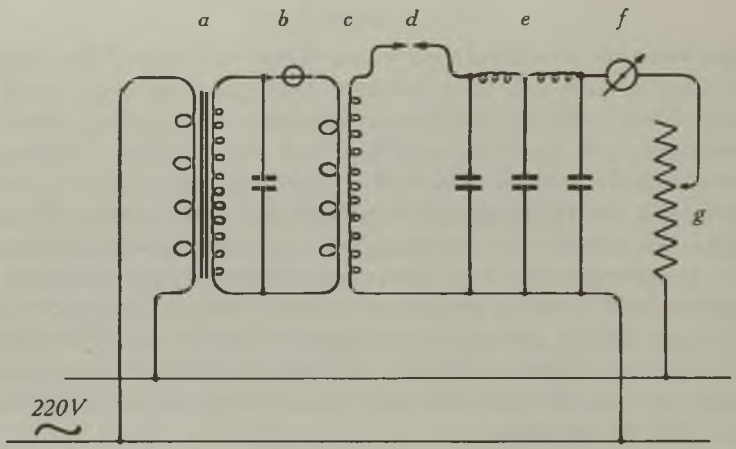


Fig. 1.
Schaltschema des hochfrequenzgezündeten Abreissbogens.
a = Transformator 220/13000 V.
b = rotierender Synchron-Unterbrecher.
c = Tesla-Transformator.
d = Analysen-Bogenstrecke.
e = Siebkette.
f = Amperemeter.
g = Regulierwiderstand.

Vorbogen.

Zur Aufstellung der Aufnahme-Vorschrift wurde in gewohnter Weise der Emissionsverlauf als Zeitfunktion bestimmt. Die Erwartung, dass die leichte Verdampfbarkeit des Natriums eine anfänglich stark abfallende „Abbog"-Kurve ergebe, ähnlich der Abfunkkurve für Magnesium in Al-Mg-Legierungen, bestätigte sich nicht. Die Kurve zeigt im

[1]) *O. Feussner*, Z. techn. Physik **13**, 573 (1932); Z. Metallkde. **25**, 73 (1933); Arch. Eis. Hüttenwesen **6**, 551 (1933); *Zeiss*-Nachr., Heft 4 (1933).

[2]) *O. Findeisen*, Z. Metallkde. **30**, 213 (1938).

Gegenteil einen anfänglichen schwachen Anstieg, so dass die Forderung nach höchst möglicher Empfindlichkeit wie die nach bester Reproduzierbarkeit ein „Vorbogen" ratsam erscheinen lässt. Wahrscheinlich geht das darauf zurück, dass Natrium bei der hohen Temperatur des Bogens nach und nach auch aus relativ tiefen Schichten herausdampft. Die günstige Vorbog-Zeit wurde zu 1 min ermittelt und die Expositionszeit durch geeignete Wahl der Zwischenblende auch zu 1 min eingestellt. Die Aufnahme wird zweckmässig mit dem früher beschriebenen Wechselstativ[1]) durchgeführt. Die beiden Bogenstrecken werden dabei in Serie an dieselbe Bogen-Apparatur angeschaltet. Vorbogen und Exponieren werden also mit derselben Bogen-Stromstärke von 2 A vorgenommen.

Spektrograph.

In Anbetracht der Wellenlänge der Analysenlinie von 5890 Å empfiehlt sich die Verwendung eines Glasspektrographen. In vielen sich zur Hauptsache mit der Bestimmung von Schwermetallen befassenden Laboratorien stehen aber nur Quarzspektrographen zur Verfügung. Viele dieser Apparate sind nun zur Natrium-Bestimmung trotz ihrer bei Wellenlängen > 4000 Å naturgemäss kleinen Dispersion brauchbar. Linienkoinzidenzen sind, abgesehen von der unschädlichen, im Kapitel „Analysenlinien" noch zu behandelnden unvollständigen Trennung des Natrium-Dubletts nicht zu befürchten. Mit Glas-Spektrographen kann allerdings höher exponiert werden, ohne dass störende Untergrundintensitäten auftreten. Auch muss darauf gesehen werden, dass bei Verwendung von Quarz-Spektrographen die Analysenlinie nicht in die erfahrungsgemäss oft mit Emulsionsfehlern behafteten Randpartien der Platten fällt. Bei Apparaten, deren Aufnahmebereich auf der langwelligen Seite nur bis 6000 Å geht, ist diese Gefahr vorhanden. Als Aufnahmematerial kommen natürlich nur panchromatisch sensibilisierte Platten in Frage.

Analysenlinien.

Die zur Auswertung zu verwendende D-Linie des Natriums besteht bekanntlich aus einem Dublett 5890—5896 Å. Dieses Dublett erscheint bei Aufnahme mit einem Glasspektrographen nicht ganz kleiner Dispersion getrennt, und es wird dann die intensivere kurzwellige Linie 5890 Å photometriert. Bei Aufnahme mit Quarzspektrographen wird im allgemeinen das Dublett nicht vollständig getrennt wiedergegeben. In diesem Fall wird das Dublett photometriert als ob es eine einheitliche Linie wäre. Unsere Versuche haben gezeigt, dass daraus für die Genauigkeit der Bestimmung kein Nachteil entsteht. An Empfindlichkeit wird sogar etwas gewonnen. Beträchtliche Schwierigkeiten verursachte das Fehlen einer Aluminium-Bezugslinie in der Nachbarschaft des D-Dubletts. Eine befriedigende Lösung ergab die Heranziehung der Untergrundintensität beim Aluminium-Bandenkopf 4842,2 Å. Der Bandenkopf wird auf den Photometerspalt eingestellt und das Spektrum nach kürzeren Wellenlängen weiterbewegt; die maximale Photometerablesung (entsprechend minimaler Untergrundintensität), die zwischen 4842,2 Å und etwa 4800 Å auftritt, wird dann zur Quotientenbildung verwendet. Eine solche Bezugnahme auf den Untergrund als Vergleichsschwärzung wird auch von *Lundegårdh* bei seiner Flammenspektralanalyse angewendet[2]).

Eichproben.

Es war vorgesehen, die Natrium-Gehalte der Eichproben nach der gravimetrischen Uranylacetat-Methode[3]) festzulegen. Diese galt als zuverlässig, aber für betriebsmässige Ausführung zu umständlich. Es zeigte sich aber, dass sie bei den im vorliegenden Fall hauptsächlich

[1]) *A. v. Zeerleder* und *F. Rohner*, Helv. **23**, 1287 (1940); Z. Aluminium **22**, 519 (1940); Spectrochim. Acta **1**, 400 (1940).

[2]) *H. Lundegårdh*, Die quantitative Spektralanalyse der Elemente, II. Teil, S. 39, Jena 1934.

[3]) *Barber* and *Kolthoff*, Am. Soc. **50**, 1625 (1928); *Bridges* and *Lee*, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. **4**, 265 (1932); *Jander* und *Herrmann*, Z. anorg. Ch. **239**, 67 (1938).

wichtigen Gehalten $< 0{,}01\,\%$ Natrium unzuverlässige Werte ergibt. Aus diesem Grunde hatte man sich mit dem Gedanken anzufreunden, die Gehalte der Eichproben ohne Rückgriff auf irgendeine chemische Methode festzulegen. Das gelang unter Heranziehung der Lösungsspektralanalyse. Die metallischen Eichproben wurden in Salzsäure gelöst und nach Zugabe einer bestimmten Menge von Bariumchlorid mit synthetischen Eichlösungen spektrographiert. Diese lösungsspektralanalytische Natrium-Bestimmung soll in einer nächsten in dieser Zeitschrift erscheinenden Mitteilung beschrieben werden. Als Betriebsmethode ist ihr die eben beschriebene, mit direkter Aufnahme metallischer Proben arbeitende Methode überlegen; sie kommt mit geringerm Arbeitsaufwand aus, ergibt eine grössere Empfindlichkeit und vermeidet die Gefahr von Fehlresultaten durch mit den Reagenzien eingeschlepptes Natrium. Sie benötigt aber nach einer andern Methode bestimmte Eichproben, die ihr mit Hilfe der Lösungsspektralanalyse beschafft werden können.

Genauigkeit der Bestimmung.

Die Erprobung des Bestimmungsverfahrens, resp. die Ermittlung seiner Genauigkeit wird erschwert durch das Fehlen einer zuverlässigen Vergleichsmethode. Die Lösungsspektralanalyse kann nicht als unabhängige Vergleichsmethode betrachtet werden, da die Eichproben auf ihr basieren. Die Genauigkeit des Verfahrens lässt sich aber zu etwa $\pm 12\,\%$ abschätzen. Den grössten Fehlerbeitrag verursacht die ungleichmässige Verteilung des Natriums in den Spektralproben, die in grössern und unter ungünstigern Bedingungen gegossenen Gußstücken noch viel krasser auftritt und leicht Unterschiede von $50\,\%$ und mehr verursachen kann. Streuungen von $\pm 12\,\%$ sind übrigens bei der Grössenordnung der in Frage stehenden Gehalte als durchaus tragbar zu bezeichnen. Ein Ergebnis von beispielsweise $0{,}0017\,\%$ Na statt $0{,}0019\,\%$ Na ist trotz dem prozentual grossen Fehler von $-12\,\%$ als gut zu bezeichnen. Tabelle 1 gibt die Resultate

Tabelle 1.

Probe Nr.	Parallelbestimmungen				Mittelwert % Na
	1	2	3	4	
1	0,0014	0,0012	0,0011	0,0014	0,0013
2	0,0021	0,0019	0,0022	0,0017	0,0020
3	0,0020	0,0015	0,0015	0,0019	0,0017
4	0,0008	0,0011	0,0008	0,0009	0,0009
5	0,0016	0,0012	0,0011	0,0015	0,0013
6	0,0012	0,0014	0,0013	0,0013	0,0013
7	0,0049	0,0039	0,0045	0,0048	0,0045
8	0,0019	0,0018	0,0022	0,0020	0,0020

einer Analysenserie wieder, wobei die Einzelwerte der je 4 Parallelbestimmungen getrennt aufgeführt sind. Es können so die zur Hauptsache von der ungleichmässigen Verteilung des Natriums herrührenden Streuungen abgeschätzt werden.

Die oben angegebene Genauigkeit von ±12 % gilt, unserer Auswertungsvorschrift entsprechend, für den Mittelwert aus den 4 Parallelbestimmungen. Bei den Proben Nr. 7 und 8 handelt es sich übrigens nicht um Reinstaluminium, sondern um Rohmetall. Die untere Bestimmungsgrenze des Verfahrens liegt bei 0,0005 % Na. Die schon in grosser Zahl durchgeführten Natrium-Bestimmungen haben bestätigt, dass Bestimmungsmethoden, die nur bis herunter zu einem Gehalt von etwa 0,01 % Na zuverlässige Werte ergeben, für die Untersuchung von Aluminium wertlos sind, denn die Natrium-Gehalte der untersuchten Metalle lagen mit verschwindenden Ausnahmen unter 0,01 % Na.

Zusammenfassung.

Es wird eine einfach durchzuführende und zuverlässige Ergebnisse liefernde spektralanalytische Bestimmungsmethode für Natrium-Gehalte bis herunter zu 0,0005 % in Aluminium mitgeteilt. Metallische Probestäbchen werden direkt spektrographiert unter Anregung mit hochfrequenzgezündetem Wechselstromabreissbogen. Die Auswertung geschieht über photometrisch zu bestimmende Schwärzungsdifferenzen der D-Linie Na I 5889,95 Å gegen den Untergrund beim Aluminium-Bandenkopf 4842,2 Å. Um den auf ungleichmässige Verteilung des Natriums zurückgehenden Fehlerbeitrag zu reduzieren werden jeweils 4 Parallelbestimmungen ausgeführt und die Ergebnisse gemittelt. Auf diese Weise ist eine Bestimmungsgenauigkeit von ±12 % erzielbar.

Neuhausen, Forschungslaboratorium
der Aluminium-Industrie-A.G.

29. Über ein neues lineares Benzo-dipicolin, das 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolin

(51. Mitteilung über Stickstoff-Heterocyclen[1]))

von **Paul Ruggli** und **Fritz Brandt.**

(8. I. 44.)

Vor fünf Jahren hat der eine von uns gemeinsam mit *P. Hindermann* und *H. Frey*[2]) zum erstenmal ein lineares Benzo-dipicolin und durch Abbau der Seitenketten das Benzo-dipyridin (I) mit Stickstoffatomen in 1,8-Stellung dargestellt, nachdem wir vorher eine Reihe von Derivaten dieses tricyclischen Ringsystems beschrieben hatten[3]). Die lineare Verknüpfung der Ringe war durch passende Wahl des Ausgangsmaterials (4,6-Diamino-isophtalaldehyd, 4,6-Dinitro-m-phenylen-dipropionsäure-ester, 4,6-Diamino-1,3-diacetylbenzol, 4,6-Dinitro-1,3-xylylen-di-chlormalonester) gewährleistet. So wurde z. B. der 4,6-Diamino-isophtalaldehyd mit 2 Mol Acetessigester beidseitig zum Ring kondensiert, worauf die Carboxylgruppen abgebaut wurden. Anschliessend liessen sich auch die Methylgruppen eliminieren, so dass das eigentliche „Doppelchinolin" (I) als Grundkörper erhalten wurde. In der neuen Nomenklatur ist dieses lineare Benzo-dipyridin als 1,8-Anthrazolin zu bezeichnen.

Die lineare Verknüpfung dreier heterocyclischer Sechsringe stösst bekanntlich oft auf Schwierigkeiten, weil „freiwillige" Ringschlüsse immer die angulare Kondensation bevorzugen. Dies zeigt sich deutlich bei der „verdoppelten" Chinolinsynthese nach *Skraup*, indem aus den drei Phenylendiaminen nur die angular gebauten (phenanthrenartigen) Phenanthroline entstehen.

Bei der Fortführung unserer Arbeiten wurde im Einvernehmen mit der Redaktion des *Beilstein*-Handbuches eine kurze und eindeutige Nomenklatur aufgestellt[4]), nach der — analog den Phenanthrolinen — die vom Anthracengerüst abgeleiteten Diaza-anthracene I und II kurz als 1,8-Anthrazolin (I) und 1,5-Anthrazolin (II) bezeichnet werden.

[1]) Letzte Mitteilung, Helv. **25**, 936 (1942).

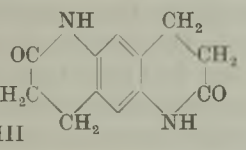
[2]) *P. Ruggli, P. Hindermann* und *H. Frey*, Helv. **21**, 1066 (1938).

[3]) *P. Ruggli* und *A. Staub*, Helv. **19**, 439 (1936); *P. Ruggli* und *P. Hindermann*, Helv. **20**, 272 (1937); *P. Ruggli* und *H. Reichwein*, Helv. **20**, 905 (1937); *P. Ruggli* und *A. Staub*, Helv. **20**, 918 (1937).

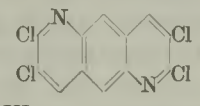
[4]) Sie wurde in den Grundzügen von *P. Ruggli* und *E. Preiswerk*, Helv. **22**, 478 (1939), wiedergegeben.

Diese Benennung ist vor der gleichfalls korrekten als 1,8- und 1,5-Diaza-anthracen zu bevorzugen, namentlich wenn weitere bezifferte Substituenten voranzustellen sind.

Mit Derivaten des noch unbekannten 1,5-Anthrazolins (II) beschäftigt sich die vorliegende Arbeit. Die Synthesen sind hier schwieriger, weil man in diesem zentrosymmetrischen System zwei Stickstoffatome — die ja meist als Nitrogruppen eingeführt werden — in p-Stellung bringen muss, was mehr Stufen erfordert. Der erste Vorstoss in dieser Reihe wurde von *P. Ruggli* und *E. Preiswerk*[1]) unternommen, indem sie die aus Nitro-terephtalaldehyd zugängliche Nitro-p-phenylen-diacrylsäure als Ausgangsmaterial verwendeten und durch Hydrierung, Ringschluss, erneute Nitrierung, Hydrierung und nochmaligen Ringschluss in das 2,6-Dioxo-octahydro-1,5-anthrazolin (III) verwandelten.



III



IV

Wenn man an die Schwierigkeiten denkt, die solche cyclische Säureamide schon im einfachen Falle des Carbostyrils der Eliminierung des Sauerstoffs zum Zwecke der Chinolinbildung darbieten, so setzte unser doppelseitiges Säureamid (III) dem beidseitigen Abbau zum Grundkörper noch grössere Schwierigkeiten entgegen. Es konnte damals wohl noch ein nicht analysenreines Tetrachlorderivat (IV)[2]) dargestellt werden, doch ergab dieses mit Jodwasserstoff bei hoher Temperatur nur kleine Mengen farbloser chlorfreier Nadeln, die sich vom erwarteten 1,5-Anthrazolin (II) durch das Plus von einer Molekel Wasser unterschieden und deshalb nicht als sichergestellte Substanz betrachtet werden konnten.

Als wir neuerdings die Synthese in veränderter Form wieder aufnahmen, hatten wir vor allem das Bestreben, die unerwünschten Carbostyrilringe zu umgehen, indem wir die o-Aminogruppen nicht mit einem Carboxyl, sondern mit einem Keton oder einem β-Ketonsäure-ester Wasser abspalten liessen, wobei man allerdings die Methylgruppe des Ketons als Seitenkette in Kauf nehmen musste. So sind wir über einige Zwischenstufen zum 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolin (XXVI) gelangt.

Nach unseren früheren guten Erfahrungen mit 4,6-Diaminoisophtalaldehyd käme für die vorliegende Arbeit der isomere 2,5-Diamino-terephtalaldehyd in Frage. Dieser ist in der Patentliteratur[3]) als gelbe Nadeln vom Schmelzpunkt oberhalb 300° erwähnt, die aus

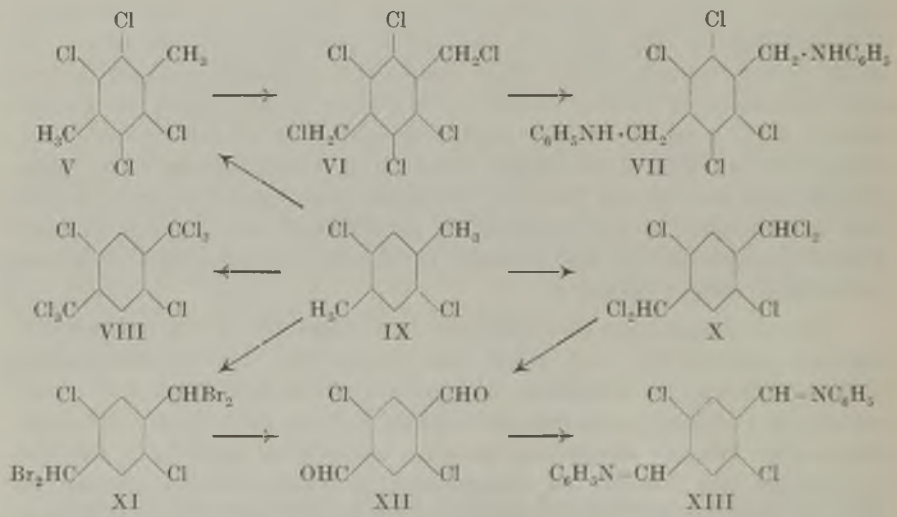
[1]) Helv. **22**, 478 (1939). [2]) loc. cit., S. 493.

[3]) *I. G. Farbenindustrie A.G.*, Verfahren zur Herstellung von Amino-aldehyd-Verbindungen; D.R.P. 521724, Beispiel 5; C. **1931**, I. 3722; **1931**, II. 1925; Frdl. **17**, 561.

2,5-Dichlor-terephtalaldehyd durch Einwirkung von p-Toluolsulfamid und nachfolgende saure Verseifung erhalten werden.

Die Darstellung solcher kernchlorierter Dialdehyde durch Verseifung der im Kern und in den Seitenketten chlorierten Xylole sowie die Darstellung der erforderlichen Halogenkohlenwasserstoffe ist von der Fa. *L. Cassella & Co.* (Erfinder *J. Schmidlin*) im D.R.P. 360 414[1]) an Beispielen der meta-Xylolreihe beschrieben; die Abkömmlinge der p-Reihe sind in einer Tabelle kurz erwähnt, darunter ein Dichlor-terephtalaldehyd vom Smp. 150°, vermutlich die 2,5-Dichlorverbindung. In andern Patenten ist der 2,5-Dichlor-terephtalaldehyd (XII) als gelbe Nadeln aus Nitrobenzol[2]) vom Smp. 158°[3]) erwähnt und seine Verwendung zur Darstellung von Triphenylmethanfarbstoffen[3]) sowie seine Umsetzung mit Säure-amiden[4]), Toluolsulfamid, Phenolen und Pyrazolanthron[5]) angegeben.

Da nur kurze Angaben vorliegen, haben wir zahlreiche Chlorierungen des 2,5-Dichlor-p-xylols (IX) vorgenommen, die je nach den Bedingungen (Dauer, Temperatur, Lösungsmittel) zu den folgenden Produkten führten, bei denen die Stellung der Halogenatome aus der Umsetzbarkeit mit Anilin gefolgert wurde. Die erhaltenen Substanzen (V bis XIII) sollen nur im experimentellen Teil kurz beschrieben werden, da Ausbeute und Reinheit im Laboratoriumsversuch zu wünschen übrig liessen und die Endpunktsbestimmung, namentlich bei Verwendung von Lösungsmitteln, schwierig ist.



Wir haben daher unsere Versuche einheitlich auf das Halogen Brom umgestellt und das leicht zugängliche 2,5-Dibrom-p-xylol (XIV) als Ausgangsmaterial gewählt, das sich bei 120—170° im Licht einer starken Glühlampe in den Seitenketten glatt bromieren lässt.

---

[1]) C. **1923**, II. 406; Frdl. **14**, 378.

[2]) *I. G. Farbenindustrie A. G.*, F.P. 686341; C. **1930**, II. 3654.

[3]) *Farbenfabriken vorm. F. Bayer & Co.*, D.R.P. 243749; C. **1912**, I. **763**; Frdl. **10**, 219. [4]) C. **1931**, I. 3722. [5]) C. **1931**, II. 1925; **1932**, I. 3012; **1930**, II. 3654.

So wurde das ω,ω'-Tetrabrom-2,5-dibrom-p-xylol (XV) mit 73% der Theorie erhalten. Die richtige Verteilung der 6 Bromatome geht daraus hervor, dass beim Umsatz mit Anilin 4 Bromatome in ionisierter Form abgespalten werden. Für die eigentliche Verseifung der bromierten Seitenketten zum Dialdehyd erwies sich der Ersatz der konz. Schwefelsäure durch Schwefelsäure-monohydrat als wesentlich. Man arbeitet bei 125° und zwar im Vakuum, um das aus dem abgespaltenen Bromwasserstoff entstehende freie Brom möglichst rasch zu entfernen. So erhält man mit 84% Ausbeute den noch unbekannten 2,5-Dibrom-terephtalaldehyd (XVII) in gelblichen flachen Nadeln vom Smp. 189°.

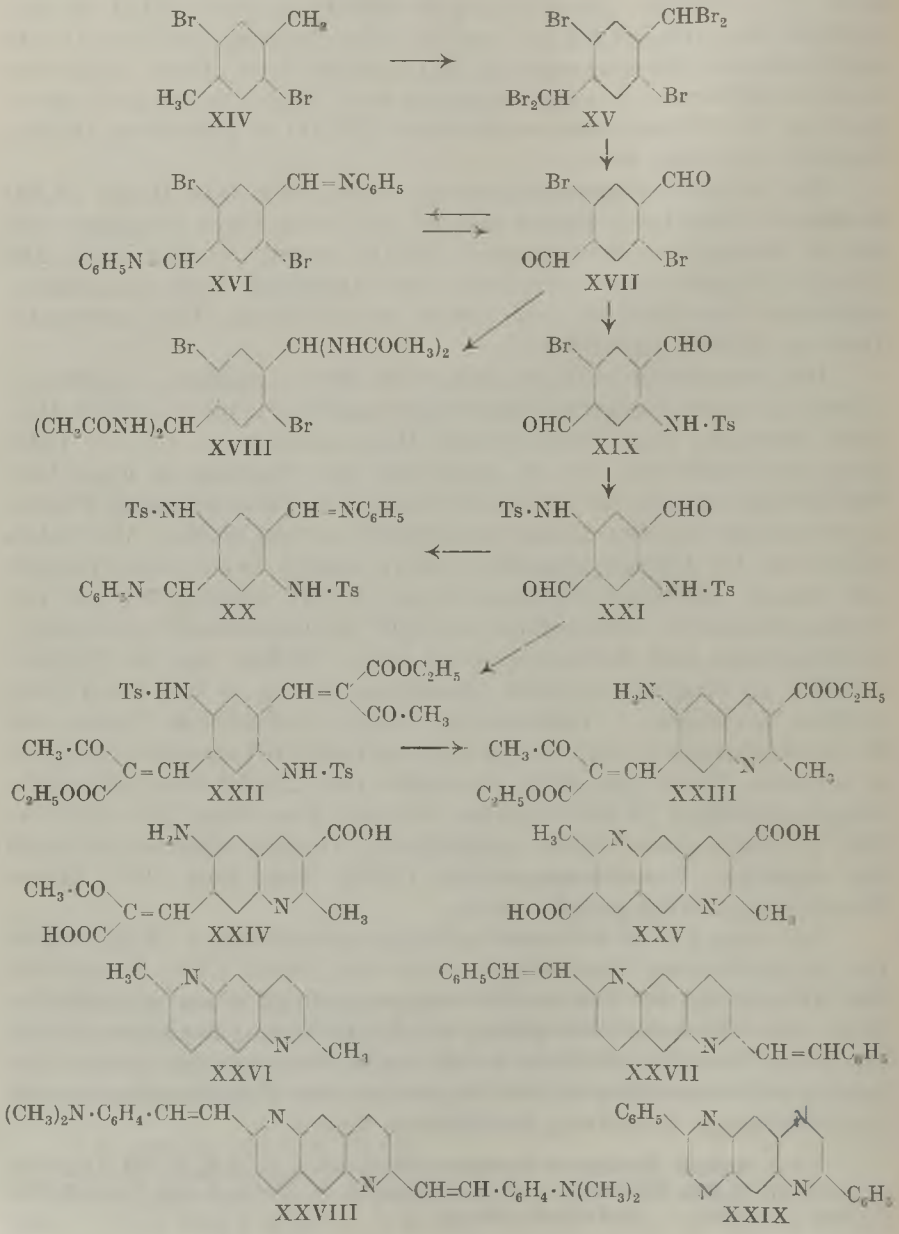
Zur weiteren Charakterisierung wurde auch sein Dianil (XVI) dargestellt, das durch kurzes Kochen mit verdünnter Salzsäure wieder zu Dibrom-terephtalaldehyd (XVII) verseift werden kann. Die Aldehydgruppen lassen sich ferner mit Acetamid durch Zusammenschmelzen bei 130° in das schön krystallisierte Tetra-acetamid-Derivat (XVIII) überführen[1]).

Die Bromatome im Kern sind durch die o-ständigen „negativen" Aldehydgruppen einigermassen aufgelockert und zeigen in dieser Hinsicht Analogien zum Verhalten der Halogenatome im α-Chlor- (oder Brom-)anthrachinon, wo sie gleichfalls in o-Stellung zu einer Carbonylgruppe stehen und durch den bekannten Toluolsulfamid-Prozess in die entsprechenden Amine übergeführt werden können. Wir haben daher den für Dichlor-terephtalaldehyd bereits bekannten Prozess[2]) auf unsern Dibrom-terephtalaldehyd (XVII) übertragen, der mit Toluolsulfamid in Nitrobenzol von 160° bei Gegenwart von Kupferkatalysatoren und Kaliumcarbonat etwas leichter als der Dichloraldehyd zu reagieren scheint. Allerdings gelang es erst nach zahlreichen Varianten — insbesondere durch stufenweisen Zusatz des Kaliumcarbonats — eine Laboratoriumsvorschrift auszuarbeiten, die in sicherer Weise mit 53% Ausbeute den 2,5-Di-toluolsulfamido-terephtalaldehyd (XXI) in gelben Prismen vom Smp. 241—243° liefert. In einem etwas milder ausgeführten Versuch erhielten wir auch das einseitige Umsetzungsprodukt (XIX) vom Smp. 183°, dessen Bearbeitung zurückgestellt wurde.

Von dem 2,5-Di-toluolsulfamido-terephtalaldehyd (XXI) wurde ein krystallisiertes Piperidinsalz sowie das Dianil (XX) dargestellt. Die Abspaltung der Toluolsulfo-Gruppen gelingt schon mit eiskalter konz. Schwefelsäure, doch gelang uns die Isolierung des kurz erwähnten freien Diamino-aldehyds bisher nicht. Dies war für unsere Versuche nicht wesentlich, da sich die gewünschten Kondensationen auch ohne vorherige Verseifung durchführen liessen.

[1]) Vgl. ähnliche Reaktionen bei andern Aldehyden, z. B. *Roth*, A. **154**, 74 (1870); *A. Reich*, M. **25**, 933, 936 (1904); *A. E. Martell* und *R. M. Herbst*, J. Org. Chem. **6**, 878; C. **1942**. II. 1780. [2]) Frdl. **17**, 561.

Am eingehendsten haben wir bisher die Kondensation mit Acetessigester untersucht, wobei wir anfangs das isolierte Piperidinsalz, später mit gleichem oder besserem Erfolg den freien 2,5-Di-toluolsulfamido-terephtalaldehyd (XXI) in Gegenwart einiger Tropfen Piperidin mit dem Ester umsetzten. Unter diesen Bedingungen löst sich



das Sulfamid (XXI) im Acetessigester bei 70° und scheidet alsbald das Kondensationsprodukt (XXII) in vorzüglicher Ausbeute ab.

Der 2,5-Di-(p-toluolsulfamido)-terephtalal-di-acetessigester (XXII) ist ein schwerlöslicher, aber gut definierter farbloser Körper. Er lässt sich mit 4 Mol Anilin zu einem Kondensationsprodukt vereinigen.

Der Ringschluss zu Chinolin- und Anthrazolin-Derivaten lässt sich nach Belieben stufenweise oder in einer Operation durchführen. Löst man den Di-toluolsulfamido-terephtalal-diacetessigester (XXII) in konz. Schwefelsäure bei Temperaturen unter 40°, so werden beide Toluolsulfogruppen durch Verseifung abgespalten, indem sich zugleich ein Ringschluss zum Chinolinderivat vollzieht. Der entstehende 2-Methyl-3-carbäthoxy-6-amino-chinolin-7-(methenyl-acetessigester) (XXIII) ist frei von Schwefel und stellt eine primär-tertiäre Base dar, die auch beim Verdünnen mit Wasser gelöst bleibt und erst nach erfolgter Neutralisation ausgeschieden wird. Die Substanz bildet erwartungsgemäss ein Pikrat.

Lässt man die Einwirkung der konz. Schwefelsäure etwas weiter gehen, d. h. steigert man die Temperatur auf 90—95°, so werden die Estergruppen verseift. Die entstehende 2-Methyl-3-carboxyl-6-amino-chinolin-7-(methenyl-acetessigsäure) (XXIV) fällt beim Verdünnen auch ohne Neutralisation aus, da die basischen Gruppen durch die beiden entstandenen Carboxyle kompensiert werden. Die Säure gibt ein krystallisiertes Dinatriumsalz.

Behandelt man diese Dicarbonsäure (XXIV) weiter mit heisser konz. Schwefelsäure, d. h. treibt man die Temperatur auf 98—100°, so tritt der zweite Ringschluss ein und man erhält die 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolin-3,7-dicarbonsäure (XXV), die sich als Dicarbonsäure einer ditertiären Base erst nach teilweiser Neutralisation bis auf das p_H von etwa 4—5 isolieren lässt. Sie ist aus den drei zuvor beschriebenen Substanzen (XXII, XXIII, XXIV) zu erhalten und wird daher präparativ zweckmässig unter Überspringen der Zwischenstufen direkt dargestellt, indem man den Di-toluolsulfamido-terephtalal-diacetessigester (XXII) mit konz. Schwefelsäure allmählich auf 100° erwärmt.

Diese Dimethyl-anthrazolin-dicarbonsäure (XXV) ist als amphoterer Körper löslich in starken Säuren oder Basen und zeigt — wie die meisten in dieser Arbeit beschriebenen Körper — einen hohen Schmelzpunkt bzw. Zersetzungspunkt (etwa 320°). Ihre Decarboxylierung wurde nach verschiedenen Methoden durchgeführt. Wir benutzten zunächst in vielen Versuchen die früher bei einem ähnlichen Beispiel[1]) bewährte „trockene Methode" des Erhitzens mit Bariumoxyd und Kupferpulver, doch liegt die zur Kohlendioxydabspaltung

[1]) *P. Ruggli, P. Hindermann* und *H. Frey*, Helv. **21**, 1083 (1938).

erforderliche Temperatur recht hoch, bei 240—250°, so dass ein Teil durch Zersetzung verloren geht und der Ansatz nur mit kleinen Mengen gelingt. Als geeigneter erwies sich schliesslich das Erhitzen mit Chinolin in Gegenwart von Kupferpulver und Kupferchromit, das etwas gemässigtere Temperaturen (215—220°) erfordert und ein reineres Produkt in besserer Ausbeute ergibt, da sich die entstandene Base (XXVI) trotz ihrer chemischen Ähnlichkeit mit dem benutzten Chinolin leicht durch Destillation des letzteren mit Wasserdampf abtrennen lässt. Die Ausbeute von 30% der Theorie ist in Anbetracht der schwierigen Decarboxylierung durchaus befriedigend.

Das 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolin (XXVI) ist als ditertiäre Base in Säuren löslich und durch Sodalösung wieder fällbar. Es ist eine prachtvoll krystallisierende Substanz, die aus Alkohol oder Alkohol-Wasser leicht in glänzenden Nadeln von 3 cm Länge erhalten wird. Sie neigt beim Umkrystallisieren zur Bildung von Hydraten, die an der Luft rasch verwittern und in die wasserfreie Base übergehen. Trotz ihres hohen Schmelzpunkts von 238° (unter Zers.) ist sie in warmen Lösungsmitteln gut löslich und zeigt unter der Quarzlampe intensive blaue bis violette Fluoreszenz, die an die typische Fluoreszenz des ähnlich gebauten Anthracens erinnert. Vom Anthracen unterscheidet sie sich jedoch durch die hellgelbe Farbe. Ihr Absorptionsmaximum liegt bei 2500 Å, ebenso wie beim Anthracen.

Das 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolin (XXVI) ist in Säuren löslich; ein Oxalat, Perchlorat und Dipikrat wurden krystallisiert erhalten. Am schönsten krystallisiert das orangegelbe Chromat. Alle Eigenschaften stellen die Base in Parallele zu dem früher dargestellten 2,7-Dimethyl-1,8-anthrazolin[1]).

Die Methylgruppen zeigen die vom Picolin und Chinaldin her bekannte Kondensationsfähigkeit mit Aldehyden. Analysiert wurde das Dibenzalderivat (XXVII) und das mit p-Dimethylamino-benzaldehyd erhaltene rote Kondensationsprodukt (XXVIII). Ersteres zeigt unter der Quarzlampe eine starke gelbgrüne Fluoreszenz, letzteres leuchtet rot.

Die beschriebenen Ringkondensationen lassen sich nach verschiedenen Seiten hin erweitern und vervollständigen. So lässt sich der Di-toluolsulfamido-terephtalaldehyd (XXI) mit Acetophenon durch blosses Erhitzen kondensieren. Es entsteht in einer Operation das in olivstichig gelben Blättchen krystallisierende 2,6-Diphenyl-1,5-anthrazolin (XXIX). Weitere Kondensationen werden zur Zeit untersucht.

Überblick über die praktische Durchschnitts-Ausbeute.

Für das Hauptprodukt dieser Arbeit (XXVI) lassen sich folgende Zahlen geben: Aus 100 g p-Xylol erhält man 123 g 2,5-Dibrom-terephtalaldehyd (XVII), 100 g Di-

[1]) Helv. **21**, 1068, 1078, 1079 (1938).

toluolsulfamid-Derivat (XXI), 105 g Kondensationsprodukt mit Acetessigester (XXII), 25 g 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolin-3,7-dicarbonsäure (XXV) und schliesslich 5 g 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolin (XXVI).

Experimenteller Teil.

(Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert.)

Versuche mit 2,5-Dichlor-p-xylol.

2,5-Dichlor-p-xylol (IX).

Da die Angaben von *H. Wahl*[1]) über die Kernchlorierung des p-Xylols sehr kurz sind und etwas abgeändert wurden, geben wir im folgenden unsere Arbeitsweise wieder: 50 g p-Xylol werden mit 5 g feinem Eisenpulver versetzt und in einem vor Licht geschützten 250 cm³-Kolben bei 12—15° Innentemperatur chloriert, wobei das Einleitungsrohr die Flüssigkeit nicht berühren soll. Die Kühlung erfolgt durch Wasser, dem nach Bedarf von Zeit zu Zeit etwas Eis zugesetzt wird. Der ziemlich rasche Chlorstrom wird durch konz. Schwefelsäure geleitet und so reguliert, dass die Temperatur etwa 3 Stunden lang in den genannten Grenzen bleibt. Wenn nach dieser Zeit die Krystallisation beginnt, wird der Chlorstrom verlangsamt, wobei man zugleich die Innentemperatur im Kolben auf 30° steigen lässt. Nach einer weiteren Stunde ist gewöhnlich die berechnete Gewichtszunahme von 32,3 g erreicht und die Masse erstarrt zu einem von Flüssigkeit durchsetzten Krystallbrei.

Abweichend von der Literaturangabe wurde die gesamte Masse in 400 cm³ heissem Methylalkohol[2]) gelöst, vom Katalysator abfiltriert und nach Stehen im Eisschrank in der Kälte abgesaugt. Man erhielt 43 g = 50% der Theorie farblose Blättchen vom Smp. 66—67°, der bei weiterem Umkrystallisieren auf den Lit.-Smp. 70—71° steigt.

Der nicht krystallisierende Rest der Substanz besteht aus einem dunkelgelben Öl, das bei der Destillation im Vakuum neben 6 g harzigem Rückstand 24,7 g Destillat ergab. Da der Siedepunkt bei 12 mm Druck kontinuierlich von 62° auf 102° stieg, dürfte das Destillat neben Monochlor-p-xylol ein Gemisch isomerer Dichlor-p-xylole enthalten. Jedenfalls entstand bei erneuter Chlorierung keine nennenswerte Menge von 2,5-Dichlor-p-xylol.

Chlorierung der Seitenkette; 1,4-Di-(dichlormethyl)-2,5-dichlorbenzol (X).

Ein weithalsiger Rundkolben von 250 cm³ wurde mittels Gummistopfen mit einem Einleitungsrohr, Thermometer und Steigrohr (Calciumchlorid-Verschluss) verbunden. Man brachte 20 g 2,5-Dichlor-p-xylol (Smp. 71°) und 12 g Tetrachlorbenzol[3]) als Lösungsmittel in den Kolben und leitete im Licht einer 300 Watt-Lampe einen mit konz. Schwefelsäure gewaschenen Chlorstrom von 3 Blasen pro Sekunde auf die Oberfläche, indem man die Innentemperatur auf 120—130° hielt. In 4½ bis 5 Stunden war ungefähr die für Aufnahme von 4 Chloratomen in den Seitenketten berechnete Gewichtszunahme von 15,8 g erreicht. Die hellgelbe Flüssigkeit erstarrte beim Erkalten zu einem Krystallbrei, den man durch Absaugen vom Lösungsmittel trennte: 21 g weisse Krystalle vom Rohschmelzpunkt 68—69° (ber. 36 g). Aus der Mutterlauge liessen sich durch Eindampfen noch einige Gramm gewinnen.

Die Krystalle waren leichtlöslich in kaltem Äther, Petroläther und warmem Methylalkohol. Die 21 g wurden in 200 cm³ kochendem Methylalkohol gelöst. Es krystallisierten 13,5 g vom Smp. 71—74°; nach Eindampfen bis auf 100 cm³ krystallisierten weitere 3,3 g

[1]) C. r. **196**, 1900 (1933); **200**, 936 (1935).

[2]) Diese Behandlung macht die Abtrennung der Isomeren durch Erwärmen mit Schwefelsäure unnötig.

[3]) Das Lösungsmittel wurde durch 1-stündiges Chlorieren von technischem Trichlorbenzol bei 120—130° im Licht erhalten und dürfte aus einem Gemisch von Tetrachlorbenzolen bestehen.

vom Smp. 69—71°, so dass die Ausbeute insgesamt 16,8 g betrug. Die Mutterlauge gab nur noch flüssige Produkte.

Nach mehrmaligem Umkrystallisieren erhielt man lange farblose Nadeln vom konstanten Smp. 72,5—74°. Der Siedepunkt lag bei 313°, übereinstimmend mit der Lit., die den Schmelzpunkt nicht erwähnt[1]).

5,450 mg Subst. gaben 6,055 mg CO_2 und 0,755 mg H_2O

$C_8H_4Cl_6$ Ber. C 30,69 H 1,27%
Gef. „ 30,30 „ 1,55%

Die Umsetzung mit überschüssigem Anilin durch 14-stündiges Erwärmen im siedenden Wasserbad ergab nach Zusatz von Wasser und der zum Weglösen des Anilins erforderlichen Menge Mineralsäure ein hellbraunes Pulver, das sich oberhalb 260° dunkel färbte. Die Formel eines Tetra-anilin-derivats (vermutlich zum Triphenylmethan-derivat umgelagert) wird durch die Löslichkeit in verdünnter Salzsäure, Fällbarkeit durch Alkalien und durch die Analyse gestützt.

3,547 mg Subst. gaben 0,319 cm³ N_2 (16,5°, 741 mm)
3,075 mg Subst. gaben 1,660 mg AgCl

$C_{32}H_{28}N_4Cl_2$ Ber. N 10,39 Cl 13,18%
Gef. „ 10,57 „ 13,46%

2,5-Dichlor-terephtal-aldehyd (XII).

Die Verseifung der Substanz X erfolgte derart, dass pro Gramm 3 cm³ konz. Schwefelsäure verwendet und die Ölbadtemperatur von 150° bis 170° gesteigert wurde. Nach 20 Minuten langem Erhitzen auf 170° war die Chlorwasserstoffentwicklung beendet. Die Flüssigkeit wurde nach Erkalten auf Eis gegossen und der braune Niederschlag vom Rohsmp. 144° abgesaugt; Ausbeute fast quantitativ.

Der rohe Aldehyd wurde zur Reinigung in wenig Alkohol gelöst und mit überschüssigem Anilin erwärmt. Beim Erkalten krystallisierte das Dianil (XIII), welches aus kochendem Chloroform oder günstiger aus Essigester umkrystallisiert goldgelbe Blättchen vom Smp. 213—214° bildet.

4,104 mg Subst. gaben 0,295 cm³ N_2 (23,5°, 745 mm)

$C_{20}H_{14}N_2Cl_2$ Ber. N 7,93 Gef. N 8,11%

Zur Verseifung wurden 0,4 g Dianil nach Benetzen mit 1 cm³ Alkohol durch 5 Minuten langes Kochen mit 10 cm³ 10-proz. Salzsäure zerlegt. Der freie 2,5-Dichlorterephtal-aldehyd (XII) krystallisiert entsprechend den Angaben des Patentes[2]) am besten aus mässig warmem Nitrobenzol in gelben Nadeln vom Smp. 157—158° (Lit. 158° [3])). Er ist auch destillierbar bzw. im Vakuum sublimierbar.

Weitere Chlorierungsprodukte aus 2,5-Dichlor-p-xylol.

Aus den zahlreichen Chlorierungen, welche in der Diss. *F. Brandt* (Basel 1944) beschrieben sind, seien hier auszugsweise einige Ergebnisse wiedergegeben.

2,3,5,6-Tetrachlor-p-xylol (V). In der erwähnten Chlorierungsapparatur wurden 20 g 2,5-Dichlor-p-xylol vom Smp. 71° ohne Lösungsmittel und ohne Katalysator im Licht chloriert. Bei einer Geschwindigkeit von 3 Blasen pro Sekunde und einer Innentemperatur von 130—140° wurde die Masse innert einer Stunde blauviolett. Nach einer weiteren halben Stunde betrug die Gewichtszunahme 8,9 g, während sich für den Eintritt von 2 Chloratomen 7,9 g Zunahme berechnen. Da die Masse grösstenteils fest wurde, unterbrach man die Chlorierung und trennte das reichlich entstandene Harz durch Verreiben mit 100 cm³ Äther ab. Der ungelöste Teil wog 6,6 g und ergab nach Umkrystallisieren aus Essigester, dann aus Eisessig farblose Nadeln vom scharfen Smp. 216,5—217°.

[1]) D.R.P. 360414, Frdl. **14**, 378.
[2]) F.P. 686341 der *I. G. Farbenindustrie A.G.*, C. **1930**, II. 3654.
[3]) D.R.P. 243749, Frdl. **10**, 219.

4,763 mg Subst. gaben 6,780 mg CO_2 und 1,135 mg H_2O
4,466 mg Subst. ergaben 10,490 mg AgCl

$C_8H_6Cl_4$ Ber. C 39,37 H 2,45 Cl 58,17%
Gef. „ 38,82 „ 2,67 „ 58,16%

Da die Substanz nach 1-stündigem Erwärmen mit Pyridin im Wasserbad keine Chlorionen ergab, müssen alle Chloratome im Kern stehen. Der Körper wurde bereits von *E. Rupp*[1]) durch 3-tägige Chlorierung in Gegenwart von Eisen erhalten, Smp. 218°. *R. L. Datta* und *F. V. Fernandes*[2]) beobachteten ihn neben andern Produkten bei der Einwirkung von Königswasser; Smp. 217,5°.

1,4-Di-(chlormethyl)-2,3,5,6-tetrachlor-benzol oder Hexachlor-p-xylol (VI). Diese noch unbekannte Substanz wurde erhalten, als man 30 g rohes 2,5-Dichlor-p-xylol in 15 g technischem Trichlorbenzol-Gemisch bei 120—130° erwärmte und unter starker Belichtung einen raschen Chlorstrom (5—8 Blasen pro Sekunde) einleitete. Nach 6 Stunden betrug die Gewichtszunahme 23,4 g; dies entspricht ungefähr der Zunahme, welche sich für den Eintritt von 4 Chloratomen berechnet, doch wird unter diesen Bedingungen ein Teil des Chlors vom Lösungsmittel verbraucht. Nach Erkalten schmolz die Krystallmasse unscharf von 90° an. Sie war leicht löslich in kaltem Schwefelkohlenstoff, Benzol oder Essigester, gut löslich in heissem Alkohol, wenig löslich in Äther. Sie wurde mehrmals mit Alkohol ausgekocht, bis der Schmelzpunkt des Rückstands auf 165—172° gestiegen war; aus dem Alkohol krystallisierte ein weiterer Anteil, insgesamt 21 g. Durch Umkrystallisieren aus Eisessig stieg der Schmelzpunkt auf 174,5—175°. Die Substanz krystallisiert aus Alkohol und Eisessig in langen farblosen Nadeln.

4,759 mg Subst. gaben 13,100 mg AgCl

$C_8H_4Cl_6$ Ber. Cl 68,04 Gef. Cl 68,05%

2,3,5,6-Tetrachlor-p-xylylen-di-anilin (VII). 0,5 g der soeben beschriebenen Chlorverbindung (VI) vom Smp. 174,5° wurden mit 2 g Anilin 1½ Stunden im Wasserbad erwärmt. Beim Erkalten schieden sich Krystalle ab. Man versetzte mit 5 cm³ Äther, saugte ab und krystallisierte wiederholt aus Essigester um; Smp. 170°.

6,055 mg Subst. gaben 0,358 cm³ N_2 (16,5°, 737 mm)
6,486 mg Subst. gaben 0,372 cm³ N_2 (15°, 738 mm)
4,328 mg Subst. gaben 5,820 mg AgCl

$C_{20}H_{16}N_2Cl_4$ Ber. N 6,57 Cl 33,30%
Gef. „ 6,76; 6,60 „ 33,30%

Die Substanz lässt nach Kochen mit Natronlauge und Ansäuern mit Salpetersäure keine Chlorionen erkennen, was die Stellung der 4 verbliebenen Chloratome im Kern beweist. Der Körper ist auch gegen Säuren recht beständig.

1,4-Di-(trichlormethyl)-2,5-dichlor-benzol (VIII?). 20 g 2,5-Dichlor-p-xylol wurden in 10 g Pentachloräthan (Sdp. 159°) bei 130° gelöst und unter Belichtung ein rascher Chlorstrom (6—8 Blasen pro Sekunde) durchgeleitet. Innert 5 Stunden liess man die Innentemperatur auf 145° steigen, wobei eine Gewichtszunahme von 11 g eintrat. Als nach weiteren 2 Stunden bei 145° keine weitere merkliche Gewichtszunahme erfolgte, liess man erkalten. Der Schmelzpunkt der rohen Krystallmasse lag bei 105—175°.

Die gesamte Substanz wurde mit 100 cm³ Alkohol ausgekocht. Das Filtrat ergab beim Erkalten 1,4 g Krystalle vom Smp. 135—155°, die nicht untersucht wurden, daneben nur flüssige Anteile.

Die beim Auskochen ungelöst gebliebene Hauptmenge (15 g) schmolz bei 170—185°. Da sie in heissem Eisessig, Essigester oder Aceton wenig löslich war, wurde sie aus 100 cm³ Chloroform umkrystallisiert und ergab 8,5 g dicke farblose Kryställchen vom Smp. 193°. Eine Mischprobe mit Hexachloräthan (Smp. 187°) zeigte eine starke Schmelzpunktserniedrigung.

$C_8H_2Cl_8$ Ber. Cl 74,28 Gef. Cl 73,4; 73,6%

[1]) B. **29**, 1628 (1896).
[2]) Am. Soc. **38**, 1811 (1916).

0,2 g dieser Substanz wurden mit 1 g Anilin drei Stunden auf 155—160° erwärmt. Nach Erkalten und Verreiben mit verdünnter Salpetersäure blieben 0,2 g eines dunklen Pulvers ungelöst. Aus dem Filtrat liessen sich 0,44 g Silberchlorid fällen; es haben sich also 6 von den vorhandenen 8 Chloratomen umgesetzt.

Bromierung der Seitenketten des 2,5-Dichlor-p-xylols.

In einer Schliffapparatur wurden 25 g 2,5-Dichlor-p-xylol im Paraffinbad auf 120° erwärmt. Unter Belichtung liess man langsam 92 g (4 Mol) Brom zutropfen. Dabei steigerte man die Temperatur langsam auf 180° und behielt diese längere Zeit bei; nur zum Schluss wurde kurz auf 210° erhitzt. Gesamtdauer der Reaktion 3½ Stunden. Nach Erkalten wurde die erstarrte Masse in warmem Chloroform gelöst und filtriert. Auf Zusatz derselben Menge Petroläther schieden sich 40 g Krystalle ab, die nach dreimaligem Umlösen aus Chloroform bei 127,5—128° schmolzen (Substanz XI).

Zur Verseifung wurden 2 g mit 8 cm³ reiner konz. Schwefelsäure (98-proz.) im Vakuum erwärmt. Bei 120° Badtemperatur entwichen braune Dämpfe. Man hielt die Temperatur eine Stunde zwischen 125—130°. Nach Erkalten und Aufgiessen auf Eis waren zwei verschiedene Produkte zu bemerken. Am Boden lag eine krystalline Masse, 0,9 g vom Smp. 126°, die sich als Ausgangsmaterial erwies. In der Flüssigkeit schwamm ein flockiger Niederschlag, 0,5 g vom Smp. 136—144°, der beim Umlösen aus wenig Nitrobenzol den 2,5-Dichlor-terephtalaldehyd vom Smp. 157° ergab.

Versuche mit 2,5-Dibrom-p-xylol.

Darstellung von 2,5-Dibrom-p-xylol (XIV).

Die Kernbromierung des p-Xylols wurde zuerst von *R. Fittig, W. Ahrens* und *L. Mattheides*[1]) mit überschüssigem Brom, dann von *P. Jannasch*[2]) und später von *A. Marzin*[3]) in Gegenwart von Jod ausgeführt. *R. L. Datta* und *N. R. Chatterjee*[4]) arbeiteten mit Brom in konz. Salpetersäure.

Wir folgten im wesentlichen den Angaben von *A. Marzin*, der aber statt der berechneten 2 Mol Brom 6,2 Mol anwendet[5]); wir arbeiteten mit 2,2 Mol Brom. In 20 g p-Xylol, das mit zwei kleinen Spatelspitzen Jod versetzt und durch Eiswasser auf 10—15° gehalten wird, lässt man unter Umschwenken in einer halben Stunde 21,1 cm³ Brom zutropfen, wobei unter Entfärbung Krystalle entstehen. Nach dreitägigem Stehen bei Zimmertemperatur wird die feste Krystallmasse, welche noch etwas Brom enthält, in einer Schale mit 30 cm³ 10-proz. Natronlauge verrührt und durch Erwärmen geschmolzen, bis die Färbung verschwindet. Nach Erkalten wird die Natronlauge durch Dekantieren entfernt und die Krystallmasse mit Wasser gewaschen; Ausbeute 53 g vom Smp. 67—71°.

Man krystallisiert aus der sechsfachen Menge Alkohol[6]) um, wobei man etwa 44 g in reiner Form erhält, während aus den letzten Mutterlaugen nur noch ölige Anteile abgeschieden werden. Der Schmelzpunkt lag bei 73,5—74°; er ist in der Literatur zu 74°[7]), 75°[8]) und 75,5°[9]) angegeben.

ω,ω′-Tetrabrom-2,5-dibrom-p-xylol (XV).

50 g 2,5-Dibrom-p-xylol werden in einer sorgfältig getrockneten Schliffapparatur mit Tropftrichter, Thermometer und Rückflusskühler im Glycerinbad geschmolzen und auf 120° Badtemperatur erwärmt. Unter Belichtung mit einer 1000-Watt-Luxramlampe lässt man in 5 Stunden 42,5 cm³ Brom[10]) (4,4 Mol) zutropfen, wobei man jeweils nach Zugabe von etwa 10 Tropfen wartet, bis die lebhafte Reaktion (Gasentwicklung) nachlässt.

[1]) A. **147**, 26 (1868).
[2]) B. **10**, 1357 (1877).
[3]) J. pr. [2] **138**, 103—106 (1933).
[4]) Am. Soc. **38**, 2551 (1916).
[5]) Wahrscheinlich liegt ein Druckfehler vor: 150 cm³ statt 150 g.
[6]) Aus konzentrierteren Lösungen scheidet sich das Produkt leicht ölig aus.
[7]) *Moodie* und *Nicolson*, Soc. **57**, 974 (1880).
[8]) *K. Auwers* und *F. Baum*, B. **29**, 2343 (1896).
[9]) *O. Jacobsen*, B. **18**, 358 (1885).
[10]) Das Brom muss durch Schütteln mit konz. Schwefelsäure getrocknet werden.

Die Innentemperatur liegt anfangs über der Badtemperatur, nach einer Stunde werden die Temperaturen gleich; man erwärmt alsdann auf 130°. Die Wartezeit zwischen dem Zutropfen beträgt zu Beginn des Versuchs nur einige Sekunden, nach der ersten Stunde einige Minuten. Da die Reaktion anfangs rasch verläuft, ist eine Stunde nach Versuchsbeginn die Hälfte der gesamten Brommenge zugegeben. Man hält die Badtemperatur weitere 4 Stunden auf 130° und tropft den Rest des Broms in immer grösseren Zwischenräumen hinzu. Nach beendeter Zugabe erhitzt man noch weitere zwei Stunden. Wird die Gasentwicklung bei 130—140° schwach, so steigert man die Temperatur zum Schluss langsam auf 170°, bis kein Bromwasserstoff mehr entwickelt wird. Der ausgegossene Kolbeninhalt erstarrt zu einer harten Masse und wiegt etwa 104 g. Nach Zerkleinern löst man in 1100 cm³ kochendem Essigester und erhält beim Erkalten 66 g oder 60% der Theorie Ausbeute. Hellgelbliche Nadeln vom Smp. 160—162°, die nach weiterem Umlösen konstant bei 162—163° schmelzen. Aus der Mutterlauge erhält man weitere Anteile, insgesamt 71—74%.

Zur Ersparnis an Lösungsmitteln kann man auch durch einstündiges Kochen mit weniger Essigester (300 cm³) eine gute Reinigung bis zum Smp. 160° erzielen. Alkohol genügt nicht.

5,622; 5,321 mg Subst. verbrauchten 5,785; 5,508 cm³ 0,01-n. NaOH[1])
$C_8H_4Br_6$ Ber. Br 82,73 Gef. Br 82,38; 82,85%

1 g Substanz wurde mit 1,6 g Anilin zwei Stunden im Wasserbad erwärmt. Nach Ansäuern mit verdünnter Salpetersäure zeigte die Fällung eines aliquoten Teils mit Silbernitrat, dass von den 6 Bromatomen 4 als AgBr gefällt waren; gef. 4,06 Atome.

2,5-Dibrom-terephtalaldehyd (XVII).

50 g ω,ω'-Tetrabrom-2,5-dibrom-p-xylol[2]) werden mit 250 cm³ Schwefelsäuremonohydrat[3]) bei etwa 25 mm Druck auf 130—140° (Temperatur des Glycerinbades[4])) erhitzt, wobei die Masse nur wenig schäumt. Nach einer Stunde ist alles mit dunkel rotbrauner Farbe in Lösung gegangen. Nach Erkalten giesst man auf ca. 1 kg Eis und lässt über Nacht stehen. Der weisse Niederschlag wird abgesaugt, gewaschen und auf dem Wasserbad im Vakuum getrocknet; Rohausbeute 26 g vom Smp. 180—185°. Die Substanz wird aus 250 cm³ Eisessig umkrystallisiert und ergibt 19 g gelbliche flache Nadeln vom Smp. 189—190,5°. Aus der Mutterlauge krystallisieren noch weitere 1,8 g, Gesamtausbeute 21,1 g oder 84% der Theorie.

30,7 mg Subst. gaben 36,7 mg CO_2 und 3,8 mg H_2O
7,078 mg Subst. gaben 9,10 mg AgBr
$C_8H_4O_2Br_2$ Ber. C 32,91 H 1,38 Br 54,76%
Gef. „ 32,60 „ 1,39 „ 54,71%

1 g Aldehyd löst sich in 40 cm³ kochendem Alkohol, krystallisiert aber nach Ausspritzen mit 20 cm³ Wasser erst in drei Tagen zum grössten Teil; der Rest wird erst nach Zusatz von viel Wasser erhalten. Auch in kochendem Wasser ist der Aldehyd merklich löslich. Gegen kurzes Kochen mit 5-proz. alkoholisch-wässriger Kalilauge ist er ziemlich beständig.

Di-anil (XVI). Beim Erwärmen des Aldehyds mit der mehrfachen Menge Anilin erhält man gelbe Nadeln, die nach Umkrystallisieren aus der 60-fachen Menge Chloroform den Smp. 234,5—235° zeigen.

7,692 mg Subst. gaben 0,432 cm³ N_2 (11°, 738 mm)
$C_{20}H_{14}N_2Br_2$ Ber. N 6,32 Gef. N 6,55%

[1]) Methode von *M. K. Zacherl* und *H. G. Krainick*, Mikrochemie **11**, 61 (1932), vgl. auch *F. Pregl-Roth*, Die quantitative org. Mikroanalyse, 4. Aufl. (J. Springer 1935) S. 133.

[2]) Ein Produkt vom Smp. 159—161° genügt.

[3]) Mit gewöhnlicher konz. Schwefelsäure verläuft die Verseifung unvollständig.

[4]) Oberhalb 140° findet Zersetzung statt. Die Innentemperatur soll etwa 125° betragen.

Das Anil lässt sich durch 10 Minuten langes Kochen mit der 15-fachen Menge 10-proz. Salzsäure verseifen. Die gelben, anfangs oben schwimmenden Krystalle werden weiss und setzen sich ab, worauf man durch Umkrystallisieren aus Eisessig den Dibrom-terephtalaldehyd erhält.

2,5-Dibrom-terephtalal-tetra-acetamid (XVIII). 0,3 g Dibrom-terephtalaldehyd gaben mit 3 g Acetamid bei 130° eine klare Schmelze, die nach wenigen Minuten glitzernde Krystalle ausschied. Man erwärmte 2 Stunden auf 135—140° und löste aus dem Krystallbrei das überschüssige Acetamid mit Alkohol von 50° weg. Die Krystalle des Kondensationsproduktes bräunen sich von 305° an und verkohlen bei höherer Temperatur.

7,755; 3,625 mg Subst. gaben 0,762; 0,357 cm³ N_2 (18°, 744 mm)
$C_{16}H_{20}O_4N_4Br_2$ Ber. N 11,57 Gef. N 11,28; 11,31%

2-Toluolsulfamido-5-brom-terephtalaldehyd (XIX).

Diese Substanz entstand einmal neben andern bei einem Versuch, der ähnlich dem folgenden durchgeführt wurde, wobei jedoch alle Substanzen von Anfang an zusammengegeben wurden und nur 3 Stunden erhitzt wurde. Bei der üblichen Aufarbeitung schied sich neben dem Di-toluolsulfamid-Derivat (XXI) eine leichter lösliche Substanz ab, die nach Umkrystallisieren aus Eisessig gelbe Nadeln vom Smp. 183—185° bildete.

44,3 mg Subst. gaben 76,8 mg CO_2 und 10,9 mg H_2O
8,22 mg Subst. gaben 0,295 cm³ N_2 (21°, 737 mm)
$C_{15}H_{12}O_4NBrS$ Ber. C 47,14 H 3,14 N 3,76%
Gef. „ 47,25 „ 2,73 „ 4,01%

2,5-Di-toluolsulfamido-terephtalaldehyd (XXI).

In einem dickwandigen Reagensglas von 16 cm Höhe und 3,5 cm lichter Weite werden 10 g 2,5-Dibrom-terephtalaldehyd mit 1 g Kupferpulver, 1 g Kupfer(I)-bromid, 1 g Kaliumcarbonat, 18 g p-Toluolsulfamid und 40 cm³ Nitrobenzol durch Rühren vermischt. Drei solche Gläser werden gemeinsam in einem Glycerinbad auf 140° (Badtemperatur) erhitzt. Dann werden unter Umrühren in jedes Reagensglas 14 g Kaliumcarbonat in 2 Stunden bei einer Badtemperatur von 150—155° in kleinen Portionen zugegeben, wobei jeweils ein Aufschäumen der Masse erfolgt.

Nach beendetem Eintragen erhitzt man unter öfterem Umrühren noch weitere 3 Stunden auf 160° Badtemperatur und giesst die dickflüssige dunkle Masse noch warm in einen 3-Liter-Langhalskolben[1]), spült mit 100—200 cm³ kochendem Wasser nach und entfernt das Nitrobenzol durch 2½-stündiges lebhaftes Durchleiten von Wasserdampf.

Die zurückbleibende Flüssigkeit (etwa 1 Liter) wird heiss durch eine breite Nutsche filtriert, um die Kupferverbindungen zu entfernen. Darauf erhitzt man das dunkelrote Filtrat zum Sieden[2]) und säuert mit etwa 120—130 cm³ 10-proz. Salzsäure an, wobei ein dunkelroter, feinpulveriger fester Niederschlag ausfällt. (Ist die Lösung nicht heiss, so kann sich dunkles harziges Toluolsulfamid mit ausscheiden.) Wenn der Niederschlag nicht die beschriebenen Eigenschaften hat, wird er nochmals in 30 cm³ 10-proz. Natriumcarbonatlösung gelöst, mit heissem Wasser auf etwa 300 cm³ verdünnt, in der Siedehitze mit 10-proz. Salzsäure angesäuert und vom schweren Niederschlag abdekantiert.

Der dunkelrote Niederschlag wird auf dem Wasserbad getrocknet und fein pulverisiert; Rohausbeute 45—50 g. Man kocht ihn wenige Minuten mit etwa 350 cm³ Eisessig und filtriert heiss. Der ungelöste Rückstand besteht aus nahezu reinem 2,5-Di-toluolsulfamido-terephtalaldehyd; Ausbeute 18—20 g gelbe Krystalle vom Smp. 238 oder 239° (Zersetzung).

---

[1]) Die Grösse des Kolbens ist auf das Schäumen berechnet; tritt dieses ein, so wird die Flamme unter dem Kolben entfernt.

[2]) Das Volumen wird, nötigenfalls durch Verdünnung mit siedendem Wasser, auf 1—1½ Liter gestellt, um beim Ansäuern die Abscheidung von gewöhnlichem p-Toluolsulfamid zu vermeiden.

Aus der Eisessiglösung krystallisieren weitere 9—10 g braune Krystalle vom Smp. 234—236° (Zers.). Dieser Anteil wird aus 20—25 cm³ Nitrobenzol von 135° umkrystallisiert und ergibt 6—7 g Krystalle vom Smp. 238—240°. Die Gesamtausbeute beträgt demnach 52—54% der Theorie. Durch weiteres Umkrystallisieren aus Nitrobenzol erhält man die Substanz in kanariengelben Prismen vom Smp. 241—243° (Zers.).

32,0 mg Subst. gaben 66,2 mg CO_2 und 12,0 mg H_2O
5,466 mg Subst. gaben 0,288 cm³ N_2 (20°, 739 mm)
$C_{22}H_{20}O_6N_2S_2$ Ber. C 55,93 H 4,24 N 5,93%
Gef. „ 56,35 „ 4,17 „ 5,92%

Die Substanz löst sich in kalter 1-proz. Natronlauge oder heisser 10-proz. Sodalösung mit roter Farbe[1]). 0,1 g reine Substanz lösen sich in 8 cm³ kochendem Eisessig, doch zeigen die ausfallenden Krystalle dann den niedrigeren Smp. 230°.

Das Piperidinsalz des Di-toluolsulfamido-terephtalaldehyds entsteht, wenn man 15 g in 30 cm³ Alkohol suspendiert und mit 7 cm³ Piperidin (2,2 Mol) versetzt. Nach anfänglicher Lösung scheiden sich gelbliche Krystalle aus, die nach einigen Stunden abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und bei Zimmertemperatur im Vakuum getrocknet werden. Ausbeute 14,7 g. Der Schmelzpunkt ist unscharf — bei etwa 110° Rotfärbung, bei 140° Zersetzung —, da das vermutlich vorliegende Di-piperidinsalz beim Erwärmen, anscheinend auch beim Umkrystallisieren aus Alkohol einen Teil des Piperidins verliert. Durch Ansäuern wird die freie Toluolsulfamidoverbindung zurückerhalten.

Dianil (XX). Löst man den Di-toluolsulfamido-terephtal-aldehyd in heissem Anilin, so krystallisiert das Dianil aus, das aus Anilin umkrystallisiert und mit Alkohol ausgekocht feine gelbe Nädelchen vom Smp. 297° (unter Zersetzung) bildet.

3,592 mg Subst. gaben 0,280 cm³ N_2 (15,5°, 746 mm)
$C_{34}H_{30}O_4N_4S_2$ Ber. N 8,99 Gef. N 8,97%

Kondensation des Toluolsulfo-Derivates (XXI) mit Acetessigester: 2,5-Di-(p-toluolsulfamido)-terephtalal-di-acetessigester (XXII).

5 g Sulfamid (XXI) werden mit 25 cm³ Acetessigester und 12 Tropfen (0,35 g) Piperidin verrührt und im Wasserbad erwärmt. In 4 Minuten ist bei etwa 70° Innentemperatur eine klare rote Lösung entstanden, worauf man erkalten lässt[2]). Die Lösung trübt sich sofort und scheidet Krystalle aus, die nach einigen Stunden oder besser am nächsten Tag abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und nochmals mit Alkohol ausgekocht werden. Ausbeute 6,6 g (90% der Theorie); bei 206° Verfärbung, bei 213—214° Schmelzen unter Zersetzung.

Die Substanz löst sich nur in hochsiedenden Medien wie Benzoesäure-ester, Acetessigester, Anisol, Acetophenon und Nitrobenzol, wobei Temperaturen über 170° vermieden werden. Zur Analyse wurde 1 g aus 12 cm³ Acetessigester von 155° umkrystallisiert, worauf man die Substanz nochmals aus der 10-fachen Menge Benzoesäure-äthylester von 170° umlöste. Die weissen Blättchen zeigen dann den Smp. 216—217° (Zersetzung; bei 210° Verfärbung).

4,779 mg Subst. gaben 10,195 mg CO_2 und 2,210 mg H_2O
7,081 mg Subst. gaben 0,254 cm³ N_2 (16°, 738 mm)
$C_{34}H_{36}O_{10}N_2S_2$ Ber. C 58,59 H 5,09 N 4,02%
Gef. „ 58,38 „ 5,18 „ 4,11%

Eine Probe wurde mit Anilin bis zur Lösung auf 100° erwärmt. Beim Erkalten schieden sich schwerlösliche Krystalle aus, die nach Auskochen mit Alkohol und Umkrystallisieren aus viel heissem Xylol den Smp. 299—301° (Zersetzung) zeigten. Ihr Stick-

[1]) Vgl. ähnliche Löslichkeiten und Färbungen von andern Toluol-sulfamido-aldehyden, Frdl. 17, 563.

[2]) Bisweilen tritt schon in der Wärme Krystallisation ein, unter Umständen sogar bevor die Substanz völlig gelöst ist.

stoffgehalt weist auf Eintritt von 4 Anilinresten hin, doch wurde die Substanz nicht näher untersucht. In der aufgestellten Summenformel ist Abspaltung von 2 H_2O und 2 C_2H_5OH angenommen.

$C_{54}H_{48}O_6N_6S_2$ Ber. N 8,94 Gef. N 8,93; 8,84%

2-Methyl-3-carbäthoxy-6-amino-chinolin-7-(methenyl-acetessigester) (XXIII) (einseitiges Ringschlussprodukt).

1,5 g des oben beschriebenen Kondensationsproduktes mit Acetessigester (XXII) werden bei Zimmertemperatur in 5 cm³ konz. Schwefelsäure derart eingetragen, dass die Selbsterwärmung nur zu einer Temperatur von etwa 27—32° (jedenfalls nicht über 40°) führt[1]). Die Substanz färbt sich zunächst rot und löst sich beim Rühren in etwa 10 Minuten mit dunkel gelbgrüner Farbe klar auf. Nach weiteren 10 Minuten[2]) giesst man auf 50 g Eis, wobei die Lösung gelb wird. Man neutralisiert durch Eintragen von pulverisierter Krystallsoda, wobei man stärkere Erwärmung vermeidet. Um die abgeschiedenen gelben Flocken besser filtrierbar zu machen, erwärmt man 1 Stunde auf dem Wasserbad auf 30°, worauf der Niederschlag abgesaugt wird. Nach Trocknen auf dem Wasserbad beträgt die Rohausbeute 0,75 g, Zersetzungspunkt ca. 200°. Zur Reinigung löst man in warmem Pyridin und filtriert von eventuellen Verunreinigungen ab. Es krystallisieren 0,5 g (63% der Theorie) gelbe Nadeln vom Smp. 219—220°, die zur Analyse dienten. Aus viel Alkohol erhält man lange Nadeln. Die Substanz ist frei von Schwefel.

3,221 mg Subst. gaben 7,686 mg CO_2 und 1,740 mg H_2O
3,359 mg Subst. gaben 0,219 cm³ N_2 (15°, 738 mm)
$C_{20}H_{22}O_5N_2$ Ber. C 64,83 H 5,99 N 7,56%
Gef. „ 65,08 „ 6,04 „ 7,50%

Pikrat: 50 mg dieser Substanz wurden durch Verrühren mit 2 cm³ 10-proz. Salzsäure gelöst, mit 2 cm³ Wasser verdünnt und mit 10 cm³ 1-proz. wässriger Pikrinsäure versetzt. Der dicke gelbe Pikratniederschlag (120 mg) zeigte nach Umkrystallisieren aus Eisessig, dann aus Essigester den Zersetzungspunkt 215—220° (bei 200° Sintern).

2-Methyl-3-carboxyl-6-amino-chinolin-7-(methenyl-acetessigsäure) (XXIV).

5 g des Acetessigester-Kondensationsproduktes (XXII) werden in 15 Minuten unter Eiskühlung in 20 cm³ konz. Schwefelsäure eingetragen und die nach 5 Minuten entstandene grünliche Lösung eine Stunde unter öfterem Rühren mit dem Thermometer ins Wasserbad gestellt, so dass die Innentemperatur nicht über 95° steigt. Es entwickeln sich nur wenige Gasbläschen. Nach Erkalten giesst man vorsichtig auf 200 g Eis und erwärmt dann die rötliche Lösung auf dem Wasserbad auf 30°, wobei ein gelber Niederschlag ausfällt. Nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur wird der Niederschlag abgesaugt[3]), Ausbeute 1,9 g vom Zersetzungspunkt ab 200°.

100 mg lösen sich in 3 cm³ warmer 10-proz. Natronlauge, worauf beim Erkalten 80 mg gelbliche glänzende Blättchen des Di-natriumsalzes ausfallen.

5,203 mg Subst. gaben 1,980 mg Na_2SO_4
$C_{16}H_{12}O_5N_2Na_2$ Ber. Na 12,86 Gef. Na 12,32%

Eine Probe der freien Säure (0,2 g) wurde in 5 cm³ 10-proz. Ammoniak unter Rühren gelöst, nach Filtration mit wenig Wasser verdünnt und mit Essigsäure gefällt. Das grünstichig gelbe Pulver zersetzte sich oberhalb 280° unter Dunkelfärbung.

3,610 mg Subst. gaben 0,298 cm³ N_2 (24,° 746 mm)
$C_{16}H_{14}O_5N_2$ Ber. N 8,92 Gef. N 9,29%

Der Rest der Substanz wurde zum folgenden Ringschluss verbraucht.

[1]) Ein Versuch bei 15° verlief ebenso.
[2]) Längeres Stehen (2 Stunden) schadet nicht.
[3]) Das Filtrat gab beim Neutralisieren mit Krystallsoda bei 50° 0,3 g einer unbrauchbaren Substanz.

2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolin-3,7-dicarbonsäure (XXV).
(2,6-Dimethyl-lin.p-benzo-dipyridin-3,7-dicarbonsäure.)

5 g 2,5-Di-toluolsulfamido-terephtalal-di-acetessigester (XXII) werden in 20 cm³ konz. Schwefelsäure in etwa 10 Minuten derart eingetragen, dass die Temperatur nicht über 35—40° steigt. Aus der bräunlichen Lösung entweichen einige Gasbläschen. Man hängt das Reagensglas eine Stunde in ein kochendes Wasserbad, so dass die Innentemperatur 98—100° beträgt, und rührt oft um, wobei die Gasentwicklung lebhafter wird und nach 40 Minuten aufhört. Nach Erkalten giesst man auf 200 g Eis, wobei sich meist eine hellgelbe klare Lösung bildet. Man erwärmt auf dem Wasserbad bis auf 50°, wobei sich unfertige Produkte (offenbar das vorher genannte Präparat XXIV) abscheiden und abfiltriert werden.

Die gewünschte Substanz findet sich im klaren Filtrat. Man neutralisiert dieses bei etwa 50° annähernd mit ungefähr 100 g Krystallsoda, so dass die Acidität zwischen den Umschlagspunkten von Lackmus- und Kongopapier liegt (p_H etwa 4—5). Man lässt die voluminösen gelben Flocken über Nacht absitzen und kann sie dann auf einer breiten Nutsche nur langsam absaugen. Nach Waschen mit Alkohol und Trocknen auf dem Wasserbad erhält man 1,8 g gelbbraunes Pulver (ber. 2,15 g) vom Zersetzungspunkt zwischen 235—260°.

Die 1,8 g werden in eine Mischung von 3 cm³ Pyridin und 30 cm³ Wasser eingetragen und aufgekocht. Man lässt erkalten und säuert allmählich mit 3 cm³ Eisessig an, wobei ein gelbes Pulver ausfällt, das am andern Tag abgesaugt wird; Ausbeute 1,55 g oder 65% der Theorie. Zur Analyse wurde die Substanz nochmals aus Pyridin-Wasser-Eisessig umgefällt und auf dem Wasserbad getrocknet. Sie bräunt sich bei 280° und zersetzt sich unter Aufschäumen bei etwa 320°; sie ist schwefelfrei.

4,737 mg Subst. gaben 11,249 mg CO_2 und 1,738 mg H_2O
3,509 mg Subst. gaben 0,288 cm³ N_2 (17,5°, 746 mm)

$C_{16}H_{12}O_4N_2$ Ber. C 64,84 H 4,09 N 9,46%
Gef. „ 65,20 „ 4,37 „ 9,47%

Die Substanz ist unlöslich in verdünnten Säuren, löslich in verdünnter Natronlauge, namentlich beim Erwärmen. Beim Erkalten krystallisieren gelbe Blättchen, offenbar das Natriumsalz. Aus viel kochendem Chinolin erhält man mikroskopische gelbe Nädelchen.

Die Substanz kann — abgesehen von diesem direkten und zweckmässigsten Wege — auch aus den beiden Vorprodukten (XXIII, XXIV) erhalten werden. Aus 2-Methyl-3-carboxyl-6-amino-chinolin-7-(methenyl-acetessigsäure) (XXIV) wird sie dargestellt, indem 1,9 g mit 20 cm³ konz. Schwefelsäure eine Stunde im Wasserbad auf 98° Innentemperatur erhitzt und wie vorher aufgearbeitet werden, worauf man nach Aufgiessen auf Eis und Erwärmen auf 50° [1]) bis zum p_H 4—5 annähernd neutralisiert und den Niederschlag (0,7 g) aus warmer verdünnter Natronlauge (5 cm³) mit Essigsäure umfällt. Das erhaltene Produkt (0,55 g) wurde als Benzo-dipicolin-dicarbonsäure (XXV) durch die Decarboxylierung zu Benzo-dipicolin (XXVI) nachgewiesen.

Die Darstellung aus 2-Methyl-3-carbäthoxy-6-amino-chinolin-7-(methenyl-acetessigester) (XXIII) verläuft analog, indem 1 g Substanz in 20 cm³ konz. Schwefelsäure bei 20—40° gelöst, eine Stunde auf 98—100° Innentemperatur erwärmt und wie vorher aufgearbeitet wurden; die Ausbeute betrug 0,35 g Substanz (XXV).

2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolin (XXVI)
(lin.p-Benzo-di-picolin).

In einem 2,5 cm weiten Reagensglas erhitzt man 12 cm³ Chinolin mit 0,2 g Kupferpulver und 0,2 g Kupferchromit im Metallbad auf 215° Innentemperatur (Bad 220—225°). In fünf Minuten gibt man 1 g der Dicarbonsäure (XXV) portionsweise hinzu, wobei jeweils eine heftige Kohlendioxydentwicklung eintritt, die insgesamt etwa 15—20 Minuten anhält.

[1]) Hierbei scheidet sich nichts aus, da bei diesem Versuch die Umwandlung in das Endprodukt (XXV) stets vollständig ist.

Die Innentemperatur darf keinesfalls über 230° steigen. Man saugt die Katalysatoren noch warm ab, versetzt das Filtrat mit 100 cm³ heissem Wasser und destilliert das Chinolin mit Wasserdampf in 30—40 Minuten ab. Die im Destillationskolben verbleibende Flüssigkeit ist klar und grünstichig gelb und wird von harzigen Anteilen, die an der Kolbenwand kleben, durch Dekantieren oder Filtrieren befreit.

Die Flüssigkeit scheidet über Nacht im Eisschrank hell-gelbliche Krystalle aus, die je nach den Bedingungen aus kurzen breiten Nadeln oder aus sehr langen dünnen Nadeln bestehen. Ausbeute 0,2 g oder ca. 30% der Theorie. Das Rohprodukt schmilzt meist bei 233—234°; zum Umkrystallisieren braucht man etwa die 15-fache Menge Alkohol und erhält je nach der Konzentration Blättchen oder Nadeln. Vorteilhafter ist das Lösen in der 20-fachen Menge heissen Alkohols und Zusatz des 5-fachen Volums heissen Wassers. Bei langsamem Erkalten entstehen meist bis zu 3 cm lange dünne Nadeln.

Die Blättchen bleiben an der Luft glänzend; die Nadeln verwittern beim Aufbewahren, schneller natürlich auf dem Wasserbad, indem sie matt werden, ohne zu zerfallen. Verschiedene frisch krystallisierte Präparate erwiesen sich als Hydrate. In einem Fall wurden 6 Mol, in einem andern 2½ Mol Krystallwasser gefunden. Die Substanz scheint je nach den Krystallisationsbedingungen verschiedene Hydrate zu bilden, doch ist die genaue Wasserbestimmung schwierig, weil schon beim Entfernen des anhaftenden Wassers die Verwitterung beginnt.

Der Schmelzpunkt der langen Nadeln (aus Alkohol) liegt bei 238—239° (Zers.). Die feste Substanz fluoresziert blau unter der Quarzlampe; viel stärker ist die violette Fluoreszenz ihrer Lösungen.

Zahlreiche Decarboxylierungen wurden auch nach einem trockenen Verfahren ausgeführt, indem 0,3 g Dicarbonsäure mit 2 g Kupferpulver und 4 g Bariumoxyd innig verrieben im Vakuumsublimationsapparat bei 11 mm Druck im Graphitbad erhitzt wurden. Bei 120—180° pflegte ein leichtes Spritzen des Pulvers einzutreten. Nach Eingehen in ein auf 180° erhitztes Metallbad steigerte man die Temperatur auf 240—250°, wobei in einer Stunde ein Sublimat entstand, das von etwas anorganischer Substanz durch Lösen in 2 cm³ heissem Alkohol befreit wurde. Durch Zusatz von 10 cm³ Wasser trat langsame Krystallisation ein, doch war die Ausbeute nach diesem Verfahren etwas geringer (50 mg).

3,145; 3,513 mg Subst. gaben 9,320; 10,420 mg CO_2 und 1,655; 1,900 mg H_2O
3,261 mg Subst. gaben 0,400 cm³ N_2 (20°, 741 mm)

$C_{14}H_{12}N_2$	Ber. C 80,76	H 5,76	N 13,46%
	Gef. „ 80,82; 80,80	„ 5,89; 6,01	„ 13,48%

Das Dimethyl-anthrazolin löst sich in kalter verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure; es wird aus dieser Lösung nicht durch Natriumacetat, wohl aber durch Sodalösung wieder in Nadeln ausgefällt. Mit alkoholischer Oxalsäure entsteht ein krystallisiertes Oxalat, auch das Perchlorat und das Chromat krystallisieren gut; letzteres ist in heissem Wasser löslich und bildet beim Erkalten farnkrautartige orangegelbe Krystalle.

Das in alkoholischer Lösung dargestellte Pikrat bildet gelbe Nädelchen von wenig charakteristischem Zersetzungspunkt: bei 250° Verfärbung, bei etwa 263° Zersetzung. Es ist äusserst schwer löslich.

2,619 mg Subst. gaben 0,384 cm³ N_2 (13°, 741 mm)
$C_{26}H_{18}O_{14}N_8$ Ber. N 16,82 Gef. N 17,06%

Dibenzal-Derivat (XXVII). 50 mg Dimethyl-anthrazolin (XXVI) werden mit 5 Tropfen reinem Benzaldehyd und 4 Tropfen Piperidin im Bad auf 150° Innentemperatur erhitzt, wobei sich nach 10 Minuten Krystalle bilden. Nachdem man insgesamt 20 Minuten bei dieser Temperatur gehalten hat, lässt man erkalten, versetzt mit 3 cm³ Alkohol und saugt die glitzernden Krystalle ab; Ausbeute 40 mg. Nach Umkrystallisieren aus 6 cm³ Chloroform liegt der Schmelzpunkt der kanariengelben Nädelchen bei 267°. In Alkohol ist die Substanz schwer löslich. Die Lösungen zeigen am Tageslicht blaue Fluoreszenz. Das feste Präparat leuchtet unter der Quarzlampe intensiv gelbgrün.

4,397; 4,963 mg Subst. gaben 0,288; 0,323 cm³ N_2 (22°, 740 mm)
$C_{28}H_{20}N_2$ Ber. N 7,28 Gef. N 7,38; 7,33%

Di-(p-dimethylamino-benzal)-derivat (XXVIII). 20 mg Dimethyl-anthrazolin (XXVI) wurden mit 60 mg p-Dimethylamino-benzaldehyd und 3 Tropfen Piperidin eine Stunde auf 120—130° erhitzt. Das entstandene rote Krystallpulver wurde zweimal mit Alkohol ausgekocht und dann aus kochendem Anisol umkrystallisiert. Rote Kryställchen, die bei etwa 340° verkohlen, ohne zu schmelzen; unter der Quarzlampe leuchten sie rot auf.

2,800 mg Subst. gaben 8,405 mg CO_2 und 1,805 mg H_2O
3,093 mg Subst. gaben 0,321 cm³ N_2 (17,5°, 748 mm)
$C_{32}H_{30}N_4$ Ber. C 81,65 H 6,43 N 11,92%
Gef. „ 81,87 „ 7,16 „ 12,01%

2,6-Diphenyl-1,5-anthrazolin (XXIX)
(2,6-Diphenyl-lin.p-benzo-dipyridin).

0,5 g Sulfamid (XXI) wurden mit 5 cm³ Acetophenon erwärmt. Bei 150° trat Lösung ein, bei 190° entweichen kleine Bläschen aus der dunkelbraunen Flüssigkeit. Man hielt die Temperatur 1½ Stunden bei 190—197° und liess dann 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Die abgeschiedenen Blättchen wurden mit Alkohol gewaschen, Ausbeute 0,1 g. Die Substanz löst sich leicht in kochendem Nitrobenzol, wurde aber zur Analyse aus der 150-fachen Menge Eisessig umkrystallisiert. Olivstichig gelbe Blättchen vom Smp. 284—285°.

3,555 mg Subst. gaben 11,255 mg CO_2 und 1,600 mg H_2O
5,097 mg Subst. gaben 0,368 cm³ N_2 (17°, 734 mm)
$C_{24}H_{16}N_2$ Ber. C 86,91 H 4,86 N 8,43%
Gef. „ 86,46 „ 5,17 „ 8,21%

Die Eisessiglösung der Substanz gibt mit Pikrinsäure ein orangefarbenes Pikrat vom Smp. 283°, das mit dem gleich schmelzenden Ausgangsmaterial bei der Mischprobe eine Schmelzpunktserniedrigung gibt.

Universität Basel, Anstalt für Organische Chemie.

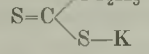
---

30. L'éthylxanthate de potassium, réactif analytique. Séparation du cuivre d'avec le nickel[1])

par P. Wenger, Z. Besso et R. Duekert.

(15 I 44)

Poursuivant nos recherches sur les séparations des cations des métaux lourds sous forme de xanthates, avec utilisation de l'éthylxanthate de potassium:



comme réactif, nous avons mis au point *la microséparation gravimétrique du cuivre et du nickel.*

[1]) Le premier article paru a traité de l'étude générale des précipités obtenus avec l'éthylxanthate de potassium et les cations des métaux lourds; en seconde partie, nous avons indiqué la séparation du cuivre et du zinc.

Voir « L'éthylxanthate de potassium comme réactif analytique », par *P. Wenger, Z. Besso* et *R. Duckert*, Mikrochemie XXXI, fasc. N° 2 (1943) (va paraître).

Le principe de la méthode repose sur le fait qu'en milieu faiblement ammoniacal le cuivre précipite comme xanthate de cuivre, tandis que le nickel reste en solution sous forme de complexe amminé.

Après une étude, nous avons appliqué pour cette séparation la technique de *Pregl* qui offre plusieurs avantages:

1. Le récipient servant à la précipitation étant relativement grand (diamètre 30 mm, hauteur 70 mm), il est beaucoup plus aisé de procéder à une précipitation avec agitation convenable de la liqueur.

2. On peut, en outre, travailler avec des volumes supérieurs à 3 cm^3, condition qui favorise considérablement le dosage final du nickel au moyen de la diméthylglyoxime.

3. De plus, les dosages du cuivre et du nickel donnant lieu à des précipités très volumineux, la technique de *Pregl* est certainement la plus pratique puisqu'elle permet la filtration dans un microcreuset de *Gooch*.

Mode opératoire.

On mesure, dans une grande éprouvette, 1 cm^3 de sulfate de cuivre en solution (environ 2 mgr. Cu en poids) et 1 cm^3 d'une solution de sulfate de nickel (environ 2 mgr. Ni en poids). On ajoute 1 cm^3 d'eau et 6 gouttes d'ammoniaque concentré. On obtient une solution bleu foncé, tout à fait limpide. Tout en agitant vigoureusement, on introduit en une seule fois, 1,5 cm^3 d'une solution aqueuse d'éthylxanthate de potassium (2%) fraîchement préparée. On continue l'agitation jusqu'à formation de gros flocons jaune d'or, de xanthate de cuivre. Si le précipité n'est pas nettement jaune d'or, il faut conclure que la séparation n'est pas complète; dans ce cas il faudra ajouter encore 1 goutte d'ammoniaque, ce qui amène à la couleur désirée.

On laisse déposer 15 minutes; on filtre au moyen d'une baguette filtrante, non tarée, en recueillant naturellement le liquide, puis l'eau de lavage (solution ammoniacale à 1%) dans une grande éprouvette à fond plat (dimensions indiquées plus haut) et que l'on peut placer dans le dispositif de filtrage d'*Emich*. Dans cette liqueur on peut *doser directement le nickel par la diméthylglyoxime;* en voici le mode opératoire:

Dans la liqueur ammoniacale contenant l'excès de xanthate de potassium et représentant un volume d'au moins 5 cm^3, on introduit 1,5 cm^3 d'une solution alcoolique à 1% de diméthylglyoxime, fraîchement préparée. On agite, puis on chauffe au bain-marie à 70°. On obtient de gros flocons rouges tandis que la liqueur devient limpide et incolore.

Après refroidissement, on filtre, soit en employant le tube filtrant de *Pregl*, soit en employant un microcreuset de *Gooch* en verre. On lave plusieurs fois avec une solution alcoolique à 20%. On sèche à 110° et on pèse à poids constant.

Nous recommandons de préférence le *Gooch* au tube filtrant; la filtration est accélérée et moins difficile. (Facteur du nickel = 0,2032).

Dosage du cuivre.

Le xanthate de cuivre que nous avons obtenu comme précipité lors de la première opération est traité dans le récipient primitif par l'acide nitrique concentré et évaporé à sec. Après l'élimination de l'acide nitrique on recommence l'opération d'évaporation avec de l'eau et on reprend finalement le résidu sec par 1 à 2 cm^3 d'eau. On filtre dans une grande éprouvette, comme ci-dessus, et la solution de nitrate de cuivre qui est acide est additionnée d'une goutte d'indicateur universel de *Merck* pour connaître son acidité; il faut alors dans la plupart des cas, tamponner avec une solution d'acétate de sodium

pour obtenir le p_H convenable, c'est-à-dire variant entre 5 et 6. On peut introduire ensuite 1,2 cm³ d'une solution alcoolique de salicylaldoxime à 1%; puis on agite, on laisse déposer 20 minutes et on filtre à travers un tube filtrant séché à 105°. On lave à plusieurs reprises, alternativement avec de l'eau et de l'alcool; on sèche à 105° et l'on pèse comme d'habitude (facteur du cuivre = 0,1893)[1]).

Voici quelques résultats choisis parmi ceux de nos nombreux essais:

Cu théor. mgr.	Cu trouvé	Différence mgr.	Différence %
2,0036	2,0030	−0,0006	−0,03%
2,0036	2,016	+0,012	+0,6%
2,0036	2,006	+0,003	+0,15%

Ni théor. mgr.	Ni trouvé	Différence mgr.	Différence %
2,019	2,013	−0,006	−0,3%
2,019	2,021	+0,002	+0,1%
2,019	2,030	+0,011	+0,55%

Genève, Laboratoire de Chimie Analytique et
de Microchimie de l'Université.

---

31. Zur Kenntnis des Cholesterinstoffwechsels der Nebenniere und dessen Beeinflussung durch das Schilddrüsenhormon

von **I. Abelin.**

(19. I. 44.)

Man spricht in der Chemie von Systemen der Elemente und in der Biologie von Systemen der Organe. Mit der Bezeichnung „System" sollen in beiden Fällen gegenseitige Beziehungen und Abhängigkeiten zum Ausdruck gebracht werden. Recht enge physiologische Zusammenhänge bestehen z. B. zwischen den einzelnen Abschnitten des Verdauungssystems, ferner innerhalb des Gefäss-, Nerven-, Knochensystems usw. Nach ähnlichen Gesichtspunkten lassen sich auch die organischen Hilfsstoffe des Körpers gruppieren, wobei man zu Ferment-, Vitamin- oder Hormonsystemen gelangt. Die innersekretorischen Drüsen bilden tatsächlich eine spezifische Gruppe von Organen, die einheitliche Abfuhrwege der Sekrete benutzen und einheitliche regulatorische Aufgaben übernehmen.

[1]) Une bibliographie de l'emploi de l'éthylxanthate de potassium comme réactif a été donnée dans l'article de Mikrochemie que nous signalons au début de ce mémoire.

Wie in den sonstigen Organsystemen stehen auch die einzelnen Vertreter der endokrinen Drüsen bald in sehr naher, bald in etwas fernerer Beziehung zueinander. Als zwei naheverwandte innersekretorische Gebilde gelten seit langem die Schilddrüse und die Nebenniere. Die Wirkungen dieser beiden Drüsen kreuzen sich auf verschiedenen Wegen. Man weiss, dass die Schilddrüse vornehmlich das sympathische Nervensystem beeinflusst und sich somit an das Adrenalin anlehnt. Auf der anderen Seite beherrscht das Thyroxin genau so wie die Hormone der Nebennierenrinde den Wasser- und Salzstoffwechsel, den Eiweiss- und Zuckerumsatz sowie den Allgemeinzustand des Körpers. Die sogen. Ausfallserscheinungen nach der Entfernung der Schilddrüse oder der Nebennieren weisen mehrere ähnliche Merkmale auf. Darüber liegen in der Literatur sehr viele Beobachtungen vor, die neuerdings u. a. durch *Verzàr*[1]) zusammengefasst wurden und auf die hier im Interesse einer Raumersparnis verwiesen werden soll.

Früher durchgeführte eigene diesbezügliche Versuche sprechen übereinstimmend im Sinne eines engen Zusammenhanges zwischen der Thyreoidea und der Nebenniere. Insbesondere wirkt sich eine künstliche Zufuhr von Thyroxin sehr ungünstig auf die Funktion der Nebennierenrinde aus. So konnte mit *Althaus*[2]) nachgewiesen werden, dass zwar die normalen Nebennieren die schädlichen Folgen eines Thyroxinüberschusses abschwächen oder aufheben können, dass aber den Nebennieren hyperthyreoidisierter Ratten diese Eigenschaft nicht mehr zukommt. Daraus wurde damals auf eine Beeinträchtigung der Nebennierenfunktion durch die Hyperthyreoidisierung geschlossen, wofür übrigens auch eine Reihe anderer experimenteller Beobachtungen sowie klinischer Feststellungen sprechen. In Weiterverfolgung dieser Befunde wurde der Einfluss des Thyroxins auf den Cholesteringehalt der Nebenniere untersucht. Für die Wahl des Cholesterins als Testobjekt sprachen folgende Überlegungen. Die Nebenniere und besonders ihr Rindenanteil wurde früher als ein Zentralorgan des Cholesterinstoffwechsels und der Cholesterinsynthese angesehen. Diese Vorstellung blieb unbewiesen, trotzdem wird man heute im Lichte der neuen Kenntnisse über die Struktur der Rindenhormone dem Cholesterinumsatz der Nebenniere volle Beachtung schenken dürfen.

Als Ergebnis der hier mitzuteilenden Versuche darf angeführt werden, dass eine künstliche Vermehrung des Thyroxins im Körper eine Verarmung der Nebennieren an Cholesterin herbeiführt. Bereits eine kurzdauernde Behandlung mit Schilddrüsenhormon veranlasst eine erhebliche Cholesterinverminderung in der Nebenniere. Ein vollständiges Verschwinden des Nebennieren-Cholesterins wurde aber niemals beobachtet. Man wäre in diesem Zusammenhang geneigt, in

[1]) *Verzàr*, Schweiz. Med. Wochschr. **1943**, 1163.
[2]) *Abelin* und *Althaus*, Helv. **25**, 205 (1941).

Analogie zu dem Eiweiss- oder Fettvorrat und anderen Vorratsquellen des Körpers von einem Reserve- und einem Grundcholesterin zu sprechen. Die Organreserven sind nach oben oder nach unten leicht verschiebbar; das eigentliche Baumaterial der Organe wird aber erfahrungsgemäss nur in schweren Fällen angegriffen. Es gehört zu den eigentümlichen Wirkungen des Thyroxins, dass es zuerst und zwar mit grosser Schnelligkeit und Intensität viele, wenn nicht die meisten Organreserven angreift. Das Nebennieren-Cholesterin macht davon keine Ausnahme. Es wird sehr frühzeitig angegriffen, doch erreicht die Cholesterinabnahme bald eine Grenze, die nur selten unterschritten wird. Im Durchschnitt wurde bei einer mittelstarken Hyperthyreoidisierung der Cholesteringehalt der Nebenniere um 45 % herabgesetzt. Ebenso wie bei der gleichzeitig damit anzutreffenden Verminderung des Leberglykogens, des Herz- und Muskelkreatins, des Fettgehaltes der Organe u. a. m. ist es auch hier nicht möglich zu entscheiden, ob die Abnahme auf einem gesteigerten Verbrauch oder auf einem gehemmten Wiederersatz beruht. Auf jeden Fall geht aus den vorliegenden Versuchen deutlich hervor, dass der Cholesterinstoffwechsel der Nebenniere durch die Schilddrüse massgebend beeinflusst wird.

Experimenteller Teil.

Die Literatur enthält nicht sehr viele Angaben über den quantitativen Gehalt der Organe an Cholesterin. Zudem ist deren Beurteilung mit Unsicherheiten bald technischer, bald sachlicher Natur behaftet. Die älteren Analysenresultate sind wegen ihrer methodischen Fehlermöglichkeiten nur teilweise verwertbar; aus der jüngeren Zeit liegen noch relativ wenig Untersuchungen vor. In sachlicher Hinsicht erweist sich eine Erzielung mehr oder weniger konstanter Cholesterinwerte bei den einzelnen Tieren als nicht durchführbar; wie etwa der Glykogengehalt der Leber ist auch der Cholesteringehalt der Nebenniere beträchtlichen physiologischen Schwankungen unterworfen. Ernährungsart, Ernährungszustand (d. h. Zeitpunkt nach der Nahrungsaufnahme), Geschlecht, Temperatur der Umgebung, zum Teil auch Jahreszeit u. a. m. erweisen sich von nicht zu verkennendem Einfluss. Aus diesem Grunde können nur Vergleichsversuche Geltung haben und zwar wenn sie in grösserer Zahl angestellt werden. Auf all diese Faktoren wurde nach Möglichkeit Rücksicht genommen.

Zu den Cholesterinbestimmungen dienten lebendfrische Nebennieren von Ratten. Nach Ermittlung des Feuchtgewichtes wurden die Organe mit wasserfreiem Natriumsulfat innigst verrieben und bei etwa 50° getrocknet. Das gewonnene Pulver wurde einer Extraktion nach *Bloor* mit Alkohol und Äther unterworfen und im Verdampfungsrückstand das Cholesterin in üblicher Weise kolorimetrisch bestimmt. Ohne Ausnahme wurden Doppelbestimmungen mit verschiedenen Mengen des Chloroformauszuges gemacht. Vergleichsversuche zeigten später, dass auf das vorherige Trocknen der Organe mit Natriumsulfat verzichtet werden darf. In diesem Fall wurden die Nebennieren in verschliessbaren Gläschen zerkleinert, gewogen und wie oben weiterbehandelt. Durch Kontrolle der letzten Chloroformauszüge mittelst Essigsäure-anhydrid und konz. Schwefelsäure konnte mehrmals festgestellt werden, dass durch eine 4—5-malige Extraktion des Alkohol-Ätherrückstandes mit kleinen Mengen warmem Chloroform das gesamte Cholesterin erfasst wird.

Die Hyperthyreoidisierung erfolgte meistens mit Hilfe von Thyroxin, das subkutan oder intramuskulär eingespritzt wurde. Bei den langandauernden Versuchen wurde ein Schilddrüsenpulver der Firma *Riedel* verwendet.

Der normale Cholesteringehalt der Rattennebennieren.

Der Festsetzung der Normalwerte des Cholesteringehaltes der Nebenniere dienten 15 Ratten verschiedenen Alters und beiderlei Geschlechts, die zu verschiedenen Jahreszeiten untersucht wurden. Vor dem Töten blieben die Tiere während 16 Stunden ohne Futter. Wie Tabelle 1 zeigt, sind recht grosse individuelle Unterschiede im physiologischen Cholesteringehalt der Nebenniere unvermeidbar; in den meisten Fällen wird eine Cholesterinmenge von ± 3% angetroffen, mit einem durchschnittlichen Wert von 3,35%.

Tabelle 1.

Cholesteringehalt der Nebennieren von normalen unbehandelten Ratten (Kontrollversuche)

Nr. und Geschlecht des Tieres	Cholesteringehalt der beiden Nebennieren, bezogen auf das Frischgewicht	Frischgewicht der beiden Nebennieren	Nr. und Geschlecht des Tieres	Cholesteringehalt der beiden Nebennieren, bezogen auf das Frischgewicht	Frischgewicht der beiden Nebennieren
43 ♀	1,32%	45,1 mg	175 ♀	5,77%	35,1 mg
44 ♀	3,44%	32,1 mg	176 ♀	3,98%	44,3 mg
115 ♂	3,57%	32,4 mg	177 ♀	4,00%	44,8 mg
116 ♂	3,20%	26 mg	201 ♀	3,30%	44,4 mg
117 ♂	2,84%	26,9 mg	202 ♂	2,45%	20 mg
120 ♂	3,60%	27,2 mg	223 ♀	2,50%	39,8 mg
121 ♂	3,50%	34 mg	224 ♂	3,81%	22,5 mg
174 ♀	3,04%	46,9 mg	Mittelwert:	3,35%	34,7 mg

Einfluss einer Behandlung mit Thyroxin auf den Cholesteringehalt der Nebenniere.

Ohne Ausnahme führt selbst eine kurzdauernde Hyperthyreoidisierung zu einer Cholesterinverarmung der Nebenniere. Dazu genügt bereits eine einmalige Injektion von 0,4 mg Thyroxin pro 100 g Körpergewicht. Auch in dieser Reaktionsweise kommt die bekannte hohe Empfindlichkeit der Nebenniere zum Ausdruck. Die Einspritzung grösserer Thyroxinmengen führt zu keiner weiteren nennenswerten Verminderung des Nebennieren-Cholesterins. Wie oben erwähnt, darf vermutet werden, dass sich der Hauptangriff des Schilddrüsenhormons gegen gewisse Fraktionen des adrenalen Gesamtcholesterins richtet. Ob gerade die Rindenhormone oder das „indifferente" Cholesterin der Nebenniere in erster Linie betroffen werden, ist nicht zu entscheiden. Die typischen Krankheitserscheinungen der Hyperthyreoidisierung sprechen allerdings im Sinne einer starken Beeinträchtigung der innersekretorischen Leistungsfähigkeit der Nebenniere, d. h. eines möglichen Übergriffes der Schädigung auf die steroiden Hormone der Nebenniere. S. Tab. 2.

Einfluss von Schilddrüsenpulver auf das Nebennierencholesterin.

Der hemmende Einfluss des Schilddrüsenhormons auf die Anhäufung von Nebennieren-Cholesterin kommt auch bei längerdauernder Verfütterung von Thyreoidea-Substanz zum Ausdruck. 7 Versuchstiere wurden während über 2 Monaten mit einem getrockneten Schilddrüsenpräparat der Firma *Riedel* mit einem Jodgehalt von 0,172% behandelt. Allerdings erhielten die Tiere zugleich verschiedene antithyreotoxische Substanzen, welche ihnen das Überleben dieser schweren Vergiftungen ermöglichten. Trotzdem gelang es nicht, den Cholesteringehalt der Nebenniere auf die normale Höhe zu bringen. Mit einem durchschnittlichen Gehalt von 2,30% Cholesterin weisen die Nebennieren dieser Tiere einen Verlust von etwa ⅓ ihres physiologischen Cholesterinvorrates auf. S. Tab. 3.

Tabelle 2.

Cholesteringehalt sowie Gewicht der beiden Nebennieren von Ratten, die mit subkutanen Thyroxininjektionen behandelt wurden.

Der Cholesteringehalt bezieht sich auf das Frischgewicht der Nebennieren.

Nr. und Geschlecht des Versuchstieres	Subkutane Injektion von mg Thyroxin pro 100 g Körpergewicht am ersten Versuchstage	am zweiten Versuchstage	Cholesteringehalt der beiden Nebennieren	Frischgewicht der beiden Nebennieren
1 ♂	0,4 mg Thyroxin	0,6 mg Thyroxin	1,88%	35,6 mg
4 ♂	0,4 mg ,,	0,6 mg ,,	1,54%	32 mg
5 ♂	0,4 mg ,,	0,6 mg ,,	1,16%	25,8 mg
9 ♂	0,4 mg ,,	—	1,31%	19,7 mg
10 ♂	0,4 mg ,,	—	2,10%	40,1 mg
11 ♂	0,4 mg ,,	—	1,52%	31,8 mg
12 ♂	0,4 mg ,,	—	1,13%	33,6 mg
13 ♂	0,4 mg ,,	—	1,54%	25,8 mg
14 ♂	0,4 mg ,,	—	1,65%	26 mg
15 ♂	0,4 mg ,,	—	1,79%	34,4 mg
68 ♂	0,6 mg ,,	0,6 mg ,,	1,93%	30,3 mg
69 ♂	0,8 mg ,,	0,8 mg ,,	2,05%	30,9 mg
70 ♂	1,0 mg ,,	1,0 mg ,,	1,78%	39,2 mg
71 ♂	1,2 mg ,,	1,2 mg ,,	2,96%	33 mg
72 ♂	0,6 mg ,,	0,6 mg ,,	2,45%	32,8 mg
73 ♂	0,6 mg ,,	0,6 mg ,,	2.24%	36.2 mg
		Mittelwert:	1,81%	31,7 mg

Tabelle 3.

Cholesteringehalt und Gewicht der beiden Nebennieren von Ratten, die während längerer Zeit mit Schilddrüsenpulver behandelt wurden.

Nr. und Geschlecht des Tieres	Dauer der Schilddrüsenfütterung	Insgesamt verfütterte Schilddrüsenmenge	Cholesteringehalt der Nebennieren bezogen auf das Frischgewicht	Frischgewicht der beiden Nebennieren
246 ♂	63 Tage	8,7 g	3,38%	31 mg
249 ♂	63 Tage	8,7 g	2,40%	60 mg
252 ♀	63 Tage	7,4 g	2,12%	57,7 mg
253 ♀	63 Tage	7,4 g	1,71%	39,9 mg
254 ♀	63 Tage	7,3 g	1,92%	24,4 mg
255 ♀	63 Tage	7,3 g	2.17%	48.6 mg
		Mittelwert:	2,30%	43,6 mg

Die hier mitgeteilten, in Prozentzahlen ausgedrückten Cholesterinverluste beruhen nicht etwa auf einer Erhöhung des Nebennierengewichtes. Thyroxin verursacht nämlich eine Vergrösserung der Nebennieren, doch erst bei langdauernder Zufuhr. Ein- bis zweimalige Behandlungen mit Schilddrüsenhormon lassen das Gewicht der Nebennieren unbeeinflusst. Man erkennt dies beim Vergleich der durchschnittlichen Nebennierengewichte der Normaltiere (34,7 mg, Tabelle 1) mit denjenigen der mit Thyroxin behandelten Tiere

(31,7 mg, Tabelle 2). Eine Erhöhung des Nebennierengewichtes ist dagegen bei den Ratten der Tabelle 3 feststellbar, wo die über 2 Monate andauernde Schilddrüsenverfütterung eine durchschnittliche Erhöhung des Nebennierengewichtes um 25,6% und eine Cholesterinabnahme von 31,4% ergab. Doch muss betont werden, dass hier sehr wirksame Entgiftungsmittel des Thyroxins benutzt wurden, die den schädlichen Einfluss der Hyperthyreodisierung bis zu einem sehr erheblichen Grade ausgleichen konnten.

Zusammenfassung.

Die quantitative chemische Zusammensetzung der Nebenniere sowie deren Cholesteringehalt unterliegen zahlreichen Schwankungen. Dieselben sind der Ausdruck der hohen Empfindlichkeit der Nebenniere vielen äusseren und inneren Einflüssen gegenüber. Zu den massgebenden hier in Betracht fallenden Faktoren gehört das Schilddrüsenhormon. Eine selbst kurzdauernde Zufuhr von Thyroxin setzt den normalen Cholesterinvorrat der Nebenniere herab. Im Mittel aus 16 Versuchen ergab sich eine Erniedrigung des Nebennieren-Cholesterins um 46%.

Bei langdauernder natürlicher oder künstlicher Hyperthyreose stellen sich auf verschiedenen Gebieten Ausgleichs- und Abwehrvorgänge des Körpers ein. Zu denselben darf auch die recht häufig feststellbare Vergrösserung des Nebennierengewichtes gezählt werden. Dadurch kann die absolute, weniger aber die prozentuelle Cholesterinmenge wieder annähernd normal werden.

Inwiefern durch das Schilddrüsenhormon neben dem Gesamtcholesterin auch die steroiden Nebennierenrindenhormone beeinflusst werden, lässt sich zur Zeit nur biologisch, nicht aber analytisch-chemisch ableiten. Die experimentellen und klinischen Beobachtungen sprechen für eine Abschwächung der Nebennierenfunktion bei längerdauernder Erhöhung der Schilddrüsentätigkeit.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung des *Dr. Spirig-Fonds* der Medizinischen Fakultät der Universität Bern ausgeführt. Der Stiftung sei auch an dieser Stelle bestens gedankt.

Physiologisches Institut der Universität Bern.

32. Die Umsetzung des Caseins mit Formaldehyd. V. Über das Verhalten der ε-Aminogruppen des Lysins und der Peptidgruppen

von **Hs. Nitschmann** und **H. Hadorn.**

(20. I. 44.)

Einleitung.

In der IV. Arbeit dieser Publikationsreihe[1]) wurde der Einfluss der Formaldehydgerbung auf das Quellungsvermögen des Caseins näher untersucht. Es wurde dort bereits darauf hingewiesen, dass die Verminderung des Quellungsvermögens in Wasser und die Unlöslichkeit gegerbten Caseins in Caseinlösungsmitteln, wie verdünnter Natronlauge, starker Harnstoff- oder Calciumrhodanidlösung usw. durch die Theorie der Brückenbildung erklärt werden kann. In der Tat ist die Bildung von $-CH_2-CH_2-$-Brücken bei der Formaldehydgerbung der Proteine bereits von verschiedenen Forschern angenommen und diskutiert, jedoch nie experimentell bewiesen worden.

Eine fast lückenlose Zusammenstellung der diesbezüglichen Arbeiten hat neuestens *Gustavson*[2]) in seiner Publikation „Die Natur der Formaldehyd-Verbindungen der Eiweisskörper" gegeben. Wir können uns deshalb damit begnügen, nur noch auf jene Arbeiten einzugehen, die zu unseren eigenen Untersuchungen in einer näheren Beziehung stehen. Der erste Autor, der die Bildung von Methylenbrücken bei der Formaldehydgerbung annahm, war *K. H. Meyer*[3]). *Küntzel*[4]) hat den Gedanken dahin präzisiert, dass Peptidgruppen sich berührender Eiweissmolekeln durch $-CH_2-CH_2-$-Brücken verknüpft werden sollen. Den experimentellen Beweis hiefür hat er nicht erbracht. *Highberger* und *O'Flaherty*[5]) sowie *Holland*[6]) wiederum erachten nach ihren quantitativen Versuchen die *Küntzel*'sche Brückentheorie als unwahrscheinlich. Die erste Arbeit, in der der experimentelle Nachweis der Methylenbrücken erbracht werden sollte, stammt von *Dyachenko* und *Shelpakowa*[7]). Da von diesen Autoren die Formaldehydgerbung gerade am Casein untersucht wurde, soll gezeigt werden, dass der Beweis in Wirklichkeit nicht erbracht worden ist. Gegerbt wurde ausschliesslich in wässeriger 3-proz. Formaldehydlösung. Die Gerbdauer betrug immer 5 Tage. Variiert wurde das p_H der Gerblösung. Dabei wurde die Beobachtung gemacht, dass bei höherm p_H mehr Formaldehyd gebunden wird, was sich vollständig mit den Angaben einer Reihe anderer Forscher deckt. Den Schluss, dass bei neutraler oder schwach saurer Reaktion der Gerblösung zwischen je zwei primären Aminogruppen eine Methylenbrücke gebildet wird, ziehen die genannten Autoren aus folgenden zwei Experimenten:

1. wurde der vom Casein gebundene Formaldehyd analytisch bestimmt;

2. wurde das OH'-Bindungsvermögen von unbehandeltem und von gegerbtem Casein bestimmt.

---

[1]) Helv. **26**, 1084 (1943).
[2]) Koll. Z. **103**, 43 (1943).
[3]) Bioch. Z. **208**, 23 (1929).
[4]) Angew. Chem. **50**, 308 (1937).
[5]) J. int. Soc. Leather Trades Chemists **23**, 549 (1939).
[6]) J. int. Soc. Leather Trades Chemists **23**, 215 (1939).
[7]) J. int. Soc. Leather Trades Chemists **23**, 12 (1939).

Auf 2 Aminogruppen soll ein Mol CH_2O gebunden werden. Zudem soll der Verlust an OH'-Bindungsvermögen bei der Gerbung gerade der Anzahl der Aminogruppen äquivalent sein, woraus geschlossen wird, dass diese alle zur Gruppierung —NH—CH_2—NH— umgesetzt werden. Das OH'-Bindungsvermögen des rohen Caseins wurde durch Titration mit Natronlauge und Phenolphtalein bis zur Rotfärbung (p_H ca. 10) bestimmt. Das gegerbte Casein dagegen wurde mit einem Überschuss an 0,1-n. Natronlauge (p_H = 13) behandelt; dieser wurde nach dem Filtrieren zurücktitriert. Im zweiten Falle bestimmt man das maximale OH'-Bindungsvermögen, im letzten Falle aber nicht[1]). Die beiden Werte dürfen deshalb nicht miteinander verglichen werden. Überhaupt kann man auf diesem Wege nicht zum Ziel gelangen, da ja die Aminogruppen durch die Methylenbrückenbildung ihren basischen Charakter keineswegs vollständig verlieren.

Ferner muss festgestellt werden, dass die Analysenmethode, nach welcher *Dyachenko* und *Shelpakova* den gebundenen Formaldehyd bestimmten, zu niedrige Werte liefert. Durch blosses Destillieren mit Wasser ohne Säurezusatz gelingt es nie, den Formaldehyd quantitativ abzuspalten[2]). Eine Formaldehydbestimmung, die wir genau nach den Angaben der genannten Autoren ausführten, ergab nur 83% des wirklich gebundenen Formaldehyds. Sämtliche Analysenwerte sind daher um rund 20% zu niedrig.

Schliesslich sind die Bedingungen, unter welchen die Verfasser gerben, willkürlich gewählt. Man braucht nur die Konzentration der Gerblösung oder die Gerbzeit zu verändern, um völlig andere Werte für den gebundenen Formaldehyd zu erhalten[3]). Das stöchiometrische Verhältnis zwischen gebundenem Formaldehyd und Aminogruppen im Casein ist hier also rein zufällig wie 1 : 2.

Sehr gründlich hat sich *Gustavson*[4]) mit der Formaldehydgerbung des Kollagens beschäftigt. Seine Versuche führen ihn zu einer Deutung der Gerbwirkung des Formaldehydes, die sich recht weitgehend mit unseren eigenen deckt. *Gustavson* fand, dass beim p_H 7—8 aus 1—2-proz. Formaldehydlösung leicht 0,40 bis 0,45 Mol CH_2O pro g Kollagen aufgenommen werden. Das entspricht ziemlich genau dem Lysingehalt. Bei höherem p_H binden auch die Argininreste noch Formaldehyd. Bei höher konzentrierten Formaldehydlösungen nehmen sogar noch die Peptidgruppen Formaldehyd auf. Die eigentliche Gerbwirkung des Formaldehyds (Erhöhung der Schrumpfungstemperatur, Resistenz gegen Trypsin, Verminderung des Schwellungsgrades) ist strikte an die Anwesenheit der ε-Aminogruppen des Lysins gebunden. Entfernt man diese mit salpetriger Säure, so kann das desaminierte Kollagen wohl noch Formaldehyd aufnehmen, eine Gerbung wird dadurch aber nicht mehr bewirkt. Für *Gustavson* besteht die Gerbung in einer Netzbildung zwischen den Proteinmolekeln, und er schreibt auf S. 47 seiner letzten Arbeit (loc. cit.): „Die Vernetzung der Kollagenketten muss demnach an den ε-Aminogruppen der Lysinreste lokalisiert werden, wahrscheinlich durch Querbindungen benachbarter Aminogruppen naheliegender Ketten." *Gustavson* hat nur mit Kollagen gearbeitet. Man ist aber von vornherein geneigt, anzunehmen, dass der Gerbprozess bei anderen Proteinen analog verläuft. Wir waren deshalb überrascht, als wir lasen[5]), dass *E. Waldschmidt-Leitz* in einem Vortrag für die Formaldehydhärtung des Caseins eine ganz gegenteilige Ansicht vertreten hat. Er glaubt, durch fermentativen Abbau von gehärteten Caseinfasern und adsorptive Trennung der Spaltprodukte bewiesen zu haben, dass die freien Aminogruppen der Diaminocarbonsäuren bei der kalten Gerbung (30°) überhaupt keinen Formaldehyd binden, oder diesen schon beim Waschen mit kaltem Wasser sehr leicht wieder abspalten. Als Bindungsstelle für Methylenbrücken komme einzig die Peptidgruppe in Frage. Nur für die Gerbung bei 70° räumt der genannte Autor die Möglichkeit einer stabilen Bindung an den freien Aminogruppen ein.

---

[1]) Die beiden Autoren haben übrigens selbst durch potentiometrische Titration für rohes Casein festgestellt, dass die OH'-Bindung erst bei p_H 11,28 beendet ist.

[2]) Vgl. I, *Nitschmann* und *Hadorn*, Helv. **24**, 237 (1941).

[3]) Vgl. III, *Nitschmann* und *Hadorn*, Helv. **26**, 1075 (1943).

[4]) Svensk kem. Tid. **52**, 261 (1940); Koll. Z. **103**, 43 (1943).

[5]) Zellwolle, Kunstseide, Seide **46**, 444 (1941); Referat.

Angesichts dieser sich widersprechenden Ansichten sollte für das Casein die Frage abgeklärt werden, welche Gruppen im Protein mit dem Formaldehyd reagieren. Im folgenden bringen wir einen ersten Beitrag zu diesem Fragenkomplex. Insbesondere soll hier versucht werden, die Annahme der Methylenbrückenbildung, zu der wir beim Studium der Quellung gegerbter Caseine sozusagen gezwungen wurden, experimentell zu stützen.

I. Die Formaldehydbindung durch die freien Lysinaminogruppen.

Dieselbe lässt sich durch den quantitativen Vergleich der Formaldehydaufnahme von gewöhnlichem und von desaminiertem Casein ermitteln. Wir bereiteten uns Desaminocasein ungefähr nach *Dunn* und *Lewis*[1]) wie folgt:

50 g Casein[2]) wurden in einem Stutzen in 1 Liter Wasser suspendiert. Unter kräftiger Rührung wurde langsam 70 cm³ Eisessig zugetropft. Das Casein löste sich dabei zu einer trüben, viskosen Lösung. Nun wurde 250 cm³ 8-proz. Natriumnitritlösung zugetropft. Unter Gasentwicklung fiel das Casein langsam wieder aus. Das Produkt war intensiv zitronengelb gefärbt, was auf eine weitergehende Einwirkung der salpetrigen Säure deutet (Nitrosierung). Das Reaktionsgemisch wurde nun 3 Tage lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde durch ein Glasfilter filtriert und zunächst mit kaltem, dann mit heissem Wasser gewaschen. Dabei wurde Gasentwicklung beobachtet und das Präparat färbte sich bräunlich. Zum Schluss wurde mit Alkohol gewaschen und an der Luft getrocknet. Das getrocknete Desaminocasein hatte eine gelbbraune Farbe.

Die Menge der bei der Desaminierung in OH-Gruppen übergeführten Aminogruppen wurde aus der Verminderung des Säurebindungsvermögens[3]) und des nach *van Slyke* bestimmbaren Aminostickstoffes[3]) berechnet. Die Werte sind in guter Übereinstimmung (Tab. 1). Sie entsprechen zudem ungefähr dem Wert, den *van Slyke*[4]) für den Lysingehalt des Caseins gefunden hat (7,72 % entspr. 60 Millimol/g). Natives und desaminiertes Casein wurden nun unter genau gleichen Bedingungen gegerbt, ausgewaschen und getrocknet und die Differenz des Formaldehydgehaltes dieser Präparate bestimmt[5]).

Wir fanden, dass für jede zerstörte Lysinaminogruppe annähernd, aber nicht ganz eine Molekel Formaldehyd weniger gebunden wird, wenn man 24 Stunden bei Zimmertemperatur mit 10-proz. Formaldehydlösung gerbt[6]). Da unter solchen Bedingungen — wie gleich noch gezeigt wird — im nativen Casein ein kleinerer Teil der Aminogruppen unumgesetzt bleibt, kommt man zum Schluss, dass Formaldehyd und Aminogruppen im Verhältnis 1 : 1 miteinander

[1]) J. Biol. Chem. **49**, 327 (1921).

[2]) Betr. dessen Herstellung siehe III, loc. cit.

[3]) Betr. Ausführung dieser Bestimmungen vgl. den Anhang, S. 310.

[4]) J. Biol. Chem. **16**, 531 (1914).

[5]) Analysenmethode siehe II, *Nitschmann* und *Hadorn*, Helv. **26**, 1069 (1943).

[6]) Diese Behandlung genügt zur Erreichung des maximalen Gerbeffektes in Bezug auf die Quellung; vgl. IV, loc. cit.

reagieren. Dieses Ergebnis wird durch die Tatsache nicht widerlegt, dass bei sehr langdauernder Gerbung (30 Tage, 10-proz. Lösung) Casein und Desaminocasein fast gleich viel Formaldehyd binden. Die OH-Gruppen im letzteren binden mit der Zeit ebenfalls Formaldehyd, so dass die Differenz immer kleiner wird.

Tabelle 1.

Messung	Casein (I)	Desamino-casein (II)	Differenz (I—II)
Säurebindungsvermögen in Millimol/g	0,763	0,263	0,500
van Slyke-Stickstoff —NH_2 in Millimol/g	0,597	0,102	0,495
CH_2O gebunden in %	2,18	0,96	1,22
CH_2O gebunden in Millimol/g . . (Gerbung 48 Std. mit 10-proz. CH_2O, 24 Std. gewaschen)	0,726	0,32	0,406
CH_2O gebunden in %	3,42	3,10	0,32
CH_2O gebunden in Millimol/g . . (Gerbung 30 Tage mit 10-proz. CH_2O, 24 Std. gewaschen)[1])	1,14	1,033	0,166

Beim Kollagen kommen auf Grund analoger Versuche *Bowes* und *Pleass*[2]) sowie *Highberger* und *O'Flaherty*[3]) zum selben Schluss wie wir, nämlich dass das Bindungsverhältnis von Lysinaminogruppen zu Formaldehyd 1 : 1 beträgt.

Der Nachweis der Formaldehydbindung durch die Lysinaminogruppen ist zunächst indirekt erbracht worden. Es sollte nun noch versucht werden, im gegerbten Casein die Zahl der umgesetzten Aminogruppen auch direkt zu bestimmen.

Aus der Veränderung des $H^{\cdot}$-Bindungsvermögens bei der Gerbung lässt sich dieser Wert ebensowenig ermitteln wie aus der Veränderung des OH'-Bindungsvermögens[4]). Durch die Bindung von Formaldehyd in dieser oder jener Weise verlieren die Aminogruppen ihren Basencharakter nicht vollständig. Deshalb ist es ganz erwartungsgemäss, wenn die gegerbten Caseine bei einem Säurezusatz, der bei gewöhnlichem Casein die maximale $H^{\cdot}$-Bindung bewirkt, etwas weniger Wasserstoffionen binden als das letztere, wobei die Differenz aber lange nicht der Anzahl umgesetzter Aminogruppen äquivalent ist.

---

[1]) Bei erschöpfendem Auswaschen (vgl. III, loc. cit.) bleibt die Differenz fast gleich.
[2]) J. int. Soc. Leather Trades Chemists **23**, 453 (1939).
[3]) J. int. Soc. Leather Trades Chemists **23**, 549 (1939).
[4]) Vgl. Einleitung.

Aufschlussreicher ist die Bestimmung des *van Slyke*-Stickstoffes in den gegerbten Caseinen. Mit salpetriger Säure reagiert bekanntlich nur die primäre ε-Aminogruppe der Lysinreste unter Stickstoffentwicklung. Im gegerbten Protein ist diese Gruppe zum Teil durch Formaldehyd blockiert und nach der Methode von *van Slyke* nicht mehr erfassbar. Aus der Differenz der Werte von unbehandeltem Casein und gegerbtem Casein lässt sich die Menge der mit Formaldehyd umgesetzten Aminogruppen bestimmen.

In Tabelle 2 sind diese Werte für einige verschieden gegerbte Caseine zusammengestellt.

Tabelle 2.

Präparat-Nr.	Gerbung	Gesamt-CH_2O in %	*Van Slyke*-N in Millimol/g	Blockierte NH_2-Gruppen in Millimol/g
Casein	keine	0	0,597	0
38 I	1 Tag 38-proz. CH_2O-Lösung, kalt, „normal" gewaschen[1])	1,91	0,186	0,411
10 III	28 Tage 10-proz. CH_2O-Lösung, kalt, „normal" gewaschen	2,33	0,209	0,388
10 I 70°	1 Tag 10-proz. CH_2O-Lösung, bei 70°, „normal" gewaschen	5,21	0,083	0,514
G 50 AW	50 Tage Gasgerbung, „erschöpfend" gewaschen	1,81	0,194	0,403
10/21943	2 Tage 10-proz. CH_2O-Lösung, kalt, 24 St. ausgewaschen	2,18	0,230	0,367

Man sieht, dass durch die Formaldehydgerbung tatsächlich der grösste Teil der nach *van Slyke* erfassbaren Aminogruppen blockiert wird. Die Umsetzung ist allerdings nicht quantitativ; ein beachtlicher Teil der NH_2-Gruppen, dessen Grösse etwas von den Gerbbedingungen abhängt, wird vom Formaldehyd nicht erfasst. Die Einbusse an freien Lysinaminogruppen beträgt bei der Gerbung in der Kälte ca. 0,4 Millimol/g, d. h. reichlich $^2/_3$ der total vorhandenen Menge. Das in Tab. 2 zuletzt aufgeführte Präparat ist dasselbe wie dasjenige in Tab. 1 (3. Horizontalreihe von oben, I). Wenn auch der erwartete Wert von 0,4 hier nicht ganz erreicht wird, so ist die Übereinstimmung doch immerhin so gut, dass man sie als Bestätigung für unsern Schluss ansehen darf, dass im grossen gesehen auf jede umgesetzte Aminogruppe eine Molekel Formaldehyd kommt.

[1]) Über das Auswaschen vgl. III, loc. cit.

II. Zur Frage der Methylenbrücken. Nachweis einer Kondensation bei der Formaldehydbindung.

Für die Bindung des Formaldehyds durch die Lysinaminogruppen kommt entweder Anlagerung oder Kondensation in Frage. Im ersteren Falle würde eine Methylolverbindung R–NH–CH_2OH gebildet. Bei Kondensation bleibt die Möglichkeit, dass ein Azomethin R–N=CH entsteht, oder dass eine Methylenbrücke zwischen einer Aminogruppe und einer anderen reaktiven Gruppe gebildet wird (z. B. –NH–CH_2–N<). Die so ausserordentlich einleuchtende Brückentheorie würde eine sehr starke experimentelle Stütze erhalten, wenn es gelänge, den Nachweis für die Kondensation zu erbringen, denn die Bildung der Azomethingruppe ermöglicht keine Erklärung des Gerbeffektes[1]).

Der Nachweis, dass bei der Formaldehydgerbung des Caseins tatsächlich eine Kondensation von Wasser stattfindet, konnte recht einfach folgendermassen erbracht werden: An genau gewogenen Caseinproben wurde die durch die Gerbung bewirkte Gewichtszunahme ermittelt. Bei der Gerbung mit Formaldehydgas[2]) ist das besonders leicht möglich. Im gegerbten Casein wurde ausserdem der gebundene Formaldehyd analytisch ermittelt. Wäre der gesamte Formaldehyd in Methylolform gebunden (Addition ohne Kondensation), so müssten die beiden Werte übereinstimmen. Bei einer Kondensation wird der Wert für die Gewichtszunahme um die kondensierte Wassermenge zu niedrig gefunden. Aus dieser Differenz lässt sich der als Methylen gebundene Formaldehydanteil berechnen.

Die Caseinproben (0,3 g) wurden zunächst in kleinen Wägegläsern über konz. Schwefelsäure vorgetrocknet und anschliessend im Hochvakuum (0,06 mm) neben Phosphorpentoxyd bis zur Gewichtskonstanz weiter getrocknet. Die Gerbung erfolgte bei Zimmertemperatur in einem kleinen Exsikkator über 38-proz. Formaldehydlösung. Die Gerbzeit betrug 28 Tage. Die Wägegläser wurden offen in den Exsikkator gestellt. Durch gelegentliches vorsichtiges Drehen wurde das Casein durchgemischt, damit die Gerbung möglichst gleichmässig erfolge. Nach beendeter Gerbung wurden die Gläser 14 Tage offen an der Luft stehen gelassen, bis kein Formaldehydgeruch mehr wahrnehmbar war. Das Trocknen der Probe erfolgte in genau gleicher Weise wie vor der Gerbung, Nachdem die bei der Gerbung erfolgte Gewichtszunahme festgestellt war, wurde die gesamte Probe quantitativ in einen Destillierkolben gespült und der gebundene Formaldehyd genau bestimmt. Die gefundenen Werte sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Dieser Versuch beweist, dass tatsächlich ein beträchtlicher Teil des Formaldehyds (ca. 0,46 Millimol/g) unter Kondensation gebunden wurde. Die gefundenen Werte stimmen recht gut mit der durch die Lysinaminogruppen gebundenen Formaldehydmenge überein. Dieselbe beträgt nach den Versuchen der Tabelle 1 und 2 ca. 0,4 Milli-

[1]) Vgl. IV, loc. cit. Die Existenz von Azomethinen des Formaldehyds ist überhaupt fraglich. Jedenfalls sind die Formaldehydverbindungen der Aminosäuren sehr wahrscheinlich Methylolverbindungen. *Franzen* und *Fellmer* (J. pr. [2], **95**, 299 (1917)), die sie hergestellt und untersucht haben, bezeichnen sie zwar als Methylenverbindungen, geben aber an, dass alle mit Wasser krystallisieren und sehr hygroskopisch sind.

[2]) Vgl. III, loc. cit.

mol/g. Erinnern wir uns noch daran, dass das Maximum des Gerbeffektes (Verminderung der Quellfähigkeit[1])) ebenfalls bereits mit 1,5 % CH_2O resp. 50 Millimol/g erreicht ist, so können wir feststellen, dass alles dafür spricht, dass es gerade die Lysinaminogruppen und nur diese sind, welche Formaldehyd unter Bildung von Methylenbrücken binden und somit die eigentliche Gerbung bewirken. Bei der Gerbung von Desaminocasein, das auch beträchtlich Formaldehyd zu binden vermag, müsste demnach keine Kondensation stattfinden. Diese Erwartung wurde bestätigt. Die Kondensation machte bei wie zuvor beschriebener Gasgerbung nur 0,07 Millimol/g (entsprechend 0,22 % CH_2O) aus. Dieser kleine Betrag dürfte auf die nicht vollständige Desaminierung unserer Präparate zurückzuführen sein; er liegt im übrigen fast innerhalb der Fehlergrenze.

Tabelle 3.

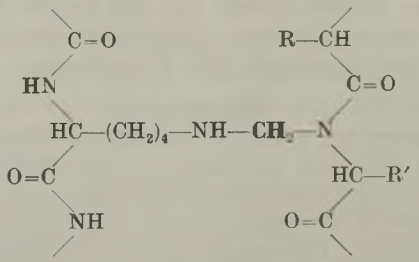
	Versuch I	Versuch II
Caseingewicht vor der Gerbung	0,3262 g	0,3307 g
Caseingewicht nach der Gerbung	0,3352 g	0,3395 g
Gewichtszunahme	0,0090 g	0,0088 g
Gew.-Zunahme in % (Gew. n. Gerbg. = 100)	2,69 %	2,59 %
Die Analyse ergab: CH_2O in g	0,01186 g	0,01152 g
in Prozenten	3,54 %	3,39 %
CH_2O als Methylol gebunden	2,11 %	2,06 %
CH_2O als Methylen gebunden	1,43 %	1,33 %
CH_2O als Methylen geb. in Millimol/g	0,476	0,443

Die Gasgerbung ist für den Nachweis der Kondensation besonders geeignet, weil man das Casein nicht auszuwaschen braucht, Substanzverluste also ganz ausgeschlossen sind. Bei der Nassgerbung (10-proz. Formaldehydlösung, 24 Stunden, Zimmertemperatur) liess sich Kondensation ebenfalls nachweisen, jedoch streuten die Werte stärker und lagen zudem etwas tiefer (0,8—1,3 % CH_2O resp. 0,266 bis 0,433 Millimol/g als Methylen). Das ist nicht verwunderlich. Beim Auswaschen der gegerbten Präparate sind, auch wenn es nur kurz dauert, kleinere Caseinverluste unvermeidlich[2]). Deshalb müssen die für den kondensierten Formaldehyd gefundenen Werte eher zu klein herauskommen. Immerhin stimmt wenigstens der höchste der gefundenen Werte mit der unter gleichen Gerbbedingungen durch die Lysinaminogruppen gebundenen Formaldehydmenge recht gut überein.

Für die an den Lysinaminogruppen ansetzenden Methylenbrücken stellt sich nun die Frage, zu welchen anderen Gruppen im Protein sie reichen. Da pro Lysinaminogruppe 1 Mol Formaldehyd

[1]) Vgl. IV, loc. cit. [2]) Das Waschwasser schäumt!

gebunden wird, kommt eine gegenseitige Verknüpfung der Aminogruppen durch $—CH_2—$ nicht in Frage, denn diese Reaktion würde nur ein halbes Mol Formaldehyd verbrauchen. Sie kann sich deshalb höchstens in untergeordnetem Masse abspielen. Da im Casein nur ca. jede 13. Aminosäure Lysin ist, wäre es zudem sehr unwahrscheinlich, dass sich alle diese weit verstreuten Aminogruppen zur gemeinsamen Brückenbildung finden könnten. Es bleibt kaum eine andere Möglichkeit, als dass im gegerbten Casein die Methylenbrücken je eine Lysinaminogruppe und eine Peptidgruppe entsprechend folgender Formel miteinander verknüpfen:



Diese Art der Brückenbildung ist schon deshalb die wahrscheinlichste, weil jede Lysinaminogruppe im Proteingel von zahlreichen Peptidgruppen umgeben ist. Zudem ist die Peptidgruppe für sich allein befähigt, Formaldehyd zu binden, wie wir noch zeigen werden.

III. Zur Frage der Bindung von Polyoxymethylenhydrat.

Bei kräftiger, langdauernder Gerbung vermag Casein wie auch Kollagen bedeutend mehr Formaldehyd zu binden, als den freien Aminogruppen entspricht[1]). Auch desaminiertes Casein bindet unter diesen Bedingungen beträchtliche Mengen Formaldehyd. Wir bestätigen mit dieser Feststellung nur, was andere Forscher schon vor uns gefunden haben[2]). Man hat also damit zu rechnen, dass noch weitere Gruppen im Protein Formaldehyd binden. Von anderer Seite[3]) ist ausserdem versucht worden, die höheren Formaldehydgehalte gegerbter Proteine damit zu erklären, dass ausser monomerem Formaldehyd auch Formaldehydpolymerisate gebunden worden sind. Wenn diese Annahme auch nicht bewiesen wurde, so kann sie doch nicht ohne weiteres von der Hand gewiesen werden. Neutrale und schwach saure Formaldehydlösungen höherer Konzentration enthalten reich-

[1]) Vgl. III, loc. cit.

[2]) *Bowes* und *Pleass*, J. int. Soc. Leather Trades Chemists, **23**, 451 (1939); *Highberger* und *O'Flaherty*, J. int. Soc. Leather Trades Chemists **23**, 549 (1939); *Highberger* und *Retzsch*, J. Amer. Leather Chem. Assoc. **34**, 131 (1939); *Csürös* und *Turai-Lichtig*, Magyar Chem. Folyoirat **45**, 54 (1939).

[3]) *Highberger* und *Retzsch*, J. Amer. Leather Chem. Assoc. **34**, 131 (1939).

lich Polymerisationsprodukte des Formaldehyds. Ferner sind Aminosäure-Formaldehyd-Verbindungen bekannt, in denen mehrere (meist drei) Molekel Formaldehyd an die Aminogruppe gebunden sind[1]). In einer früheren Arbeit[2]) haben wir beschrieben, dass gegerbte Caseine beim Auswaschen mit kaltem Wasser während langer Zeit beträchtliche Mengen Formaldehyd abgeben. Es wurde zunächst vermutet, dass es sich dabei um gebundene Polyoxymethylene handle, die allmählich hydrolytisch abgespalten würden[3]). Die Frage wurde daher näher untersucht.

Eine Probe (0,1 g) von festem Polyoxymethylen, das sich aus einer 38-proz. Formaldehydlösung bei längerem Stehen abgeschieden hatte, löste sich in Wasser (50 cm^3) in 5 Tagen fast vollständig auf. Die hydrolytische Abspaltung von Formaldehyd aus gegerbtem Casein erfolgt viel langsamer (bis zu 3 Wochen beobachtet). Dies deutet bereits darauf hin, dass es sich nicht um den gleichen Vorgang handeln kann. Sehr deutlich wird das unterschiedliche Verhalten von Polyoxymethylen und gegerbtem Casein bei der Wärmebehandlung.

Um einen Anhaltspunkt über die Geschwindigkeit der Depolymerisation zu erhalten, erwärmten wir eine Probe von 0,1 g Polyoxymethylen in der Trockenpistole unter Evakuieren (14 mm Hg) auf 78°. Als Absorptionsmittel für den abgespaltenen Formaldehyd diente Chromschwefelsäure. Der Gewichtsverlust betrug:

nach 1 Stunde = 37%
„ 2½ Stunden = 59%
„ 11 Stunden = 91%.

In 38-proz. Formaldehyd gegerbte Caseine spalten unter gleichen Bedingungen nur sehr wenig ihres gebundenen Formaldehyds ab (vgl. Tab. 4). Dabei ist zwischen nur ganz kurz und „erschöpfend" ausgewaschenem Casein kein Unterschied feststellbar. Bei den auswaschbaren Formaldehydanteilen kann es sich also nicht um Polyoxymethylene handeln.

Wenn durch diese Versuche auch nicht sicher bewiesen ist, dass vom Protein keine Polyoxymethylenmolekeln gebunden werden können, so scheint dies doch zum mindesten recht unwahrscheinlich.

Tabelle 4.

Casein-Nr.	Dauer der Erwärmung	% CH_2O der Probe vor Erwärm.	% CH_2O der Probe nach Erwärm.	Verlust an CH_2O in % des urspr. Gehaltes	Bemerkungen
38 I a	4 h	2,59	2,60	0	Casein nach der Gerbung nur kurz gewaschen
	18 h	2,59	2,54	1,9	
AW.	18 h	1,78	1,74	2,3	„erschöpfend" (3 Wochen) ausgewaschen

[1]) *Bergman* und *Jacobsohn*, Z. physiol. Ch. **131**, 18 (1923); *Ensslin*, Diss., Zürich.
[2]) Vgl. III, loc. cit.
[3]) Bei kräftiger Gerbung (28 Tage in 38-proz. Formaldehyd) wird allerdings nach erschöpfendem Auswaschen noch 3,03% Formaldehyd gefunden. Diese Menge ist immer noch bedeutend mehr, als was die Aminogruppen binden.

IV. Weitere formaldehydbindende Gruppen im Casein.

Von den übrigen Gruppen im Protein, die für eine Formaldehydbindung in Frage kommen können, wissen wir eigentlich nur vom Argininrest Sicheres. Für das Casein haben *Highberger* und *O'Flaherty*[1]), für das Kollagen hat *Gustavson*[2]) nachgewiesen, dass die Aminogruppe im Guanidinrest des Arginins Formaldehyd bindet, jedoch nur im alkalischen Gebiet. Dies ergibt sich aus dem Vergleich des Formaldehydbindungsvermögens von gewöhnlichem und desarginiertem[3]) Protein bei verschiedenen p_H. Bei unsern Gerbbedingungen (p_H 5—6) kommt somit eine Formaldehydbindung durch die Argininreste nicht in Frage.

Ob die sekundären Aminogruppen von Tryptophan, Histidin, Prolin und Oxyprolin unter den milden Bedingungen der Formaldehydgerbung Formaldehyd binden, ist ungewiss. Entsprechende Verbindungen der genannten Aminosäuren scheinen nie dargestellt worden zu sein. Nur vom Indol, dessen Ringsystem im Tryptophan enthalten ist, berichtet *Annie Homer*[4]), dass es bei 150° in Gegenwart von Zinkchlorid mit Trioxymethylen unter Bildung einer Verbindung $C_{21}H_{20}O_3N_2$ reagiert. Diese Bedingungen sind mit unsern nicht vergleichbar; zudem ist nur sehr wenig Tryptophan im Casein[5]) enthalten.

Gegen eine wesentliche Beteiligung der —NH—-Gruppen in den Heterocyclen spricht noch folgende Überlegung. Leichter als mit Formaldehyd reagieren diese Gruppen sicher mit salpetriger Säure. Mindestens vom Pyrrolidin (enthalten im Prolin) und vom Indol ist die Umsetzung mit salpetriger Säure bekannt[6]). Im Desaminocasein sind demnach diese Iminogruppen durch Nitrosierung blockiert. Trotzdem vermag Desaminocasein noch beträchtliche Mengen Formaldehyd zu binden. So fanden wir in einem Desaminocasein, das 24 Stunden bei 70° mit 10-proz. Formaldehydlösung gegerbt worden war, 3,49% nicht auswaschbaren Formaldehyd.

Dass die Sulfhydrylgruppe des Cysteins leicht über ein weites p_H-Gebiet mit Formaldehyd reagiert, haben *Ratner* und *Clark*[7]) gezeigt. Im Eiweiss findet sich allerdings meist nicht das Cystein, sondern sein Dehydroprodukt, das Cystin. Nach *Bowes* und *Pleass*[8]) soll die —S—S—-Brücke des Cystins durch den Formaldehyd reduktiv gespalten werden. Die dabei entstehende —SH-Gruppe reagiert

[1]) J. int. Soc. Leather Trades Chemists **23**, 549 (1939).

[2]) Svensk kem. Tid. **52**, 261 (1940).

[3]) Eine mindestens teilweise Zerstörung des Guanidinrestes gelingt mit Hypochlorit.

[4]) Biochem. J. **7**, 101 (1912).

[5]) Siehe: *Sutermeister* und *Browne*, Casein and its Industrial Applications. New York 1939.

[6]) Siehe: *Beilstein*, Organische Chemie.

[7]) Am. Soc. **59**, 200 (1937).

[8]) J. int. Soc. Leather Trades Chemists **23**, 451 (1939).

dann natürlich mit Formaldehyd. Der höchste in der Literatur angegebene Wert für den Cystingehalt des Caseins ist 0,34 %[1]). Nun enthält das Casein aber ca. 0,8 % Schwefel. Davon fällt ca. 0,3 % auf Methionin[1]). Die Bindungsart des Restes ist unbekannt. Wenn wir annehmen, dass 0,5 % Schwefel als Cystein oder Cystin vorliegen, so würde dies die Bindung von ebenfalls 0,5 % Formaldehyd ermöglichen. Sogar dieser äusserste Wert ist viel kleiner als das, was über die Bindungsfähigkeit der Aminogruppen hinausgeht. Es müssen also schon noch andere reaktionsfähige Gruppen gesucht werden.

Eine weitere Möglichkeit zur Reaktion mit Formaldehyd bietet der Phenolkern des Thyrosins. Die Angaben für dessen Gehalt im Casein liegen zwischen 4,5 und 7,5 %. Vom p-Kresol ist bekannt, dass es mit Formaldehyd in den beiden ortho-Stellungen reagieren kann[2]). Hierzu ist jedoch Natronlauge oder konz. Salzsäure als Kondensationsmittel erforderlich. Ohne solche reagiert es, wie auch das Phenol selber, erst bei höherer Temperatur mit merklicher Geschwindigkeit. Mindestens bei den bei fast neutraler Reaktion und Zimmertemperatur ausgeführten Gerbungen ist es deshalb nicht wahrscheinlich, dass der Phenolrest des Tyrosins Formaldehyd bindet. Dagegen wird er bei der Behandlung des Caseins mit salpetriger Säure nitrosiert[3]). Nun kann aber, wie schon ausgeführt, Desaminocasein noch beträchtliche Mengen Formaldehyd binden. Hiefür kann demnach auf keinen Fall das Tyrosin verantwortlich gemacht werden.

Es bleibt somit als formaldehydbindende Gruppe noch die Peptid-Iminogruppe.

Die Annahme, dass auch die Peptidgruppen Formaldehyd binden, ist schon von verschiedenen Autoren gemacht worden[4]). Wir schliessen uns ihnen an, denn folgende Tatsachen sprechen für diese Annahme:

1. *Cherbuliez* und *Feer*[5]) haben gezeigt, dass das Diketopiperazin, welches als eine geeignete Modellsubstanz für die in Frage stehende Reaktion angesehen werden kann, leicht 2 Mol Formaldehyd an den —NH—-Gruppen anlagert zu 1,4-Di-oxymethyl-2,5-diketopiperazin. Die Autoren geben auch eine Zusammenstellung anderer Säureamide, die mit Formaldehyd reagieren.

2. Aus dem Studium des zeitlichen Verlaufes der Formaldehydbindung durch das Casein[6]) geht hervor, dass sich eine rascher und eine langsamer verlaufende Reaktion überlagern. Die Reaktionsge-

[1]) *Sutermeister* und *Browne:* Casein.

[2]) Vgl. z. B. *Köbner*, Angew. Chem. **46**, 251 (1933).

[3]) Hierauf beruht die *Millon*'sche Reaktion. Desaminocasein selber ist gelb und wird mit Alkalien rot. Siehe auch *Wicke*, A. **101**, 317 (1857).

[4]) Siehe *Gustavson*, Koll. Z. **103**, 43 (1943).

[5]) Helv. **5**, 678 (1922).

[6]) Vgl. III, Helv. **26**, 1075 (1943), Fig. 1.

schwindigkeitskurve dieser zweiten Reaktion, die auch nach 30 Tagen noch keineswegs beendet ist, scheint fast linear zu verlaufen[1]). Es muss sich also um eine Reaktion handeln, bei der die Menge der reagierenden Gruppen während der betrachteten Zeitspanne nicht merklich abnimmt. Dies trifft nur für die sehr zahlreichen Peptidgruppen zu, denn wenn dieselben 1,5 % des Caseingewichts an Formaldehyd gebunden haben, so hat erst jede zwanzigste mit einer Molekel Formaldehyd reagiert.

Anhang.

1. Die Bestimmung des Säurebindungsvermögens.

Diese Bestimmung kann dank der Unlöslichkeit des Caseins in verdünnter Schwefelsäure sehr einfach und exakt wie folgt ausgeführt werden:

0,5 g lufttrockenes Casein werden in eine Glasstöpselflasche abgewogen. Nach Zugabe von genau 30 cm³ Schwefelsäure bekannter Konzentration wird verschlossen und 4 Stunden lang bei Zimmertemperatur gerollt. Nach dieser Zeit ist der Gleichgewichtszustand sicher erreicht; er bleibt auch nach 20 Stunden unverändert. Casein und überstehende Flüssigkeit werden dann durch scharfes Zentrifugieren voneinander getrennt und 20 cm³ der letzteren mit Natronlauge und Methylrot als Indikator titriert. Aus dem gefundenen Werte lässt sich berechnen, wieviel Schwefelsäure vom ungelösten Casein gebunden worden ist. Eine Spur Casein geht allerdings in Lösung, jedoch so wenig, dass das Resultat dadurch nicht wesentlich beeinflusst wird.

Die Säurebindung hängt von der Menge, resp. von der Konzentration der zugesetzten Säure ab. Tabelle 5 enthält die Werte, die wir für das von uns hergestellte Casein unter Verwendung von je 30 cm³ Schwefelsäure steigender Konzentration (bis zu 0,05-n.) erhielten.

Tabelle 5.

Milli-Äquivalente H'/g trock. Casein		Milli-Äquivalente H'/g trock. Casein	
zugesetzt	gebunden	zugesetzt	gebunden
0,448	0,392	1,794	0,732
0,897	0,622	2,242	0,763
1,345	0,697	3,363	0,763

Man sieht, dass ein beträchtlicher Überschuss an Säure nötig ist, damit die gesuchte maximale Säurebindung erreicht wird, dass aber noch mehr Säure dieselbe nicht mehr verändert. Wenn die benötigte Säuremenge einmal ermittelt ist, so kann man sich bei weiteren Messungen natürlich mit einem einzigen Ansatz begnügen.

2. Die Bestimmung des *Van Slyke*-Stickstoffes.

Die von *van Slyke* zur Bestimmung primärer aliphatischer Aminogruppen angegebene Methode[2]) konnte von uns nicht unverändert übernommen werden. Sie setzt voraus, dass der zu analysierende Stoff gelöst werden kann, was für gegerbte Caseine unmöglich ist. Wir arbeiten deshalb wie folgt:

Als Reaktionsgefäss verwenden wir eine 50 cm³ fassende Weithalsflasche, die durch einen Gummistopfen verschlossen werden kann, der in vier Bohrungen zwei kleine Tropf-

[1]) Wir sind daran, den zeitlichen Verlauf der Formaldehydbindung weiter, d. h. über ein ganzes Jahr, zu verfolgen.

[2]) Siehe *Houben-Weyl*, Methoden der organischen Chemie, 2. Aufl., Bd. 4, S. 463.

trichter und ein Zuleitungs- und ein Ableitungsrohr für Gas trägt. In diese Flasche werden 0,6 bis 1 g Casein eingewogen. Man setzt 15 cm³ Wasser, 3 cm³ 1-n. Natriumsulfatlösung sowie einen Tropfen Amyl- oder Oktylalkohol zu, schwenkt um, bis alles benetzt ist, und lässt 30 Minuten quellen. Nun wird die vom Casein noch festgehaltene Luft durch vorsichtiges Evakuieren (vom Gaszuleitungsrohr her) entfernt. Das Schäumen der Mischung bekämpft man dadurch, dass man durch den kleineren Tropftrichter noch etwas Amylalkohol zugibt. Nun wird das Gefäss durch das Gaszuleitungsrohr mit luftfreiem Kohlendioxyd (aus einem *Kipp*) gefüllt. Jetzt lässt man durch den grösseren Tropftrichter 5 cm³ Eisessig einfliessen, worauf man nochmals kurz evakuiert und wieder mit Kohlendioxyd auffüllt. Am kapillaren Gasableitungsrohr angeschlossen war bereits eine mit Zweiweghahn und Niveaugefäss versehene Gasbürette, die als Sperrflüssigkeit 1-proz. Schwefelsäure enthält. Der bisher geschlossene Zweiweghahn wird nun so gedreht, dass Reaktionsgefäss und Gasbürette miteinander verbunden sind. Jetzt lässt man durch den grösseren Trichter tropfenweise eine ausgekochte Lösung von 3 g Natriumnitrit in 10 cm³ Wasser zufliessen. Die Gasentwicklung setzt sofort ein. Zu starkes Schäumen wird durch weitere Zugabe von Amylalkohol bekämpft. Die Zeit, zu der das Nitrit zugesetzt wird, ist zu notieren. Eine Stunde nach Zugabe des Nitrits wird der entwickelte Stickstoff zum erstenmal gemessen. Das Gasgemisch (N_2, NO und NO_2) wird durch den Zweiweghahn in eine Absorptionspipette nach *Hempel* getrieben. Diese enthält 10-proz. Natronlauge, die mit Kaliumpermanganat gesättigt ist. Das Reaktionsgefäss wird zweimal mit 50 cm³ Kohlendioxyd ausgespült und auch dieses Gasvolumen in die Pipette getrieben. Die Absorption und die Messung des verbleibenden Stickstoffes müssen rasch vor sich gehen, damit im Reaktionsgefäss inzwischen kein zu grosser Überdruck entsteht. Man nimmt nun eine Zeitkurve der *van Slyke*-Reaktion auf, indem man während ca. 4 Stunden alle 30 bis 40 Minuten den entwickelten Stickstoff misst. Dies ist nötig, weil die Reaktion nie zu einem Ende kommt. Die Zeitkurven der Stickstoffentwicklung haben alle dieselbe Form (I), wie sie in Fig. 1 wiedergegeben ist. Man erkennt deutlich,

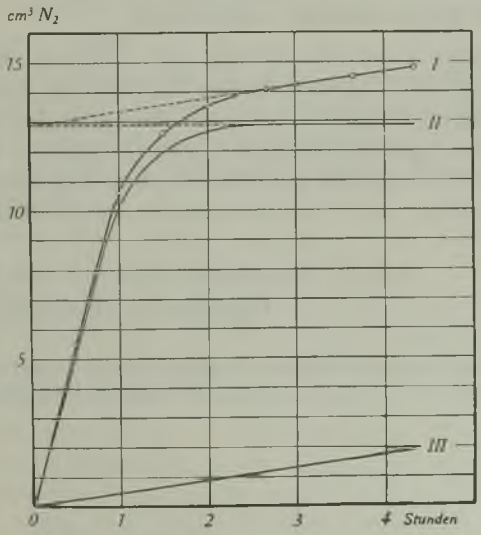


Fig. 1.

dass sich zwei Reaktionen überlagern, eine rasch beginnende und nach 2 bis 3 Stunden beendete Reaktion (II) und eine andere, langsame, deren Kurve (III) linear mit der Zeit verläuft. Bei der letzteren dürfte es sich um eine Umsetzung mit den Peptidgruppen

handeln[1]). Der Schnittpunkt des linearen Kurvenstückes mit der Ordinate ergibt den Endwert der rasch verlaufenden Reaktion der salpetrigen Säure mit den freien Lysinaminogruppen. Unter Verwendung dieser graphisch ermittelten Stickstoffvolumina lassen sich die *van Slyke*-Werte mit einer Genauigkeit von $\pm$ 1% reproduzieren.

Zusammenfassung.

Es wurde festgestellt, dass bei der Einwirkung von Formaldehyd auf Casein bei p_H 5—6 und Zimmertemperatur in erster Linie die freien ε-Aminogruppen des Lysins in Reaktion treten.

Aus dem Vergleich des Formaldehydbindungsvermögens von desaminiertem und gewöhnlichem Casein und aus der Verminderung des *van Slyke*-Stickstoffes bei der Formaldehydgerbung ist zu schliessen, dass sich die freien Lysinaminogruppen mit dem Formaldehyd im Verhältnis 1 : 1 verbinden. Es konnte erstmals einwandfrei nachgewiesen werden, dass bei der Reaktion zwischen Formaldehyd und Casein Wasser abgespalten wird. Die kondensierte Wassermenge wurde als äquivalent dem durch die Lysinaminogruppen gebundenen Formaldehyd gefunden. Schliesslich konnte erneut gezeigt werden, dass ausser den Lysinaminogruppen noch andere Gruppen im Casein vorhanden sind, die schon in schwach saurem Medium Formaldehyd binden. Eine Reihe von Gründen sprechen dafür, dass es sich dabei vor allem um die Peptidgruppen handeln muss. Die Reaktion zwischen den Peptidgruppen und dem Formaldehyd ist aber mindestens in der Kälte mit keiner Kondensation verbunden.

Die mitgeteilten Versuche führen zum Schluss, dass die eigentliche Gerbwirkung des Formaldehyds (Verlust der Löslichkeit, Verminderung der Quellfähigkeit) dadurch zustande kommt, dass zwischen den freien Lysinaminogruppen einerseits und den Peptidgruppen andererseits Methylenbrücken gebildet werden, was eine hauptvalenzmässige Verknüpfung der Proteinmolekeln untereinander bedeutet.

Bern, Chemisches Institut der Universität,
Organische Abteilung.

[1]) Es ist auch von gewissen einfachen Peptiden bekannt, dass sie mehr Stickstoff entwickeln als den freien NH_2-Gruppen entspricht. Siehe *Houben-Weyl*, loc. cit.

33. Über optisch aktives Phytol

II. Mitteilung

von **P. Karrer, H. Simon** und **E. Zbinden.**

(22. I. 44.)

In der ersten Mitteilung über optisch aktives Phytol[1]) hatten wir mitgeteilt, dass sich ein aus Brennesseln gewonnenes Phytolpräparat als optisch aktiv erwiesen hatte und dass auch das aus ihm hergestellte 2,6,10-Trimethyl-pentadecanon und die durch Oxydation daraus gewonnene 4,8,12-Trimethyl-tridecansäure-1 rechtsdrehend waren. Die Drehung φ des mehrfach destillierten Phytolpräparates betrug $+0{,}17$ bis $+0{,}18^0$.

Seither haben wir weitere Phytolpräparate auf ihr optisches Verhalten untersucht. Eines wurde uns in freundlicher Weise von Herrn Prof. *A. Stoll* (Chemische Fabrik *Sandoz A.G.*, Basel) zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen. Auch dieses Präparat stammte aus Brennesseln und war aus krystallisiertem Phaeophytin gewonnen worden. Es stellte die bei der Destillation gewonnene Mittelfraktion dar. Die optische Drehung dieses Präparates war ungefähr ein Drittel derjenigen des zuerst untersuchten; sie betrug $\varphi = +0{,}06^0$.

Und schliesslich haben wir uns aus Spitzgras selbst ein Phytolpräparat hergestellt (30 g). Dieses war aus dem krystallisierten Phaeophytin des Grases erhalten und durch fraktionierte Destillation gereinigt worden. An diesem Präparat konnten wir keine optische Drehung wahrnehmen.

In der früheren Abhandlung[1]) hatten wir die Annahme gemacht, die verschieden grossen Drehungen verschiedener Phytolpräparate könnten davon herkommen, dass *d*-Phytol und racemisches Phytol in verschiedenen Mengenverhältnissen im Pflanzenreich auftreten. Neue Beobachtungen zeigen aber, dass die Ursache dieser Erscheinung in anderer Richtung zu suchen ist.

Es ergab sich, dass bei der Überführung des Phytols in Phytadien die optische Drehung sehr stark zunimmt und dass die Phytadienpräparate aus den verschieden stark drehenden Phytolen und dem Phytol aus Gras, das keine Drehung erkennen liess, ungefähr dieselbe optische Drehung besitzen. Diese betrug in 4 Versuchen: $\varphi = +0{,}88^0$, $+0{,}57^0$, $+0{,}89^0$ und $+0{,}56^0$. Die beiden ersteren Prä-

[1]) *P. Karrer, A. Geiger, H. Rentschler, E. Zbinden* und *A. Kugler*, Helv. **26**, 1741 (1943).

parate waren aus einem natürlichen, sehr schwach rechtsdrehenden Phytol (= + 0,06°) erhalten worden, die beiden letzteren aus natürlichem Phytol, das keine optische Drehung erkennen liess.

Die Drehungszunahme beim Übergang des Phytols in Phytadien ist nicht überraschend. Bekanntlich steht das optische Drehungsvermögen einer Substanz in engem Zusammenhang mit der Lage ihrer Absorptionsbanden und der Drehungsbeitrag der Absorptionsbande nimmt stark zu, wenn sie jenem Wellenlängen-Gebiet näher rückt, in dem die Bestimmung der optischen Drehung erfolgt, in unserem Fall also dem sichtbaren Spektralbereich (bzw. der D-Linie). Besonders gross werden die Drehungsbeiträge, wenn man die Drehung mit Wellenlängen beobachtet, welche in der Gegend der Absorptionsbanden liegen.

Der Übergang des Phytols in Phytadien mit seinen konjugierten Doppelbindungen bedeutet eine Verschiebung der Absorptionsbanden in der Richtung längerer Wellenlängen, d. h. der Wellenlänge, mit der wir die optische Drehung bestimmten, und daher ist die Zunahme dieser Drehung nicht erstaunlich. Die Beispiele in der Literatur sind überaus zahlreich, die zeigen, dass durch Einführung von Doppelbindungen oder anderen ungesättigten Gruppen die optische Aktivität stark zunimmt.

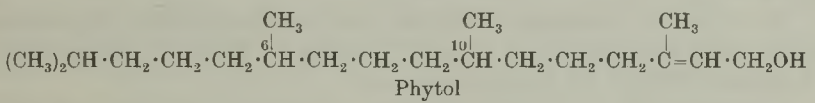
Überraschend ist dagegen die Tatsache, dass alle untersuchten Phytolpräparate, auch dasjenige, das optisch inaktiv schien, Phytadiene von ungefähr gleichem Drehungsvermögen lieferten. Das können wir uns nur so erklären, dass wir annehmen, diese Präparate enthalten trotz mehrfacher Fraktionierung durch Destillation eine linksdrehende Beimengung, welche die kleine Rechtsdrehung des Phytols mehr oder weniger weit kompensieren kann; oder aber durch die wahrscheinlichere Annahme, dass reinstes Natur-Phytol eine unmessbar kleine Drehung besitzt und die schwachen Rechtsdrehungen mancher destillierter Präparate von einer schwer abtrennbaren, rechtsdrehenden Begleitsubstanz bewirkt wird. Um welche rechtsdrehende Begleitsubstanz es sich handelt, ist noch ungewiss. Es könnte z. B. etwas *d*-Phytadien sein; eine andere Möglichkeit, die nicht von der Hand zu weisen ist, ist die, dass natürliches Phytol eine Mischung der beiden cis- und trans-isomeren Formen darstellt, von denen die eine eine schwache Rechtsdrehung aufweist, die andere nicht. Beide müssten optisch identische Phytadiene liefern. Diese Fragen bleiben vorläufig offen. Dagegen ist durch die Gewinnung des stark rechtsdrehenden *d*-Phytadiens aus allen bisher untersuchten natürlichen Phytolen der sichere Beweis erbracht, dass natürliches Phytol kein Racemat ist, sondern eine optisch aktive oder latent optisch aktive Verbindung. Abbauprodukte des natürlichen Phytols, das 2,6,10-Trimethyl-pentadecanon, und die

4,8,12-Trimethyl-tridecansäure-1 sind, wie wir früher gezeigt haben[1]), sicher optisch aktiv und zwar rechtsdrehend.

Als wir dann aus dem durch Synthese aufgebauten linksdrehenden Phytol[1]) das entsprechende Phytadien darstellten, ergab sich eine weitere bemerkenswerte Feststellung. Dieses *l*-Phytadien drehte nur wenig stärker als das Ausgangsprodukt, das synthetische *l*-Phytol, und viel schwächer als *d*-Phytadien aus natürlichem Phytol.

natürliche Phytole = 0° bis + 0,17°
d-Phytadien aus natürlichen Phytolen = + 0,89°
synthetisches *l*-Phytol = − 0,18°
l-Phytadien aus synthetischem *l*-Phytol = − 0,25°

Schon in unserer ersten Mitteilung über optisch aktive Phytole hatten wir darauf hingewiesen, dass unser synthetisches Phytol nur bezüglich C-Atom 6 optisch einheitlich ist, dagegen die Frage offen bleiben muss, ob auch bezüglich des zweiten Asymmetriezentrums, des C-Atoms 10, optische Einheitlichkeit besteht oder ob ein Diastereomerengemisch vorliegt, dessen beide Komponenten am C-Atom 10 entgegengesetzte Konfiguration besitzen.



Phytol

Diese Frage kann jetzt auf Grund der verschieden starken optischen Drehungen der beiden Phytadiene aus natürlichem und aus synthetischem *l*-Phytol mit ziemlicher Gewissheit beantwortet werden. Das synthetische *l*-Phytol ist, wie die optischen Drehungen der Phytadiene erkennen lassen, nicht der Antipode des natürlichen *d*-Phytols. Es ist in bezug auf das C-Atom 10 wahrscheinlich racemisch. Die geringe Drehungszunahme beim Übergang des synthetischen *l*-Phytols in *l*-Phytadien ist darauf zurückzuführen, dass das konjugierte System von Doppelbindungen, das im Phytadien aus natürlichem Phytol die starke Drehungszunahme bewirkt, im Phytadien aus synthetischem *l*-Phytol nicht in der Nähe eines asymmetrischen C-Atoms mit einheitlicher Konfiguration (C-Atom 10) liegt und daher die Drehung nicht im selben Mass beeinflussen kann wie dies im sterisch einheitlichen, aus natürlichem Phytol gewonnenen *d*-Phytadien der Fall ist. Nach einer Regel von *L. Tschugaeff*[2]), die durch ein reichhaltiges Versuchsmaterial bestätigt worden ist[3]), steigt die optische Wirkung, die ein optisch inaktiver Substi-

[1]) Helv. **26**, 1741 (1943). [2]) B. **31**, 1777 (1898).

[3]) *A. Klages*, B. **37**, 649 (1904); **38**, 2312 (1905); **39**, 1938 (1906). — *H. Rupe*, A. **327**, 157 (1903); **369**, 311 (1909); **373**, 121 (1910); **402**, 149 (1914). — *P. Hilditch*, Soc. **99**, 224 (1911). — *D. Kenyon*, Soc. **127**, 1094 (1925). — *A. Werner*, Lehrbuch d. Stereochemie, S. 137.

tuent, z. B. die Kohlenstoffdoppelbindung, auf die Höhe der optischen Drehung ausübt, mit zunehmender Annäherung an das Aktivitätszentrum. Im Phytadien aus natürlichem Phytol liegen die konjugierten Doppelbindungen nahe dem Asymmetriezentrum C-Atom 10, während im Phytadien aus synthetischem *l*-Phytol dieses C-Atom keine sterisch einheitliche Konfiguration besitzt und daher keinen durch die Doppelbindungen beeinflussten Drehungsbeitrag leisten kann. C-Atom 6 mit sterisch einheitlichem Bau liegt andererseits zu weit ab, als dass sein Drehungsbeitrag durch die konjugierten Doppelbindungen stark erhöht wird.

Die Lage der konjugierten Doppelbindungen im Phytadien ist bisher nicht untersucht und abgeklärt worden. Dies wird noch nachzuholen sein. Denn es ist keineswegs sicher, dass das Paar konjugierter Doppelbindungen endständig liegt; es ist wahrscheinlicher, dass es sich um eine Mischung strukturisomerer Phytadiene mit verschiedener Lage der konjugierten Doppelbindungen handelt, worauf auch die oben erwähnte Tatsache deutet, dass aus dem gleichen Phytol in verschiedenen Versuchen Phytadiene mit etwas abweichenden optischen Drehungen erhalten werden.

Die 3 heute bekannten Phytole und die bekannten Phytadiene werden nach dem Ergebnis dieser Versuche in Zukunft zweckmässig in folgender Weise zu bezeichnen sein:

1) Natürliches *d*-Phytol (sterisch einheitlich in bezug auf beide asymmetrischen C-Atome, Drehung wahrscheinlich unmessbar klein). *d*-Phytadien (aus natürlichem *d*-Phytol).

2) Synthetisches *l*-Phytol (sterisch einheitlich an C-Atom 6, racemisch am C-Atom 10, linksdrehend). Synthetisches *l*-Phytadien.

3) Synthetisches *d,l*-Phytol (racemisch in bezug auf beide asymmetrischen C-Atome, optisch inaktiv). Synthetisches *d,l*-Phytadien.

Die hier besprochenen Phytadiene wurden aus Phytol unter der Wirkung von wasserfreier Oxalsäure z. T. als Nebenprodukte bei der Phyllochinon-(Vitamin K_1)-synthese, erhalten, worüber in der folgenden Abhandlung Näheres ausgeführt wird. Sie destillierten unter 0,005 mm bei 98—102° (Luftbadtemperatur).

Die optischen Drehungen der Phytadiene und der Phytolpräparate sind im 1 dm-Rohr (bisweilen 2 dm-Rohr) und λ 589 mμ (D-Linie) gemessen.

Analyse des Phytadiens:

$C_{20}H_{38}$	Ber.	C 86,24	H 13,76%
	Gef.	„ 86,16	„ 14,04%

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

34. Optisch aktives α-Phyllochinon (Vitamin K_1)

von P. Karrer, H. Simon und E. Zbinden.

(22. I. 44.)

Nach der Feststellung der optischen Aktivität des natürlichen Phytols[1]) erhob sich die Frage, ob das aus ihm hergestellte Phyllochinon (Vitamin K_1) ebenfalls optische Aktivität erkennen lässt.

Zur synthetischen Darstellung des α-Phyllochinons wählten wir das von *Fieser* und Mitarbeitern[2]) ausgearbeitete Verfahren, das in der Kondensation von 2-Methyl-1,4-naphtohydrochinon mit Phytol und wasserfreier Oxalsäure als Kondensationsmittel besteht. Bedingung für das Gelingen der Reaktion ist absolute Trockenheit aller Reagentien.

Das synthetisch gewonnene α-Phyllochinon wurde teils als solches polarisiert, teils in das krystallisierte Acetat des Dihydro-α-phyllochinons verwandelt und letzteres auf Drehungsvermögen geprüft. Beide Präparate liessen optische Aktivität erkennen, doch ist diese klein. α-Phyllochinon drehte in 57,5-proz. Benzollösung nach links, das Dihydro-α-phyllochinon-diacetat in alkoholischer Lösung nach rechts.

Die Messungen führten zu folgenden Werten:

1) 0,50 g α-Phyllochinon (aus natürlichem Phytol), verdünnt mit etwas Benzol. Gewicht der Benzollösung 0,87 g. 1 dm-Rohr, Natriumlicht.

Gemessene Drehung: $-0{,}2^0$ ($\pm 0{,}02^0$).

Daraus berechnet sich $[\alpha]_D^{20}$ zu ca. $-0{,}4^0$ ($\pm 0{,}04^0$).

2a) 0,080 g Dihydro-α-phyllochinon-diacetat (aus natürlichem Phytol), gelöst in Äthylalkohol. Gewicht der alkoholischen Lösung 0,980 g.

1 dm-Rohr. Natriumlicht.

Beobachtete Drehung: $+0{,}1^0$ bis $+0{,}11^0$.

Daraus berechnet sich $[\alpha]_D^{20}$ zu ca. $+1{,}5$ bis $+1{,}65^0$.

2b) 0,063 g Dihydro-α-phyllochinon-diacetat (aus natürlichem Phytol), gelöst in Äthylalkohol. Gewicht der alkoholischen Lösung 0,762 g.

1 dm-Rohr. Natriumlicht.

Beobachtete Drehung: $+0{,}12^0$ ($\pm 0{,}01^0$).

Daraus berechnet sich $[\alpha]_D^{20}$ zu ca. $+1{,}8^0$.

Das unter 2a) beschriebene Dihydro-α-phyllochinon-diacetat war aus einem natürlichen Phytolpräparat mit der Drehung $[\alpha]_D = +0{,}06^0$ dargestellt, das unter 2b) beschriebene aus Phytol mit $[\alpha]_D = +0{,}2^0$. Die beiden Dihydro-α-phyllochinon-diacetate drehen praktisch gleich

---

[1]) *P. Karrer, A. Geiger, H. Rentschler, E. Zbinden* und *A. Kugler*, Helv. **26**, 1741 (1943).

[2]) J. Biol. Chem. **133**, 391 (1940); Am. Soc. **61**, 3216 (1939).

stark; dies entspricht den analogen Erfahrungen an den Phytadienen, über die wir in der vorangegangnen Abhandlung berichteten und für die wir dort eine Erklärung zu geben versuchten.

Der Schmelzpunkt des krystallisierten synthetischen Dihydro-α-phyllochinon-diacetats liegt wie derjenige der aus natürlichem α-Phyllochinon dargestellten Verbindung bei 59°[1]).

Da wir gegenwärtig keine genügende Menge des natürlichen α-Phyllochinons besitzen, konnte das Verhalten der natürlichen Verbindung gegenüber dem polarisierten Licht noch nicht festgestellt werden. *E. A. Doisy* und Mitarbeiter[2]) hatten angegeben, dass die Verbindung in 1-proz. alkoholischer Lösung keine Drehung erkennen lässt; bei der sehr geringen optischen Aktivität, welche die Verbindung allenfalls besitzen könnte, müssen zur Entscheidung dieser Frage viel stärker konz. Lösungen untersucht werden.

Bei der α-Phyllochinonsynthese, d. h. beim Erhitzen von 2-Methyl-1,4-naphtohydrochinon mit Phytol und wasserfreier Oxalsäure wird immer ein beträchtlicher Teil des Phytols zu Phytadien dehydratisiert. Durch wiederholte Destillation im Hochvakuum wurde das so gebildete Phytadien gereinigt. Diese Präparate dienten zu den optischen Untersuchungen, die in der vorangegangenen Abhandlung beschrieben sind.

Ergänzungen zum experimentellen Teil.

Verwendete Ausgangsmaterialien:

Dioxan, zweimal über Natrium destilliert.

Oxalsäure, zweimal je 1 Stunde bei 130—140° geschmolzen.

2-Methyl-1,4-naphtohydrochinon, im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd bei 60° getrocknet.

8,4 g 2-Methyl-1,4-naphtohydrochinon, 8,4 g natürliches Phytol, 5,6 g Oxalsäure und 56 cm³ Dioxan wurden auf dem Wasserbad unter Feuchtigkeitsabschluss 4 Stunden auf 90—95° erwärmt, wobei man die Masse öfters schüttelte. Nach dem Abkühlen spülte man sie mit 225 cm³ Äther in einen Scheidetrichter und wusch sie zweimal mit je 225 cm³ Wasser aus. Hierauf wurde die Ätherlösung mit einer frisch bereiteten Mischung von 11,2 g Natriumdithionit in 225 cm³ 2-proz. wässeriger Kalilauge und 56 cm³ gesättigter Kochsalzlösung geschüttelt. Diese Operation wiederholte man noch zweimal, worauf der wässerige Auszug farblos blieb.

Die Waschwasser haben wir nochmals mit 40 cm³ Äther extrahiert, den Ätherextrakt mit Wasser und hierauf dreimal mit je 40 cm³ 2-proz. Kalilauge, die mit 4 g Natriumdithionit und 10 cm³ gesättigter Kochsalzlösung versetzt war, gewaschen.

Die vereinigten Ätherlösungen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel verdampft, die letzten Anteile im Vakuum. Hierauf wurde der Rückstand mit Petroläther übergossen und durch Erwärmen teils in Lösung, teils in Suspension übergeführt. Die suspendierten, flockigen Anteile, welche das Dihydro-α-phyllochinon

[1]) *E. A. Doisy* und Mitarb., Am. Soc. **61**, 1612 (1939).

[2]) Am. Soc. **61**, 1295 (1939).

sind, haben wir nach starkem Abkühlen abzentrifugiert. Hierauf wurde diese Fällung noch mehrmals in Petroläther zerteilt und durch Zentrifugieren wieder abgetrennt. Diese Operation muss sorgfältig und mehrmals durchgeführt werden, um die Verbindung von Begleitsubstanzen zu trennen.

Schliesslich wurde das so gewaschene Dihydro-α-phyllochinon in 70 cm^3 trockenem Äther gelöst und mit 5,6 g Silberoxyd, 5,6 g Natriumsulfat und wenig Norit 20 Minuten auf der Maschine geschüttelt. Die filtrierte Lösung hinterliess nach dem Verdampfen des Lösungsmittels das α-Phyllochinon als viscoses, hellgelbes Öl. Ausbeute 0,6 g.

Zur Überführung des Chinons in das Dihydro-α-phyllochinon-diacetat wurden 0,8 g α-Phyllochinon in 8 cm^3 Essigsäure-anhydrid suspendiert und mit 0,8 g Zinkstaub, hierauf unter Eiskühlung mit 8 Tropfen Pyridin versetzt. Unter Eiskühlung brachte man das Öl durch Verreiben in Lösung. Nachdem die Flüssigkeit 10 Minuten im Eis und anschliessend 30 Minuten bei Zimmertemperatur gestanden hatte, wurde Essigsäure zugesetzt, aufgekocht, filtriert und der Rückstand mit Essigsäure und Wasser in der Wärme nochmals extrahiert. Nach dem Abnutschen wusch man ihn mit einigen Tropfen Aceton nach.

Die vereinigten wässerigen Filtrate wurden mit Wasser verdünnt, 10 Minuten erwärmt und mit Äther extrahiert. Den Ätherextrakt wusch man nacheinander mit verdünnter Salzsäure, Natriumcarbonatlösung und Wasser, trocknete und verdampfte das Lösungsmittel. Der farblose, ölige Rückstand erstarrte im Kälteschrank und wurde hierauf aus Methanol umkrystallisiert.

Dieses Dihydro-α-phyllochinon-diacetat schmolz bei 59°.

Die Petrolätherauszüge, die beim Abzentrifugieren des Dihydro-α-phyllochinons anfielen, ergaben nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels ein rötliches Öl, das aus einer Kugelröhre im Hochvakuum destilliert wurde.

Ein Vorlauf, bis 100° übergehend (0,075 mm Druck) erstarrte zum Teil krystallin. Eine zweite Fraktion wurde zwischen 100—120° aufgefangen.

Diese zweite Fraktion, eine leicht bewegliche Flüssigkeit, haben wir einer zweiten Destillation im Hochvakuum unterworfen, wobei als Mittelfraktion, mit Sdp. 98—103° (0,005 mm Druck) reines Phytadien erhalten wurde. Ausbeute ca. 1 g.

$C_{20}H_{38}$	Ber. C 86,24	H 13,76%
	Gef. „ 86,16	„ 14,04%

Über die optische Drehung dieses Phytadiens vgl. die voranstehende Abhandlung.

Andere Phytadien-Präparate haben wir in der Weise hergestellt, dass wir Phytol (z. B. 5 g) mit wasserfreier Oxalsäure (4 g) in Dioxanlösung 4 Stunden auf dem Wasserbad erhitzten, nachher die Reaktionsmischung mit Wasser und Äther behandelten und den Rückstand des Ätherextraktes fraktioniert destillierten. Die Ausbeute an Phytadien war bei dieser Arbeitsweise gut; diese Methode ist der Darstellung des Phytadiens aus Phytol durch Wasserabspaltung mittels Phtalsäure-anhydrid vorzuziehen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

35. Über Auroxanthin

II. Mitteilung [1])

von **P. Karrer** und **J. Rutschmann.**

(22. I. 44.)

Aus Blüten von gelben Stiefmütterchen hatten wir vor einiger Zeit einen neuen, sehr kurzwellig absorbierenden Carotinoidfarbstoff, das Auroxanthin isoliert[1]). Dieses findet sich in den Blüten nur in sehr kleiner Menge vor, weshalb es s. Z. nicht genauer untersucht werden konnte.

Aus 3,5 kg getrockneten gelben Stiefmütterchenblüten der Ernte 1943 gelang es uns, ca. 40 mg des in prachtvollen, goldgelben Nadeln krystallisierenden Auroxanthins darzustellen. Die Analysen dieses zweimal umkrystallisierten Farbstoffs zeigten, dass das in der früheren Abhandlung beschriebene Präparat ein Monohydrat des Auroxanthins gewesen war, und dass dem wasserfreien Auroxanthin die Formel $C_{40}H_{56}O_4$ zukommt.

$C_{40}H_{56}O_4$	Ber. C 79,94	H 9,41%
	Gef. „ 79,76; 79,87	„ 9,33; 9,34%

Reines wasserfreies Auroxanthin schmilzt bei 203° (unkorr.). Seine übrigen Eigenschaften entsprechen den in der ersten Mitteilung beschriebenen.

Die Zahl der Doppelbindungen im Auroxanthin hatten wir früher mit 8 bis 9 angegeben. Zwei Mikrohydrierungen des neuen Auroxanthinpräparates gaben Werte, die mit der Aufnahme von 9 Mol Wasserstoff übereinstimmen. Es sind daher im Auroxanthin 9 Kohlenstoffdoppelbindungen anzunehmen.

4,84 mg Subst. nahmen 1,66 cm³ H_2 (0°, 760 mm) auf. Ber. f. 9 ⌐ 1,66 cm³
4,51 mg Subst. nahmen 1,50 cm³ H_2 (0°, 760 mm) auf. Ber. f. 9 ⌐ 1,51 cm³

Über die Funktion der 4 Auroxanthin-Sauerstoffatome können wir noch nichts Bestimmtes aussagen. Bei der Acetylierung des Farbstoffs in Pyridin mit Essigsäure-anhydrid scheinen tiefergreifende Veränderungen einzutreten, da sich kein krystallisiertes Reaktionsprodukt isolieren liess.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

---

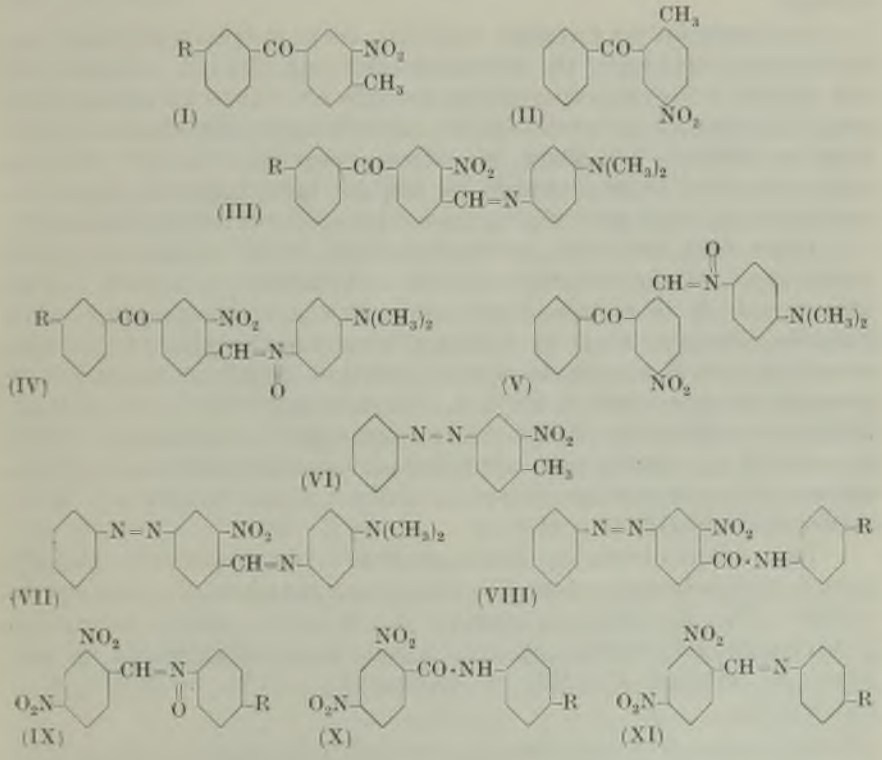
[1]) *P. Karrer* und *J. Rutschmann*, Helv. **25**, 1624 (1942).

36. Sur l'aptitude réactionnelle du groupement méthylique VIII[1]). Formation d'anilides par l'action des nitroso-dérivés sur des composés à groupement méthylique actif

par **Louis Chardonnens** et **Peter Heinrich.**

(27 I 44)

Dans les deux premiers mémoires de cette série[2]), l'un de nous, en partie avec la collaboration de *J. Venetz*, avait étudié, entre autres, l'aptitude réactionnelle du groupement méthylique vis-à-vis des nitroso-dérivés dans la 4-méthyl-3-nitro-benzophénone (I, R = H), la 4-méthyl-3,3′-dinitro-benzophénone (I, R = NO_2) et la 2-méthyl-5-nitro-benzophénone (II).



On avait obtenu, en condensant les deux premières cétones avec la p-nitroso-diméthylaniline en solution alcoolique bouillante en pré-

[1]) VII: Helv. **23**, 1399 (1940).

[2]) Helv. **16**, 1295 (1933); **22**, 822 (1939).

sence de carbonate de sodium anhydre, comme produits principaux de la réaction des azométhines, soit le p-diméthylamino-anile de l'aldéhyde 2-nitro-4-benzoyl-benzoïque (III, R = H) et le p-diméthylamino-anile de l'aldéhyde 2-nitro-4-(3-nitro-benzoyl)-benzoïque (III, R = NO_2).

On avait pu cependant isoler, à côté de ces composés, des produits secondaires en quantité notable, pour lesquels on avait admis la constitution des nitrones correspondantes: le N-éther p-diméthylamino-phénylique de la 2-nitro-4-benzoyl-benzaldoxime (IV, R = H) et le N-éther p-diméthylamino-phénylique de la 2-nitro-4-(3-nitro-benzoyl)-benzaldoxime (IV, R = NO_2). La condensation de la 2-méthyl-5-nitro-benzophénone (II) avec la p-nitroso-diméthylaniline dans des conditions analogues n'avait fourni qu'un seul produit de réaction auquel on avait attribué la formule du N-éther p-diméthylamino-phénylique de la 4-nitro-2-benzoyl-benzaldoxime (V), donc aussi d'une nitrone.

A l'appui de ces formules on avait, outre les résultats d'analyse, des raisons d'analogie. On savait en effet que, dans la condensation des composés à groupement méthylénique actif avec les nitroso-dérivés, il se forme souvent à côté des azométhines normalement attendues, ou même à leur place, les nitrones correspondantes[1]). Dans la suite, des observations semblables ont été faites aussi à propos des condensations analogues de composés à groupement méthylique actif[2]).

Cependant, on avait pu constater que, dans certains cas, il se forme dans ces condensations, à côté de l'azométhine qui est le produit normal de la réaction, non pas la nitrone correspondante, mais l'anilide isomère. Ainsi le 4-méthyl-3-nitro-azobenzène (VI) donne avec la p-nitroso-diméthylaniline en solution alcoolique bouillante en présence de carbonate de sodium, l'azométhine (VII) et le p-diméthylamino-anilide de l'acide 3-nitro-azobenzène-4-carbonique (VIII, R = $N(CH_3)_2$), tandis que, condensé avec le nitrosobenzène, il ne donne qu'un produit de réaction, l'anilide — non substitué — de ce même acide (VIII, R = H)[3]).

Le 2,4-dinitro-toluène donne, d'après *I. Tănăsescu* et *I. Nanu*[4]), avec le nitrosobenzène dans des conditions analogues un mélange de nitrone (IX, R = H) et d'anilide (X, R = H); tandis qu'avec la p-nitroso-diméthylaniline on obtiendrait vraisemblablement un mélange de nitrone, d'anilide et d'azométhine (IX, X et XI, R = $N(CH_3)_2$[5])).

[1]) *F. Kröhnke*, B. **71**, 2583 (1938) donne une bibliographie complète de cette question. Voir encore: *A. Schönberg* et *R. C. Azzam*, C. **1940**, I, 354; *P. Pfeiffer* et *Th. Hesse*, J. pr. [2] **158**, 315 (1941).

[2]) *I. Tănăsescu* et *I. Nanu*, B. **72**, 1083 (1939); **75**, 650, 1287 (1942); *L. Chardonnens* et *P. Heinrich*, Helv. **22**, 1473 (1939).

[3]) *L. Chardonnens* et *P. Heinrich*, Helv. **23**, 1399 (1940).

[4]) B. **72**, 1083 (1939). [5]) B. **72**, 1085 (1939).

D'après les mêmes auteurs, le 2,4-dinitro-toluène donne avec l'o-nitroso-toluène, toujours en solution alcoolique en présence de carbonate de sodium, l'azométhine et l'anilide; avec le p-nitroso-toluène il se forme par contre un mélange de nitrone et d'anilide[1]).

On sait d'autre part que les nitrones peuvent se transformer avec une plus ou moins grande facilité en anilides isomères. Cette transposition se fait, entre autres, en milieu alcoolique sous l'influence d'agents alcalins[2]), donc dans des conditions analogues à celles dans lesquelles s'effectuent le plus souvent les condensations des composés à groupement méthylique actif avec les nitroso-dérivés.

Tout cela permettait de mettre en doute[3]) les formules de nitrones (IV, R = H ou NO_2, V) attribuées tout d'abord aux produits secondaires obtenus dans les condensations des cétones (I, R = H ou NO_2, II) avec les nitroso-dérivés et nous a engagés à reprendre l'étude de ces réactions.

Comme il a été rappelé plus haut, la 4-méthyl-3-nitro-benzophénone (I, R = H) donne, par condensation avec la p-nitroso-diméthylaniline, deux produits: l'un est l'azométhine de formule (III) (R = H); l'autre, auquel on avait attribué tout d'abord la constitution de la nitrone (IV) (R = H) s'est révélé être en réalité l'anilide isomère, soit le p-diméthylamino-anilide de l'acide 3-nitro-benzophénone-4-carbonique (XII, R = H). Il fournit en effet, par saponification prudente au moyen d'acide sulfurique à 70 %, l'acide 3-nitro-benzophénone-4-carbonique (XIII, R = H) déjà connu[4]). Ce dernier, inversement, donne, par l'intermédiaire de son chlorure, avec la p-diméthylamino-aniline un p-diméthylamino-anilide de synthèse identique à celui que l'on obtient dans la condensation directe. Si l'on condense la 4-méthyl-3-nitro-benzophénone (I, R = H) avec le nitrosobenzène au lieu de p-nitroso-diméthylaniline, on ne réussit à isoler qu'un produit de réaction qui est l'anilide de l'acide 3-nitro-benzophénone-4-carbonique (XIV, R = H); la preuve en a été faite comme ci-dessus, soit par saponification en acide (XIII, R = H), soit par synthèse à partir du chlorure de cet acide et d'aniline.

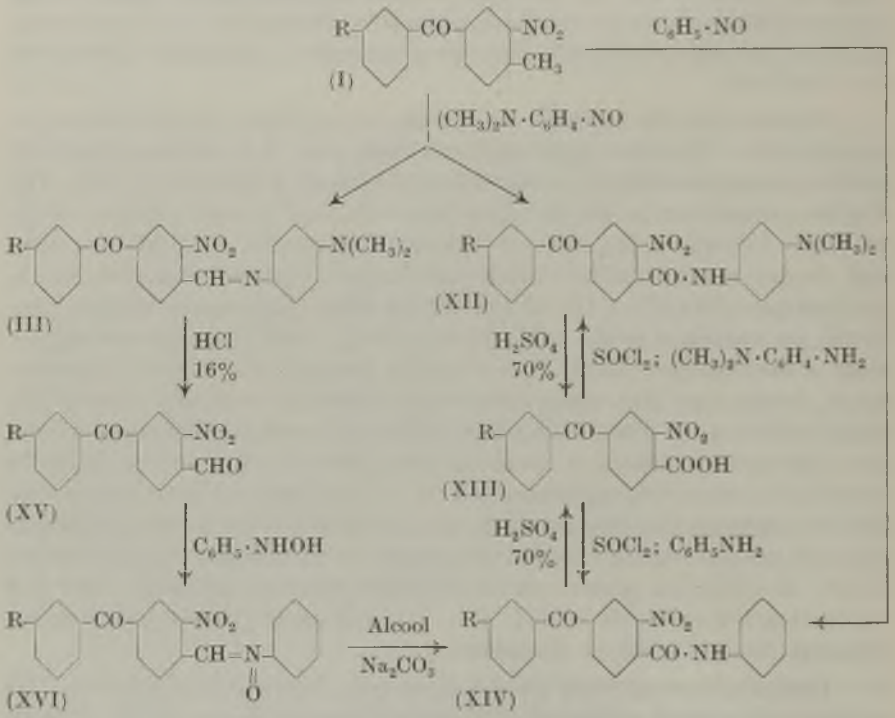
Des résultats en tous points analogues ont été obtenus dans les condensations de la 4-méthyl-3,3'-dinitro-benzophénone (I, R = NO_2), soit avec la p-nitroso-diméthylaniline, soit avec le nitrosobenzène. On obtient dans le premier cas de nouveau deux produits, l'azométhine (III, R = NO_2) comme produit principal et un produit secondaire qui est, non pas la nitrone (IV, R = NO_2), mais le p-diméthylamino-anilide de l'acide 3,3'-dinitro-benzophénone-4-carbonique (XII, R = NO_2).

[1]) B. **75**, 650 (1942).

[2]) *V. Bellavita*, G. **65**, 755, 761 (1935); *L. Chardonnens* et *P. Heinrich*, Helv. **22**, 1478 (1939); *I. Tănăsescu* et *I. Nanu*, B. **72**, 1083 (1939); **75**, 650 (1942).

[3]) Cf. Helv. **22**, 1474 (1939). [4]) Helv. **16**, 1301 (1933).

Dans le deuxième cas, on n'obtient qu'un produit de réaction, soit l'anilide — non substitué — (XIV, R = NO_2) de ce même acide. La saponification de ces deux produits donne en effet l'acide 3,3′-dinitro-benzophénone-4-carbonique (XIII, R = NO_2) lui-même, composé que l'on peut préparer de manière indépendante, soit par oxydation de la cétone (I, R = NO_2) au moyen d'acide nitrique en tube scellé, soit par oxydation chromique de la 3,3′-dinitro-4-styryl-benzophénone déjà connue[1]). A partir de l'acide (XIII, R = NO_2), on peut d'ailleurs resynthétiser, par l'intermédiaire du chlorure et par l'action soit de p-diméthylamino-aniline, soit d'aniline, le p-diméthylamino-anilide et l'anilide, identiques aux produits (XII et XIV, R = NO_2) obtenus par condensation directe.

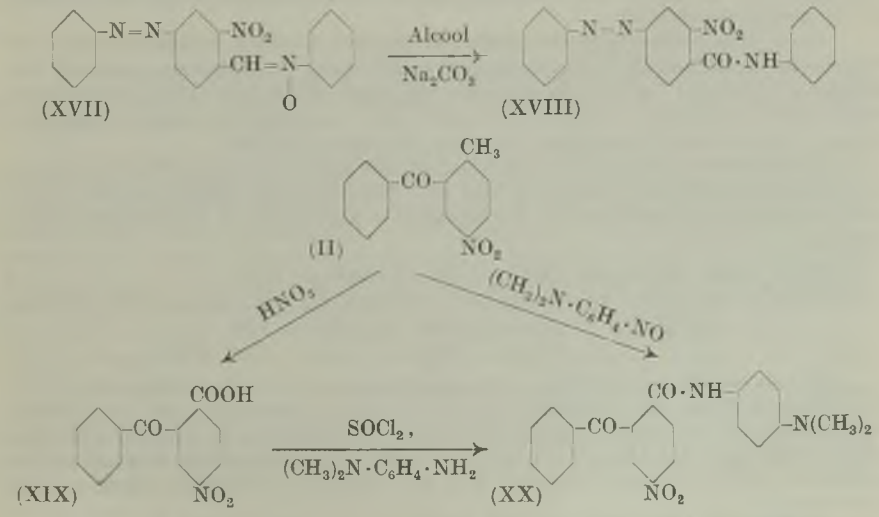


Quant au mode de formation des anilides (XIV) ou p-diméthylamino-anilides (XII) à partir des cétones de formule (I) (R = H ou NO_2) par l'action des nitroso-dérivés, il nous semble possible que cette formation soit due à l'isomérisation de nitrones; celles-ci seraient peut-être, à côté des azométhines, les produits primaires de la réaction entre les composés à groupement méthylique actif et les nitroso-dérivés et ne seraient, dans certains cas, pas isolables à cause de leur instabilité ou de la particulière facilité de leur transformation.

[1]) Helv. **22**, 827 (1939).

Nous avons pu constater, en tous cas, que les nitrones de formule (XVI), soit le N-éther phénylique de la 2-nitro-4-benzoyl-benzaldoxime (XVI, R = H) et le N-éther phénylique de la 2-nitro-4-(3-nitro-benzoyl)-benzaldoxime (XVI, R = NO_2), produits que l'on obtient facilement par action de la N-phényl-hydroxylamine sur les aldéhydes correspondants (XV, R = H ou NO_2), eux-mêmes accessibles par hydrolyse acide des azométhines de formule (III) (R = H ou NO_2), subissent, en solution alcoolique bouillante en présence de carbonate de sodium, la transposition attendue et donnent les anilides de formule (XIV) (R = H ou NO_2). Nous avons observé en outre la même isomérisation en traitant, dans des conditions analogues, le N-éther phénylique de la 2-nitro-4-(benzène-azo)-benzaldoxime (XVII); cette nitrone donne l'anilide de l'acide 3-nitro-azobenzène-4-carbonique (XVIII), dont la nature a été établie par ailleurs[1]).

Le produit de condensation enfin, que l'on obtient en petite quantité en faisant réagir la 2-méthyl-5-nitro-benzophénone (II) avec la p-nitroso-diméthylaniline et auquel on avait attribué la formule d'une nitrone (V), s'est révélé lui aussi être l'anilide isomère. Nous en avons fait la preuve par synthèse, en oxydant la cétone (II), au moyen d'acide nitrique dilué en tube scellé, en acide 5-nitro-benzophénone-2-carbonique (XIX), en transformant celui-ci en son chlorure par le chlorure de thionyle et en faisant réagir le chlorure d'acide sur la p-diméthylamino-aniline. Le produit obtenu, soit le p-diméthylamino-anilide de l'acide 5-nitro-benzophénone-2-carbonique (XX), s'est montré identique au composé obtenu dans la condensation directe.



[1]) Helv. **23**, 1409 (1940).

Partie expérimentale.

4-Méthyl-3-nitro-benzophénone et p-nitroso-diméthylaniline.

Cette réaction a déjà été décrite[1]). On obtient deux produits: le produit principal, cristallisant en prismes violets à éclat verdâtre, de p. de f. 174—175°, est l'azométhine $C_{22}H_{19}O_3N_3$ (III, R = H); le produit secondaire, contenu dans les eaux-mères alcooliques primitives du produit brut de la réaction, cristallise en aiguilles rouge brun fondant à 217° et possède la formule brute $C_{22}H_{19}O_4N_3$.

La saponification de ce deuxième composé conduit à l'acide 3-nitro-benzophénone-4-carbonique: On traite 2 gr. de produit par 20 cm³ d'acide sulfurique à 70% et chauffe le mélange à ébullition douce, au réfrigérant à reflux, jusqu'à apparition des premiers cristaux, ce qui nécessite environ 20 minutes. Après refroidissement, on essore le produit cristallin, le lave avec très peu d'acide sulfurique à 70%, puis à l'eau, le traite par un excès d'une solution diluée chaude de carbonate de sodium, filtre et traite le filtrat par l'acide chlorhydrique dilué. On obtient ainsi 0,95 gr. d'un produit grisâtre fondant à 186°. On le purifie par cristallisations dans l'acide acétique dilué, puis dans le xylène. Prismes arborescents presque incolores; p. de f. 188°. Ce composé est identique à celui, de même point de fusion, que l'on obtient par oxydation de la 4-méthyl-3-nitro-benzophénone[2]); le point de fusion du mélange ne manifeste aucune dépression. Il n'est donc rien d'autre que l'acide 3-nitro-benzophénone-4-carbonique (XIII, R = H).

Par conséquent, le produit rouge brun de p. de f. 217°, de formule brute $C_{22}H_{19}O_4N_3$, est le p-diméthylamino-anilide de l'acide 3-nitro-benzophénone-4-carbonique (XII, R = H). On en donnera une autre preuve plus loin.

4-Méthyl-3-nitro-benzophénone et nitrosobenzène.

On dissout 12 gr. (0,05 mol) de 4 méthyl-3-nitro-benzophénone[3]) dans 200 cm³ d'alcool, ajoute 5,3 gr. de carbonate de sodium calciné et chauffe à l'ébullition au réfrigérant à reflux. On introduit 1,5 gr. de nitrosobenzène et renouvelle cette adjonction toutes les deux heures. Après 16 heures, on laisse refroidir, essore le précipité, le lave abondamment à l'eau et sèche à l'air. Des eaux-mères alcooliques primitives on tire, en concentrant à petit volume, encore un peu de produit de réaction. On obtient ainsi au total 13 gr. d'un produit de couleur jaunâtre qui est un mélange de produit de départ et de produit de réaction.

On le dissout dans le moins possible de benzène bouillant et laisse refroidir. On obtient 1,5 gr. de produit cristallin fondant à 168°, puis, par évaporation partielle des eaux-mères, encore 1,7 gr. de produit moins pur, fondant vers 162—166°. Des dernières eaux-mères benzéniques on réussit à récupérer, par évaporation à siccité et cristallisations du résidu dans l'alcool, 4 gr. de cétone de départ inaltérée.

Le produit de réaction est purifié par cristallisations successives dans le benzène et l'acide acétique glacial; rendement final 2 gr. Prismes incolores fondant à 169°, facilement solubles dans l'acide acétique glacial chaud et dans l'acétone, modérément dans le benzène.

0,1272 gr. subst. ont donné 0,3217 gr. CO_2 et 0,0438 gr. H_2O
4,190; 2,747 mgr. subst. ont donné 0,314; 0,195 cm³ N_2 (19°, 733 mm; 23°, 750 mm)

$C_{20}H_{14}O_4N_2$	Calculé	C 69,35	H 4,08	N 8,09
	Trouvé	„ 69,02	„ 3,85	„ 8,45; 8,08%

Si l'on chauffe à l'ébullition douce, au réfrigérant à reflux, pendant une heure, le mélange de 0,3 gr. de ce produit et de 10 cm³ d'acide sulfurique à 70%, on obtient, après traitement suivant les méthodes usuelles et cristallisations, 0,1 gr. d'un acide fondant à 188° qui n'est autre, ici aussi, que l'acide 3-nitro-benzophénone-4-carbonique (XIII, R = H). Le produit de réaction de p. de f. 169° décrit ci-dessus est donc, en con-

[1]) Helv. **16**, 1298 (1933); **22**, 829 (1939).
[2]) Helv. **16**, 1301 (1933). [3]) Helv. **12**, 653 (1929).

formité avec les résultats d'analyse, l'anilide de l'acide 3-nitro-benzophénone-4-carbonique (XIV, R = H). Une autre preuve en sera donnée plus loin.

Acide 3-nitro-benzophénone-4-carbonique (XIII, R = H).

Cet acide a déjà été décrit par l'un d'entre nous[1]), qui l'a obtenu par oxydation, au moyen de permanganate de potassium, de l'aldéhyde correspondant ou de la 4-méthyl-3-nitro-benzophénone. On le prépare plus avantageusement en oxydant le 2-nitro-4-benzoyl-stilbène[2]) en solution acétique, à 60—70°, par l'anhydride chromique. Le rendement en produit brut, de p. de f. 185°, est de 67% de la théorie. On purifie par cristallisations dans l'acide acétique et dans le xylène. P. de f. 188°.

Ether méthylique. On le prépare en traitant par le méthanol à l'ébullition le chlorure d'acide, celui-ci étant obtenu à partir de l'acide et de chlorure de thionyle suivant la méthode usuelle. On purifie le produit par cristallisations dans le méthanol. Prismes incolores fondant à 82°.

0,1985 gr. subst. ont donné 0,4568 gr. CO_2 et 0,0665 gr. H_2O
4,330 mgr. subst. ont donné 0,191 cm³ N_2 (20°, 739,5 mm)

$C_{15}H_{11}O_5N$	Calculé	C 63,15	H 3,89	N 4,91%
	Trouvé	,, 62,80	,, 3,75	,, 5,00%

Anilide (XIV, R = H). On dissout le chlorure d'acide dans deux fois son poids de pyridine et ajoute goutte à goutte la quantité calculée d'aniline. On chauffe finalement une demi-heure sur le bain-marie. On coule ensuite dans l'eau, essore le précipité, le sèche à 100° et cristallise dans le benzène; p. de f. 169°. Le produit est identique à celui, de même point de fusion, obtenu dans la réaction entre la 4-méthyl-3-nitro-benzophénone et le nitrosobenzène.

p-Diméthylamino-anilide (XII, R = H). On traite une solution de p-diméthylamino-aniline dans huit fois son poids de pyridine par une solution de la quantité correspondante de chlorure d'acide dans quatre fois son poids de pyridine et chauffe le mélange 20 minutes au bain-marie. Après refroidissement, on coule dans l'eau, essore le précipité, le lave à l'eau et à l'alcool, le sèche à 100° et cristallise dans le benzène. Aiguilles rouge brun fondant à 217°. Le produit est identique à celui obtenu dans la réaction entre la 4-méthyl-3-nitro-benzophénone et la p-nitroso-diméthylaniline.

4-Méthyl-3,3'-dinitro-benzophénone et p-nitroso-diméthylaniline.

La réaction a déjà été décrite[3]). Seul le produit secondaire nous intéresse ici; il se présente en aiguilles rouge orangé fondant à 234°. Les résultats d'analyse correspondent à la formule brute $C_{22}H_{16}O_6N_4$.

La vraie nature de ce composé, auquel on avait attribué autrefois la constitution d'une nitrone, se déduit de ce qu'on obtient lors de sa saponification. On traite 2 gr. de produit par 20 cm³ d'acide sulfurique à 70% et chauffe le mélange à ébullition douce, au réfrigérant à reflux, pendant 20 minutes. Par refroidissement, le produit de réaction cristallise. On l'essore, le dissout dans une solution diluée de carbonate de sodium, filtre de quelques impuretés de couleur brune et traite le filtrat par l'acide chlorhydrique en excès. Le précipité grisâtre est essoré et séché à 100°. Rendement 1,2 gr.; p. de f. 190°. On purifie le produit en le cristallisant, avec adjonction de noir animal, dans l'alcool, l'acide acétique et le xylène. Prismes ou aiguilles quasi incolores, fondant à 193—194°.

Ce composé est l'acide 3,3'-dinitro-benzophénone-4-carbonique, dont l'on trouvera plus loin une préparation indépendante. Le produit secondaire de la réaction entre la 4-méthyl-3,3'-dinitro-benzophénone et la p-nitroso-diméthylaniline, de p. de f. 234°, est, par conséquent, le p-diméthylamino-anilide de l'acide 3,3'-dinitro-benzophénone-4-carbonique (XII, R = NO_2).

[1]) Helv. **16**, 1301 (1933).
[2]) Helv. **16**, 1297 (1933).
[3]) Helv. **22**, 828 (1939).

4-Méthyl-3,3'-dinitro-benzophénone et nitrosobenzène.

On dissout 5,5 gr. de 4-méthyl-3,3'-dinitro-benzophénone[1]) dans 120 cm³ d'alcool, ajoute 0,5 gr. de carbonate de sodium calciné et chauffe le mélange à l'ébullition au réfrigérant à reflux. Puis on introduit, par portions de 0,5 gr. toutes les 5 minutes, 6 gr. de nitrosobenzène. Dès le début des adjonctions, la couleur de la solution passe du vert au jaune brun. On maintient encore l'ébullition pendant une heure et demie, laisse refroidir, essore le précipité, le lave à l'alcool et à l'eau et le sèche à 80°. On obtient ainsi 4,5 gr. d'un produit brut contenant encore du produit de départ inaltéré. On le traite par 50 cm³ de benzène bouillant, essore à chaud, lave le résidu au benzène chaud et le sèche à 100°. Rendement 2,2 gr.; p. de f. 189°. On purifie le produit par cristallisation dans l'acide acétique glacial. Petits prismes presque incolores, fondant à 190°, assez facilement solubles dans l'acétone et l'acide acétique glacial, peu dans l'acool, très peu dans le benzène et le toluène.

3,735 mgr. subst. ont donné 8,340 mgr. CO_2 et 1,120 mgr. H_2O
4,030 mgr. subst. ont donné 0,407 cm³ N_2 (22°, 732 mm)

$C_{20}H_{13}O_6N_3$	Calculé	C 61,38	H 3,35	N 10,74%
	Trouvé	,, 60,94	,, 3,36	,, 11,25%

Ce composé fournit, par saponification au moyen d'acide sulfurique à 70%, l'acide 3,3'-dinitro-benzophénone-4-carbonique décrit plus loin. Ce résultat, conjointement à ceux de l'analyse, permet d'attribuer au produit de la réaction entre la 4-méthyl-3,3'-dinitro-benzophénone et le nitrosobenzène la constitution de l'anilide de l'acide 3,3'-dinitro-benzophénone-4-carbonique (XIV, R = NO_2). Une preuve plus immédiate en sera donnée plus loin.

Acide 3,3'-dinitro-benzophénone-4-carbonique (XIII, R = NO_2).

On prépare cet acide par oxydation de la 3,3'-dinitro-4-styryl-benzophénone.

3,3'-Dinitro-4-styryl-benzophénone. Ce composé s'obtient[2]) par condensation de la 4-méthyl-3,3'-dinitro-benzophénone avec l'aldéhyde benzoïque en présence de pipéridine comme catalyseur. Il a été décrit comme cristallisant en petits prismes jaunes fondant à 155—156°. En répétant cette opération, nous avons obtenu dans chaque essai sans exception un produit qui, après cristallisation dans l'acide acétique glacial ou dans le benzène, se présente en prismes plats ou tablettes de couleur jaune fondant à 168°.

4,075 mgr. subst. ont donné 10,100 mgr. CO_2 et 1,380 mgr. H_2O
6,370 mgr. subst. ont donné 0,441 cm³ N_2 (26°, 730 mm.)

$C_{21}H_{14}O_5N_2$	Calculé	C 67,38	H 3,77	N 7,48%
	Trouvé	,, 67,64	,, 3,79	,, 7,59%

Il nous semble probable que ce produit représente la modification *trans* de la 3,3'-dinitro-4-styryl-benzophénone, tandis que le composé de p. de f. 155—156°, obtenu autrefois, est la modification *cis* ou un mélange des deux modifications. On peut en voir une preuve dans le fait que le produit de p. de f. 155—156° se transforme quantitativement en produit fondant à 168° si l'on chauffe à l'ébullition pendant 10 minutes sa solution nitrobenzénique en présence de traces d'iode[3]). La même transformation a lieu si l'on chauffe à l'ébullition pendant 2 à 3 heures la solution acétonique contenant un peu d'iode[4]).

Acide 3,3'-dinitro-benzophénone-4-carbonique. On dissout à chaud 9 gr. de 3,3'-dinitro-4-styryl-benzophénone (p. de f. 168°) dans 360 cm³ d'acide acétique glacial, refroidit à 70° et ajoute à cette température, goutte à goutte, en l'espace d'une heure, la solution de 15 gr. d'anhydride chromique dans 200 cm³ d'acide acétique à 90%. On laisse la solution prendre la température ambiante, coule dans 3 litres d'eau froide et laisse reposer une nuit. Le précipité est essoré et repris par une solution diluée de carbonate

[1]) Helv. **12**, 655 (1929).
[2]) *L. Chardonnens* et *J. Venetz*, Helv. **22**, 827 (1939).
[3]) Cf. *P. Ruggli* et *A. Staub*, Helv. **20**, 44 (1937).
[4]) Cf. *M. Calvin* et *R. E. Buckles*, Am. Soc. **62**, 3326 (1940).

de sodium; on filtre et traite le filtrat par un excès d'acide chlorhydrique. Il se produit un précipité blanc qui, séché à 100°, fond à 191°. Rendement: 4 à 5 gr.

On purifie le produit en le cristallisant une fois dans l'alcool ou dans l'acide acétique glacial. Prismes incolores fondant à 193—194°.

3,690 mgr. subst. ont donné 7,230 mgr. CO_2 et 0,815 mgr. H_2O
3,850 mgr. subst. ont donné 0,304 cm³ N_2 (18,5°, 738 mm.)

$C_{14}H_8O_7N_2$	Calculé	C 53,17	H 2,55	N 8,86%
	Trouvé	,, 53,47	,, 2,47	,, 8,98%

On peut préparer le même composé en oxydant la 4-méthyl-3,3′-dinitro-benzophénone par l'acide nitrique dilué. On chauffe en tube scellé à 155—165° pendant 8 heures 1 gr. de cétone avec 10 cm³ d'acide nitrique à 25% (D = 1,15). On décante ensuite l'acide, reprend le résidu par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium, filtre et traite le filtrat par l'acide chlorhydrique: 0,65 gr.; p. de f. 192°. On cristallise finalement dans l'acide acétique glacial.

Les dérivés suivants ont été préparés à partir de l'acide ci-dessus, par l'intermédiaire de son chlorure, de la même manière que les dérivés correspondants de l'acide 3-nitro-benzophénone-4-carbonique décrits plus haut.

Ether méthylique. Il cristallise dans le méthanol en tablettes incolores hexagonales; p. de f. 124°.

0,2089 gr. subst. ont donné 0,4174 gr. CO_2 et 0,0653 gr. H_2O
3,850 mgr. subst. ont donné 0,292 cm³ N_2 (17,5°, 736 mm.)

$C_{15}H_{10}O_7N_2$	Calculé	C 54,55	H 3,05	N 8,48%
	Trouvé	,, 54,53	,, 3,50	,, 8,63%

Anilide (XIV, R = NO_2). On le purifie par cristallisation dans l'acide acétique glacial. Prismes incolores fondant à 190°. Le produit est identique à celui, de même point de fusion, obtenu dans la réaction entre la 4-méthyl-3,3′-dinitro-benzophénone et le nitrosobenzène, décrite plus haut. Le point de fusion du mélange, entre autres, ne manifeste aucune dépression.

p-Diméthylamino-anilide (XII, R = NO_2). Le produit brut est en aiguilles brun orangé fondant à 233°. Par cristallisations répétées dans l'acétone, on élève le point de fusion jusqu'à 236°. Le composé est identique à celui, de p. de f. 234°, que l'on obtient comme produit secondaire dans la réaction entre la 4-méthyl-3,3′-dinitro-benzophénone et la p-nitroso-diméthylaniline (voir plus haut). Le mélange fond à 235—236°.

N-Ether phénylique de la 2-nitro-4-benzoyl-benzaldoxime (XVI, R = H).

On dissout 1,6 gr. d'aldéhyde 2-nitro-4-benzoyl-benzoïque[1]) dans 100 cm³ d'alcool, ajoute 1 gr. de N-phényl-hydroxylamine et chauffe le mélange à l'ébullition au réfrigérant à reflux durant une heure. On distille l'alcool sur le bain-marie, reprend le résidu par le benzène et traite par l'éther de pétrole. On obtient 2,2 gr. d'une poudre cristalline jaune fondant à 131°. Après une cristallisation dans l'alcool, le produit est pur et fond à 136°. Fines aiguilles jaunes, facilement solubles dans le benzène, l'acétone et la pyridine, solubles à chaud dans l'alcool éthylique et le méthanol, difficilement solubles dans l'éther de pétrole.

0,1826 gr. subst. ont donné 0,4650 gr. CO_2 et 0,0614 gr. H_2O
0,1065 gr. subst. ont donné 7,9 cm³ N_2 (20°, 696 mm.)

$C_{20}H_{14}O_4N_2$	Calculé	C 69,35	H 4,08	N 8,09%
	Trouvé	,, 69,49	,, 3,76	,, 7,91%

Isomérisation. On dissout 0,5 gr. de nitrone dans 200 cm³ d'alcool, ajoute 1 gr. de carbonate de sodium calciné et chauffe pendant 3 heures à l'ébullition au réfrigérant à reflux. On filtre, distille l'alcool sur le bain-marie et triture le résidu avec quelques gouttes de benzène et d'éther de pétrole. On obtient une masse solide brunâtre que l'on cristallise dans le benzène; rendement final 0,2 gr. Prismes incolores fondant à 169°.

[1]) Helv. **16**, 1299 (1933).

Le produit est l'anilide de l'acide 3-nitro-benzophénone-4-carbonique décrit plus haut. Le mélange du composé obtenu par isomérisation et d'un échantillon de produit synthétisé ne manifeste aucune dépression du point de fusion.

Aldéhyde 2-nitro-4-(3-nitro-benzoyl)-benzoïque (XV, R = NO_2).

On dissout à chaud dans 250 cm³ de benzène 1,5 gr. de p-diméthylamino-anile de l'aldéhyde 2-nitro-4-(3-nitro-benzoyl)-benzoïque[1]), laisse refroidir et agite la solution benzénique rouge violacé, dans un entonnoir à décantation, avec un mélange de 40 cm³ d'acide chlorhydrique concentré et de 60 cm³ d'eau. La couche benzénique est rapidement décolorée; on l'agite encore deux fois avec de l'acide chlorhydrique frais de même concentration, la lave à l'eau, puis avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium et la dessèche sur du chlorure de calcium.

Par évaporation du dissolvant, on obtient l'aldéhyde que l'on purifie encore par cristallisation dans le benzène ou dans l'acétone. Rendement final 0,7 gr.; p. de f. 142,5°. Petits cristaux irréguliers légèrement jaunâtres, assez difficilement solubles à froid dans le benzène, l'alcool et l'acétate d'éthyle, pratiquement insolubles dans l'eau froide et dans l'éther de pétrole.

4,894 mgr. subst. ont donné 10,115 mgr. CO_2 et 1,230 mgr. H_2O
2,906 mgr. subst. ont donné 0,235 cm³ N_2 (21,5°, 760 mm.)

$C_{14}H_8O_6N_2$	Calculé	C 56,00	H 2,69	N 9,33%
	Trouvé	,, 56,40	,, 2,81	,, 9,37%

Phénylhydrazone. On dissout à chaud 0,2 gr. d'aldéhyde dans 20 cm³ de benzène, ajoute 0,1 cm³ d'acide acétique glacial et 0,2 cm³ de phénylhydrazine et chauffe 5 minutes au bain-marie. Par refroidissement, la phénylhydrazone cristallise; on la purifie par deux cristallisations dans l'alcool; rendement 0,16 gr. Le produit se présente en aiguilles rouge foncé, fond, en se décomposant, à 218,5°, est difficilement soluble dans l'alcool, modérément dans le benzène et l'acétone.

5,121 mgr. subst. ont donné 11,645 mgr. CO_2 et 1,660 mgr. H_2O
3,062 mgr. subst. ont donné 0,378 cm³ N_2 (22°, 760 mm.)

$C_{20}H_{14}O_5N_4$	Calculé	C 61,53	H 3,62	N 14,35%
	Trouvé	,, 62,06	,, 3,63	,, 14,28%

N-Ether phénylique de la 2-nitro-4-(3-nitro-benzoyl)-benzaldoxime (XVI, R = NO_2).

On dissout 1 gr. de l'aldéhyde précédent dans 500 cm³ d'alcool, ajoute 1 gr. de N-phényl-hydroxylamine et chauffe à l'ébullition durant une heure au réfrigérant à reflux. Après refroidissement, on essore le précipité qui s'est formé, concentre la solution jusqu'à un volume de 100 cm³ et essore à nouveau. Les précipités réunis sont finalement recristallisés dans l'alcool: 0,6 gr. Prismes jaunes arborescents, fondant, en se décomposant, à 157°, facilement solubles dans le benzène et l'acétone, assez difficilement dans l'alcool.

5,363 mgr. subst. ont donné 12,170 mgr. CO_2 et 1,580 mgr. H_2O
2,778 mgr. subst. ont donné 0,246 cm³ N_2 (20,5°, 763 mm.)

$C_{20}H_{13}O_6N_3$	Calculé	C 61,38	H 3,35	N 10,74%
	Trouvé	,, 61,93	,, 3,30	,, 10,34%

Isomérisation. On dissout 0,2 gr. de la nitrone ci-dessus dans 100 cm³ d'alcool, ajoute 0,1 gr. de carbonate de sodium calciné et chauffe à l'ébullition au réfrigérant à reflux. Au bout de quelques minutes, la couleur de la solution vire du jaune clair au jaune foncé, puis, peu à peu, à l'orangé. Après un quart d'heure, on distille au bain-marie la majeure partie du dissolvant, laisse refroidir, essore le précipité qui s'est formé, le lave avec un peu d'alcool, puis à l'eau et le dessèche à 100°: 0,18 gr.; p. de f. 185°. On

[1]) Helv. **22**, 828 (1939).

purifie le produit en le cristallisant dans l'acide acétique glacial. Prismes incolores fondant à 190°.

Le produit ainsi obtenu est l'anilide de l'acide 3,3'-dinitro-benzophénone-4-carbonique décrit plus haut. L'identification se fait de la manière usuelle.

N-Ether phénylique de la 2-nitro-4-(benzène-azo)-benzaldoxime (XVII).

On dissout 1,2 gr. d'aldéhyde 2-nitro-4-(benzène-azo)-benzoïque[1]) dans 250 cm³ d'alcool, ajoute 0,7 gr. de N-phényl-hydroxylamine et chauffe à l'ébullition au réfrigérant descendant. Quand environ 200 cm³ d'alcool ont distillé, ce qui demande à peu près une heure, on laisse refroidir et reposer durant une nuit. Le précipité est essoré, lavé avec un peu d'alcool et séché. On obtient 0,5 gr. de nitrone déjà pure.

Petits cristaux irréguliers brun orangé, fondant à 147,5°, facilement solubles dans le benzène, l'acétone et l'acide acétique glacial, assez peu dans l'alcool. Pour l'analyse, on cristallise le produit encore une fois dans l'alcool.

3,910 mgr. subst. ont donné 9,395 mgr. CO_2 et 1,500 mgr. H_2O
4,250 mgr. subst. ont donné 0,613 cm³ N_2 (22,5°, 731 mm.)

$C_{19}H_{14}O_3N_4$	Calculé	C 65,89	H 4,07	N 16,18%
	Trouvé	,, 65,57	,, 4,29	,, 16,03%

Isomérisation. On dissout à chaud 0,2 gr. de la nitrone ci-dessus dans la quantité nécessaire d'alcool, ajoute une trace de carbonate de sodium calciné et chauffe à l'ébullition au réfrigérant à reflux pendant 5 heures. On refroidit, verse le mélange réactionnel dans six fois son volume d'eau et laisse reposer une nuit. On essore le précipité, le lave à l'eau et le cristallise dans l'alcool et le benzène: 0,1 gr. Feuillets orangé foncé fondant à 174°.

Le produit n'est autre que l'anilide de l'acide 3-nitro-azobenzène-4-carbonique (XVIII), déjà décrit[2]). La comparaison des propriétés a été faite de la manière habituelle.

Acide 5-nitro-benzophénone-2-carbonique (XIX).

Ce composé est connu; on l'obtient, à côté de son isomère, l'acide 4-nitro-benzophénone-2-carbonique, en condensant l'anhydride 4-nitro-phtalique avec le benzène d'après *Friedel-Crafts*[3]). Il cristallise en aiguilles incolores fondant à 164—165°. Ayant à notre disposition une certaine quantité de 2-méthyl-5-nitro-benzophénone[4]), nous avons préféré le préparer par oxydation de cette cétone.

On chauffe en tube scellé à 160—170° pendant 10 heures 1,5 gr. de 2-méthyl-5-nitro-benzophénone avec 10 cm³ d'acide nitrique à 25% (D = 1,15). Le contenu du tube est ensuite traité par du carbonate de sodium solide jusqu'à complète neutralisation et le mélange, dilué par 40 cm³ d'eau, chauffé à 40° durant une demi-heure. On refroidit, filtre de la cétone de départ restée inaltérée et fait couler le filtrat goutte à goutte dans 50 cm³ d'acide chlorhydrique concentré. Si le produit de l'oxydation se sépare sous forme huileuse, on chauffe durant quelques minutes à 40—50° et refroidit. On obtient 0,9 gr. d'acide brut fondant mal vers 161°. On reprend par un excès d'une solution de carbonate de sodium, filtre, reprécipite par l'acide chlorhydrique concentré et cristallise finalement dans l'acide acétique glacial. On obtient ainsi, à partir de 6 gr. de 2-méthyl-5-nitro-benzophénone, 2,5 gr. d'acide pur, se présentant en aiguilles ou en touffes de prismes incolores fondant à 163,5°.

La comparaison de ce produit avec un échantillon préparé suivant *J. Rainer* a montré leur identité.

p-Diméthylamino-anilide (XX). On transforme l'acide en son chlorure par le chlorure de thionyle suivant la méthode usuelle et traite le chlorure d'acide en solution pyridinique par la quantité calculée de p-diméthylamino-aniline. Le traitement ultérieur se

[1]) Helv. **23**, 1409 (1940). [2]) Helv. **23**, 1409, 1411 (1940).
[3]) *J. Rainer*, M. **29**, 178 (1908); *W. A. Lawrance*, Am. Soc. **42**, 1876 (1920).
[4]) Cf. Helv. **22**, 831 (1939).

fait de la manière habituelle. On recristallise finalement le produit de réaction dans le benzène. Aiguilles brunes fondant à 240°.

Le composé est identique à celui, de même point de fusion, obtenu par l'action de la p-nitroso-diméthylaniline sur la 2-méthyl-5-nitro-benzophénone[1]). Il faut donc attribuer à ce dernier produit de réaction, non pas la formule de la nitrone (V), mais celle du p-diméthylamino-anilide isomère.

Institut de Chimie de l'Université de Fribourg (Suisse).

---

37. Triterpene und Pigmente in Blüten und Früchten[2])

von **J. Zimmermann.**

(27. I. 44.)

Aus der Fülle von ungefähr dreihundert Pflanzenfamilien, die die systematische Botanik unterscheidet, sind nur sechs Familien bekannt, deren Blüten oder Früchte Triterpene enthalten, wobei die meisten mit nur je einer Pflanze vertreten sind. Es sind bis jetzt bekannt: Aus der Familie der Compositen, fünf Blüten, welche die beiden Epimeren, Faradiol und Arnidiol enthalten[3]); eine Myrtaceen-Blüte, die ungeöffnete Blütenknospe von Eugenia caryophyllata (Gewürznelke) mit Oleanolsäure[4]); aus der Familie der Rosaceen, drei Früchte mit Ursolsäure, Pirus malus (Apfel)[5]), Pirus communis (Birne)[5]), Pirus cerasus (Kirsche)[5]); eine Ericaceen-Frucht mit Ursolsäure, Vaccinium vitis Idaea (Preisselbeere)[5]); eine Vitaceen-Frucht mit Oleanolsäure, Vitis vinifera (Weintraube)[5]); eine Erythroxylaceen-Frucht mit Erythrodiol, Erythroxylon novogranatense (Coca-Frucht[6]), sie ist bis jetzt die einzige bekannte Frucht, die ein Triterpen-diol enthält.

An diesem wenigen Tatsachen-Material ist eine Regelmässigkeit festzustellen, die auf eine bestimmte Beziehung zwischen der Art des Pigments und der Natur des mit ihm in der Pflanze vergesellschaftet vorkommenden Triterpens schliessen lässt.

Extrahiert man Blüten oder Früchte zum Zwecke der Isolierung von Triterpenen und arbeitet den Extrakt auf nach einem bestimmten Arbeitsgang, so erhält man, wenn man abstrahiert von Pigmenten und Verharzungs-Produkten, eine Vierzahl von gut krystallisierenden

[1]) Helv. **22**, 831 (1939).

[2]) 7. Mitteilung über Triterpen-diole; 6. Mitt. Helv. **26**, 642 (1943).

[3]) Helv. **24**, 393 (1941).

[4]) *Dodge*, Am. Soc. **40**, 1971 (1918).

[5]) *Sando, Markley* und *Sando, Markley, Sando* und *Henrichs*, J. Biol. Chem. **56**, 457 (1923); **110**, 133 (1935); **119**, 644 (1937); **105**, 643 (1934); **123**, 641 (1937).

[6]) R. **51**, 1200 (1932).

Stoffen. Nach der Reihe ihrer Abscheidung, wenn Triterpen-diole isoliert werden sollen, sind dies: Steroline (Sterin-Glucoside), Paraffin-Kohlenwasserstoffe, Sterine und Triterpen-diole. — Bei Anwesenheit von Oxy-triterpensäure werden diese als schwerlösliche Alkali-Salze abgeschieden. — Während die drei erstgenannten Stoffe stets die gleichen und auch in Pflanzenextrakten zu finden sind, in denen keine Triterpene festgestellt werden konnten[1]), ändern sich die funktionellen Gruppen der Triterpene, je nachdem die mit ihnen vergesellschaftet vorkommenden Pigmente Anthocyane (Flavonole ?) oder Carotinoide sind. Aus den bisher vorliegenden Untersuchungen ergibt sich die Regel: Triterpen-diole sind stets mit Carotinoiden und Oxy-triterpensäuren mit Anthocyanen vergesellschaftet.

Vorläufig wird diese Regel gestützt durch einen Befund, der auf folgender Überlegung fusst. Aus den bisher untersuchten Blüten und Früchten geht hervor, dass die Art des Triterpens charakteristisch ist für die Pflanzenfamilie. So enthalten alle untersuchten Compositen-Blüten die gleichen Triterpen-diole (Arnidiol und Faradiol) und alle untersuchten Rosaceen-Früchte die gleiche Oxy-triterpensäure (Ursolsäure). Wenn nun die oben abgeleitete Beziehung zwischen Pigment und funktionellen Gruppen der Triterpene zu Recht besteht, so müssten Anthocyan führende Compositen-Blüten Oxy-triterpensäuren und Carotinoid führende Rosaceen-Früchte Triterpen-diole enthalten. Und tatsächlich konnte aus Hagebutten ein Triterpen-diol isoliert werden, das sich merkwürdigerweise als Betulin erwies[2]). Wegen schwieriger Material-Beschaffung konnte eine Anthocyan führende Compositen-Blüte noch nicht untersucht werden. Es muss aber betont werden, dass diese, an relativ wenigen Beispielen festgestellte Beziehung zwischen Pigmenten und funktionellen Gruppen der Triterpene der weiteren Bestätigung durch ausgedehntere Untersuchungen bedarf. Auch zur Aufklärung der Natur dieser Korrelation sind nähere Untersuchungen notwendig.

Es fehlt zwar in der Literatur nicht an Äusserungen, wonach den Pigmenten eine Rolle zugeschrieben wird bei Reduktions- und Oxydations-Vorgängen in der Pflanze[3]), allerdings beruhen diese Anschauungen auf dem reversiblen Redox-System Chinon-Hydrochinon. Es scheint aber nicht ausgeschlossen zu sein, dass unter dem Einfluss bestimmter Enzyme ein Austausch der Oxydationsstufen zwischen Pigmenten und Triterpenen stattfindet. Dieses festzustellen scheint mir im Bereiche der experimentellen Möglichkeiten zu liegen.

[1]) Vgl. Helv. **26**, 645 (1943).

[2]) Es wäre wünschenswert zu untersuchen, ob die Ursolsäure aus Rosaceen-Früchte identisch ist mit der aus Ericaceen und ob nicht eine engere strukturelle Beziehung besteht zwischen der Ursolsäure und dem Betulin.

[3]) Vgl. *Palladin*, Z. physiol. Ch. **55**, 207 (1908); C. **1912**, I, 1842.

Nachfolgend sind, ausser Hagebutten, eine weitere Rosaceen-Frucht und eine Compositen-Blüte angeführt, deren Triterpene und Pigmente sich der oben festgestellten Korrelation fügen.

Betulin aus Hagebutten (Rosaceae, Pigment Carotinoid)[1]. Durch Aufschlämmen in Wasser und Durchseihen durch ein grobmaschiges Sieb wurden aus Hagebuttentrestern ungefähr 130 g trockener Schalen, die noch etwas Fruchtfleisch und Samen enthielten, gewonnen. Dieses Material nach der früher beschriebenen Methode aufgearbeitet, ergab 12 mg reines Betulin-diacetat. Smp. und Mischsmp. 216—217°. Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit Betulin 252—253°.

Ursolsäure aus einer Crataegus-Frucht, nordamerikanische Varietät[2]) (Rosaceae; Pigment Anthocyan). 180 g trockene und gemahlene Schalen wurden mit Benzol ausgekocht und heiss filtriert. Nach Abdestillieren des Benzols wurde drei Stunden mit alkoholischer Kalilauge am Rückfluss gekocht, worauf der Alkohol abdestilliert wurde. Der Rückstand wurde mit verdünnter Salzsäure und Äther geschüttelt und vom Unlöslichen (Steroline) abfiltriert. Aus der ätherischen Lösung wurde die Ursolsäure als schwerlösliches Kaliumsalz abgeschieden. Nach wiederholter Reinigung über das Kaliumsalz und Umkrystallisieren wurden 180 mg Ursolsäure vom Smp. 276° gewonnen. Der Mischschmelzpunkt mit Ursolsäure aus Kirschen (276°) zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung.

Faradiol und Arnidiol aus den Blüten des Alpenkreuzkrautes (Senecio alpinus, Compositae; Pigment Carotinoid). 300 g trockene, in Arosa gesammelte Früchte wurden nach der früher angegebenen Methode extrahiert und die Diole voneinander getrennt. Schmelzpunkte und Mischschmelzpunkte, Faradiol 236—237°, Faradiol-diacetat 163—167°. Arnidiol 257°, Arnidiol-diacetat 193°.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

---

38. Action de la sulfo-urée sur les polyphénol-oxydases. Son effet sur le noircissement et la respiration des pommes de terre

par **Fernand Chodat** et **Germaine Duparc.**

(31 I 44)

1. *Introduction.*

Un expert en boulangerie nous posa en 1942 la question suivante: comment éviter le noircissement immédiat et intense de la purée de pomme de terre crue? Cette purée devait être jointe à la pâte pour confectionner du pain de guerre; or, à peine faite, la purée brunissait et augmentait la teinte déjà foncée du pain. La cuisson préalable des pommes de terre aurait pu écarter cet inconvénient; le boulanger désirait s'en abstenir pour économiser le combustible.

Par analogie avec ce que *F. E. Denny*[3]) préconise pour les fruits, nous proposâmes au boulanger d'employer une substance antimélanique, la sulfo-urée. Quelques essais de laboratoire nous persuadèrent

[1]) *H. H. Escher*, Helv. **11**, 752 (1928).

[2]) Diese Bezeichnung verdanke ich Herrn Prof. *Koch*.

[3]) *F. E. Denny*. Thiourea prevents browning of plant tissues and juices. — Contribution from Boyce Thompson Institute, vol. **7**, 55 (1935).

de l'efficacité du procédé qui fut alors appliqué à la panification dans les conditions suivantes: les pommes de terre, bien lavées, munies de leur pelure, sont broyées *dans* une solution aqueuse de sulfo-urée à 1 p. 1000; l'essorage s'effectue à froid, au bout de 30 minutes environ. La purée ainsi obtenue reste absolument blanche, quelle que soit la sorte de pomme de terre employée et la température à laquelle s'est déroulée l'opération. Incorporée à la pâte, cette purée ne cause aucun trouble de panification. Le pain achevé est plus clair, ne possède aucun goût anormal; sa consommation n'a point entraîné d'inconvénient. Par dessiccation à l'air, la purée traitée brunit légèrement, mais beaucoup moins que la purée témoin.

Si le procédé donne toute satisfaction au point de vue technique, il faudrait encore prouver que l'emploi, *à la longue*, d'un pain ainsi préparé est parfaitement inoffensif. Les données pharmacologiques sur la sulfo-urée sont peu nombreuses: *S. Fränkel*[1]) dans son livre « Arzneimittel-Synthese » fournit les indications suivantes: dose mortelle pour le cobaye: 4 gr. par kgr. *(Binet)*. La sulfo-urée n'est pas plus toxique que l'urée *(Lusini* et *Calibebe)*. L'administration de sulfo-urée à l'animal détermine des exhalations de méthyl- et éthyl-sulfures *(J. Pohl)*. Suivant certains auteurs français, la sulfo-urée se trouverait à l'état normal dans l'urine.

Masuda[2]) montre que l'injection de sulfo-urée au cobaye augmente le taux du soufre neutre dans l'urine; il y a aussi augmentation des esters sulfuriques; le fait est douteux pour les sulfates. Un auteur américain *Tanner*[3]) dit que certaines levures fournissent de l'hydrogène sulfuré à partir de la sulfo-urée.

Des recherches sont en cours à l'Institut de Botanique générale de Genève sur le rôle de cette substance dans la vie des champignons et de quelques phanérogames.

Le résultat obtenu dans la pratique boulangère posait dès lors la question suivante: comment s'effectue la protection contre le noircissement, et, subsidiairement, quelles sont les modifications apportées à la respiration des tissus de pomme de terre par l'adjonction de sulfo-urée? Les expériences rapportées ci-dessous apportent une première réponse.

2. *Respiration normale des tissus de pomme de terre.*

Au cours de ces recherches, nous avons eu l'avantage de profiter des expériences faites par *J. J. A. Hellinga*[4]) sur la respiration des

[1]) *S. Fränkel.* Die Arzneimittel-Synthese. — Sechste umgearbeitete Auflage, 1927, Berlin, *J. Springer.*

[2]) *Masuda*, Z. physiol. Ch. **68**, 28 (1910).

[3]) *Tanner*, Am. Soc. **40**, 669 (1918).

[4]) *J. J. A. Hellinga*, Über den Einfluss von Substanzen, die von Pilzen gebildet wurden, auf die Atmung des Kartoffelknollengewebes. Rec. trav. bot. néerland. **38**, 151 (1942).

tissus de pomme de terre et publiées en un substantiel mémoire. La technique que nous décrivons sommairement est largement inspirée de celle de *Hellinga*; nous mentionnerons, au fur et à mesure, les modifications que nous y avons faites.

Préparation des pastilles de pomme de terre.

Découper un cylindre de tissu de pomme de terre au moyen d'un perce-bouchon de 5 mm. de diamètre; immerger aussitôt le cylindre dans l'eau; débiter la portion centrale du cylindre (entre les zones libéro-ligneuses) en pastilles au moyen d'un couteau à 4 lames de rasoir *Gillette*, vissées par un écrou à 1 mm. l'une de l'autre. Les pastilles restées coincées entre les lames sont ensuite expulsées au moyen d'une aiguille et aussitôt immergées dans l'eau. Après lavage, chaque pastille-disque est coupée sous l'eau suivant le diamètre; les demi-pastilles sont séparées au pinceau pour constituer des lots rigoureusement comparables quant au nombre et à la qualité des unités. Dans chaque expérience, 80 demi-pastilles respiraient dans le flacon manométrique.

Lavage des pastilles.

Les pastilles entières sont mises dans un large tube de verre fermé à chaque extrémité par une gaze. Le tube est placé dans l'eau courante pour une nuit (12 à 18 h.). *Hellinga* considère un lavage de cette durée comme le meilleur moyen de stabiliser à un niveau constant, l'activité physiologique du tissu de pomme de terre; sans lavage, les pastilles montrent un taux d'intensité respiratoire croissant avec le temps. Nous verrons plus loin l'importance du lavage pour les réactions du tissu avec la sulfo-urée.

Milieu liquide où sont immergées les pastilles durant l'expérience de respiration.

Les pastilles sont immergées dans une solution de tampon phosphate au p_H 6,2. Entre 5,5 et 6,8 le p_H n'exerce pas d'effet appréciable sur la respiration *(Hellinga)*. L'addition de sucre à ce milieu exerce un effet très irrégulier; pour les tissus frais, l'intensité respiratoire est la même avec ou sans sucre; pour les tissus provenant de tubercules longuement conservés, le sucre augmente sensiblement la respiration. Ces observations de *Hellinga* résument une longue discussion sur l'influence du sucre et confirment entièrement ce que nous avons publié sur la respiration des levures fraîches et épuisées *(Chodat* et *Mirimanoff*[1]*)*. Les expériences de ce mémoire ont été faites sans sucre.

Pour augmenter la respiration des pastilles, nous avons ajouté à la solution de phosphates soit de l'acide, soit de l'amide de l'acide nicotinique à la concentration de 1×10^{-6}. Six expériences faites dans ce dessein montrent que ni l'acide, ni l'amide nicotinique n'exercent, dans les conditions où nous avons expérimenté, d'influence significative sur la respiration du tissu de pomme de terre lavé. A la suite de cet échec, nous avons adopté comme « milieu de respiration » la solution tampon de phosphates au p_H 6,2.

Respiration des pastilles fraîches et des pastilles lavées.

Nos expériences montrent que les pastilles fraîches consomment, durant les deux heures que dure l'éxperience, moins d'oxygène que les pastilles lavées pendant une nuit.

Les différences observées d'une expérience à l'autre proviennent de la comparaison de lots divers de pastilles. En fait, les expériences qui suivront ont toujours été faites au sein d'un même lot. *Hellinga* dit que le lavage détermine en moyenne une activité respiratoire s'amorçant à un niveau nettement plus élevé que celui des pastilles fraîches.

Les pastilles lavées qui sont abandonnées à l'air, noircissent moins vite et moins fortement que les pastilles fraîches. Le lavage joue donc, à lui tout seul déjà, le rôle d'un

[1]) *F. Chodat* et *A. Mirimanoff*, Conservation et taux respiratoire des levures. C. R. Soc. Phys. Hist. nat. Genève **52**, 74—76 (1935).

traitement antimélanique; certaines des substances qui contribuent à l'oxydation enzymatique, sont éliminées grâce à leur solubilité.

Exp. n°	Pastilles fraîches mm³ de O_2 consommé	Exp. n°	Pastilles lavées mm³ de O_2 consommé
27	82	15	91
29	60	14	81
34	59	25	77
31	40	30	67
32	40	27	65
33	33	29	57
		28	52
	moyenne: 52 (74%)		moyenne: 70 (100%)

Conditions: 80 demi-pastilles dans 2 cm³ de milieu; température 25°.

3. *Effet de la sulfo-urée.*

Contrôle du réactif. Divers essais préliminaires nous apprennent que la sulfo-urée dissoute à raison de 1 p. 1000 dans la solution de phosphate à p_H 6,2, ne donne lieu à aucun échange gazeux par elle-même, mesurable à la température de 25° dans l'appareil de *Warburg*. Il faut utiliser des solutions fraîchement préparées de manière à éliminer des effets imputables à la respiration des microbes contaminant des solutions âgées.

Mode d'application de la sulfo-urée au tissu cellulaire. Deux procédés ont été employés; le premier consiste à faire respirer les pastilles, lavées ou fraîches, dans un liquide chargé de sulfo-urée à 1 p. 1000; le réactif diffuse progressivement dans le tissu au cours de l'expérience. Cette intervention, opérée par l'*extérieur* de la pastille, a un effet modéré.

Le second procédé consiste à imprégner les pastilles, lavées ou fraîches, par une immersion de 3 heures dans la solution tampon chargée de sulfo-urée à 1 p. 1000. Après ce bain, les pastilles sont égouttées, puis mises dans la solution tampon ordinaire pour la mesure respiratoire. Cette intervention de la sulfo-urée, à l'*intérieur* de la pastille, a un effet marqué.

Les conjonctures expérimentales sont donc au nombre de 4:

Condition 1, c.-à-d. pastilles lavées, sulfo-urée extérieure.

	mm³ d'O_2 consommé	
	témoin	avec s.u.
Exp. n° 14 (30.I.43), après 2 h.	81	83
Exp. n° 14 (30.I.43), après 5 h.	227	243
Exp. n° 15 (30.I.43), après 2 h.	91	96
Exp. n° 28 (13.III.43), après 2 h. . . .	52	57
Exp. n° 30 (27.III.43), après 2 h. . . .	67	66

Dans ces conditions la sulfo-urée exerce une très faible accélération sur le pouvoir respiratoire; nous nous trouvons pratiquement à la limite de l'erreur expérimentale.

L'effet sur le dégagement de gaz carbonique semble par contre plus marqué; en présence de sulfo-urée, on n'enregistre plus que le 81% (exp. n° 18) et le 90% (exp. n° 30) du dégagement de gaz carbonique par rapport au témoin. L'antimélanique provoque donc une chute du quotient respiratoire qui passe de 0,70 (témoin 28) à 0,53 et de 0,75 (témoin 30) à 0,69.

Condition 2, c.-à-d. pastilles fraîches, sulfo-urée extérieure.

	mm^3 $d'O_2$ consommé	
	témoin	avec s.u.
Exp. n° 31 (19.IV.43), après 2 h. . . .	40	35
idem 3 h. . . .	59	57
Exp. n° 32 (21.IV.43), après 2 h. . . .	40	37
idem 2 ½ h. . .	53	49
Exp. n° 33 (22.IV.43), après 2 h. . . .	33	31
idem 2 ½ h. . .	39	37

La sulfo-urée diminue, bien que faiblement, l'intensité respiratoire des pastilles fraîches. L'action est donc inverse de celle observée pour les pastilles lavées. Ces résultats minimes (conditions 1 et 2) n'auraient point retenu notre attention, si les indices qu'ils montrent n'avaient été plus largement vérifiés par les expériences subséquentes.

Dans l'expérience 32, nous avons mesuré le gaz carbonique dégagé. La quantité est double lorsque la sulfo-urée est présente; l'effet physique exercé par le dérivé de l'urée joue probablement là un rôle: la rétention du gaz carbonique, existant dans le tissu frais, est réduite.

Condition 3, c.-à-d. pastilles lavées, sulfo-urée intérieure.

	mm^3 $d'O_2$ consommé	
	témoin	avec s.u.
Exp. n° 25 (27. II.43), après 2 h. . . .	77	73
Exp. n° 27 (5.III.43), après 2 h. . . .	65	83
Exp. n° 29 (13.III.43), après 2 h. . . .	57	74

L'augmentation de la respiration des pastilles lavées sous l'influence de la sulfo-urée est ici de 30%. Elle accentue nettement l'indication fournie par le procédé plus modéré de la sulfo-urée à l'extérieur.

Condition 4, c.-à-d. pastilles fraîches, sulfo-urée intérieure.

	mm^3 $d'O_2$ consommé	
	témoin	avec s.u.
Exp. n° 27 (5.III.43), après 2 h. . . .	82	57
Exp. n° 29 (13.III.43), après 2 h. . . .	60	51
Exp. n° 34 (2.IV.43), après 2 h. . . .	59	40

Dans ces conditions la sulfo-urée réduit nettement l'activité respiratoire du tissu de pomme de terre (26% en moyenne). Cette diminution confirme la faible action exercée lorsque la sulfo-urée agit de l'extérieur sur les pastilles fraîches.

Signalons ici que la sulfo-urée ne peut pas *décolorer* un jus ou un tissu de pomme de terre bruni par l'oxydation. Cette décoloration a pourtant été réussie par *F. E. Denny,* avec le jus de pomme oxydé. Cette discordance vient du fait que les pigments foncés produits par les oxydations enzymatiques n'ont pas tous la même constitution chimique. Pour les pommes de terre, l'azote aminé qui se joint aux quinones formées, confère à la réaction une irréversibilité propre aux mélanines.

Ces mesures du paragraphe 3 permettent de tirer les conclusions suivantes:

1° La sulfo-urée empêche le brunissement du tissu de pomme de terre sans en modifier considérablement l'absorption d'oxygène. L'oxydation mélanique n'utilise donc qu'une faible partie de l'oxygène incorporé par le tissu.

2° Employons le terme d'« oxycaptation » pour désigner la totalité de l'oxygène absorbé sous l'influence du tissu; il comprend celui destiné aux actes respiratoires et celui employé par les oxydations dues aux polyphénol-oxydases. La sulfo-urée augmente l'oxycaptation du tissu lavé et réduit celle du tissu frais. Ces catalyses positives et négatives ne dépassent pas le 30 % de l'intensité de l'oxycaptation.

Cette seconde conclusion peut être interprétée par l'hypothèse suivante:

Le lavage, opération antimélanique, enlève au tissu certains principes solubles qui participent au brunissement. Les pastilles fraîches possèdent encore ces principes; en présence de sulfo-urée, ils sont soustraits à l'oxydation; simultanément la sulfo-urée est bloquée. En conséquence, l'oxycaptation est réduite.

Chez les pastilles lavées, la sulfo-urée n'est pas bloquée, et fonctionne comme auxiliaire du système préposé à capter l'oxygène. La sulfo-urée, dans ce cas, facilite l'oxycaptation.

4. *Effet du para-crésol.*

Les substances mélanogènes que le lavage élimine du tissu appartiennent à la classe des composés phénoliques; n'en connaissant — pour le moment — ni la quantité, ni les espèces, il est impossible de préciser les réactions de ces substances avec la sulfo-urée.

Pour résoudre cette difficulté, nous avons ajouté du para-crésol au système expérimental qui comporte désormais: à l'extérieur de la pastille, dans le liquide tampon: l'oxygène atmosphérique, le para-crésol et la sulfo-urée; à l'intérieur de la pastille: les ferments respiratoires, les polyphénol-oxydases et les mésocatalyseurs naturels de ces enzymes.

On néglige provisoirement les corps phénoliques du tissu. Les expériences sont faites avec des pastilles lavées.

L'expérience n° 20 (13. 2. 43) nous apprend que l'autoxydation du para-crésol, aux concentrations 0,04% et 0,08% en milieu tampon phosphate p_H 6,2, est négligeable; 2 cm³ de ces solutions captent en deux heures, à la température 25°, de 1 à 4 mm³ d'O_2, les pastilles étant bien entendu absentes!

On constate à la fin des mesures (2 h.) que les liquides qui ont servi de milieu respiratoire ont pris des teintes allant du rose orange au rouge cerise, suivant la concentration du p-crésol. Les pastilles, elles aussi, sont fortement colorées dans les mêmes teintes.

	mm³ d'O_2 consommé			
	témoin	p-c. 0,04%	p-c. 0,08%	p-c. 0,16%
Exp. n° 16 (2.II.43) en 2 h.	64	81		
idem en 2 h. ¾	88	111		
Exp. n° 18 (6.II.43) en 2 h.	78	71		
idem en 4 h.	160	161		
Exp. n° 19 (6.II.43) en 2 h.	78	—	109	228
Exp. n° 22 (20.II.43) en 2 h.	—	192	268	508
idem en 4 h.	—	210	290	620
Exp. n° 23 (20.II.43) en 2 h.	—	230	357	523

Nous avons défini plus haut l'oxycaptation comme étant la somme de l'oxygène incorporé par la respiration et de l'oxygène utilisé par les phénols oxydables. Il y a lieu de distinguer ces deux quantités et de chercher s'il y a proportionnalité entre les quantités offertes de phénols et les quantités d'oxygène que l'expérience indique pour leur oxydation.

Les expériences témoin nous permettent de fixer à 90 mm³ d'O_2, la respiration de 80 demi-pastilles en 2 heures à la température de 25° et au p_H 6,2. Si nous défalquons cette respiration de l'oxycaptation, nous trouvons alors les quantités d'oxygène mobilisées par les polyphénolases au profit du para-crésol ajouté. Une moyenne établie pour les expériences 19, 22, 23 permet ensuite de fixer les coefficients de proportionnalité suivants, entre la dose de p-crésol et l'oxygène capté par lui:

dose de p-crésol	1	2	4
coefficient.	1	1,8	3,9

Les proportions sont satisfaisantes étant donné les conditions et le nombre des expériences.

Dès que l'oxydation du p-crésol offert est accomplie, le taux de l'oxycaptation retombe à un niveau qui correspond à celui de la respiration normale.

5. *Effets combinés de la sulfo-urée et du p-crésol.*

Dans ces conditions, les pastilles et les liquides où elles respirent, restent parfaitement incolores, même après plusieurs heures d'expérience. L'action protectrice de la sulfo-urée se marque doublement: à l'égard du tissu et à celui du p-crésol ajouté.

Les conditions des expériences qui suivent sont donc: pastilles lavées: mélange tampon phosphate p_H 6,2, enrichi à raison de 0,04%, 0,08% et 0,16% de para-crésol; cette liqueur crésolée contient en plus de la sulfo-urée à la concentration de 1 p. 1000. Les liqueurs témoin manquent de p-crésol.

	mm³ d'O_2 consommé			
	sans p-crésol	avec p-crésol		
		0,04%	0,08%	0,16%
Exp. n° 17 (8.II.43) en 2 h. .	73	98		
Exp. n° 21 (13.II.43) en 2 h. .	—	—	80	97
Exp. n° 24 (27.II.43) en 2 h. .	—	96	91	110

Ces chiffres sont nettement inférieurs à ceux obtenus dans les expériences faites avec p-crésol sans sulfo-urée; celle-ci entrave donc l'oxydation du p-crésol. On peut, en effet, ajouter une, deux, quatre doses de ce corps oxydable sans enregistrer d'augmentation significative de l'oxygène capté par le système. Ces données volumétriques confirment celles fournies par la colorimétrie.

Ce qui se passe pour le p-crésol ajouté au système expérimental doit être également vrai pour les substances phénoliques naturelles du tissu. L'inhibition partielle de la respiration des pastilles fraîches par la sulfo-urée, que nous avons attribuée au paragraphe 3, à un blocage des principes phénoliques naturels, se trouve ainsi vérifiée.

La protection de la sulfo-urée s'étend aux oxydations enzymatiques des substances phénoliques; elle n'atteint pas, semble-t-il, la consommation de l'oxygène par les ferments respiratoires. Si cet effet électif se confirme, il pourra rendre d'importants services à l'analyse enzymatique.

6. *Réaction de la sulfo-urée avec le p-crésol.*

Si nous considérons au point de vue moléculaire les quantités de sulfo-urée et de para-crésol mises en œuvre dans nos expériences, nous constatons que les solutions à 0,04 % et 0,08 % sont hypotoniques par rapport à la solution de sulfo-urée à 1 p. 1000, c.-à-d. 0,0131 M. La concentration 0,16 % de p-crésol, soit 0,0148 M, est pratiquement équivalente à celle de la sulfo-urée.

Que se passera-t-il si nous ajoutons au système du p-crésol en quantité moléculairement supérieure à celle de la sulfo-urée?

Dans l'expérience n° 26, nous avons réduit la concentration de la sulfo-urée à 0,5 p. 1000 et mesuré l'oxycaptation (80 demi-pastilles lavées, 2 h., tampon phosphate p_H 6,2) dans les trois conditions suivantes:

	mm^3 d'O_2 consommé
0,00658 M sulfo-urée (= 0,5 p. 1000) + p-crésol 0,0037 M	(0,04%) . . 100
0,00658 M sulfo-urée (= 0,5 p. 1000) + p-crésol 0,0074 M	(0,08%) . . 109
0,00658 M sulfo-urée (= 0,5 p. 1000) + p-crésol 0,0148 M	(0,16%) . . 162

Les chiffres de cette expérience montrent que dès que l'équimolécularité est dépassée, l'effet protecteur se dissipe. Cela revient à dire que la réaction entre le para-crésol et la sulfo-urée se fait molécule à molécule.

Dans les conditions naturelles, il semble que la concentration de 1 p. 1000 de sulfo-urée soit amplement suffisante pour assurer le blocage des substances phénoliques présentes dans le tissu.

Ces constatations stoechiométriques pourraient servir de base à un dosage biologique des substances phénoliques libres. Soit une série d'éprouvettes, renfermant chacune une solution tampon contenant une quantité fixe et inconnue de corps phénolique oxydable et des quantités connues et croissantes (d'éprouvette en éprouvette) de sulfo-urée; toutes les éprouvettes reçoivent alors une même quantité de phénol-oxydase et sont agitées à l'air: les éprouvettes dont la concentration en corps phénoliques est inférieure à la concentration en sulfo-urée, resteront incolores.

Nous n'avons point trouvé d'indications dans le *Beilstein* sur les réactions de la sulfo-urée avec les substances phénoliques. Cette lacune

assigne provisoirement une limite à notre interprétation du mécanisme de cette fonction antimélanique.

Remarques critiques.

Paragraphe 2. *Hellinga* fournit dans son ouvrage (p.170) un résumé des études faites sur la respiration normale des pommes de terre. Il y ajoute ses propres conclusions concernant l'influence d'un certain nombre de facteurs expérimentaux sur l'intensité de cette respiration. L'article de *Hellinga*, orienté vers la phytopathologie, rend compte de la stimulation du pouvoir respiratoire que détermine l'infection des pommes de terre par le *Gibberella Saubinetii*.

D'autres auteurs, *Miller, Guthrie* et *Denny*[1]) ont étudié les substances telles que le chlorure d'éthylène, l'éthyl-mercaptan et les butylhalides, qui élèvent le pouvoir respiratoire des pommes de terre.

Paragraphe 3. Le sort de la sulfo-urée dans le tissu est mal connu. Rappelons à ce propos que l'eau oxygénée en milieu neutre transforme la sulfo-urée en acide sulfinique, le soufre devenant tétravalent. La formation d'eau oxygénée étant fréquente dans les processus d'oxydation biologique, il n'est pas exclu qu'une partie de la sulfo-urée qui pénètre dans les cellules, subisse un sort analogue.

L'action de la sulfo-urée sur les enzymes paraît négligeable. L'expérience rapportée plus haut en fournit la preuve: dès que le p-crésol dépasse en concentration moléculaire la sulfo-urée, le corps phénolique devient l'objet d'une oxydation enzymatique, ce qui n'aurait point lieu si le ferment avait été paralysé ou altéré. A cet égard, notre expérience confirme celle d'*Overholser* et *Cruess*[2]) qui prouvent que la sulfo-urée peut inhiber l'oxydation de la benzidine par la peroxydase, sans toutefois porter atteinte à l'intégrité du ferment.

Les chimistes ont décrit un certain nombre de complexes entre la sulfo-urée et le cuivre. Ce fait pourrait avoir de l'importance, étant donné la nature cuprique des polyphénol-oxydases. Cependant, ni nos expériences, ni celles d'autres auteurs n'apportent la preuve d'une réaction directe entre la sulfo-urée et les ferments dont elle entrave l'action. Une réserve doit être faite: *Denny*[3]) signale le fait suivant: si l'on congèle des tissus de fruits préalablement imprégnés par des solutions diluées de sulfo-urée et que l'on conserve au-dessous de 0° ces objets, on peut alors dégeler, laver et même broyer ces tissus dans l'eau sans observer de noircissement. Or, tel n'est pas le cas, pour les tissus simplement imprégnés puis séchés; aussitôt que lavés et exposés à l'air, ces tissus brunissent de nouveau à la suite de l'élimination par lavage de la sulfo-urée. Dans le cas des fruits congelés, *Denny* pense que la rupture des cellules par le gel a permis une meilleure pénétration de la sulfo-urée qui finit à la longue par altérer le système enzymatique responsable du brunissement.

L'oxydation mélanogène des phénols a été étudiée avec plus de détail en présence de polyphénol-oxydases isolées [4]) [5]) [6]) qu'en présence de cellules vivantes. A cette der-

[1]) *L. P. Miller, J. D. Guthrie* and *F. E. Denny*, Induced changes in respiration rates and time relations in the changes in internal factors. Contribution from Boyce Thompson Institute, **8**, 41 (1936).

[2]) *E. L. Overholser* and *W. V. Cruess*, A study of the darkening of apple tissue. Calif. Agric. Exp. Sta. Techn. Pap. **7** (1923).

[3]) *F. E. Denny*, Inactivation of the browning system in frozenstored tissues. Contribution from Boyce Thompson Institute **12**, 309 (1942).

[4]) *F. Chodat*, Sur la fonction anti-tyrosinase du glutathion « in vitro ». C. R. Soc. Phys. Hist. nat. Genève **52**, 73—74 (1935).

[5]) *F. Chodat* et *P. Brunschwig*, L'oxygène fixé au cours de la mélanogenèse. C. R. Soc. Phys. Hist. nat. Genève **55**, 25—28 (1938).

[6]) *F. Wyss-Chodat* et *F. Chodat*, Action de la vitamine *C* sur l'oxydation enzymatique d'un monophénol. C. R. Soc. Phys. Hist. nat. Genève **56**, 53—58 (1939).

nière catégorie de recherches il faut rattacher celles de *Boswell* et *Whiting*[1]) qui assurent que le 67% de la respiration des tissus de pomme de terre fait appel au système Cu-catéchol-oxydase; une respiration résiduelle représentant le 33%, échapperait à l'intoxication cyanhydrique. Suivant *Hellinga*, l'addition de p-phénylènediamine et de p-oxyphénylglycine augmente nettement la consommation de l'oxygène par le tissu de pomme de terre; ce surplus n'est pas simplement attribuable à l'oxydabilité de ces substances phénoliques; en effet, le quotient respiratoire ne tombe, sous leur influence, que de 1,00 à 0,95; par ailleurs, l'oxydation supplémentaire dépasse nettement l'oxydation prévisible par le calcul des concentrations mises en œuvre. *Boswell* et *Whiting* montrent, eux aussi, que la pyrocatéchine et d'autres o-dioxyphénols élèvent le taux respiratoire sans modifier le quotient respiratoire. Dans le cas de la pyrocatéchine, il y a pourtant une inhibition rapide due à la formation de la quinone. L'augmentation serait, suivant ces auteurs, de 20%; les o-dioxyphénols, incorporés dans le système respiratoire, y jouent un rôle de mésocatalyseur.

Rappelons pour terminer que la sulfo-urée a été employée entre autres substances, pour rompre le « sommeil » des tubercules de pommes de terre; par ce traitement, les tubercules développent prématurément leurs pousses! Ce réveil de la croissance des méristèmes semble donc dépendre, en partie, de l'arrêt du travail des polyphénol-oxydases. Cette relation est acceptable jusqu'au moment où d'autres effets de la sulfo-urée seront découverts et rendront compte de la rupture du rythme physiologique du tissu.

CONCLUSIONS.

1. La purée de pomme de terre crue, imprégnée par une solution aqueuse de sulfo-urée à 1 p. 1000 ne noircit plus par oxydation à l'air.

2. Cette action est préventive et non curative.

3. L'addition de l'antimélanique au tissu n'en modifie que faiblement la consommation d'oxygène. La sulfo-urée se comporte, à cet égard, très différemment de la vitamine C, qui augmente considérablement la consommation en oxygène du tissu, tout en le protégeant contre le noircissement.

La sulfo-urée bloque les substances phénoliques naturelles du tissu *frais* de pomme de terre et simultanément en réduit la consommation d'oxygène (ad 26%).

La sulfo-urée augmente (ad 30%) la consommation d'oxygène d'un tissu de pomme de terre *lavé*, donc dépouillé d'une fraction importante de ses substances phénoliques naturelles.

4. La sulfo-urée protège le para-crésol contre l'oxydation enzymatique: chaque molécule de sulfo-urée bloque une molécule de p-crésol. L'oxydation enzymatique réapparaît dès que la concentration moléculaire du p-crésol dépasse celle de l'antimélanique.

Institut de Botanique générale, Université de Genève.

[1]) *Boswell, J. G.* and *Whiting, G. C.*, A study of the polyphenol oxidase system in potato tubers. Ann. Botany [New series] **2**, 847 (1938).

39. Über Alizarate

IV. Mitteilung

von Robert Haller.

(31. I. 44.)

Es ist aus den klassischen Untersuchungen von *Liechti* und *Suida* bekannt, dass es diesen Forschern bei ihren ausgedehnten Untersuchungen über das Alizarinrot niemals gelungen ist, Aluminiumhydroxyd und Alizarin als solche zum Alizarat zu vereinigen, und zwar trotz ausserordentlich mannigfaltigen Versuchsbedingungen. Das Resultat dieser Versuche fassen die Forscher folgendermassen zusammen:

„Wird reines Aluminiumhydroxyd mit Wasser und Alizarin allein erhitzt, so tritt selbst nach mehrstündigem Kochen keine Veränderung (Lackbildung) ein; durch Äther kann dem Gemenge alles Alizarin entzogen werden und es bleibt das reine Hydroxyd zurück“[1]).

Die einzige Möglichkeit, diese beiden Körper zum Alizarat zu vereinigen, wurde von mir seinerzeit aufgefunden[2]) durch Mischen von Alizarin mit einem Aluminiumhydroxydsol. Unter diesen Bedingungen geht die Vereinigung von Alizarin mit Aluminiumhydroxyd schon bei gewöhnlicher Temperatur in kurzer Zeit vor sich; Erwärmen beschleunigt den Prozess wesentlich.

Umso auffallender musste nach diesen Feststellungen die Beobachtung erscheinen, dass Aluminiumoxyd, wie es für Zwecke der Chromatographie von der Firma *Merck* als Aluminiumoxyd puriss. geliefert wird, auf Zusatz alkoholischer Alizarinlösung sofort das lebhaft rote Alizarat bildete; auch mit einer wässrigen Lösung von dioxyanthrachinon-monosulfosaurem Natrium, dem Alizarinrot SW des Handels, war das Alizarat ohne weiteres zu erhalten. Mit Äther lässt sich aus diesem Alizarat kaum eine Spur Alizarin extrahieren.

Wenn man die Suspension des genannten Aluminiumoxyds in Wasser auf ihre Reaktion prüft, so stellt man eine schwache Alkalinität fest, die ungefähr einem $p_H = 7$ entspricht. Versetzt man eine solche Suspension mit ganz wenig Schwefelsäure, so dass ein p_H von ca. 4—5 resultiert, so bleibt die Alizarat-Bildung vollkommen aus. Der Anstoss zur Alizarat-Bildung kann also nur von den Spuren von Alkali herrühren, welche dem verwendeten Aluminiumoxyd anhaften.

Diese beiden Alizarate, das aus kolloidem Aluminiumhydroxyd und das aus Aluminiumoxyd für Chromatographie, verhalten sich vollkommen gleich wie diejenigen, die seinerzeit auf dem Gewebe selbst untersucht wurden[3]). Mit Eisen(III)-chlorid verändert sich die rote Farbe der Alizarate bei gewöhnlicher Temperatur in Schwarzviolett, mit Kupfersulfat in Violett. Ebenso ergeben sich Farbänderungen mit Chromaten und Uranyl-

[1]) Mitteilungen des techn. Gewerbemuseums in Wien, Mai **1885**, S. 2.

[2]) Färber-Ztg. **23**, 490 (1912); Koll. Z. **13**, 255 (1913).

[3]) Helv. **21**, 845 (1938).

salzen. Zinn(II)-chloridlösung verändert die Farbe des Aluminiumalizarates rasch in intensives Orange.

Wir sehen, dass einerseits das Alizarat, das sich beim Alizarinrotfärbeprozess auf der Faser bildet, und andererseits dasjenige, das mit dem Aluminiumoxyd in wässrigen oder alkoholischen Alizarinlösungen entsteht, im Verhalten weitgehend übereinstimmen. Auch das makroskopische Aussehen ist bei beiden dasselbe; man findet völlige Homogenität des Färbeeffektes.

Das wird in dem Augenblick aber anders, wo man das Aluminiumoxydrot in der Achatschale verreibt; das Rot wird zusehends heller und bei weitgehendster Verteilung zeigt das Pulver nur mehr einen blassrosa Ton. Wir müssen daraus schliessen, dass die Bildung des Alizarates auf dem Aluminiumoxyd nur an der Oberfläche des Korns stattgefunden hat. Untersucht man einerseits das direkt erhaltene rote Pulver, andererseits dasselbe, wenn es weitgehend verrieben ist, bei auffallendem Licht unter dem Mikroskop, so wird die oberflächliche Bildung des Alizarates sehr deutlich sichtbar. Es ist nur die ganz oberflächlich liegende Partie des Aluminiumoxydkorns, die sich, allerdings sehr homogen anfärbt, das Innere des Korns ist absolut ungefärbt.

Ein mit Pyridin extrahiertes Alizarat von einer normalen Alizarinrotfärbung behält beim Verreiben im Achatmörser die ursprüngliche Farbe vollkommen bei.

Wenn eine alkoholische Lösung von Aluminiumchlorid mit einer ebensolchen von Kaliumacetat in äquivalenten Mengen versetzt wird, so scheidet sich rasch ein Krystallbrei des in Alkohol nur sehr schwer löslichen Kaliumchlorids aus. Filtriert man nach einigem Stehen, um dem letzten Rest des Kaliumchlorids Gelegenheit zur Abscheidung zu geben, so erhält man eine alkoholische Lösung von Aluminiumacetat, durch deren Verdunstenlassen bei Zimmertemperatur ein festes, weisses Aluminiumacetat in krümmeliger Form entsteht, das aber in kochendem Alkohol restlos wieder löslich ist.

Versetzt man nun eine solche alkoholische Lösung von Aluminiumacetat mit einer alkoholischen Lösung von Alizarin (Dioxy-anthrachinon), so erhält man ohne weiteres eine Lösung des intensiv rot gefärbten Alizarates. Diese Lösung ist aber wenig stabil und scheidet nach einigem Stehen einen dunkelroten Niederschlag ab.

Es wäre nun denkbar, dass die so hergestellte alkoholische Lösung des Aluminiumalizarates für Baumwolle oder Wolle ein gewisses Aufziehvermögen besässe. Man stellt aber beim Versuch nichts derartiges fest, auch nicht, wenn man die alkoholische Lösung mit Wasser versetzt. Verwendet man als Fasermaterial eine in Türkischrotöl imprägnierte und lang verhängte Baumwolle, so findet geringe Fixierung des Alizarates statt, die aber nicht als eine gute Färbung anzusprechen ist.

Es ist in diesem Zusammenhang interessant, dass sowohl Natriumalizarat, als auch Lithiumalizarat und Calciumalizarat ein ausgesprochenes Aufziehvermögen auf Wolle besitzen, während Baumwolle mit diesen Verbindungen ebenfalls nahezu ungefärbt bleibt.

Aber in anderer Weise lässt sich eine Alizaratfärbung, allerdings nur auf Wolle, erzielen. Erhitzt man eine Aluminiumacetatlösung mit Alizarin, so bildet sich nach und nach eine rote Lösung des Alizarates. Färbt man darin Wolle, so erhält man nach längerem Kochen eine ziemlich intensive, rote Färbung von guter Echtheit. Dasselbe Resultat erzielt man mit Calciumacetat. Die entstehende Färbung ist rotviolett; Zusatz von Essigsäure lässt die Färbung wesentlich intensiver werden.

Nun verhält sich überraschenderweise eine solche aus einer wässrigen Lösung von Aluminiumacetat mit Alizarin erhaltene Aluminiumalizaratlösung wesentlich anders als die oben beschriebene, durch Versetzen mit alkoholischer Alizarinlösung dargestellte. Die Lösung ist stabil; reinigt man sie durch Dialyse, so fällt sie nicht aus, wie die mit Hilfe von alkoholischer Alizarinlösung erhaltene.

Beide Alizaratlösungen, sowohl die, welche unter Zuhilfenahme von alkoholischer Alizarinlösung, als die, welche lediglich durch Erhitzen von Aluminiumacetatlösung mit Alizarin erhalten werden, sind sehr säureempfindlich. Schon einige Tropfen Eisessig in der Hitze verfärben nach Orange, Natriumhydrogensulfat zersetzt sofort und scheidet Alizarin ab. Viel stabiler gegen Säurewirkung sind die Alizarate, welche sich wie oben beschrieben, auf pulverförmigem Aluminiumoxyd gebildet hatten, ganz abgesehen natürlich von einem auf Baumwolle normal gefärbten Alizarinrot, das durch diese Behandlung überhaupt keine Veränderung erleidet.

Was in Obenstehendem niedergelegt ist, ist das Verhalten von reinen Aluminiumalizaraten. Wir wissen aber schon aus früheren Untersuchungen[1]), dass sich diese Aluminiumalizarate von den durch den normalen Färbeprozess auf der Faser entstehenden Aluminium-Calciumalizaraten unterscheiden. Es sollten also auch die letzteren etwas näher untersucht werden.

Dazu erschienen mir aber die Produkte, welche man nach der Methode von *Liechti* und *Suida*[2]) durch doppelte Umsetzung von Aluminiumsulfat + Calciumacetat mit einer ammoniakalischen Lösung von Alizarin erhält, infolge ihrer schwankenden Zusammensetzung wenig geeignet. Auch die von denselben Autoren verwendete Arbeitsweise, Kochen von Aluminiumhydroxyd mit Calciumacetatlösung und Alizarin, gibt wechselnde Zusammensetzung der Reaktionsprodukte.

Schon *Liechti* und *Suida* erörterten die Frage der Anwendung von Calciumaluminiumacetaten für die Herstellung von Alizaraten. Doch gelang ihnen die Darstellung solcher Salze nicht.

Man erhält nun ein Calciumaluminat, wenn man in eine gesättigte Lösung von Calciumhydroxyd Aluminiumpulver einstreut und die Lösung zum Kochen erhitzt. Das Metallpulver verschwindet langsam und es entsteht ein weisser Niederschlag eines Calciumaluminates; ein Teil davon bleibt in Lösung.

Erhitzt man ein wenig von dem noch etwas grau gefärbten Pulver in wässriger Suspension mit alkoholischer Alizarinlösung zum Kochen, so färbt sich die Masse langsam rot-rotviolett; es setzt sich ein roter Niederschlag zu Boden und darüber steht eine schön purpurrote Lösung. Diese hat in neutralem Medium ein gewisses Aufziehvermögen gegenüber Wolle; auf Zusatz von wenig Eisessig verändert sich aber die Farbe der Lösung sofort in gelborange, das Alizarat wird also schon in schwach saurer Lösung gespalten, und ein Färben in saurem Medium ist nicht durchführbar.

Ein Produkt von vermutlich etwas anderer Zusammensetzung, im Prinzip aber auch ein Calciumaluminat, erhält man, wenn man obigen Versuch in der Kälte durchführt. Nach etwa 2 Stunden, wobei öfters durchgeschüttelt wird, verschwindet das Metallpulver unter kräftiger Wasserstoffentwicklung vollkommen und macht einem grauen Niederschlag von Calciumaluminat Platz, das sich mit Alizarin in alkoholischer Lösung rotviolett färbt.

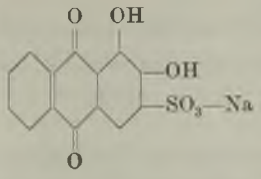
Wir sehen also, dass alle diese bisher dargestellten Aluminium- bzw. Aluminium-Calciumalizarate für Baumwolle überhaupt kein, für Wolle zwar ein merkliches, aber doch für praktische Zwecke ungenügendes Aufziehvermögen besitzen, und dass die Echtheit der Färbung ausserdem unbefriedigend ist.

---

[1]) Helv. **21**, 302, 844 (1938) und **23**, 466 (1940).

[2]) Mitteilung des techn. Gewerbemuseums Wien **1885**, 2.

Anders werden die Verhältnisse endlich, wenn statt des Alizarins (Dioxy-anthrachinon) die Alizarinmonosulfosäure, das Alizarinrot SW des Handels von der Formel



verwendet wird.

Man erhält beim Erhitzen der oben genannten beiden Aluminate mit Alizarinmonosulfosäure in wässriger Lösung eine rotviolette Lösung, in der sich Wolle sehr intensiv rotviolett färbt, also in einem Farbton, den man normalerweise mit diesem Farbstoff mit Aluminiumbeize allein nicht erhält, der aber durch die Anwesenheit von Calcium im Lack bedingt ist. Man kann diese Färbung in der Weise zu dem auf Wolle gebräuchlichen Scharlachton machen, dass man dem Färbebad eine Spur Zinn(II)-chlorid zusetzt, ein Verfahren, das wir von den alten Avivierbädern der Baumwollfärberei in Alizarinrot her kennen. Für Baumwolle gibt dieses Färbeverfahren keinerlei Resultate, es fehlt die Substantivität vollkommen.

Theoretisch sollte nun allerdings die Erzeugung eines Rot auf Wolle auch mit Natriumaluminat möglich sein. In der Tat erhält man auf Zusatz von Alizarinrot SW zu einer Natriumaluminatlösung eine tief rote Aluminiumalizaratlösung. Wolle färbt sich darin in der Hitze tief dunkelrot, wird aber durch die alkalische Reaktion des Färbebades in ihren Eigenschaften ungünstig beeinflusst. Eine Abstumpfung der Färbebäder mit Essigsäure hebt das Aufziehvermögen fast völlig auf.

Mit der Anwendung des Calciumaluminates, hergestellt nach dem oben geschilderten Verfahren, ist zum erstenmal die Möglichkeit geschaffen, auf Wolle einbadig Alizarinrot zu färben. Der durch die Anwesenheit von Calcium nach blauviolett verschobene Farbton kann durch Zusatz von geringen Mengen Zinn(II)-chlorid zum Färbebad nach Scharlachtönen hin verändert werden. Die Seifenechtheit dieser Färbungen ist durchaus befriedigend.

Die Löslichkeit dieses Alizarates im Gegensatz zu der Unlöslichkeit der weiter oben beschriebenen Alizarate beruht zweifellos auf der Anwesenheit und Wirkung der Sulfogruppe in der Alizaratmolekel.

Riehen bei Basel.

40. Über die Alkalinität starker Lösungen der Alkalihydroxyde

von G. Schwarzenbach und R. Sulzberger.

(1. II. 44.)

Im p_H-Wert besitzen wir für verdünnte wässerige Lösungen ein geeignetes Mass für die Alkalinität bzw. Acidität. Es soll zunächst untersucht werden, weshalb dort der p_H-Wert diese Eigenschaft erfüllt, um dann ein geeignetes Mass der Alkalinität-Acidität für beliebige Lösungen und Flüssigkeiten zu suchen. Es kann kein Zweifel darüber bestehen, dass auch für konzentrierte und nichtwässerige Lösungen die Eigenschaft „sauer-alkalisch" von grosser Bedeutung ist, weil eine Reihe wichtiger Erscheinungen von ihr abhängt, wie etwa die Löslichkeit, die Farbe (Indikatoren), die Stärke gelöster Oxydations- und Reduktionsmittel, die Geschwindigkeit vieler Reaktionen (Säure-Base-Katalyse) und die Potentiale an Grenzflächen.

Die Alkalinität-Acidität ist eine Lösungsmitteleigenschaft, die uns über die Tendenz der Flüssigkeit unterrichtet, von einem mit ihr in Berührung gebrachten Stoff Protonen wegzuholen oder solche ihm aufzudrücken. Die Intensität dieser Tendenz wird deshalb in Beziehung gebracht werden müssen mit dem Konzentrationsverhältnis [HS]/[S], wobei HS und S zwei in Lösung befindliche Partikel bedeuten, die sich um ein Proton voneinander unterscheiden, also ein Säure-Base-Paar im Sinne von *Brönsted* (Beispiele: $HCl - Cl'$, $NH_4^{\cdot} - NH_3$, $H_2PO_4' - HPO_4''$). Zunehmende Acidität vergrössert und zunehmende Alkalinität verkleinert das betreffende Neutralisationsverhältnis. Aus diesem Grunde sind die Acidität und die Alkalinität stets miteinander verknüpft.

In der Tat steht der p_H-Wert mit dem Neutralisationsverhältnis in einfacher Beziehung, indem in wässerigen Lösungen sehr grosser Verdünnung die folgende Gleichung gilt:

$$(p_H)_1 - (p_H)_2 = (\lg [S]/[HS])_1 - (\lg [S]/[HS])_2 \qquad (1)$$

Dieser Beziehung verdankt der p_H-Wert seine grosse Bedeutung. Dass zugleich der p_H-Wert in sehr verdünnten Lösungen mit dem negativen Log. der Oxoniumionenkonzentration übereinstimmt, ist mehr von historischem als von praktischem Interesse und übrigens eine einfache Anwendung der Gleichung (1) auf das Paar $H_3O^{\cdot} - H_2O$, denn wenn die Konzentration $[H_2O]$ konstant ist, bekommen wir:

$$(p_H)_1 - (p_H)_2 = (\lg [H_3O^{\cdot}])_2 - (\lg [H_3O^{\cdot}])_1 \qquad (2)$$

Die Gleichung (2) dient zudem zur Festlegung des willkürlichen Nullpunktes der p_H-Skala[1]). Wenn wir sagen willkürlich, so denken wir vom p_H-Wert als vom Mass der Aciditäts-Alkalinität, denn wir können prinzipiell nur Differenzen dieser Eigenschaft messen.

Die Erweiterung des p_H-Begriffes.

Für das Mass der Eigenschaft „sauer-alkalisch" in beliebigen Flüssigkeiten muss ein Name gefunden werden. *Hammett*[2]) nennt dieses Mass bei den konzentrierten Lösungen starker Säuren „Acidityfunction". Aber die Worte Aciditäts- und Alkalinitätsfunktion sind deshalb ungeeignete Ausdrücke, weil man die Acidität und Alkalinität prinzipiell nicht voneinander trennen kann. Wir ziehen es deshalb vor, auch für andere als verdünnt wässerige Lösungen vom p_H-Wert zu reden. Das ist gerechtfertigt, weil das p_H gefühlsmässig bereits zum Mass der Acidität-Alkalinität geworden ist. Weiter ist der p_H-Wert, abgesehen von sehr verdünnten Lösungen, eine konventionelle Messgrösse, ohne exakt angebbare thermodynamische Bedeutung. Nur im Gültigkeitsbereich des Grenzgesetzes von *Debye-Hückel*, bis maximal zu einer Konzentration von etwa 0,01-n., darf man den p_H-Wert als identisch mit dem negativen Log. der Wasserstoffionenaktivität betrachten. In allen konzentrierteren Lösungen verliert er diese Bedeutung und wird zur rein konventionellen Messgrösse[3]).

Wir erweitern nun die Bedeutung des Begriffes p_H noch mehr, indem er das Mass der Eigenschaft „sauer-alkalisch" für beliebig zusammengesetzte Flüssigkeiten werden soll. Diese Erweiterung darf als folgerichtig bezeichnet werden im Hinblick auf die bisherige Entwicklung des Begriffes. Es muss aber betont werden, dass dann der p_H-Wert für konzentrierte oder sogar nichtwässerige Lösungen auch nicht mehr angenähert mit der Wasserstoffionenaktivität (H_3O^+) übereinstimmt. Man könnte daran denken, ihn nun in Beziehung zu setzen mit der Protonenaktivität[4]). Aber das wäre ein Spiel mit Worten, denn die Protonenaktivität ist eine rein gedankliche Grösse, die einer Messung nie zugänglich sein wird.

Zur Definition des p_H-Wertes als Mass der Acidität-Alkalinität für beliebig zusammengesetzte Flüssigkeiten, erheben wir die Gleichung (1) zur Definitionsgleichung:

$$(p_H)_1 - (p_H)_2 \equiv (\lg [S]/[HS])_1 - (\lg [S]/[HS])_2 \qquad (1a)$$

[1]) Konventionsgemäss beträgt der p_H-Wert einer Lösung, welche 0,01 Mole HCl und 0,09 Grammäquivalente $\{KCl\}$ im Liter enthält: $p_H = 2{,}038$. Das ist der sog. *Sörensen*-Standard, auf welchen die p_H-Messungen gewöhnlich basiert werden.

[2]) *P. L. Hammett* und *A. J. Deyrup*, Am. Soc. **54**, 2721 (1932); **56**, 830 (1934); Chem. Rev. **16**, 67 (1935).

[3]) *G. Kortüm*, Z. El. Ch. **48**, 145 (1942); *F. Müller* und *H. Reuther*, Z. El. Ch. **48**, 288 (1942). [4]) *J. N. Brönsted*, Chem. Rev. **5**, 231 (1928).

Die p_H-Differenz zweier Flüssigkeiten 1 und 2 ist darnach stets, ganz unabhängig davon wie die Flüssigkeiten zusammengesetzt sind, dadurch messbar, dass man mit Hilfe irgendeines Säure-Base-Paares (etwa eines Indikators) in den beiden Flüssigkeiten das Neutralisationsverhältnis bestimmt. Man beachte, dass diese Bestimmung, etwa durch optische Messungen, prinzipiell immer möglich ist, da die Konzentrationen und nicht die Aktivitäten der Partikeln in die Definitionsgleichung eingehen.

Individuelle p_H-Werte.

Der nach 1a definierte p_H-Unterschied hat den Vorteil, eine zugängliche Messgrösse zu sein (im Gegensatz etwa zur Grösse der Oxoniumionenaktivität oder Protonenaktivität), er hat aber den Nachteil, dass er eine Grösse ist, welche einzig und allein für den Indikator von Bedeutung ist, mit welchem die Messung vorgenommen wird. Führen wir die Bestimmung mit verschiedenen Indikatoren aus, so wird nämlich ihre Aussage bezüglich des p_H-Unterschiedes eine verschiedene sein. Es rührt dies davon her, dass die Neutralisationsverhältnisse nicht nur vom Unterschied der Lösungen 1 und 2 in der Acidität oder Alkalinität abhängen, sondern noch vom Unterschied anderer ihrer Eigenschaften, nämlich solchen, welche die Aktivitätskoeffizienten der beiden Partikel S und HS beeinflussen. Es ist prinzipiell unmöglich, diese verschiedenen Einflüsse voneinander abzutrennen. Sie treten uns stets als Gesamteinfluss der betreffenden Flüssigkeit auf das Neutralisationsverhältnis entgegen. Es erscheint uns auch nicht sinnvoll, eine derartige Abtrennung zu versuchen, da stets der Gesamteinfluss der Flüssigkeit auf das Neutralisationsverhältnis praktisch wichtig ist.

Demnach muss der nach 1a bestimmte p_H-Wert mit der Substanz bezeichnet werden, für welche er gilt. Wir schreiben deshalb p_{Hs}, wobei mit dem Index s die basische Partikel des Paares HS—S gemeint ist. Durch diesen Index wird der nach 1a definierte Wert auch kenntlich gemacht vor dem konventionellen und andersartig definierten p_H-Werten.

Natürlich ist es ein schwerwiegender Nachteil, dass der p_{Hs}-Wert nur für das bestimmte Paar HS—S gültig ist. Im Grunde genommen steht es aber um den konventionellen p_H-Wert nicht besser. Dieser macht uns nämlich zunächst nur eine einzige Angabe über das Potential der Wasserstoffelektrode unter ganz bestimmten Messbedingungen, also sozusagen über den Neutralisationszustand der festen Lösung (Wasserstoff in Platin). Nur wenn die betreffende Lösung so verdünnt ist, dass mit der Gültigkeit des *Debye-Hückel*'schen Grenzgesetzes gerechnet werden kann, erlaubt uns der angegebene p_H-Wert auch die Berechnung der Neutralisationsverhältnisse anderer Säure-Base-Paare. Trifft diese Bedingung jedoch nicht zu, so können wir aus dem konventionellen p_H-Wert solche Aussagen nicht ableiten. Dazu bedürfen wir für jedes Säure-Base-Paar der Kenntnis der individuellen Aktivitätskoeffizienten, die in der betreffenden Lösung herrschen. Diese sind aber, genau wie unser p_{Hs}-Wert, empirischer Natur.

Die Aussage, dass jedes Säure-Base-Paar einen ihm individuellen p_{Hs}-Unterschied zwischen zwei Flüssigkeiten 1 und 2 anzeige, kann allerdings praktisch bedeutend gemildert werden. Es wird nämlich irgend ein gemessener Wert nicht nur vom Paar HS–S, sondern von allen Stoffen gezeigt werden, welche ähnliche physikalische und chemische Eigenschaften besitzen wie die Substanz, mit welcher die Messung ausgeführt wurde. Der gemessene Wert gilt somit für eine ganze Gruppe ähnlicher Substanzen.

Unter diesen Gruppen sich gleichartig verhaltender Substanzen sind vor allem jene zu nennen, deren Glieder den Ladungstyp gemeinsam haben. So haben wir etwa die Gruppe mit dem Ladungstyp: $HS^{\cdot}-S$ (Beispiel: $NH_4^{\cdot}-NH_3$), mit ungeladener Base und Kationsäure. Weitere Ladungstypen sind: $HS-S'$ (Beispiel: $HF-F'$), $HS'-S''$ (Beispiel: $H_2PO_4'-HPO_4''$) usw. Allgemein wollen wir die Ladung der Base mit n bezeichnen, so dass wir das Paar: $HS^{n+1}-S^n$ bekommen. Paare mit gleichem Ladungstyp n werden sich somit gleichartig verhalten. Wir dürfen aber nicht erwarten, dass ihr Verhalten den beiden Flüssigkeiten 1 und 2 gegenüber absolut identisch ist. Wohl aber werden alle Carbonsäuren, alle Phenole, alle aliphatischen Amine, die aromatischen Amine, die Amidine usw. derartige Gruppen sein, deren Glieder sich gleichartig verhalten.

In erster Näherung wird es aber auf den Ladungstyp n ankommen. Wir können also p_H-Werte angeben, die ungefähr für alle Substanzen desselben Ladungstyps gelten, besonders, wenn sich die zu vergleichenden Flüssigkeiten 1 und 2 chemisch nicht allzusehr voneinander unterscheiden (wie z. B. Alkohol und Wasser), so dass in erster Linie ihr Unterschied in der Dielektrizitätskonstanten und der ionalen Stärke massgebend ist. In solchen Fällen kann man den p_H-Wert mit dem Ladungstyp n bezeichnen, also p_{Hn}, z. B. p_{Ho} oder p_{H^-}.

Der Einfluss des Ladungstyps n auf den nach (1a) gemessenen p_H-Unterschied ist leicht einzusehen, wenn man bedenkt, dass dieser auch durch die Aktivitätskoeffizienten[1]) bedingt wird. Massgebend ist dabei der Quotient der Aktivitätskoeffizienten von HS und S. Da sich diese beiden Partikel nur um ein Proton voneinander unterscheiden, sie also sonst genau dieselben Atome und Atomgruppen in derselben Anordnung enthalten, wird der Quotient der Aktivitätskoeffizienten vornehmlich durch den Ladungsunterschied von HS und S bedingt sein. Diese Schlussfolgerung ist in der Tat auch immer wieder praktisch bestätigt worden, insbesondere durch Vergleich der Aciditätskonstanten in Wasser mit

[1]) Der Aktivitätskoeffizient einer Partikel in den beiden Flüssigkeiten 1 und 2, f_1 und f_2, verbindet ihre Konzentration c_1 bzw. c_2 mit der Aktivität a_1 bzw. a_2: $a_1 = f_1 \cdot c_1$ bzw. $a_2 = f_2 \cdot c_2$. Dabei ist die Änderung der Aktivität mit Hilfe der Überführungsarbeit der Partikel von 1 nach 2 wie folgt zu definieren: Überführungsarbeit $= RT \cdot \ln(a_1/a_2)$. Man beachte, dass diese Definition für beliebig zusammengesetzte Flüssigkeiten gelten soll, und somit die hier verwendeten Aktivitätskoeffizienten eine etwas andere als die übliche Bedeutung besitzen, indem sie ganz allgemein auch über Mediumeffekte Aufschluss geben.

denen in Alkohol[1]). Andererseits ist aber auch wieder leicht einzusehen, dass es wohl nicht nur allein auf den Ladungsunterschied ankommt, denn der Verlust eines Protons kann sich, besonders bei mesomeren Systemen, auch an weit entfernter Stelle der Molekel auswirken. Auch diese Aussage wird durch die Aciditätsmessungen in Alkohol bestätigt. So verhalten sich die verschiedenen Aminbasen nur in erster Annäherung, aber keineswegs absolut gleichartig.

Die Messmethode nach *Hammett*.

Da die p_{Hs}-Werte nach Gleichung 1a für genügend verdünnte wässerige Lösungen mit den üblichen p_H-Werten übereinstimmen, haben wir zur Bestimmung des p_{Hs}-Wertes einer beliebigen Flüssigkeit in ihr das Neutralisationsverhältnis des Paares HS – S zu ermitteln und es zu vergleichen mit demjenigen in einer genügend verdünnten wässerigen Lösung bekannten p_H-Wertes. Dieses Verfahren stösst, wie betont, auf keine prinzipiellen, wohl aber oft auf experimentelle Schwierigkeiten, nämlich immer dann, wenn das Neutralisationsverhältnis zu gross oder zu klein ist. Der beste Weg zur Bestimmung des Konzentrationsverhältnisses [HS]/[S] ist der optische, der immer möglich ist, da sich ja die beiden Partikel HS und S stets im Absorptionsspektrum voneinander unterscheiden. Die Messfehler inbezug auf den Logarithmus des Verhältnisses sind dabei aber um so grösser, je mehr das Verhältnis von 1 abweicht, und sie werden untragbar, wenn es grösser als 10 oder kleiner als 0,1 wird. Deshalb können wir mit einem einzigen Indikator höchstens p_H-Differenzen von etwa 2 Einheiten feststellen.

Wenn die beiden Flüssigkeiten 1 und 2 mehr als 2 p_H-Einheiten voneinander abweichen, so kann man nach *Hammett*[2]) so vorgehen, dass man zwischen die beiden Flüssigkeiten eine Reihe von Übergangslösungen schaltet, welche meistens in Mischungen aller möglichen Verhältnisse von 1 und 2 gefunden werden können. Beim Durchlaufen dieser Reihe wird sich der p_{Hs}-Wert kontinuierlich zwischen dem bekannten $(p_{Hs})_1$ (in der wässerigen Lösung) und dem gesuchten $(p_{Hs})_2$ ändern. Zudem muss eine möglichst grosse Anzahl von Indikatoren zur Verfügung stehen, welche zwischen den beiden p_H-Werten von 1 und 2 die Farbe wechseln, und deren Umschlagsgebiete sich gegenseitig überlappen. Die Indikatoren müssen natürlich alle demselben Ladungstyp angehören (und, wenn möglich noch weitere gemeinsame Merkmale aufweisen), so dass der gemessene p_{Hs}-Wert von Flüssigkeit 2 für jene ganze Stoffgruppe gültig ist. Jeder einzelne Indikator kann dann die p_{Hs}-Änderung innerhalb seines Umschlagsgebietes von 2 Einheiten verfolgen und dort, wo

[1]) *L. Michaelis* und *M. Mizutani*, Z. physikal. Ch. **116**, 135, 350 (1925); **118**, 318, 327 (1925); *P. L. Hammett* und *Wooten*, Am. Soc. **57**, 2289 (1935); *N. Bjerrum* und *Larsson*, Z. physikal. Ch. **127**, 858 (1937).

[2]) *P. L. Hammett* und *A. J. Deyrup*, Am. Soc. **54**, 2721 (1932); **56**, 830 (1934); Chem. Rev. **16**, 67 (1935).

sein Neutralisationsverhältnis ungünstig wird, hat dann ein nächster Indikator einzugreifen. So ist es *Hammett* gelungen, die Acidität der Gemische von konz. Schwefelsäure und Wasser aller möglichen Zusammensetzungen zu ermitteln. Da diese Gemische in ihrer Dielektrizitätskonstanten nicht stark von Wasser abweichen, ist wohl die Annahme von *Hammett* gerechtfertigt, dass seine Messwerte für alle Paare desselben Ladungstyps gültig sind, also für alle, bei denen $n = 0$ ist, denn dieses ist der Ladungstyp der von *Hammett* angewendeten Indikatoren. Gemäss der Zeichengebung in vorliegender Abhandlung, hat *Hammett* somit die p_{H_0}-Werte der Schwefelsäure-Wasser-Mischungen mitgeteilt. (*Hammett* bezeichnet sie mit Ho.) Die höchste erreichte Acidität in 100-proz. Schwefelsäure wird von ihm mit p_{H_0} = ca. -10 angegeben.

In der vorliegenden Arbeit soll die Methode von *Hammett* auf die starken Lösungen von { NaOH } und { KOH } angewendet werden. Auch hier ist wohl die Voraussetzung erfüllt, dass hauptsächlich der Ladungstyp der verwendeten Indikatoren massgebend ist und somit die gefundenen Werte für alle Paare desselben n-Wertes gültig sind. Der Farbwechsel unserer Indikatoren führt von einer ungeladenen sauren Partikel HS zu einem negativen Ion S′, der Ladungstyp ist also $n = -1$, und unsere Messwerte wollen wir deshalb mit p_H bezeichnen.

Die Messmethode für die starken Alkalihydroxydlösungen.

Bei der Anwendung der *Hammett*'schen Methode auf das alkalische Ende der p_H-Skala sind wir neuartigen Schwierigkeiten begegnet, welche zu einer Abänderung der Messart zwangen. Starke Lösungen der Alkalihydroxyde zeigen nämlich ein enormes Aussalzvermögen, so dass es uns nicht gelang, Farbenindikatoren mit einer genügenden Löslichkeit zu finden. Wir sind nun so vorgegangen, dass wir die Farbstoffe in einem organischen, mit der Lauge nicht mischbaren Lösungsmittel lösten. Diese farbige Lösung wurde dann mit der Lauge der gewünschten Konzentration kräftig durchgeschüttelt und die dadurch bewirkte Farbänderung gemessen. Wir bestimmen somit die p_{H_n}-Änderung, welche durch die Alkalilösung in einem inerten, mit der Lauge nicht mischbaren Lösungsmittel hervorgerufen wird. Trotz dieser Messweise dürfen wir unsere Resultate als Bild der Alkalinität der konzentrierten starken Laugen bezeichnen. Unter Alkalinität verstehen wir ja die Intensität, mit welcher die betreffende Flüssigkeit einem mit ihr in Berührung gebrachten Stoff Protonen zu entreissen vermag. Dieser Stoff ist hier die Lösung des Farbstoffes im organischen Lösungsmittel. Unsere Methode ist zu vergleichen mit dem Mechanismus der Wirkungsweise einer Wasser-

stoffelektrode, bei welcher ebenfalls bestimmt wird, mit welcher Intensität die Lösung einer andern Phase (nämlich dem Metall) Protonen entzieht, was sich ja dann in der Potentialdifferenz kundtut. Im Gegensatz zu den Potentialen der Wasserstoffelektrode ist aber die thermodynamische Bedeutung unserer Messresultate exakt angebbar, da ja keine unbekannten Flüssigkeitspotentiale auftreten, welche potentiometrische Messungen in so starken Alkalilösungen völlig wertlos machen[1]).

Die hier angewendete Messmethode, das Neutralisationsverhältnis nicht in der Flüssigkeit zu messen, deren p_H bestimmt werden soll, sondern in einer zweiten, mit ihr im Gleichgewicht stehenden Phase, hat den grossen Vorteil, dass man mit weniger Indikatoren auskommt. Man kann das Konzentrationsgebiet der Lauge, innerhalb dessen der Farbstoff im angrenzenden inerten Lösungsmittel umschlägt, nämlich auch dadurch ändern, dass man die Zusammensetzung des inerten Lösungsmittels ändert. An Stelle einer grossen Anzahl verschiedener Indikatoren haben wir dann eine solche von „Indikatorsystemen", d. h. Indikatorlösungen. Die verschiedenen „Systeme" können auch denselben Indikator enthalten und ihr Unterschied in der Zusammensetzung des inerten Lösungsmittels beruhen.

Die „Indikatorsysteme".

Unter einem Indikatorsystem verstehen wir also in dieser Abhandlung die Lösung eines Farbstoffes in einem durch Lauge nicht angreifbaren und mit ihr nicht mischbaren Lösungsmittel. Zuerst seien die verwendeten Indikatoren, und nachher die verwendeten inerten Lösungsmittel besprochen.

a) Die Indikatoren.

Als Indikatoren dienten einige Glutacondialdehyd-Derivate und einige Indigofarbstoffe. Die ersteren kann man leicht durch Aufspaltung des Pyridins gewinnen. Wir verwendeten drei Glutacon-dianile, die leicht als rotgelbe Salze mit dem farbigen Kation der Konstitution II zu erhalten sind. Sowohl bei Säure-, als auch bei Alkalizugabe erhält man bei diesen Salzen einen Farbwechsel nach Gelb, wobei das doppelt geladene Kation I bzw. die ungeladene Partikel III entstehen. Bei Zugabe weiterer Laugemengen erhält man bei sehr hohen Alkalikonzentrationen einen weiteren Farbwechsel der gelben Form III nach rot oder blau. Sicherlich entsteht dabei durch Ablösung eines Protons die Form IV, oder dann durch Addition eines Hydroxylions die Form V. Es ist dieser Farbwechsel III $\rightleftarrows$ IV, bzw. III $\rightleftarrows$ V, welcher in dieser Arbeit zur Messung der p_H-Werte der Alkalihydroxydlösungen verwendet wird.

Bei der Verwendung dieser Dianile wurde jeweils das besonders beständige Salz (Bromid) mit dem Kation II im inerten Lösungsmittel gelöst. Bei der Berührung mit Alkali erhält man dann momentan das Gleichgewicht III $\rightleftarrows$ IV (bzw. V).

---

[1]) *R. Fricke*, Z. El. Ch. **30**, 537 (1924).

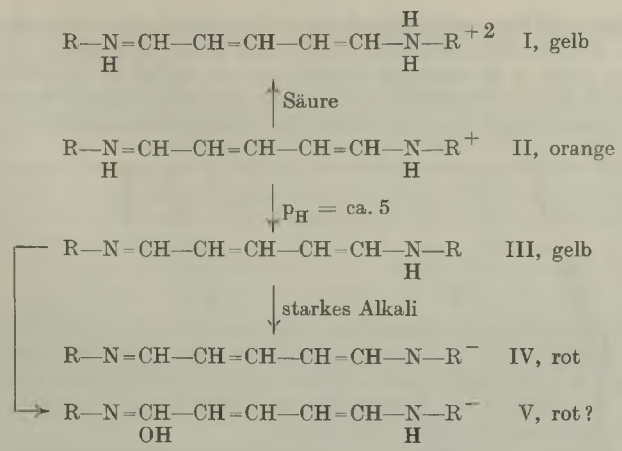


Tabelle 1.

Indikatoren.

Indikator 1. Glutacondialdehyd-di-2,4-dichloranil (R = Cl, Cl); der Umschlag II ⇄ III, von gelborange nach grüngelb, erfolgt bei p_H = 5,3; mit starkem Alkali erfolgt Farbwechsel nach rot.

Indikator 2. Glutacondialdehyd-di-p-nitroanil (R = O_2N–C$_6$H$_4$–); der Umschlag II ⇄ III, von rot nach gelb, erfolgt schon bei p_H = ca. 1; mit starkem Alkali erfolgt Farbwechsel nach blau.

Indikator 3. Glutacondialdehyd-di-m-nitroanil (R = O_2N–C$_6$H$_4$–); der Umschlag II ⇄ III von rotgelb nach grüngelb, erfolgt bei p_H = 6,70; mit starkem Alkali erfolgt Umschlag nach gelb-rot.

Indikator 4. Glutacondialdehyd-mono-2,4-dinitroanil (Konstitution s. Formel VI); mit starkem Alkali Umschlag von gelb nach violett.

Indikator 5. Indigo, mit starkem Alkali Farbwechsel: blau ⟶ gelb.

Indikator 6. Tetrabromindigo, mit starkem Alkali Farbwechsel: blau ⟶ gelb.

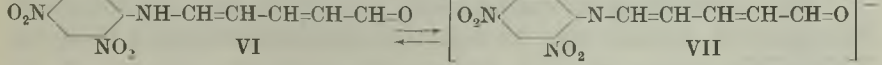
Indikator 7. Indigo-dianil (Konstitution Formel XI): blau ⟶ gelb.

Indikator 8. Tetrabromindigo-dianil, mit starkem Alkali Farbwechsel: blau ⟶ gelb.

Indikator 9. Phenanthrenchinon, mit starkem Alkali Farbwechsel: gelb ⟶ braun.

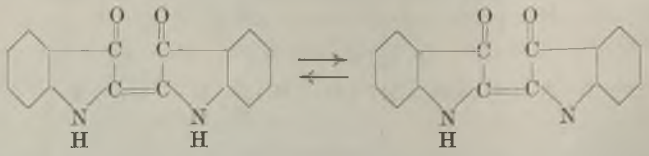
Die Hydrobromide der ersten drei Indikatoren wurden aus Pyridin, Bromcyan und dem substituierten Anilin analog der von *Baum*[1]) gegebenen Vorschrift für die Herstellung des unsubstituierten Dianils des Glutacondialdehydes gewonnen. Die Salze 2 und 3 sind in der Literatur bereits beschrieben worden[2]). Das Dichlordianil (Indikator 1) entstand leicht, wenn auch in schlechter Ausbeute, in Form wohl ausgebildeter Nadeln mit den von der Theorie geforderten Gehalten an N, Cl und Br.

Neben den Dianilen 1, 2 und 3 fand noch das Mono-dinitro-anil des Glutacondialdehydes Verwendung. Der Farbwechsel von gelb nach violett ist dabei folgendermassen zu formulieren:



[1]) *F. Baum*, B. **41**, 523 (1908). [2]) *W. König*, J. pr. [2] **70**, 28, 39 (1904).

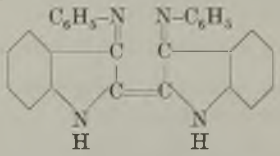
Die Indikatoren 5 bis 8 sind Indigoderivate. Der blaue Indigo selbst wird nicht nur beim Eintragen in konz. Schwefelsäure, sondern auch bei der Behandlung mit sehr starkem Alkali gelb. Auch er ist somit ein Beispiel des von uns so oft beobachteten periodischen Farbwechsels einer Substanz beim Durchlaufen der p_H-Skala[1]). Beim reversiblen Farbwechsel mit Alkali handelt es sich wohl um das Beweglichwerden des am N sitzenden Protons:



Genau den entsprechenden Farbwechsel zeigt auch der 5,5′, 7,7′-Tetrabromindigo. Der Umschlag liegt aber, wie zu erwarten, in weniger stark alkalischer Lösung. Die Indikatoren 7 und 8 sind die Indigo-dianile, welche an Stelle der O-Atome die N-Atome des Anilins tragen. Auch hier ist der Farbwechsel mit Alkali durch den Verlust genau desselben Protons zu erklären wie beim Indigo selbst.

Reinen Indigo und Tetrabromindigo, welche aus Nitrobenzol umkrystallisiert worden waren, stellte uns in verdankenswerter Weise die *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel zur Verfügung. Diese beiden Präparate wurden durch Sublimation in einem guten Vakuum weiter gereinigt. Zu diesem Zweck wurde ein elektrisch heizbarer Kupferblock in einen evakuierbaren Exsikkator eingebaut.

Die Indigo-anile wurden nach *E. Grandmougin* und *E. Dessoulavy*[2]) durch Erhitzen mit Anilin und Borsäure hergestellt und schliesslich aus Nitrobenzol umkrystallisiert.



Am Ende der Reihe der Indikatoren steht das Phenanthrenchinon. Diese Substanz enthält keine aciden Wasserstoffatome, besitzt aber trotzdem saure Natur, indem mit Alkali ein Farbwechsel zu beobachten ist, welchem ein entsprechender Knick in der Kurve des Redoxpotentials entspricht[3]). Zweifellos addiert das Phenanthrenchinon bei diesem Vorgang ein Hydroxylion. Aus diesem Grunde ist diese Substanz zu der Reihe der Indikatoren zugefügt worden.

b) Die inerten Lösungsmittel.

Das Lösungsmittel, in welchem der Indikator der Alkalihyroxydlösung ausgesetzt wurde, hatte den folgenden Anforderungen zu genügen: 1. Es darf von der Lauge nicht angegriffen werden. 2. Es darf in der Lauge nur wenig löslich sein und darf auch umgekehrt der Lauge nur wenig Wasser oder Alkali entziehen. 3. Es soll keinen grossen Dampfdruck haben, da sonst Schwierigkeiten bei der Messung auftreten. 4. Die Emulsion von Lauge und Lösungsmittel soll sich rasch und vollständig entmischen, ohne dass in der farbigen Lösung eine störende Trübung zurückbleibt. 5. Der Farbstoff soll im Lösungsmittel genügend löslich sein.

Diese Bedingungen wurden recht gut erfüllt von den folgenden Flüssigkeiten: Pyridin (nur für hohe Alkalikonzentrationen), Chinolin,

[1]) *G. Schwarzenbach*, Z. El. Ch. **47**, 44 (1941).
[2]) B. **42**, 3638 (1909). [3]) *L. Michaelis*, Privatmitteilung.

Dimethylanilin, Amylalkohol (nur für niedrige Alkalikonzentrationen), Nitrobenzol und Xylol.

Pyridin, welches mit Wasser mischbar ist, ist in starkem Alkali praktisch unlöslich. Für unsere Messungen beginnt es verwendbar zu werden bei einer Alkalikonzentration von mindestens 10 Grammäquivalenten im Liter. Amylalkohol, der in Wasser nur wenig löslich ist, beginnt bei steigender Alkalikonzentration dieses reichlich aufzunehmen. Beim Durchschütteln von Amylalkohol und Öllauge mit einer höhern Konzentration als 15-n., erstarrt das Gemenge zu festem Alkoholat. Amylalkohol wurde deshalb nur bei niedern Alkalikonzentrationen verwendet.

Die 6 Lösungsmittel sind meistens nicht in reiner Form, sondern gemischt zur Anwendung gelangt. Durch Verändern der Zusammensetzung kann man ja, wie erwähnt, den Indikatorumschlag in irgend ein gewünschtes Laugenkonzentrationsgebiet schieben. Durch Zusatz von Chinolin, Pyridin oder Amylalkohol erreicht man ganz allgemein eine Verschiebung des Umschlages gegen die verdünnteren Laugenkonzentrationen, während ein Zusatz von Dimethylanilin, Xylol und besonders Nitrobenzol die umgekehrte Wirkung hat.

Durch umfangreiche Vorversuche entstanden schliesslich die fertigen „Indikatorsysteme" der Tabellen 2 und 3, welche sich zur Ausmessung der Laugen verschiedener Konzentration als geeignet erwiesen. Die Zahl in der letzten Kolonne bedeutet die Konzentration von $\{NaOH\}$ bzw. $\{KOH\}$ (Grammäquivalente im Liter), welche in Berührung mit dem betreffenden Indikatorsystem den Umschlag zur Hälfte bewirkt, so dass der Indikator in der Mischfarbe $[HS]:[S] = 1:1$ vorliegt. Die Zusammensetzung der gemischten inerten Lösungsmittel ist in Volumverhältnissen angegeben. In der Kolonne „Filter" ist vermerkt, bei welchen Wellenlängen die optische Messung durchgeführt wurde.

Tabelle 2.

Indikatorsysteme für $\{NaOH\}$.

Nr. des Systems	Zusammensetzung	Filter	Umschlag
1.	Indikator 2 in Chinolin-Xylol 2 : 1	7200	ca. 1,0
2.	Indikator 4 in Amylalkohol-Dimethylanilin 1 : 1	5300	2,3
3.	Indikator 2 in Chinolin-Xylol 3 : 2	6600	3,5
4.	Indikator 6 in Nitrobenzol-Xylol 1 : 2	6100	4,4
5.	Indikator 4 in Chinolin-Dimethylanilin 2 : 5 . .	5700	6,1
6.	Indikator 5 in Chinolin-Xylol 2 : 1	6100	6,4
7.	Indikator 1 in Pyridin-Xylol 1 : 1	5300	8,8
8.	Indikator 1 in Amylalkohol	5300	8,9
9.	Indikator 9 in Pyridin	5000	ca. 10
10.	Indikator 3 in Amylalkohol	5000	10,8
11.	Indikator 5 in Chinolin-Dimethylanilin 1 : 4 . .	6100	11,2
12.	Indikator 2 in Pyridin-Xylol 1 : 2	6600	12,1
13.	Indikator 5 in Nitrobenzol	5700	13,0
14.	Indikator 2 in Pyridin-Xylol 2 : 5	6600	13,6
15.	Indikator 1 in Chinolin-Xylol 2 : 1	5300	13,8
16.	Indikator 8 in Nitrobenzol	6600	13,9
17.	Indikator 2 in Chinolin-Xylol 1 : 1	6600	14,8
18.	Indikator 1 in Pyridin-Xylol 2 : 3	5300	17,6
19.	Indikator 7 in Pyridin-Xylol 3 : 1	6100	18,2
20.	Indikator 2 in Pyridin-Xylol 2 : 7	6600	18,7
21.	Indikator 7 in Pyridin-Xylol 1 : 1	6100	19,8
22.	Indikator 7 in Pyridin-Xylol 2 : 3	6100	in übersättigter Lösung

Tabelle 3.

Indikatorsysteme für {KOH}.

Nr. des Systems	Zusammensetzung	Filter	Umschlag
23.	Indikator 4 in Amylalkohol-Dimethylanilin 1 : 1 .	5300	2,5
24.	Indikator 4 in Amylalkohol-Dimethylanilin 1 : 2 .	5300	4,7
25.	Indikator 5 in Chinolin-Dimethylanilin 2 : 1 . . .	6100	8,6
26.	Indikator 5 in Chinolin-Dimethylanilin 1 : 4 . . .	5700	9,0
27.	Indikator 5 in Nitrobenzol	5700	9,6
28.	Indikator 8 in Nitrobenzol	6600	10,4
29.	Indikator 7 in Pyridin-Xylol 3 : 1	6100	in übersättigter Lösung

Die Messoperationen.

Eine grosse Anzahl reiner Lösungen von { NaOH } im Konzentrationsbereich von 0,1- bis 19,5-n., und von { KOH } im Konzentrationsbereich von 0,1- bis 15,2-n. wurden in Mengen von etwa 100 cm³ bereitet und im Raumthermostaten aufbewahrt bei 20°. 19,5- und 15,2-normal sind die Sättigungskonzentrationen von { NaOH } bzw. { KOH } bei 20°. Die Lösungen wurden durch Verdünnen der völlig klaren, gesättigten Laugen mit Kohlendioxyd-freiem Wasser gewonnen. Ihre Konzentration wurde pyknometrisch ermittelt[1]).

Auch die Indikatorsysteme wurden in grösserer Menge hergestellt. Die Konzentration des Indikators betrug innerhalb derselben ca. 10^{-4} Grammole per Liter.

Zur Ausführung der Bestimmung wurden 2 cm³ Lauge und 2 cm³ Indikatorsystem in ein Zentrifugenröhrchen gegeben, der eingeschliffene Stopfen aufgesetzt, und während einer Minute kräftig durchgeschüttelt. Nun wurde in der Zentrifuge eine saubere Entmischung erreicht und die überstehende Phase mit dem teilweise umgeschlagenen Indikator in eine kleine Küvette gesaugt. Diese Lösung ist, nicht mehr in Berührung mit dem starken Alkali, äusserst feuchtigkeitsempfindlich, indem die kleinsten Spuren Wasser den Farbumschlag rückgängig machen. Dem Trocknen der Küvette und der Einfülloperation wurde deshalb spezielle Sorgfalt gewidmet, so dass keine Spur Feuchtigkeit durch die Farblösung aufgenommen werden konnte. Für das Einfüllen wurde eine spezielle kleine Apparatur verwendet, welche in der Diss. *R. Sulzberger*[2]) beschrieben ist.

Nun schloss sich als letzte Operation die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten der in der Küvette untergebrachten Lösung an. Sie wurde im Stufenphotometer Leifo vorgenommen. Dieser Extinktionskoeffizient ε wurde für jedes Indikatorsystem mit einer grossen Zahl von Laugenlösungen verschiedener Konzentration ermittelt, so dass die Abhängigkeit des ε von der Alkalikonzentration als Kurve aufgetragen werden konnte. Aus dieser Umschlagskurve ersieht man nun leicht den maximalen und den minimalen Wert des Extinktionskoeffizienten und das Konzentrationsverhältnis der beiden Farbstufen [HS]/[S].

Die Resultate.

In den Figuren 1, 2 und 3 sind die Messresultate zusammengefasst. Dabei ist jeweils der Logarithmus des Neutralisationsverhältnisses als Funktion der Alkalikonzentration aufgetragen worden. Die Nummern, welche die einzelnen Kurven tragen, bezeichnen zugleich

[1]) *G. Akerlöf*, Am. Soc. **61**, 1027 (1939); **63**, 1085 (1941).

[2]) Zürich 1942.

das verwendete Indikatorsystem in den Tabellen 2 und 3. Nach Gleichung 1a gibt jede dieser Kurven die Änderung des p_{Hs}-Wertes für ein bestimmtes Konzentrationsgebiet an.

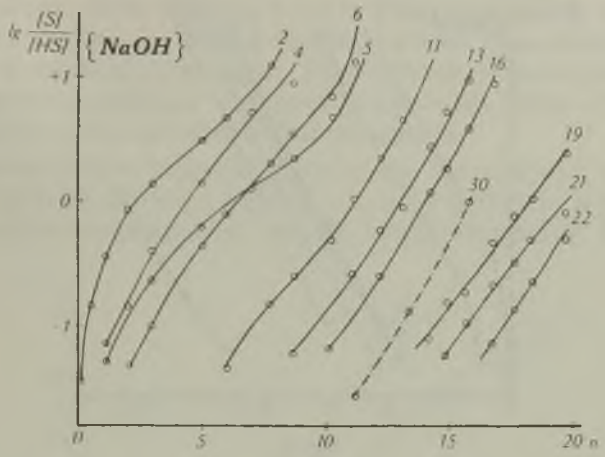


Fig. 1.

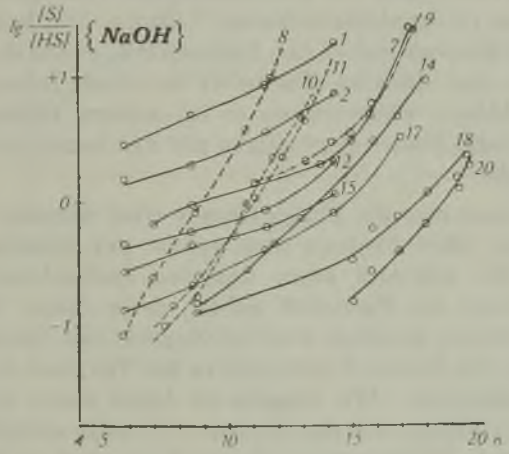


Fig. 2.

Die Aussage, welche die verschiedenen Indikatorsysteme in bezug auf die Zunahme der Alkalinität bei der Konzentrationssteigerung machen, ist nun aber nicht eindeutig. Das wäre dann der Fall, wenn die Kurven parallel übereinander liegen würden. Interessanterweise kommen aber nun nicht alle möglichen Neigungen vor, sondern es gibt deutlich zwei Gruppen. Die erste Gruppe der Indikatorsysteme liefert flache und die zweite Gruppe steile Kurven. Wir können uns diesen Sachverhalt nur dadurch erklären, dass wir annehmen,

dass es zwei verschiedenartige Umschlagsmechanismen gibt, nämlich: 1. Verlust eines Protons, und 2. Addition eines Hydroxylions.

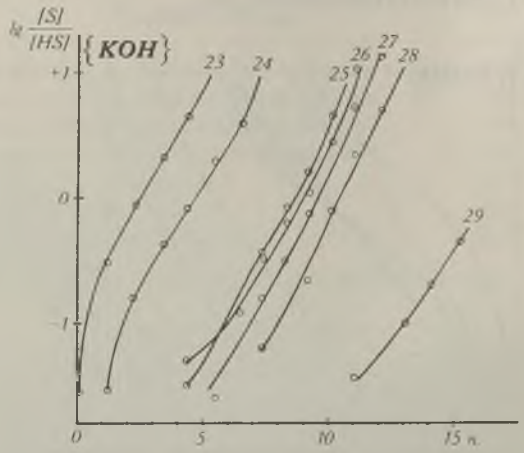


Fig. 3.

Flache Kurven liefern die Glutacondianile (Indikatoren 1, 2 und 3) ausgenommen in amylalkoholischer Lösung (Indikatorsysteme 2, 8 und 10). Steile Kurven liefert der Indikator 4, sowie die Indigofarbstoffe. Dass ein und derselbe Farbstoff im einen Lösungsmittel ein Hydroxylion addiert, währenddem er im andern Lösungsmittel ein Proton verliert beim Zusammenbringen mit der Lauge, ist weiter nicht so verwunderlich.

Zunächst muss nun die Frage beantwortet werden, welche Kurven dem Verlust eines Protons und welche der Addition eines OH' entsprechen. Die Antwort kann uns das Indikatorsystem 9 mit Phenanthrenchinon als Farbstoff geben, denn dieser Körper kann kein Proton verlieren, sondern wird bei Zugabe von Alkali ein Hydroxylion addieren. Die Kurve 9 wird nun in der Tat flach in den niedern Konzentrationsgebieten. Wir können sie leider nicht mehr viel weiter nach links verfolgen, weil das System 9 Pyridin enthält, aber es ist wohl sicher, dass das System 9 eine flache Kurve liefert. Somit würden die steilen Kurven den Systemen entsprechen, bei welchen der Farbstoff ein Proton verliert. Nur diese Kurven geben uns also über den Verlauf des p_H-Wertes Aufschluss, während die flachen Kurven eine Aussage über die Hydroxylionenaktivität gestatten sollten. Der Log. dieser Grösse und der p_H-Wert, welche in verdünnt wässeriger Lösung in einfacher Abhängigkeit voneinander stehen, werden natürlich in so konzentrierten Lösungen einander nicht mehr parallel gehen.

Wir müssen also annehmen, dass die Indikatoren 1, 2 und 3, die Glutacondianile, ausgenommen in amylalkoholischer Lösung, ein

Hydroxylion addieren statt ein Proton zu verlieren in Berührung mit dem Alkali. Diese Möglichkeit ist in der Formel V vorgemerkt. Über dasselbe Additionsprodukt wird wohl die Hydrolyse verlaufen.

Die Kurve 30 in der Fig. 1 ist in dieser Beziehung noch interessant. Hier wurden die Mole {NaOH}, welche von Amylalkohol aufgenommen werden, aufgetragen. Diese Grösse ist ja proportional dem Neutralisationsverhältnis des Amylalkohols als Säure. Diese Kurve fügt sich der Schar der steilen Kurven gut ein.

Aus den steilen Umschlagskurven der Fig. 1, 2 und 3 wurden die Kurven der beiden letzten Figuren 4 und 5 entwickelt. Für eine Reihe von Konzentrationspunkten auf der Abszisse wurden Parallele zur

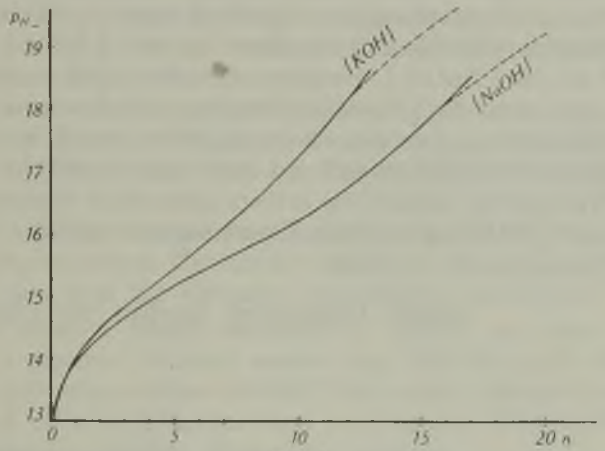


Fig. 4.

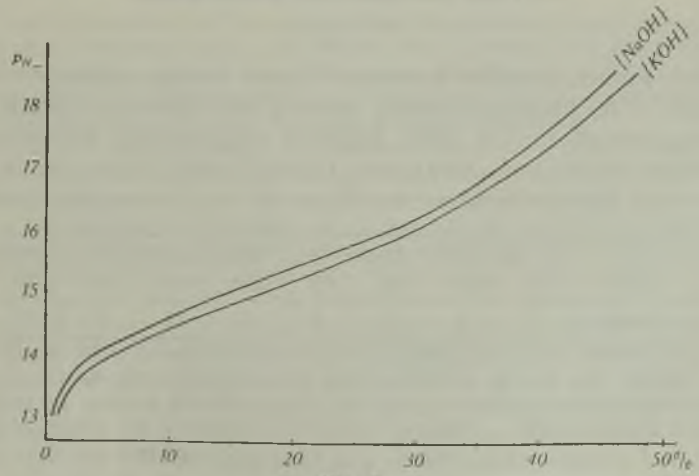


Fig. 5.

Ordinate gezogen und die Neigung der Indikatorkurven im Schnittpunkt bestimmt. Diese Neigung liefert uns Werte für das Differential $d(p_H)/dc$, für die Laugenkonzentration c. Da mehrere Kurven übereinanderliegen, erhält man für jede Konzentration einige solcher Werte für das Differential. Von diesen wurde nun ein Mittelwert genommen, indem den verschiedenen Messwerten aber verschiedene Gewichte beigelegt wurden, da die Messgenauigkeit ja stark von der Grösse des Neutralisationsverhältnisses abhängt[1]). Wenn man nun die p_H-Werte für n. NaOH und n. KOH je zu 14 annimmt[2]), so entstehen mit Hilfe dieser Differentiale die p_H-Kurven der Figuren 4 und 5. Diese Kurven geben uns den ersten Anhaltspunkt über die Stärke der Alkalinität der starken kaustischen Laugen. Die konzentrierteste bei 20° noch flüssige Natronlauge hat darnach einen p_H-Wert von etwa 19. Von Laugen derselben Normalität ist die $\{KOH\}$ wesentlich alkalischer als die $\{NaOH\}$. Drücken wir aber die Konzentration in Prozenten aus, so ist die $\{NaOH\}$ eher etwas alkalischer als die Kalilauge. Das ist auch zu erwarten, da der p_H-Wert durch das Verhältnis der Aktivitäten $(OH)/(H_2O)$ bestimmt wird. Von $\{NaOH\}$ und $\{KOH\}$ derselben Normalität enthält die erstere aber mehr Wasser, und von $\{NaOH\}$ und $\{KOH\}$ desselben Prozentsatzes enthält die letztere weniger Hydroxylionen im Liter.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

---

41. Über den Esterase-Gehalt verschiedener Pneumokokken-Typen

von **Peter Bernoulli** und **Hubert Bloch.**

(4. II. 44.)

Über Pneumokokken-Fermente liegen bereits zahlreiche Untersuchungen vor, hingegen wurde speziell der Esterase-Gehalt dieser Mikroorganismen nur in zwei Arbeiten eingehender berücksichtigt: Eine ältere Arbeit von *Avery* und *Cullen*[3]) zeigt, dass sich in Autolysaten von Pneumokokken des Typs II ein Tributyrin-spaltendes

[1])

$\lg \frac{[S]}{[HS]}$	−1 bis −0,8	−0,8 bis −0.6	−0,6 bis −0,4	−0,4 bis −0.2	−0,2 bis +0,2	+0,2 bis +0,4	+0,4 bis +0,6	+0,6 bis +0,8	+0,8 bis +1,0
Gewicht	1	2	3	4	5	4	3	2	1

[2]) Der mittlere Aktivitätskoeffizient von n. NaOH bzw. n. KOH beträgt bei 20° 0,676 (*G. Akerlöf*, Am. Soc. **62**, 620 (1940)) und da der negative Log. des Ionenproduktes von Wasser bei dieser Temperatur 14,17 ist (*Harned* und *Hamer*, Am. Soc. **55**, 2198 (1933)), so wird der konventionelle p_H-Wert $p_H = 14{,}17 + \lg \cdot 0{,}676 = 14{,}0$. Allerdings ist dieser Wert bei einer so hohen ionalen Stärke noch nicht ganz identisch mit dem $p_{H_}$-Wert.

[3]) *O. T. Avery* und *G. E. Cullen*, J. exptl. Med. (Am.) **32**, 571 (1920).

Ferment nachweisen lässt. In neuerer Zeit glaubte ferner *Schaller*[1]), den experimentellen Beweis dafür erbracht zu haben, dass Pneumokokken des Typs I erhebliche Mengen von Cholin-Esterase (ChE) enthalten. Bei diesen Arbeiten sowohl, als auch bei den Untersuchungen über andere Fermente begnügte man sich jedoch damit, einen einzigen Stamm als Vertreter der ganzen Gruppe, bzw. je einen einzelnen Stamm als Vertreter der verschiedenen Typen von Pneumokokken heranzuziehen und aus den Versuchsergebnissen Schlüsse abzuleiten, die für die ganze Gruppe dieser medizinisch wichtigen Krankheitserreger Gültigkeit haben sollten.

Im Anschluss an diese vorliegenden Ergebnisse haben wir eigene Untersuchungen angestellt, über die wir hier berichten. Wir haben unsern Versuchen folgende Fragen zugrunde gelegt:

1. Bleibt der Esterase-Gehalt ein und desselben Pneumokokken-Stammes über längere Zeit konstant?

2. Lassen sich Pneumokokken verschiedenen Typs auch hinsichtlich ihres Esterase-Gehalts unterscheiden; mit andern Worten: Kann der Esterase-Gehalt mit zur Typencharakterisierung herangezogen werden?

3. Zu welcher Gruppe von Lipasen gehören die von *Avery* und *Cullen* nachgewiesenen Fermente?

4. Lassen sich die Befunde von *Schaller* bestätigen?

Diesen letzten Punkt abzuklären, schien uns ganz besonders wichtig, da unseres Wissens ausser von *Schaller* noch nie ChE in Bakterien gefunden werden konnte, und einem solchen Befund auch im Hinblick auf das Bild, das man sich von der Wirksamkeit dieses Ferments macht, erhöhte Bedeutung zukäme.

Methodik.

1. Bakterienmaterial: Die untersuchten Pneumokokkenstämme wurden alle aus Sputumproben frisch isoliert und in der üblichen Weise serologisch typisiert. Die Weiterzüchtung der Stämme erfolgte durch Überimpfen auf Blutagarplatten in zweitägigen Intervallen. Alle 2 bis 3 Wochen wurde eine Mauspassage dazwischengeschaltet und die Reinheit des Stamms sowie seine Typenzugehörigkeit kontrolliert.

Zum Versuch wurden jeweils 5—7 dicht bewachsene, 15—16 Stunden alte Blutagarplatten mit wenigen cm^3 0,85-proz. Natriumchlorid-Lösung abgeschwemmt, die so gewonnene Bakteriensuspension bei 3000 U./min. in der Winkelzentrifuge 15 Minuten zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgegossen und der Bodensatz mehrmals durch wiederholtes Zentrifugieren gewaschen. Die so von anhaftenden Resten des Kulturmilieus befreiten Bakterien wurden in destilliertem Wasser mässig dicht suspendiert und diese Aufschwemmung in 2 Teile geteilt: Der eine Teil (5 cm^3) wurde bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und hernach das Trockengewicht bestimmt, um die ungleich dichten Suspensionen und damit die Versuchsergebnisse vergleichbar zu machen. Den andern Teil mischten wir mit dem gleichen Volumen einer frisch bereiteten 10-proz. Natriumcholatlösung. Dieses Gemisch wurde 3 Stunden bei 37° gehalten, wodurch die ursprünglich trübe Suspension klar wurde: Die Pneumokokken waren autolysiert. Diese Lösung bezeichnen wir als Pneumokokken-Autolysat.

[1]) *K. Schaller*, Z. physiol. Ch. **276**, 271 (1942); daselbst auch Literaturübersicht.

2. Bestimmung der Fermentaktivität: Die Aktivität sämtlicher Esterasen wurde im *Warburg*-Apparat bestimmt, die Lipasen nach der Methode von *Rona* und *Lasnitzki*[1]), die ChE nach *Ammon*[2]). Die Substratkonzentrationen waren durchwegs die gleichen, wie wir sie bereits früher mehrfach angewendet und ausführlich beschrieben haben[3]). Als Fermentpräparation diente jeweils Pneumokokken-Autolysat in der Endkonzentration von 1 : 4 im *Warburg*-Gefäss. Versuchstemperatur: 37°.

Ergebnisse.

1. Esterasen im engern Sinn und Lipase[4]): Um nichts über die noch unklare Natur dieser Fermente zu präjudizieren, werden wir sie im folgenden nach dem Substrat, das sie hydrolysieren, als Tributyrasen bezeichnen. Im ganzen haben wir 16 verschiedene Pneumokokken-Stämme, die 10 verschiedenen Typen angehören, auf ihren Tributyrasegehalt untersucht. Jeder einzelne Stamm wurde zwischen 10 und 32mal untersucht, um erstens die Fehlerbreite der Methodik kennen zu lernen und zweitens etwas aussagen zu können über die Konstanz des Fermentgehaltes des betreffenden Stammes durch viele Generationen hindurch, sowohl nach Zwischenschaltung zahlreicher Nährboden- als auch Tierpassagen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.

Tributyrinspaltung durch verschiedene Pneumokokkenstämme. (Die Zahlen bedeuten mm^3 CO_2 in 60 Minuten, berechnet auf 1 mg Pneumokokken-Trockensubstanz. Der Spaltungsverlauf ist während dieser Zeit linear.)

Typenzugehörigkeit des Stammes	Mittelwert M	Anzahl Beobachtungen n	Mittlere Abweichung der Einzelbestimmung σ	Mittlerer Fehler ε
I	20	14	13,4	3,6
I	206	14	8,9	2,4
II	126	23	16,4	3,4
II	171	10	19,6	6,2
III	142	26	36,4	7,1
III	28	24	14,4	2,9
III	106	26	36,0	7,0
III	133	20	18,7	4,2
III	151	21	21,9	4,8
IV	242	15	30,9	7,8
X	119	16	12,0	3,0
XI	172	14	23,1	6,1
XV	141	10	19,1	6,0
XVI	163	11	19,5	5,9
XXVI	323	13	28,4	7,9
XXX	225	32	61,5	10,8

Aus dieser Tabelle ist folgendes ersichtlich:

1. Die Genauigkeit der Methode ist befriedigend. In der Grosszahl der Fälle liegt der mittlere Fehler der Bestimmung unterhalb $\pm$ 5%.

[1]) *P. Rona* und *A. Lasnitzki*, Bioch. Z. **152**, 504 (1924).

[2]) *R. Ammon*, *Pflüger*'s Archiv **233**, 486 (1933).

[3]) *H. Bloch*, Helv. **25**, 793 (1942); *A. Hottinger* und *H. Bloch*, Helv. **26**, 142 (1943).

[4]) Betr. Nomenklatur s. *R. Ammon*, in *Nord-Weidenhagen*, Handb. d. Enzymologie I, 382. Leipzig 1940.

2. Die Tributyrasewerte der untersuchten Pneumokokken weisen von einem Stamm zum andern beträchtliche Unterschiede auf, die um mehr als das Zehnfache differieren können.

3. Der Tributyrasegehalt ist ein charakteristisches Merkmal eines Stammes, das über längere Zeit und durch viele Passagen hindurch absolut konstant bleibt.

4. Der Tributyrasegehalt steht in keinem erkennbaren Zusammenhang mit der Typenspezifität. Gerade die grössten Unterschiede fanden sich bei verschiedenen Vertretern desselben serologischen Typs. Diese Diskordanz zwischen Typenspezifität und Fermentgehalt ist insofern leicht zu verstehen, als die typenspezifischen Eigenschaften in der Polysaccharidfraktion der Bakterienkapsel verankert sind, während die hier untersuchten Fermente aus dem Zellinnern der Mikroorganismen stammen.

Wir werden in weitern Untersuchungen festzustellen suchen, ob diese Fermentaktivität auch unter gänzlich veränderten Kulturbedingungen konstant bleibt, oder ob sie unter bestimmten Verhältnissen dauernd modifiziert werden kann.

Die beschriebene Tributyrase ist ein Endo-Ferment der Pneumokokken. In Übereinstimmung mit *Avery* und *Cullen* konnten wir feststellen, dass eine Pneumokokken-Kultur während der Wachstumsphase keine Tributyrase an das Milieu abgibt. Das Ferment wird erst nachweisbar, wenn eine teilweise Zellauflösung stattgefunden hat, und zwar steigt der Fermentgehalt mit zunehmender Zytolyse.

Die Pneumokokken-Tributyrase ist nicht imstande, Olivenöl zu spalten. Zwei Substanzen, deren intensives Hemmvermögen gegenüber der Tributyrase aus Menschenserum wir früher nachgewiesen haben, Tri-o-kresyl-phosphat und Tri-o-chlor-phenyl-phosphat[1]), vermögen das entsprechende Ferment aus Pneumokokken nicht zu beeinflussen. Ebenso blieb Calciumchlorid ohne Wirkung auf die Aktivität des Enzyms. Der Einfluss von Atoxyl[2]), Chinin (Chininum hydrochloricum) und von Natriumfluorid geht aus Tabelle 2 hervor.

Tabelle 2.

Konzentration	Hemmung in % durch		
	Chinin	Atoxyl	NaF
0,5%	100	100	50—60
0,05%	100	70—80	10—20
0,005%	0	< 10	0

Da unsere Pneumokokkenaufschwemmungen mit Natriumcholat zur Autolyse gebracht wurden, enthielt das verwendete Fermentpräparat noch 5% dieses Gallensäuresalzes. Von einigen Autoren (Lit. bei *R. Ammon*[3])) wurde nun eine aktivierende Wirkung von Gallensäuren auf verschiedene Lipasen festgestellt. Wir mussten daher prüfen, ob auch die Pneumokokken-Tributyrase dieser aktivierenden Wirkung unterliegt. Dies ist aber nicht der Fall. Im Gegenteil fanden wir, dass zusätzliche Mengen von Cholat das Ferment leicht hemmen, und zwar bewirkte eine Erhöhung der Cholatkonzentration auf das doppelte eine Hemmung von ca. 20%, der Zusatz der dreifachen Menge Natriumcholat eine etwa 30-proz. Hemmung. Umgekehrt entsprach die Fermentaktivität bei Cholat-freien Präparationen genau dem Grad der Autolyse (gemessen an der Trübung), so dass schon nicht ganz autolysierte Aufschwemmungen beinahe den Aktivitätsgrad der mit Cholat autolysierten erreichten, und unsere in Tabelle 1 angeführten Werte somit absolut eher zu niedrig, keinesfalls aber zu hoch liegen.

---

[1]) *H. Bloch*, Helv. **26**, 733 (1943).

[2]) Herrn Prof. Dr. *S. Edlbacher* danken wir herzlich für die Überlassung von Atoxyl.

[3]) *R. Ammon*, in *Nord-Weidenhagen*, Handb. d. Enzymologie I, 382. Leipzig 1940.

2. Cholin-esterase: Im Gegensatz zur Tributyrase wird die ChE durch Gallensalze deutlich gehemmt[1]). Dementsprechend hat *Schaller* seine Pneumokokken-Aufschwemmungen auch unter Weglassung von Cholaten durch Frieren und Auftauen autolysiert. Wir haben versucht, seine Ergebnisse zu reproduzieren, indem wir uns ganz genau an die von *Schaller* angegebene Technik hielten. Aber weder mit dieser Methodik, noch durch Frieren bei wesentlich tieferen Temperaturen und über längere Zeit gelang es uns, klare, vollständig gelöste Suspensionen zu erhalten. Alle diese Präparationen enthielten auch nach tagelangem Stehen bei tiefen Temperaturen noch zahlreiche, mikroskopisch nachweisbare, ja sogar lebende, vermehrungsfähige Keime. Obschon wir mehrere Stämme von Pneumokokken auf ihren Gehalt an ChE untersuchten, konnten wir weder in gefrorenen, noch in mit Gallensalzen gelösten Bakterienaufschwemmungen eine Spur von ChE nachweisen. In keinem Fall wurde Acetyl-cholin auch nur geringfügig gespalten.

Zusammenfassung.

1. Pneumokokken enthalten eine Tributyrin spaltende Esterase. Der mengenmässige Gehalt an diesem Ferment ist von einem Bakterienstamm zum andern beträchtlichen Schwankungen unterworfen. Innerhalb desselben Stammes bleibt er aber unter gleichen Kulturbedingungen lange Zeit unverändert.

2. Bei diesem Fermentgehalt handelt es sich um eine konstante und charakteristische Stammeseigenschaft, die von der Typenzugehörigkeit des betr. Pneumokokkenstammes völlig unabhängig ist.

3. Pneumokokken enthalten keine Cholin-esterase.

Basel, Hygienisches Institut der Universität.

---

42. Partieller *Hofmann*'scher Abbau des Emetins sowie seine Dehydrierung zu Emetamin [2]).

von **A. Ahl** und **T. Reichstein.**

(5. II. 44.)

Emetin ist das Hauptalkaloid der Brechwurzel Radix Ipecacuanhae und besitzt in hohem Masse die wertvollen therapeutischen Eigenschaften[3]) dieser Droge, die besonders für die Bekämpfung der tropischen Amöbendysenterie geschätzt sind. Emetin[4]) wurde wahrscheinlich zuerst von *Glénard*[5]), dann von *Kunz-Krause*[6])[7])[8]) sowie

[1]) *R. Ammon*, Erg. Enzymforsch. **9**, 35 (1943).

[2]) Auszug aus der Diss. *A. Ahl*, Basel 1943.

[3]) *L. Rogers*, Brit. Med. J. **1912** (I) 1424; (II) 405.

[4]) Der Name Emetin stammt von *Pelletier*, doch war das Präparat von *Pelletier* und *Magendie* (Ann. chim. physique **4**, 172 (1817); J. pharm. chim. [2] **3**, 145; **4**, 322 (1817)) ein Gemisch.

[5]) *A. Glénard*, J. pharm. chim. [4] **22**, 175 (1875).

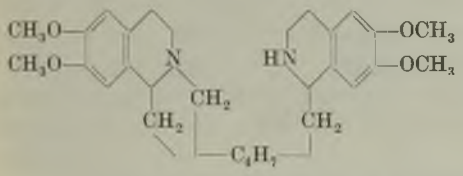
[6]) *H. Kunz*, Arch. Pharm. **225**, 461 (1887).

[7]) *H. Kunz-Krause*, Arch. Pharm. **232**, 466 (1894); Schweiz. Wschr. Chem. Pharm. **32**, 961 (1894).

[8]) *Kunz-Krause*, Arch. Gen. [3] **34**, 290 (1895).

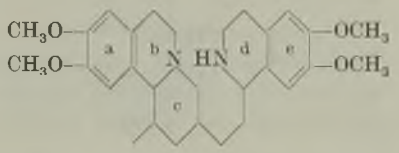
vor allem von *Paul* und *Cownley*[1])[2]) in reiner Form isoliert. Weitere in reiner Form erhaltene und mit Emetin chemisch nahe verwandte Nebenalkaloide sind das Cephaelin[1]), Psychotrin[2]), O-Methyl-psychotrin[3]) und das Emetamin[3]). Ausser dem letzgenannten konnten alle durch einfache chemische Eingriffe in Emetin übergeführt werden, wodurch sich ihre nahe Verwandtschaft mit diesem ergibt.

Die chemischen Untersuchungen des Emetins ($C_{29}H_{40}O_4N_2$), an denen sich ausser den oben genannten Autoren vor allem *Pyman* und Mitarbeiter[3])[4])[5])[6]), *Keller*[7])[8]), *Hesse*[9]), *Windaus*[10]), *Hermanns*[11]), *Karrer*[12])[13]), *Späth* und *Leithe*[14]), *Staub*[15]) und andere[16]) beteiligten, führten im Jahre 1927 zur Aufstellung der folgenden drei provisorischen Formeln (I), (II) und (III), die allerdings teilweise noch hypothetischen Charakter haben.



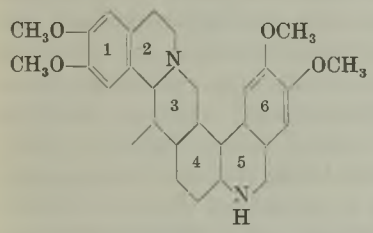
(I)

Emetin nach *Späth* und *Leithe*.



(II)

Emetin nach *Brindley* und *Pyman*.



(III)

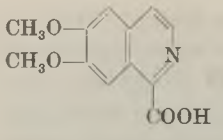
Emetin nach *Staub*.

(IV)

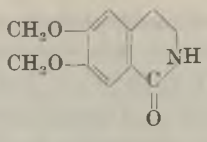
Cephaelin nach *Brindley* und *Pyman*.

---

[1]) *B. H. Paul, A. J. Cownley*, Pharm. J. [3] **25**, 111, 373 (1894).
[2]) *B. H. Paul, A. J. Cownley*, Pharm. J. [3] **25**, 690 (1895).
[3]) *F. L. Pyman*, Soc. **111**, 419 (1917).
[4]) *F. H. Carr, F. L. Pyman*, Soc. **105**, 1591 (1914).
[5]) *F. L. Pyman*, Soc. **113**, 222 (1918).
[6]) *W. H. Brindley, F. L. Pyman*, Soc. **1927**, 1067.
[7]) *O. Keller*, Arch. Pharm. **249**, 512 (1911); **251**, 701 (1913); **255**, 75 (1917).
[8]) *O. Keller, X. Bernhard*, Arch. Pharm. **263**, 401 (1925).
[9]) *O. Hesse*, A. **405**, 1 (1914).
[10]) *A. Windaus, L. Hermanns*, B. **47**, 1470 (1914).
[11]) *L. Hermanns*, Diss. Freiburg i. Br. 1915.
[12]) *P. Karrer*, B. **49**, 2057 (1916).
[13]) *P. Karrer*, B. **50**, 582 (1917).
[14]) *E. Späth, W. Leithe*, B. **60**, 688 (1927).
[15]) *H. Staub*, Diss., Zürich 1927.
[16]) Ältere Literatur vgl. *H. Staub*[15]).

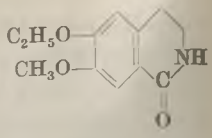


(V)

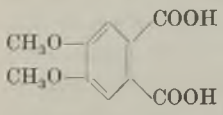


(VI)

Corydaldin

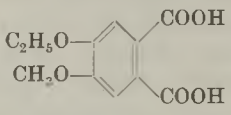


(VII)

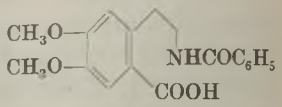


(VIII)

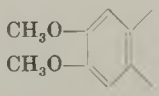
m-Hemipinsäure



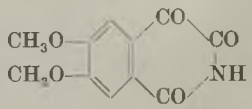
(IX)



(X)



(Xa)



(XI)

Sie stützen sich zur Hauptsache auf folgende Tatsachen:

Alle vier Sauerstoffatome liegen in Form von Methoxylgruppen vor[1]). Von den zwei Stickstoffatomen ist das eine sekundär und das andere tertiär gebunden, denn bei der Benzoylierung des Emetins erhält man ein Monobenzoyl-emetin, das noch eine einsäurige Base darstellt[2]). Bei der Einwirkung von Methyljodid wird ein Methyl-emetin-dijodmethylat gebildet. Dieses liefert beim *Hofmann*'schen Abbau eine amorphe Methinbase, die noch beide Stickstoffatome enthält. Erst wenn diese Methinbase einem nochmaligen *Hofmann*'schen Abbau unterworfen wird, tritt Abspaltung eines Stickstoffatoms, wahrscheinlich in Form von Trimethylamin, ein. Dies zeigt, dass ein Stickstoffatom des Emetins zwei Ringen gleichzeitig, das andere dagegen nur einem Ringsystem angehört[3]). Beim Abbau nach *Emde* wurden in den ersten beiden Stufen übereinstimmende Resultate erhalten. Bei der dritten Stufe wurde auch das zweite Stickstoffatom teilweise eliminiert. Das Endprodukt bestand aus 25 % Neutralstoff und 75 % Basen[4]).

Die Oxydation von Emetin mit Kaliumpermanganat lieferte m-Hemipinsäure (VIII)[5]), m-Hemipinsäure-imid[5]), 6,7-Dimethoxy-

---

[1]) *H. Kunz-Krause*, Arch. Pharm. **232**, 466 (1894); Schweiz. Wschr. Chem. Pharm. **32**, 961 (1894).

[2]) *F. H. Carr, F. L. Pyman*, Soc. **105**, 1591 (1914).

[3]) *P. Karrer*, B. **49**, 2057 (1916).

[4]) *E. Späth, W. Leithe*, B. **60**, 688 (1927).

[5]) *A. Windaus, L. Hermanns*, B. **47**, 1470 (1914).

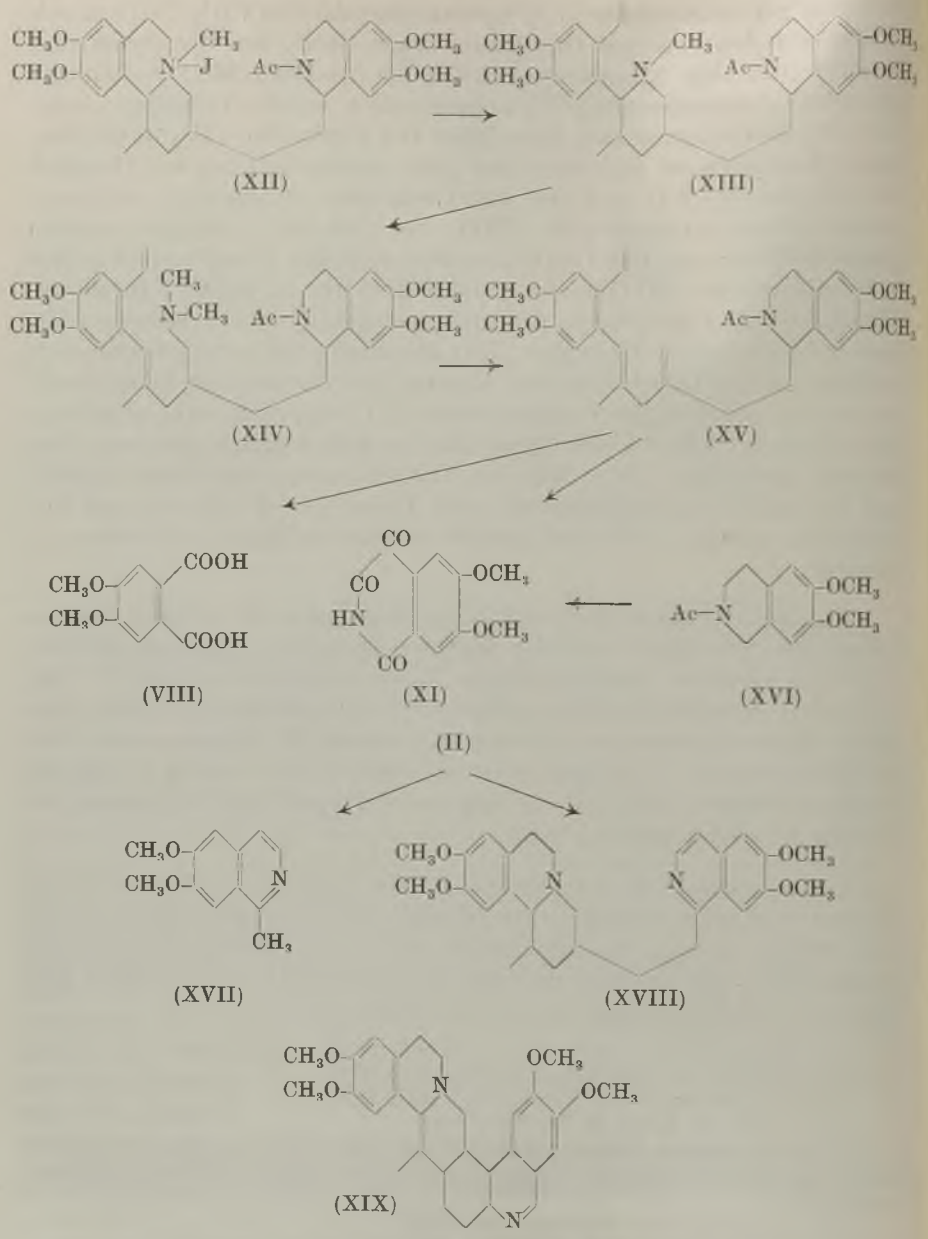
isochinolin-1-carbonsäure (V)[1][2]), sowie Corydaldin (VI)[3]). N-Benzoyl-emetin gab bei analoger Oxydation einen Stoff, der von *Späth* und *Leithe*[3]) nach den Analysenresultaten als 3,4-Dimethoxy-6-carboxy-phenyläthylaminobenzoat (X) angesprochen wurde. Dieselben Autoren[3]) oxydierten auch den Äthyläther des Cephaelins (IV) unter ähnlichen Bedingungen und erhielten dabei wahrscheinlich ein Gemisch von Corydaldin (VI) und dem entsprechenden 6-Äthoxy-7-methoxy-1-keto-tetrahydro-isochinolin (VII), das aber nicht getrennt werden konnte[4]). Durch weitere Oxydation liess sich aus dem Gemisch neben m-Hemipinsäure (VIII) noch das Anhydrid der 4-Äthoxy-5-methoxy-phtalsäure (IX) gewinnen, wodurch wenigstens sicher bewiesen ist, dass im Emetin der Komplex (Xa) zweimal vorkommt. *Hermanns*[5]) isolierte bei der Oxydation von Emetin mit Chromsäure einen Stoff, den er als 4,5-Dimethoxy-phtalonimid (XI) ansprach, ohne allerdings einen Beweis dafür zu erbringen, dass es sich wirklich um diese Verbindung gehandelt hat. Auf die Dehydrierung von Emetin[6][7][8][9]) und Cephaelin[1]) mit Halogenen oder Eisen(III)-chlorid soll hier nur verwiesen werden, weil die Resultate keine eindeutige Auswertung erlauben.

Zusammenfassend lässt sich sagen: Sichergestellt ist beim Emetin bisher das Vorliegen von vier Methoxylgruppen, eines sekundären und eines tertiären Stickstoffatoms, sowie mindestens eines 6,7-Dimethoxy-tetrahydro-isochinolinkernes[10]). Möglicherweise sind zwei solche Kerne vorhanden mit den in Formel (I) angedeuteten Verknüpfungsstellen. Über den Mittelteil der Molekel lassen sich keine Aussagen machen, weshalb die Formeln (II) und (III) in dieser Beziehung rein hypothetisch sind.

Um eindeutig zu entscheiden, ob das sekundäre Stickstoffatom einem Dimethoxy-tetrahydro-isochinolinkern angehört, wurde in der vorliegenden Arbeit ein partieller *Hofmann*'scher Abbau des Emetins durchgeführt, der unter Benützung der Formel (II) von *Brindley* und *Pyman* wie folgt dargestellt werden kann:

---

[1]) *F. H. Carr, F. L. Pyman*, Soc. **105**, 1591 (1914).
[2]) *W. H. Brindley, F. L. Pyman*, Soc. **1927**, 1067.
[3]) *E. Späth, W. Leithe*, B. **60**, 688 (1927).
[4]) Die einwandfreie Isolierung von (VI) und (VII) würde beweisen, dass Emetin zwei Tetrahydro-isochinolinringe enthält, denn Cephaelin liefert bei der Methylierung Emetin [1])[8]).
[5]) *L. Hermanns*, Diss. Freiburg i. Br. 1915.
[6]) *F. L. Pyman*, Soc. **111**, 419 (1917).
[7]) *F. L. Pyman*, Soc. **113**, 222 (1918).
[8]) *P. Karrer*, B. **49**, 2057 (1916).
[9]) *P. Karrer*, B. **50**, 582 (1917).
[10]) Dies wird auch durch die U.V.-Absorptionsspektren von Emetin und Cephaelin bestätigt; *J. J. Dobbie, J. J. Fox*, Soc. **105**, 1639 (1914).



Emetamin nach *Staub*.

Emetin (II) wurde acetyliert und das erstmals in krystallisierter Form erhaltene Acetat ($C_{31}H_{42}O_5N_2$) in sein ebenfalls gut krystallisierendes Monojodmethylat (XII) übergeführt. Auch das Chlormethy-

lat und die entsprechenden Tetrachlorogold- und Hexachloroplatin-Salze krystallisierten gut. Die aus (XII) mit Silberoxyd freigesetzte quartäre Base lieferte bei vorsichtiger thermischer Zersetzung und anschliessender Reacetylierung eine amorphe Methinbase, der möglicherweise Formel (XIII) zukommt[1]) und die weitgehend einheitlich war, da sie ein krystallisiertes Jodmethylat lieferte, aus dem sich auch ein krystallisiertes Chlormethylat und Tetrachlorogold-methylat bereiten liessen. Die Analysenwerte dieser Derivate stimmen auf die erwartete Formel ($C_{32}H_{44}O_5N_2$) der Methinbase (XIII). Die Wiederholung des Abbaus mit dem Jodmethylat von (XIII) lieferte eine Dimethyl-bis-des-base (XIV), die auch noch beide Stickstoffatome enthielt und die ebenfalls durch ein allerdings schlechter krystallisierendes Jodmethylat ($C_{34}H_{49}O_5N_2J$) und ein Tetrachlorogold-methylat charakterisiert wurde. Der Abbau des Jodmethylats von (XIV), der nur bei Einhaltung eng begrenzter experimenteller Bedingungen gelingt, lieferte unter Abspaltung von Trimethylamin einen amorphen Neutralstoff (XV), dessen Stickstoffgehalt auf die Formel $C_{31}H_{39}O_5N$ passt. In diesem Stoff ist somit das ursprünglich tertiäre N-Atom vollständig entfernt und das ursprünglich sekundäre in acetylierter Form unverändert erhalten. Der oxydative Abbau dieses Neutralstoffes sollte somit über die Bindung dieses Stickstoffatoms eine sichere Entscheidung ermöglichen.

Ein Oxydationsversuch mit Kaliumpermanganat in Aceton lieferte als einziges in reiner Form gefasstes Oxydationsprodukt m-Hemipinsäure (VIII), woraus sich keine nützliche Schlussfolgerung ziehen lässt. Ein interessanteres Resultat liefert die Oxydation mit Kaliumpermanganat in schwefelsaurer Lösung. Es liess sich dabei neben sauren Anteilen, die wiederum m-Hemipinsäure enthielten, ein in gelben Nädelchen krystallisierendes stickstoffhaltiges Produkt der Formel $C_{11}H_9O_5N$ erhalten. Dieses erwies sich als identisch mit dem von *Hermanns*[2]) beschriebenen Stoff, der bei der Oxydation von Emetin mit Chromsäure erhalten wird und den er als 4,5-Dimethoxyphtalonimid (XI) ansprach. Wir konnten die Richtigkeit dieser Formulierung sicherstellen, denn derselbe Stoff wird auch bei der Oxydation von 6,7-Dimethoxy-tetrahydro-isochinolin[3]) oder seinem Acetat (XVI) mit Chromsäure erhalten. Hieraus folgt eindeutig, dass das sekundäre Stickstoffatom des Emetins in einem 6,7-Dimethoxy-tetrahydro-isochinolinring gebunden vorliegt.

Weiter untersuchten wir die Dehydrierung von Emetin mit Palladium. Tetrahydro-isochinoline lassen sich mit Hilfe dieses Katalysa-

---

[1]) Vgl. die Arbeiten von *J. v. Braun* über die Ringfestigkeit cyclischer Basen, B. **42**, 2219 (1909); **49**, 2669 (1916); **51**, 96, 255 (1918).

[2]) *L. Hermanns*, Diss. Freiburg i. Br. 1915.

[3]) *I. S. Buck*, Am. Soc. **56**, 1769 (1934).

tors relativ leicht zu Isochinolinen dehydrieren[1][2][3]), soweit sie keine Substituenten enthalten, die die Aromatisierung verhindern. Die drei eingangs genannten Emetinformeln (I), (II) und (III) lassen theoretisch eine verschieden weitgehende Dehydrierung zu.

Beim Erhitzen von Emetin mit Palladium-Kohle auf 190—200° wurden knapp 2 Mol Wasserstoff abgespalten. Aus dem Reaktionsgemisch liessen sich neben reichlichen Mengen amorpher Anteile zwei krystallisierte Basen isolieren.

Die eine besass die Bruttoformel $C_{12}H_{13}O_2N$ und erwies sich nach Mischprobe als identisch mit 1-Methyl-6,7-dimethoxy-isochinolin (XVII) (Formeln siehe S. 370). Die andere Base, deren Analysenwerte auf die Bruttoformel $C_{29}H_{36}O_4N_2$ passten, die sich also von Emetin nur durch den Mindergehalt von 4 Atomen Wasserstoff unterscheidet und dieselbe Zusammensetzung wie das Nebenalkaloid Emetamin besitzt, erwies sich als ditertiäre Base und zeigte denselben Schmelzpunkt und dieselbe spez. Drehung, wie sie in der Literatur für Emetamin angegeben sind. Auch das krystallisierte Hydrochlorid wies den angegebenen Schmelzpunkt auf. Obwohl die Identifizierung durch Mischprobe mangels natürlichen Vergleichsmaterials nicht möglich war, kann aus der weitgehenden Übereinstimmung der erwähnten Daten auf Identität geschlossen werden.

Die Bildung von (XVII) bestätigte lediglich frühere Resultate, wonach im Emetin ein 6,7-Dimethoxy-isochinolinring mit einer Verknüpfungsstelle an C_1 vorliegt. Mehr Interesse hat die Bildung von Emetamin. Sie stellt zunächst die erste Teilsynthese dieses Alkaloids dar und beweist seine nahe Verwandtschaft mit Emetin. Da bei der Dehydrierung von Emetin zu Emetamin lediglich 2 Mol Wasserstoff abgespalten werden, ist dieser Reaktionsverlauf nur mit den Formeln (I) und (II) einfach erklärbar und steht auch im Einklang mit der Formulierung des Emetamins (XVIII) selbst nach *Brindley* und *Pyman*[4]). Ein Stoff der Formel (III) sollte zwar auch dehydrierbar sein, doch wäre zu erwarten, dass hier neben Ring 5 auch noch Ring 4 dehydriert wird, was einem Totalverlust von 5 Mol Wasserstoff entsprechen würde. *Staub*[5]) schlägt für Emetamin Formel (XIX) (S. 370) vor, doch ist es schwer verständlich, dass sich ein solcher Stoff bei der Dehydrierung von Emetin bilden soll. Der Verlauf der Dehydrierung spricht somit eindeutig gegen die Formel (III) für Emetin und ist mit den Formeln (I) und (II) vereinbar, ohne sie eindeutig zu beweisen. Die bei der Dehydrierung von Emetin (II) in reichlicher

---

[1]) *E. Schmidt*, Arch. Pharm. **237**, 563 (1899).
[2]) *E. Späth, N. Polgar*, M. **51**, 190 (1929).
[3]) *E. Späth, F. Berger, W. Kutara*, B. **63**, 134 (1930).
[4]) *W. H. Brindley, F. L. Pyman*, Soc. **1927**, 1067.
[5]) *H. Staub*, Diss., Zürich 1927.

Menge anfallenden amorphen Produkte können noch das zweite Spaltstück enthalten, das bei der Bildung von (XVII) entstehen sollte, dessen Isolierung allerdings bisher nicht gelungen ist.

Der eine von uns *(A. A.)* dankt der Firma *J. R. Geigy A.G.*, Basel, für ein Studienstipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit ermöglichte.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^0$.)

N-Acetyl-emetin.

5 g gereinigtes[1]) Emetin-hydrochlorid wurden in 15 cm³ Wasser gelöst, mit 20 cm³ 10-proz. Kalilauge versetzt und mit 100 cm³ Äther ausgeschüttelt. Nach Abtrennen der wässrigen Schicht wurden weitere 70 cm³ 10-proz. Kalilauge und 7 cm³ Essigsäure-anhydrid zugegeben und unter Wasserkühlung einige Minuten geschüttelt. Die Ätherlösung wurde hierauf noch 2mal mit verdünnter Kalilauge gewaschen, über K_2CO_3 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (4,03 g) lieferte nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Äther farblose Körner vom Smp. 97—99°. Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

5,258 mg Subst. gaben 13,72 mg CO_2 und 3,79 mg H_2O (Sch)
3,427 mg Subst. gaben 0,175 cm³ N_2 (23,5°; 759 mm)
$C_{31}H_{42}O_5N_2$ (522,66) Ber. C 71,23 H 8,10 N 5,36%
Gef. „ 71,23 „ 8,07 „ 5,85%

N-Acetyl-emetin-jodmethylat (XII).

2,5 g N-Acetyl-emetin, 7 cm³ absolutes Benzol und 1 g Methyljodid wurden in einem Rohr eingeschmolzen, wobei bereits die Ausscheidung von Krystallen begann. Es wurde noch 3 Stunden auf 60° erwärmt und das ausgeschiedene Salz (3,13 g) 2mal aus absolutem Alkohol umkrystallisiert. Farblose kleine Würfel oder bei langsamer Abscheidung Nadeldrusen vom Smp. 213—216°. Zur Analyse wurde 1½ Stunden bei 0,01 mm und 50° getrocknet.

3,190 mg Subst. gaben 0,098 cm³ N_2 (19°; 759 mm) (Sch)
9,190 mg Subst. gaben 3,175 mg AgJ
$C_{32}H_{45}O_5N_2J$ (664,62) Ber. N 4,21 J 19,10%
Gef. „ 3,59 „ 18,67%

N-Acetyl-emetin-chlormethylat.

80 mg N-Acetyl-emetin-jodmethylat (XII) wurden in 1 cm³ Wasser mit 90 mg frisch gefälltem AgCl 2 Stunden geschüttelt und filtriert. Das im Vakuum eingedampfte Filtrat gab aus Alkohol-Äther farblose Körner vom Smp. 192—195°.

N-Acetyl-emetin-tetrachlorogold-methylat.

Das obige Chlormethylat wurde in Wasser gelöst und mit 1 Tropfen verdünnter HCl, dann mit Tetrachlorogoldsäure versetzt, worauf hellgelbe Mikrokrystalle ausfielen, die mit stark verdünnter HCl gewaschen und 3 Stunden im Hochvakuum bei 20° getrocknet wurden. Smp. 127—129°. Von einem Umkrystallisieren wurde abgesehen.

3,632 mg Subst. gaben 5,796 mg CO_2, 1,77 mg H_2O und 0,805 mg Rückst.
5,294 mg Subst. gaben 0,156 cm³ N_2 (20°; 729 mm) (E.T.H.)
$C_{32}H_{45}O_5N_2Cl_4Au$ (876,74) Ber. C 43,84 H 5,17 N 3,20 Au 22,49%
Gef. „ 43,55 „ 5,45 „ 3,29 „ 22,16%

[1]) Käufliches Emetin-hydrochlorid wurde mit 20 Teilen Äther und 10-proz. Kalilauge geschüttelt, die ätherische Lösung noch mehrmals mit 10-proz. Kalilauge gewaschen, über K_2CO_3 getrocknet und mit ätherischer Salzsäure versetzt. Das ausfallende Hydrochlorid wurde aus Alkohol unter Zusatz von wenig Äther umkrystallisiert.

N-Acetyl-emetin-hexachloroplatin-methylat.

Das analog mit Hexachloroplatinsäure bereitete blassgelbe Salz schmolz bei 213–217° (Zers.).

Methinbase (XIII) (1. Phase des *Hofmann*'schen Abbaus).

2,2 g N-Acetyl-emetin-jodmethylat (XII) wurden bei 50° in 15 cm³ Alkohol und 7 cm³ Wasser gelöst, mit dem frisch aus 1,2 g Silbernitrat bereiteten und gut gewaschenen Silber(I)-oxyd versetzt und unter häufigem Umschwenken ½ Stunde auf 50—60° erwärmt. Nun wurde zentrifugiert und die klare Lösung, in der keine Jodionen nachweisbar waren, im Vakuum auf 5 cm³ eingeengt, mit 0,23 g festem Kaliumhydroxyd versetzt und im Vakuum bei 60° Badtemperatur völlig eingedampft. Der Rückstand wurde zunächst im Hochvakuum ca. 5 Minuten auf 40° erwärmt und dann zur Spaltung auf 125—135° (Badtemperatur) erhitzt und 1½ Stunden bei dieser Temperatur belassen. Die bei ca. 90° eintretende Blasenbildung war dann beendet. Der glasige, leicht rosagefärbte Rückstand wurde mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde zur Nachacetylierung mit 3 cm³ Essigsäure-anhydrid und etwas 10-proz. Kalilauge einige Minuten geschüttelt, dann mit frischer Kalilauge gewaschen, über K_2CO_3 getrocknet und eingedampft. Ausbeute 1,45 g einer leicht bräunlichen schaumigen Masse.

Jodmethylat der Methinbase (XIII).

1,12 g Methinbase (XIII), 5 cm³ absolutes Benzol und 0,8 g Methyljodid wurden in einem Rohr eingeschmolzen und 2½ Stunden auf 55—60° erwärmt. Das in fast quantitativer Ausbeute abgeschiedene Jodmethylat bildete nach zweimaligem Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol farblose, glänzende, quadratische Plättchen vom Smp. 239 bis 240°. Zur Analyse wurde 1½ Stunden bei 50° getrocknet.

3,370 mg Subst. gaben 0,118 cm³ N_2 (24,5°; 752 mm) (Sch)
7,242 mg Subst. gaben 2,450 mg AgJ (Sch)
$C_{33}H_{47}O_5N_2J$ (678,64) Ber. N 4,13 J 18,70%
Gef. „ 3,98 „ 18,29%

Chlormethylat der Methinbase (XIII).

Das aus dem Jodmethylat mit Silberchlorid wie oben bereitete Salz krystallisierte aus Alkohol-Äther in hygroskopischen Plättchen vom Smp. 217—225°.

Tetrachlorogold-methylat der Methinbase (XIII).

Aus dem Chlormethylat in Wasser und wenig Salzsäure mit Tetrachlorogoldsäure als hellgelber, mikrokrystalliner Niederschlag gefällt, mit HCl gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Es liess sich nicht unzersetzt umkrystallisieren und schmolz bei 137—141°.

4,770 mg Subst. gaben 7,680 mg CO_2, 2,30 mg H_2O und 1,054 mg Rückst. (Sch.)
5,001 mg Subst. gaben 0,129 cm³ N_2 (20°; 767 mm) (Sch)
$C_{33}H_{47}O_5N_2Cl_4Au$ (890,76) Ber. C 44,49 H 5,32 N 3,15 Au 22,14%
Gef. „ 43,94 „ 5,39 „ 3,03 „ 22,10%

Dimethyl-bis-des-base (XIV) (2. Phase des *Hofmann*'schen Abbaus).

3,63 g Jodmethylat der Methinbase (XIII) wurden genau gleich wie (XII) dem *Hofmann*'schen Abbau unterworfen. Um gute Ausbeuten zu erhalten, darf die quartäre Base nicht über 120° (Badtemperatur) erhitzt werden. Es wurden 2,41 g nachacetylierte Dimethyl-bis-des-base (XIV) erhalten.

Jodmethylat der Dimethyl-bis-des-base (XIV).

1,3 g Base wurden in 8 cm³ absolutem Äther gelöst, mit 1,6 g Methyljodid versetzt und gut verschlossen bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Es trat bald milchige Trübung und nach einigen Stunden die Abscheidung von Krystallen ein. Nach 24 Stunden

wurden durch Filtration 1,61 g rohe Krystalle gewonnen, die auch nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol-Äther unscharf bei 165—175° schmolzen. Zur Analyse wurde 6 Stunden im Hochvakuum bei 50° getrocknet.

3,542 mg Subst. gaben 7,690 mg CO_2 und 2,276 mg H_2O (E.T.H.)
4,392 mg Subst. gaben 0,162 cm³ N_2 (19°; 727 mm) (E.T.H.)
8,062 mg Subst. gaben 2,555 mg AgJ (E.T.H.)

$C_{34}H_{49}O_5N_2J$ (692,67)	Ber. C 58,95	H 7,13	N 4,04	J 18,32%
	Gef. „ 58,92	„ 7,23	„ 4,12	„ 17,10%

Tetrachlorogold-methylat der Dimethyl-bis-des-base (XIV).

Das aus dem Jodmethylat mit Silberchlorid bereitete Chlormethylat konnte nicht krystallisiert erhalten werden. Das daraus mit Tetrachlorogoldsäure gewonnene Tetrachlorogold-methylat fiel in hellbraunen Mikrokrystallen aus, die bei 111—118° schmolzen und sich nicht umkrystallisieren liessen.

Neutralstoff (XV). (3. Phase des *Hofmann*'schen Abbaus).

Die anfänglich schlechten Ausbeuten konnten bei Einhaltung der folgenden Bedingungen auch hier auf ca. 75% gesteigert werden. Wichtig ist, dass für jeden Versuch nicht mehr als 0,5 g Jodmethylat genommen und total höchstens das aus der genau äquivalenten Menge Silbernitrat bereitete Silberoxyd verwendet wird. Durch Silbersalze scheint das Produkt rasch oxydiert zu werden.

0,5 g Jodmethylat wurden in 2,5 cm³ Alkohol gelöst, mit 2,5 cm³ Äther versetzt und bei 40—50° zunächst mit $^2/_3$ der nötigen Menge feuchtem Silberoxyd verrührt. Der Bodenkörper soll dabei stets eine grauweisse Farbe aufweisen. Nach 5 Minuten wird der Rest des Silberoxyds zugegeben und durch Reiben mit einem Glasstab dafür gesorgt, dass es möglichst rasch verbraucht wird. Sobald die braunen Silberoxyd-Knöllchen sich nur noch langsam aufhellen (maximal nach 20 Minuten), wird filtriert und, wenn nötig, über ein mit einer Spur Kohle gedichtetes Filter völlig geklärt. Nach Einengen wurden 0,1 g festes Kaliumhydroxyd zugegeben und im Vakuum bei 30° völlig getrocknet. Zur Zersetzung wurde unter Vorschaltung einer auf – 80° gekühlten Vorlage im Hochvakuum innerhalb 10 Minuten auf 110° Badtemperatur erwärmt und 25 Minuten bei 110—115° gehalten.

Nachweis des Trimethylamins im Destillat.

Der Inhalt der auf – 80° gekühlten Vorlage roch stark nach Trimethylamin und wurde mit HCl neutralisiert, wobei 70% der für 1 Mol berechneten Menge verbraucht wurden. Ein Teil des neutralisierten Destillats wurde mit Äther überschichtet und mit konz. Kalilauge geschüttelt. Die über K_2CO_3 getrocknete Ätherlösung gab auf Zusatz ätherischer Pikrinsäure einen gelben Niederschlag, der mit Äther gewaschen und aus Alkohol umkrystallisiert wurde. Smp. 214—216°. Trimethylaminpikrat sowie die Mischprobe schmolzen gleich.

Ein weiterer Teil des neutralisierten Destillats wurde im Vakuum stark eingeengt, mit einem Tropfen konz. HCl und hierauf mit Hexachloroplatinsäure versetzt, wobei das Trimethylamin-hexachloroplatinat sofort krystallin ausfiel. Umkrystallisieren aus Wasser-Alkohol gab orangegelbe Tetraeder vom Smp. 218—219° (Zers.), die im Hochvakuum bei 20° getrocknet wurden.

5,894 mg Subst. gaben 2,975 mg CO_2, 2,02 mg H_2O und 2,167 mg Rückst. (Sch.)

$C_6H_{20}N_2Cl_6Pt$ (528,16)	Ber. C 13,64	H 3,82	Pt 36,96%
	Gef. „ 13,75	„ 3,83	„ 36,77%

Isolierung des Neutralstoffs.

Die Aufarbeitung und Nachacetylierung des Kolbeninhaltes geschah wie bei den ersten zwei Phasen. Anschliessend wurde die ätherische Lösung aber noch mit verdünnter HCl gewaschen. Sie hinterliess nach dem Trocknen über Na_2SO_4 beim Eindampfen

0,26—0,29 g Neutralstoff als fast farblosen Schaum (Mittelwert aus mehreren Versuchen). Zur Analyse wurde 4 Stunden im Hochvakuum bei 50° getrocknet.

3,570 mg Subst. gaben 0,073 cm³ N_2 (17°; 730 mm) (E.T.H.)

$C_{31}H_{39}O_5N$ (505,63) Ber. N 2,77 Gef. N 2,31%

Oxydation des Neutralstoffs (XV) mit Kaliumpermanganat in Aceton. Isolierung von m-Hemipinsäure (VIII).

0,46 g Neutralstoff (XV) wurden in einem Rundkolben mit eingeschliffenem Stopfen in 40 cm³ reinem Aceton[1]) gelöst, mit 0,4 g fein gepulvertem $KMnO_4$ versetzt und bis zur Entfärbung der Lösung geschüttelt, was ca. 5 Minuten in Anspruch nahm. Nun wurden nochmals 0,4 g $KMnO_4$ zugesetzt, die beim Schütteln nach 15 Minuten verbraucht waren. Eine letzte Portion von 0,4 g benötigte noch ca. 4 Stunden bis zur Entfärbung. Ohne vom Braunstein abzufiltrieren, wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit verdünnter H_2SO_4 bis zur kongosauren Reaktion versetzt und der Brei zunächst 20mal mit je 10 cm³ Äther (a) und anschliessend 7mal mit je 10 cm³ Chloroform (b) ausgeschüttelt. Um die eventuell am Braunstein haftenden Oxydationsprodukte zu erfassen, wurde der Rückstand durch Zutropfen von konz. $NaHSO_3$-Lösung und verdünnter H_2SO_4 gelöst und nach Entfernung des SO_2 im Vakuum mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Diese Auszüge enthielten jedoch fast keine organische Substanz mehr und wurden verworfen.

Trennung der Ätherauszüge (a).

Die 20 Ätherauszüge wurden der Reihe nach mit immer den gleichen 2 cm³ Wasser ausgeschüttelt und hierauf mehrmals mit kleinen Portionen $KHCO_3$-, Na_2CO_3- und NaOH-Lösung ausgezogen. Die Auszüge wurden mit HCl bis zur kongosauren Reaktion versetzt und mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Es resultierten 280 mg in $KHCO_3$ lösliche, 28 mg sodalösliche und 29 mg laugenlösliche Anteile. Im Äther verblieben 70 mg Neutralstoff.

Die 280 mg in $KHCO_3$ löslichen Anteile wurden zur Methylierung in 5 cm³ Methanol-Äther gelöst und mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Nach 10 Minuten wurde eingedampft und der Rückstand im Molekularkolben[2]) im Hochvakuum destilliert. Bis 135° Badtemperatur destillierten in 25 Minuten 63 mg eines schwach gelblichen Öls, das bald krystallin erstarrte. Bei Steigerung der Badtemperatur auf 175° liessen sich noch 66 mg destillieren. Die bis 135° übergegangenen Anteile krystallisierten aus Äther-Pentan in farblosen, sternförmig verwachsenen Nadeln oder rhombisch begrenzten Plättchen vom Smp. 84—85°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 20° getrocknet.

4,836 mg Subst. gaben 10,075 mg CO_2 und 2,37 mg H_2O (Sch.)

3,219 mg Subst. gaben 11,930 mg AgJ (*Zeisel*) (Sch.)

$C_{12}H_{14}O_6$ (254,23) Ber. C 56,69 H 5,55 —OCH_3 48,83%

Gef. „ 56,85 „ 5,49 „ 48,99%

Synthetischer m-Hemipinsäure-dimethylester, sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich. Die bis 175° übergegangenen Anteile erwiesen sich als stickstoffhaltig. Durch Chromatographie über Aluminiumoxyd liessen sich aus den leicht eluierbaren Anteilen noch ca. 20 mg krystallisierter m-Hemipinsäure-dimethylester isolieren. Der Rest krystallisierte nicht. Auch aus dem Kolbenrückstand liessen sich keine Krystalle gewinnen. Ebenso führte die Chromatographie der 70 mg neutralen Oxydationsprodukte zu keinen krystallisierten Stoffen.

Chloroformauszüge (b).

Diese hinterliessen 78 mg Substanz als dunkelbraunes Harz und waren fast frei von Stickstoff. Ein Teil liess sich im Hochvakuum destillieren, doch konnten keine Krystalle isoliert werden.

---

[1]) Zweimal über $KMnO_4$ destilliert.

[2]) Vgl. *O. Neracher, T. Reichstein*, Helv. **19**, 1385 (1936).

Oxydation des Neutralstoffs (XV) mit Kaliumpermanganat in saurer Lösung. Isolierung von 4,5-Dimethoxy-phtalonimid (XI).

1,08 g Neutralstoff (XV) wurden in 80 cm³ reinem Aceton zunächst mit 2,8 g $KMnO_4$ in drei Portionen wie oben voroxydiert. Nach Abdestillieren des Acetons im Vakuum wurde unter Kühlung mit 36-proz. H_2SO_4 bis zur kongosauren Reaktion versetzt und dann bei 20° 5-proz. $KMnO_4$-Lösung zugetropft, bis die rote Farbe eben bestehen blieb, wobei von Zeit zu Zeit noch H_2SO_4 zugegeben werden musste, um die kongosaure Reaktion aufrecht zu erhalten. Nun wurde 35mal mit je 10 cm³ Äther ausgeschüttelt und die Auszüge der Reihe nach mit immer den gleichen 3 cm³ Wasser gewaschen. Die vereinigten Ätherauszüge wurden hierauf mit so viel kalt gesättigter $KHCO_3$-Lösung geschüttelt, dass die wässrige Schicht auf Lackmus merklich alkalisch reagierte (Auszug I). Hierauf wurde noch 4mal mit je 5 cm³ $KHCO_3$-Lösung ausgeschüttelt (Auszug II), mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet (Ätherlösung III).

Auszug (I) wurde mit konz. HCl angesäuert und 25mal mit Äther ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Ätherlösungen hinterliessen beim Eindampfen 310 mg gelbliches Öl, aus dem sich nach Methylierung mit Diazomethan 170 mg krystallisierter m-Hemipinsäure-dimethylester isolieren liessen, sowie 85 mg einer höher siedenden, stickstoffhaltigen Esterfraktion, die nicht krystallisierte. Auszug (II) lieferte analog 38 mg gelbliches, dickes Öl, aus dem sich durch Animpfen etwas krystallisiertes 4,5-Dimethoxy-phtalonimid isolieren liess.

Die Ätherlösung (III) lieferte beim Eindampfen 250 mg einer mit gelben Krystallen durchsetzten Masse. Durch Waschen mit etwas Äther liessen sich die Krystalle vom Öl befreien. Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther lieferte 112 mg gereinigtes Produkt, das noch im Molekularkolben bei 0,01 mm und 165—175° Badtemperatur sublimiert und dann aus Aceton-Äther sowie aus Methanol umkrystallisiert wurde. Erhalten wurden goldgelbe, meist gebogene Nädelchen vom Smp. 269—275° (Zers.), gelegentlich auch Körner, die sich bei ca. 200° in Nadeln umwandelten und dann gleich schmolzen. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 70° getrocknet.

3,866 mg Subst. gaben 8,041 mg CO_2 und 1,354 mg H_2O (E.T.H.)
6,447 mg Subst. gaben 0,354 cm³ N_2 (17,5°; 729 mm)
$C_{11}H_9O_5N$ (235,19) Ber. C 56,17 H 3,86 N 5,96%
Gef. „ 56,76 „ 3,92 „ 6,20%

Zum Vergleich wurde 4,5-Dimethoxy-phtalonimid nach *Hermanns*[1]) durch Oxydation von Emetin mit Chromsäure bereitet, sowie synthetisch aus N-Acetyl-6,7-dimethoxy-tetrahydro-isochinolin (XVI) (vgl. weiter unten). Alle drei Präparate zeigten gleiche Eigenschaften und gleiche Schmelzpunkte, und die Mischproben gaben keine Schmelzpunktserniedrigungen.

Synthese von m-Hemipinsäure-dimethylester.

Zur Bereitung von reinem Kreosol wurde die Lösung von 10 g Vanillin in 20 cm³ Alkohol in ein Gemisch von 6 g Hydrazinhydrat und 5 g festem Kaliumhydroxyd eingetragen und nach Zugabe von weiteren 5 g Kaliumhydroxyd im geräumigen Kolben im Ölbad auf 200° erhitzt und bis zur Beendigung der Gasentwicklung (ca. 10 Minuten) bei dieser Temperatur belassen. Nach Zerlegung mit verdünnter Salzsäure wurde mit Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösung mit Salzsäure und mehrmals mit Sodalösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Die Destillation des Rückstandes im Vakuum lieferte 5,6 g reines Kreosol vom Sdp. 98—98,5° bei 11 mm. Durch Behandlung mit Dimethylsulfat und äthylalkoholischer Kalilauge wurden daraus 5,6 g Homoveratrol erhalten, daraus nach der Vorschrift von *Farger* und *Perkin*[2]) 4,5 g 2-Methyl-4,5-dimethoxy-acetophenon vom Smp. 75—76° neben 0,7 g 2-Methyl-4-oxy-5-methoxy-acetophenon.

[1]) *L. Hermanns*, Diss. Freiburg i. Br. 1915.
[2]) *G. R. Farger, W. H. Perkin* Jr., Soc. **119**, 1724 (1921).

1 g 2-Methyl-4,5-dimethoxy-acetophenon wurden mit der Lösung von 3 g KOH und 2,8 g $KMnO_4$ in 50 cm Wasser ½ Stunde auf 70—80° erhitzt, worauf die rote Farbe verschwunden war. Hierauf wurde mit starker Schwefelsäure angesäuert und weiter soviel 5-proz. $KMnO_4$ zugetropft, bis die rote Farbe in der Wärme eben bestehen blieb. Der Braunstein wurde durch Zutropfen von $NaHSO_3$-Lösung gelöst, der SO_2-Überschuss zur Hauptsache durch Erwärmen im Vakuum vertrieben, der Rest durch Zusatz von wenig $KMnO_4$ zerstört und die kongosaure Lösung erschöpfend mit Äther ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschene und über Na_2SO_4 getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 0,31 g Rückstand, der sich trotz gutem Krystallisationsvermögen als Gemisch erwies. Die rohe Säure wurde daher zur Veresterung zunächst 1 Stunde mit 8 cm³ Methanol gekocht und anschliessend mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert. Nach Eindampfen wurde im Hochvakuum bei 130—145° destilliert. Das Destillat krystallisierte, schmolz aber sehr unscharf bei 75—110°. Zur Trennung wurde über Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol eluierbaren Anteile krystallisierten in rhombischen Plättchen vom Smp. 84—85° und stellten den gesuchten m-Hemipinsäure-dimethylester dar. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 20° getrocknet.

3,770 mg Subst. gaben 7,840 mg CO_2 und 1,894 mg H_2O (E.T.H.)

$C_{12}H_{14}O_6$ (254,23) Ber. C 56,69 H 5,55%
Gef. „ 56,75 „ 5,62%

Die mit reinem Benzol eluierbaren Anteile krystallisierten aus Aceton-Äther in seidigen Nadeln vom Smp. 142°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 120—135° (Badtemperatur) sublimiert.

3,812 mg Subst. gaben 8,217 mg CO_2 und 1,805 mg H_2O (E.T.H.)
10,2 mg Subst. verbrauchten 2,31 cm³ 0,02-n. KOH (heisse Verseifung) (E.T.H.)

$C_{11}H_{12}O_5$ (224,21) Ber. C 58,92 H 5,39% Äquiv.-Gew. 224,2
Gef. „ 58,83 „ 5,30% „ 221 ± 6

Dieses Nebenprodukt, das offenbar nur eine Estergruppe enthält, wurde nicht weiter untersucht. Es wurde lediglich festgestellt, dass es mit Semicarbazid nicht reagiert.

N-Acetyl-6,7-dimethoxy-tetrahydro-isochinolin (XVI).

Zur Bereitung von 3,4-Dimethoxy-β-phenyl-äthylamin[1])[2]) wurden 27 g 3,4-Dimethoxy-phenylpropionsäure-äthylester (von uns durch Hydrierung von 3,4-Dimethoxy-zimtsäure-äthylester (Smp. 59°)[3])[4]) mit *Raney*-Nickel[5]) in Alkohol in fast quantitativer Ausbeute als farbloses, beim Kühlen auf 0° krystallin erstarrendes Öl erhalten) mit 19 g Hydrazinhydrat 1 Stunde auf 130—140° (Badtemperatur) erhitzt und anschliessend im Vakuum bei 70° eingedampft. Der Rückstand lieferte 24,2 g 3,4-Dimethoxy-phenylpropionsäure-hydrazid als farblose wollige Nadeln vom Smp. 133—134°. Sie wurden in 230 cm³ n. Salzsäure gelöst und zu der bei 0° gerührten Lösung die Lösung von 9 g $NaNO_2$ in 50 cm³ Wasser eingetropft, wobei das Azid als gelblicher Niederschlag ausfiel. Es wurde scharf abgenutscht, mit etwas Wasser gewaschen und im Hochvakuum über KOH und H_2SO_4 getrocknet. Zur Zersetzung wurde es mit 150 cm³ Methanol langsam bis zum Sieden erhitzt und anschliessend 20 Minuten gekocht, worauf die Stickstoff-Entwicklung beendigt war. Eindampfen lieferte 25 g rohes Urethan, das durch 2-stündiges Kochen mit 30 g KOH in 13 cm³ Wasser und 250 cm³ Alkohol verseift wurde. Nach Abdampfen des Alkohols wurde mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die über KOH getrocknete Ätherlösung lieferte bei der Destillation im Vakuum 8,5 g reines 3,4-Dimethoxy-β-phenyläthylamin vom Sdp. 148° bei 12 mm. Das Pikrat schmolz bei 164—166°

[1]) *A. Pictet, M. Finkelstein*, B. **42**, 1979 (1909).
[2]) Vgl. *K. Kindler*, Arch. Pharm. **269**, 70 (1931).
[3]) *W. H. Perkin* Jr., *E. Schiess*, Soc. **85**, 164 (1904).
[4]) *W. H. Perkin* Jr., *R. Robinson*, Soc. **91**, 1079 (1907).
[5]) *K. Kindler, W. Peschke*, Arch. Pharm. **270**, 350 (1932) fanden, dass für die Hydrierung des entsprechenden Methylesters Palladium gut, Platin dagegen ungeeignet ist.

in Übereinstimmung mit Literaturangaben[1]). Die Überführung des Amins in 6,7-Dimethoxy-tetrahydro-isochinolin mit Formaldehyd erfolgte nach *Buck*[2]). Das Hydrochlorid dieser Base krystallisierte in farblosen Plättchen vom Smp. 264—266° (*Buck* fand 253°)[3]).

Zur Acetylierung wurde 1 g Hydrochlorid mit 5 cm³ 20-proz. Kalilauge zerlegt, die freie Base in Äther-Chloroform gelöst, mit 2 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und mehrmals mit 20-proz. Kalilauge, dann mit verdünnter HCl und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (0,98 g) krystallisierte aus Äther in farblosen, dicken Prismen vom Smp. 104—105°. Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum bei 120° getrocknet.

4,011 mg Subst. gaben 9,760 mg CO_2 und 2,57 mg H_2O (E.T.H.)
4,734 mg Subst. gaben 0,258 cm³ N_2 (18°; 725 mm)
$C_{13}H_{17}O_3N$ (235,74) Ber. C 66,36 H 7,28 N 5,95%
Gef. „ 66,40 „ 7,17 „ 6,10%

4,5-Dimethoxy-phtalonimid (XI).

a) Aus 6,7-Dimethoxy-tetrahydro-isochinolin.

0,3 g 6,7-Dimethoxy-tetrahydro-isochinolin-hydrochlorid wurden mit Kalilauge zerlegt und die mit Chloroform-Äther isolierte, freie Base in 7 cm³ 33-proz. H_2SO_4 gelöst und bei 0° unter häufigem Umschwenken innert 30 Minuten mit der Lösung von 0,5 g Chromtrioxyd in 3 cm³ 33-proz. H_2SO_4 versetzt. Anschliessend wurde noch 30 Minuten bei 0° stehen gelassen und dann 6 mal mit auf −15° gekühltem Essigester ausgeschüttelt. Die vereinigten Auszüge wurden einmal mit eiskalter gesättigter $KHCO_3$-Lösung und zweimal mit wenig Eiswasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum bei 40° eingedampft. Der Rückstand lieferte nach Aufnehmen mit wenig Methanol 73 mg gelbe, gebogene Nädelchen, die unter teilweiser Sublimation und Braunfärbung bei 268 bis 273° schmolzen. Sie gaben bei der Mischprobe mit dem nach b) bereiteten Analysenpräparat keine Schmelzpunktserniedrigung.

b) Aus N-Acetyl-6,7-dimethoxy-tetrahydro-isochinolin.

0,3 g N-Acetyl-6,7-dimethoxy-tetrahydro-isochinolin wurden genau gleich oxydiert und lieferten 67 mg kryst. (XI), das zur Analyse 2 Stunden im Hochvakuum bei 20° getrocknet wurde.

3,809 mg Subst. gaben 7,820 mg CO_2 und 1,25 mg H_2O (E.T.H.)
3,999 mg Subst. gaben 0,178 cm³ N_2 (16°; 727 mm) (E.T.H.)
$C_{11}H_9O_5N$ (235,19) Ber. C 56,17 H 3,86 N 5,96%
Gef. „ 56,03 „ 3,67 „ 5,92%

Die Mischprobe mit dem aus Emetin sowie aus dem Neutralstoff des *Hofmann*'schen Abbaus gewonnenen Präparat gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Dehydrierung von Emetin.

1,7 g Emetin (aus gereinigtem Hydrochlorid) wurden unter Stickstoff mit 0,2 g 20-proz. Palladiumkohle[4]) auf 180—190° (Metallbadtemperatur) erhitzt und die entwickelte Gasmenge über Wasser aufgefangen und grob gemessen. Nach 30 Minuten waren 133 cm³ Wasserstoff (= 1,7 Mol) abgespalten, worauf die Gasentwicklung beendigt war. Es wurde abgekühlt, der Kolbeninhalt in Alkohol gelöst und die Lösung filtriert. Das eingedampfte Filtrat wurde mit etwas wässeriger K_2CO_3-Lösung versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die über K_2CO_3 getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen

[1]) *K. Kindler, W. Peschke*, Arch. Pharm. **270**, 350 (1932).
[2]) *I. S. Buck*, Am. Soc. **56**, 1769 (1934).
[3]) Das Pikrat krystallisierte aus Benzol-Alkohol in gelben rhombisch begrenzten Krystallen vom Smp. 206—207°.
[4]) *N. D. Zelinsky, M. B. Turowa-Pollak*, B. **58**, 1292 (1925).

1,36 g rötlichgelbes, dickes Öl, das im Molekularkolben grob in 2 Fraktionen zerlegt wurde. Bei 0,01 mm destillierten bis zu einer Badtemperatur von 165° 0,85 g fast farbloses, dickes Öl. Bei 165—225° (Hauptmenge bei 185—205°) destillierten 0,41 g gelblicher, dicker Syrup.

a) Isolierung von 1-Methyl-6,7-dimethoxy-isochinolin (XVII).

Die 0,85 g tiefer siedenden Anteile wurden in 4 cm³ absolutem Äther gelöst und mit ätherischer HCl-Lösung versetzt. Das amorph ausfallende Hydrochlorid lieferte aus Alkohol-Äther 0,36 g sternförmig gruppierte, farblose Nadeln vom Smp. 249—250°, deren alkoholische Lösung merklich fluoreszierte. Das Hydrochlorid liess sich im Hochvakuum bei 100—120° unzersetzt sublimieren. Die in üblicher Weise daraus bereitete freie Base krystallisierte aus Äther-Petroläther in farblosen Prismen vom Smp. 106—107°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 90—100° sublimiert.

3,732 mg Subst. gaben 9,670 mg CO_2 und 2,165 mg H_2O (E.T.H.)

$C_{12}H_{13}O_2N$ (203,23) Ber. C 70,91 H 6,45%

Gef. „ 70,71 „ 6,49%

Synthetisches 1-Methyl-6,7-dimethoxy-isochinolin[1]) sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich. Das Pikrat der aus Emetin bereiteten Base krystallisierte aus Alkohol in wolligen Nädelchen vom Smp. 266—267° in Übereinstimmung mit Literaturangaben[1]).

b) Isolierung von Emetamin (XVIII).

Die 0,41 g höher siedenden Anteile wurden in 20 cm³ Äther gelöst und zunächst durch erschöpfendes Ausschütteln mit verdünnter HCl in basische und neutrale Anteile zerlegt; die letzteren wogen nur 12 mg und wurden verworfen. Die aus den salzsauren Auszügen regenerierten Basen wurden zur Entfernung von acetylierbaren Anteilen in ätherischer Lösung mit 0,2 cm³ Essigsäure-anhydrid und 2 cm³ 20-proz. Kalilauge einige Minuten geschüttelt und anschliessend wieder in basische (0,37 g) und neutrale (13 mg) Anteile zerlegt. Die 0,37 g Base wurden in 3 cm³ absolutem Äther gelöst und unter Reiben langsam mit ätherischer Pikrinsäure versetzt, bis keine weitere Fällung mehr entstand. Das als gelbes Krystallpulver ausfallende Pikrat wog nach dem Waschen mit Äther und Trocknen 0,39 g. Die Mutterlauge lieferte durch Einengen noch eine kleine Menge. Zweimaliges Umkrystallisieren aus Aceton-Äther gab kurze, gelbe Prismen oder rechteckige Plättchen vom Smp. 149—151°. Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 120° getrocknet, worauf das Monohydrat vorlag.

4,008 mg Subst. gaben 7,561 mg CO_2 und 1,603 mg H_2O (E.T.H.)

2,550 mg Subst. gaben 0,270 cm³ N_2 (23°; 726 mm) (E.T.H.)

48,5 mg Subst. verloren bei 110° im Hochvakuum 0,85 mg (E.T.H.)

4,437 mg Subst. verbrauchten 5,391 cm³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$ (*Zeisel*) (E.T.H.)

$C_{41}H_{42}O_{18}N_8 \cdot H_2O$ (952,83)

Ber. C 51,65 H 4,66 N 11,75 —OCH_3 13,01 H_2O 1,89%

Gef. „ 51,48 „ 4,48 „ 11,67 „ 12,56 „ 1,75%

Brindley und *Pyman*[2]) fanden für Emetaminpikrat den Smp. 147°, doch analysierten sie dieses Salz nicht.

Zur Bereitung von freiem Emetamin (XVIII) wurden 0,1 g Pikrat in 2-n. Salzsäure gelöst und erschöpfend mit Äther ausgeschüttelt. Die saure Lösung lieferte nach Zusatz von Pottasche und Ausschütteln mit Äther 46 mg rohes Emetamin, das aus Äther-Petroläther in farblosen, wolligen Nadeln vom Smp. 135—137° krystallisierte. Aus Aceton-Äther wurden Nadeln vom Smp. 153—155° erhalten. Die beiden Formen waren ineinander umwandelbar. Ein gleiches Verhalten beobachteten *Brindley* und *Pyman*[2]) bei natürlichem Emetamin, für das sie als Smp. 138—139° bzw. 153—154° fanden. Die tiefer

[1]) *E. Späth, N. Polgar*, M. **51**, 190 (1929).

[2]) *W. H. Brindley, F. L. Pyman*, Soc. **1927**, 1067.

schmelzende Form enthält nach ihren Befunden ½ Mol Krystalläther, der beim Trocknen im Hochvakuum entweicht, wobei jedoch der Schmelzpunkt nur um wenige Grade erhöht wird.

Zur Analyse wurde das lufttrockene Material im Hochvakuum bei 50° getrocknet, wobei es 7,1% an Gewicht verlor (für ½ Mol Äther ber. 7,2%).

3,793 mg Subst. gaben 10,138 mg CO_2 und 2,613 mg H_2O (E.T.H.)
4,550 mg Subst. gaben 0,267 cm³ N_2 (24°; 726 mm)
2,998 mg Subst. verbrauchten 7,299 cm³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$ (*Zeisel*)

$C_{29}H_{36}O_4N_2$ (476,59) Ber. C 73,10 H 7,62 N 5,88 —OCH_3 26,05%
Gef. „ 72,94 „ 7,71 „ 6,44 „ 25,18%

Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +11{,}1°$ (c = 1,981 in absolutem Alkohol). *Pyman*[1]) sowie *Brindley* und *Pyman*[2]) fanden für natürliches Emetamin $[\alpha]_D = +12{,}3°$ bzw. 13,6° (absoluter Alkohol).

Die nicht mehr krystallisierenden Mutterlaugen des rohen Pikrats wurden wie oben zerlegt und das freie Basengemisch ins Oxalat, Pikrolonat und Reineckat übergeführt, jedoch krystallisierte keines dieser Salze.

In einem 2. Ansatz wurden aus 4,5 g Emetin in gleicher Weise 3,7 g rohes Dehydrierungsprodukt erhalten, das zunächst durch Destillation im Hochvakuum im Molekularkolben in 2 Fraktionen getrennt wurde. Bis zu einer Badtemperatur von 200° destillierten 1,7 g ölige Anteile, von 200—250° 1,8 g dicker Syrup (Fraktion c). Die bis 200° siedenden Anteile wurden nochmals destilliert und gaben 0,71 g Fraktion a) bis 120° (Badtemperatur), sowie 0,97 g Fraktion b) bei 120—200° (Badtemperatur). Aus Fraktion a) liessen sich über das Hydrochlorid 0,24 g 1-Methyl-6,7-dimethoxy-isochinolin (XVII) gewinnen. 0,25 g der Fraktion b) wurden über 8 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt und die einzelnen Eluate abwechslungsweise ins Hydrochlorid, Pikrat, Oxalat und Pikrolonat übergeführt. Es konnten aber nur das Hydrochlorid und das Pikrat des 1-Methyl-6,7-dimethoxy-isochinolins (XVII) krystallisiert erhalten werden. Ungefähr 40% der Fraktion b) liessen sich auf diese Weise in krystallisierte Salze dieser Base überführen. Die 1,8 g Fraktion c) lieferten durch direkte Krystallisation aus Äther-Petroläther (Animpfen) 0,36 g Emetamin (XVIII). Die Mutterlaugen wurden über Aluminiumoxyd chromatographiert, wobei sich vorwiegend aus den mit Benzol-Äther (19 : 1) eluierbaren Anteilen über das Pikrat noch weitere Mengen Emetamin isolieren liessen. Die anderen Fraktionen sowie die Mutterlaugen lieferten mit Pikrinsäure, Pikrolonsäure, Salzsäure und Oxalsäure keine krystallisierten Salze. Total wurden bei diesem Versuch 0,64 g 1-Methyl-6,7-dimethoxy-isochinolin (XVII) sowie 1,1 g reines Emetamin (XVIII) gewonnen.

Die Mikroanalysen wurden teils bei Herrn Dr. *A. Schoeller*, Berlin (Sch.), teils im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich (E.T.H.) (Leitung *H. Gubser*) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

---

[1]) *F. L. Pyman*, Soc. **111**, 419 (1917).
[2]) *W. H. Brindley, F. L. Pyman*, Soc. **1927**, 1067.

43. Tetrahydro-nicotinsäure und Hexahydro-nicotinsäure als Wachstumsfaktoren bei Staphylococcus aureus und Bacillus Proteus vulgaris

von H. v. Euler, B. Högberg, P. Karrer, H. Salomon und H. Ruckstuhl.

(8. II. 44.)

Bei Gelegenheit chemischer Arbeiten mit Guvacin, d. h. 1,2,5,6-Tetrahydro-nicotinsäure-(3) haben wir deren Verhalten zu Mikroorganismen (Staphylococcus aureus und Bacillus Proteus vulgaris) und zu Fermentsystemen (Apocymase-Gärung und Oxydasen in Leber- und Nierengewebe) einer Prüfung unterzogen. Diese Versuche wurden dann auch auf die Hexahydro-nicotinsäure und N-Methyl-tetrahydro-nicotinsäure (Arecaidin) ausgedehnt.

Nicotinsäure-amid bzw. Nicotinsäure ist bekanntlich ein notwendiger Wachstumsfaktor für viele Mikroorganismen, z. B. Diphteriebazillen[1]), Dysenteriebazillen[2]), Bacillus Proteus[3]), Staphylococcus aureus[4]), Milchsäurebakterien[5]) usw. Es bot daher Interesse, zu untersuchen, ob Nicotinsäure als Wachstumsfaktor bei diesen Mikroorganismen durch Tetra- bzw. Hexahydro-nicotinsäure ersetzt werden kann.

Wie die nachfolgenden Protokolle erkennen lassen, ist dies in weitgehendem Masse der Fall. Man wird daher die Annahme machen müssen, dass die geprüften Bakterien die Fähigkeit besitzen, Guvacin und Hexahydro-nicotinsäure zu dehydrieren und in die für den Aufbau der Cozymase notwendige Nicotinsäure überzuführen.

Die Wachstumswirkung der 1,2,5,6-Tetrahydro-nicotinsäure-(3) (Guvacin) für Staphylococcus aureus und Bacillus Proteus vulgaris steht derjenigen der Nicotinsäure nicht nach (Tabellen 1 und 2). Hier scheint somit die Dehydrierung der Tetrahydroverbindung bemerkenswert leicht zu erfolgen. Die Wachstumswirkung der Hexahydro-nicotinsäure setzt dagegen etwas später ein und wird erst am zweiten Versuchstag gleich stark wie diejenige der Nicotinsäure und Tetrahydro-nicotinsäure (Tabellen 3 und 4). Die Dehydrierung des Hexahydroderivates gelingt den Bakterien etwas weniger leicht als diejenige der Tetrahydroverbindung, was mit dem chemischen Verhalten solcher Stoffe in Übereinstimmung steht.

---

[1]) *J. H. Mueller*, J. Bact. **34**, 429 (1937); J. Biol. Chem. **120**, 219 (1937).

[2]) *S. A. Koser, A. Dorfman, F. Saunders*, Proc. Soc. exptl. Biol. Med. **38**, 311 (1938); Science **90**, 544 (1939).

[3]) *P. Fildes*, Brit. J. Exptl. Path. **19**, 239 (1938).

[4]) *Knight*, Bioch. J. **31**, 741 (1937). — *M. Landy*, Nature **142**, 618 (1938). — *Knight, Mc. Ilwain*, Bioch. J. **32**, 1241 (1938).

[5]) *Snell, Strong, Peterson*, Am. Soc. **60**, 2825 (1938).

N-Methyl-tetrahydro-nicotinsäure (Arecaidin) ist auf Staphylococcus aureus und Proteus vulgaris ohne Wirkung (Tabelle 5). Dies war zu erwarten, da eine Dehydrierung zur Nicotinsäure ohne Entmethylierung hier nicht möglich ist.

Das vollkommen gleichartige Verhalten von Nicotinsäure und Tetrahydro-nicotinsäure gegenüber Staphylococcus aureus geht weiterhin daraus hervor, dass Sulfanilsäure auf diesen Mikroorganismus in einer synthetischen Nährlösung die gleiche bakteriostatische Wirkung ausübt, gleichgültig, ob die Nährlösung Nicotinsäure-amid oder Tetrahydro-nicotinsäure enthält. In beiden Fällen wird die bakteriostatische Wirkung der Sulfanilsäure in normaler Weise durch p-Aminobenzoesäure aufgehoben (Tabelle 6).

Erlenmeyer[1]) hat gezeigt, dass in einer Nährlösung, die Nicotinsäure enthält, Pyridin-β-sulfonsäure bei Staphylococcus aureus wachstumshemmenden Einfluss ausübt. Dieselbe antagonistische Wirkung der Pyridinsulfonsäure lässt sich feststellen, wenn der Nährlösung statt Nicotinsäure Tetrahydro-nicotinsäure zugesetzt wurde (Tabelle 7).

Im Gärungsversuch mit Apozymase + Cozymase hemmt Tetrahydro-nicotinsäure in gleicher Weise wie Nicotinsäure (Tabelle 8). Durch eine zweistündige Inkubation von Tetrahydro-nicotinsäure mit Apozymase geht die Hemmungswirkung auf Null zurück; wird Nicotinsäure in gleicher Weise 2 Stunden inkubiert, so wird die Hemmungswirkung erheblich vermindert.

Hexahydro-nicotinsäure hemmt die Gärung mit Apozymase + Cozymase nicht und durch Inkubation mit Apozymase ändert sich daran nichts.

Es schien nicht unmöglich, dass die Tetrahydro-nicotinsäure durch gärende Hefe zur Hexahydrostufe reduziert werden könnte. Im präparativen Masstab durchgeführte Versuche geben aber dafür keinen Anhaltspunkt. Die der Gärlösung zugesetzte Tetrahydro-nicotinsäure liess sich nach Ablauf der Gärung unverändert zurückgewinnen und Hexahydro-nicotinsäure konnten wir nicht nachweisen.

Schliesslich haben wir auch noch untersucht, ob frischer Schweine-Leber- und Nierenbrei Fermente enthält, die Tetrahydro-nicotinsäure zu dehydrieren vermögen. Die Versuche wurden in der *Warburg*-Apparatur manometrisch verfolgt. Eine vermehrte Sauerstoffaufnahme fand jedoch nicht statt, wenn dem Nieren- bzw. Leberbrei Tetrahydro-nicotinsäure zugesetzt worden war.

Zahlreiche Versuche, Guvacinamid (1,2,5,6-Tetrahydro-pyridin-3-carbonsäure-amid) darzustellen, um es mit Nicotinsäure-amid vergleichen zu können, führten bisher nicht zum Ziel. So gelang es uns

[1]) Helv. **25**, 249 (1942).

nicht, Guvacin mittels Thionylchlorid oder Phosphorpentachlorid in Acetylchloridlösung in Guvacinchlorid überzuführen und letzteres mit Ammoniak in das Amid umzusetzen.

Ebensowenig konnte aus Guvacin-methylester mit flüssigem Ammoniak und mit methanolischem, bei -10^0 gesättigtem Ammoniak Guvacinamid gewonnen werden. Es entstanden Stickstoff-reichere Verbindungen, die sich nicht rein isolieren liessen.

N-Nitrosoguvacin-methylester wurde durch flüssiges Ammoniak in N-Nitroso-4-amino-piperidin-3-carbonsäure-amid verwandelt, eine krystallisierte Verbindung vom Smp. 172^0. Die Doppelbindung des Guvacins hatte somit 1 Mol Ammoniak addiert.

Wir haben weiterhin N-Carbäthoxy-guvacin dargestellt (Smp. 78^0), dieses mit Thionylchlorid behandelt und das gebildete Säurechlorid mit ätherischer Ammoniaklösung umgesetzt. Dabei bildete sich N-Carbäthoxy-guvacin-amid, eine krystallisierte Substanz vom Smp. $136-137^0$. Alle Versuche, die Carbäthoxygruppe aus dieser Verbindung durch Verseifung mit Bariumhydroxyd ohne Verseifung der Amidgruppe zu eliminieren, schlugen fehl. Als einziges Reaktionsprodukt konnte Guvacin gefasst werden.

Rückstände aus der Herstellung von Arecaidin wurden dem einen von uns in freundlicher Weise von Herrn Prof. *A. Stoll*, Chemische Fabrik *Sandoz* in Basel, zur Verfügung gestellt. Dafür sprechen wir auch hier unseren verbindlichsten Dank aus. Die in dieser Untersuchung verwendeten Arecaidin- und Arecolin-Präparate wurden aus diesen Rückständen gewonnen.

Tabelle 1.

Versuche mit Staphylococcus aureus[1]).

Nicotinsäure-amid M/—	Tetrahydronicotinsäure M/—	Zuwachs nach 24 Std.	Zuwachs nach 40 Std.
0	0	—	—
100 000	0	54	85
500 000	0	51	80
2 500 000	0	50	72
7 500 000	0	48	70
0	100 000	51	79
0	500 000	51	75
0	2 500 000	48	70
0	7 500 000	44	62
100 000	100 000	55	87
500 000	500 000	54	85
2 500 000	2 500 000	54	85
7 500 000	7 500 000	54	85

[1]) Nährlösung für Staphylococcus aureus siehe *Erlenmeyer*, Helv. **25**, 1066 (1942).

Tabelle 2.

Versuche mit Proteus vulgaris.

Nicotinsäure-amid Molare Konz.	Tetrahydro-nicotinsäure Molare Konz.	Zuwachs nach 24 Std.	48 Std.
—	—	57	97
—	—	54	96
—	—	38	78
5×10^{-6}	5×10^{-6}	52	97
$2{,}5\times10^{-6}$	$2{,}5\times10^{-6}$	50	92
$1{,}25\times10^{-6}$	$1{,}25\times10^{-6}$	29	51

Die Nährlösung für Proteus vulgaris bestand aus: 4,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $(NH_4)_2SO_4$, 0,5 g NH_4Cl, 50 cm³ 0,5-m. Natriumlactatlösung, 8,0 mg Eisen(II)-ammoniumsulfat und 8,0 mg $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$, – mit Wasser aufgefüllt auf 1000 cm³. p_H eingestellt auf 7,6.

Die Kultur wurde jeden zweiten Tag vom Agar auf die Nährlösung überimpft.

Testmethode: 5 cm³ Nährlösung im Reagensglas von gleichem Durchmesser mit Wasser auf 6 cm³ verdünnt. Während 30 Minuten bei 100° sterilisiert. Nach Abkühlen mit der zwei Tage alten Zwischenkultur mittels Platinöse geimpft. Wachstumstemperatur 37°.

Tabelle 3.

Versuche mit Staphylococcus aureus.

Nicotin-säure-amid M/—	Hexahydro-nicotinsäure M/—	Zuwachs nach 24 Std.	40 Std.
0	0	0	0
100 000	0	63	87
500 000	0	50	81
2 500 000	0	39	80
0	100 000	48	85
0	500 000	37	80
0	2 500 000	trübe	71
100 000	100 000	57	85
500 000	500 000	58	86
2 500 000	2 500 000	57	83

Methodik und Nährlösung wie bei den anderen Versuchen. Für jeden Versuch wurden 5 cm³ Nährlösung und 2 γ Aneurin verwandt. Mit Wasser auf 6 cm³ verdünnt.

Tabelle 4.
Versuche mit Staphylococcus aureus.

Nicotinsäure-amid M/—	Hexahydronicotinsäure M/—	Zuwachs nach 24 Std.	Zuwachs nach 48 Std.
0	0	0	0
100 000	0	59	85
500 000	0	51	83
0	0	0	0
0	100 000	Trübung	78
0	500 000	0	74
500 000	500 000	56	84

Tabelle 5.
Versuche mit Staphylococcus aureus.

Nicotinsäure-amid M/—	N-Methyltetrahydronicotinsäure M/—	Zuwachs nach 24 Std.	Zuwachs nach 40 Std.
0	0	0	0
100 000	0	67	86
500 000	0	54	82
2 500 000	0	40	80
0	100 000	Trübung	
0	500 000	0	0
0	2 500 000	0	Trübung

Methodik und Nährlösung wie bei den übrigen Versuchen. Für jeden Versuch wurden 5 cm^3 Nährlösung und 2 γ Aneurin angewandt. Mit Wasser auf 6 cm^3 verdünnt.

Tabelle 6.
Versuche mit Staphylococcus aureus.
(Sulfanilsäurewirkung bei Anwesenheit von Nicotinsäure-amid bezw. Tetrahydro-nicotinsäure.)

Nicotinsäure-amid M/—	Tetrahydronicotinsäure M/—	Sulfanilsäure $\times \cdot 10^{-5}$ g/cm^3	p-Aminobenzoesäure $\times \cdot 10^{-5}$ g/cm^3	Zuwachs nach 48 Std.
—	—	—	—	0
—	—	—	16	0
100 000	—	—	—	82
100 000	—	—	16	83
100 000	—	100	—	0
100 000	—	100	16	18
100 000	—	100	80	50
100 000	—	100	160	71
100 000	—	100	1600	83
—	100 000	—	—	81
—	100 000	100	16	trübe
—	100 000	100	80	39
—	100 000	100	160	66
—	100 000	100	1600	79

Tabelle 7.

Versuche mit Staphylococcus aureus.
Antagonistische Wirkung von Pyridin-3-sulfonsäure und Nicotinsäure bzw. Tetrahydro-nicotinsäure.

Pyridin-3-sulfonsäure M/—	Nicotinsäure M/—	Tetrahydro-nicotinsäure M/—	Zuwachs nach 48 Std.
—	—	—	0
—	—	50 000	83
100	—	50 000	0
500	—	50 000	52
1000	—	50 000	72
5000	—	50 000	76
—	50 000	—	76
100	50 000	—	0
500	50 000	—	56
1000	50 000	—	62
5000	50 000	—	70

Substrat wie bei früheren Versuchen. Zu jeder Probe ausserdem $M \times 10^{-7}$ Aneurin. Temperatur 37°.

Tabelle 8.

Gärungsversuche, Beeinflussung durch Nicotinsäure, Tetra- und Hexahydro-nicotinsäure.

Zusatz 5 mg	Hemmung %	
	direkt	nach 2 St. Inkubation
Nicotinsäure	30 ± 2	18
Tetrahydro-nicotinsäure	30 ± 2	0
Hexahydro-nicotinsäure.	3	3

Darstellung des Guvacins, Arecaidins und Arecolins aus technischen Rückständen.

Arecaidin, Arecolin.

Die Rückstände waren eine zähe, braune Schmiere, die sich in wenig Wasser klar löste, beim Verdünnen mit mehr Wasser aber schmierige, teerige Produkte abschied. Da die Arecolin-Alkaloide in Wasser leicht löslich sind, bestand der erste Schritt darin, diese löslichen Produkte von den unlöslichen zu trennen. Es zeigte sich, dass bei den vorliegenden Rückständen eine Verdünnung mit ca. dem zehnfachen Volumen Wasser nötig war, bis nach Abscheidung der schmierigen Produkte weitere Verdünnung keine Trübung mehr hervorrief. Wir haben jeweilen 1 Liter der Originalrückstände aufgearbeitet. Um die löslichen Produkte von den zähen, teerigen Begleitstoffen zu trennen, liessen wir 1 Liter des Rohproduktes in 10 Liter Wasser durch 1 resp. 2 Tropftrichter in 5 oder 10 Liter Wasser unter gleichzeitigem starken Turbinieren einfliessen und setzten das Turbinieren so lange fort, bis sich die wässerige Lösung fast ganz geklärt hatte. An den Gefässwandungen und am Rührer setzte sich eine zähe, schwarzbraune Masse ab, von der die Lösung abdekantiert und evt. filtriert wurde. Von den Arecanuss-Alkaloiden, nämlich dem Are-

colin, Arecaidin und Guvacin, ist das Arecolin mit Wasserdämpfen leicht flüchtig, die beiden andern Alkaloide dagegen nicht. Man destillierte daher aus der wässerigen Lösung im Vakuum das Wasser so weit ab, bis insgesamt noch ca. 1 Liter wässerige Lösung vorhanden war. Das Destillat reagierte stark alkalisch; es liess sich auf Arecolin in der Weise verarbeiten, dass man mit etwas weniger als der zur Neutralisation erforderlichen Menge Salzsäure versetzte und dann im Vakuum eindampfte. Es hinterblieb eine krystalline Masse von salzsaurem Arecolin, das praktisch schon rein war.

In dem einen Liter wässerigen Rückstandes von der ersten Destillation im Vakuum waren neben beträchtlichen Mengen Schmieren nur noch Spuren Arecolin und hauptsächlich recht beträchtliche Mengen Arecaidin und bedeutend weniger Guvacin enthalten. Die wässerige Lösung wurde von eventuell vorhandenen Schmieren abgegossen und 4—5-mal mit je ca. 300 cm^3 Äther ausgeschüttelt. Zuletzt war der Ätherextrakt nur noch schwach gefärbt; er wurde nicht weiter verarbeitet. Die wässerige Lösung haben wir im Vakuum vom Wasser so gut wie vollständig befreit. Es hinterblieb eine zähe, pechartige Masse, die sich in ca. 1½ Liter 96-proz. Alkohol durch Kochen am Rückflusskühler in Lösung bringen liess. Nach Literaturangaben soll zwar Arecaidin in Alkohol leichter löslich sein als Guvacin, aber unter den vorliegenden Umständen erhielt man aus der alkoholischen Lösung durch Krystallisation nur Arecaidin. Die Krystallisation des Arecaidins aus dieser Lösung hing von kleinen Konzentrationsänderungen und den Begleitstoffen ab und trotz Impfens dauerte es gewöhnlich längere Zeit, bis Arecaidin auskrystallisierte. Die Lösungen dürfen nicht zu konzentriert sein und auch nicht in die Kälte gestellt werden. Nach längerem Stehen krystallisierte Arecaidin aus. Es wurde auf einer geräumigen Nutsche abgenutscht, gut abgepresst und mit 96-proz. kaltem Alkohol gewaschen, bis es fast farblos war. Man erhielt so gewöhnlich 50—80 g Arecaidin. Dasselbe liess sich durch Aufnehmen in möglichst wenig heissem Wasser, Entfärben mit etwas Tierkohle, Filtrieren der Lösung im Heisswasser-Trichter, Abkühlen und Zusatz von Alkohol leicht in reiner Form erhalten.

Guvacin.

Dieses befand sich in der alkoholischen Mutterlauge des Arecaidins. Der Alkohol wurde abdestilliert, der pechartige Rückstand in ca. ½ Liter Wasser heiss gelöst und mit Tierkohle teilweise entfärbt. Dann haben wir die wässerige Lösung mit konz. Salzsäure stark angesäuert und in einer Porzellanschale bis zu dickflüssiger Konsistenz eingedampft. Besonders nach dem Impfen mit etwas Guvacin und einigen Tagen Stehen war die bräunlich-schwärzliche Masse mit Guvacinhydrochloridkrystallen reichlich durchsetzt. Sie wurde mit Alkohol verrieben und so weit verdünnt, dass sich die Krystalle gut abnutschen liessen. Das Guvacinhydrochlorid, dem Arecaidinhydrochlorid beigemischt war, blieb nach dem Waschen mit Alkohol als grauweisse Masse zurück. Diese wurde in siedendem Wasser gelöst, die Lösung mit Tierkohle entfärbt und durch einen Heisswasser-Trichter filtriert. Dabei schied sich das Guvacinhydrochlorid, das selbst in Wasser ziemlich schwer löslich ist, teilweise ab. Dessen Menge nahm nach Zugabe von konz. Salzsäure zu dem Filtrat noch bedeutend zu. Nach einigem Stehen haben wir die ausgeschiedenen Krystalle abgenutscht, zuerst mit Salzsäure und dann mit Alkohol gewaschen. Sie waren eine Mischung von Guvacinhydrochlorid mit Arecaidinhydrochlorid. Die vollständige Reinigung des Guvacins wurde über die Nitrosoverbindung des Guvacins ausgeführt, die in Wasser sehr wenig löslich ist. Zur Darstellung der Nitrosoverbindung wog man das Gemisch der Hydrochloride, löste es in so viel Wasser, dass es in der Kälte noch gelöst blieb, setzte dann eine gesättigte Lösung mit der berechneten Menge Natriumnitrit hinzu und erwärmte hierauf ca. 15 Minuten unter Umschütteln auf dem Wasserbad. Alsbald begann die Abscheidung des Nitrosoderivates. Nach dem Abkühlen wurde dieses scharf abgenutscht und mit Wasser gut gewaschen. Es war für die Weiterverarbeitung rein genug. Die Mutterlauge des zuerst abgeschiedenen Nitrosoderivates gab beim Konzentrieren noch einige weitere Krystallisationen. Das Nitrosoderivat des Guvacins färbte sich am Licht allmählich gelb.

Aus dem Nitrosoderivat konnte das reine Hydrochlorid des Guvacins leicht isoliert werden, indem man den Nitrosokörper in einem Becherglas mit konz. Salzsäure übergoss und auf dem Wasserbad vorsichtig auf ca. 50° erwärmte. Alsbald setzte lebhafte Gasentwicklung ein. Man erwärmte unter häufigem Umrühren so lange, bis diese Gasentwicklung beendet war, verdünnte etwas mit Wasser, nutschte ab und wusch zuerst mit etwas verdünnter Salzsäure, dann mit Alkohol nach. Das Guvacinhydrochlorid war dann rein. Die Ausbeute aus 1 Liter Rohprodukt schwankte zwischen 15 und 18 g Guvacinhydrochlorid. Wir haben das zuerst abgeschiedene Arecaidin regelmässig durch Behandlung mit Natriumnitrit darauf untersucht, ob es evt. Guvacin beigemischt enthielt, aber niemals Guvacin gefunden.

N-Nitrosoguvacin-methylester.

Wird Guvacin-methylester-hydrochlorid mit der berechneten Menge Natriumnitrit in wässeriger Lösung versetzt, so tritt auch beim gelinden Erwärmen, im Gegensatz zum Guvacinhydrochlorid, keine Reaktion ein. Die Reaktion beginnt erst nach Zusatz von etwas Salzsäure. Die wässerige Lösung trübt sich alsbald und ein gelbliches Öl scheidet sich ab, das in Äther aufgenommen wird. Es krystallisierte nicht, wurde im Hochvakuum getrocknet, und da es den für den Nitrosoguvacin-methylester richtigen Stickstoffgehalt (16,1%) zeigte, direkt weiter verarbeitet. Wir haben es im Bombenrohr 3 Tage mit flüssigem Ammoniak aufbewahrt, dann das Ammoniak verdunstet und im Vakuum vollkommen entfernt. Es hinterblieb eine zähe, braune, schaumige Masse, die in Äther und Chloroform unlöslich, in Äthanol sehr wenig löslich, in Wasser spielend mit stark alkalischer Reaktion löslich war. Durch Auskochen mit Äthanol liess sich eine in Blättchen krystallisierte Verbindung isolieren, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren bei 172° schmolz. Die alkoholische Lösung reagierte stark alkalisch und gab mit alkoholischer Salzsäure ein Hydrochlorid, das aus wenig Wasser umkrystallisiert bei 227—228° schmolz.

Analyse der Verbindung vom Smp. 172°:

$C_6H_{12}O_2N_4$ Ber. C 41,83 H 6,98 N 32,55%
Gef. „ 41,27 „ 6,64 „ 32,34%

Hydrochlorid.

$C_6H_{12}O_2N_4 \cdot HCl$ Ber. N 26,79 Gef. N 26,79%

Somit war N-Nitroso-4-aminopiperidin-3-carbonsäure-amid entstanden.

N-Carbäthoxy-guvacin.

Guvacinhydrochlorid wurde in möglichst konzentrierter wässeriger Lösung mit der zur Neutralisation der Salzsäure nötigen Menge (½ Mol) konz. Na_2CO_3-Lösung versetzt, sodann mit $1^1/_4$ Mol frisch destilliertem Chlorkohlensäure-äthylester und hierauf innerhalb von ca. 30 Minuten unter häufigem Umschütteln mit der berechneten Menge konz. Na_2CO_3-Lösung in 3 Portionen behandelt. Nach einigen Stunden Stehen und häufigem Digerieren war die CO_2-Entwicklung vollkommen abgeklungen. Die trübe Lösung wurde mit Äther ausgeschüttelt, der Ätherextrakt getrocknet. Nach dem Vertreiben des Äthers hinterblieb ein fast farbloses Öl, das langsam krystallisierte. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Benzol und Pentan-Zusatz lag der Schmelzpunkt der Verbindung bei 78°.

$C_9H_{14}O_4N$ Ber. C 53,97 H 7,0 N 7,0%
Gef. „ 54,08 „ 6,53 „ 7,07%

N-Carbäthoxy-guvacinamid.

N-Carbäthoxy-guvacin wurde mit frisch destilliertem Thionylchlorid übergossen und die Reaktionsmasse auf ca. 35° bis zur Beendigung der Gasentwicklung erwärmt. Hierauf entfernte man das überschüssige Thionylchlorid im Vakuum unter gelindem Erwärmen. Das zurückbleibende zähe Öl wurde mit bei 0° mit trockenem Ammoniak gesättigtem absolutem Äther übergossen und dann durch die Flüssigkeit noch einige Zeit trockenes Ammoniak geleitet. Dabei ging das Öl in Lösung und es schied sich ein in Äther

unlöslicher weisser Körper ab, den wir abnutschten und mit Äther wuschen. Die Ätherlösung enthielt nur Spuren Substanz. Der in Äther unlösliche Teil wurde mit wenig Wasser übergossen, das Ungelöste abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Diese Verbindung krystallisierte aus heissem absolutem Alkohol in derben Nadeln, aus wenig warmem Wasser in schönen klaren Prismen. Sie ist ziemlich schwer löslich in kaltem Äthanol, wenig löslich in kaltem Wasser. Schmelzpunkt 136—137°. Nach der Analyse lag das N-Carbäthoxy-guvacinamid vor.

$C_9H_{14}N_2O_3$	Ber. C 54,51	H 7,11	N 14,12%
	Gef. „ 54,50	„ 7,41	„ 13,96%

Stockholm, Biochemisches Institut der Universität.
Zürich, Chemisches Institut der Universität.

---

44. Steroide und Sexualhormone

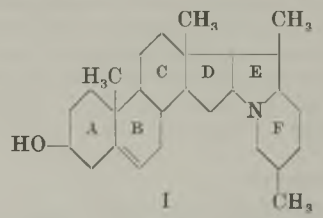
(92. Mitteilung [1]))

Über die stereoisomeren Dihydro-solanidine

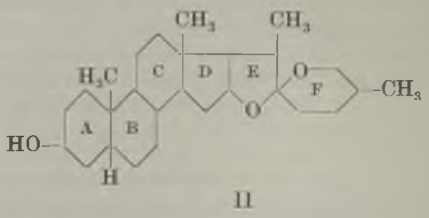
von **V. Prelog** und **S. Szpilfogel.**

(8. II. 44.).

Die in einer früheren Mitteilung[2]) vorgeschlagene Formel (I) für Solanidin regte zu Versuchen an, ausgehend von Sapogeninen der Diosgenin-Gruppe Solanidin-Derivate herzustellen. Solche Versuche gewinnen für die Konstitutionsermittlung des Solanidins deshalb an Bedeutung, weil es trotz mehrerer Versuche[3]) nicht gelang, durch Abbau der stickstoffhaltigen Ringe E und F das Solanidin in ein bekanntes stickstoff-freies Steroid überzuführen. Von den Sapogeninen der Diosgenin-Gruppe stand uns wegen der Kriegsverhältnisse nur das Sarsasapogenin (II)[4]) zur Verfügung. Nach der Formel (I) unterscheidet sich das Solanidin von dem Sarsasapogenin unter anderem dadurch, dass es eine Doppelbindung zwischen den Kohlenstoffatomen 5 und 6 enthält, während das Sarsasapogenin gesättigt ist und eine cis-Verknüpfung der beiden Ringe A und B aufweist.



I



II

[1]) 91. Mitteilung: Helv. **27**, 186 (1944).

[2]) *V. Prelog* und *S. Szpilfogel*, Helv. **25**, 1306 (1942).

[3]) Vgl. *H. Rochelmeyer*, Arch. Pharm. **280**, 453 (1942). Auch unsere zahlreichen Versuche waren bisher ohne Erfolg.

[4]) Vgl. *R. E. Marker* und *E. Rohrmann*, Am. Soc. **61**, 846 (1939).

Auf Grund der Formel (I) leiten sich von Solanidin zwei sauerstoffreie, gesättigte Grundkörper, Solanidane, ab, welche sich durch die cis- und trans-Stellung der Ringe A und B unterscheiden. Bisher sind nur die Derivate eines gesättigten Grundkörpers, welchen wir weiter Solanidan nennen wollen und dem sehr wahrscheinlich die trans-Konfiguration der Ringe A und B zukommt, bekannt. Die Derivate des anderen Grundkörpers mit der cis-Stellung der Ringe A und B, den wir allo-Solanidan nennen, waren bisher nicht bekannt[1]). Um Vergleichsmaterial mit den aus Sarsasapogenin herzustellenden stickstoffhaltigen Verbindungen[2]) zu erhalten, untersuchten wir die Hydrierung des Solanidins und seiner Derivate etwas näher, wobei wir besondere Aufmerksamkeit den Derivaten des allo-Solanidans widmeten. Ein weiterer Zweck unserer Untersuchung war, die von früheren Autoren betonte Ähnlichkeit im Verhalten des Solanidins mit dem der Steroide durch weitere Versuche zu prüfen und dadurch die Formel (I) auf indirektem Wege zu stützen.

Die Hydrierung des Solanidins, welches die Konstitution eines Δ^5-Solaniden-ols-(3β) (I = III) besitzen dürfte, führt zu einem Dihydro-Derivat vom Smp. 220–222°[3]). Wenn sich das Solanidin bei der Hydrierung ähnlich wie die Steroide verhält, so kommt dieser Verbindung die Konstitution eines Solanidan-ols-(3β) (VII) zu. Nach *H. Rochelmeyer*[4]) entsteht daraus bei der Oxydation nach *Oppenauer* das Solanidan-on-(3) (V), welches durch katalytische Hydrierung mit Platinoxyd in Essigsäure in das Solanidan-ol-(3β) zurückverwandelt werden konnte, während durch Hydrierung unter Zusatz von Bromwasserstoffsäure ein neues Produkt von Smp. 192° erhalten wurde. Dieses war zum Unterschied von Solanidan-ol-(3β) nicht fällbar mit Digitonin und wurde von *Rochelmeyer* als das Solanidan-ol-(3α) angesehen. Wir wiederholten diese letztere Art der Hydrierung des Solanidan-ons-(3) und erhielten tatsächlich ein mit Digitonin nicht fällbares Produkt vom Smp. 190°. Die Analyse zeigte jedoch, dass es sich um das Acetyl-Derivat eines Solanidan-ols handelt[5]). Erst die Verseifung mit Kalilauge und die Behandlung des Verseifungsproduktes mit Digitonin führte zum wahren Solanidan-ol-(3α) (X), welches nun einen bedeutend höheren Smp. 211,5°—212,5° besass.

---

[1]) *H. Rochelmeyer* (Arch. Pharm. **277**, 344 (1939)) erwähnt, dass er seine Versuche zur Herstellung solcher Verbindungen aus äusseren Gründen abbrechen musste.

[2]) Über die entsprechenden Versuche werden wir in einer späteren Mitteilung berichten.

[3]) „Tetrahydro-solanidin" bei *A. Soltys*, B. **66**, 764 (1933); *F. Bergel* und *R. Wagner*, B. **66**, 1096 (1933).

[4]) Arch. Pharm. **277**, 353 (1939).

[5]) Die von *Rochelmeyer* für sein Produkt vom Smp. 192° angeführten Analysenzahlen stimmen merkwürdigerweise für nicht acetyliertes Dihydro-solanidin.

Um zu beweisen, dass die von uns hergestellte Verbindung wirklich mit dem Solanidan-ol-(3β) am Kohlenstoffatom 3 epimer ist, führten wir noch folgende Versuche durch. Solanidan-ol-(3β) wurde in sein p-Toluolsulfo-Derivat (IX) verwandelt und dieses mit wasserfreiem Natriumacetat umgesetzt[1]). Durch alkalische Verseifung des so erhaltenen Acetyl-Derivates wurde dann dasselbe Solanidan-ol-(3α) (X) vom Smp. 212—213° gewonnen. Beide Solanidan-ole-(3), α und β, gaben nach der Wasserabspaltung mit Borsäure-anhydrid dasselbe Solaniden. Aus einem Vergleich der Drehungsvermögen mit Δ^2- bzw. Δ^3-Cholesten lässt sich schliessen, dass es sich wahrscheinlich um das Δ^2-Solaniden handelt (XVI). Letztere Verbindung wurde schon früher von *F. Bergel* und *R. Wagner*[2]) durch thermische Zersetzung des Palmityl-solanidan-ols-(3β) erhalten. Die katalytische Hydrierung des Solanidens führte zu dem bekannten Solanidan (XVII)[3]).

Als Ausgangsmaterial für die Herstellung der allo-Solanidan-Derivate diente uns das α,β-ungesättigte Keton, Δ^4-Solaniden-on-(3) (VI), welches aus Solanidin durch Dehydrieren mit Naturkupfer C[4]) oder durch Oxydation nach *Oppenauer*[5]) leicht erhältlich ist. Die katalytische Hydrierung dieser Verbindung mit platiniertem *Raney*-Nickel in alkalischem Medium führte zu einem Gemisch von Dihydro-solanidinen, aus welchen sich die beiden bisher nicht bekannten allo-Solanidan-ole-(3), α und β, direkt isolieren liessen, während das Vorliegen wenigstens eines der beiden oben schon erwähnten Solanidan-ole-(3) in indirekter Weise bewiesen wurde. Aus dem kleinen mit Digitonin fällbaren Anteil des Hydrierungsgemisches konnten wir ein noch unbekanntes Dihydro-solanidin vom Smp. 216—217,5° isolieren, welchem wegen seiner Verschiedenheit vom Solanidan-ol-(3β) sowie auf Grund der Fällbarkeit mit Digitonin die Konstitution eines allo-Solanidan-ols-(3β) (XII) zuzuschreiben ist. Aus Mangel an Material konnte die Konstitution dieser Verbindung nicht schärfer bewiesen werden.

Aus dem mit Digitonin nicht fällbaren Anteil erhielten wir durch häufiges Umkrystallisieren ein viertes neues Dihydro-solanidin vom Smp. 212—214°, welchem daher wohl die Konstitution eines allo-Solanidan-ols-(3α) (XIV) zukommt. Nach Wasserabspaltung mit Borsäure-anhydrid erhielten wir daraus das bisher unbekannte allo-Solaniden (XVIII), dessen Hydrierung zum zweiten gesättigten Grundkörper, dem allo-Solanidan (XIX), führte.

---

[1]) Vgl. *Pl. A. Plattner* und *A. Fürst*, Helv. **26**, 2269 (1943).

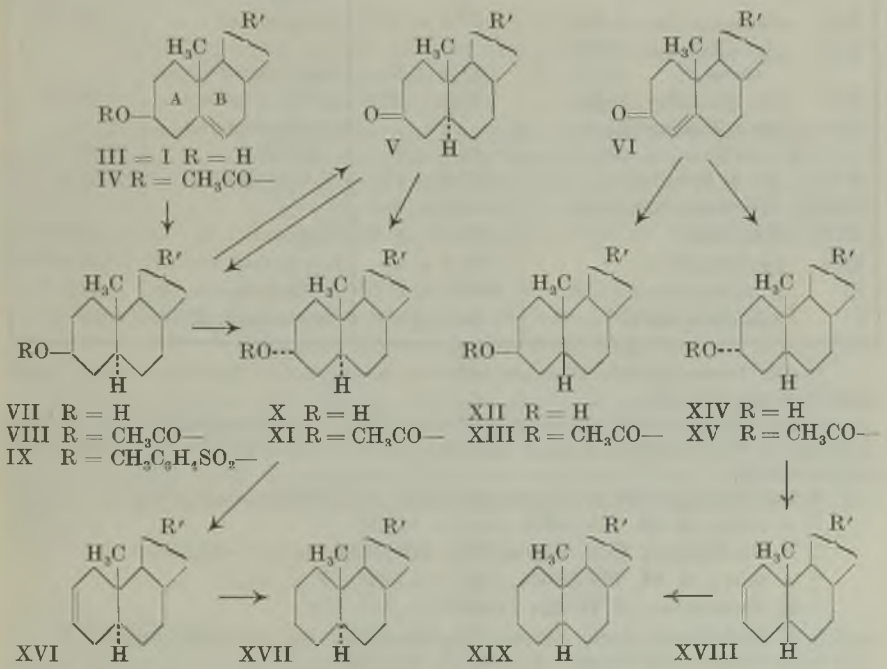
[2]) B. **66**, 1096 (1933), die Verbindung wird dort „Dihydro-solaniden" genannt.

[3]) „Tetrahydro-solaniden" bei *F. Bergel* und *R. Wagner* (B. **66**, 1096 (1933)) oder „Tetrahydro-solanthren" bei *H. Dieterle* und *H. Rochelmeyer* (Arch. Pharm. **273**, 539 (1935)).

[4]) *Cl. Schöpf* und *R. Herrmann*, B. **66**, 303 (1933).

[5]) *H. Rochelmeyer*, Arch. Pharm. **277**, 350 (1933).

Neben den beiden allo-Solanidan-olen-(3) konnten wir aus dem durch Hydrierung von Δ^4-Solaniden-on-(3) erhaltenen Gemisch durch Krystallisation und chromatographische Analyse keine weiteren einheitlichen Verbindungen isolieren. Das Vorkommen eines oder beider Solanidan-ole-(3) wurde jedoch nach der Epimerisierung bewiesen. Das nach dem Abtrennen der beiden allo-Solanidan-ole-(3) verbleibende Gemisch wurde mit Natrium in Xylol erhitzt[1]) und das Reaktionsprodukt mit Digitonin gefällt. Aus dem schwer löslichen Digitonid liess sich nun leicht das Solanidan-ol-(3β) (VII) gewinnen, während der mit Digitonin nicht fällbare Anteil noch eine weitere Menge allo-Solanidan-ol-(3α) (XIV) ergab. Das im Hydrierungsgemisch wohl anwesende Solanidan-ol-(3α) ist bei der Epimerisierung in das β-Isomere umgelagert worden. Der Reaktionsverlauf bei der Hydrierung des Δ^4-Solaniden-ons-(3) lässt sich also gut verstehen bei Annahme einer vollständigen Übereinstimmung mit der Hydrierung des Δ^4-Cholesten-ons-(3).



Die Entstehung des γ-Methyl-cyclopenteno-phenanthrens[2]) und des 2-Äthyl-5-methyl-pyridins[3]) bei der Dehydrierung können als Beweis für das Vorliegen des Cholesterin-Gerüstes im Solanidin be-

[1]) Vgl. *R. Schoenheimer* und *E. A. Evans, jr.*, J. Biol. Chem. **114**, 580 (1936).
[2]) *A. Soltys* und *K. Wallenfels*, B. **69**, 811 (1936).
[3]) *V. Prelog* und *S. Szpilfogel*, Helv. **25**, 1306 (1942).

wertet werden. Durch die Herstellung der vier stereoisomeren Dihydrosolanidine, und der beiden gesättigten Grundkörper, des Solanidans und des allo-Solanidans kommt auch die Analogie im stereochemischen Verhalten von Solanidin und Cholesterin zum Vorschein. Eine überraschende Ähnlichkeit zeigt auch das Drehungsvermögen der analogen Derivate, wie aus der Tabelle I ersichtlich ist. In dieser sind

Tabelle I.

Formel	Solanidin-Reihe	$[\alpha]_D$ [1]	Cholesterin-Reihe	$[\alpha]_D$ [1]
III	Solanidin = Δ^5-Solanidenol-(3β)	$-27{,}0 \pm 4^0$ [2]	Cholesterin . . .	-37^0 [9]
IV	Solanidin-acetat	$-32{,}5 \pm 2^0$ [3]	Cholesterin-acetat	$-42{,}5^0$ [9]
VII	Solanidan-ol-(3β) . . .	$+28{,}2 \pm 4^0$ [4]	Cholestanol . . .	$+28{,}4^0$ [9]
VIII	Solanidan-ol-(3β)-acetat	$+16{,}5 \pm 2^0$	Cholestanol-acetat	$+17{,}7^0$ [9]
X	Solanidan-ol-(3α)	$+31{,}9 \pm 4^0$ [5]	epi-Cholestanol .	$+32{,}2^0$ [10]
XI	Solanidan-ol-(3α)-acetat .	$+21{,}9 \pm 3^0$	epi-Cholestanol-acetat	
XII	allo-Solanidan-ol-(3β) . .	$+27{,}9 \pm 2^0$	Koprostanol . . .	$+28^0$ [11]
XIII	allo-Solanidan-ol-(3β)-acetat.	$+31{,}4 \pm 3^0$	Koprostanol-acetat	
XIV	allo-Solanidan-ol-(3α) . .	$+34{,}5 \pm 3^0$	epi-Koprostanol .	$+31^0$ [12]
XV	allo-Solanidan-ol-(3α)-acetat.	$+45{,}2 \pm 3^0$	epi-Koprostanol-acetat	$+44^0$ [12]
XVI	Δ^2-(?)-Solaniden	$+67{,}9 \pm 1^0$	Δ^2-Cholesten . .	$+65{,}5^0$ [13]
XVIII	Δ^2-(?)-allo-Solaniden . .	$+34{,}0 \pm 3^0$		
XVII	Solanidan	$+33{,}1 \pm 2^0$ [6]	Cholestan	$+24{,}4^0$ [14]
XIX	allo-Solanidan	$+34{,}8 \pm 4^0$	Koprostan . . .	$+27{,}2^0$ [15]
VI	Δ^4-Solaniden-on-(3) . .	$+89{,}0 \pm 1^0$ [7]	Δ^4-Cholesten-on-(3)	$+88{,}6^0$ [16]
V	Solanidan-on-(3)	$+45{,}8 \pm 2^0$ [8]	Cholestan-on-(3) .	$+40^0$ [17]

[1]) Alle Drehungswerte beziehen sich auf Lösungen in Chloroform, wenn nichts anderes angegeben ist.

[2]) Die Messung wurde mit einem analytisch reinen Präparat ausgeführt (c = 0,635). *A. Soltys*, B. **66**, 764 (1933): $[\alpha]_D = -27{,}3^0$; *G. R. Clemo* und Mitarb., Soc. **1936**, 1299: $[\alpha]_D = -28{,}5^0$.

[3]) Die Messung wurde mit einem analytisch reinen Präparat ausgeführt (c = 1,22).

[4]) *A. Soltys*, B. **66**, 764 (1933): $[\alpha]_D = +28{,}8^0$.

[5]) *H. Rochelmeyer*, Arch. Pharm. **277**, 340 (1939): $[\alpha]_D = +20{,}65^0$.

[6]) *A. Soltys*, B. **66**, 765 (1933): $[\alpha]_D = +30{,}4^0$.

[7]) *H. Rochelmeyer*, B. **71**, 231 (1938): $[\alpha]_D = +152^0$.

[8]) *H. Rochelmeyer*, Arch. Pharm. **277**, 353 (1939): $[\alpha]_D = +48{,}9^0$ in Benzol.

[9]) *H. Wieland* und Mitarb., A. **548**, 27, 29 (1941).

[10]) *J. Barnett, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones* und *K. J. Verrill*, Soc. **1940**, 1392.

[11]) *H. Grasshof*, Z. physiol. Ch. **225**, 198 (1934).

[12]) *L. Ruzicka* und *M. W. Goldberg*, Helv. **18**, 670 (1935).

[13]) *A. E. Sobel* und *M. J. Rosen*, Am. Soc. **63**, 3536 (1942).

[14]) *J. Mauthner*, M. **30**, 642 (1909).

[15]) *H. E. Stavely* und *W. Bergmann*, J. Org. Chem. **1**, 578 (1937).

[16]) *A. Butenandt* und *A. Wolff*, B. **68**, 2094 (1935); kein Lösungsmittel angegeben.

[17]) *B. Heath-Brown, I. M. Heilbron* und *E. R. H. Jones*, Soc. **1940**, 1483.

die von uns gemessenen Drehungswerte der Solanidin-Derivate den bekannten Drehungswerten der analogen Cholesterin-Derivate gegenübergestellt. Die Übereinstimmung des Drehungsvermögens[1]) in den beiden Verbindungs-Reihen ist ebenso wie das analoge chemische Verhalten eine starke Stütze für die in Formel I angenommene Verwandtschaft des Solanidins mit Cholesterin.

Der *Rockefeller-Foundation* in *New York* und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in *Basel* danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[2]).

Solanidan-ol-(3β) (VII).

1,46 g Solanidin wurden in 80 cm³ Eisessig mit einem Katalysator aus 150 mg Platinoxyd hydriert. Nach Aufnahme von 70 cm³ Wasserstoff (0°, 760 mm) kam die Hydrierung zum Stillstand. Der Katalysator wurde darauf abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum verdampft. Den Rückstand löste man in Wasser auf und fällte mit verdünntem Ammoniak. Der ausgefallene Niederschlag wurde abfiltriert, getrocknet und aus Chloroform-Aceton umkrystallisiert, Smp. 220°[3]). Zur Analyse wurde 17 Stunden bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D^{18} = +28{,}2^0$ ($\pm$ 4°) (c = 0,41)[4])

3,841 mg Subst. gaben 11,425 mg CO_2 und 3,944 mg H_2O

$C_{27}H_{45}ON$	Ber. C 81,14	H 11,35%
	Gef. „ 81,17	„ 11,49%

Acetat (VIII). 100 mg Solanidan-ol-(3β) wurden in 1,5 cm³ Pyridin gelöst und mit 1,3 cm³ Acetanhydrid über Nacht stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch versetzte man darauf mit Wasser und Ammoniak und schüttelte mit Äther aus. Das rohe Acetat, welches nach dem Verdampfen des Äthers zurückblieb, wurde aus Chloroform-Aceton bis zum konstanten Smp. 196°[5]) umkrystallisiert. Zur Analyse wurde 17 Stunden bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D^{18} = +16{,}5^0$ ($\pm$ 2°) (c = 1,229)

3,808 mg Subst. gaben 10,994 mg CO_2 und 3,707 mg H_2O

$C_{29}H_{47}O_2N$	Ber. C 78,86	H 10,73%
	Gef. „ 78,79	„ 10,89%

p-Toluolsulfonat (IX). 200 mg Solanidan-ol-(3β) liess man in 4,5 cm³ Pyridin mit 200 mg p-Toluolsulfonsäure-chlorid über Nacht stehen. Die rotbräunliche Lösung wurde mit 50 cm³ Wasser versetzt, der ausgefallene Niederschlag abfiltriert und mit viel Wasser gewaschen, Nach mehrmaligem Umlösen aus wässrigem Aceton schmolz die Verbindung bei 169,5—170°. Zur Analyse wurde 20 Stunden bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

3,688 mg Subst. gaben 9,988 mg CO_2 und 3,067 mg H_2O

$C_{34}H_{51}O_3NS$	Ber. C 73,73	H 9,28%
	Gef. „ 73,91	„ 9,31%

---

[1]) Einen Vergleich des Drehungsvermögens bei analogen Derivaten des Solanidins und des Cholesterins führte schon *H. Rochelmeyer* mit den von ihm hergestellten Verbindungen durch (B. **71**, 230 (1938); Arch. Pharm. **277**, 343 (1939)). Die von ihm angegebenen Drehungswerte sind teilweise ungenau, vgl. Anm. 5 und 7, S. 394.

[2]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

[3]) *A. Soltys*, B. **66**, 764 (1933), „Tetrahydro-solanidin", Smp. 222°; *F. Bergel* und *R. Wagner*, B. **66**, 1096 (1933): Smp. 222°.

[4]) Das Drehungsvermögen wurde stets in einem 1 dm Rohr bestimmt, als Lösungsmittel diente reines Chloroform.

[5]) *F. Bergel* und *R. Wagner*, B. **66**, 1096 (1933): Smp. 195°.

Solanidan-on-(3) (V).

150 mg Solanidan-ol-(3β) wurden in 20 cm³ absolutem Benzol mit 8 cm³ trockenem Aceton und 1 g Aluminium-phenolat 17 Stunden unter Feuchtigkeitsabschluss am Rückfluss gekocht. Das Reaktionsprodukt wurde mit Wasser und Natronlauge versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Der Rückstand nach dem Verdampfen des Äthers wurde in Benzol gelöst und über 4,5 g Aluminiumoxyd (Akt. I) chromatographiert. Das aus den Benzol-Eluaten erhaltene Solanidan-on-(3) bildete nach Umlösen aus Essigester farblose Krystalle und schmolz bei 210—212°[1]). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 180° sublimiert.

$[\alpha]_D^{17} = +45{,}8^0$ ($\pm$ 2°) (c = 1,18)

3,656 mg Subst. gaben 10,923 mg CO_2 und 3,550 mg H_2O

$C_{27}H_{43}ON$	Ber. C 81,55	H 10,90%
	Gef. „ 81,53	„ 10,87%

Solanidan-ol-(3α) (X).

a) Aus Solanidan-on-(3) durch Hydrierung.

200 mg Solanidan-on-(3) wurde in 10 cm³ Eisessig, welchem 20 Tropfen 48-proz. Bromwasserstoffsäure zugegeben wurde, mit einem Katalysator aus 100 mg Platinoxyd bei Zimmertemperatur hydriert. Nach 8 Stunden war die Wasserstoffabsorption beendet. Wasserstoffverbrauch: ber. 11,2 cm³, gef. 10,8 cm³ (0°, 760 mm). Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde das Hydrierungsprodukt in 100 cm³ Alkohol gelöst und mit 1 g Digitonin in 50 cm³ 80-proz. Alkohol gefällt. Der mit Digitonin nicht gefällte Anteil schmolz nach mehrmaligem Umlösen aus Methylenchlorid-Methanol bei 190°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 165° sublimiert.

$[\alpha]_D^{17} = +18{,}0^0$ ($\pm$ 2°) (c = 1,449)

3,680 mg Subst. gaben 10,621 mg CO_2 und 3,513 mg H_2O

$C_{27}H_{45}ON$	Ber. C 81,14	H 11,35%
$C_{29}H_{47}O_2N$	Ber. „ 78,86	„ 10,73%
	Gef. „ 78,76	„ 10,68%

Es lag demnach ein Solanidan-ol-acetat vor. 150 mg des Hydrierungsproduktes wurden deshalb durch 3-stündiges Kochen am Rückfluss mit 25 cm³ 0,5-n. methylalkoholischer Kalilauge verseift. Das Verseifungsprodukt löste man in 75 cm³ Alkohol und fällte mit 750 mg Digitonin in 37 cm³ 80-proz. Alkohol. Man erhielt diesmal 70 mg eines mit Digitonin nicht fällbaren Anteils, welcher nach mehrmaligem Umlösen aus Methylenchlorid-Methanol den konstanten Smp. 211—212,5° zeigte[2]). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 160° sublimiert.

$[\alpha]_D^{18} = +31{,}9^0$ ($\pm$ 4°) (c = 0,367)

2,259 mg Subst. gaben 6,735 mg CO_2 und 2,266 mg H_2O

$C_{27}H_{45}ON$	Ber. C 81,14	H 11,35%
	Gef. „ 81,36	„ 11,22%

Acetat (XI). Auf übliche Weise hergestellt, schmolz das Acetat des Solanidan-ols-(3α) bei 174—176°. Es wurde zur Analyse im Hochvakuum bei 160° sublimiert.

$[\alpha]_D^{15} = +21{,}9^0$ ($\pm$ 3°) (c = 0,644)

3,689 mg Subst. gaben 10,652 mg CO_2 und 3,497 mg H_2O

$C_{29}H_{47}O_2N$	Ber. C 78,86	H 10,73%
	Gef. „ 78,80	„ 10,61%

[1]) *H. Rochelmeyer*, Arch. Pharm. **277**, 353 (1939): gelbe Krystallblättchen Smp. 214° (unkorr.).

[2]) *H. Rochelmeyer*, Arch. Pharm. **277**, 354 (1939): Smp. 192° (unkorr.).

b) Aus Solanidan-ol-(3β)-toluolsulfonat.

230 mg Solanidan-ol-(3β)-toluolsulfonat und 230 mg wasserfreies Natriumacetat wurden in 5 cm³ Eisessig 1 Stunde am Rückfluss gekocht. Darauf dampfte man im Vakuum ein, löste den Rückstand in Wasser und fällte mit Ammoniak. Der Niederschlag wurde in Äther aufgenommen und die ätherische Lösung zur Trockne eingedampft. Den öligen Rückstand verseifte man 3 Stunden am Rückfluss mit 30 cm³ 0,5-n. methylalkoholischer Kalilauge. Das Verseifungsprodukt wurde über 6 g Aluminiumoxyd (Akt. I) chromatographisch gereinigt. Aus den Benzol-Eluaten erhielten wir 85 mg Solaniden. Das Produkt aus den Äther-Methanol-Eluaten (90 mg) schmolz nach dem Umlösen aus Methylenchlorid-Methanol bei 203—205,5°. 35 mg wurde nochmals durch Fällen mit Digitonin auf übliche Weise gereinigt, wobei eine geringe Menge eines flockigen Niederschlages ausfiel. Aus dem nicht gefällten Anteil (30 mg) erhielten wir nach dem Umkrystallisieren aus Methylenchlorid-Methanol das Solanidan-ol-(3α) vom Smp. 212,5—213,5°, welches mit dem früher erhaltenen Produkt keine Schmelzpunktserniedrigung zeigte.

Δ^2-(oder Δ^3-)Solaniden (XVI).

100 mg Solanidan-ol-(3β) wurden mit 300 mg Borsäure-anhydrid gut vermischt und in einem Kugelrohr im Hochvakuum schnell auf 290—300° erhitzt. Es destillierte eine fast farblose, krystalline Verbindung, welche aus Chloroform-Methanol umkrystallisiert wurde und bei 165°[1]) schmolz. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 140° sublimiert.

$$[\alpha]_D^{13} = +67{,}9^0 \ (\pm\ 1^0) \ (c = 2{,}46)$$

3,670 mg Subst. gaben 11,425 mg CO_2 und 3,699 mg H_2O

$C_{27}H_{43}N$	Ber. C 84,97	H 11,36%
	Gef. „ 84,96	„ 11,28%

Dasselbe Produkt erhielten wir auf analoge Weise aus Solanidan-ol-(3α).

Solanidan (XVII).

150 mg Δ^2-Solaniden wurden in 20 cm³ Eisessig mit 15 mg Platinoxyd hydriert. Nach 2 Stunden war die Hydrierung beendet. Wasserstoffverbrauch: ber. 8,8 cm³, gef. 10,0 cm³ (0°, 760 mm). Die Lösung des Hydrierungsproduktes wurde vom Katalysator abfiltriert, im Vakuum eingedampft, aus der wässrigen Lösung des Rückstandes wurde die Base mit Ammoniak in Freiheit gesetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Das erhaltene rohe Solanidan wurde aus Chloroform-Methanol bis zum konstanten Smp. 161,5—162,5°[2]) umkrystallisiert und zur Analyse 20 Stunden im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

$$[\alpha]_D^{17} = +33{,}1^0 \ (\pm\ 2^0) \ (c = 0{,}975)$$

3,810 mg Subst. gaben 11,800 mg CO_2 und 4,025 mg H_2O

$C_{27}H_{45}N$	Ber. C 84,52	H 11,82%
	Gef. „ 84,52	„ 11,82%

Δ^4-Solaniden-on-(3) (VI).

2,80 g Solanidin wurden in 250 cm³ Benzol mit 54 cm³ trockenem Aceton und 8 g tert. Aluminium-butylat 18,5 Stunden am Rückfluss gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde auf Wasser gegossen und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherauszüge wurden mit verdünnter Natronlauge und Wasser neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Den Rückstand chromatographierte man über 80 g Aluminiumoxyd (Akt. I). Neben 2,55 g Δ^4-Solaniden-on, das sich in den Benzol-Eluaten befand, konnten aus den Äther-

[1]) *F. Bergel* und *R. Wagner*, B. **66**, 1096 (1933): „Dihydro-solaniden" Smp. 165°.

[2]) *F. Bergel* und *R. Wagner*, B. **66**, 1096 (1933): „Tetrahydro-solanthren" „Tetrahydro-solaniden" Smp. 163—164°. *H. Dieterle* und *H. Rochelmeyer*, Arch. Pharm. **273**, 539 (1935): „Tetrahydro-solanthren" Smp. 164—165°.

Methanol-Eluaten 0,20 g Solanidin zurückgewonnen werden. Das Keton wurde aus Alkohol mehrmals umgelöst und zur Analyse bei 185-190° im Hochvakuum sublimiert. Es zeigte ein Absorptionsmaximum bei 240 mμ, $\log \varepsilon = 4{,}2$. Die Eigenschaften und besonders das Drehungsvermögen änderten sich nicht beim Kochen mit alkoholischer Salzsäure. Schmelzpunkt der Verbindung 213—216,5°[1]).

$$[\alpha]_D^{20} = +89{,}0^0 \ (\pm 1^0) \ (c = 2{,}41)$$

3,706 mg Subst. gaben 11,133 mg CO_2 und 3,455 mg H_2O

$C_{27}H_{41}ON$	Ber. C 81,97	H 10,45%
	Gef. „ 81,98	„ 10,43%

Dasselbe Produkt mit dem gleichen Drehungsvermögen erhielten wir auch durch Oxydation von Solanidin mit Aluminium-phenolat.

Katalytische Hydrierung von Δ^4-Solaniden-on-(3).

1,08 g Δ^4-Solaniden-on-(3) wurden in 250 cm³ Feinsprit gelöst und nach Zusatz von 200 mg Natriumhydroxyd mit einem platinierten *Raney*-Nickel-Katalysator hydriert. Der Katalysator wurde auf übliche Weise aus 5 g Nickel-Aluminium-Legierung mit 10-proz. Natronlauge hergestellt, gewaschen und mit 10% Platin(IV)-chlorid-Lösung unter Zusatz von 10 cm³ 10-proz. Natronlauge unter Erwärmen platiniert. Nach der Platinierung wurde mit Wasser und Feinsprit gewaschen[2]). Die Hydrierung dauerte 3 Stunden. Wasserstoffverbrauch 130 cm³ einschliesslich der vom Katalysator verbrauchten Menge, ber. 125 cm³ (0°, 760 mm). Das Hydrierungsprodukt wurde vom Katalysator abfiltriert, im Vakuum vom Lösungsmittel befreit, in Äther aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Nach dem Verdampfen des Äthers verbleiben 1,08 g eines weissen Rückstandes, welcher in 500 cm³ Alkohol gelöst und mit einer Lösung von 5 g Digitonin in 250 cm³ 80-proz. Alkohol gefällt wurde. Das unlösliche Digitonid wurde nach 24 Stunden abzentrifugiert und dreimal mit 20 cm³ Alkohol gewaschen. Die alkoholischen Mutterlaugen des Digitonids dampfte man im Vakuum zur Trockne ein. Beide Anteile wurden auf gewohnte Weise durch Lösen in Pyridin und Fällen mit Äther zersetzt. Man erhielt 140 mg eines mit Digitonin fällbaren und 890 mg eines nicht fällbaren Anteils.

allo-Solanidan-ol-(3β) (XII).

Die mit Digitonin fällbaren Anteile (140 mg) von der Reduktion des Δ^4-Solanidenons-(3) wurden in 15 cm³ Benzol gelöst und über 4,2 g Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert. Aus den weissen, krystallinen Benzol-Äther-Eluaten erhielten wir durch mehrmaliges Umlösen aus Methylenchlorid-Methanol eine Verbindung mit dem konstanten Smp. 216—217,5°. Diese gab mit Solanidan-ol-(3β) eine Schmelzpunktserniedrigung von 25°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 170—185° sublimiert.

$$[\alpha]_D^{17} = +27{,}9^0 \ (\pm 2^0) \ (c = 0{,}81)$$

3,607 mg Subst. gaben 10,704 mg CO_2 und 3,570 mg H_2O

$C_{27}H_{45}ON$	Ber. C 81,14	H 11,35%
	Gef. „ 80,98	„ 11,08%

Das Acetat (XIII), Smp. 140—141°, wurde mit Pyridin und Acetanhydrid hergestellt und zur Analyse 17 Stunden bei 50° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{18} = +31{,}4^0 \ (\pm 3^0) \ (c = 0{,}605)$$

2,768 mg Subst. gaben 7,989 mg CO_2 und 2,624 mg H_2O

$C_{29}H_{47}O_2N$	Ber. C 78,86	H 10,73%
	Gef. „ 78,76	„ 10,61%

[1]) *Cl. Schöpf* und *P. Herrmann*, B. **66**, 303 (1933): „Solanidon" Smp. 218°; *H. Rochelmeyer*, Arch. Pharm. **277**, 350 (1939): Smp. 216° (unkorr.); Absorptionsmaximum bei 236 mμ, $\varepsilon = 17000$.

[2]) Vgl. C. r. **202**, 995 (1936).

allo-Solanidan-ol-(3α) (XIV).

Die mit Digitonin nicht fällbaren Anteile aus der katalytischen Hydrierung von Δ^4-Solaniden-on-(3) wurden an 27 g Aluminiumoxyd (Akt. I) chromatographisch gereinigt. Die mit Äther-Methanol eluierbaren krystallinen Produkte wurden aus Methylenchlorid-Methanol fraktioniert krystallisiert. Man erhielt auf diese Weise 45 mg eines Produktes mit dem konstanten Smp. 212—214°, welches mit den bekannten drei Dihydrosolanidinen starke Schmelzpunktserniedrigungen gab. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 170—175° sublimiert.

$[\alpha]_D^{18} = +34{,}5^0$ ($\pm$ 3°) (c = 0,762)

3,660 mg Subst. gaben 10,851 mg CO_2 und 3,693 mg H_2O

$C_{27}H_{45}ON$	Ber. C 81,14	H 11,35%
	Gef. „ 80,91	„ 11,29%

Das Acetat (XV) wurde mit Pyridin und Acetanhydrid hergestellt und schmolz bei 140—141,5°. Zur Analyse wurde 17 Stunden bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D^{18} = +45{,}2^0$ ($\pm$ 3°) (c = 0,738)

2,571 mg Subst. gaben 7,423 mg CO_2 und 2,440 mg H_2O

$C_{29}H_{47}O_2N$	Ber. C 78,86	H 10,73%
	Gef. „ 78,79	„ 10,61%

Aus den Mutterlaugen wurden krystalline Präparate mit dem konstanten Smp. 181,5 bis 183,5° erhalten, welche ihren Eigenschaften nach ein durch Krystallisation und chromatographische Analyse untrennbares Gemisch der beiden Dihydro-solanidine-(3α) darstellten. Sie wurden mit den Produkten aus der Mutterlauge von allo-Solanidan-ol-(3β) vereinigt und epimerisiert. 500 mg des Gemisches wurden 8 Stunden mit 15 g Natrium in 50 cm³ Xylol gekocht. Nach dem Abkühlen wurde von erstarrtem Natrium abgegossen. Das Natrium wurde oberflächlich mit wenig Alkohol gewaschen und der Alkohol dem Xylol zugegeben. Nach gründlichem Waschen mit Natronlauge und Wasser dampfte man im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wurde, wie früher beschrieben, mit 2 g Digitonin in Alkohol behandelt. Man erhielt nach dem Zersetzen des Digitonids 95 mg durch Digitonin fällbare und 300 mg nicht fällbare Anteile. Aus dem fällbaren Anteil erhielten wir durch Umkrystallisieren aus Methylenchlorid-Methanol das Solanidan-ol-(3β), Smp. 220°, während die unfällbaren Anteile weitere 40 mg allo-Solanidan-ol-(3α) vom Smp. 212—214° lieferten. Beide Produkte konnten durch Mischschmelzpunkte identifiziert werden.

Δ^2- (oder Δ^3)-allo-Solaniden (XVIII).

20 mg allo-Solanidan-ol-(3α) wurden mit 60 mg Borsäure-anhydrid vermischt und im Hochvakuum bei 300° im Kugelrohr destilliert. Das erhaltene Destillat schmolz nach dem Umlösen aus Methylenchlorid-Aceton bei 145,5—146,5° und gab mit Δ^2-Solaniden eine Schmelzpunktserniedrigung von 14°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 120° sublimiert.

$[\alpha]_D^{20} = +34{,}0^0$ ($\pm$ 3°) (c = 0,40)

3,757 mg Subst. gaben 11,677 mg CO_2 und 3,778 mg H_2O

$C_{27}H_{43}N$	Ber. C 84,97	H 11,36%
	Gef. „ 84,81	„ 11,25%

allo-Solanidan (XIX).

35 mg allo-Solaniden wurden in 5 cm³ Eisessig mit einem Katalysator aus 10 mg Platinoxyd hydriert. Wasserstoffverbrauch: ber. 2,9 cm³, gef. 2,7 cm³ (0°, 760 mm). Nach dem Aufarbeiten des Hydrierungsproduktes erhielten wir durch Umlösen aus

Aceton eine Verbindung vom Smp. 140—142°, welche mit Solanidan eine Schmelzpunktserniedrigung von 10° gab. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 115° sublimiert.

$[\alpha]_D^{18} = +34{,}8^0$ ($\pm$ 4°) (c = 0,519°)

2,821 mg Subst. gaben 8,725 mg CO_2 und 2,960 mg H_2O

$C_{27}H_{45}N$ Ber. C 84,52 H 11,82%

Gef. „ 84,40 „ 11,75%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von den Herren *W. Manser* und *W. Ingold* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

---

45. Über die Acetylierung von 1,2-Dimethyl-naphtalin

von **Pl. A. Plattner** und **A. Ronco.**

(9. II. 44.)

Im Zusammenhang mit Synthesen in der Phenanthrenreihe haben wir die Einführung einer Acetyl-Gruppe in das 1,2-Dimethyl-naphtalin untersucht. Man erhält dabei in recht einheitlicher Reaktion das bisher unbekannte Methyl-(1,2-dimethyl-naphtyl-4)-keton. Die Acetylierung verläuft also analog wie die Bromierung[1]) und die Sulfurierung[2]) des Kohlenwasserstoffs, die beide das 1,2-Dimethyl-naphtalin in Stellung 4 angreifen.

Da diese Untersuchung nicht fortgesetzt wird, geben wir hier kurz die wichtigsten experimentellen Ergebnisse bekannt.

Einfache Darstellungsmethoden für das 1,2-Dimethyl-naphtalin wurden von *Darzens*[3])[4]) und von *Mayer* und *Stieglitz*[5]) beschrieben. Wie wir fanden, erhält man jedoch die besten Ausbeuten nach der Methode von *Veselý* und *Šťursa*[6]), durch Umsetzen von 1-Brom-2-methyl-naphtalin mit Lithium und nachherige Einwirkung von Dimethylsulfat. Dabei bildet sich das 1,2-Dimethyl-naphtalin in 75-proz. Ausbeute.

Bei der Acetylierung des 1,2-Dimethyl-naphtalins (I) nach *Friedel-Crafts* wurde sowohl in Schwefelkohlenstoff als auch in Nitrobenzol das gleiche Keton (II) erhalten; nur die Ausbeuten waren in Nitrobenzol etwas höher. Das Keton wurde durch ein Pikrat und ein Semicarbazon charakterisiert. Beide Derivate waren sofort ein-

---

[1]) *C. L. Hewett*, Soc. **1940**, 295.

[2]) *O. Kruber* und *W. Schade*, B. **68**, 12, 15 (1935).

[3]) *G. Darzens*, C. r. **202**, 74 (1936).

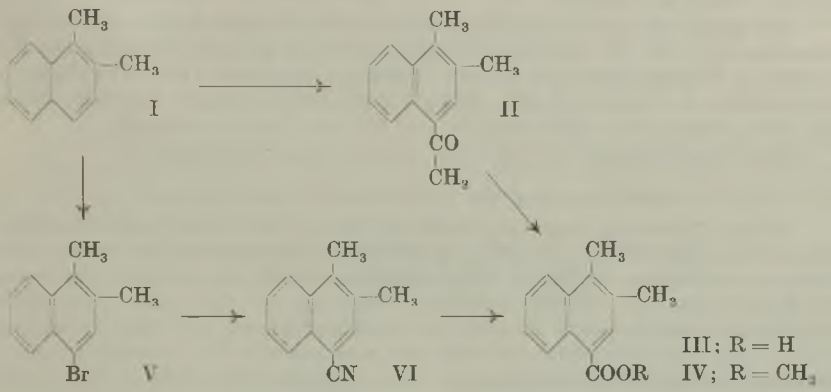
[4]) *C. L. Hewett*, Soc. **1940**, 295.

[5]) *F. Mayer* und *A. Stieglitz*, B. **55**, 1835 (1922).

[6]) *V. Veselý* und *F. Šťursa*, Coll. trav. chim. tchèques **4**, 139 (1932).

heitlich; die Entstehung erheblicher Mengen Isomerer liess sich nicht nachweisen.

Um die Konstitution des so erhaltenen Ketons (II) zu sichern, wurde dieses mit Bromlauge zur entsprechenden Dimethyl-naphtoesäure (III) abgebaut, die bei 226–227° und deren Methylester (IV) bei 49° schmolz.



Zum Vergleich wurde die 1,2-Dimethyl-naphtoesäure-(4) (III) auch auf einem andern, die Stellung des Carboxyls sicherstellenden Wege bereitet. Ein geeignetes Ausgangsmaterial für diese Synthese schien uns das von *C. L. Hewett*[1]) durch Bromierung des 1,2-Dimethyl-naphtalins erhaltene 1,2-Dimethyl-4-brom-naphtalin (V) zu sein, dessen Konstitution durch Überführung in das von *Ruzicka* und *Ehmann*[2]) dargestellte 1,2,4-Trimethyl-naphtalin gesichert ist. Es gelang nicht, dieses Bromid nach der Methode von *Rosenmund* und *Struck*[3]) direkt in die 1,2-Dimethyl-naphtoesäure-(4) umzuwandeln. Hingegen konnten wir nach *J. von Braun*[4]) das Bromid durch Erhitzen mit Kupfer(I)-cyanid auf 260° in 1,2-Dimethyl-naphtonitril-(4) (VI) überführen. Das Nitril erwies sich als ziemlich schwer verseifbar. Durch energische alkalische Behandlung konnte die Säure schliesslich in fast quantitativer Ausbeute erhalten werden. Dieses Präparat der Säure sowie der daraus bereitete Methylester, gaben mit den aus dem Keton erhaltenen Präparaten keine Schmelzpunktserniedrigung.

Es ist dadurch sichergestellt, dass bei der Acetylierung des 1,2-Dimethyl-naphtalins nach *Friedel-Crafts* die Acetyl-Gruppe einheitlich in die Stellung 4 des Naphtalin-Kerns eintritt.

---

[1]) *C. L. Hewett*, Soc. **1940**, 295.

[2]) *L. Ruzicka* und *L. Ehmann*, Helv. **15**, 145 (1932).

[3]) *K. Rosenmund* und *E. Struck*, B. **52**, 1749 (1919).

[4]) *J. von Braun* und *G. Manz*, A. **488**, 117 (1931); *E. Mosettig* und *J. van de Kamp*, Am. Soc. **54**, 3335 (1932).

Experimenteller Teil[1]).

1,2-Dimethyl-naphtalin.

Zu einer Suspension von 0,7 g Lithium in 20 cm³ absolutem Äther wurde eine Lösung von 10 g 1-Brom-2-methyl-naphtalin langsam zugetropft. Anschliessend wurde noch eine Stunde auf dem Wasserbad gekocht bis fast alles Lithium gelöst war. Nun liess man 6 g frisch destilliertes Dimethylsulfat, in 5 cm³ absolutem Äther gelöst, zutropfen, wobei das Reaktionsgemisch in heftiges Sieden geriet. Anschliessend wurde noch 1 Stunde auf dem Wasserbad gekocht.

Die geringe Menge überschüssigen Lithiums wurde durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure gelöst, die ätherische Schicht abgetrennt und zur Zerstörung des Überschusses an Dimethylsulfat mit 15-proz. Kalilauge behandelt. Durch Destillation des Rohproduktes im Vakuum wurden 5,35 g 1,2-Dimethyl-naphtalin vom Sdp. (13 mm) 135—137° erhalten, was einer Ausbeute von 76% der Theorie entspricht.

Das Pikrat schmolz bei 129—130° und war sofort einheitlich.

Acetylierung des 1,2-Dimethyl-naphtalins.

15,6 g 1,2-Dimethyl-naphtalin wurden in 100 cm³ Schwefelkohlenstoff gelöst und unter Rühren und Kühlen mit 26,7 g wasserfreiem Aluminiumchlorid versetzt. Dann wurden unter Kühlung mit Eis 8 g Acetylchlorid zugetropft. Eine deutliche Chlorwasserstoff-Entwicklung trat erst beim schwachen Erwärmen auf. Nach dem Abklingen der Hauptreaktion wurde noch 3 Stunden am Rückfluss gekocht und über Nacht stehen gelassen. Der Schwefelkohlenstoff wurde nun zum grössten Teil abdestilliert und der Rückstand in Eis-Salzsäure eingetragen. Das ausgefallene Öl wurde in Benzol aufgenommen, die dunkelgrün gefärbte Benzollösung gewaschen und getrocknet und das Benzol verdampft. Aus dem Rückstand konnten nach zweimaliger Fraktionierung im Hochvakuum 12,8 g eines Öls vom Sdp. (0,45 mm) 142—143° erhalten werden (65% Ausbeute).

In ähnlicher Weise wurde auch eine Acetylierung in Nitrobenzol durchgeführt. Bei der Aufarbeitung wurde Äther verwendet, wobei starke Emulsionsbildung auftrat. Nach dem Abdestillieren des Nitrobenzols im Vakuum wurden aus 15,6 g Dimethyl-naphtalin bei der Rektifikation des Reaktionsprodukts 15,2 g Keton vom Sdp. (0,3 mm) 135—137° erhalten, was einer Ausbeute von 75% entspricht.

Das Pikrat krystallisierte aus Alkohol in gelben Nadeln vom Smp. 134—135°.

3,908 mg Subst. gaben 8,127 mg CO_2 und 1,468 mg H_2O
2,842 mg Subst. gaben 0,245 cm³ N_2 (17°, 727 mm)

$C_{20}H_{17}O_8N_3$	Ber. C 56,21	H 4,01	N 9,83%
	Gef. „ 56,75	„ 4,20	„ 9,71%

Das Semicarbazon bildet sich bereits bei Zimmertemperatur leicht und krystallisierte in feinen Krystallen aus. Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol zeigte es den konstanten Schmelzpunkt von 225°.

3,903 mg Subst. gaben 10,112 mg CO_2 und 2,319 mg H_2O
3,178 mg Subst. gaben 0,465 cm³ N_2 (17°, 719 mm)

$C_{15}H_{17}ON_3$	Ber. C 70,56	H 6,71	N 16,46%
	Gef. „ 70,70	„ 6,64	„ 16,30%

Regenerierung des Ketons. Das Semicarbazon wurde durch kurzes Kochen mit Salzsäure gespalten. Das mit Äther extrahierte Keton wurde im Hochvakuum rektifiziert; Sdp. (0,3 mm) 135—137°.

3,992 mg Subst. gaben 12,403 mg CO_2 und 2,553 mg H_2O

$C_{14}H_{14}O$	Ber. C 84,81	H 7,12%	
	Gef. „ 84,79	„ 7,16%	

$d_4^{16} = 1{,}1048$; $n_D^{17} = 1{,}6302$

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert. Ein Teil der experimentellen Arbeit ist von Herrn *F. Fleck* durchgeführt worden.

Oxydation des Methyl-(1,2-dimethylnaphtyl-4)-ketons zur 1,2-Dimethyl-naphtoesäure-(4).

3 g Keton wurden auf der Schüttelmaschine in 10 cm³ Wasser emulgiert. Zu dieser Emulsion wurde Bromlauge aus 10 g Brom, 7,5 g Natriumhydroxyd und 125 g Eiswasser gegeben und während einer Stunde geschüttelt. Die neutralen Produkte wurden hierauf durch Extraktion mit Äther entfernt. Dann wurde die Säure durch Eingiessen in eine Mischung von verdünnter Schwefelsäure und Natriumhydrogensulfit ausgefällt und in Äther aufgenommen. Die ätherische Lösung wurde gewaschen, getrocknet und der Äther entfernt. Die so erhaltene Säure krystallisierte aus Alkohol in Nadeln und zeigte nach der Sublimation im Hochvakuum einen Schmelzpunkt von 226—227°.

3,864 mg Subst. gaben 11,070 mg CO_2 und 2,147 mg H_2O

$C_{13}H_{12}O_2$ Ber. C 77,98 H 6,04%
Gef. „ 78,18 „ 6,22%

Methylester. 120 mg Säure wurden mit Diazomethan verestert und wie üblich aufgearbeitet. Der Ester wurde zweimal im Hochvakuum destilliert und so als Öl vom Sdp. (0,3 mm) 150—155° erhalten, das durch Reiben zur Krystallisation gebracht werden konnte. Die farblosen Krystalle schmolzen bei 49°.

5,098 mg Subst. gaben 14,650 mg CO_2 und 2,975 mg H_2O

$C_{14}H_{14}O_2$ Ber. C 78,48 H 6,59%
Gef. „ 78,42 „ 6,53%

Herstellung der 1,2-Dimethyl-naphtoesäure-(4) aus dem 1,2-Dimethyl-4-brom-naphtalin.

1,2-Dimethyl-naphtonitril-(4). 3,57 g 1,2-Dimethyl-4-brom-naphtalin[1]) wurden mit 1,5 g Kupfer(I)-cyanid während 6 Stunden auf 260° erhitzt. Die erhaltene braune Schmelze wurde fein pulverisiert und 2 Tage lang mit Chloroform extrahiert. Nach dem Abdampfen des Chloroforms verblieben 1,9 g eines braunen Öls, das beim Erkalten krystallisierte. Dieses wurde im Hochvakuum destilliert. Das Destillat krystallisierte aus Alkohol in farblosen Nadeln, die nach Sublimieren im Hochvakuum bei 120 bis 121° schmolzen.

3,676 mg Subst. gaben 11,604 mg CO_2 und 2,005 mg H_2O

$C_{13}H_{11}N$ Ber. C 86,15 H 6,12%
Gef. „ 86,15 „ 6,10%

1,2-Dimethyl-naphtoesäure-(4). 500 mg des obigen Nitrils wurden mit 20 cm³ 25-proz. alkoholischer Kalilauge 7 Stunden gekocht, dann in Wasser gegossen und mit Äther ausgezogen. Aus der alkalischen Lösung wurde die Säure mit Salzsäure gefällt, abgenutscht und mit Wasser gewaschen.

Die neutralen Anteile (320 mg farblose Krystalle) erwiesen sich noch als stickstoffhaltig. Sie wurden erneut während 48 Stunden mit 25-proz. alkoholischer Kalilauge gekocht und dann wie oben aufgearbeitet. Es liessen sich so nochmals 260 mg Säure isolieren. Diese krystallisiert aus Alkohol in Nadeln, die nach dem Sublimieren bei 226 bis 227° schmolzen. Sie gab mit dem aus dem Keton durch Abbau erhaltenen Präparat keine Schmelzpunktserniedrigung.

3,768 mg Subst. gaben 10,782 mg CO_2 und 2,055 mg H_2O

$C_{13}H_{12}O_2$ Ber. C 77,98 H 6,04%
Gef. „ 78,09 „ 6,10%

Der Methylester schmolz bei 49° und gab mit dem aus dem Keton erhaltenen Ester ebenfalls keine Schmelzpunktserniedrigung.

3,666 mg Subst. gaben 10,524 mg CO_2 und 2,131 mg H_2O

$C_{14}H_{14}O_2$ Ber. C 78,48 H 6,59%
Gef. „ 78,34 „ 6,50%

Die Analysen wurden in unserer mikrochemischen Abteilung von den Herren *Hs. Gubser* und *W. Manser* ausgeführt.

Organ.-chem. Laboratorium der Eidg. Techn. Hoschschule, Zürich.

[1]) *C. L. Hewett*, Soc. **1940**, 295.

46. Zur kalorimetrischen Standardisierung der Aktivität von Adsorptionsmitteln für die chromatographische Analyse unter besonderer Berücksichtigung des Aluminiumoxyds

2. Mitteilung

von **P. B. Müller.**

(9. II. 44.)

Bei den kalorimetrischen Messungen, die gemäss der 1. Mitteilung[1]) zur Aktivitätsbestimmung von Adsorptionssystemen aus Aluminiumoxyd und Petroläther ausgeführt wurden, ist bisher nicht die Reaktionswärme $Q = \Delta t\,(W_K + W_{VM})$, sondern nur $Q' = \Delta t \cdot W_K$ bestimmt worden, weil die Wärmekapazität $\Delta t \cdot W_{VM}$ der verwendeten Versuchsmischung zwischen 0 und + 3° C aus äusseren Gründen nicht ermittelt werden konnte.

Inzwischen konnten nun aber diese Werte mit der für die Aktivitätsmessungen benötigten Genauigkeit von der *Eidg. Materialprüfungsanstalt* in Zürich bestimmt und wie folgt angegeben werden:

Tabelle 1.

Spezifische Wärmen und spezifische Gewichte der verwendeten Lösungs- und Adsorptionsmittel.

Lösungs- bzw. Adsorptionsmittel	Spez. Wärme zwischen 0° und + 1°C	Spez. Gew. d °/₄ (eigene Messungen)	Gew. der 65 cm³ Versuchslösung bei 0° C*)
Petroläther, ungereinigt	0,416	0,7518	48,83
Petroläther, mit H_2SO_4 gereinigt (a) .	0,415	0,7501	48,66
Petroläther, mit Oleum gereinigt (b) .	0,424	0,7411	48,13
Petroläther, 1 Teil a) + 1 Teil b) . . .	0,419	0,7456	48,39
Hexan, gereinigt	0,503	0,6966	45,21
Äthanol, absolut gereinigt	0,522	0,8075	52,32
Äther, gereinigt	0,511	0,7375	47,69
Chloroform, gereinigt	0,215	1,5281	99,15
Al_2O_3 „*Merck*“	0,11	—	50,00
Al_2O_3 „Neuhausen“	0,15 *)	—	50,00
Al_2O_3 „Neuhausen, mit Königswasser behandelt“	0,12 *)	—	50,00

*) Mit gewöhnlichen Pipetten: „Normalpräzision, A 20° C“ gemessen.

Maximaler Messfehler der spez. Wärme der Lösungsmittel = ± 2%, des Al_2O_3 = ± 0,01 cal., der spez. Gewichte = ± 1‰.

[1]) *P. B. Müller*, Helv. **26**, 1945 (1943).

Auf Grund dieser Angaben ist es nun möglich, die Reaktionswärme Q der in der 1. Mitteilung angeführten Beispiele zu berechnen. Die Berechnung wurde im folgenden für die wichtigsten Messungen durchgeführt.

Als Δt wurde dabei der Durchschnittswert der in der 1. Mitteilung angegebenen Δt-Werte eingesetzt, für W_K die Wärmekapazität des Kalorimeters = 7,7 cal. und für W_{VM} die Summe der Wärmekapazitäten des Lösungsmittels, des wasserfreien Aluminiumoxyds und der vom Aluminiumoxyd aufgenommenen Menge Wasser. Bei den ergänzten Berechnungen, deren Ergebnis in den nachstehenden Tabellen dargestellt wird, wurden (soweit nichts anderes vermerkt ist) folgende Lösungsmittel und Aluminiumoxyd-Präparate berücksichtigt: Hochsiedender Petroläther mit konz. Schwefelsäure gereinigt, in einer besonderen Versuchsreihe mit Zugabe von Alkohol oder Äther; Al_2O_3 I = maximal aktiviertes Aluminiumoxyd, Al_2O_3 II = 100 g Al_2O_3 I + 3,3 g Wasser, Al_2O_3 II′ = 100 g Al_2O_3 I + 3,0 g Wasser, Al_2O_3 III = 100 g Al_2O_3 I + 16 g Wasser, Al_2O_3 IV = 100 g Al_2O_3 I + 24 g Wasser. Zum Vergleich mit dem in der 1. Mitteilung ausschliesslich verwendeten Aluminiumoxyd „*Merck*“ wurde auch ein Aluminiumoxyd der Aluminiumfabrik Neuhausen und eine durch 16stündiges Erhitzen in Königswasser weiter aktivierte Probe des Aluminiumoxyd Neuhausen herbeigezogen, was in den Tabellen jeweils vermerkt wird.

I. Wärmetönung von stufenweise desaktiviertem Aluminiumoxyd („*Merck*“) mit gereinigtem Petroläther.

Tabelle 2.

(Vgl. 1. Mitteilung, Tabelle 2.)

Bestg. von	g H_2O pro 100 g Aluminiumoxyd I									
	0	0,5	1	2	4	8	12	16	20	24
ΔT (° C)	2,50	2,10	1,90	1,60	1,20	0,75	0,45	0,25	0,13	0,07
Q (cal.)	83,5	70,5	64,3	54,9	42,1	27,5	17,2	9,9	5,3	2,9

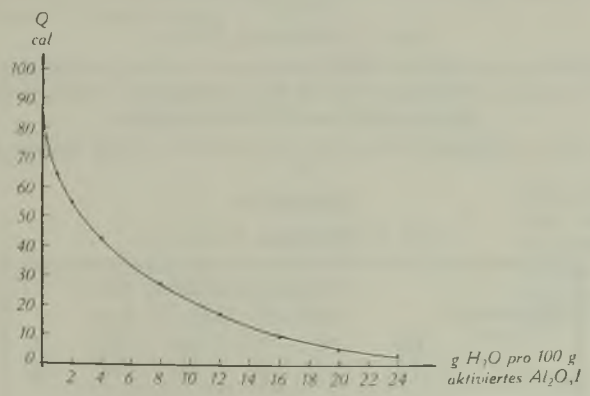


Fig. 1.

(Vgl. 1. Mitteilung, Fig. 2.)

Wärmetönungskurve des stufenweise desaktivierten Al_2O_3 („*Merck*“) mit einem mit H_2SO_4 gereinigten, hochsiedenden Petroläther.

II. Wärmetönung von Mischungen aus Al_2O_3 I+II und Al_2O_3 III+IV mit gereinigtem Petroläther.

(Al_2O_3 „*Merck*“)

Tabelle 3.

(Vgl. 1. Mitteilung, Tabelle 4a.)

Bestg. von*)	Mischungsverhältnis von Al_2O_3 I : Al_2O_3 II in g										
	I: 100 / II: 0	90 / 10	80 / 20	70 / 30	60 / 40	50 / 50	40 / 60	30 / 70	20 / 80	10 / 90	0 / 100
ΔT (° C)	2,50	2,27	2,08	1,95	1,82	1,70	1,62	1,52	1,45	1,37	1,32
Q (cal.)	83,5	76,2	70,1	66,0	61,8	58,0	55,5	52,3	50,1	47,5	46,0

*) Mittel aus 3 Bestimmungen.

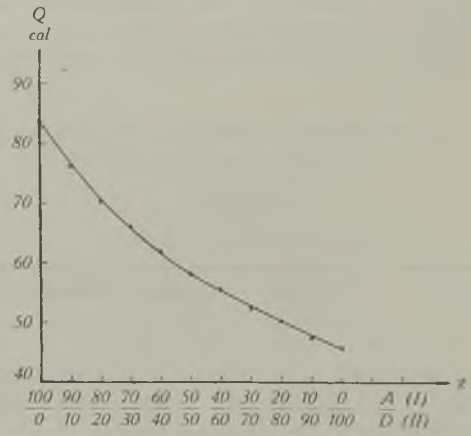


Fig. 2.

(Vgl. 1. Mitteilung, Fig. 4.)

Wärmetönungskurve verschiedener Mischungen aus maximal aktiviertem Al_2O_3 I und desaktiviertem Al_2O_3 II mit einem mit H_2SO_4 gereinigten, hochsiedenden Petroläther (Durchschnitt aus 3 Bestimmungen).

Al_2O_3 II (D) = 100 g aktiviertes Al_2O_3 I („*Merck*“) + 3,3 g doppelt-dest. H_2O.

Tabelle 4.

(Vgl. 1. Mitteilung, Tabelle 5.)

Bestimmung von*)	Mischungsverhältnis von Al_2O_3 III : Al_2O_3 IV in g				
	III: 100 / IV: 0	75 / 25	50 / 50	25 / 75	0 / 100
ΔT (°C)	0,25	0,18	0,13	0,09	0,07
Q (cal.)	9,9	7,2	5,3	3,7	2,9

*) Mittel aus 3 Bestimmungen.

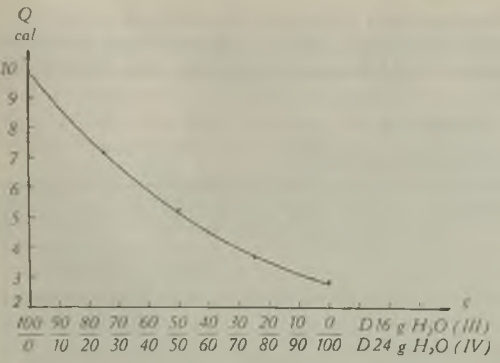


Fig. 3. (Vgl. 1. Mitteilung, Fig. 5.)

Wärmetönungskurve verschiedener Mischungen aus desaktiviertem Al_2O_3 III und Al_2O_3 IV mit einem mit H_2SO_4 gereinigten, hochsiedenden Petroläther.

D 16 g H_2O = 100 g aktiviertes Al_2O_3 I („*Merck*") + 16 g doppeltdest. H_2O (III).

D 24 g H_2O = 100 g aktiviertes Al_2O_3 I („*Merck*") + 24 g doppeltdest. H_2O (IV).

III. Abhängigkeit der Wärmetönung des Al_2O_3 I („*Merck*") von Zusätzen anderer Lösungsmittel zum Petroläther.

Tabelle 5.

(Vgl. 1. Mitteilung, Tabelle 7.)

Bestimmung von*)	cm³ Äther/100 cm³ Petroläther						
	0	1	2	4	8	16	30
ΔT (° C)	2,85	3,75	3,95	4,15	4,35	4,50	4,65
Q (cal.)	95,5	125,7	132,8	140,0	147,0	153,3	160,0
	cm³ abs. Äthanol/100 cm³ Petroläther						
	0	0,2		0,5		1,0	
ΔT (° C)	2,85	3,70		4,70		6,20	
Q (cal.)	95,5	123,8		157,7		209,2	

*) Mittel aus 3 Bestimmungen.

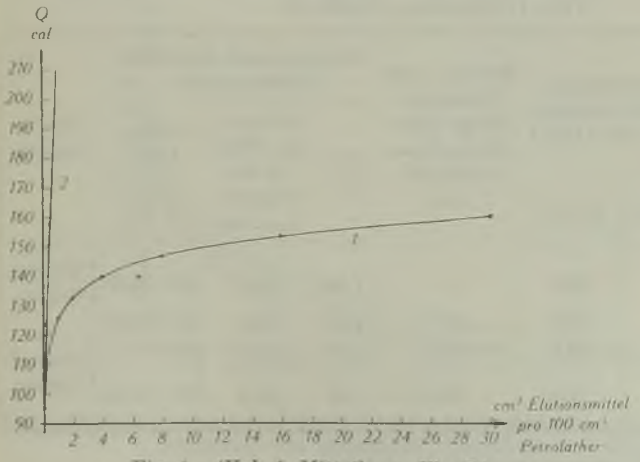


Fig. 4. (Vgl. 1. Mitteilung, Fig. 7.)

Wärmetönungskurve von ungereinigtem, hochsiedendem Petroläther und einem Eluierungsmittel mit aktiviertem Al_2O_3 I („*Merck*").

Kurve 1 = Petroläther + Äther.

Kurve 2 = Petroläther + abs. Äthanol.

IV. Aktivitätsmessung von Aluminiumoxyd unter Verwendung verschiedener hochgereinigter Lösungsmittel (vgl. hierzu 1. Mitteilung, Abschnitt B, VI).

Tabelle 6.

(Vgl. 1. Mitteilung, Tabelle 8.)

Lösungsmittel, gereinigt	Wärmetönung von 50 g Al_2O_3 I und 65 cm³ des Lösungsmittels bei 0° C					
	Al_2O_3 „*Merck*"		Al_2O_3 „Neuhausen"		Al_2O_3 „Neuhausen mit Königswasser behandelt"	
	ΔT in °C	Q in cal.	ΔT in ° C	Q in cal.	ΔT in ° C	Q in cal.
Äther	3,50 bis 3,55	131,4 bis 133,2				
Chloroform . . .	3,45 bis 3,50	119,0 bis 120,7				
Hexan	1,75 bis 1,80	62,9 bis 64,7	1,45 bis 1,50	55,0 bis 56,9	1,65 bis 1,70	60,2 bis 62,0
hochs. Petroläther m. Oleum gerein.	1,95	65,6	1,55 bis 1,60	55,2 bis 57,0	1,75 bis 1,80	59,7 bis 61,4

V. Die Auswirkung des Reinheitsgrades des Petroläthers und der Qualität des Al_2O_3 bei der Chromatographie (vgl. hierzu 1. Mitteilung, Abschnitt B, VIII).

Tabelle 7.

(Versuche mit Al_2O_3 „*Merck*".)
(Vgl. 1. Mitteilung, Tabelle 9.)

Petroläther, gereinigt mit	Wärmetönungswerte des Lösungsmittels mit Al_2O_3 I		Errechn. opt. Wärmetgs.-Wert Q des Adsorptionssystems*) cal.	Experimentell ermittelte Bedingungen*)			Bemerkungen
	ΔT (°C)	Q (cal.)		ΔT (°C)	Wärmetgs.-Wert Q des Adsorpt.-Syst. cal.	Mischg. Verh. $\frac{g\ I}{g\ II}$	
1) H_2SO_4	2,50	83,5	—	1,56	54,0	35 I : 65 II	Normalbeding.
2) ungerein.	2,76	95,5	61,7	1,77	60,8	43 I : 57 II	wie Normalbeding.
3) Oleum	1,95	65,6	42,4	1,30	45,1	25 I : 75 II	
4) 1 Teil 1 + 1 Teil 3	2,22	74,6	48,3	1,43	49,3	30 I : 70 II	

*) Zur optimalen Chromatographie von β-Carotin.

Die in der ersten Mitteilung (S. 1965) gemachte Feststellung, dass in einem Adsorptionssystem bei Verwendung verschiedener Petroläther-fraktionen die zur Erreichung eines bestimmten chromatographischen Effektes erforderliche Aktivität proportional den Wärmetönungswerten dieser Lösungsmittel ist, und demgemäss berechnet werden kann, wenn sie für eines dieser Systeme bekannt ist, veranlasste mich, diese Versuche auch auf andere Lösungsmittel als Petroläther auszudehnen.

Obwohl diese Versuche noch nicht abgeschlossen sind, steht schon heute fest, dass zwischen Lösungsmitteln von ganz verschiedener chemischer Zusammensetzung keine so einfachen Beziehungen bestehen, wie zwischen verschiedenen Petroläther-fraktionen, die sich im wesentlichen nur im Gehalt an homologen Verbindungen unterscheiden.

Inzwischen wurden Versuche durchgeführt, inwieweit bei Aluminiumoxyd-Präparaten verschiedener Herkunft und Qualität, nämlich Aluminiumoxyd „*Merck*" und „Neuhausen" und dem mit Königswasser behandelten Aluminiumoxyd „Neuhausen", die chromatographisch verwertbare Aktivität vom Grad der maximalen Aktivität abhängt.

Die mit diesen drei Aluminiumoxyd-Präparaten durch stufenweise Desaktivierung mit Wasser und durch Mischen von maximal (I) und teilweise desaktiviertem (II') Aluminiumoxyd erhaltenen Wärmetönungswerte sind in Tabelle 8 und 9 und die entsprechenden Wärmetönungskurven in Fig. 5 und 6 dargestellt.

Tabelle 8.

Wärmetönungswerte von 3 verschiedenen, stufenweise desaktivierten Aluminiumoxyd-Präparaten mit gereinigtem, hochsiedendem Petroläther. (Durchschnitt aus 3—4 Bestimmungen.)

Al_2O_3-Präparat	Bestg. von	g H_2O pro 100 g Aluminiumoxyd							
		0	3	8	12	16	20	24	32
Al_2O_3 „*Merck*"	ΔT (° C)	2,50	1,37	0,75	0,45	0,25	0,13	0,07	—
	Q (cal.)	83,5	47,5	27,5	17,2	9,9	5,3	2,9	—
Al_2O_3 „Neuhausen"	ΔT (° C)	2,0	1,05	0,50	0,26	0,12	0,09	0,05	—
	Q (cal.)	70,8	38,5	19,3	10,4	5,0	3,8	2,2	—
Al_2O_3 „Neuhausen mit Königswasser behandelt"	ΔT (° C)	2,31	1,15	0,80	0,58	0,43	0,28	0,16	0,04
	Q (cal.)	78,3	40,5	29,7	22,4	17,2	11,6	6,8	1,8

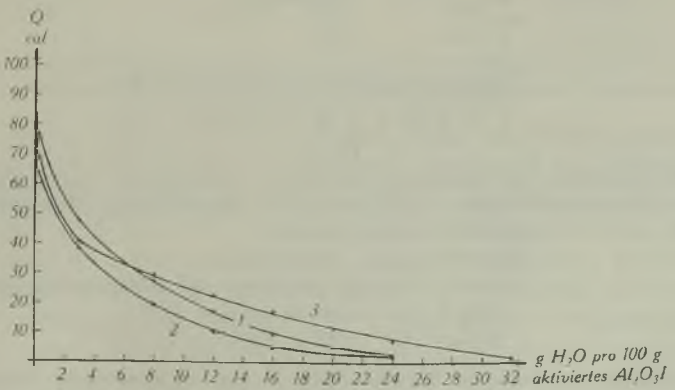


Fig. 5.

Wärmetönungskurven von 3 verschiedenen, stufenweise desaktivierten Aluminiumoxyd-Präparaten mit gereinigtem, hochsiedendem Petroläther.
Kurve 1 = Al_2O_3 „*Merck*" Kurve 2 = Al_2O_3 „Neuhausen"
Kurve 3 = Al_2O_3 „Neuhausen mit Königswasser behandelt".

Tabelle 9.

Wärmetönungswerte der Mischungen aus Al_2O_3 I und Al_2O_3 II′*) von 3 verschiedenen Aluminiumoxyd-Präparaten mit gereinigtem, hochsiedendem Petroläther.

(Durchschnitt aus 3—4 Bestimmungen.)

Al_2O_3-Präparat	Bestg. von	Mischungsverhältnis von Al_2O_3 I : Al_2O_3 II′ in g					
		I / II′	100 / 0	80 / 20	60 / 40	40 / 60	20 / 80	0 / 100
Al_2O_3 „*Merck*“	ΔT (° C)	2,50	2,12	1,84	1,66	1,51	1,37
	Q (cal.)	83,5	71,4	62,5	56,7	52,0	47,5
Al_2O_3 „Neuhausen“	ΔT (° C)	2,0	1,69	1,42	1,28	1,17	1,05
	Q (cal.)	70,8	60,3	51,0	46,3	42,6	38,5
Al_2O_3 „Neuhausen mit Königswasser behandelt“	ΔT (° C)	2,31	1,91	1,58	1,39	1,25	1,15
	Q (cal.)	78,3	65,1	54,4	48,2	43,7	40,5

*) Al_2O_3 II′ = Al_2O_3 I + 3,0 g H_2O pro 100 g Al_2O_3.

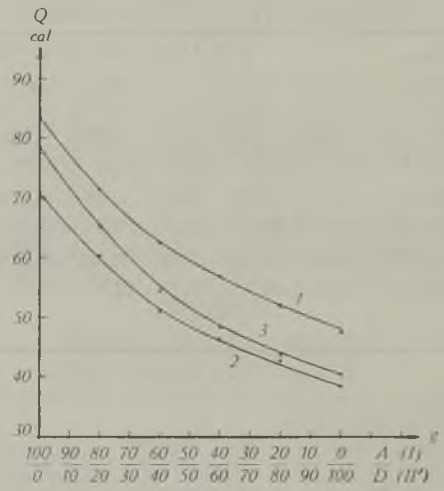


Fig. 6.

Wärmetönungskurven der Mischungen aus Al_2O_3 I und Al_2O_3 II′ von 3 verschiedenen Aluminiumoxyd-Präparaten mit gereinigtem, hochsiedendem Petroläther.

Kurve 1 = Al_2O_3 „*Merck*“.
Kurve 2 = Al_2O_3 „Neuhausen“.
Kurve 3 = Al_2O_3 „Neuhausen mit Königswasser behandelt“.
Al_2O_3 I (A) = max. aktiviertes Al_2O_3.
Al_2O_3 II′ (D) = 100 g Al_2O_3 I + 3 g H_2O.

In Tabelle 10 werden die Aktivitätswerte der Adsorptionssysteme dieser drei verschiedenen Aluminiumoxyd-Präparate, welche zum Zwecke der Chromatographie von Vitamin A-Alkohol und Vitamin A-Ester auf empirischem Wege ermittelt wurden, denjenigen gegenübergestellt, die sich aus den Wärmetönungswerten Q der maximal aktivierten Präparate durch Berechnung ergaben.

VI. Abhängigkeit der chromatographisch verwertbaren Aktivitäten vom Grad der maximalen Aktivierbarkeit verschiedener Aluminiumoxyd-Präparate.

Tabelle 10.

Verbindung	Wärmetgs.-Wert Q d. Al_2O_3 mit gereinigtem Petroläther cal.	Errechnet. optim. Wärmetgs.-Wert Q des Adsorptionssystems *)	Empirisch ermittelte Bedingungen*)		
			Wärmetgs.-Wert Q des Adsorptionssystems cal.	Mischgs.-Verhältnis g I / g II′ bzw. g H_2O p. 100 g Al_2O_3 I	Auswertung nach Fig. 5 bzw. 6, Kurve
Al_2O_3 „*Merck*“ . . .	83,5				
Vitamin A-Alkohol		—	5,0	21 g H_2O	
		—	10,0	16 g H_2O	1
Vitamin A-Ester . .		—	50,0	10 I/90 II′	
		—	56,5	40 I/60 II′	
Al_2O_3 „Neuhausen“	70,8				
Vitamin A-Alkohol .		4,2	4,5	17 g H_2O	
		8,5	8,0	14 g H_2O	2
Vitamin A-Ester . .		42,4	42,0	20 I/80 II′	
		48,6	48,3	50 I/50 II′	
Al_2O_3 „Neuhausen“ mit Königswasser behandelt . . .	73,3				
Vitamin A-Alkohol .		4,7	4,5	28 g H_2O	3
		9,4	9,0	23 g H_2O	
Vitamin A-Ester . .		47,0	45,0	25 I/75 II′	
		53,0	51,5	50 I/50 II′	

*) Zur optimalen Chromatographie von Vitamin A-Alkohol und Vitamin A-Ester.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass bei Verwendung von Aluminiumoxyd-Präparaten verschiedener Herkunft und Qualität in einem Adsorptionssystem die zur selektiven Abtrennung von Vitamin A-Ester und Vitamin A-Alkohol erforderlichen optimalen Aktivitäten den Wärmetönungswerten proportional sind, welche die verschiedenen Aluminiumoxyd-Präparate in maximal aktiviertem Zustande aufweisen. Sie lassen sich gemäss dieser Proportionalität berechnen, wenn sie für ein bestimmtes Aluminiumoxyd-Präparat bekannt sind, und zwar auch dann, wenn diese Aluminiumoxyd-Präparate bei der stufenweisen Desaktivierung mit Wasser eine vom Normalfall vollständig verschieden verlaufende Wärmetönungskurve ergeben (Fig. 5, Kurve 3).

Die Versuche mit verschiedenen Petroläther-fraktionen und Aluminiumoxyd-Präparaten demonstrieren sehr eindrücklich, dass chromatographische Arbeiten nicht durch die Angabe des verwendeten Lösungs- und Adsorptionsmittels allein reproduzierbar beschrieben werden können und geben auch die Erklärung für den nicht seltenen Fall, wo chromatographische Arbeiten bei Verwendung von Adsorptions- oder Lösungsmitteln anderer Herkunft und Qualität plötzlich nicht mehr ohne weiteres reproduzierbar sind.

Basel, den 2. Februar 1944,
Wissenschaftlich-Analytisches Laboratorium
der *F. Hoffmann-La Roche & Co. A.-G.*

---

47. Strukturchemische Untersuchungen IX. Zur Kenntnis des Adipinsäure-di-thioamids

von **H. Erlenmeyer** und **G. Bischoff.**

(9. II. 44.)

Das Problem der Ähnlichkeit bei chemischen Verbindungen stellt sich einmal mit der Tatsache, dass häufig Verbindungen, die in der Zusammensetzung stark verschieden sind, in den Eigenschaften übereinstimmen. Zum anderen gehört in diesen Zusammenhang aber auch die Beobachtung, dass Verbindungen, die nach der Struktur der reaktionsfähigen Gruppen als nahe verwandt zu bezeichnen sind, sich bei der Prüfung des reaktiven Verhaltens als stark verschieden erweisen. In den wenigsten Fällen lässt sich anhand der klassischen Strukturformeln eine befriedigende Deutung solcher Ähnlichkeiten bzw. solcher Unterschiede geben.

Im folgenden soll über die Fortsetzung von Versuchen berichtet werden[1]), die unternommen wurden, um für das Studium des mangelnden Reaktionsvermögens bei Verbindungen, die der Formel nach befähigt sein sollten, eine Kondensationsreaktion unter Bildung von Derivaten des Thiazols zu geben, ein grösseres Vergleichsmaterial zu erhalten[2]).

In der Reihe solcher Verbindungen schien uns in diesem Zusammenhang besonders die Ausnahmestellung der Mono- und Di-thioamide der Oxalsäure bemerkenswert.

Rubeanwasserstoff gibt, wie zahlreiche Versuche zeigten, weder mit Chloraceton noch mit Chloressigsäure-ester eine glatte Thiazol-

[1]) Auszug aus der Diss. *G. Bischoff*, Basel 1944.
[2]) Siehe *H. Erlenmeyer* und *F. Heitz*, Helv. **25**, 832 (1942).

kondensation. Auf der andern Seite ermöglicht die Struktur des Rubeanwasserstoffs die Bildung einer Reihe von sehr charakteristischen Metall-Komplexverbindungen.

Da von den höheren Homologen der Dicarbonsäure-Reihe noch keine Di-thioamide bekannt sind, interessierten wir uns für die Herstellung solcher Verbindungen und beschreiben im folgenden vorerst die Synthese und die Eigenschaften des Di-thioamids der Adipinsäure.

Ausgehend von Adipinsäure konnte in Befolgung der Angaben von *W. W. Korschak* und *J. J. Pachomow*[1]) im Ammoniakstrom das Adipinsäure-diamid erhalten werden, das in Gegenwart von Ammoniummolybdat durch Erwärmen mit Essigsäure-anhydrid in das Adipinsäure-dinitril verwandelt wird. Für die Überführung des Dinitrils in das Dithioamid hat sich folgende Arbeitsweise bewährt. Zu 200 cm³ absolutem Alkohol gibt man 0,7 g Natrium, sättigt die Lösung bei -10^0 mit Schwefelwasserstoff und fügt 4 g Adipinsäure-dinitril hinzu. Beim Erwärmen auf 70^0 während 30 Stunden in einer verschlossenen Flasche erfolgt die Umsetzung. Beim Abkühlen scheidet sich das Reaktionsprodukt in Form gelblicher Krystalle ab. Nach der Abtrennung lässt sich aus der Mutterlauge durch Einengen noch eine weitere Menge gewinnen. Adipinsäure-di-thioamid kann aus Wasser umkrystallisiert werden und zeigt dann einen Schmelzpunkt von 180^0.

4,178 mg Subst. gaben 6,33 mg CO_2 und 2,5 mg H_2O
3,050 mg Subst. gaben 0,148 cm³ N_2 (16^0, 742 mm)
$C_6H_{12}N_2S_2$ Ber. C 40,91 H 6,81 N 15,91%
Gef. „ 41,34 „ 6,69 „ 15,84%

Zum Studium des reaktiven Verhaltens untersuchten wir die Kondensation mit Chloraceton, die in diesem Falle positiv verläuft. 1 g Adipinsäure-di-thioamid und 1 g Chloraceton werden miteinander gemischt und langsam auf $50—70^0$ erwärmt. Die Reaktion tritt plötzlich unter Temperatursteigerung ein. Die feste Reaktionsmasse wird zur Entfernung des überschüssigen Chloracetons mit Äther gewaschen. Das verbleibende α-ω-Di[4-Methyl-thiazolyl-(2)]-butan-dihydrochlorid wird aus Alkohol umkrystallisiert. Die weissen Krystalle zeigen einen Schmelzpunkt von 251^0.

5,524 mg Subst. gaben 0,413 cm³ N_2 (17^0, 744 mm)
$C_{12}H_{18}N_2S_2Cl_2$ Ber. N 8,62 Gef. N 8,57%

Zu erwähnen ist noch, dass Adipinsäure-di-thioamid mit Metallsalzen keine charakteristischen Komplexsalze bildet.

Für die Ausführung der Mikroanalysen sind wir dem mikroanalytischen Laboratorium der *Gesellschaft für chemische Industrie* (Hrn. Dr. *H. Gysel*) zu Dank verpflichtet.

Universität Basel, Anstalt für Anorganische Chemie.

---

[1]) J. chim. appl. (russ.) **14**, 632 (1941); C. **1942**, I, 3189.

48. Über den Stoffwechsel von Tuberkelbazillen.

1. Mitteilung.

Wachstumsversuche mit synthetischem Glycerin

von **Hubert Bloch, H. Erlenmeyer** und **H. P. Furger.**

(9. II. 44.)

Eine erste Voraussetzung zum Studium der Wachstumsbedingungen von Mikroorganismen ist die genaue Kenntnis des Nährmilieus, in dem sie wachsen und aus dessen Bestandteilen sie ihre arteigene Substanz aufzubauen vermögen. Es ist deshalb für alle derartigen Untersuchungen notwendig, Nährböden bzw. -lösungen zu ermitteln, die möglichst nur aus chemisch definierten und reinen Stoffen aufgebaut sind. Nur mit Hilfe solcher „synthetischer Nährböden" lassen sich Einblicke in die Bedürfnisse an Nähr- und Wuchsstoffen der betreffenden Bakterienart erhalten, womit, wie die neuere Literatur[1]) zeigt, Hinweise besonders für chemotherapeutische Problemstellungen gewonnen werden können.

Tuberkelbazillen, über die in der vorliegenden Mitteilung berichtet werden soll, können relativ leicht in einem solchen synthetischen Milieu gezüchtet werden. Wir benutzten für unsere Versuche eine Modifikation des Nährbodens von *Lockemann*[2]), der nach folgender Vorschrift hergestellt wird:

NaH_2PO_4	3,0 g
KH_2PO_4	4,0 g
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	2,5 g
$2\,[C_3H_4(OH)(COONa)_3] \cdot 11\ H_2O$ (Natrium-citrat)	2,5 g
$(NH_4)_2SO_4 \cdot Fe_2(SO_4)_3 \cdot 24\ H_2O$ (Eisen(III)-ammoniumsulfat)	0,01 g
Glykokoll (Amino-essigsäure)	5,0 g
Glycerin	25,0 g
Dest. Wasser ad	1000,0 cm^3

Neutralisieren mit 10-proz. Natronlauge, kurz aufkochen, filtrieren und sterilisieren im Autoklaven bei 115° während 20 Minuten.

Da Tuberkelbazillen in dieser einfachen Lösung als Oberflächenschwimmkulturen gut gedeihen, muss man annehmen, dass diese im Gegensatz zu vielen andern Mikroorganismen[3]) weiter keiner zusätzlicher, in kleinen Mengen wirksamer Wuchsstoffe mehr bedürfen. Von Verbindungen, die trotzdem intermediär im Stoffwechsel auftreten und die notwendig sind, wäre dann zu vermuten, dass sie von

[1]) Siehe z. B. *H. Staub*, Schweiz. Med. Wochschr. **1943**, 552.

[2]) Z. Hyg. **124**, 284 (1942).

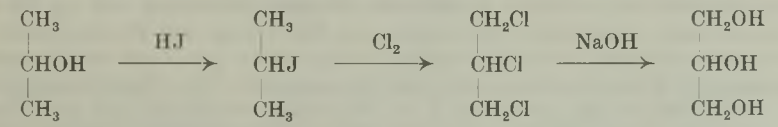
[3]) *G. Peskett*, Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc. **8**, 1 (1933); *S. A. Koser* und *F. Saunders*, Bacter. Rev. (Am.) **2**, 99 (1938).

den Bazillen selbst synthetisiert werden. So hat z. B. *P. Fildes*[1]) in Kulturen von Tuberkelbazillen Tryptophan nachgewiesen, und wir selbst konnten diese Beobachtung bestätigen bei einem Bakterienstamm, der seit langer Zeit ausschliesslich auf dem oben erwähnten, Tryptophan-freien Milieu gezüchtet worden war[2]).

Anhand dieser und ähnlicher Befunde stellte sich nun ohne weiteres die Frage, ob die zur Bereitung des Nährbodens verwendeten Substanzen tatsächlich frei von Beimischungen kleiner Mengen solcher Verbindungen wie z. B. Tryptophan sind, die als Wuchsstoffe von Bedeutung sein könnten. In erster Linie war unter den notwendigen Verbindungen des Substrats das Glycerin verdächtig, das einmal in überaus grossen Mengen zugegeben wird, und das sodann für gewöhnlich immer aus natürlichen pflanzlichen oder tierischen Fetten durch Verseifung gewonnen wird, so dass in ihm sehr wohl noch Spuren von Wuchsstoffen enthalten sein können. Tryptophan, welches in den Bakterienkulturen gefunden worden war, konnte zwar im Glycerin des Handels mit Hilfe der üblichen Reagenzien (m-Nitrobenzaldehyd, Vanillin, p-Dimethylamino-benzaldehyd) nicht nachgewiesen werden. Um diese Frage aber generell auch für alle andern möglichen Wuchsstoffe abzuklären, schien es im Hinblick auf die zentrale Bedeutung, welche dem Glycerin im Stoffwechsel der Tuberkelbazillen zukommt, wünschenswert, im Substrat das natürliche Glycerin durch ein reines, d. h. synthetisches Glycerin, das ausgehend von Acetylen gewonnen worden war, zu ersetzen.

Glycerin ist bereits mehrfach synthetisch aus einfacheren Verbindungen gewonnen worden. Neuerdings liegen auch eine Reihe von Vorschlägen für technische synthetische Verfahren vor[3]). Als Ausgangsmaterial stand uns ein von der *Lonza A.G.*, Elektrizitätswerke und Chemische Fabriken, aus Acetylen gewonnener Isopropylalkohol zur Verfügung[4]).

Auf Grund von Vorversuchen entschieden wir uns für die nachstehende Reaktionsfolge, die es erlaubt, im Laboratoriumsmassstab mit befriedigender Ausbeute aus Isopropyl-alkohol Glycerin zu gewinnen:



Die erste Stufe wurde in Anlehnung an die Angaben von *F. Norris*[5]) durchgeführt. Das gebildete Isopropyljodid wurde vom nicht umgesetzten Isopropylalkohol durch mehrmaliges Ausschütteln mit konz. Salzsäure befreit.

---

[1]) Brit. J. exptl. Path. **14**, 343 (1933).

[2]) Hrn. Dr. *H. Süllmann* danken wir für die Durchführung der Tryptophanbestimmung.

[3]) Zusammenstellung siehe *Th. Kleinert*, Ch. Z. **65**, 217 (1941).

[4]) Wir möchten auch an dieser Stelle für die Überlassung dieses Präparates der Direktion der *Lonza A.G.* unsern verbindlichsten Dank aussprechen.

[5]) Am. **38**, 640 (1907).

Die Überführung in das 1,2,3-Trichlor-propan erfolgte durch Chlorieren eines Gemisches von Isopropyljodid und Wasser in der Wärme[1]). Durch fraktionierte Destillation liess sich das gebildete 1,2,3-Trichlor-propan von andern Chlorierungsprodukten abtrennen.

Die Verseifung des Trichlor-propans wurde in Abwandlung der in der Literatur vorhandenen Vorschriften[2]) — die bei der Überprüfung nur schlechte Ausbeuten ergaben — in schwach natriumhydroxydalkalischer wässeriger Lösung durchgeführt. 4 g 1,2,3-Trichlor-propan wurden mit 30 cm³ Wasser unter Zusatz von 3 cm³ 2-n. Natriumhydroxydlösung im Bombenrohr während 24 Stunden auf 150° erhitzt. Die wässerige Lösung wurde von harzigen Rückständen, sowie von noch unverändertem Trichlor-propan abgetrennt und im Vakuum eingedampft. Aus dem Rückstand liess sich im Vakuum (14 mm) zwischen 167—169° Glycerin abdestillieren (Ausbeute 65%). Das so gewonnene Glycerin wurde anschliessend durch mehrmaliges Destillieren im Vakuum weiter gereinigt bis zum Ausbleiben der Halogen-Spurenreaktionen.

Wachstumsversuche. Die nach der angeführten Vorschrift mit synthetischem Glycerin hergestellte Nährlösung wurde zu je 50 cm³ in *Erlenmeyer*-Kolben von 200 cm³ Rauminhalt eingefüllt und mit Tuberkelbazillen eines bovinen Stamms „Vallée" beimpft (Oberflächenschwimmkulturen; Grösse des Inoculums ca. 5 mg Trockengewicht). Die Kolben wurden 21 Tage bei 37° bebrütet, und hierauf zur Feststellung der gewachsenen Bakterienmenge die Kultur durch ein vorher gewogenes Papierfilter filtriert, mit destilliertem Wasser nachgewaschen, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und das Trockengewicht bestimmt. Es wurden stets 3—6 Parallelkolben angesetzt und die arithmetischen Mittel der Wägungen genommen. Tabelle 1 gibt als Beispiel zwei solche Versuche wieder:

Tabelle 1.

	mg Trockengewicht Bakterien pro Kolben	
Nährmilieu mit natürl. Glycerin .	257	248
Nährmilieu mit synthet. Glycerin .	253	261

Die geringfügigen Differenzen liegen innerhalb der Fehlerbreite der Methodik. Demnach bestehen in bezug auf die wachstumsfördernden Eigenschaften keine Unterschiede zwischen natürlichem und synthetischem Glycerin.

Atmungsversuche. Tuberkelbazillen einer 3-wöchigen Kultur desselben Stamms wurden im Mörser fein zerrieben, in 0,667-mol. Phosphatpufferlösung vom p_H 6,8 aufgenommen, durch wiederholtes Zentrifugieren bei 3000 U./min. mit Phosphatpuffer gewaschen und schliesslich in der Pufferlösung so suspendiert, dass 1 cm³ der homogenen Suspension 10—20 mg Trockengewicht Bakterien entsprach. Diese Bakteriensuspension wurde in *Warburg*-Gefässe gebracht und der Sauerstoffverbrauch mit und ohne Zusatz von natürlichem und synthetischem Glycerin manometrisch gemessen und über 7 Stunden verfolgt. Der Atmungsverlauf war während dieser Zeit linear. Gas: Sauerstoff. Gesamtvolumen im *Warburg*-Gefäss: 2,2 cm³ (0,5 cm³ Bakteriensuspension; 1,5 cm³ Phosphatpuffer mit oder ohne Glycerin; 0,2 cm³ 20-proz. KOH im Einsatz). Temperatur: 37°.

Berechnet man die verbrauchte Menge Sauerstoff auf die eingewogene Bakterienmenge, so ergibt sich folgendes Bild (Tab. 2):

[1]) Siehe *E. Linnemann*, A. **136**, 48 (1865). Vergleichende Versuche ergaben, dass es in Abänderung der dortigen Angaben vorteilhafter ist, bei erhöhter Temperatur zu chlorieren.

[2]) Siehe *C. Friedel* und *R. D. Silva*, C. r. **76**, 1594 (1873), und auch *O. Matter*, D.R.P. 369 502.

Tabelle 2.

Ansatz	mm^3 O_2/Std./mg Trockengewicht Bakterien
Bakterien in Puffer	2,1
Bakterien in 5% natürl. Glycerin . . .	6,1
Bakterien in 5% synthet. Glycerin . .	6,1
Bakterien in 1% natürl. Glycerin . . .	5,1
Bakterien in 1% synthet. Glycerin . .	5,3

Auch in diesem empfindlichen Atmungstest bestätigen sich also die Wachstumsversuche, nach denen das reine, synthetische Glycerin für die Tuberkelbazillen ein dem natürlichen Glycerin gleichwertiges Substrat darstellt.

Die Atmungsversuche entsprechen im übrigen den Angaben anderer Autoren[1]), wonach Tuberkelbazillen sehr wohl im *Warburg*-Apparat Glycerin zu veratmen vermögen, und stehen im Gegensatz zu neuern Versuchen von *F. Bernheim*[2]) u. a. Wir werden in einer späteren Mitteilung eingehender auf diese Verhältnisse zu sprechen kommen.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Methode beschrieben, um im Laboratoriumsmassstab aus Isopropylalkohol Glycerin herzustellen.

2. Dieses synthetische Glycerin erweist sich im Wachstums- wie im Atmungsversuch als ein dem natürlichen gleichwertiges Substrat für Tuberkelbazillen.

Basel, Hygienisches Institut und Anstalt für Anorganische Chemie der Universität.

---

49. Studien zur Messung des cellulären Faktors

von **Ch. Wunderly.**

(7. II. 44.)

Das Problem der Senkungsreaktion der roten Blutkörperchen wäre einseitig gesehen, wollte man nur die Plasmabestandteile für die Erklärung heranziehen. Der celluläre Faktor oder wie *Frimberger*[3]) ihn benennt, die Ballungsbereitschaft der roten Blutkörperchen, stellt eine weitere Variable dar, deren zahlenmässige Erfassung bis heute nur unbefriedigend gelungen ist. Wie bedeutend der Einfluss sein kann, welchen der celluläre Faktor auf den Reaktionsablauf ausübt, lässt sich gut darstellen durch einen Vergleich des Blutes

[1]) *R. O. Loebel, E. Shorr* und *H. B. Richardson*, J. Bact. (Am.) **26**, 139 (1933).
[2]) J. Bact. (Am.) **41**, 387 (1941).
[3]) *Frimberger*, Z. exptl. Med. **103**, 539 (1938); Erg. inn. Med. **61**, 680 (1942).

vom normalen Mensch, Pferd und Rind. Dazu wird erst deren Plasmazusammensetzung untersucht und anschliessend die Senkung der roten Blutkörperchen beobachtet in einer Standardflüssigkeit, welche geeignet ist, das Plasma zu ersetzen.

Aussalzungskurven des Blutplasmas von normalem Mensch, Pferd und Rind.

Die Methode stützt sich auf das Fällungsvermögen verschieden konzentrierter, äquimolekularer Gemische von primärem und sekundärem Kaliumphosphat bei konstantem p_H 6,5. Die molare Konzentration des Salzgemisches variiert zwischen 0,6 und 3,0. Aus demselben werden aliquote Mengen zu je 0,5 cm³ Blutplasma fliessen gelassen; diese Lösungen werden bei 25° im Wasserthermostat langsam rotiert, anschliessend filtriert und im Filtrat durch Mikro-*Kjeldahl*-Bestimmung der Stickstoff bestimmt; somit gelangt die in Lösung verbliebene Proteinmenge zur Messung. Weitere Einzelheiten s. bei *Wuhrmann* und *Wunderly*[1]). Zur graphischen Darstellung des Ergebnisses werden auf der Abszisse die Konzentrationen der Phosphorsäure, auf der Ordinate die gefundenen Stickstoffwerte in mg% eingetragen. Es ist notwendig, dass die Kurve durch 32 Punkte gesichert ist, denn nur durch eine hinreichend dichte Besetzung der Unstetigkeiten kann die Lage derselben mit wünschbarer Genauigkeit festgelegt werden. Da sich auf Grund der Unstetigkeiten die Grösse der Einzelfraktionen ermessen lässt, sind diese für die Beurteilung der Plasmazusammensetzung massgebend. Wie gleichzeitig angestellte, gravimetrische Fibrinbestimmungen ergaben, fallen im PO_4'''-Konzentrationsbereich von 0,6—1,3 Mol/L nicht nur Fibrinogen aus, sondern auch grobdisperse Anteile des Euglobulins, weshalb dieser Abschnitt als Fibrinogen-Globuline bezeichnet wird. Eine Unterteilung der Globuline in Eu- und Pseudoglobulin konnten wir nur in einigen pathologisch veränderten Plasmaproben feststellen.

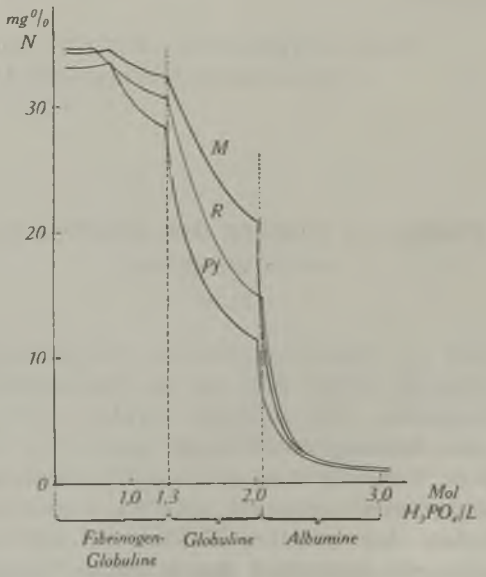


Fig. 1.
Aussalzungskurven von M = Mensch, R = Rind, Pf = Pferd.

[1]) *Wuhrmann* und *Wunderly*, Helv. med. acta, Suppl. Bd. X (1943).

Die Zusammensetzung nach Fraktionen ergibt sich wie folgt:

Tabelle 1.

Im Citrat-Plasma	Mensch g%	Pferd g%	Rind g%
Fibrinogen-Globuline . . .	0,44	1,04	0,8
Globulin	2,32	3,40	3,16
Albumin	4,56	2,28	2,96
Gesamt-Eiweiss	7,32	6,72	6,92
Spez. Gew. des Plasma . .	1,034	1,037	1,049

Es ergibt sich, dass in der Reihenfolge Mensch < Rind < Pferd, eine zunehmende Verschiebung nach den grobdispersen Proteinfraktionen stattfindet.

Temperaturabhängigkeit der Viskosität.

Jede Verschiebung der Konzentrationsverhältnisse der Proteinfraktionen muss sich auf die kolloidphysikalischen Eigenschaften des Plasmas entsprechend auswirken. So zeigen die stäbchenförmigen Fibrinogen-Teilchen grössere Strömungsanomalie wie die kugelförmigen Albumin-Teilchen. Über die Achsenverhältnisse der Proteinteilchen der einzelnen Fraktionen berichten *Polson*[1]), *Neurath* und *Cooper*[2]), sowie *Fahey* und *Green*[3]); ihre Angaben, welche auf der gleichzeitigen Messung von Viskosität, Diffusion und Sedimentation beruhen, geben ein Mass für die durchschnittliche Formanisotropie des Einzelteilchens. Allerdings darf im Plasma nicht mit einer einfachen Abhängigkeit von Viskosität und etwa dem Gehalt an fibrillären Proteinen gerechnet werden, da stets eine Wechselwirkung der Teilchen untereinander stattfindet. Die Grösse der dadurch bedingten Strukturviskosität und ihrer Temperaturabhängigkeit lassen sich vorläufig nur abschätzen.

Die Messung der Plasma-Viskosität geschieht spätestens 3 Stunden nach Blutentnahme; um von den geformten Blutbestandteilen zu trennen, wird erst 3′ bei 10000 und 3′ bei 15000 T. zentrifugiert; darauf 3 cm³ Blutplasma in das *Ostwald*-Viskosimeter pipettiert; dasselbe steht völlig eingetaucht im Wasserthermostaten (Temperaturregelung $\pm$ 0,01°). Die Viskosität wird ausgedrückt als spezifische Viskosität geteilt durch den Gesamtproteingehalt des betreffenden Plasmas; dadurch wird die λ_{sp} bezogen auf 1 g% Proteingehalt. Beobachtet wird im Temperaturintervall von 10—50° C; wenige Grade oberhalb dieser Temperatur beginnen Zersetzungserscheinungen.

Die Viskosität aller untersuchten Blutplasmaproben nimmt mit steigender Temperatur vorerst ab; zwischen 30° und 40° zeigt die Viskosität ein Minimum, um bei weiter steigender Temperatur nochmals etwas zuzunehmen. Pferd- und Rinderplasma zeigen eine sehr

[1]) *Polson*, Kolloid-Z. **88**, 51 (1939).
[2]) *Neurath & Cooper*, Am. Soc. **62**, 2248 (1940).
[3]) *Fahey & Green*, Am. Soc. **60**, 3039 (1938).

ähnliche relative Viskositätsabnahme; beim Menschen ist diese weniger ausgeprägt, die Kurve deshalb flacher. Wie stark sich Kurvenlage und Form ändern können, sowie patho-physiologische Einflüsse hinzukommen, zeigen je eine Blutplasmakurve bei Polyarthritis und Nephrose. Eine grössere Zahl davon wird im Zusammenhang mit den klinischen Daten anderweitig besprochen. Die

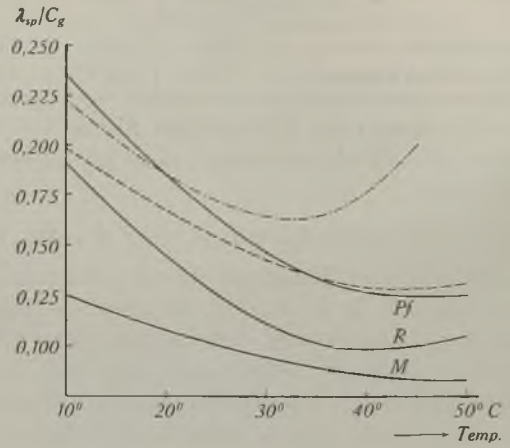


Fig. 2.

Temperaturabhängigkeit der Viskosität der Blutplasma von:
Pf = Pferd; R = Rind; M = Mensch, normal.
– – – – – = Mensch, Polyarthritis; –·–·–·– = Mensch, Nephrose.

beobachtete Abnahme der λ ist in erster Linie der Ausdruck für eine allmähliche Desaggregation der Proteinteilchen; nach Massgabe ihrer Bindungsstärke lockern sich progressiv die Gruppen mit der kleinsten Kohäsion, so gleich zu Beginn die schwachen Anziehungskräfte zwischen lipophilen Gruppen in den Seitenketten. Die gleichfalls abnehmende Solvatation der Teilchen leitet ihre hitzebedingte, irreversible Koagulation ein. Dabei hat sich ergeben, dass die Lage der Kurve im Koordinatennetz hauptsächlich vom Gehalt des Blutplasmas an Fibrinogen-Globulinen abhängt, während die Gestalt der Kurve durch den Umfang der Wechselwirkung der Proteinteilchen bedingt wird.

Senkungsreaktion und Blutwerte bei Mensch, Pferd und Rind.

Die Senkungsreaktion wurde nach der Original-Methode von *Westergren*[1]) vorgenommen; dazu wird Blut und 3,85% Natriumcitrat im Verhältnis 4 : 1 gemischt.

[1]) *Westergren*, Erg. inn. Med. **26**, 577 (1924).

Tabelle 2.

	Mensch, ♂ mm	Pferd mm	Rind mm
Senkung nach 30′	4	27	—
Senkung nach 60′	9	63	0,5
Senkung nach 120′ . . .	15	109	1
Erythrocyten im mm^3 . .	$5{,}1 \times 10^6$	$6{,}3 \times 10^6$	$6{,}5 \times 10^6$
Haemoglobin %	94	74	72
Farbe-Index	0,92	0,58	0,56

Bei dem Vergleich der Senkungsabläufe fällt die rasche Senkung des Pferdes gegenüber dem Menschen auf; betrachtet man aber die physikalisch-chemischen Eigenschaften des normalen Pferdeplasmas und die Zusammensetzung seiner Proteinfraktionen, wie dies aus Figg. 1 und 2 hervorgeht, so findet die beobachtete Senkungsbeschleunigung darin ihre Erklärung. Ihre Abhängigkeit vom Gehalt an fibrillären Proteinen haben wir beschrieben (*Wunderly* und *Wuhrmann*[1]). Während also die Senkungsreaktion des Pferdes weitgehend abgeleitet werden kann von humoralen Faktoren, ist dies beim Rind nicht möglich. Nach den Befunden auf Figg. 1 und 2 wäre hier eine Senkung zu erwarten, welche halbwegs zwischen Mensch und Pferd liegt. Wenn nun der 2-Stundenwert der Senkung des Rindes nur eben messbar ist, so muss dies dem cellulären Faktor zugeschrieben werden. Interessanterweise wird die Senkung selbst bei kranken und trächtigen Rindern nicht beschleunigt gefunden (*Wirth*)[2]); damit dürfte im Zusammenhang stehen, dass das Rind weniger leicht immunisierbar ist wie das Pferd, und bei ihm die Gewinnung hochwertiger Antisera viel längere Zeit dauert (*Schmidt*)[3]).

Vergleich des Gehaltes an Proteinbausteinen.

Auf Fig. 2 nehmen die Kurven von Pferd- und Rinderplasma einen deutlich parallelen Verlauf und stehen damit im Gegensatz zu der wesentlich flacheren Kurve von menschlichem Blutplasma. Es scheint uns bemerkenswert, dass analoge Verhältnisse vorliegen, wenn man die Werte für einzelne Aminosäure-Bausteine im Euglobulin und Pseudoglobulin bei Mensch, Pferd und Rind vergleicht.

Obwohl die Werte nicht überall mit derselben Analysenmethode gewonnen wurden und deshalb mit einer Abweichung von etwa 0,3 % zu belasten sind, erweist sich auch hier die Ähnlichkeit der Werte von Pferd und Rind. Dagegen ist im menschlichen Serum der Gehalt an Hexonbasen deutlich abweichend. Damit ist auf den Zusammen-

[1]) *Wunderly* und *Wuhrmann*, Klin. Wochschr. **22**, 587 (1943).
[2]) *Wirth*, aus *Reichel*, „Blutkörperchensenkung", S. 234 (Wien 1936).
[3]) *Schmidt*, Grundl. d. spez. Therapie (Berlin 1940).

hang zwischen Gehalt an einzelnen Protein-Bausteinen und physikalisch-chemischer Eigenschaft des Serums bzw. Plasmas hingewiesen, wie solche in der Temperaturabhängigkeit der Viskosität zum Ausdruck kommt.

Tabelle 3.

		Arginin g%	Histidin g%	Lysin g%	Cystin g%
Mensch	Euglobulin[1])	3,00	2,64	nicht	2,57
	Pseudoglobulin[1])	2,96	2,71	be-	2,36
	Globin[1])	1,37	7,36	stimmt	1,24
Pferd	Euglobulin[2])	8,5	5,0	9,9	1,7
	Pseudoglobulin[2])	8,9	5,8	9,8	1,7
	Globin[3])[4])	3,3	7,6	8,1	0,4
		3,5	7,5	8,2	
Rind	Euglobulin[5])	11,6	3,8	9,2	2,0
	Pseudoglobulin[5])	10,8	4,8	9,6	1,9
	Globin[6])	3,1	7,4	8,0	0,5

Vom Haemoglobin ist bekannt, dass für seine Artspezifität in erster Linie Unterschiede im Bau der Globin-Komponente massgeblich sind. Vergleicht man die Werte einzelner Globinbausteine bei Pferd und Rind, so ergeben sich wieder grosse Ähnlichkeiten. Im Gegensatz dazu enthält menschliches Globin rund 40 % weniger Arginin und 64 % mehr Cystin. Im oben gezeigten Senkungsablauf lässt sich die erwähnte Ähnlichkeit bzw. Abweichung nicht mehr ableiten. Das menschliche Blut steht mit seiner Senkungsgeschwindigkeit zwischen dem viel rascher senkenden Pferdeblut und dem kaum messbaren Rinderblut; beim Letztgenannten muss der Grund wohl in cellulären Lipoiden gesucht werden, welche in die Grenzschicht der Erythrocyten eingebaut sind.

Senkungsablauf im Plasmamodell.

Um die cellulär bedingte Hemmung der Senkungsreaktion (wofür Rinderblut ein ausgezeichnetes Beispiel darstellt) näher zu charakterisieren, befreien wir die Erythrocyten durch gründliches Waschen von den Plasmabestandteilen und beobachten ihre Senkungs-Geschwindigkeit nach Zugabe eines proteinfreien Pektinsoles. Wir haben letzthin die Wirkung desselben auf menschliche Erythrocyten und ihre Senkung beschrieben (*Wunderly* und *Wuhrmann*[7])). Als Pektin dient ein hochgereinigtes Präparat aus Apfelschalen, mit 37—50 freien Carboxylgruppen pro Molekel und einem Mol.-Gew. von über

[1]) *Balint* und *Balint*, Bioch. Z. **305**, 310 (1940); **306**, 296 (1940); **308**, 83 (1941).
[2]) *Harris* und *Eagle*, J. gen. Physiol. **19**, 383 (1935).
[3]) *Block*, J. Biol. Chem. **105**, 663 (1934).
[4]) *Abderhalden*, Biochem. Hdlex. Bd. **14**, 232 (1933).
[5]) *Hartley*, Biochem. J. **13**, 248 (1914).
[6]) *Bergmann* und *Niemann*, J. Biol. Chem. **118**, 301 (1937).
[7]) *Wunderly* und *Wuhrmann*, Schweiz. Med. Wochschr. **1944**, 185.

40000[1]). Mit zweifach destilliertem Wasser wird davon ein Sol hergestellt von 0,24 Gew.-Prozent; dieses Sol wird kühl aufbewahrt und jede Woche erneuert. Ferner wird eine Lösung hergestellt, welche pro Liter 16 g NaCl; 0,4 g KCl; 0,2 g $CaCl_2$; 0,2 g $MgCl_2$ und 0,1-molar Phosphat-Puffer nach *Sörensen* enthält. Werden gleiche Teile von dieser Lösung I und dem Pektin-Sol (Lösung II) gemischt, so erhält man ein Sol, dessen λ_{rel} 1,90 beträgt, das somit isoviskos ist mit Blutplasma; die Pektinmodell-Lösung ist ferner isotonisch und da ihr p_H auf 7,34 gestellt wird (Chinhydron-Elektrode), auch isohydrisch. Zur Beobachtung des Einflusses von Acidose und Alkalose werden noch die p_H 6,34; 6,70; 7,01 und 7,78 eingestellt und vergleichsweise mitgemessen. Die Blutproben, welche in üblicher Weise mit Natriumcitrat ungerinnbar gemacht wurden, werden 1 Stunde nach Entnahme 2′ bei 5000 und 3′ bei 10000 T. zentrifugiert, das Plasma mit der Pipette abgehoben und durch *Ringer*-Lösung ersetzt. Um den Waschеffekt zu verbessern, werden die ursprünglich 12 cm³ Blut auf 4 Zentrifugengläschen gleichmässig verteilt, so dass das Verhältnis von Erythrocyten zur Waschflüssigkeit (*Ringer*-Lösung) auf 1 : 10 gesteigert werden kann. Dieses Auswaschen auf der Zentrifuge wird viermal wiederholt; auf diese Weise werden die Blutzellen praktisch frei von Serum, wie *Albers*[2]) und Mitarbeiter auf Grund der haemolytischen Wirksamkeit einer Verdünnungsreihe von HCl nachgewiesen haben. Eine messbare Resistenzveränderung als Folge der Waschung ist nicht anzunehmen, solange die Waschflüssigkeit keine lipophilen Eigenschaften aufweist. Die gewaschenen Erythrocyten werden in einem Messzylinder vereinigt und mit *Ringer*-Lösung auf das ursprüngliche Volumen (12 cm³) gebracht. Von dieser 100-proz. Erythrocyten-Suspension werden je 1,2 cm³ in kleine Reagensgläschen fliessen gelassen und dort mit je 0,3 cm³ Pektin-Modell-Lösung gut homogenisiert. Nach 15′ wird zur Senkungsbestimmung in *Westergren*-Pipetten aufgezogen.

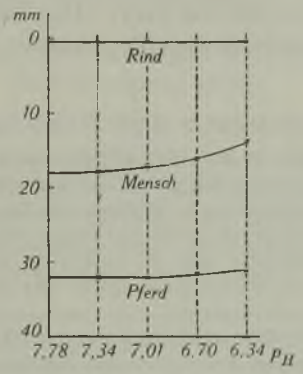


Fig. 3.
Einstundenwerte der Senkungsreaktion.
Standardflüssigkeit im p_H Bereich 7,78 – 6,34.

Auf obenstehender Fig. 3 sind auf der Abszisse die 5 mit 0,05-m. Phosphatpuffer eingestellten p_H-Werte, darunter mit 7,34 derjenige des strömenden Blutes; auf der Ordinate sind die Einstundenwerte der Senkung in mm aufgetragen.

Während die Erythrocyten des Rindes nur eine minimale Senkung zeigen, sind die Werte beim Menschen mittelgross, beim Pferd erheblich beschleunigt. Damit ist bewiesen, dass die minimale

[1]) Das Pektin-Präparat wurde uns vom Agrikulturchem. Institut der E.T.H. freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

[2]) *Albers, Endter, Künzel, Schuler, Weiss* und *Westlinning*, Bioch. Z. **314**, 186 (1943).

Senkung der Rinder-Erythrocyten cellulär bedingt ist. Der Senkungsablauf zeigt im serumfreien Pektin-Plasmamodell genau dieselbe Reihenfolge, wie sie im Blut (s. Tab. 2) gefunden wurde. Auf diese analoge Wirksamkeit soll erst näher eingetreten werden, wenn ein grösseres Material an normalen, sowie pathophysiologisch veränderten Erythrocyten vorliegt. Es zeichnet sich hier die Möglichkeit ab, neue Einsicht zu gewinnen über die Wechselwirkung zwischen Blutzelle und umgebendem Blutplasma, während Änderungen in der Proteinzusammensetzung des letzteren.

Nun folgen Versuche, welche die Wirkung zeigen von Serum, Serum-Globulin und inaktiviertem Serum auf den Senkungsablauf in der Pektin-Standardflüssigkeit; dabei ist nirgends Haemolyse sichtbar geworden.

Serumzusatz und Senkungsablauf.

Dazu werden je 1,6 cm^3 gewaschene, normale Erythrocyten (Mensch) mit 0,1 cm^3; 0,04; 0,01; 0,002 cm^3 homologem Serum versetzt und 15′ stehen gelassen. Darauf werden in die 4 Röhrchen je 0,4 cm^3 isotonisches Pektin-Sol vom p_H 7,34 zufliessen gelassen und homogenisiert; nach 15′ wird in *Westergren*-Pipetten hochgezogen.

Der Einstundenwert der Senkung beträgt in allen 4 Pipetten gleichmässig 18 mm (2 Std. 34 mm). Der Serumzusatz übt somit im beobachteten Konzentrationsgebiet keine Wirkung aus auf den Senkungsablauf.

Globulinzusatz und Senkungsablauf.

Das Serumglobulin wird in der früher beschriebenen Methode[1]) hergestellt und mit physiol. Kochsalzlösung zu einem Sol gelöst, welches 8,8 mg Globulin pro cm^3 enthält. Zu je 1,6 cm^3 gewaschenen Erythrocyten (Mensch) werden 0,16 cm^3 Globulinsol zufliessen gelassen; nach 15′ versetzt man mit je 0,4 cm^3 Pektin-Sol, welche gepuffert sind auf die p_H 7,78, 7,34, 7,01, 6,70 und 6,34; nach 15′ wird in die *Westergren*-Pipetten aufgezogen.

Der Einstundenwert der Senkung beträgt 38—39 mm (2 Stunden 74—75 mm); sie wird somit durch den Globulinzusatz mehr als verdoppelt. Andererseits werden die Erythrocyten durch den Proteinfilm für Alkalose und Acidose weniger empfindlich; während im proteinfreien Senkungsversuch normale Erythrocyten (Mensch) im p_H-Gefälle von 7,78 → 6,34 eine Abnahme der Senkungsgeschwindigkeit um 7—8 mm (Einstundenwert) zeigen, wird im obigen Versuch keine Änderung sichtbar. Anschliessend wurden bei p_H 7,34, abgestuft kleinere Zusätze von Globulinsol auf ihre senkende Wirkung geprüft. Es ergibt sich, dass ein Zusatz von 0,26 mg Serumglobulin pro Ansatz oder 13 mg% in der *Westergren*-Pipette die minimale Menge darstellen, welche eine noch messbare Senkungsbeschleunigung zur Folge haben. Rechnen wir die durchschnittliche Oberfläche eines normalen Erythrocyten (Mensch) zu 128 μ^2 (*Bernstein* und *Chesluk*[2])), so beträgt ihre Gesamtoberfläche im Ansatz 1,4 m^2. Auf diese Fläche verteilen sich 0,26 mg Serumglobulin; somit 0,18 mg pro m^2. Nun haben *Gorter*[3]) und *Hooft*[4]) auf Wasseroberflächen gemessen, dass Serumglobulin bei $p_H = 1$ (0,1-n. HCl-Puffer) auf 1 m^2 pro mg

[1]) *Wunderly*, Helv. **25**, 498 (1942).
[2]) *Bernstein* und *Chesluk*, J. Lab. Clin. Med. **27**, 1280 (1942).
[3]) *Gorter*, Faraday **33**, 1125 (1937).
[4]) *Hooft*, J. physiol. path. gen. **36**, 652 (1938).

spreizt und bei p_H 5,2 (0,0033-n. Natriumacetat-Puffer) auf 0,96 m^2/mg. *Svedberg*[1]) und *Astbury*[2]) berechneten die Dicke des so entstehenden Proteinfilms auf 10 Å und schlossen aus der ungewöhnlich grossen, bedeckten Fläche auf die Deformation der sphäroiden Proteinteilchen.

Alexander[3]) hat die Grenzflächen-Spannung, -Viskosität und das -Potential von monomolekularen Proteinschichten an den Grenzflächen Öl/Wasser und Luft/Wasser vergleichend gemessen; er findet, dass der physikalische Zustand des Protein-Häutchens bei enger Packung an beiden Grenzflächen derselbe ist. Dabei dürfte die Grenzschicht Öl/Wasser vorläufig die beste modellmässige Wiedergabe der Verhältnisse sein, wie sie an der Grenzschicht Erythrocyten/Wasser vorliegen.

Übertragen wir diese Verhältnisse auf die Grenzschicht Erythrocyten/Wasser, so bemerken wir, dass die 0,18 mg Globulin pro m^2 keine vollständige Bedeckung der Blutzellen zustande bringen können. Die Orientierung der Globulin-Teilchen an diese Grenzschicht dürfte so erfolgen, dass die Polypeptidketten sich flach auf die grösstenteils lipoidhaltige Oberfläche der Erythrocyten legen und andererseits die polaren Gruppen ihrer Seitenketten dem Wasser zu richten. Dass es dabei zu einer gewissen Entfaltung der ineinander verknäuelten Polypeptidketten kommt, ist wahrscheinlich.

Zusatz von inaktiviertem Pferdeserum und Senkungsablauf.

Wir haben gesehen wie durch zugesetztes Serum, wo bis zu 2,5 mg Globulin pro Ansatz enthalten ist, der Senkungsablauf nicht beeinflusst wird; dagegen bewirken 0,26 mg isoliertes Serumglobulin, da hier die abschirmende Wirkung der Albumine fehlt, eine gut messbare Senkungsbeschleunigung. Die Steigerung der globulinbedingten Reaktionsbereitschaft kann auch in folgender Weise erreicht werden.

Man erhitzt im Wasserthermostat 2 cm^3 Serum (Pferd) während 30′ auf 56°; das Serum bleibt klar und lässt äusserlich durch nichts erkennen, dass seine Proteinstruktur eine Änderung erfahren hat. Erst durch den folgenden biologischen Versuch tritt diese in Erscheinung. Zu je 1,6 cm^3 gewaschener, normaler Erythrocyten (Pferd) werden 0,2 cm^3 frisches und parallel dazu 0,2 cm^3 hitzevorbehandeltes Serum (Pferd) zugegeben und 15′ stehen gelassen. Darauf werden je 0,4 cm^3 Pektin-Sol vom p_H 7,34 unter Umschwenken zufliessen gelassen. Nach 15′ wird in *Westergren*-Pipetten aufgezogen.

Die Pipette mit unvorbehandeltem Serum gibt einen Stundenwert von 33 mm Senkung; mit hitzevorbehandeltem Serum dagegen von 51 mm (2-Stundenwerte 78 und 103 mm). Damit ist gezeigt, dass bei der „Inaktivierung" eines Serums nicht nur das hitzelabile Komplement zerstört wird, sondern gleichzeitig intermolekulare Bin-

[1]) *Svedberg*, Proc. Roy. Soc. (London) **127**, 1 (1939).
[2]) *Astbury, Bell, Gorter, v. Ormondt*, Nature **142**, 33 (1938).
[3]) *Alexander*, Faraday **37**, 117 und 426 (1941).

dungen so weit gelockert werden, dass das ursprünglich reaktionsträge Serum nun bindungsbereite Gruppen enthält.

Zusammenfassung:

Die Plasmaproteine von Mensch, Pferd und Rind werden charakterisiert durch Aussalzungskurven sowie durch die Temperaturabhängigkeit ihrer Viskosität.

Es wird die Blutsenkungsreaktion von Mensch, Pferd und Rind verglichen und in Beziehung gebracht zu der Zusammensetzung der Plasmaproteine. Um auch den cellulären Faktor vergleichbar zu erfassen, wird als Standardflüssigkeit ein Pektinsol angegeben, welches isotonisch, isohydrisch und isoviskos ist mit normalem Blutplasma. Aus dem Senkungsablauf von gewaschenen Erythrocyten von Mensch, Pferd und Rind in dieser proteinfreien Standardflüssigkeit, und dem Vergleich ihrer Senkung im Blutplasma, sowie dessen Proteinzusammensetzung, kann auf den cellulären Faktor (Ballungsbereitschaft der Erythrocyten) geschlossen werden.

Der Verfasser möchte den HH. Prof. Dr. *A. Krupski* und Assistent *Lehmann* für ihr freundliches Interesse bestens danken.

Medizin. Universitätsklinik Zürich (Dir. Prof. Dr. *W. Löffler*).

---

50. Diginin und Diginigenin

4. Mitteilung[1])

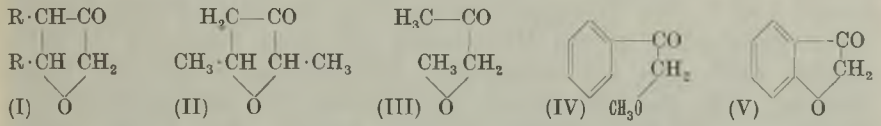
von **C. W. Shoppee**[2])

(10. II. 44.)

In der ersten Mitteilung[3]) wurde auf Grund des starken Reduktionsvermögens des Diginigenins und seiner positiven Reaktion mit 1,4-Dioxy-naphtalin[4]) die Vermutung ausgesprochen, dass es sich bei der für diese Reaktionen verantwortlichen Carbonylgruppe um eine Aldehyd-Gruppierung handeln könnte, nachdem das Vorhandensein einer α-Ketol-Gruppierung ausgeschlossen war. Allerdings ist die Probe mit 1,4-Dioxy-naphtalin nicht sehr beweiskräftig, da auch Ketone bekannt sind, die diese Reaktion geben[5])[6]). Diese Tatsache und besonders der Umstand, dass bei der milden Oxydation von

[1]) 3. Mitteilung: *C. W. Shoppee*, Helv. **27**, 246 (1944).
[2]) Rockefeller Research Fellow an der Universität Basel.
[3]) *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. **23**, 975 (1940).
[4]) *H. Raudnitz, H. Puluj*, B. **64**, 2212 (1931).
[5]) *K. Miescher, A. Wettstein, C. Scholz*, Helv. **22**, 894 (1939), insbesondere 902.
[6]) *D. A. Prins, T. Reichstein*, Helv. **24**, 945 (1941).

Diginigenin und seinem Monoacetat keine wohldefinierten Säuren entstehen, führte nunmehr zu der Auffassung, dass die reaktive Carbonylgruppe im Diginigenin als Ketogruppe vorliegt, und zwar in der Gruppierung $\equiv C-CO-CH_2-O-C\equiv$ [vgl. Formel (I)]. In der Literatur scheinen β-Keto-α',β'-dialkyl-tetrahydrofurane (I) nicht beschrieben zu sein, lediglich eine sehr ähnliche Verbindung, das β-Keto-α,α'-dimethyl-tetrahydrofuran (II) wurde von *Dupont*[1]) dargestellt und seine Konstitution bewiesen.



Ausser der Substanz (II) wurden noch das Methoxy-aceton (III), das ω-Methoxy-acetophenon (IV) und das Cumaranon (V), die ebenfalls die Gruppierung $\equiv C-CO-CH_2-O-C\equiv$ enthalten, zum Vergleich herangezogen, mit dem Ergebnis, dass alle diese Substanzen ein starkes Reduktionsvermögen aufweisen und dass die Proben nach *Legal*[2]) und *Zimmermann*[3]) sowie die mit 1,4-Dioxy-naphtalin bei ihnen positiv ausfallen. Ferner werden (III), (IV) und (V), ebenso wie Diginigenin, von Alkali in der Wärme angegriffen, während bei der Behandlung von Diginigenin, ebenso wie von (II), mit Natriumäthylat eine rötlichgelbe Farbe auftritt. Diese Farbreaktion soll nach *Dupont* für β-Keto-tetrahydrofuran-Derivate charakteristisch sein.

Wie schon früher mitgeteilt wurde[4]), gibt Diginigenin eine positive *Legal*'sche Probe, enthält aber keinen Lactonring. Zwar fällt diese Farbreaktion bei allen Herzgift-Aglykonen, für die ein $\Delta^{\alpha\beta}$-gesättigter Lactonring charakteristisch ist, positiv aus, doch konnten *Jacobs* und *Elderfield* zeigen[5]), dass sie nicht vom Vorhandensein eines Lactonringes abhängig ist. In Wirklichkeit weist die *Legal*'sche Probe nur auf eine aktivierte Methylengruppe hin. Für diesen Zweck scheint die *Zimmermann*'sche Probe ebenso brauchbar und allgemeinerer Anwendung fähig zu sein. Diginigenin gibt diese Reaktion, aber keines seiner Derivate, die durch Hydrierung oder Reduktion nach *Wolff-Kishner* entstanden sind[6]) und eine $=CHOH$- bzw. $=CH_2$-Gruppe an Stelle der reaktiven Carbonylgruppe des Genins enthalten. Die Gegenwart der $-CO-CH_2$-Gruppe im Diginigenin,

---

[1]) *G. Dupont*, Ann. chim. [8] **30**, 485 (1913), insbesondere 535ff.

[2]) *J. G. y Pereira, E. C. Lopez*, Ch. Z. **33**, 892 (1909); *H. Meyer*, Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen, 6. Auflage, 550 (Springer, Berlin 1938).

[3]) *W. Zimmermann*, Z. physiol. Ch. **233**, 257 (1935); *N. H. Callow, R. H. Callow, C. W. Emmens*, Biochem. J. **32**, 1312 (1938); vgl. *A. Reissert*, B. **37**, 831 (1904).

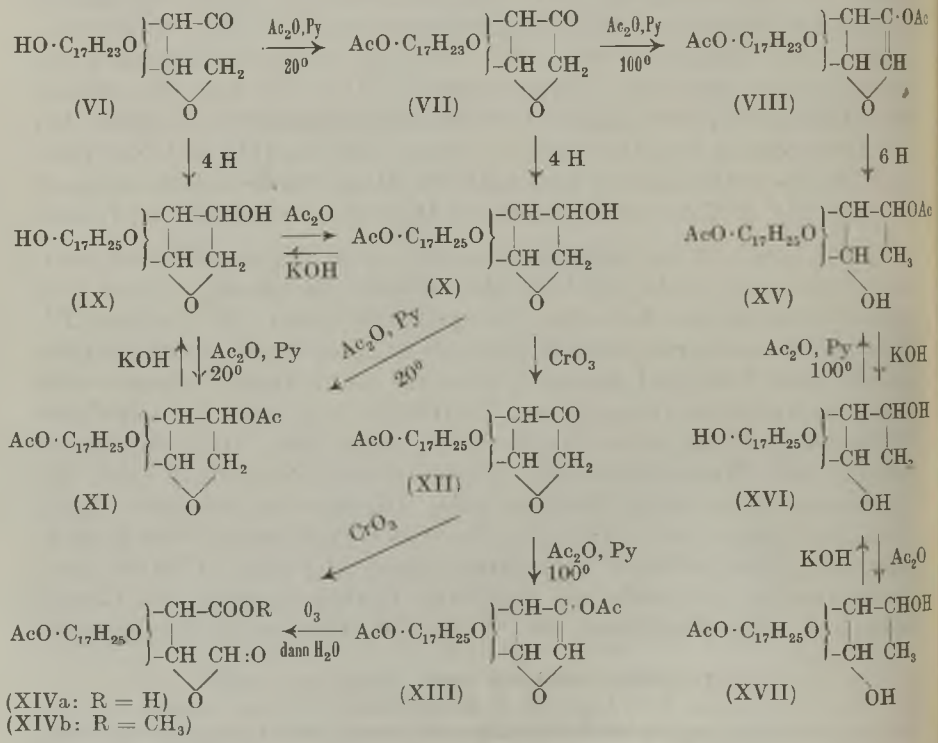
[4]) *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. **23**, 975 (1940).

[5]) *W. A. Jacobs, R. C. Elderfield*, J. Biol. Chem. **91**, 628 (1931).

[6]) Alle derartigen Derivate sind gegen Alkali stabil.

die durch die obigen Farbreaktionen wahrscheinlich gemacht war, konnte eindeutig bewiesen werden durch Kondensation mit Piperonal, wobei ein gelbes Piperonyliden-Derivat entstand.

Die für Diginigenin vorgeschlagene Teilformel (VI) wurde durch die folgende Befunde gestützt: bei milder Acetylierung entstand ein krystallisiertes Monoacetat (VII) (*Legal*'sche Probe positiv)[1]), während energische Acetylierung ein krystallisiertes Diacetat lieferte (*Legal*'sche Probe negativ)[1]), das als das Enol-Diacetat (VIII) aufgefasst wird[2]). Das Tetrahydro-genin (IX), das durch kurzes Kochen mit Acetanhydrid in ein Monoacetat (X) vom Smp. 174°[3]) übergeführt wird, gab bei energischer Acetylierung früher ein öliges Diacetat (XI), das jetzt durch Verwendung von Acetanhydrid und Pyridin bei 20° krystallisiert erhalten konnte. Aus diesen Ergebnissen folgt, dass bei der Hydrierung von Diginigenin eine Kerndoppelbindung abgesättigt wird und eine neue, sekundäre Hydroxylgruppe entsteht.



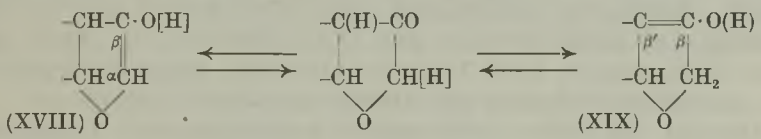
[1]) *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. **23**, 975 (1940).

[2]) Die dem früher beschriebenen Monosemicarbazon von (VIII) zu Grunde liegende Carbonylgruppe muss demnach die im Kern befindliche träge Ketogruppe sein.

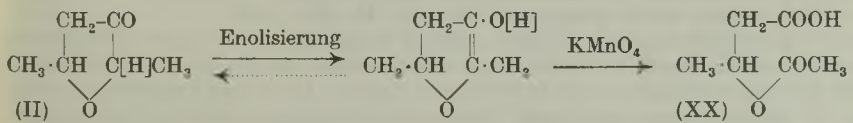
[3]) Eine zweite Krystallmodifikation vom Smp. 153° wird im exptl. Teil beschrieben.

Im Tetrahydro-genin-monoacetat (X) liess sich diese neue, sekundäre Hydroxylgruppe durch Oxydation mit Chromtrioxyd wieder in eine Ketogruppe überführen, wobei das Monoacetat (XII) entstand, das als schön krystallisiertes Semicarbazon charakterisiert wurde, starkes Reduktionsvermögen zeigte und die drei genannten Farbreaktionen gab. Energische Acetylierung von (XII) lieferte eine ungesättigte Verbindung, die nicht krystallisierte. Anscheinend kommt ihr die Konstitution eines Enol-Diacetats (XIII) zu; denn bei der Ozonisierung und anschliessender Zersetzung des Ozonids mit heissem Wasser wurde eine krystallisierte Säure der Formel $C_{23}H_{32}O_7$ erhalten, die als Methylester charakterisiert wurde. Diese Säure wird als Formylester-Säure (XIVa) formuliert; ihr Methylester reagierte nicht mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazinsulfat und reduzierte alkalische Silberdiamminlösung bei 20° nicht merklich, wohl aber in der Wärme. In Spuren wurde die Säure (XIVa) auch bei der Oxydation von (X) zu (XII) erhalten. Ihre Entstehung aus (XII) lässt sich vergleichen mit der von *Dupont*[1]) beobachteten Bildung von γ-Acetoxy-n-buttersäure (XX) aus (II) (vgl. weiter unten).

Die Acetate (VIII) und (XIII) wurden oben als Derivate eines $\Delta^{\alpha\beta}$-Enols (XVIII) des β-Keto-tetrahydrofurans formuliert, obwohl die Entstehung eines $\Delta^{\beta\beta'}$-Enols (XIX) nicht ausgeschlossen ist.



Diese Formulierung ist zwar willkürlich, erfährt aber eine Stütze durch die Befunde von *Dupont*[1]), wonach ausschliesslich die $\Delta^{\alpha\beta}$-Enol-Form (XVIII) auftritt, auch wenn eine Enolisierung in beiden Richtungen möglich ist. So entsteht bei der Oxydation von β-Keto-α,α'-dimethyl-tetrahydrofuran (II) ausschliesslich γ-Acetoxy-n-buttersäure (XX), eine Reaktion, die nach Ansicht des Verfassers über das $\Delta^{\alpha\beta}$-Enol verläuft[2]):

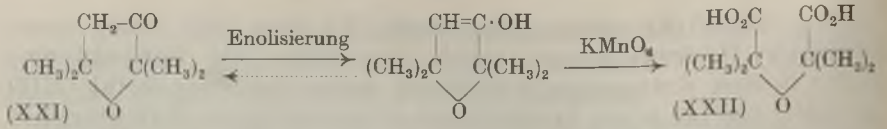


Dagegen liefert die Oxydation von $\alpha,\alpha,\alpha',\alpha'$-tetrasubstituierten Homologen (z. B. XXI), aus denen nur $\Delta^{\beta\beta'}$-Enole entstehen können, Oxydo-dicarbonsäuren (z. B. XXII):

---

[1]) *G. Dupont*, Ann. chim. [8] **30**, 485 (1913), insbesondere 535ff.

[2]) In diesem Zusammenhang sei *Dupont*'s Feststellung hervorgehoben, dass die Oxydation in neutraler Lösung sehr langsam, in alkalischem Milieu dagegen sehr schnell verläuft, was darauf hinweist, dass sie erst nach erfolgter Enolisierung stattfindet.



Wie schon früher ausgeführt wurde[1]), nimmt das Diacetat (VIII) bei der Hydrierung 6 Atome Wasserstoff auf. Dieser Befund, der ursprünglich schwer zu verstehen war, lässt sich erklären, wenn man das Diacetat (VIII) als $\Delta^{\alpha\beta}$-Enol-Diacetat formuliert, und steht in Übereinstimmung mit Beobachtungen von *Roger Adams*[2]), wonach Tetrahydrofurane bei der Reduktion mit seinem Platinoxyd-Katalysator in Eisessig nicht angegriffen werden, während bei der Hydrierung von Furanen bedeutende Mengen von hexahydrierten Produkten auftreten. Im letzteren Falle erfolgt zunächst eine reduktive Spaltung des Oxydringes, und erst dann wird die Ringdoppelbindung abgesättigt. Das Auftreten der Hexahydro-Verbindung (XV) als Hydrierungsprodukt von (VIII) bildet daher in Analogie zu *Adam*'s Befund eine Stütze für die Formulierung des Diacetats (VIII) als $\Delta^{\alpha\beta}$-Enol-Acetat eines β-Keto-tetrahydrofurans.

Das ölige, gesättigte Diacetat (XV) wurde zum früher beschriebenen Hexahydro-genin (XVI)[1]) verseift und das letztere durch kurzes Kochen mit Acetanhydrid in ein Monoacetat (XVII) übergeführt. Energische Acetylierung von (XVI) lieferte nur ein öliges Diacetat, das möglicherweise mit (XV) identisch ist. Dass unter diesen Bedingungen kein Triacetat entstand, hängt vielleicht mit dem anormalen Verhalten von 16-Oxy-steroiden[3]) zusammen.

Obwohl die bisher vorliegenden experimentellen Ergebnisse[4]) noch nicht dazu berechtigen, dem Diginigenin die Formel eines Steroids zuzuerteilen, lassen sich doch alle gemachten Beobachtungen mit den hypothetischen Formeln für Diginigenin (XXIIIa) und sein Diginosid (Diginin) (XXIIIb) in Einklang bringen. Eine solche Formulierung zeigt auch die mögliche biogenetische Verwandtschaft mit den steroiden Digitalis-Saponinen und Sapogeninen (XXIV).

---

[1]) *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. **23**, 975 (1940).

[2]) *R. Adams, W. E. Kauffmann*, Am. Soc. **45**, 3032 (1923).

[3]) 3,16,27-Trioxy-cholesten-(5)[5]), 3,16,27-Trioxy-cholestan[5]) und Gitoxigenin[6]) verhalten sich in bezug auf Veresterung und Verseifung an C_{16} normal, während bei 3,16,27-Trioxy-koprostan[7]) eine beträchtliche sterische Hinderung festgestellt wurde[8]).

[4]) Die Entstehung von Diginan[9]) statt eines der bekannten steroiden Kohlenwasserstoffe könnte entweder durch eine Umlagerung bei der *Wolff-Kishner*-Reduktion erklärbar sein, oder durch die Bildung eines raumisomeren Kohlenwasserstoffes bei der Hydrierung der Doppelbindung, deren Lage unsicher ist.

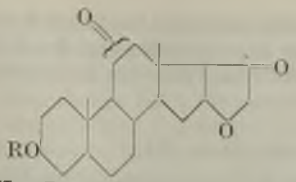
[5]) *R. E. Marker, D. L. Turner*, Am. Soc. **63**, 767 (1941); vgl. *R. E. Marker* und Mitarb., Am. Soc. **62**, 525 (1940); **63**, 774, 779 (1941).

[6]) *W. Neumann*, B. **70**, 1547 (1937).

[7]) *R. E. Marker, E. Rohrmann*, Am. Soc. **61**, 846 (1939).

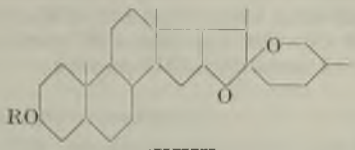
[8]) *R. E. Marker, E. M. Jones, J. Krueger*, Am. Soc. **62**, 2532 (1940).

[9]) *C. W. Shoppee*, Helv. **27**, 246 (1944).



(XXIIIa: R = H)
(XXIIIb: R = $C_7H_{13}O_3$)

Die Doppelbindung ist weggelassen worden.



(XXIV)

An dieser Stelle möchte ich nochmals der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Cie. A.G.* Basel, für die ursprüngliche Überlassung von Diginin danken.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert (Fehlergrenze ± 2°).

Piperonyliden-Derivat des Diginigenins (VI).

7 mg Diginigenin (VI) vom Smp. 110—112° und 3,3 mg Piperonal (= 1,1 Mol) wurden in 0,1 cm³ absolutem Äthanol gelöst, mit 0,3 cm³ einer bei 0° gesättigten Lösung von Chlorwasserstoff in absolutem Äthanol versetzt und 16 Stunden stehen gelassen. Die tief violett gefärbte Lösung wurde im Vakuum bei 30° weitgehend vom Äthanol befreit und mit wenig Wasser versetzt, wobei die Färbung verschwand und ein hellgelber Niederschlag ausfiel. Er wurde abgenutscht, mehrmals mit Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet. Aus Äther-Pentan umkrystallisiert, wurden sehr kleine gelbe Würfel vom Smp. 128—131° erhalten. Zur Analyse wurde bei 70° im Hochvakuum 1 Stunde getrocknet, dann unmittelbar vor der Verbrennung nochmals bei 100° im Hochvakuum, und im Schweinchen eingewogen.

1,912 mg Subst. gaben 4,925 mg CO_2 und 1,201 mg H_2O

$C_{29}H_{32}O_6 \cdot H_2O$ (494,56) Ber. C 70,42 H 6,93%
Gef. „ 70,30 „ 7,03%

Der Analyse nach handelt es sich um ein Hydrat; die Möglichkeit, dass die Substanz das primäre Addukt, $R \cdot CO \cdot CH{-}CH(OH) \cdot C_7H_5O_2$, darstellt, ist durch die gelbe Farbe ausgeschlossen. Vielleicht ist die zusätzliche Molekel Wasser an die freie sekundäre Hydroxylgruppe des Diginigenins gebunden.

Tetrahydro-diginigenin-monoacetat (X).

Zu einem vorhydrierten Katalysator aus 10 mg Platin(IV)-oxyd in 0,5 cm³ Eisessig fügte man eine Lösung von 30 mg Diginigenin-monoacetat (VII)[1]) in Eisessig und hydrierte bei 17°. Nach 3-stündigem Schütteln waren 3,6 cm³ Wasserstoff aufgenommen (ber. für 2 Mol H_2 3,5 cm³), und die Hydrierung stand still. Es wurde filtriert, im Vakuum eingedampft, in Äther gelöst, mit Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingeengt, wobei Oktaeder vom Smp. 154—156° erhalten wurden. Nochmals aus Äther umkrystallisiert, schmolzen die Krystalle bei 156°. Zur Analyse wurden sie fein verrieben und bei 100° im Vakuum getrocknet.

5,236 mg Subst. gaben 13,570 mg CO_2 und 4,010 mg H_2O

$C_{23}H_{34}O_5$ (390,50) Ber. C 70,75 H 8,78%
Gef. „ 70,73 „ 8,60%

Offenbar handelt es sich um eine zweite Krystallmodifikation, denn durch Impfen der Äther- oder Methanol-Lösung mit der vorbeschriebenen[2]) Form vom Smp. 174° wurden

[1]) *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. **23**, 983 (1940).
[2]) *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. **23**, 987 (1940).

die charakteristischen zugespitzten Prismen wie früher erhalten. Ein Gemisch der beiden Krystallformen schmolz von 159—173°, zeigte also keine Erniedrigung. Bei der Verseifung der Oktaeder vom Smp. 156° wurde eine sehr reine Probe des Tetrahydro-diginigenins (IX) vom Smp. 231° erhalten.

Tetrahydro-diginigenin-diacetat (XI).

200 mg Tetrahydro-diginigenin (IX) wurden in 1,2 cm³ reinstem Pyridin gelöst, mit 1 cm³ Acetanhydrid versetzt und 16 Stunden bei 15° stehen gelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde ein Öl erhalten, das beim Animpfen mit dem Tetrahydro-diginigenin-monoacetat (X) vom Smp. 174° nicht krystallisierte. Es wurde in wenig Benzol gelöst und über eine mit Pentan bereitete Säule aus 6 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Pentan-Mischungen und mit absolutem Benzol erhaltenen Eluate wurden in wenig Äther gelöst, mit etwas Pentan versetzt und bei 15° stehen gelassen, wobei sich Prismen vom Smp. 120° ausschieden. Aus Äther-Pentan umkrystallisiert wurden schöne grosse Prismen vom Smp. 120—121° erhalten, die eine spez. Drehung $[\alpha]_D^{17} = +17^0 \pm 2^0$ (c = 1,057 in Aceton) zeigten:

10,721 mg Subst. zu 1,0141 cm³ : $l = 1$ dm : $\alpha_D^{17} = +0{,}18^0 \pm 0{,}02^0$

Zur Analyse wurde bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

3,792 mg Subst. gaben 9,600 mg CO_2 und 2,894 mg H_2O
16,7 ± 0,2 mg Subst. verbrauchten 3,78 cm³ 0,02-n. KOH
$C_{25}H_{36}O_6$ (432,54) Ber. C 69,25 H 8,37 —$COCH_3$ 19,4%
Gef. „ 69,09 „ 8.54 „ 19,0%

Die Aufarbeitung des Verseifungsansatzes gab das Tetrahydro-diginigenin (IX) vom Smp. 226—228°, Mischschmelzpunkt ebenso, zurück.

Dihydro-diginigenin-monoacetat (XII) aus (X).

130 mg reines (X) vom Smp. 173—174° wurden in 1,65 cm³ Eisessig gelöst, mit 1,65 cm³ einer 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung (= 33 mg CrO_3) versetzt und 16 Stunden bei 15° stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei 30° fast zur Trockne gedampft, mit wenig Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die wässrige Lösung enthielt keine unverbrauchte Chromsäure mehr. Die Ätherlösung wurde mit etwas verdünnter Schwefelsäure, mit Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Neutralprodukt (123 mg) wurde als farbloser Schaum erhalten, der nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Er reduzierte alkalische Silberdiamminlösung bei Zimmertemperatur rasch, auch fielen die Proben nach *Raudnitz-Puluj*, *Legal* und *Zimmermann* positiv aus. Mit Tetranitromethan zeigte er keine Gelbfärbung. Mit Semicarbazid-acetat liess es sich leicht in ein gut krystallisiertes Semicarbazon überführen, das sich aus Methanol in Drusen von Nadeln vom Smp. 226° (ohne Zers.) ausschied. Zur Analyse wurde bei 90° und 0,01 mm getrocknet.

2,474 mg Subst. gaben 0,212 cm³ N_2 (18°, 731 mm)
$C_{24}H_{35}O_5N_3$ (445.52) Ber. N 9,43 Gef. N 9,67%

Aus der soda-alkalischen Waschlösung wurden 4 mg saure Oxydationsprodukte erhalten. Aus Äther liessen sich durch Einengen 2 mg farblose Prismen vom Smp. ca. 290° (unter Braunfärbung) isolieren. Diese Säure wurde mit Diazomethan in den Methylester übergeführt, der aus Äther in langen Nadeln vom Smp. 203—204° krystallisierte (vgl. weiter unten).

Dihydro-diginigenin-diacetat (XIII) und sein Abbau mit Ozon zur Estersäure (XIVa).

110 mg amorphes Monoacetat (XII) wurden mit 0,5 cm³ Acetanhydrid und 0,6 cm³ reinstem absolutem Pyridin in einem zugeschmolzenen Röhrchen 2 Stunden auf 100°

erhitzt. Nach dem Aufschneiden des Röhrchens wurde der Inhalt mit etwas Äther herausgespült, im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, mit 2-n. Salzsäure, 2-n. Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet, stark eingeengt und mit Pentan versetzt. Beim Stehen bei -15^0 schieden sich keine Krystalle aus; auch aus Methanol bei -15^0 konnten keine Krystalle erhalten werden. Daher wurde das Produkt über eine mit Pentan bereitete Säule aus 4 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Pentan und Benzol-Pentan-Mischungen erhaltenen Eluate gaben fast keine Eindampfrückstände; diejenigen mit Benzol und Benzol-Äther-Mischungen lieferten viel farbloses Öl, das bei -15^0 nicht zur Krystallisation zu bringen war. Mit Äther wurden nur Spuren von gelblichem Öl erhalten.

Die mit Benzol und Benzol-Äther-Mischungen erhaltenen Eluate wurden vereinigt, wobei 90 mg farbloses Öl, das mit Tetranitromethan eine starke Gelbfärbung zeigte, erhalten wurden. Es wurde in 2,5 cm³ gereinigtem Chloroform gelöst und bei 0^0 während 30 Minuten ein ca. 4% Ozon enthaltender Sauerstoffstrom (50 cm³/Min.) in die Lösung eingeleitet. Dann wurde im Vakuum eingedampft, mit 5 cm³ Wasser versetzt und im Stickstoffstrom destilliert. Dabei waren hinter der Destillationsvorlage ein Lösung von p-Nitro-phenylhydrazin-hydrochlorid, eine wässrige Lösung von Bariumhydroxyd und schliesslich konz. Natronlauge angeschlossen, doch wurde kein flüchtiger Stoff aufgefangen. Der schwerflüchtige Rückstand wurde mehrmals mit Äther ausgezogen und die vereinigten Extrakte mit 2-n. Sodalösung und mit eiskalter n. Natronlauge ausgeschüttelt. In den Laugen-Auszügen war keine Quasi-Säure oder Lacton enthalten. Aus der verbleibenden Ätherlösung wurde als Neutralprodukt nur Öl (29 mg) isoliert, das nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Dagegen fanden sich in den angesäuerten und ausgeätherten Soda-Auszügen 30 mg einer Säure, die beim Einengen der Ätherlösung ausfiel. Nach Waschen mit Äther wurde sie aus Dioxan-Äther umkrystallisiert, wobei 12 mg glänzende Prismen der Säure (XIVa) vom Smp. 302—304° (ohne Zers.) erhalten wurden. Eine Probe wurde mit Diazomethan in den Methylester (XIVb) übergeführt und aus Äther umkrystallisiert. Dieser stellte schöne lange Nadeln vom Smp. 203—204° dar und gab mit dem früher erwähnten Methylester vom gleichen Schmelzpunkt keine Erniedrigung. Zur Analyse wurde bei 85° und 0,01 mm getrocknet.

2,323 mg Subst. gaben 5,630 mg CO_2 und 1,659 mg H_2O

$C_{24}H_{34}O_7$ (434,51) Ber. C 66,33 H 7,89%

Gef. „ 66,14 „ 7,99%

Hexahydro-diginigenin (XVI).

Die von früheren Versuchen übrig gebliebene Menge des Hexahydro-diginigenin-diacetats (XV)[1]) wurde quantitativ verseift:

39,2 ± 0,2 mg Subst. verbrauchten 4,30 cm³ 0,02-n. KOH

$C_{25}H_{38}O_6$ (434,6) Ber. 4,46 cm³ 0,02-n. KOH für 2 Äquiv.

Das teilweise ausgefallene Hexahydro-diginigenin wurde abgenutscht, mit Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet. Es wog 20 mg, schmolz roh bei 202—206° und zeigte mit dem Tetrahydro-diginigenin (IX) vom Smp. 229° vermischt eine starke Schmelzpunktserniedrigung bis auf ca. 180°. Es reduzierte alkalische Silberdiamminlösung bei 20° nicht und verhielt sich negativ bei der *Raudnitz-Pulej*'schen, der *Legal*'schen und der *Zimmermann*'schen Probe. Das Filtrat wurde dreimal mit Äther ausgezogen, wobei noch 15 mg des gleichen Stoffes erhalten wurden, die nach Umkrystallisieren aus Aceton-Pentan bei 200° schmolzen.

Hexahydro-diginigenin-monoacetat (XVII).

15 mg (XVI) vom Smp. 202—206° wurden mit 0,5 cm³ Acetanhydrid 5 Minuten zum Sieden erhitzt. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in wenig

[1]) *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. **23**, 989 (1940).

Äther gelöst, mit etwas Pentan versetzt und bei 0° über Nacht stehen gelassen. Es wurden Krystalle erhalten, die nach Waschen mit Äther-Pentan (1 : 4) und Pentan bei 82—83° schmolzen. Aus den Mutterlaugen wurde noch ein zweites Krystallisat vom Smp. 82—83° erhalten. Die vereinigten Krystalle (8 mg) wurden im Molekularkolben bei 120—130° Badtemperatur und 0,01 mm destilliert und das Destillat aus Äther-Pentan bei −15° umkrystallisiert, wobei 5,5 mg Prismen vom Smp.83° erhalten wurden. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

3,342 mg Subst. gaben 8,670 mg CO_2 und 2,790 mg H_2O

$C_{23}H_{36}O_5$ (392,52) Ber. C 70,37 H 9,04%

Gef. „ 70,79 „ 9,34%

Hexahydro-diginigenin-diacetat (XV) (?).

10 mg (XVI) vom Smp. 202—206° wurden mit 0,2 cm³ Acetanhydrid und 0,25 cm³ absolutem Pyridin im Bombenrohr 4 Stunden auf 100° erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde ein hellgelbes Öl erhalten, das trotz langem Stehen nicht krystallisierte. Es wurde in Benzol-Pentan gelöst und durch eine mit Pentan bereitete Säule aus 0,5 g Aluminiumoxyd filtriert. Die mit Pentan, Benzol-Pentan-Mischungen und absolutem Benzol erhaltenen Eluate gaben fast keinen Eindampfrückstand. Mit Benzol-Äther-Mischungen (2 und 4% Äther) liess sich ein farbloses Öl eluieren; mit Benzol-Äther (6% und mehr bis zu absolutem Äther) wurden nur ganz kleine Mengen Öl erhalten. Die mit Benzol + 2% Äther und Benzol + 4% Äther erhaltenen Öle konnten nicht zur Krystallisation gebracht werden. Nach langem Stehen wurden sie vereinigt, im Hochvakuum bei 150° Blocktemperatur destilliert und quantitativ verseift:

5,9 ± 0,2 mg Subst. verbrauchten 1,24 cm³ 0,02-n. KOH

$C_{23}H_{36}O_5$ (392,52) Ber. 0,75 cm³ 0,02-n. KOH für 1 Äquiv.

$C_{25}H_{38}O_6$ (434,55) Ber. 1,36 cm³ 0,02-n. KOH für 2 Äquiv.

$C_{27}H_{40}O_7$ (476,59) Ber. 1,86 cm³ 0,02-n. KOH für 3 Äquiv.

Es handelt sich demnach um ein Diacetat. Zur Isolierung des Verseifungsproduktes wurde mit Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösung zur Entfernung von Phenolphtalein mit n. Kalilauge, dann mehrmals mit Wasser gewaschen, getrocknet und stark eingeengt. Nach Waschen mit Pentan wurden zu Büscheln vereinigte haarfeine Nadeln vom Smp. 207—208° erhalten, die mit dem reinen Hexahydro-diginigenin (XVI) gemischt ebenso schmolzen.

Farbreaktionen.

In der folgenden Tabelle sind für die Modell-Substanzen (II), (III), (IV) und (V), sowie für sämtliche Stoffe der Diginin-Reihe die Ergebnisse der Reaktion mit alkalischer Silberdiamminlösung bei Zimmertemperatur und der Proben nach *Raudnitz-Puluj*, *Legal* und *Zimmermann* aufgeführt.

Raudnitz-Puluj'sche Probe: 1 mg frisch sublimiertes 1,4-Dioxynaphtalin wird mit 2 Tropfen reinstem Eisessig und einer Spur konz. Salzsäure kurz erwärmt. Die Lösung soll fast farblos bleiben. Dann fügt man ca. 1 mg Substanz zu und erwärmt wieder.

Legal'sche Probe: 1—2 mg Substanz werden in 2—3 Tropfen reinstem Pyridin gelöst, mit 1 Tropfen wässriger Nitroprussidnatriumlösung versetzt und mit 1—4 Tropfen 2-n. Kalilauge vermischt.

Zimmermann'sche Probe: 1—2 mg Substanz werden in 2 Tropfen Äthanol gelöst und die Lösung mit 2 Tropfen 1-proz. alkoholischer m-Dinitrobenzol-Lösung sowie 2—3 Tropfen 5-proz. Kalilauge versetzt.

Substanz	Reduktion alk. Silber diammin-lösung bei 20°	*Raudnitz-Pulu*j-Probe	*Legal*-Probe	*Zimmermann*-Probe
β-Keto-α, α'-dimethyl-tetrahydro-furan (II)	sofort	+	+	carminrot
Methoxy-aceton (III)	sofort	+	+	purpurrot
ω-Methoxy-acetophenon (IV)[1])	sofort	+	+	purpurrot
Cumaranon (V)	sofort[2])	+	+[3])	purpurrot
Diginin	sofort	+	+	kirschrot
Diginigenin (VI)	sofort	+	+	purpurrot
Diginigenin-monoacetat (VII)	sofort	.....	+	purpurrot
Diginigenin-diacetat (VIII)	sofort	.....	–	farblos
Dihydro-diginigenin-monoacetat (XII)	sofort	+	+	carminrot
Dihydro-diginigenin-diacetat (XIII)	sofort	+	+	carminrot[4])
Tetrahydro-diginigenin (IX)	keine	–	–	farblos
Tetrahydro-diginigenin-mono-acetat (X)	keine	–	.....	schwach rosa
Tetrahydro-diginigenin-diacetat (XI)	keine	–	.....	farblos
Hexahydro-diginigenin (XVI)	keine	–	–	farblos
Desoxo-diginigenin (*II*)	keine	–	–	farblos
Dihydro-desoxo-diginigenin (*III*)	keine	–	–	farblos
Dihydro-dehydro-desoxo-diginigenin (*IV*)	keine[5])	–[6])	–	schwach rosa[7])
Dihydro-desoxy-desoxo-diginigenin (*V*)	keine[5])	.....	.....	farblos
$\Delta^{?}$-Dioxy-oxo-diginen (*VII*)	keine	–	–	farblos
Dioxy-oxo-diginan (*VIII*)	keine	.....	.....	farblos
Dioxy-diginan (*XI*)	keine	–	–	farblos
Dioxo-diginan (*XII*)	keine	–	–	schwach rosa[7])

Die römischen Ziffern sind die in dieser Mitteilung benutzten Formelnummern.

Die kursiven römischen Ziffern beziehen sich auf die in der 3. Mitteilung gebrauchten Formelnummern.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*), ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

[1]) Dieses Keton ist noch nicht beschrieben worden. Aus Methoxy-aceton und Phenylmagnesiumbromid bereitet stellt es eine hellgelbe Flüssigkeit vom Sdp. 122°/15 mm dar.

[2]) Unter Entstehung einer roten krystallinen Verbindung.

[3]) Beim positiven Ausfall der *Legal*'schen Probe wurde immer eine tiefrote Färbung beobachtet; nur hier war die Farbe königsblau.

[4]) Nach kurzer Zeit.

[5]) Keine Reduktion beim Erhitzen.

[6]) Schwach hellrosa beim Stehen.

[7]) Nach einigen Minuten.

51. Die Enol-lacton-Spaltung: Eine neue Methode zur Darstellung von β-Keton- und β,β'-Diketonsäure-estern, die zugleich 1,4-Diketone sind

(3. Mitteilung über Ketone, Ketonsäuren und Enol-lactone[1])

von **Paul Ruggli** und **Arthur Maeder**.

(10. II. 44.)

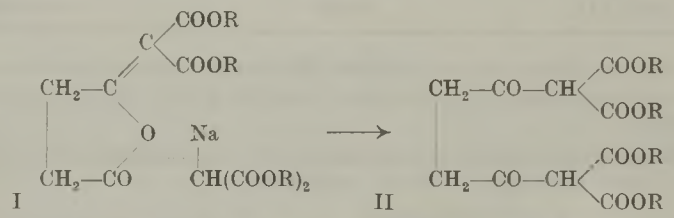
Vor kurzem[1]) konnten wir zeigen, dass das Einwirkungsprodukt von Succinylchlorid auf Natrium-malonester (2 Mol) nicht die in der früheren Literatur diskutierte Struktur eines Cyclo-succinyl-malonesters, d.h. eines Cyclo-pentan-1,3-dion-dicarbonsäure-esters hat, sondern ein Enol-lacton ist, das zweckmässig als 2-Butanoliden-malonester (I) bezeichnet wird.

Das Präparat kann noch vorteilhafter aus Bernsteinsäureanhydrid[2]) und Natrium-malonester in kochendem Äther mit 63% Ausbeute dargestellt werden, wobei das Molverhältnis 1:1 betragen muss, da die Reaktion nun nach folgender Gleichung verläuft:

$$2\ (CH_2{\cdot}CO)_2O + 2\ NaCH(COOR)_2 = \text{Butanoliden-malonester (I)} + (CH_2COONa)_2 + CH_2(COOR)_2$$

Obwohl diese und ähnliche Reaktionen schon wiederholt bearbeitet wurden, konnten wir die neue Beobachtung machen, dass diese Enol-lactone vom Typus des Butanoliden-malonesters (I) durch Reagentien in präparativ sehr brauchbarer Weise aufgespalten werden.

Von besonderer Bedeutung sind dabei die Spaltungen mit Natriumverbindungen des Malonesters, Acetessigesters und ähnlicher β-Ketonsäure-ester, β-Diketone und analogen Verbindungen mit reaktionsfähigem Methylen.



In Praxis sind 2 Mol Natrium-malonester zur Spaltung erforderlich, da das Endprodukt zunächst als Di-enolat erhalten wird, das erst beim Ansäuern den freien Succinyl-di-malonester (II) liefert.

---

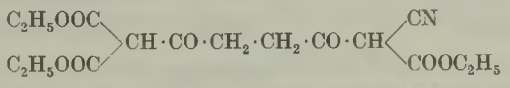
[1]) 1. und 2. Mitteilung, Helv. **26**, 1476, 1499 (1943).

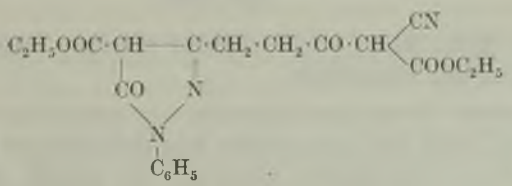
[2]) Umsetzungen mit Säure-anhydriden sind bereits von *J. Wislicenus*, *J. Scheiber* und früheren Autoren mit teilweise anderer Interpretation ausgeführt worden. Wir haben Anhydride erst verwendet, nachdem die Struktur an den Umsetzungsprodukten der Dicarbonsäurechloride aufgeklärt war.

Als spaltende Komponente kann man auch andere reaktionsfähige Methylenverbindungen in Form ihrer Enolate verwenden, wodurch unsymmetrische Produkte entstehen. So erhielten wir aus Butanoliden-malonester (I) und Natrium-cyan-essigester den Succinyl-malonester-cyanessigester (III), der eine sehr stabile und schwerlösliche Kupferverbindung gibt. Mit essigsaurem Phenylhydrazin entsteht in der Kälte ein einseitiges Pyrazolon (IV), während in der Wärme ein beidseitiges Pyrazolon (V) erhalten wird. Beim einseitigen Produkt (IV) haben wir unter den beiden Möglichkeiten die Formulierung auf der Malonester-Seite bevorzugt, 1. weil die Malonester-Gruppen nach unserer Erfahrung bereitwilliger reagieren, 2. weil das Produkt eine Kupferverbindung gibt, die in ihrer grünen Farbe mit der Kupferverbindung von III, aber nicht mit der blauen von II übereinstimmt[1]).

Wir wandten uns darauf dem System Bernsteinsäure-anhydrid und Acetessigester zu. Obwohl *J. Scheiber*[2]) beim Umsatz von Succinylchlorid mit Natrium-acetessigester an Stelle eines Ringes nur die aufgespaltene α-Aceto-β-keto-adipin-ester-säure (Mono-ester der 3,5-Dioxo-hexan-dicarbonsäure-1,4) fassen konnte, waren wir überzeugt, dass der Butanoliden-acetessigester (analog I) trotz seiner erwarteten Empfindlichkeit wenigstens in Äther primär existieren müsse. Wir haben daher das Primärprodukt gleich aufgespalten, indem wir von vornherein mit überschüssigem Natrium-acetessigester arbeiteten. So entstand in einer Operation der gut krystallisierte Succinyl-di-(acetessigester) (VI) in farblosen Kryställchen vom Smp. 48°. Er gibt eine himmelblaue Kupferverbindung sowie ein Di-pyrazol (VII)[3]).

Von III und VI lassen sich auch Umsetzungsprodukte mit Semicarbazid darstellen, doch sind diese Carbonamid-pyrazole bzw. -pyrazolone wegen ihrer Schwerlöslichkeit nicht leicht zu reinigen.

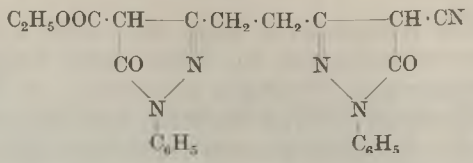
III 

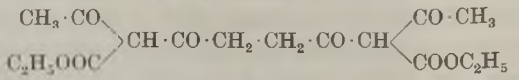
IV 

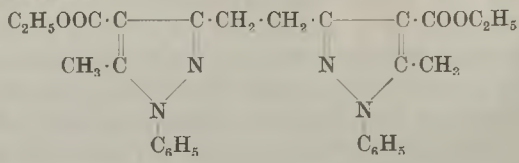
[1]) Man könnte auch anführen, dass vom α-Cyan-acetessigester noch kein Pyrazolon bekannt ist; die Reaktion dürfte ausführbar sein, kann aber verschieden verlaufen. Sie soll gelegentlich untersucht werden.

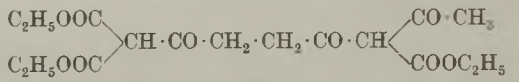
[2]) B. **44**, 2422 (1911).

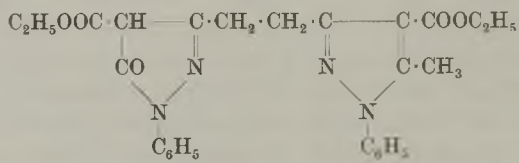
[3]) Je nach dem Ort des ersten Angriffs (Carbonyl der Acetyl- oder Succinyl-Gruppe) wäre noch ein Isomeres möglich.

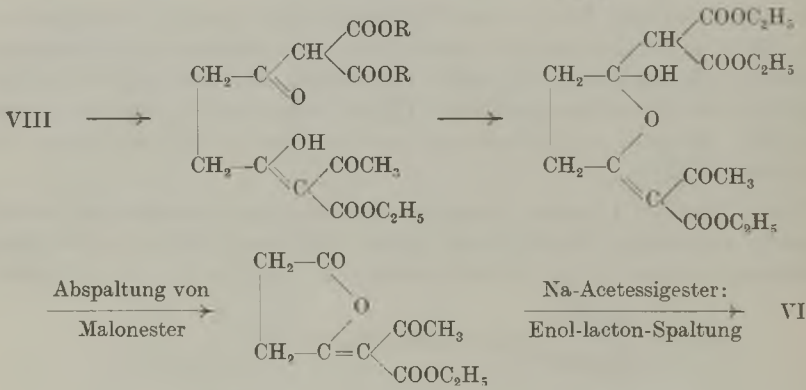
V 

VI 

VII 

VIII 

IX 



Beim Umsatz mit Cyan-essigester (I→III) verlief die Reaktion, wie oben gezeigt, einheitlich.

Bei unseren Versuchen machten wir ferner die bemerkenswerte Beobachtung, dass bei gemischten Kondensationen auch Verdrängungseffekte vorkommen können. So ergab der Butanolidenmalonester (I) beim Stehen mit Natrium-acetessigester über Nacht ein Gemisch von vorwiegend Succinyl-malonester-acetessigester (VIII) mit etwas Succinyl-di-(acetessigester) (VI). Letzterer kann durch die raschere Fällung seines Kupfersalzes angereichert werden; am besten erfolgt aber die Trennung bzw. der Nachweis über die

Pyrazolverbindungen (IX, VII). Erwärmt man bei der Enol-lacton-Spaltung, so kann man in diesem Falle das Verhältnis noch mehr zugunsten des Succinyl-di-(acetessigesters) (VI) verschieben.

Der Grund liegt wahrscheinlich wieder[1]) in der Möglichkeit einer Oxo-cyclo-Tautomerie (ähnlich der Zuckergruppe), wie sie in der obigen Formelreihe VIII→VI wiedergegeben wird. Vermutlich beruht sie auf dem sauren Charakter des Acetessigesters.

Wir haben die Enol-ester-Spaltungen, von denen oben einige Fälle beschrieben wurden, bereits an weiteren symmetrischen und unsymmetrischen Beispielen erprobt und als eine sehr allgemeine Reaktion erkannt, die auf weitere mehrbasische Säuren, auch solche der aromatischen, alicyclischen und heterocyclischen Reihe ausgedehnt wird. Die Endgruppen lassen Säure- und Ketonspaltungen sowie weitere Ringschlüsse erwarten, wobei die Substanzen als 1,4-Diketone ausserdem noch zur Bildung heterocyclischer Brücken, insbesondere von Pyrrolderivaten, befähigt sind. So führt der Weg u. a. in die Tropan-Gruppe und dürfte hier günstigere Ausgangsmaterialien liefern als sie den früheren erfolgreichen Bearbeitern[2]) zur Verfügung standen. Wir möchten uns daher das weitere Studium dieser Reaktionen — auch in Anwendung auf grössere und kleinere Ringe — vorbehalten.

Dem Kuratorium der *Ciba-Stiftung* und der *J. Brodbeck-Sandreuter-Stiftung* sprechen wir für die Gewährung von Mitteln unsern verbindlichen Dank aus.

Experimenteller Teil.

Butanoliden-malonester (I).

15 g gepulvertes Natrium werden mit 450 cm³ absolutem Äther versetzt und unter Eiskühlung und Rühren tropfenweise 100 g Malonester zugegeben. Nach Rühren über Nacht trägt man in den Natriummalonester-Brei auf einmal 62,4 g fein gepulvertes Bernsteinsäure-anhydrid ein und spült mit 200 cm³ Äther nach. Nun schüttelt man gut um und erwärmt unter Rückfluss 4 Stunden auf dem Wasserbad, wobei die voluminöse Masse in ein feineres Pulver übergeht, das grossenteils aus Natriumsuccinat besteht. Nach Stehen über Nacht zerlegt man mit Eis und Wasser und fügt in kleinen Anteilen etwa 10—20 cm³ 20-proz. Schwefelsäure hinzu, bis die Lösung schwach sauer auf Lackmus reagiert.

Nach Trennung im Scheidetrichter wird die ätherische Schicht nochmals mit Wasser gewaschen und nach Trocknen über Natriumsulfat ein grosser Teil des Äthers abdestilliert. Das gelbliche Öl setzt bei mehrstündigem Stehen an einem kühlen Ort farblose Krystalle von Butanoliden-malonester ab. Nach Absaugen und Entfernen des Ätherrestes im Vakuum und Kühlen auf −15° erhält man eine zweite Fraktion. Nun destilliert man den Malonester im Hochvakuum bei 80—105° Badtemperatur ab und versetzt den Rückstand nochmals mit wenig Äther, worauf bei −15° eine dritte Fraktion krystallisiert. Ausbeute 46,5 g oder 63% der Theorie an Butanoliden-malonester.

Ein analoger Versuch in Benzol statt Äther ergab wegen des höheren Siedepunktes nur 48% Ausbeute.

---

[1]) Vgl. einen ähnlichen Fall in unserer früheren Untersuchung, Helv. **26**, 1484 (1943).

[2]) *R. Robinson*, Soc. **111**, 762 (1917); *R. Willstätter* und *A. Pfannenstiel*, A. **422**, 1 (1920); *R. Willstätter* und *M. Bommer*, A. **422**, 15 (1920).

1-Cyan-hexan-2, 5-dion-1, 6, 6-tricarbonsäure-triäthylester (III).

Succinyl-malonester-cyanessigester.

Eine Mischung von 4,7 g Cyanessigester und 40 cm³ absolutem Äther wird allmählich mit 1 g fein verteiltem Natrium versetzt und nach Beendigung der Hauptreaktion 4 Stunden gelinde auf dem Wasserbad erwärmt. Darauf gibt man auf einmal eine Lösung von 5 g Butanoliden-malonester (I) in 50 cm³ warmem absolutem Äther hinzu, schüttelt um und erwärmt eine Stunde unter Rückfluss auf dem Wasserbad, wobei der Niederschlag eine gelbliche Farbe annimmt. Nach Stehen über Nacht giesst man auf 100 g Eis und säuert unter Rühren vorsichtig mit 20-proz. Schwefelsäure an. Die abgetrennte Ätherlösung wird viermal mit je 20 cm³ eiskalter gesättigter Sodalösung ausgeschüttelt, welche das Reaktionsprodukt mit gelber Farbe aufnimmt. Die alkalische Lösung wird direkt aus dem Scheidetrichter in eine Mischung von Eis und etwas mehr als der berechneten Menge Schwefelsäure abgelassen, das rote Öl ausgeäthert, mit Natrium getrocknet und auf dem Wasserbad grossenteils abdestilliert. Der Rest des Äthers wird im Vakuum entfernt, wobei der Ester als rotes, dickflüssiges Öl zurückbleibt; Ausbeute 5 g.

Die Reinigung erfolgt über die Kupferverbindung, indem man mit gesättigter wässriger Kupferacetatlösung im Überschuss schüttelt und unter Reiben wenig Alkohol zusetzt. Die grüne unlösliche Kupferverbindung wird mit Wasser gewaschen und mit Alkohol ausgekocht; sie zersetzt sich unscharf von 180° an.

5,262 mg Subst. gaben 0,145 cm³ N_2 (17°, 743 mm)
4,014 mg Subst. gaben 0,735 mg CuO

$C_{16}H_{19}O_8NCu$	Ber. N 3,36	Cu 15,25%
	Gef. „ 3,17	„ 14,63%

Die Kupferverbindung wird mit Eiswasser unter Zusatz von wenig Alkohol verrieben und in dauernder Gegenwart von Eis tropfenweise mit 10-proz. Ammoniak versetzt, bis eine blaue Lösung entstanden ist. Diese gibt man in einen Scheidetrichter, der eine Mischung von Eis und verdünnter Schwefelsäure enthält, und äthert aus. Nach Waschen mit Wasser, Trocknen und vorsichtigem Abdestillieren wird der Rest des Äthers im Vakuum entfernt. Das orangerote Öl diente zur Analyse.

4,523; 3,766 mg Subst. gaben 9,010; 7,455 mg CO_2 und 2,475; 2,045 mg H_2O
6,020 mg Subst. gaben 0,225 cm³ N_2 (16°, 751 mm)

$C_{16}H_{21}O_8N$	Ber. C 54,08	H 5,96	N 3,94%
	Gef. „ 54,36; 54,02	„ 6,12; 6,08	„ 4,36%

Kleine Proben des Esters krystallisierten teilweise beim Stehen an der Luft, doch dürften die Krystalle bereits ein Zersetzungsprodukt sein, da sie in alkoholischer Lösung keine Kupferverbindung mehr gaben. Im Exsikkator ist das Öl besser haltbar.

Einseitiges Pyrazolon (IV).

1 g Öl (III, voriges Präparat) wird in 5 cm³ 70-proz. Essigsäure gelöst und unter Eiskühlung mit einer Lösung von 0,7 g (2 Mol) Phenylhydrazin in 5 cm³ 50-proz. Essigsäure versetzt. Nach Stehen über Nacht setzt man unter Reiben Wasser zu, wobei hellbräunliche Krystalle ausfallen, die nach Umlösen aus wenig 96-proz. Alkohol nahezu farblose Nädelchen vom Smp. 106—107° ergeben. Die Substanz ist leicht löslich in warmem Äther, Tetrachlorkohlenstoff und kaltem Benzol. Aus sodaalkalischer Lösung wird sie durch Säuren wieder unverändert abgeschieden. Mit Eisen(III)-chlorid gibt sie eine dunkel violette Färbung.

3,483; 3,957 mg Subst. gaben 7,645; 8,685 mg CO_2 und 1,670; 1,805 mg H_2O
5,032; 3,771 mg Subst. gaben 0,467; 0,344 cm³ N_2 (17°, 748 mm; 16°, 747 mm)

$C_{20}H_{21}O_6N_3$	Ber. C 60,14	H 5,30	N 10,52%
	Gef. „ 59,90; 59,90	„ 5,37; 5,10	„ 10,75; 10,59%

Die Kupferverbindung dieses einseitigen Pyrazolons fällt beim Versetzen der warmen alkoholischen Lösung mit wässerigem Kupferacetat in grünen Kryställchen aus.

Doppelseitiges Pyrazolon (V).

0,1 g einseitiges Pyrazolon (IV) werden in 4 cm³ 50-proz. Essigsäure, die mit 0,05 g Phenylhydrazin versetzt ist, eine Stunde auf dem Wasserbad erwärmt. Die erkaltete Lösung wird mit Wasser ausgespritzt, worauf das entstehende Öl alsbald fest wird; Ausbeute 0,1 g. Nach zweimaligem Umlösen aus Alkohol oder aus Essigester-Petroläther erhält man fast farblose verfilzte Nädelchen vom Smp. 167—168°.

Dasselbe Produkt kann auch direkt erhalten werden, wenn man 1 g Cyan-hexandion-tricarbonsäure-ester (III) in 5 cm³ 70-proz. Essigsäure unter Kühlung mit 0,8 g Phenylhydrazin in 5 cm³ 50-proz. Essigsäure versetzt und nach Stehen über Nacht eine Stunde auf dem Wasserbad erwärmt. Die beschriebene Aufarbeitung ergibt 0,6 g eines mit dem obigen identischen Präparates.

1,700 mg Subst. gaben 0,239 cm³ N_2 (19°, 735 mm)
$C_{24}H_{21}O_4N_5$ Ber. N 15,79 Gef. N 15,89%

Dekan-2,4,7,9-tetra-on-3,8-dicarbonsäure-diäthylester (VI). Succinyl-di-(acetessigester).

Aus 39 g Acetessigester, 7 g gepulvertem Natrium und 250 cm³ absolutem Benzol[1]) wird durch 16-stündiges Rühren, anfangs unter Kühlung, ein Natrium-acetessigester-Brei (2 Mol) dargestellt. Nach Zusatz einer heissen Lösung von 15 g Bernsteinsäure-anhydrid in 170 cm³ absolutem Benzol wird die Masse durch kräftiges Umschwenken gut durchgemischt, über Nacht stehen gelassen und dann noch zwei Stunden unter Rückfluss und oftmaligem Umschwenken oder besser mechanischem Rühren gekocht. Die anfangs gelbliche Mischung vertieft ihre Farbe hierbei nach Dunkelgelb und der gallertige Brei verwandelt sich in ein sandiges Pulver.

Nach Erkalten giesst man unter starkem mechanischem Rühren in etwa ½ Liter Eiswasser, doch so, dass ein Gefrieren des Benzols vermieden wird. Man versetzt vorsichtig mit 25- bis 30-proz. Schwefelsäure bis zur annähernden Neutralisation gegen Lackmus, wobei sich bereits Nädelchen abscheiden. (Eine etwaige Übersäuerung kann durch wenig Sodalösung korrigiert werden.) Nachdem die Nädelchen durch Schütteln möglichst in Benzol gelöst wurden, trennt man dieses (Benzollösung A) ab[2]); es enthält den gesamten Überschuss an Acetessigester sowie den zunächst noch unreinen Succinyl-di-(acetessigester) (VI). Das Benzol wird im Vakuum abdestilliert. Es hinterbleiben 28 g gelbes Öl, das in 90 cm³ Äther aufgenommen und siebenmal mit je 20 cm³ eiskalter gesättigter Sodalösung ausgeschüttelt wird, wobei der beigemischte Acetessigester im Äther bleibt. Die Sodalösung wird mit 20-proz. Schwefelsäure unter Einwerfen von Eis und Rühren kräftig angesäuert, wobei man durch Reiben die Krystallisation der feinen Nädelchen befördert. Nach Absaugen und gründlichem Waschen bis zur völligen Entfernung der Schwefelsäure erhält man 8,4 g Succinyl-di-(acetessigester) (VI), der nach Umkrystallisieren aus Alkohol-Wasser (1 : 1) schöne farblose Kryställchen vom konstanten Smp. 48° bildet.

3,387 mg Subst. gaben 6,955 mg CO_2 und 1,950 mg H_2O
$C_{16}H_{22}O_8$ Ber. C 56,13 H 6,48%
Gef. „ 56,04 „ 6,44%

Die Substanz ist leicht löslich in Äther, Tetrachlorkohlenstoff und Benzol, ziemlich löslich in warmem Cyclohexan, schwer in Petroläther. Aus Eisessig-Wasser kann sie, sogar nach kurzem Aufkochen, umkrystallisiert werden. Die alkoholische Lösung gibt mit wässrigem Eisen(III)-chlorid sofort eine blutrote Färbung. Sie gibt in der Wärme bei tropfenweisem Zusatz von Kupferacetat sofort eine hellblaue Kupferverbindung.

[1]) Wahrscheinlich ist die Verwendung von Äther noch vorteilhafter.
[2]) Die Verarbeitung der wässrigen Lösung B vgl. weiter unten.

Diese ist nur in Chloroform einigermassen löslich und zwar mit tiefblauer Farbe; Zersp. 235°.

5,784 mg Subst. gaben 1,120 mg CuO

$C_{16}H_{20}O_8Cu$ Ber. Cu 15,74 Gef. Cu 15,47%

Di-pyrazol (VII). 0,5 g Krystalle wurden in 5 cm³ 70-proz. Essigsäure unter gelindem Erwärmen gelöst und mit 0,35 g Phenylhydrazin in 5 cm³ 50-proz. Essigsäure versetzt. Dann wurde 10 Minuten auf dem Wasserbad erwärmt und nach Erkalten und Reiben mit Wasser ausgespritzt. Nach kurzer Zeit krystallisierten 0,7 g Di-pyrazol; der Schmelzpunkt lag nach Umlösen aus Alkohol bei 156—157°. Die Substanz gibt keine Eisen(III)-chlorid-Reaktion.

4,535; 3,341 mg Subst. gaben 11,435; 8,440 mg CO_2 und 2,495; 1,870 mg H_2O
3,601 mg Subst. gaben 0,355 cm³ N_2 (15°, 750 mm)

$C_{28}H_{30}O_4N_4$ Ber. C 69,11 H 6,22 N 11,52%
Gef. „ 68,81; 68,94 „ 6,16; 6,26 „ 11,53%

α-Aceto-β-keto-adipin-ester-säure. Dieses von *J. Scheiber* als einziges Produkt aus dem Umsatz von Succinylchlorid mit Natrium-acetessigester isolierte Produkt fanden wir in der oben erwähnten „wässrigen Lösung B". Diese Lösung wurde mit überschüssiger eiskalter Schwefelsäure versetzt und gab eine reichliche Fällung von Öl, das teilweise krystallisierte. Es wurde mit 100 cm³ Benzol aufgenommen und das Benzol nach Trocknen unter vermindertem Druck bei 50° abdestilliert. Der ölige Rückstand wurde nach Erkalten und Reiben sofort fest. Nachdem die Substanz auf Ton von wenig anhaftendem Acetessigester befreit war, wog sie 9,3 g. Sie zeigt nach Umlösen aus Äther den Smp. 81—82°, saure Reaktion auf Lackmus und ist in Soda unter Kohlendioxydentwicklung löslich. Sie zeigt auch die andern von *J. Scheiber* beschriebenen Eigenschaften, aus denen er mit Recht die folgende Formel ableitet.

$$HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot CH(CO \cdot CH_3) \cdot COOC_2H_5$$

In alkoholisch wässriger Lösung gibt die Substanz mit Kupferacetat in einigen Stunden keine Fällung. Die Krystalle vertragen kurzes Kochen mit Wasser und können daher auch aus diesem umkrystallisiert werden. Sie können auch aus wenig Alkohol durch Zusatz des mehrfachen Volumens Wasser umgelöst werden. Die alkoholische Lösung gibt mit Eisen(III)-chlorid eine hellrote Färbung.

Einwirkung von Natrium-acetessigester auf Butanoliden-malonester. (Succinyl-malonester-acetessigester VIII und Succinyl-di-acetessigester VI.)

Eine Lösung von 5,4 g Acetessigester in 50 cm³ absolutem Äther wird allmählich mit 1 g fein verteiltem Natrium versetzt und nach Beendigung der Hauptreaktion unter öfterem Umschwenken drei Stunden gelinde auf dem Wasserbad erwärmt. Darauf gibt man auf einmal eine Lösung von 5 g Butanoliden-malonester (I) in 50 cm³ warmem absolutem Äther hinzu, mischt sorgfältig durch Umschwenken und Rühren und lässt 12 Stunden bei Raumtemperatur stehen. Der farblose steife Brei wird unter Rühren auf 100 g Eis gebracht, wobei er mit gelber Farbe in Lösung geht. Man säuert vorsichtig mit 20-proz. Schwefelsäure an, trennt die Ätherlösung ab und schüttelt sie viermal mit je 20 cm³ eiskalter gesättigter Sodalösung aus. Die alkalische Lösung wird analog der oben beschriebenen Cyanverbindung aufgearbeitet, wobei 7 g goldgelbes Öl erhalten werden. Das Öl besteht aus einer Mischung von Succinyl-malonester-acetessigester (VIII) und Succinyl-di-(acetessigester) (VI).

Die Trennung kann mittels der Reaktionsprodukte mit Phenylhydrazin durchgeführt werden. 0,5 g Öl wurden in 5 cm³ 70-proz. Essigsäure unter Eiskühlung mit 0,3 g Phenylhydrazin in 5 cm³ 50-proz. Essigsäure versetzt und nach kurzem Stehen 10 Minuten auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Erkalten wurde mit Wasser ausgespritzt, worauf das entstehende Öl über Nacht fest wurde. Das Produkt wurde in wenig warmem Alkohol gelöst.

Nach Erkalten fielen 0,1 g Di-pyrazol des Succinyl-di-(acetessigesters) (VII) als feines Krystallpulver aus. Nach Waschen mit wenig eiskaltem Alkohol zeigten sie den richtigen Smp. 155—157°. Das Präparat war identisch mit dem oben beschriebenen Produkt.

Das alkoholische Filtrat wurde mit etwas Wasser ausgespritzt und das emulgierte Öl durch Erwärmen in Lösung gebracht. Nach Stehen über Nacht krystallisierten 0,3 g Pyrazol-pyrazolon des Succinyl-malonester-acetessigesters (IX), das nach dreimaligem Umlösen aus wässrigem Alkohol fast farblose Nädelchen vom Smp. 114—115° bildete. Die Substanz gibt eine violette Eisen(III)-chlorid-Reaktion.

3,938 mg Subst. gaben 9,565 mg CO_2 und 1,980 mg H_2O
2,292 mg Subst. gaben 0,235 cm³ N_2 (18°, 746 mm)
$C_{27}H_{28}O_5N_4$ Ber. C 66,38 H 5,78 N 11,47%
Gef. „ 66,28 „ 5,63 „ 11,80%

Eine Anreicherung des Succinyl-di-(acetessigesters) konnte auch durch fraktionierte Fällung mit Kupferacetat erreicht werden. Eine Lösung von 5 g des oben beschriebenen Öls (Gemisch) in 5 cm³ Alkohol wurde tropfenweise unter Reiben mit konz. wässriger Kupferacetatlösung versetzt, bis sich die schön blaue Kupferverbindung abzuscheiden begann. Dann gab man weitere 2 cm³ Kupferacetat zu, saugte ab und wusch aus. Durch Zerlegung erhielt man 1,3 g gelbliches Öl, das mit Phenylhydrazin in Essigsäure zu einer gleichfalls öligen Verbindung umgesetzt wurde. Diese wurde mit 5 cm³ konz. Sodalösung unter Erwärmen verrieben, die überstehende Lösung abdekantiert und mit Wasser nachgespült. Beim Erkalten wurde das Öl fest. Nach Lösen in 8 cm³ warmem Alkohol krystallisierten 0,6 g farblose kleine Prismen vom Smp. 156°, identisch mit dem Di-pyrazol des Succinyl-di-(acetessigesters) (VII).

Universität Basel, Anstalt für Organische Chemie.

---

52. Chromatographische Trennung von Vitamin A-Alkohol, Vitamin A-Ester und β-Carotin und ihre spektrophotometrische bzw. stufenphotometrische Bestimmung

1. Mitteilung

von **P. B. Müller.**

(11. II. 44.)

A) Allgemeiner Teil.

Sowohl die kolorimetrische [1][2]) wie die spektrometrischen [1][3–6]) Bestimmungen von Vitamin A werden durch gewisse Begleitstoffe (Sterine, Carotinoide, Oxydations- und Abbauprodukte des Vitamin A) beeinträchtigt. Die ermittelten optischen Daten lassen sich deshalb

[1]) *Gstirner, Fritz,* „Chemisch-physikalische Vitamin-Bestimmungsmethoden", Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1940, S. 5ff.
[2]) *Carr, F. H.* und *Price, E. A.*, Biochem. J. **20**, 497 (1926).
[3]) *Vere-Jones, N.*, Ind. Chemist **12**, 85 (1936).
[4]) *Chevallier, A.* und *Chabre, P.*, Biochem. J. **27**, 298 (1933).
[5]) *Drummond, J. C.* und *Morton, R. A.*, Biochem. J. **23**, 785 (1929).
[6]) *Fuchs, L.* und *Soos, E.*, Sci. pharm. **8**, 141 (1937).

oft nur schwierig in eine einheitliche Beziehung zu der biologischen Wertigkeit der untersuchten Präparate bringen. Die bestehenden Unsicherheiten äussern sich besonders deutlich bei der Umrechnung der spektrometrisch festgestellten Extinktionen in internationale (biologische) Einheiten[1]), für welche Umrechnungsfaktoren von 1000–3600 vorgeschlagen wurden[2]). Die Unstimmigkeiten traten aber auch dadurch in Erscheinung, dass nach der Auffassung einiger Forscher der Vitamin A-Ester in spektrophotometrisch äquivalenter Menge eine höhere biologische Wertigkeit aufweist als der Vitamin A-Alkohol, während andere Forscher beiden Vitamin A-Formen dieselbe biologische Wirksamkeit zusprechen[2]). Zu diesen Schwierigkeiten kommt noch hinzu, dass neben den vereinbarten internationalen Einheiten[3]) und den in den U.S.A. verwendeten U.S.P.-Einheiten[4–6]) häufig auch empirisch gewonnene Einheiten[6]) gebraucht werden, sodass es oft fast unmöglich ist, verschiedene Angaben zu vergleichen.

Die Unsicherheiten blieben auch noch bestehen, nachdem der 2. Internationale Kongress in London 1934[3]) für die quantitative physikochemische Vitamin A-Bestimmung lediglich die spektrophotometrischen Methoden im U.V. mit dem Umrechnungsfaktor 1600 anerkannte und vorschrieb, dass Trane unter 10000 i.E.Vitamin A/g (im Folgenden als i.E.A/g angeführt) vorgängig der Bestimmung verseift werden müssen. Nach einer in Chicago aufgestellten Vorschrift, welche am 15. Juni 1941 für den Handel in den U.S.A. allgemein gültig erklärt wurde[7]), darf die quantitative Vitamin A-Bestimmung nur im Unverseifbaren des Untersuchungsmaterials und mit einer spektrometrischen Methode vorgenommen werden. Für die Berechnung des Vitamin A-Gehaltes in U.S.P.-Einheiten wird der Faktor 2000 und ausser der Gehaltsdeklaration auch Angabe des Extinktionswertes $E^{1\%}_{1\,cm}$ vorgeschrieben.

Alle diese Vorschriften betreffen im wesentlichen nur die Auswertung der optischen Messungen von Vitamin A und erstreben eine Reinigung des Untersuchungsmaterials nur durch Verseifung. Ver-

---

[1]) 1 Internationale Einheit Vitamin A (1 i. E.A.) entspricht derjenigen Menge Vitamin A, welche an Vitamin A-frei ernährten Ratten die gleiche Schutz- und Heilwirkung ausübt wie 0,6 γ β-Carotin.

[2]) Siehe Anmerkung am Schluss der Arbeit. Das Ergebnis der pharmakologischen Überprüfung des Umrechnungsfaktors zur spektrophotometrischen Vitamin A-Bestimmung (nach diesem Verfahren) wird später mitgeteilt.

[3]) *Coward*, „Biological Standardisation of the Vitamins", Verlag *Baillière, Tindall* and *Cox*, London 1938, S. 213—218.

[4]) 11. Pharmacopoeia of the United States of America (1936) und 1. Supplement (1937) und 2. Supplement (1939).

[5]) „The Vitamins, A-Symposium", bearbeitet vom „Council on Pharmacy and Chemistry and the Council on Foods of the American Medical Assoc., Chicago 1939, S. 120.

[6]) *Rosenberg, H. R.*, „Chemistry and Physiology of the Vitamins", Interscience Publishers, Inc., New-York 1942, S. 83.

[7]) Referat im: Oil Paint and Drug Reporter **139**, No. 18, 4, 30 (1941).

seifung allein, obwohl sie für stark verunreinigte Öle ein drastisches Reinigungsverfahren darstellt[1]), führt aber nicht zu optisch reinen Lösungen, welche im U.V. zwischen 3000 und 3500 Å ausser dem Vitamin A keine messbaren Mengen mehr von anderen absorbierenden Anteilen enthalten. Auch Messung der Lösung vor und nach der Zerstörung des Vitamin A[2])[3]) oder Behandeln der Lösungen mit Brom zur Oxydation von Hemmungssubstanzen der *Carr-Price*-Reaktion[4]) vermögen die Fehler nicht zu beheben, die aus der Anwesenheit von störenden Verunreinigungen erwachsen.

Das von mir kürzlich beschriebene Verfahren[5])[6]) zur Bestimmung der Aktivität von Adsorptionsmitteln und chromatographischen Systemen schien mir nun geeignet, um das vorliegende Problem: Quantitative Trennung eines Gemisches von Vitamin A-Alkohol, Vitamin A-Ester und β-Carotin unter Ausschaltung der störenden Beimengungen in besserer Weise zu lösen als die bisher in der Literatur bekannt gewordenen Verfahren zur chromatographischen Reinigung von Vitamin A[7–10]). Hierzu gelangen Adsorptionskolonnen aus drei übereinandergeschichteten verschieden aktiven Aluminiumoxyd-Präparaten zur Verwendung. Die unterste Schicht besteht in allen Fällen aus maximal aktiviertem Aluminiumoxyd mit einem Wärmetönungswert Q von 83,5 cal. Die Aktivität der mittleren und obersten Schicht variiert mit dem chromatographischen Problem. Sie entspricht, wie in der nachstehenden tabellarischen Übersicht angegeben ist, einem Wärmetönungswert Q von 10,0 bzw. 5,0 cal. zum Zwecke der Abtrennung von Vitamin A-Alkohol (I), 56,5 bzw. 50,0 cal., wenn Vitamin A-Ester isoliert werden soll (II) und 54,0 bzw. 50,0 cal., wenn die Isolierung von β-Carotin angestrebt wird (III).

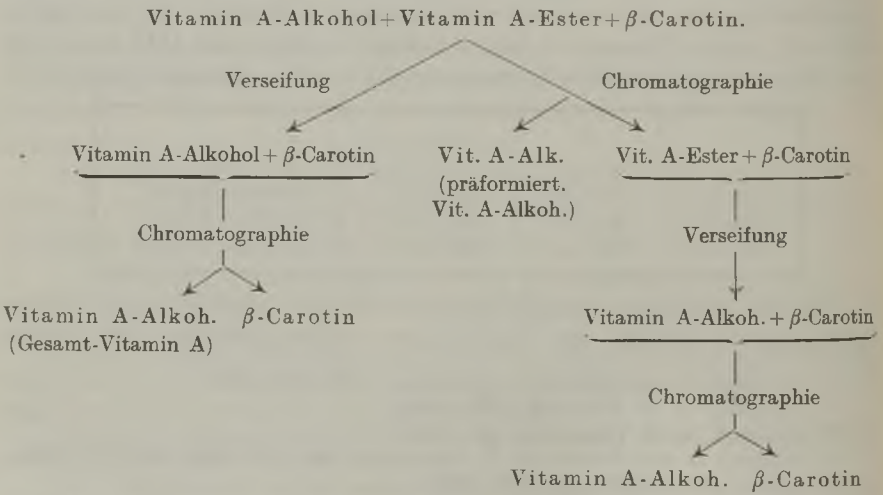
I	II	III	
5,0 cal	50,0 cal	50,0 cal	1. (oberste) Schicht
10,0 cal	56,5 cal	54,0 cal	2. (mittlere) Schicht
83,5 cal	83,5 cal	83,5 cal	3. (unterste) Schicht

In der obersten, weniger aktiven Schicht werden unter diesen Bedingungen jeweils die Substanzen zurückgehalten, die etwas

[1]) *Chevallier, A.* und *Chabre, P.*, Biochem. J. **27**, 298 (1933).
[2]) *Chevallier, A.*, Z. Vitaminf. **7**, 10 (1938).
[3]) *Demarest, B.*, Z. Vitaminf. **9**, 20 (1939).
[4]) *Notevarp, O.* und *Weedon, H. W.*, Biochem. J. **30**, 1705 (1936); **32**, 1668 (1938).
[5]) *Müller, P. B.*, Helv. **26**, 1945 (1943).
[6]) *Müller, P. B.*, Helv. **27**, 404 (1944).
[7]) *Karrer, P., v. Euler, H.* und *Schöpp, K.*, Helv. **15**, 493 (1932).
[8]) *Willstaedt, H.* und *With, T. K.*, Z. physiol. Ch. **253**, 40, 133 (1938).
[9]) *Willstaedt, H.* und *With, T. K.*, Z. Vitaminf. **9**, 212 (1939).
[10]) *With, T. K.*, „Absorption, Metabolism and Storage of Vitamin A and Carotene", Verl. E. Munksgaard, Kopenhagen 1940, S. 53.

leichter adsorbierbar sind als der zur Isolierung bzw. Bestimmung gelangende Anteil. Dieser wird vollständig in der mittleren Schicht festgehalten. Alle anderen schwächer adsorbierbaren Komponenten gehen in die unterste Schicht, sodass das zur Entwicklung dienende Lösungsmittel (hochsiedender Petroläther) stets rein abläuft und ohne Reinigung wieder für weitere 10—20 Versuche verwendet werden kann. Der an der Mittelschicht haftende Anteil wird nach dem weiter unten beschriebenen Verfahren eluiert und Vitamin A-Alkohol bzw. Vitamin A-Ester mittels dem Quarzspektrographen und β-Carotin im *Pulfrich*-Stufenphotometer bestimmt.

Vitamin A-Alkohol und Vitamin A-Ester sind auf Grund ihrer grossen Adsorbierbarkeitsunterschiede chromatographisch leicht trennbar. Dagegen wird Vitamin A-Ester nur sehr wenig stärker adsorbiert als β-Carotin, sodass bei der chromatographischen Trennung stets beide zusammen zur Adsorption gelangen und nur in sehr hohen Kolonnen chromatographisch voneinander getrennt werden könnten. Ihre Trennung gelingt aber auf einfachste Weise, wenn der Vitamin A-Ester vorher durch schonende Verseifung in den Vitamin A-Alkohol übergeführt wird. Um unreine Gemische von Vitamin A-Alkohol, Vitamin A-Ester und β-Carotin, wie sie in Form von Extrakten und Konzentraten häufig in den Handel kommen und in Blut und Gewebsextrakten vorliegen, für die spektrophotometrische oder kolorimetrische Analyse vorzubereiten, bestehen also die in folgendem Schema angedeuteten Möglichkeiten:



Am raschesten erfolgt darnach die Bestimmung aller drei Anteile, wenn in einer 1. Probe unter Verwerfung des Vitamin A-Esters und des β-Carotins der präformierte Vitamin A-Alkohol chromatographisch isoliert und in einer 2. Probe nach Verseifung auf Gesamt-Vitamin A und β-Carotin chromatographiert wird.

Zur Abkürzung des chromatographischen Verfahrens kann man auch 5-schichtige Kolonnen verwenden, welche die Trennung von Vitamin A-Alkohol und β-Carotin bzw. Vitamin A-Alkohol und Vitamin A-Ester in einem Analysengang ermöglichen und folgendermassen zusammengesetzt sind:

Kolonne zur Trennung von

Al_2O_3	Vit. A-Alkohol und β-Carotin Q in cal	Al_2O_3	Vit. A-Alkohol und Vit. A-Ester Q in cal
VII	5,0	VII	5,0 1. (oberste) Schicht
VI	10,0	VI	10,0 2. Schicht
IV	50,0	IV	50,0 3. Schicht
III	54,0	II	56,5 4. Schicht
I	83,5	I	83,5 5. (unterste) Schicht

Die Lösungen von Vitamin A-Alkohol und β-Carotin, die nach dem vorstehend beschriebenen Verfahren erhalten werden, sind genügend rein, um mit irgend einer einwandfreien Bestimmungsmethode quantitativ ausgewertet zu werden. Die Bestimmung von Vitamin A erfolgt aber am zuverlässigsten durch Auswertung seines U.V.-Spektrums, für welches die Absorption bei 3280 Å (Extinktionsmaximum) und die dieser maximalen Absorption benachbarten Wellenlängen charakteristische Grössen sind. Die der quantitativen Auswertung zugrunde gelegten Absorptions- bzw. Extinktionskurven geben daher gleichzeitig auch Aufschluss über die optische Reinheit der auszuwertenden Lösungen.

Von einer Extinktionskurve, die zur Vitamin A-Bestimmung verwendet werden soll, ist folgendes zu verlangen:

1. Das Extinktionsmaximum der Kurve muss genau bei 3280 Å liegen. Diese Bedingung kann mit einer subjektiven Methode, z. B. im Spektrenprojektor auf ca. $\pm$ 20 Å genau durchgeführt werden.

2. Der Kurvenverlauf muss im wesentlichen mit demjenigen der Standardkurve I, Fig. 1 (unter denselben Bedingungen aufgenommen) übereinstimmen.

3. Zwischen 3000 und 3500 Å dürfen keine weiteren Extinktionen die Extinktionskurve von Vitamin A überschneiden. Ganz reine Präparate dürfen ausser der spezifischen Extinktion des Vitamin A im U.V. zwischen 3800 Å bis hinunter gegen 2300 Å überhaupt keine weiteren Extinktionen aufweisen.

4. Zur genaueren Beschreibung der an die Extinktionskurve von reinem Vitamin A zu stellenden Bedingungen fordern *Chevallier* und Mitarbeiter[1]), dass für die Versuchslösung und das reine Lösungsmittel der Punkt gleicher Schwärzung des Spektrums bei 3100 Å tiefer liegt, als derjenige bei 3400 Å.

Diese Bedingung wird nach der chromatographischen Reinigung, entsprechend der Vorschrift, im allgemeinen erfüllt. Erfahrungsgemäss liegen aber auch noch die Ergebnisse von chromatogra-

[1]) *Chevallier, M. A., Manuel, S.* und *Faubert, M. P.*, Bl. Soc. Chim. Biol. **23**, 1429 (1941).

phisch gereinigten Präparaten innerhalb der Fehlergrenze der Methode, wenn bei einem Extinktionsmaximum von 3280 Å der Punkt bei 3100 Å auf gleicher Höhe (Kurve II, Fig. 1) oder nur wenig höher liegt (Kurve III, Fig. 1) als derjenige bei 3400 Å. Kurven, welche sich ohne Kulminations- bzw. Knickpunkt bei 3280 Å mit zunehmender Schichtdicke gleichmässig vom kurzwelligeren nach dem langwelligeren Licht verschieben (Kurve IV, Fig. 1), sind unbrauchbar.

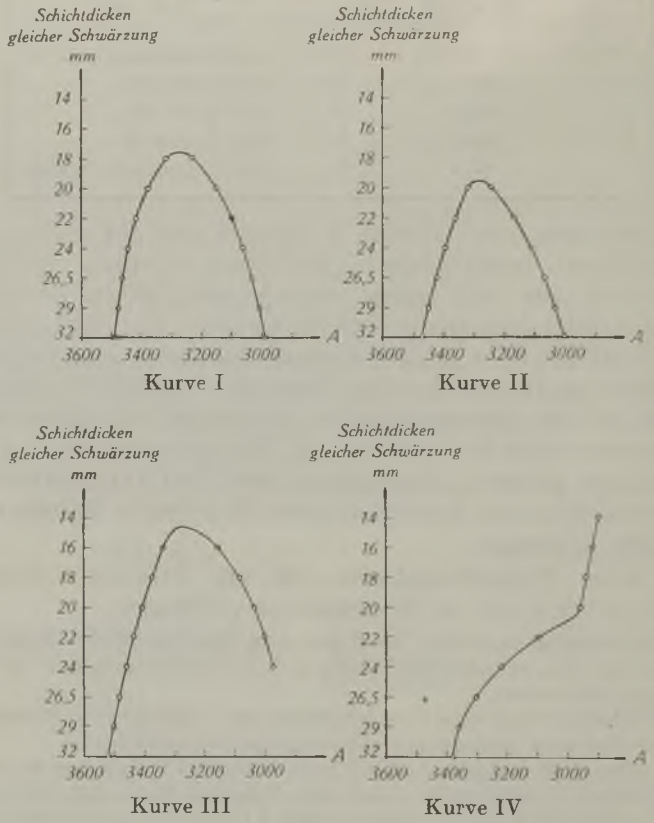


Fig. 1.
Vitamin A-Absorptionskurven.

Bis heute kennt man keine Verbindung, die die gleiche Extinktionskurve wie Vitamin A gibt, ohne auch dieselbe biologische Wirksamkeit zu entfalten. Hingegen gibt es Verbindungen, die über das gesamte Gebiet der U.V.-Absorption des Vitamin A gleichmässig absorbieren. Dadurch kommt es zu einer gleichmässigen Aufhellung des ganzen Spektraluntergrundes und somit auch zu einer Erhöhung des Extinktionsmaximums des Vitamin A bei 3280 Å, ohne dass die Form

der Extinktionskurve merklich verändert wird. Das ist z. B. der Fall, wenn β-Carotin zugegen ist, welches unter den Auswertungsbedingungen des Vitamin A zu einer gleichmässigen Aufhellung des Spektraluntergrundes zwischen 3000 und 3500 Å führt. Bei einem β-Carotingehalt (in i.E. ber.) von 63,5 % des Vitamin A-Gehaltes werden so gerade 10 % Vitamin A zuviel vorgetäuscht, was bei der Bestimmung von Vitamin A in Gegenwart von β-Carotin zu berücksichtigen ist.

Hingegen stimmt die Extinktionskurve des Vitamin A-Esters sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht mit derjenigen des Vitamin A-Alkohols überein, der aus dem Vitamin A-Ester durch Verseifung erhalten wird. Darnach ist zu schliessen, dass der im Vitamin A-Ester vorhandene Acylrest die Extinktion des Alkoholrestes nicht merklich beeinflusst und dass Vitamin A-Alkohol und Vitamin A-Ester in äquimolaren Lösungen ein identisches Absorptionsspektrum aufweisen.

Die quantitative Vitamin A- und β-Carotin-Auswertung erfolgt auf bekannte Weise auf Grund des spektrometrisch- bzw. stufenphotometrisch ermittelten Extinktionskoeffizienten $E^{1\%}_{1\,cm}$. Die biologische Wirksamkeit eines Vitamin A-Präparates errechnet sich daher z. B. auf Grund der internationalen Vereinbarungen von 1934[1]) nach der Formel:

$$E^{1\%}_{1\,cm}\,(3280\text{ Å}) \times 1600 = \text{Int. Einh. Vitamin A/g}$$

Die Auswertung der bei der β-Carotin-Bestimmung bei 4700 Å stufenphotometrisch ermittelten $E^{1\%}_{1\,cm}$ (a) erfolgt auf Grund des Extinktionskoeffizienten $E^{1\%}_{1\,cm}$ (b) einer reinen β-Carotinlösung in Petroläther I (=2140) nach der Formel:

$$\frac{(E^{1\%}_{1\,cm})_a}{(E^{1\%}_{1\,cm})_b} = \frac{(E^{1\%}_{1\,cm})_a}{2140} = \text{g β-Carotin/g}$$

Die unterste Erfassbarkeitsgrenze der Methode, welche durch die maximal zulässige Einwage an Untersuchungsmaterial (0,5 g) zur Chromatographie und durch die apparativen Bedingungen bei der spektrophotometrischen und stufenphotometrischen Auswertung festgelegt wird, liegt theoretisch bei ca. 20 i.E.[2]) Vitamin A und 5 γ β-Carotin pro Ansatz bzw. 40 i.E.A/g und 10 γ β-Carotin/g Untersuchungsmaterial. Während diese berechneten kleinen Mengen β-Carotin auch praktisch noch erfassbar sind, wirken sich die chromatographisch nicht mehr vollständig abtrennbaren Verunreinigungen beim Vitamin A schon so störend aus, dass bei der spektrophotometri-

[1]) *Coward*, „Biological Standardisation of the Vitamins", Verlag *Baillière, Tindall* and *Cox*, London 1938, S. 213—218.

[2]) Allen Angaben in i.E.A bzw. i.E.A/g liegt der im Jahre 1934 international vereinbarte Faktor 1600 zu Grunde.

schen Bestimmung überhaupt keine auswertbaren Vitamin A-Spektren mehr erhalten werden. Auf Grund unserer Erfahrungen mit zahlreichen schlechten Präparaten liegt die praktisch noch erfassbare kleinste Menge Vitamin A bei ca. 75 i.E.A pro Ansatz, entsprechend ca. 150 i.E.A/g Präparat. Bei niedrigeren Gehalten ist das Vitamin A durch Verseifung und Extraktion des Unverseifbaren vor der Chromatographie von Ballaststoffen zu befreien und anzureichern.

Die höchst zulässige Menge Vitamin A bzw. β-Carotin zur Chromatographie, welche durch die Adsorptionskapazität der 2. und bei der kombinierten Kolonne auch der 4. Adsorptionsschicht gegeben ist, liegt bei ca. 30000 i.E.A. und 0,6 mg β-Carotin pro Ansatz.

Die Genauigkeit des Verfahrens zur Bestimmung von Vitamin A-Alkohol, Vitamin A-Ester und β-Carotin ist im wesentlichen von folgenden Faktoren abhängig:

1. Vom Aktivitätsgrad des Adsorptionsmittels, da Vitamin A, insbesondere Vitamin A-Ester und β-Carotin schon an wenig aktiverem Aluminiumoxyd als zu ihrer Adsorption notwendig ist, teilweise zerstört werden. Aus dem Vitamin A bilden sich dabei im U.V. gelb-orange-rot fluoreszierende Zersetzungsprodukte, die in deutlichen Schlieren durch die 2. (bzw. 4.) Adsorptionsschicht hindurchwandern und erst von noch aktiverem Aluminiumoxyd wieder adsorbiert werden. Aus dem β-Carotin entstehen braune Zersetzungsprodukte, die eine stärkere Adsorbierbarkeit aufweisen. Bei Einhaltung der Versuchsbedingungen treten jedoch noch keine solchen Verluste auf.

2. Von der Entwicklung der Chromatogramme, die so zu leiten ist, dass alles Vitamin A bzw. β-Carotin von der 1. Adsorptionsschicht in die 2. (bzw. 4.) Schicht gelangt, von dieser aber nicht in die 3. (bzw. 5.) Schicht übertritt. Auch diese Verluste sind bei Einhaltung der Versuchsbedingungen praktisch null.

3. Von der Temperatur beim Einengen der Eluate nach der Chromatographie. Während Vitamin A-Alkohol und -Ester weitgehend hitzestabil sind, verändern sich β-Carotinlösungen teilweise beim Erwärmen über 50° C. Beim Einengen der β-Carotin-Eluate wird deshalb die Temperatur stets unterhalb 50° C gehalten.

4. Von der Dauer und der Temperatur der Verseifung des Untersuchungsmaterials. Während Vitamin A-Alkohol und -Ester unter den gewählten Versuchsbedingungen eine kaum nachweisbare Abnahme erleiden, erfährt β-Carotin einen deutlichen, aber reproduzierbaren Verlust, der bei der Berechnung berücksichtigt wird.

5. Von der Grösse der Intervalle zwischen den einzelnen Schichtdicken bei der spektrophotometrischen Auswertung. Bei der Variation der Schichtdicken um 10% lässt sich die Extinktion im Maximum der Extinktionskurve auf ± 5% genau abschätzen.

Unter Berücksichtigung aller dieser Fehlermöglichkeiten und gestützt auf die praktische Erfahrung im Laufe von vielen hundert Bestimmungen, kann die maximale Streuung (Fehlergrenze) des gesamten Vitamin A-Bestimmungsverfahrens für Präparate mit 1000 i.E.A/g und mehr mit ±10%, für solche mit 500 i.E.A/g und weniger mit ±20% angegeben werden [1]). Im Falle einer Verseifung ist bei Präparaten mit 500 i.E.A/g und weniger mit einem Verlust von 5% zu rechnen.

[1]) Die durchschnittliche Streuung unserer Analysen überschreitet im allgemeinen nicht 5 bzw. 10%.

Die Streuung (Fehlergrenze) des gesamten β-Carotin-Bestimmungs-Verfahrens liegt bei ±5%, wenn folgende Verluste eingerechnet werden:

für Präparate mit 30 γ β-Carotin pro g = 20%
für Präparate mit 300 γ β-Carotin pro g = 10%
für Präparate mit 1500 γ β-Carotin pro g = 5%

Verseifungsverlust: einheitlich für alle Dosen = 10%.

Diese Angaben beziehen sich auf die in der Vorschrift angegebene durchschnittliche Einwage von 0,2 g Untersuchungsmaterial zur Verseifung, Chromatographie und quantitativen Auswertung.

B) Experimenteller Teil.

Reagenzien.

Die Bestimmung der im Folgenden angeführten Wärmetönungswerte Q als Massstab der Aktivität des Aluminiumoxyds und der verschiedenen Adsorptionskolonnen sowie als Charakteristikum des zur Chromatographie verwendeten Lösungsmittels erfolgte nach den früher veröffentlichten Angaben[1]). Die nachfolgend erwähnten Wärmetönungswerte beziehen sich ausschliesslich auf Messungen, die in dem beschriebenen Kalorimeter unter Anwendung von 65 cm³ Lösungsmittel und 50 g Adsorptionsmittel durchgeführt wurden.

Für die Herstellung der verschieden aktiven Aluminiumoxydpräparate[2]) wurde maximal aktiviertes Aluminiumoxyd I verwendet, welches mit den Testlösungsmitteln Äthyläther und Chloroform Wärmetönungswerte $Q_{0°C}$ von 132 bzw. 120 cal, mit Hexan einen solchen von 64 cal und mit einem mit Oleum gereinigten hochsiedenden Petroläther IV einen Wert $Q_{0°C}$ von 65,6 cal aufwies[3]). Zur Entwicklung der Chromatogramme und zur Aktivitätsmessung der verschieden aktiven Aluminiumoxydpräparate gelangte ein mit Schwefelsäure gereinigter hochsiedender Petroläther I, dem ein mit Aluminiumoxyd I gemessener Wärmetönungswert $Q_{0°C}$ von 83,5 cal zukommt, zur Verwendung.

Für die Versuche wurden verschiedene Aluminiumoxydpräparate verwendet, welche mit dem Petroläther I die durch folgende Wärmetönungswerte charakterisierten chromatographisch verwertbaren Adsorptionsaktivitäten ergaben:

Al_2O_3 I maximal aktiviert	$Q_{0°C}$ = 83,5 cal
Al_2O_3 II partiell desaktiviert	$Q_{0°C}$ = 56,5 cal (aus 45 g I + 55 g V)
Al_2O_3 III partiell desaktiviert	$Q_{0°C}$ = 54,0 cal (aus 35 g I + 65 g V)
Al_2O_3 IV partiell desaktiviert	$Q_{0°C}$ = 50,0 cal (aus 20 g I + 80 g V)
Al_2O_3 V partiell desaktiviert	$Q_{0°C}$ = 45,5 cal (aus 100 g I + 3,3 g H_2O)
Al_2O_3 VI partiell desaktiviert	$Q_{0°C}$ = 10,0 cal (aus 100 g I + 16 g H_2O)
Al_2O_3 VII partiell desaktiviert	$Q_{0°C}$ = 5,0 cal (aus 100 g I + 21 g H_2O)

Zur Regenerierung wird das gebrauchte Aluminiumoxyd so oft mit 95-proz. Äthanol aufgerührt, bis der Alkohol praktisch farblos abgenutscht werden kann. Nach dem Trocknen durch 24-stündiges Stehen an der Luft (eventuell im Trockenschrank) wird, wie früher beschrieben, geglüht und aktiviert.

Da nach diesem Verfahren stets wieder die ursprüngliche Aktivität erhalten wird, ist die Aktivität des aktivierten Adsorptionsmittels jeweils nur bei Verwendung von ganz neuem, noch ungebrauchtem Aluminiumoxyd nach dem kalorimetrischen Verfahren zu

[1]) *P. B. Müller*, Helv. **26**, 1945 (1943).
[2]) loc. cit. S. 1953.
[3]) loc. cit. S. 1956, 1961, Helv. **27**, 408 (1944).

kontrollieren. Erforderlichenfalls ist dann das für die vorgeschriebene Aktivität der Mischungen benötigte Mischungsverhältnis neuerdings festzusetzen.

Als Lösungsmittel wurden verwendet:

Petroläther I, mit Schwefelsäure gereinigt, zur Entwicklung der Chromatogramme und zur stufenphotometrischen β-Carotin-Bestimmung.

Petroläther II, aus Petroläther I mit 5% absolutem Äthanol hergestellt, zur Eluierung der Vitamin A-Adsorbate. (Zur Reinigung des Äthanols wird der Alkohol aus einer ca. 5-proz. äthanolischen NaOH-Lösung in einer Glasschliffapparatur abdestilliert.)

Petroläther III, tiefsiedender Petroläther mit 5% absolutem Äthanol, zur Eluierung der β-Carotin-Adsorbate. — Der Petroläther ist zuvor (wie Petroläther I) mit Schwefelsäure zu reinigen, bis dieses farblos abgetrennt werden kann, dann wie Petroläther I mit $KMnO_4$, Fe_2SO_4 und NaOH ohne kalorimetrische Kontrolle weiter zu behandeln.

Petroläther IV, mit Oleum gereinigt, zur spektrophotometrischen Vitamin A-Bestimmung.

1-n. Äthanolische KOH, aus Kalium hydricum pro analysi und 95-proz. reinem Äthanol, zur Verseifung des Untersuchungsmaterials.

5-n. wässerige NaOH, aus Natrium hydricum pro analysi, zur Reinigung des Untersuchungsmaterials.

Zur Regenerierung wird der Petroläther I wie bei der Reinigung, die früher beschrieben wurde, destilliert und so oft mit konz. Schwefelsäure ausgerührt, bis diese farblos abläuft und der Petroläther wieder seine ursprüngliche Wärmetönung $Q_{0°C} = 83{,}5$ cal aufweist. Daraufhin wird er mit Kaliumpermanganatlösung, Eisen(II)-sulfatlösung und Natronlauge weiter gereinigt. Petroläther II und III werden destilliert, der Alkohol durch 5maliges Auswaschen mit je $^1/_3$ Volumen Wasser entfernt, der zurückbleibende Petroläther mit Schwefelsäure ausgerührt, bis diese farblos abläuft und dann ohne Kontrolle der Wärmetönung wie Petroläther I weiter gereinigt. Der hochsiedende Petroläther wird schliesslich mit dem Quarzspektrographen auf die U.V.-Durchlässigkeit hin geprüft. Ist er im U.V. bis gegen 2800 Å durchlässig, so ist er nach dem Äthanolzusatz wieder als Elutions-Petroläther II verwendbar. Der tiefsiedende Petroläther kann ohne weitere Prüfung direkt mit absolutem Äthanol versetzt und wieder wie zuvor verwendet werden. Petroläther IV wird destilliert und auf die U.V.-Durchlässigkeit geprüft. Entspricht sie nicht den an diesen Petroläther gestellten Anforderungen, so ist er wieder mit Oleum zu reinigen. Wird durch diese Reinigung die U.V.-Durchlässigkeit bis gegen 2300 Å nicht mehr erreicht, so kann der Petroläther nicht mehr zur spektrophotometrischen Auswertung verwendet werden.

Apparate.

1. Eine grössere Schliffapparatur zur Destillation von hochsiedendem Petroläther in Ansätzen von ca. 5 Liter im Vakuum.

2. Eine Glasschliffapparatur zur Destillation der Eluate (bis zu 250 cm^3) im Vakuum und unter Stickstoffatmosphäre (siehe Fig. 3).

3. Anordnung zur chromatographischen Reinigung der zu untersuchenden Ausgangsmaterialien (siehe Fig. 2).

4. Eine Vorrichtung zum emulsionslosen Auswaschen von Seifen und Alkohol aus verseiften Präparaten (siehe Fig. 4).

5. Ein *Hilger*'sches A-Vitameter.

6. Ein Quarzspektrograph mit Beleuchtungseinrichtung (Wasserstofflampe) für U.V.-Absorptionsspektren.

7. Ein Plattenauswertungsgerät (z. B. Spektrenprojektor).

8. Ein *Pulfrich*-Stufenphotometer mit dem Filter S 47 und 1 cm-Küvetten.

Die chromatographische Reinigung von Vitamin A und β-Carotin.

1. Zur Herstellung der weiter unten beschriebenen 3- und 5-schichtigen Kolonnen werden die Al_2O_3-Schichten unter leichtem Ansaugen von Luft in die Adsorptionsrohre eingefüllt. Die Schichten werden durch ein dazwischengelegtes Rundfilter getrennt und

die Kolonne zu oberst mit einem solchen bedeckt. Schliesslich werden die Chromatogrammrohre zu der in Fig. 2 dargestellten Anordnung zusammengestellt, evakuiert und wieder mit O_2-freiem Stickstoff gefüllt, ein 2. Mal evakuiert und ohne vorangehende Behandlung mit Stickstoff mit Petroläther I aufgefüllt.

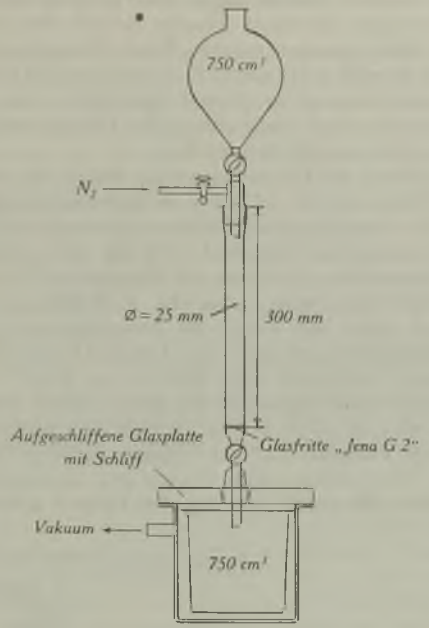


Fig. 2.
Anordnung zur analytisch-chromatographischen Vit. A-Bestimmung.

Die nach diesem Schema aufgestellten Adsorptionskolonnen enthalten von unten nach oben angeordnet folgende Adsorptionsschichten:

Vitamin A-Alkoholkolonne: 35 g Al_2O_3 I, 35 g Al_2O_3 VI, 35 g Al_2O_3 VII.

Vitamin A-Esterkolonne: 20 g Al_2O_3 I, 40 g Al_2O_3 II, 40 g Al_2O_3 IV.

β-Carotinkolonne: 20 g Al_2O_3 I, 40 g Al_2O_3 III, 40 g Al_2O_3 IV.

Kombinierte Vitamin A-Alkohol-Ester-Kolonne: 20 g Al_2O_3 I, 40 g Al_2O_3 II, 40 g Al_2O_3 IV, 35 g Al_2O_3 VI, 35 g Al_2O_3 VII.

Kombinierte Vitamin A-Alkohol-β-Carotin-Kolonne: 20 g Al_2O_3 I, 40 g Al_2O_3 III, 40 g Al_2O_3 IV, 35 g Al_2O_3 VI, 35 g Al_2O_3 VII.

Zur Reinigung von Vitamin A-Alkohol und -Ester und von β-Carotin in Tranen und Ölen werden 0,5 bis maximal 2,5 g (im allgemeinen 1 g) Untersuchungsmaterial in Petroläther I gelöst und auf 50 cm³ gebracht. Die Einwagen sind dem Präparat anzupassen. Von Präparaten mit 300 bis 150000 i.E.A/g ist einheitlich 1 g, von schwächeren Präparaten sind 2 g (maximal 2,5 g), von stärkeren entsprechend weniger in 50 cm³ Petroläther zu lösen. Davon werden jeweils 10 cm³ (= 0,2 g Einwage) zur Chromatographie auf die Adsorptionskolonne gegeben, bis auf eine Schicht von 1 mm Flüssigkeit eingesogen, 2mal mit ca. 10 cm³ Petroläther gespült und wie zuvor eingesogen. Schliesslich wird das Vitamin A-Chromatogramm unter leichtem Saugen mit 350 cm³ Petroläther I, das β-Carotin-Chromatogramm mit 120 cm³ Petroläther I entwickelt. Die Durchflussgeschwindigkeit ist so einzustellen, dass der Petroläther eben als dünner Flüssigkeitsfaden abläuft.

Nach der Entwicklung der Chromatogramme werden die Zonen unter der U.V.-Lampe (z. B. Philora-Lampe) und unter Vorschaltung eines Blaufilters kontrolliert. Der Vitamin A-Alkohol bildet eine sehr schwach dunkelgrün fluoreszierende, der Vitamin A-Ester eine stark hellgrün fluoreszierende Zone. Diese Zonen sollen in den 3-schichtigen Kolonnen vollständig in der 2. Schicht liegen, aber nicht in die 3. Schicht vordringen, während in den 5-schichtigen Kolonnen Vitamin A-Ester und β-Carotin bis in die 4., aber nicht in die 5. Schicht gelangen müssen. Unter Einhaltung der Vorschrift ist dies immer der Fall; eine Kontrolle unter der U.V.-Lampe ist aber zweckmässig. Kleine Abweichungen des Wärmetönungswertes Q des Petroläthers I von der Vorschrift können auf Grund dieser Kontrolle durch Entwicklung der Chromatogramme mit etwas mehr oder weniger Lösungsmittel ausgeglichen werden.

Nach der Entwicklung der Chromatogramme werden die den Vitamin A-Alkohol bzw. den Vitamin A-Ester oder das β-Carotin enthaltenden Al_2O_3-Schichten mit einem Spatel sorgfältig von den benachbarten Schichten abgetrennt und in ein 100 cm³-Becherglas gegeben. Zur Eluierung des Vitamin A wird das Al_2O_3 sofort mit äthanolischem Petroläther II, zur Eluierung des β-Carotins mit Petroläther III bedeckt, mit dem Spatel aufgerührt, in eine Glasfrittennutsche (Jena, G3, ⌀ 70 mm) gegeben und das Eluat so abgenutscht, dass noch keine Luft durch das Aluminiumoxyd gesogen wird. Hierauf wird das Aluminiumoxyd einmal mit ca. 25 cm³ Lösung II bzw. III übergossen und diese mässig scharf abgesaugt. Schliesslich wird 4mal mit ca. 25 cm³ Elutionsmittel aufgerührt und nun jedesmal scharf abgesaugt. Im ganzen erhält man ca. 150 cm³ Lösung. Sämtliche Filtrate werden in einem 250 cm³ Rundkolben aufgefangen und unter vorsichtigem Anlegen eines Vakuums und bei mässiger Spülung mit O_2-freiem Stickstoff (eventuell noch unter Vorschaltung eines Turmes mit alkalischer Pyrogallollösung) in der in Fig. 3 dargestellten Apparatur eingeengt. Die Vitamin A-Eluate werden im sieden-

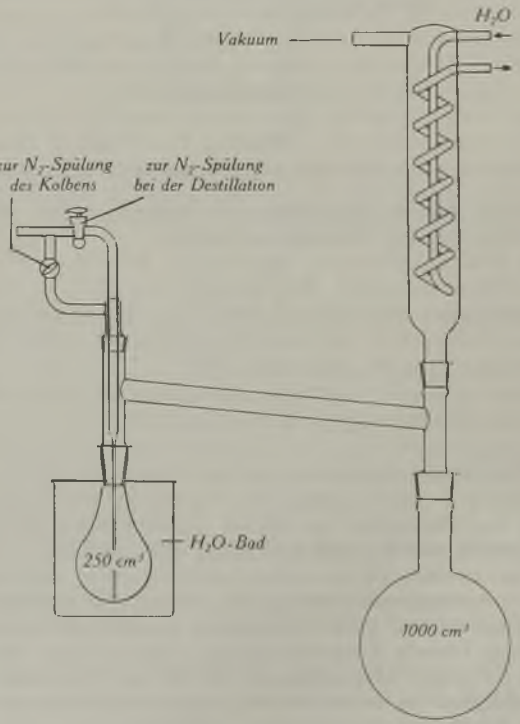


Fig. 3. Anordnung zum Eindampfen der Eluate.

den Wasserbad zur Trockne eingedampft, die β-Carotin-Eluate bei 40° C auf 1—2 cm³ eingeengt. Nach dem Abdampfen wird erkalten gelassen, die Apparatur mit absolutem Stickstoff gespült, der Rundkolben abgenommen, die Vitamin A-Rückstände mit ca. 5 cm³ Petroläther IV, die β-Carotin-Rückstände mit 5 cm³ Petroläther I aufgenommen, quantitativ in einen 25 cm³-Messkolben gespült und mit demselben Lösungsmittel auf 25 cm³ aufgefüllt.

Zur raschen Einstellung der für die spektrophotometrische Vitamin A-Bestimmung benötigten Verdünnung wird ein aliquoter Teil (0,5—25 cm³) der eingeengten und auf 25 cm³ gebrachten Eluate so lange mit Petroläther IV verdünnt, bis die Lösung im *Hilger*'schen A-Vitameter eine Extinktion von 0,25—0,3 aufweist. In diesen Lösungen wird das Absorptionsspektrum des Vitamin A (Vitamin A-Alkohol und Vitamin A-Ester) im U.V. mit dem (*Zeiss*'schen) Quarzspektrographen (QU 24) bei den Schichtdicken 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26,5, 29, 32, 35 und 40 mm und bei 30 Sekunden Belichtung mit einer Wasserstofflampe als Lichtquelle aufgenommen. Zur quantitativen Auswertung des Spektrums wird zu jeder Schichtdicke noch das Absorptionsspektrum des reinen Lösungsmittels ohne Vitamin A aufgenommen unter Vorschaltung eines Sektors von α^0 = ca. 90° und oben und unten auf der Platte die Wellenlängenskala in Å oder mμ aufgeblendet.

Die Beurteilung und quantitative Auswertung der Extinktionskurven erfolgt nach den im allgemeinen Teil gegebenen Weisungen (siehe auch Beispiel weiter unten).

Die stufenphotometrische β-Carotin-Bestimmung erfolgt direkt in den auf 25 cm³ gebrachten Eluaten unter Vorschaltung des Filters „S. 47" nach den im allgemeinen Teil gegebenen Richtlinien. Konzentrierte Lösungen werden zur Messung mit Petroläther I verdünnt.

Zur Verseifung wird das zur Chromatographie in hochsiedendem Petroläther gelöste Untersuchungsmaterial in der Apparatur zum Eindampfen der Eluate (Fig. 3) im Vakuum und unter ständigem Stickstoffstrom im siedenden Wasserbad zur Trockne eingedampft bzw. Lösungen mit β-Carotin bei 45° C auf 1—2 cm³ eingeengt. Nach Zugabe von 10 cm³ der frisch bereiteten 1-n. äthanolischen KOH wird die Apparatur evakuiert und wieder mit Stickstoff durchströmt, der Rundkolben bis zur Grenze des Verseifungsgutes in ein siedendes Wasserbad gestellt, das Untersuchungsmaterial unter leichtem Schwenken genau während 5 Minuten verseift und durch Einstellen in kaltes Wasser rasch abgekühlt. Das erkaltete Verseifungsgut wird in einen 50 cm³ Schüttelzylinder übergeführt, der Kolben 2mal mit ca. 5 cm³ 95-proz. Äthanol gespült, die vereinigten äthanolischen Fraktionen mit einem Teil Wasser verdünnt, mit 1—2 Teilen Petroläther I versetzt (den Kolben damit nochmals schwenken) und während ½ bis 1 Minute energisch ausgeschüttelt. Diese Operation wird ohne Stickstoffstrom unter Luft durchgeführt und die im Versuchsprotokoll[1]) angeführten Werte beziehen sich auf diese einfache Arbeitsweise ohne spezielle Vorsichtsmassnahmen zur Vermeidung von Oxydationsverlusten.

Nach der Trennung der Schichten wird die wässerige Lösung abgelassen, der Schüttelzylinder zu der in Fig. 4 dargestellten Auswasch- und Entseifungsanordnung zusammengestellt, mit so viel Wasser aufgefüllt, bis das Wassereinleitungsrohr eben in den Petroläther eintaucht und das Extraktionsgut mit Leitungswasser während 5—10 Minuten ausgewaschen. Die Geschwindigkeit ist so einzustellen, dass kein Petroläther mitgerissen wird. Durch diese Anordnung werden die Extrakte, ohne Emulsionsbildung und ohne Luft in die Lösung einzuführen, in kürzester Zeit vollständig von Seifen und Alkohol befreit.

Nach der Entseifung wird das Wasser vom Extrakt abgetrennt, der Petroläther mit Natriumsulfat getrocknet, durch Watte filtriert, der Schüttelzylinder mit dem Natriumsulfat noch 3mal mit je ca. 5 cm³ Petroläther I geschwenkt und die einzelnen Fraktionen durch dasselbe Wattefilter zum Extrakt gegeben. Die gesammelten und vereinigten Filtrate werden, wie zuvor beschrieben wurde, chromatographiert.

[1]) Siehe Anmerkung am Schluss der Arbeit.

Zur chemischen Reinigung werden 10 cm³ der 2—5-proz. Ausgangslösungen in einen 50 cm³ Schüttelzylinder gegeben, weitere 10 cm³ Petroläther I und dann 10 cm³ 1-n. NaOH + 10 cm³ Feinsprit hinzugefügt und während 1 Minute energisch geschüttelt. Trennung der Schichten, Auswaschen der Seifen und des Alkohols und Weiterverarbeitung, wie bei der Verseifung beschrieben wurde. Eine chemische Reinigung des Untersuchungsmaterials ist aber äusserst selten notwendig; sie wird im allgemeinen vorteilhafter durch die Verseifung ersetzt. Das Verfahren ist ohne Einfluss auf das quantitative Ergebnis.

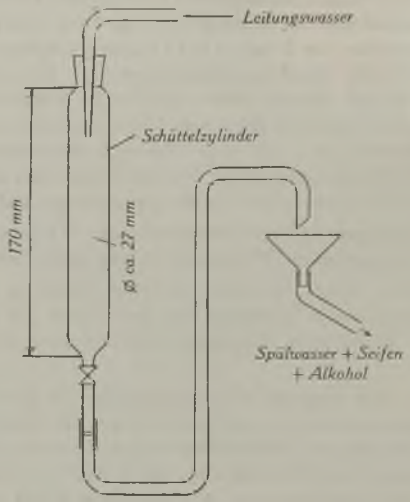


Fig. 4.
Vorrichtung zur emulsionslosen Entseifung und Auswaschung von verseiftem Extraktionsgut.

Zur Illustration des ganzen Arbeitsvorganges einer quantitativen Auswertung seien im Folgenden 2 Beispiele angeführt:

1. Beispiel: Bestimmung von Vitamin A.

Einwage: 1 g Tran pro 50 cm³ Petroläther. Davon werden 10 cm³ zur chromatographischen Reinigung verwendet und nach dem Eindampfen des Eluates auf 25 cm³ aufgefüllt (Lösung a). Von dieser Lösung a mussten 0,5 cm³ auf 50 cm³ verdünnt werden, um im *Hilger*'schen A-Vitameter eine Extinktion von 0,3 zu geben. Die spektrophotometrische Auswertung wurde mit einem Sektor von $\alpha = 88^{0}24'$ (entsprechend $\log J_{1/J} = E = 0{,}6100$) bei den Schichtdicken von: 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26,5, 29, 32, 35 und 40 mm durchgeführt und das Extinktionsmaximum bei 3280 Å bei der Schichtdicke von 2,0 cm erreicht. Daraus errechnet sich die $E^{1\%}_{1\,cm}$ zu:

$$E^{1\%}_{1\,cm} = \frac{E}{c \cdot d} = \frac{0{,}61}{8 \times 10^{-3} \times 2{,}0} = 38{,}1 \quad \text{und}$$

die biologische Wirksamkeit des Präparates nach der Vereinbarung des Jahres 1934 zu:

$$38{,}1 \times 1600 = \mathbf{61\,000\ int.\ Einheiten/g.}$$

2. Beispiel: Bestimmung von β-Carotin.

Einwage, Chromatographie und Eluierung wie im Beispiel 1. Extinktion des auf 25 cm aufgefüllten und nicht weiter verdünnten Eluates (a) bei 1 cm Schichtdicke = 0,72.

Die $E^{1\%}_{1\,cm}$ des Untersuchungsmaterials beträgt:

$$E^{1\%}_{1\,cm} = \frac{E}{c \cdot d} = \frac{0{,}72}{0{,}8 \times 1} = 0{,}90$$

und der β-Carotingehalt des Untersuchungsmaterials:

$$\frac{(E^{1\%}_{1\,cm})_{Vers.-Lsg.}}{(E^{1\%}_{1\,cm})_{Test-Lsg.}} = \frac{0{,}90}{2140} = 0{,}420 \times 10^{-3}\ g\ \beta\text{-Carotin/g}.$$

Aus Gründen der zeitbedingten Platz- und Materialeinsparung wird auf die Veröffentlichung der Versuchsunterlagen und einer vollständigen Literaturliste verzichtet. Eine Zusammenstellung von Auszügen aus den Versuchsprotokollen steht Interessenten zur Verfügung.

Basel, den 31. Januar 1944.

Wissenschaftlich-analytisches Laboratorium der
F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G.

---

53. Recherches dans la série des cyclites VII. Sur la cyclite des moules (mytilite) et sur quelques substances voisines[1])

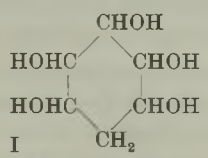
par **Théodore Posternak.**

(10 II 44)

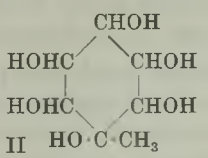
En 1913, *B. C. P. Jansen*[2]) isola des muscles obturateurs des moules (mytilus edulis) une substance à laquelle il donna le nom de *mytilite* et qu'il considérait comme un cyclohexane-pentol $C_6H_{12}O_5$ (I).

Quelques années plus tard, *D. Ackermann*[3]) retira à son tour des moules le même composé auquel il attribua la formule $C_7H_{14}O_6$. D'après cet auteur, la mytilite contient 6 groupes hydroxyles et représente une méthyl-inosite (II), chez laquelle, vu l'absence de groupe méthoxyle, le reste méthyle ne peut être fixé qu'à un atome de carbone.

En 1926 enfin, *Daniel* et *Doran*[4]) eurent la mytilite entre les mains et se prononcèrent en faveur de la formule d'*Ackermann*.



I



II

[1]) Les principaux résultats de ce travail ont été communiqués le 28 II 1943 à la Société Suisse de Chimie, à Berne; voir Schw. Ch. Z. **26**, 155 (1943).

[2]) Z. physiol. Ch. **85**, 231 (1913).

[3]) B. **54**, 1938 (1921).

[4]) Biochem. J. **20**, 676 (1926).

Il faut noter que les formules de constitution indiquées par tous ces auteurs étaient basées principalement sur des résultats de combustion et que l'appartenance même de la mytilite à la série des cyclites n'était qu'hypothétique; à plus forte raison encore, la configuration était indéterminée. Signalons toutefois que la mytilite étant un composé naturel optiquement inactif, sa molécule est très probablement symétrique.

M. le Prof. *Ackermann* ayant eu la grande obligeance de mettre à notre disposition une petite quantité de mytilite, nous avons pu effectuer quelques expériences sur cette intéressante substance. Nous avons cherché d'abord à trancher entre les formules I et II par un dosage de groupe méthyle fixé au carbone: la mytilite a fourni par oxydation chromique une molécule d'acide acétique, ce qui plaide nettement en faveur de la formule (II) d'*Ackermann*. Nous nous sommes assuré, d'autre part, que la *d*-quercite qui, d'après *Jansen*, serait un stéréo-isomère de la mytilite, ne fournit pas d'acide volatil par oxydation chromique.

Par la suite, nous avons cherché à préparer synthétiquement des méthylinosites du type de la mytilite. Notre produit de départ était le scyllo-ms-inososе (IV) qui s'obtient, rappelons-le, par oxydation biochimique de la méso-inosite sous l'action d'*Acetobacter suboxydans*[1]). Nous nous sommes adressé à son dérivé penta-acétylé qui existe sous deux formes, dont l'une répond certainement à la formule cétonique (VII), et qui se convertissent d'ailleurs facilement l'une dans l'autre; ces deux formes se sont comportées de manière identique (conformément à la formule VII) dans la réaction dont il sera question et ont fourni les mêmes produits. Traité par un grand excès d'iodure de méthyl-magnésium, le penta-acétate d'inososе (VII) réagit normalement par son groupe cétonique avec formation d'un alcool tertiaire. On obtient ainsi avec un rendement de 60 % une méthylcyclite qui, par suite d'un heureux hasard, *s'est trouvée être identique à la mytilite: la formule d'Ackermann est ainsi définitivement établie.* Conformément à la théorie, la mytilite est accompagnée, en très faible quantité d'ailleurs, d'un stéréo-isomère que nous nommons *isomytilite.* Cette substance est beaucoup plus soluble dans l'eau que la mytilite. D'après leur mode de formation, les deux composés ne peuvent différer que par la configuration de l'atome de carbone tertiaire.

L'isomytilite peut être préparée avec un rendement incomparablement plus élevé par une autre méthode. Si l'on soumet le penta-acétate de scyllo-ms-inososе $C_{16}H_{20}O_{11}$ à l'action du diazométhane, on obtient presque quantitativement un composé $C_{17}H_{22}O_{11}$ (XI) qui, comme l'indiquent toutes ses propriétés, représente un dérivé de

[1]) *Kluyver* et *Boezaardt*, R. **58**, 956 (1939); *Th. Posternak*, Helv. **24**, 1045 (1941); **25**, 746 (1942).

l'oxyde d'éthylène[1]). Il fixe, par hydrogénation catalytique, une molécule d'hydrogène en fournissant quantitativement un penta-acétate d'isomytilite (XII) à partir duquel l'isomytilite s'obtient facilement par désacétylation. L'ouverture par hydrogénation du cycle oxydique s'est donc produite d'après le mode suivant qui exclut toute inversion de *Walden:*

Conformément à cette constitution, le penta-acétate d'isomytilite, dont la fonction alcoolique libre est de nature tertiaire, résiste à l'oxydation chromique ménagée et à l'acétylation par l'anhydride acétique, à froid, en présence de pyridine. Traité à chaud par l'anhydride acétique en présence de chlorure de zinc, il se transforme en hexa-acétate.

Le scyllo-ms-inosose libre (IV) réagit lui aussi avec une facilité remarquable avec le diazométhane, en solution aqueuse, en fournissant un composé $C_7H_{12}O_6$ (V) dérivant de l'oxyde d'éthylène. La substance XI en représente sans doute le penta-acétate: par hydrogénation catalytique, le composé V se transforme, en effet, en isomytilite, ce qui indique qu'il a la même configuration que la substance XI.

Ajoutons que l'isomytilite donne par oxydation chromique 1 mol. d'acide acétique.

Ces synthèses n'apportent aucun renseignement quant à la configuration du carbone tertiaire de la mytilite et de l'isomytilite. Rappelons que le scyllo-ms-inosose IV fournit par réduction deux cyclites: la méso-inosite (III) et la scyllite (VI)[2]). Il s'agit donc d'établir si la mytilite représente la méthyl-scyllite VIII ou la méthyl-ms-inosite IX. On sait que, dans la série des cyclites, il est difficile d'appliquer les méthodes à l'acide borique et à l'acétone qui rendent parfois de si grands services pour établir la configuration des poly-alcools. Pour décider entre les formules VIII et IX, nous nous sommes alors basé sur les observations suivantes:

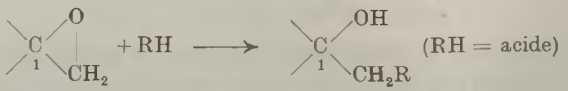
Si l'on traite la méso-inosite et la scyllite dans des conditions identiques par l'acide periodique, on constate que la méso-inosite est oxydée plus rapidement que son stéréo-isomère. Ceci était d'ailleurs à prévoir: chez la méso-inosite, on trouve, en effet, 3 hydroxyles voisins en cis, alors que, chez la scyllite, tous les hydroxyles vicinaux sont en trans, et on sait que les glycols-1,2 cis sont scindés plus rapidement par l'acide periodique ou par le tétra-acétate de plomb que leurs

[1]) *Arndt* et *Eistert*, B. **61**, 1121 (1928); **62**, 44 (1929); *Wolfrom* et coll., Am. Soc. **63** 632 (1941).

[2]) *Th. Posternak*, Helv. **24**, 1045 (1941); **25**, 746 (1942).

stéréo-isomères trans[1]). Nous avons observé que la vitesse d'oxydation par l'acide periodique de l'isomytilite est plus grande que celle de la mytilite; nous attribuons pour cette raison à cette dernière la formule VIII (méthyl-scyllite) et à l'isomytilite la formule IX (méthyl-méso-inosite).

Le composé oxydique XI donne lieu aisément aux diverses réactions d'addition qu'on pouvait prévoir; certaines se font d'après le mode suivant avec formation d'une fonction alcoolique tertiaire:



Aucune substitution ne s'effectuant au carbone asymétrique 1, celui-ci conserve sa configuration.

C'est ainsi qu'une molécule d'acide acétique s'additionne facilement sous l'action de divers catalyseurs (acide sulfurique concentré, chlorure de fer(III) ou chlorure de zinc anhydres ou mieux encore acétates de sodium et de potassium). On obtient de cette manière un hexa-acétate d'oxy-isomytilite (XIII) qui fond à 186° et qui dérive de l'*oxy-isomytilite* (XVI) de p. de f. 223°. L'hydroxyle libre de cet hexa-acétate XIII fait bien partie d'une fonction alcoolique tertiaire, car la substance résiste à l'oxydation chromique ménagée et, d'autre part, elle se forme également par traitement de l'oxy-isomytilite par l'anhydride acétique bouillant en l'absence de catalyseur, ce qui montre qu'elle contient un hydroxyle difficilement acétylable. Par l'action de l'anhydride acétique en présence de chlorure de zinc sur l'oxy-isomytilite, on obtient l'hepta-acétate qui fond à 191—192°.

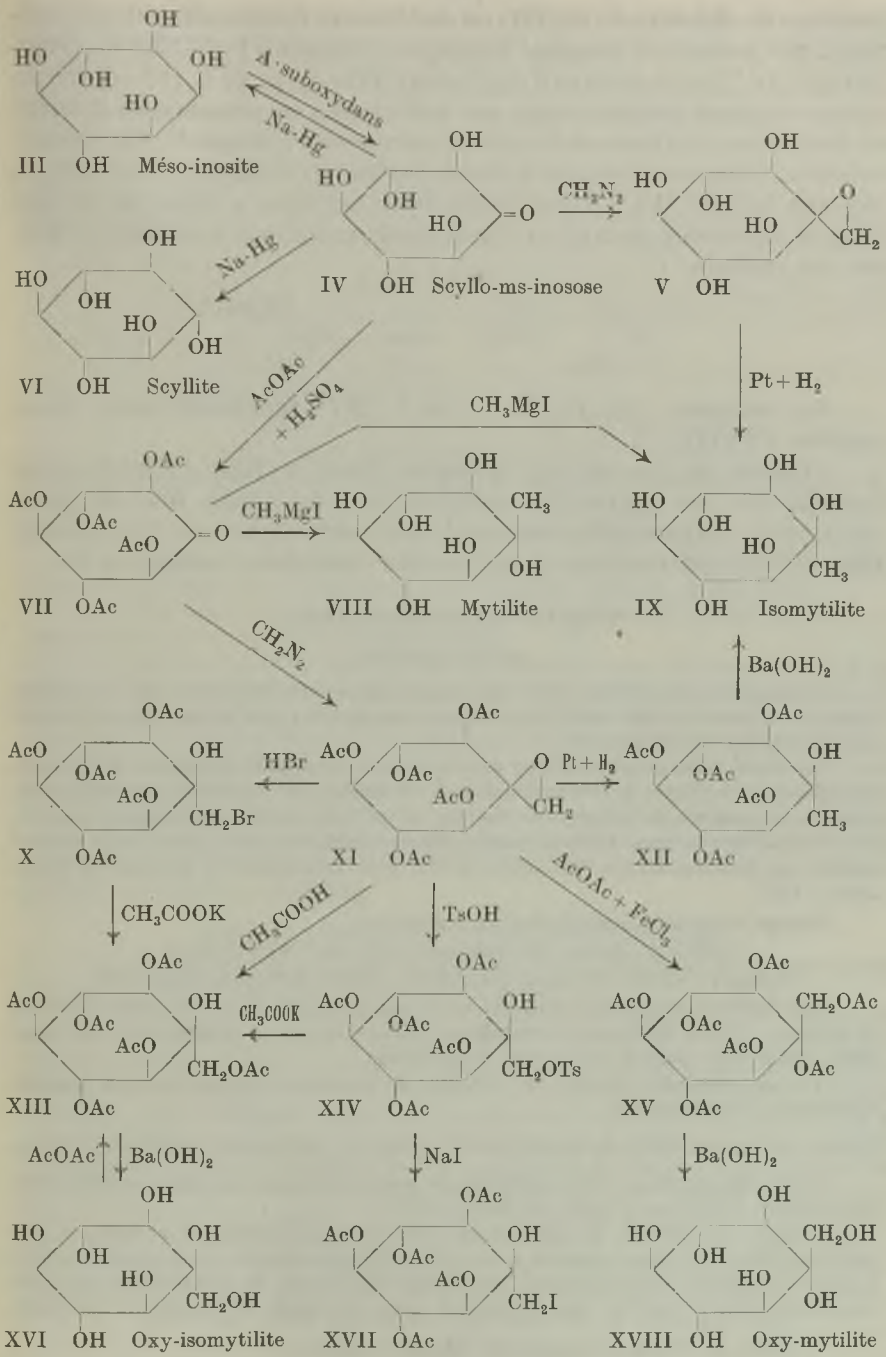
Par addition d'acide bromhydrique, le composé oxydique XI se transforme en un penta-acétate de bromo-isomytilite X qui résiste à l'oxydation chromique ménagée. Traité en solution acétique à l'ébullition par l'acétate de potassium, ce composé est débromé en se transformant en hexa-acétate d'oxy-isomytilite XIII.

Il se produit d'autre part une addition entre le composé oxydique XI et l'acide p-toluène-sulfonique avec formation d'un dérivé p-toluène-sulfonylé contenant un groupe hydroxyle libre difficilement acétylable. Sous l'action de l'acétate de potassium, ce dérivé se transforme lui aussi en hexa-acétate d'oxy-isomytilite XIII. D'autre part, si on le chauffe en solution acétonique avec de l'iodure de sodium, on remplace le reste tosyloxyle par un atome d'iode (XVII), ce qui est une réaction caractéristique des dérivés tosylés d'alcools primaires[2]). Ces faits sont en accord avec la formule XIV qu'il faut attribuer à notre dérivé p-toluène-sulfonylé.

Par addition d'anhydride acétique au composé oxydique XI en présence d'acide sulfurique concentré ou d'acétate de sodium anhydre, il se forme des mélanges dont l'étude n'est pas encore achevée. En

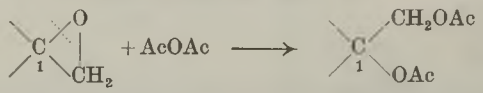
[1]) P. ex. *Criegee*, C. **1934**, II, 2515; Z. angew. Ch. **50**, 153 (1937). *Price* et *Knel* (Am. Soc. **64**, 552 (1942)) ont comparé récemment les vitesses d'oxydation par l'acide periodique des deux cyclohexane-1,2-diols cis et trans.

[2]) *Oldham* et *Rutherford*, Am. Soc. **54**, 366 (1932); voir aussi p. ex. *Vargha*, B. **76**, 860 (1943).



Pour simplifier, on n'a pas marqué dans ces formules les at. H fixés au noyau.

présence de chlorure de fer(III) ou de chlorure de zinc anhydres, on obtient, par contre, un composé homogène fondant à 158—159° et stéréoisomère de l'hepta-acétate d'oxy-isomytilite de p. de f. 191—192°. Le même composé s'obtient aussi par acétylation en présence de chlorure de fer(III) ou de chlorure de zinc du composé oxydique V. Par désacétylation, il donne naissance à une nouvelle oxyméthyl-cyclite $C_7H_{14}O_7$ fondant à 247°. L'addition d'anhydride acétique a donc dû se faire d'après le schéma suivant en s'accompagnant d'une inversion de *Walden* au carbone 1:



Le composé $C_7H_{14}O_7$ de p. de f. 247° représente ainsi l'*oxy-mytilite* (XVIII).

Comme on pouvait s'y attendre, l'oxy-mytilite (XVIII), chez laquelle tous les hydroxyles vicinaux fixés au noyau sont en trans, est oxydée moins rapidement par l'acide periodique que l'oxy-isomytilite (XVI) qui contient 3 hydroxyles nucléaires voisins en cis.

Partie expérimentale.

Mytilite naturelle.

L'échantillon de mytilite retiré des moules mis à notre disposition par M. le Prof. *Ackermann*, fondait à 266—268° (léger dégagement gazeux) pour se prendre rapidement en cristaux par refroidissement.

Le *dérivé hexa-acétylé* s'obtient très facilement lorsque la substance déshydratée préalablement à l'étuve à 100° est traitée 3—4 minutes à l'ébullition par l'anhydride acétique en présence de chlorure de zinc ou de 0,05 vol. d'acide sulfurique concentré. Par recristallisation dans l'alcool, beaux prismes fondant à 181°; nous avons observé parfois une deuxième forme fondant vers 170° pour se solidifier à nouveau et fondre alors à 181°.

Dosage du groupe méthyle fixé au carbone[1]):

0,0813 gr. subst. ont consommé 8,30 cm³ NaOH 0,05-n

$C_7H_{14}O_6$ Calculé 1,00 mol. CH_3COOH Trouvé 0,99 mol. CH_3COOH

Les distillats neutralisés réunis ont donné par évaporation à sec un résidu d'acétate de sodium. P. de f. 323° après recristallisation dans l'alcool; le mélange avec un échantillon authentique fondait à la même température.

Un essai analogue effectué sur 79,9 mgr. de *d*-quercite n'a pas fourni de quantité appréciable d'acide volatil.

Synthèse de la mytilite et de l'isomytilite à partir du penta-acétate de scyllo-ms-inosose.

Pour cette synthèse, il est indifférent de partir de la forme du penta-acétate d'inosose fondant à 212° ou de celle qui fond à 147° [2]).

A partir de 130 mgr. de magnésium et de 0,45 cm³ d'iodure de méthyle, on prépare une solution d'organo-magnésien dans 3 cm³ d'éther anhydre. On y introduit goutte à goutte, en agitant continuellement, une solution de 150 mgr. de penta-acétate de scyllo-ms-inosose dans 2,5 cm³ de chloroforme sec, puis on chauffe 30 minutes à l'ébullition

[1]) *Kuhn* et *L'Orsa*, Z. angew. Ch. **44**, 850 (1931).

[2]) *Th. Posternak*, Helv. **24**, 1045 (1941).

à reflux. Le mélange est alors versé dans un excès d'acide sulfurique dilué; l'éther et le chloroforme sont ensuite chassés au bain-marie. On obtient ainsi une solution limpide ne réduisant plus que très faiblement la liqueur de *Fehling*. Les ions I' sont éliminés par agitation avec du carbonate d'argent fraîchement précipité, la réaction devant rester acide au Congo durant cette opération. Les ions $Ag^{\cdot}$ sont ensuite éliminés par l'hydrogène sulfuré. Après passage d'un courant d'air dans le liquide, on ajoute un excès d'une solution concentrée chaude d'hydroxyde de baryum et on chauffe 15 minutes à l'ébullition à reflux. Le mélange de sulfate de baryum et d'hydroxyde de magnésium est essoré et soigneusement lavé. Les liqueurs réunies sont débarrassées des ions $Ba^{\cdot\cdot}$ par la quantité strictement nécessaire d'acide sulfurique et enfin évaporées dans le vide. La mytilite cristallise alors rapidement. On la reprend par l'alcool absolu et on la lave à l'éther (70 mgr.). Par recristallisation dans 0,4 cm³ d'eau, on obtient 50 mgr. fondant à 263—265°. Le point de fusion s'élève par recristallisation ultérieure à 266—268° et n'est pas déprimé par mélange avec la mytilite naturelle.

Séchée à l'air, la mytilite synthétique retient, tout comme le produit naturel, 2 mol. d'eau de cristallisation qui partent à l'étuve à 100°.

8,3 mgr. subst. ont perdu à 100° 1,3 mgr. H_2O

$C_7H_{14}O_6 \cdot 2\ H_2O$ Calculé H_2O 15,6 Trouvé H_2O 15,7%

3,630; 3,125 mgr. subst. anhydre ont donné 5,770; 4,985 mgr. CO_2 et 2,350; 2,030 mgr. H_2O

$C_7H_{14}O_6$ Calculé C 43,31 H 7,27%

Trouvé „ 43,38; 43,53 „ 7,24; 7,27%

La solubilité dans l'eau à 19—20° a été trouvée égale à 0,40% en accord satisfaisant avec les indications d'*Ackermann* pour la mytilite naturelle (0,43% à 24°).

Le dérivé hexa-acétylé de la mytilite synthétique fondait à 181° de même que son mélange avec le dérivé du produit naturel.

La première eau-mère de la mytilite est évaporée à sec. On reprend à froid par l'alcool à 50% et on essore l'insoluble qui consiste principalement en mytilite impure. Le filtrat est évaporé à sec, on reprend par une ou deux gouttes d'eau et on ajoute progressivement de l'alcool absolu. Il précipite d'abord quelques flocons qu'on élimine; le liquide additionné de davantage d'alcool dépose des tablettes carrées (7 mgr.) qui, après une nouvelle recristallisation dans l'alcool dilué, fondent après suintement à 223°; il en est de même de leur mélange avec un échantillon de l'*isomytilite* préparée par la deuxième méthode (voir plus loin). Le dérivé acétylé préparé par ébullition en présence d'anhydride acétique et de chlorure de zinc fond à 188—189°, ainsi que son mélange avec l'hexa-acétate du deuxième échantillon.

Oxyde de methylène-penta-acétoxy-cyclohexane (XI).

Ici encore on obtient les mêmes résultats quelle que soit la forme du penta-acétate de scyllo-ms-inosose employée comme produit de départ.

2,3 gr. de penta-acétate d'inosose sont dissous à chaud dans 30 cm³ de chloroforme sec. On refroidit dans la glace, on ajoute d'un seul coup 100 cm³ d'une solution éthérée de diazométhane préparée à partir de 10 gr. de nitroso-méthyl-urée et on abandonne à température ordinaire à l'abri de l'humidité. La majeure partie du produit de départ cristallise, mais se redissout entièrement par la suite; il se produit en même temps un abondant dégagement gazeux. Au bout de 4—5 heures, on filtre et on laisse le liquide s'évaporer à température ordinaire. Le résidu est extrait par un peu d'alcool absolu froid qui dissout quelques résines; l'insoluble fournit, par une seule recristallisation dans 70 parties d'alcool absolu bouillant, 2,0—2,1 gr. d'un produit pratiquement pur fondant à 211—212°. Par recristallisations ultérieures dans l'alcool, le point de fusion s'élève à 213°. Petites tables peu solubles dans l'alcool et l'éther, facilement solubles dans le chloroforme, l'acide acétique et l'acétone. Le produit ne réduit pas la liqueur de *Fehling*.

3,820 mgr. subst. ont donné 7,120 mgr. CO_2 et 1,880 mgr. H_2O

$C_{17}H_{22}O_{11}$ Calculé C 50,76 H 5,51%

Trouvé „ 50,86 „ 5,51%

Une ébullition prolongée en solution alcoolique n'altère pas notablement le produit; il en est de même d'un traitement de quelques minutes par l'acide acétique bouillant.

Penta-acétate d'isomytilite (XII).

0,20 gr. du produit précédent sont dissous dans 5 cm³ d'acide acétique glacial pur. On hydrogène en présence de 40 mgr. d'oxyde de platine. Au bout de 3 heures, la réaction est terminée après consommation d'exactement 1 molécule d'hydrogène. La solution filtrée est évaporée à sec dans le vide à température ordinaire sur de la potasse solide. On extrait le résidu par un peu d'alcool absolu froid; l'insoluble fournit, par recristallisation dans 3 cm³ d'alcool, 190 mgr. de substance pure. Beaux prismes aplatis fondant à 226—228°.

3,930 mgr. subst. ont donné 7,230 mgr. CO_2 et 2,130 mgr. H_2O

$C_{17}H_{24}O_{11}$ Calculé C 50,49 H 5,98%
Trouvé „ 50,21 „ 6,06%

Essais d'oxydation et d'acétylation. 30 mgr. de penta-acétate sont traités 14 heures à température ordinaire par une solution de 12 mgr. d'anhydride chromique (2,4 at. O actif) dans 0,25 cm³ d'acide acétique glacial. Après destruction de l'excès d'oxydant par l'alcool et addition de quelques volumes d'eau, il précipite un produit qui, d'après son point de fusion et celui du mélange, est identique à la substance de départ. D'autre part, cette dernière n'est pas transformée par un traitement de 40 heures à froid au moyen de 10 parties d'un mélange à volumes égaux d'anhydride acétique et de pyridine anhydre.

Isomytilite (IX).

200 mgr. du penta-acétate précédent sont dissous à chaud dans 4 cm³ d'alcool absolu. On introduit 4 cm³ d'une solution 1,09-n d'hydroxyde de baryum dans l'alcool méthylique. Il se produit immédiatement un précipité volumineux qui se redissout après addition d'une vingtaine de cm³ d'eau. On maintient encore 15 minutes à l'ébullition. Les ions $Ba^{\cdot\cdot}$ sont alors éliminés par la quantité strictement nécessaire d'acide sulfurique. Après évaporation à sec de la solution, le résidu est repris par quelques gouttes d'eau. Par addition de plusieurs volumes d'alcool absolu, on obtient des tables (rhombes) fondant à 225—226°. On a observé une fois une forme instable (longues aiguilles) de même point de fusion.

3,620 mgr. subst. ont donné 5,750 mgr. CO_2 et 2,430 mgr. H_2O

$C_7H_{14}O_6$ Calculé C 43,31 H 7,27%
Trouvé „ 43,35 „ 7,51%

Dosage du groupe méthyle fixé au carbone[1]):

0,0768 gr. subst. ont consommé 8,00 cm³ NaOH 0,05-n

$C_7H_{14}O_6$ Calculé 1,00 mol. CH_3COOH Trouvé 1,01 mol. CH_3COOH

Hexa-acétate. Il s'obtient à partir de l'isomytilite ou de son penta-acétate lorsqu'on les traite 3 minutes à l'ébullition par 7—10 parties d'anhydride acétique en présence d'acide sulfurique concentré (0,05 vol.) ou mieux encore d'un peu de chlorure de zinc anhydre. On jette ensuite dans l'eau glacée. La substance précipitée cristallise dans l'alcool en tables (rhombes) fondant à 188—189°.

3,590 mgr. subst. ont donné 6,740 mgr. CO_2 et 1,900 mgr. H_2O

$C_{19}H_{26}O_{12}$ Calculé C 51,12 H 5,87%
Trouvé „ 51,23 „ 5,92%

Oxyde de méthylène-penta-oxy-cyclohexane (V).

200 mgr. de scyllo-ms-inosose sont dissous dans 2 cm³ d'eau chaude. Après refroidissement, on introduit 20 cm³ d'une solution éthérée de diazométhane obtenue à partir de 2 gr. de nitroso-méthyl-urée. On laisse 4—5 heures dans la glace en agitant fréquemment. La solution aqueuse, qui ne réduit plus la liqueur de *Fehling*, laisse après évapo-

[1]) *Kuhn* et *L'Orsa*, Z. angew. Ch. **44**, 850 (1931).

ration dans le vide un résidu qui cristallise immédiatement si on le triture en présence d'alcool absolu (0,17 gr.). Pour la recristallisation, on dissout dans 2—3 parties d'eau et on ajoute de l'alcool absolu jusqu'à début de trouble. Longues et fines aiguilles (ou parfois tables) qui, chauffées en tube capillaire, se décomposent progressivement sans fondre à partir de 250°. Au bloc *Maquenne*, on observe par contre un point de fusion instantané de 244—247°.

3,465 mgr. subst. ont donné 5,530 mgr. CO_2 et 1,950 mgr. H_2O

$C_7H_{12}O_6$ Calculé C 43,74 H 6,29%
Trouvé „ 43,55 „ 6,30%

Hydrogénation en isomytilite. 60 mgr. d'oxyde sont dissous dans 2 cm³ d'eau; on ajoute 0,5 cm³ d'acide acétique glacial et on hydrogène en présence de 20 mgr. d'oxyde de platine. Il se produit une consommation de 1 mol. H_2 en 2 heures ½. La solution laisse, après évaporation, un résidu d'isomytilite presque pure qui fond, après une recristallisation dans l'alcool dilué, à 223° et qu'on a encore caractérisée par son hexa-acétate de p. de f. 188—189° (identité établie par les points de fusion des mélanges).

Oxymytilite (XVIII).

Hepta-acétate (XV). 250 mgr. de dérivé oxydique XI sont chauffés 1—2 minutes à l'ébullition avec 1,5 cm³ d'anhydride acétique fraîchement rectifié et 15 mgr. de chlorure de fer(III) anhydre. On verse dans l'eau glacée. Après quelques heures de repos, le produit (220 mgr.) est essoré, lavé, séché et recristallisé dans 10 parties d'alcool absolu. Longues et fines aiguilles fondant à 158—159°. On peut remplacer le chlorure de fer(III) par le chlorure de zinc anhydre.

3,865 mgr. subst. ont donné 7,095 mgr. CO_2 et 1,950 mgr. H_2O

$C_{21}H_{28}O_{14}$ Calculé C 50,00 H 5,60%
Trouvé „ 50,08 „ 5,65%

Le même produit s'obtient dans des conditions analogues à partir du composé oxydique V.

Oxymytilite libre (XVIII). Elle a été préparée à partir de son hepta-acétate par traitement au moyen de l'hydroxyde de baryum méthylalcoolique dans les conditions déjà décrites (voir préparation de l'isomytilite à partir de son penta-acétate). La substance est peu soluble dans l'eau froide, plus soluble à chaud et peut être recristallisée dans 8—10 parties de ce dissolvant. Elle fond après suintement à 247°. Séchée à l'air, elle retient ½ mol. d'eau qui ne part pas à 100° à l'étuve, mais s'élimine par contre à 130° dans le vide, sur l'anhydride phosphorique.

3,640 mgr. subst. hydratée ont donné 5,150 mgr. CO_2 et 2,260 mgr. H_2O

$(C_7H_{14}O_7)_2 \cdot H_2O$ Calculé C 38,36 H 6,90%
Trouvé „ 38,61 „ 6,95%

3,600 mgr. subst. anhydre ont donné 5,310 mgr. CO_2 et 2,140 mgr. H_2O

$C_7H_{14}O_7$ Calculé C 40,00 H 6,71%
Trouvé „ 40,25 „ 6,65%

Oxy-isomytilite (XVI).

Hexa-acétate (XIII). 200 mgr. de composé oxydique XI dissous dans 1,6 cm³ d'acide acétique glacial sont chauffés 4 minutes à l'ébullition à reflux en présence de 300 mgr. d'acétate de sodium anhydre. Le produit précipité par addition d'eau (210 mgr.) se sépare dans l'alcool absolu en beaux prismes bien formés fondant à 185—186°.

3,690 mgr. subst. ont donné 6,650 mgr. CO_2 et 1,930 mgr. H_2O

$C_{19}H_{26}O_{13}$ Calculé C 49,35 H 5,67%
Trouvé „ 49,18 „ 5,85%

Le même produit s'obtient si on remplace l'acétate de sodium par l'acétate de potassium anhydre; il se forme également, mais à l'état moins pur, sous l'action d'autres catalyseurs: acide sulfurique concentré ou chlorure de fer(III) anhydre. Traité par l'an-

hydride chromique dans les conditions décrites plus haut (voir penta-acétate d'isomytilite), le produit résiste à l'oxydation.

Oxy-isomytilite libre (XVI). Elle s'obtient à partir de l'hexa-acétate précédent au moyen de la baryte méthylalcoolique dans des conditions décrites plus haut. Par dissolution dans un peu d'eau suivie d'addition de plusieurs volumes d'alcool, la substance se sépare en petits polyèdres fondant à 223°. Sa solubilité dans l'eau est notablement plus grande que celle de l'oxymytilite.

3,950 mgr. subst. ont donné 5,760 mgr. CO_2 et 2,470 mgr. H_2O

$C_7H_{14}O_7$ Calculé C 40,00 H 6,71%

Trouvé „ 39,79 „ 7,00%

Traitée par l'anhydride acétique à l'ébullition, en l'absence de catalyseur, l'oxy-isomytilite se transforme par acétylation partielle en son hexa-acétate XIII:

Une partie de cyclite est chauffée 1 heure ½ à l'ébullition à reflux avec 50 parties d'anhydride acétique. On évapore à sec, dans le vide, sur la chaux sodée. Le résidu lavé soigneusement à l'eau est recristallisé plusieurs fois dans l'alcool. Il fond à 183°; il en est de même de son mélange avec l'hexa-acétate d'oxy-isomytilite obtenu précédemment.

Hepta-acétate. Il s'obtient à partir de l'oxy-isomytilite ou de son hexa-acétate par une ébullition de 3 minutes avec 5—10 parties d'anhydride acétique en présence de chlorure de zinc. Par recristallisation dans l'alcool, longues et fines aiguilles fondant à 191—192°.

4,020 mgr. subst. ont donné 7,380 mgr. CO_2 et 2,010 mgr. H_2O

$C_{21}H_{28}O_{14}$ Calculé C 50,00 H 5,60%

Trouvé „ 50,10 „ 5,60%

Oxydations par l'acide periodique.

Ces oxydations ont été effectuées de la manière suivante[1]):

a) On introduit 1 cm³ de solution aqueuse de cyclite dans un petit erlenmeyer contenant un mélange de 5 cm³ de solution de periodate de potassium (voir les concentrations dans le tableau) et de 1 cm³ d'acide sulfurique normal. Au bout d'un temps donné, on ajoute rapidement 0,5 cm³ de soude caustique normale, 2,5 cm³ d'acétate de sodium cristallisé à 20%, un peu d'iodure de potassium solide et on titre, par $Na_2S_2O_3$ 0,01-n, l'iode libéré en ajoutant vers la fin un peu de solution d'amidon.

b) Dans un essai témoin, on remplace la solution de cyclite par 1 cm³ d'eau. On défalque la quantité de thiosulfate 0,01-n consommée de celle obtenue dans l'essai a).

On voit que la méso-inosite, l'isomytilite et l'oxy-isomytilite sont oxydées plus rapidement que resp. la scyllite, la mytilite et l'oxymytilite.

La méso-inosite, la scyllite, la mytilite et l'isomytilite consomment au total 6 mol. d'acide periodique; l'oxy-mytilite et l'oxy-isomytilite en consomment par contre 7 mol.

Penta-acétyl-monotosyl-oxy-isomytilite (XIV).

On prépare une solution chloroformique d'acide p-toluène-sulfonique anhydre contenant 93 mgr. par cm³. 2 cm³ de cette solution sont additionnés de 200 mgr. d'oxyde de méthylène-penta-acétoxy-cyclohexane (XI). On abandonne 68 heures à température ordinaire en récipient bouché. On extrait ensuite à l'eau pour éliminer l'acide qui n'a pas réagi (titré par NaOH 0,1-n 107 mgr.; consommé donc en tout 79 mgr., soit 0,92 mol). La solution chloroformique séchée sur du sulfate de sodium anhydre est évaporée à sec; le résidu cristallise en grande partie sous l'alcool. Par recristallisation dans l'alcool absolu, on obtient des tablettes allongées fondant avec noircissement à 187—188° (chauffe rapide). Le produit contient de l'alcool de cristallisation qui part à 100°; son point de fusion varie considérablement avec la vitesse de chauffe.

6,730; 4,200 mgr. subst. ont donné 2,790; 1,650 mgr. $BaSO_4$

$C_{24}H_{30}O_{14}S$ Calculé S 5,58 Trouvé S 5,69; 5,40%

[1]) Comp. *Rappaport, Reifer* et *Weinmann*, Mikrochim. Acta **1937**, I, 290; *Shoppee* et *Reichstein*, Helv. **25**, 1622 (1942).

Substance	Concentrations en mgr. par cm³		Température	Durée d'oxydation en min.	KIO_4 consommé	
	Solution KIO_4	Solution cyclite			en cm³ $Na_2S_2O_3$ 0,01-n	en mol.
Scyllite	4	1,03	22°	17	0,80	0,7
Scyllite	4	1,03	22°	30	1,05	0,9
Scyllite	4	1,03	22°	50	1,70	1,5
Scyllite	4	1,03	22°	80	2,40	2,1
Scyllite	4	1,03	36—37°	120	6,95	6,1
Ms-inosite	4	1,03	22°	17	1,60	1,4
Ms-inosite	4	1,03	22°	30	2,10	1,8
Ms-inosite	4	1,03	22°	50	2,70	2,4
Ms-inosite	4	1,03	22°	80	4,00	3,5
Ms-inosite	4	1,03	36—37°	120	6,85	6,0
Mytilite	4	1,11	22°	20	0,65	0,6
Mytilite	4	1,11	22°	40	1,30	1,1
Mytilite	4	1,11	22°	85	2,20	1,9
Mytilite	4	1,11	36—37°	145	6,65	5,9
Mytilite	4	1,11	36—37°	330	7,00	6,1
Isomytilite . . .	4	1,11	22°	20	2,60	2,3
Isomytilite . . .	4	1,11	22°	40	4,00	3,5
Isomytilite . . .	4	1,11	22°	85	5,50	4,9
Isomytilite . . .	4	1,11	36—37°	145	6,55	5,8
Isomytilite . . .	4	1,11	36—37°	330	6,80	6,0
Oxymytilite . . .	2	0,570	15°	5	0,60	1,1
Oxymytilite . . .	2	0,570	15°	10	1,00	1,8
Oxymytilite . . .	2	0,570	15°	15	1,35	2,5
Oxymytilite . . .	2	0,570	13—15°	1140	3,90	7,2
Oxy-isomytilite .	2	0,564	15°	5	1,40	2,6
Oxy-isomytilite .	2	0,564	15°	10	2,05	3,8
Oxy-isomytilite .	2	0,564	15°	15	2,50	4,7
Oxy-isomytilite .	2	0,564	13—15°	1580	3,65	6,8

Le produit n'est pas transformé par un traitement de 14 heures à température ordinaire au moyen d'un mélange à volumes égaux de pyridine anhydre et d'anhydride acétique.

Traitement par l'acétate de potassium. 40 mgr. de dérivé tosylé sont traités 20 minutes à l'ébullition à reflux par 0,4 cm³ d'acide acétique glacial et 100 mgr. d'acétate de potassium fraîchement fondu. On dilue ensuite de quelques volumes d'eau. Il se dépose lentement 13 mgr. d'hexa-acétate d'oxy-isomytilite (XIII) qui fondent, après recristallisation dans l'alcool, à 183—185° (identité établie par le point de fusion de mélange). La solution-mère acétique qui contient des produits partiellement désacétylés est évaporée à sec. Le résidu soigneusement desséché est réacétylé par une ébullition de 5 minutes en présence de 1 cm³ d'anhydride acétique et d'un peu de chlorure de zinc. On jette ensuite dans l'eau. Il précipite encore 13 mgr. d'hexa-acétate d'oxy-isomytilite fondant, après recristallisation dans l'alcool, à 184°.

Penta-acétyl-bromo-isomytilite (X).

70 mgr. de composé oxydique XI sont dissous à chaud dans 0,2 cm³ d'acide acétique glacial. On refroidit brusquement et introduit sans tarder 0,4 cm³ d'une solution saturée de gaz bromhydrique dans l'acide acétique glacial. On abandonne 14 heures en récipient bouché. Une partie du composé bromé se sépare en beaux cristaux. On verse le tout dans l'eau. Le produit précipité (75 mgr.) est recristallisé dans 30 parties d'alcool absolu ou, mieux encore, dans un mélange de chloroforme et d'éther de pétrole. P. de f. 219—220°. Le produit résiste à l'oxydation chromique ménagée.

3,520 mgr. subst. ont donné 5,500 mgr. CO_2 et 1,440 mgr. H_2O

$C_{17}H_{23}O_{11}Br$ Calculé C 42,25 H 4,80%
Trouvé „ 42,63 „ 4,58%

Traité par l'anhydride acétique en présence de 0,05 vol. SO_4H_2 concentré, le produit se transforme en un dérivé peracétylé (dans l'alcool: longues aiguilles) fondant à 191°.

Traitement par l'acétate de potassium. 60 mgr. de dérivé bromé sont traités 40 minutes à l'ébullition à reflux par un mélange de 0,5 cm³ d'acide acétique glacial et de 100 mgr. d'acétate de potassium fraîchement fondu. Le produit de réaction isolé comme plus haut (voir penta-acétyl-monotosyl-oxy-isomytilite) consiste en hexa-acétate d'oxy-isomytilite XIII qui a été identifié par le point de fusion du mélange.

Penta-acétyl-iodo-isomytilite (XVII).

0,144 gr. de penta-acétyl-monotosyl-oxy-isomytilite (XIV) sont chauffés, dans un petit tube scellé, 12 heures à 110° en présence de 100 mgr. d'iodure de sodium anhydre et de 0,9 cm³ d'acétone sèche. Après refroidissement, le contenu du tube, dans lequel il s'est produit une abondante cristallisation de p-toluène-sulfonate de sodium, est versé dans l'eau. Il précipite rapidement une substance cristalline qu'on essore et sèche (0,120 gr.; point de fusion après recristallisation dans un mélange de chloroforme et d'éther de pétrole 227—231°).

4,650 mgr. subst. ont donné 2,090 mgr. AgI

$C_{17}H_{23}O_{11}I$ Calculé I 23,93%
Trouvé „ 24,30%

Lausanne, Laboratoire de Chimie organique de l'Université.

---

54. Recherches sur la spécificité d'action de la méso-inosite, facteur de croissance de microorganismes

par **W. H. Schopfer.**

(11 II 44)

La méso-inosite fut le premier facteur de croissance vitaminique pour la levure identifié chimiquement[1]). Elle agit favorablement sur la croissance de divers microorganismes, mais toujours en présence d'autres vitamines dont elle amplifie l'action. Chez la levure (certaines races de *Saccharomyces cerevisiae*) elle agit avec l'aneurine, la biotine, l'adermine, l'acide pantothénique et parfois d'autres facteurs. Avec la biotine (vitamine H), elle fait partie de la constellation de facteurs

[1]) *E. V. Eastcott*, J. Phys. Chem. **32**, 1094 (1928).

requise par *Ashbya gossypii*[1]). Jointe à la biotine, l'aneurine et l'adermine, elle permet, dans des conditions données, le développement maximum de *Trichophyton album*[2]).

La méso-inosite n'est pas absolument indispensable au développement des microorganismes sur lesquels elle agit. Elle exerce un effet favorisant, découlant d'un synergisme d'action avec d'autres vitamines plus importantes. Nous la considérons comme un facteur vitaminique complémentaire.

En physiologie animale, on attribue à la méso-inosite la qualité de facteur antialopécique[3]).

Nous avons trouvé un microorganisme[4]), *Rhizopus suinus* Nielsen (= R. Cohnii Berl. et de Toni), complètement autotrophe pour la biotine et l'aneurine et synthétisant également la méso-inosite, mais probablement en quantité insuffisante: une adjonction de cette substance au milieu de culture détermine une accélération passagère de la croissance dont la durée est inversément proportionnelle à la température. Dans la suite, les cultures contrôles rejoignent celles avec méso-inosite[5]). Dans l'état actuel de nos connaissances, *R. suinus* est l'un des rares microorganismes réagissant à la présence de la méso-inosite seule.

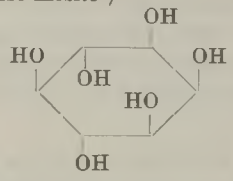
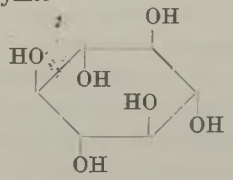
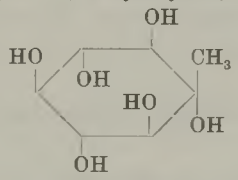
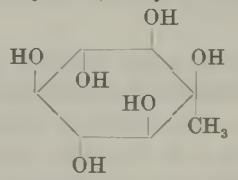
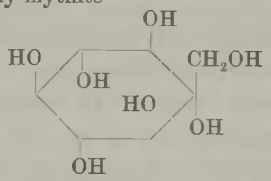
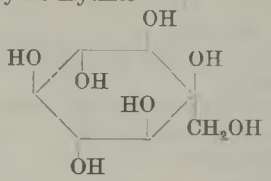
Dans ce cas, la méso-inosite doit être définie comme un facteur complémentaire temporaire.

Au cours de la période pendant laquelle la substance agit, nous observons des augmentations de poids sec des cultures variant de 30 à 70 % par rapport aux contrôles.

La spécificité d'action de la méso-inosite a été étudiée à l'aide de la levure. La *l*-inosite, la scyllite (stéréoisomère de la méso-inosite), la québrachite et la quercite sont inactifs[6]). Ces résultats concordent avec ceux de *Woolley*[7]). Ce dernier attribue à la mytilite une faible activité (10 % de celle de la méso-inosite). *Kögl* et *van Hasselt* notent de plus l'inactivité de divers alcools polyatomiques aliphatiques: *l*-arabite, adonite, dulcite, *d*-sorbite, *d*-mannite et confirment l'inactivité de la scyllite et de la *l*-inosite[8]). On voit donc que la méso-inosite seule est apte à fonctionner comme facteur de croissance.

A l'aide de nouvelles substances préparées par le Dr. *Th. Posternak*, nous avons cherché à préciser la spécificité d'action de la méso-inosite sur *Rhizopus suinus*. Nous avons déjà montré que la *l*-inosite,

[1]) *F. Kögl* und *N. Fries*, Z. physiol. Ch. **249**, 93 (1937).
[2]) *W. H. Schopfer* und *S. Blumer*, Ber. schweiz. bot. Ges. **53**, 429 (1943).
[3]) *D. W. Woolley*, J. Biol. Chem. **139**, 29 (1941).
[4]) *W. H. Schopfer*, C. r. Soc. physique hist. nat. Genève **59**, 101 (1942).
[5]) *W. H. Schopfer*, Actes Soc. helv. Sc. nat., Sion, 1942, p. 122.
[6]) *W. Lash Miller*, J. chem. Education, **7**, 257 (1930).
[7]) *D. W. Woolley*, J. Biol. Chem. **140**, 461 (1941).
[8]) *F. Kögl* und *W. van Hasselt*, Z. physiol. Ch. **272**, 74 (1936).

Substance	Dose	Détermination après	Augmentation du poids sec
1) Méso-inosite[1]) 	200 γ	4 jours	+ **67,21** %
2) Scyllite 	100 γ 1000 γ	3 jours 3 jours	+ 9 % − 7,1 %
3) Mytilite (méthyl-scyllite) 	300 γ	4 jours	+ 7,87 %
4) Iso-mytilite (méthyl-ms-inosite) 	300 γ	4 jours	+ **10,16** %
5) Oxy-mytilite 	100 γ	4 jours	− 1,72 %
6) Oxy-iso-mytilite 	100 γ	4 jours	+ 1,32 %

[1]) *Th. Posternak*, Helv. **25**, 746 (1942); **27**, 457 (1944).

la scyllite, la mytilite, l'hexaphosphate d'inosite, l'inosose préparé par voie chimique[1]) (épi-ms-inosose[2])), ainsi que l'inosose préparé par voie biochimique[2]) (scyllo-ms-inosose[3])) sont inactifs. Les substances qui nous permettent d'apporter de nouvelles précisions, et dont l'action n'a pas encore été étudiée chez les microorganismes sont: l'iso-mytilite, l'oxy-mytilite, l'oxy-iso-mytilite.

Le milieu de culture a la composition suivante: par litre d'eau distillée, 30 gr. glucose puriss., 1 gr. asparagine, 0,5 gr. sulfate de magnésium, 1,5 gr. phosphate acide de potassium. Le milieu est réparti en erlenmeyers de 150 cm³, contenant 25 cm³ de milieu et stérilisé à 115° pendant 15 minutes. Les facteurs dont nous étudions l'action sont stérilisés à part et ajoutés aux cultures à froid.

Pour la méso-inosite agissant sur *R. suinus* la dose optimale se trouve vers 100 γ pour 25 cm³ de milieu. La dose de 200 γ détermine un poids sec de thalle ne dépassant que faiblement celui obtenu avec 100 γ.

Les résultats sont les suivants (voir tableau p. 470).

De l'examen de ces résultats, on peut conclure que pour *Rhizopus suinus*, dans l'état actuel de nos connaissances et dans les conditions de nos expériences, aucune des substances ne peut remplacer la méso-inosite, aux concentrations de 100 à 300 γ. *L'activité auxogène, vitaminique, semble liée à la présence de trois hydroxyles en cis.* Il est intéressant de relever que, lors de la formation de l'inosose par voie biochimique, la bactérie *(Acetobacter suboxydans)* agissant sur la méso-inosite s'attaque également au centre d'un groupe de trois hydroxyles en cis[3]).

La seule substance présentant une très faible activité, pouvant être prise en considération (plus de + 10 %) est l'iso-mytilite. Cette dernière possède comme la méso-inosite les trois hydroxyles en cis, mais son action est presque complètement annulée par la présence d'un groupe CH_3 en position 1. La présence d'un groupe CH_2OH chez l'oxy-iso-mytilite annule l'activité de la substance aux concentrations utilisées.

La spécificité d'action de la méso-inosite, facteur de croissance pour *Rhizopus suinus*, est donc très marquée.

Nous sommes redevables de la méso-inosite aux Etablissements *F. Hoffmann-La Roche & Cie., S.A.*, et des autres substances au Dr. *Posternak*. Nous les en remercions, ainsi que Mlle *Gouilloud*, pour sa collaboration.

Berne, Institut botanique de l'Université.

[1]) *Th. Posternak*, Helv. **19**, 1333 (1936).

[2]) *A. J. Kluyver* and *A. G. J. Boezaardt*, R. **58**, 956 (1939). Voir aussi *Th. Posternak*, Helv. **24**, 1045 (1941).

[3]) *Th. Posternak*, Helv. **25**, 746 (1942).

55. Zur Kenntnis der Triterpene.

(87. Mitteilung [1]).

Über verschiedene Umwandlungsprodukte des Lanosterins

von **L. Ruzicka, Ed. Rey** und **A. C. Muhr** [2]).

(11. II. 44.)

In früheren Mitteilungen dieser Reihe haben wir[3]) über Umwandlungsprodukte der zweifach ungesättigten tetracyclischen Elemiharzsäuren $C_{30}H_{48}O_3$ berichtet und dabei verschiedentlich auf experimentelles Material hingewiesen, wonach sich eine auffallende Parallele im chemischen Verhalten dieser Triterpensäuren einerseits, und der gleichfalls doppelt ungesättigten tetracyclischen Triterpenalkohole $C_{30}H_{50}O$ Lanosterin[4]) und Kryptosterin[5]) anderseits ergibt. Zur genaueren Verfolgung dieser Zusammenhänge hatten wir die Bearbeitung der beiden Alkohole aufgenommen. Ferner haben vor kurzer Zeit *Wieland* und *Benend*[6]), sowie *Wieland* und *Joost*[7]) die Resultate ihrer Arbeiten über Lanosterin und Kryptosterin veröffentlicht, die teilweise von den von uns erhaltenen Ergebnissen abweichen, so dass wir zu einer vergleichenden Erörterung des bearbeiteten Gebietes veranlasst sind.

Die Reindarstellung des Lanosterins aus dem Wollfett der Schafe bietet grosse Hindernisse, obwohl die in der Literatur enthaltenden Arbeitsvorschriften[8]) diese Operation — allerdings in Unkenntnis der wirklich vorliegenden, weiter unten geschilderten Schwierigkeiten — als eine relativ einfache Aufgabe hinstellen. Für unsere Versuche stellten wir uns einen Acetonextrakt aus dem Unverseifbaren des Wollfettes her. Die darin enthaltenen Fettalkohole lassen sich mit Hilfe der chromatographischen Trennungsmethode vollständiger entfernen als durch Auskochen mit Benzin[9]), wonach das auf diese Weise vorgereinigte Alkoholgemisch durch oftmaliges Auskochen mit Methanol leicht von Cholesterin befreit werden kann[10]). Unsere zahlreichen

---

[1]) 86. Mitt. Helv. **27**, 183 (1944).

[2]) Vgl. *A. C. Muhr*, Über die triterpenartigen Bestandteile des Wollfettes, Diss. E.T.H. Zürich 1944.

[3]) 65. Mitt. Helv. **25**, 439 (1942); 68. Mitt. Helv. **25**, 1375 (1942); 69. Mitt. Helv. **25**, 1403 (1942); 79. Mitt. Helv. **26**, 1638 (1943); 80. Mitt. Helv. **26**, 1659 (1943).

[4]) *Windaus* und *Tschesche*, Z. physiol. Ch. **191**, 55 (1930).

[5]) *Wieland, Pasedach* und *Ballauf*, A. **529**, 68 (1937).

[6]) Z. physiol. Ch. **274**, 215 (1942). [7]) A. **546**, 103 (1941).

[8]) *Lifschütz* und *Vietmeyer*, Z. physiol. Ch. **155**, 243 (1926); *Windaus* und *Tschesche*, l. c.; *Dorée* und *Garratt*, J. Soc. Chem. Ind. **52**, 141 T, 355 T (1933).

[9]) *Lifschütz* und *Vietmeyer*, Z. physiol. Ch. **155**, 241 (1926).

[10]) Eine genaue Arbeitsvorschrift findet man in der Diss. *Muhr*, E.T.H. Zürich 1944.

Versuche, die chromatographische Methode auch zur Trennung des so als schwerlöslicher Anteil gewonnenen „Isocholesterins“[1]) (Smp. 136—139°) heranzuziehen, schlugen fehl, so dass wieder zu der alten *Windaus*'schen Methode der fraktionierten Krystallisation des acetylierten Gemisches Zuflucht genommen werden musste. Im Gegensatz zu *Windaus* und *Tschesche*[2]), die ausser Lanosterin (angeblich 92%) und Agnosterin (angeblich 8%) keine weiteren Verbindungen im „Isocholesterin“ aufgefunden haben, konnten wir daraus über die Acetate noch zwei weitere Triterpenalkohole isolieren. In den leichtlöslichen Fraktionen sammelt sich das Lanosteryl-acetat an. Der Schmelzpunkt und die spez. Drehung stimmten mit denjenigen der Literatur vollkommen überein. Aus einer Fraktion von mittlerer Löslichkeit erhielt man nach mehrtägigem Stehen sechseckige Prismen, die sich eindeutig mit dem erstmalig durch katalytische Hydrierung von Lanosteryl-acetat gewonnenen Dihydro-lanosteryl-acetat[3]) als identisch erwiesen. Nach fortgesetztem Umkrystallisieren der schwerlöslichen Anteile, verbunden mit chromatographischer Trennung, waren zwei weitere Acetate erhältlich, die sich nach Schmelzpunkt, spez. Drehung und Absorptionsspektrum mit Agnosteryl-acetat und γ-Lanosteryl-acetat[4]) als identisch erwiesen. Die Mutterlaugen der leichtlöslichen Anteile enthielten noch grössere Mengen eines unter 110° schmelzenden Gemisches, auf dessen Verarbeitung vorläufig verzichtet wurde. Es steht daher nicht fest, ob neben den vier bis jetzt isolierten Verbindungen noch weitere triterpen- oder vielleicht steroidartige Bestandteile im Wollfett der Schafe enthalten sind.

Über den mengenmässigen Anteil der einzelnen Komponenten lassen sich keine genaueren Angaben machen, da die Fraktionen von mittlerer Löslichkeit von uns nur teilweise zerlegt wurden. Lanosterin und Dihydro-lanosterin machen zusammen ungefähr 50% des „Isocholesterins“ aus. Annähernd 20% entfallen auf das γ-Lanosterin, während Agnosterin mengenmässig zurücktritt. Der Anteil an Dihydro-lanosterin ist sehr schwer abzuschätzen, was aus folgendem hervorgehen mag. Bei weiterer Aufteilung der mittleren Fraktionen der Acetate gelangten wir zu Krystallisaten, deren Schmelzpunkt, spez. Drehung und Habitus dem Lanosteryl-acetat vollständig glichen. Erst mit Hilfe der Mikroanalysen liess sich erkennen, dass einzelne dieser Fraktionen wasserstoffreicher und kohlenstoffärmer sind. Die gleichen Erscheinungen traten übrigens auch beim Versuch auf, Agnosterin von γ-Lanosterin bzw. ihre Acetate

[1]) *Schulze*, B. **5**, 1775 (1872); **6**, 252 (1873).

[2]) Z. physiol. Ch. **191**, 55 (1930).

[3]) *Windaus* und *Tschesche*, Z. physiol. Ch. **191**, 55 (1930).

[4]) Das γ-Lanosterin war bisher noch nicht als Naturprodukt bekannt, sondern wurde von *Lionel*, *Bellamy* und *Dorée*, Soc. **1941**, 178, durch Oxydation von Dihydro-lanosteryl-acetat mit Selendioxyd gewonnen.

voneinander zu trennen. Ausserdem wird die Arbeit dadurch erschwert, dass bei Verbindungen der Lanosterin- und Agnosterin-Reihe von ähnlichem Schmelzpunkt[1]) Schmelzpunktserniedrigungen nicht auftreten[2]). Über die sich in den Bruttoformeln um zwei H-Atome unterscheidenden, aber in den physikalischen Daten weitgehend übereinstimmenden Derivate gibt Tabelle 1 Auskunft. Zur Beurteilung des ungefähren Reinheitsgrades der Präparate von Lanosterin und Dihydro-lanosterin, Agnosterin und γ-Lanosterin sowie von deren Acetaten wurde im Laufe dieser Arbeit[3]) die Mikroanalyse herangezogen[4]).

Tabelle 1.

Substanz	Smp.	$[\alpha]_D$
Lanosterin $C_{30}H_{50}O$	140,5—141,5°	+58,2°
Dihydro-lanosterin $C_{30}H_{52}O$ . . .	144,5—145,5°	+60,9°
Lanosteryl-acetat	113,5—114,5°	+55,2°
Dihydro-lanosteryl-acetat	119,5—121°	+60,3°
Lanostenon	115,5—116,5°[5])	+71,9°
Dihydro-lanostenon	117 —118°	+70,2°
Agnosterin $C_{30}H_{48}O$	163,5—164,5°	+76,9°
γ-Lanosterin $C_{30}H_{50}O$.	156 —157°	+70,6°
Agnosteryl-acetat	174 —176°	+88,3°
γ-Lanosteryl-acetat.	167,5—168,5°	+88,4°

Das unseren Untersuchungen zugrunde liegende Ausgangsmaterial war zwar „analysenrein". Da sich aber die C- und H-Werte der beiden Bruttoformeln[6]) nur um annähernd 0,4 % voneinander unterscheiden,

[1]) Vgl. die in Tabelle 1 getrennt angeführten 5 Paare.

[2]) Das Ausbleiben von Schmelzpunktserniedrigungen scheint bei den Wollfett-„Sterinen" auf die Derivate der Lanosterin- und Agnosterin-Reihe beschränkt zu sein. Im Gemisch mit Cholesterin-acetat (Smp. 113—114°) geben sowohl Lanosteryl-acetat wie auch Dihydro-lanosteryl-acetat deutliche Schmelzpunktserniedrigungen.

[3]) Man wird wohl bei künftigen Aufarbeitungen die Sauerstoffzahl (mit Persäure) und die Wasserstoffzahl (Mikrohydrierung) benützen.

[4]) *Dorée* und *Garratt* (l. c.) verwendeten für ihre Untersuchungen ein Lanosterin, das sie durch Umkrystallisieren aus Aceton und Methanol der schwerstlöslichen Fraktion aus dem Unverseifbaren des Wollfettes gewonnen hatten. Schmelzpunkt und spez. Drehung stimmten mit den Literaturangaben überein. Eine einzige angegebene Analyse zeigte einen um 0,53% zu tiefen C-Wert. *Windaus* und *Tschesche* (l. c.) geben einen um 0,6% zu tiefen C-Wert an, während ihr Acetat gut stimmt. Es ist daher möglich, dass diese Lanosterin-Präparate Alkoholgemische darstellten. *Dorée* und *Garratt* erwähnten auch bei ihren Untersuchungen wiederholt „Isomere" des Lanosterins gefunden zu haben.

[5]) *Dorée*, J. Soc. Chem. Ind. **52**, 355 T (1933).

[6])

Lanosteryl-acetat	$C_{32}H_{52}O_2$	Ber.	C	81,99	H	11,18%
Dihydro-lanosteryl-acetat	$C_{32}H_{54}O_2$	„	„	81,64	„	11,56%
	Unterschied		C	−0,35	H	+0,38%
Lanosterin	$C_{30}H_{50}O$	Ber.	C	84,44	H	11,81%
Dihydro-lanosterin	$C_{32}H_{52}O$	„	„	84,04	„	12,23%
	Unterschied		C	−0,40	H	+0,42%

bleibt der wirkliche Reinheitsgrad der einzelnen Präparate ungewiss. Bei unseren vorläufigen Untersuchungen konnte dieser Umstand zu keinen Missverständnissen führen, da wir grösstenteils mit Dihydrolanosterin arbeiteten, das in reinem Zustande leicht zugänglich ist durch Hydrierung und nachheriges Umkrystallisieren von „Isocholesterin-acetat“[1]).

Lanosterin wurde übrigens als Ausgangsmaterial nur verwendet für den Nachweis der Lage der leicht hydrierbaren Doppelbindung, wobei die Anwesenheit des Dihydro-Derivates nicht stört.

Vorerst wiederholten wir die Dehydrierung einer grösseren Menge „Isocholesterin“[2]) mit Selen bei 350°. Als Hauptprodukt entstand das dabei schon von *Schulze*[3]) isolierte 1,7,8-Trimethyl-phenanthren. In den Mutterlaugen scheint ausserdem ein Homologes vorzukommen, dessen Reindarstellung aber noch nicht gelang. Ein weiteres Dehydrierungsprodukt liess sich bis zum konstanten Schmelzpunkt von 237,5–238,5° reinigen. Die Analysenwerte stimmen am besten auf die Bruttoformel $C_{22}H_{20}$. Mit dem aus Chinovasäure gewonnenen Kohlenwasserstoff C_nH_n[4]) vom Smp. 239° trat eine Schmelzpunktserniedrigung auf. Das Absorptionsspektrum im U.V. (vgl. Fig. A, Kurve 1) deutet auf das Vorliegen eines Chrysen-Homologen hin. Zum Vergleich bringen wir in der Fig. A, Kurve 2, die Absorptionskurve vom synthetischen 1,2,7,8-Tetramethyl-chrysen $C_{22}H_{20}$[4]).

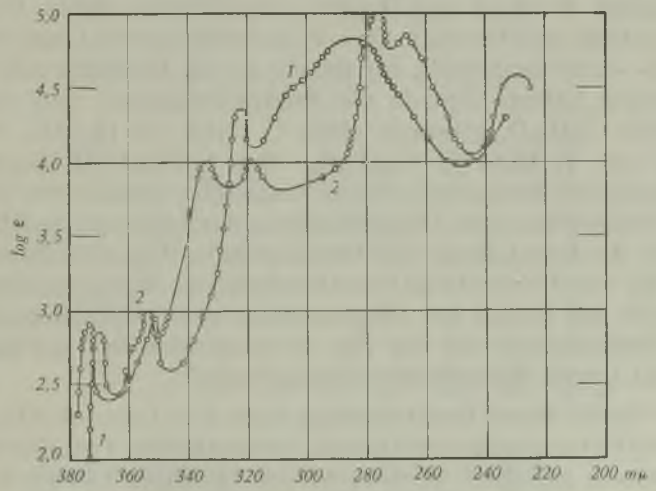


Fig. A.

Kurve 1: Kohlenwasserstoff $C_{20}H_{22}$ (?) (Smp. 237,5—238,5°)
Kurve 2: 1,2,7,8-Tetramethyl-chrysen

[1]) Nach einer Beobachtung von *Marker* und *Coll*, Am. Soc. **59**, 1368 (1937).
[2]) Wir verwendeten eine Fraktion vom Smp. 117—120°.
[3]) *Schulze*, Z. physiol. Ch. **238**, 35 (1936).
[4]) *Ruzicka, Grob* und *Anner*, Helv. **26**, 254 (1943).

In der Folge untersuchten wir die Einwirkung von 1 Mol Ozon auf die leicht hydrierbare Doppelbindung des Lanosterins[1]). Bei der Spaltung des Rohozonides aus Lanosteryl-acetat wurde in 35-proz. Ausbeute Aceton gebildet, das als p-Nitrophenylhydrazon identifiziert wurde. Aus den schwerflüchtigen Spaltprodukten liess sich nach Veresterung mit Diazomethan ein einfach ungesättigter Methylester $C_{30}H_{48}O_4$ vom Smp. 168—170° gewinnen, der unter Verlust der als Aceton abgespaltenen drei Kohlenstoffatome entstanden ist und als Acetyl-tris-nor-lanosterinsäure-methylester bezeichnet werden soll. Bei der Verseifung entstand die Tris-nor-lanosterinsäure $C_{27}H_{44}O_3$ vom Smp. 257,5—259,5°, welche durch Einwirkung von Diazomethan in den Methylester vom Smp. 152,5—154,5° übergeführt wurde. Das Absorptionsspektrum der Säure (vgl. Fig. B, Kurve 5) weist eine wenig typische Endabsorption bei 220 mμ (log ε = 3,5) auf, wonach das Vorliegen einer α,β-ungesättigten Carboxyl-Gruppierung ausgeschlossen ist.

Zur Zeit, da diese Ozonisationsversuche eben zum Abschluss gekommen waren, gelangte die eingangs erwähnte Publikation von *Wieland* und *Benend* zu unserer Kenntnis, worin die Bildung von Aceton bei der Ozonisierung von Lanosterin und dem mit diesem verwandten Kryptosterin beschrieben ist. Die schwerflüchtigen Spaltungsprodukte wurden von diesen Forschern allerdings nicht untersucht. Dagegen hatten *Wieland* und *Joost*[2]) schon früher durch Umsetzung von Lanosterin mit Osmiumsäure-Wasserstoffperoxyd eine Säure des Smp. 255—256° hergestellt, für welche sie die Bruttoformel $C_{25}H_{40}O_3$ angenommen hatten, obwohl die Analysenresultate weit besser auf die Formel $C_{27}H_{44}O_3$ stimmen (Gef. C 77,82 H 10,70%. $C_{27}H_{44}O_3$ Ber. C 77,83 H 10,61%. $C_{25}H_{40}O_3$ Ber. C 77,24 H 10,41%). Der nicht analysierte Methylester dieses Präparates schmolz bei 154—155°. Da die Ozonisation einer Doppelbindung zum gleichen Spaltprodukte führt wie die Behandlung mit Osmiumsäure-Wasserstoffperoxyd, so dürften die von *Wieland* und *Joost* beschriebene Säure und ihr Methylester, auch auf Grund der übereinstimmenden Schmelzpunkte, mit grosser Bestimmtheit mit der von uns bereiteten Tris-nor-lanosterinsäure und ihrem Methylester identisch sein[3]).

Auf Grund dieser Reaktionsfolge kann für Lanosterin die Anwesenheit einer ungesättigten Seitenkette von mindestens 4 C-Atomen gefolgert werden, welche in einer Isopropyliden-

[1]) *Dorée* und *Garratt*, J. Soc. Chem. Ind. **52**, 355 T (1933) hatten Ozon auf Lanosterin einwirken lassen und dabei die Bildung eines Monoozonides beobachtet. Spaltstücke konnten nicht isoliert werden.

[2]) A. **546**, 103 (1941).

[3]) Die Identität der aus Kryptosterin von *Wieland* und *Joost* (l. c.) auf analogem Wege gewonnenen Verbindungen (Säure Smp. 260—261°; Methylester Smp. 154—155°) mit den oben erwähnten Lanosterin-Derivaten ist in Betracht zu ziehen.

Gruppe endigt. Dieser Isopropyliden-Gruppe entspricht die leicht hydrierbare Doppelbindung des Lanosterins[1]).

Um nun auch in das Wesen der bisher nicht hydrierbaren Doppelbindung des Lanosterins einigen Einblick zu erhalten, untersuchten wir die Einwirkung von Chromsäure und Ozon auf Dihydro-lanosteryl-acetat. Die Oxydation mit Chromsäure in Eisessig-Lösung bei 40° führte zu einer bei 151,5—152,5° schmelzenden Verbindung $C_{32}H_{52}O_3$, welche durch das Absorptionsspektrum im U.V. ($\lambda_{max} = 255\ m\mu$, $\log \varepsilon = 4{,}08$; vgl. Fig. B, Kurve 1) eindeutig als α,β-ungesättigtes Keton gekennzeichnet wurde. Es ist danach mit Chromsäure eine der reaktionsträgen Doppelbindung benachbarte Methylengruppe zur Ketogruppe oxydiert worden. Hierbei bleibt allerdings die Frage offen, ob diese Doppelbindung im Oxydationsprodukt dieselbe Lage einnimmt, die sie im Ausgangsmaterial inne hatte, oder ob sie unter dem Einfluss des sauren Oxydationsmittels gewandert ist[2]). Die Absorptionsbande des Keto-acetates $C_{32}H_{52}O_3$ ist stark nach den langen Wellen verschoben, so dass man auf Grund der Regel von *Woodward*[3]) annehmen kann, dass die Doppelbindung wahrscheinlich zwischen zwei Kohlenstoffatomen liegt, die keinen Wasserstoff mehr tragen.

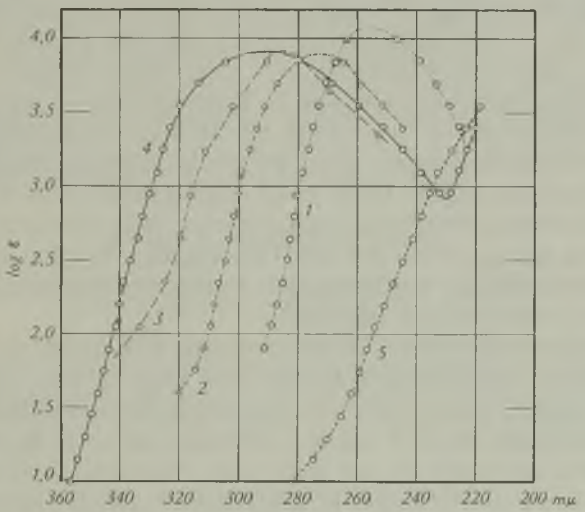


Fig. B.

Kurve 1: Keto-dihydro-lanosteryl-acetat $C_{32}H_{52}O_3$
Kurve 2: Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat $C_{32}H_{50}O_4$
Kurve 3: Triketo-dihydro-lanosteryl-acetat $C_{32}H_{48}O_5$
Kurve 4: Oxymethylen-Verbindung von Dihydro-lanostenon
Kurve 5: Tris-nor-lanosterinsäure $C_{27}H_{44}O_3$

[1]) Damit übereinstimmend haben *Bellamy* und *Doree* (l.c.) gefunden, dass bei der Hydrolyse des Lanosterinoxyds eine sekundäre und eine tertiäre Hydroxylgruppe entstehen.

[2]) Vgl. die von *Ruzicka, Rey, Spillmann* und *Baumgartner*, Helv. **26**, 1638 (1943), erwähnte Wanderung der inaktiven Doppelbindung in den Elemolsäuren bei Oxydations-Operationen.

[3]) Am. Soc. **63**, 1123 (1941).

Als zweites Oxydationsprodukt bei der Einwirkung von Chromsäure auf Lanosteryl-acetat erhielten wir eine in gelben Blättchen krystallisierende Verbindung der Zusammensetzung $C_{32}H_{50}O_4$. Aus der Bruttoformel und dem Absorptionsspektrum im U.V. (λ_{max} = ungefähr 275 mμ, log ε = 3,94; vgl. Fig. B, Kurve 2) lässt sich folgern, dass ein 1,4-Diketon mit einer Doppelbindung zwischen den Ketogruppen vorliegt[1]). Man sieht nun aus der Bildung dieses Diketo-dihydro-lanosteryl-acetates, dass die reaktionsträge Doppelbindung von mindestens 2 Methylengruppen umgeben ist, oder dass sie während der Oxydation in eine solche Lage wandert. Bei der Verseifung entstand das Diketo-dihydro-lanosterin, woraus durch Oxydation der sekundären Hydroxylgruppe mit Chromsäure ein Triketon $C_{30}H_{46}O_3$ gebildet wurde. Dem U.V.-Absorptionsspektrum nach (λ_{max} = ungefähr 275 mμ, log ε = 4,02) muss sich die zuletzt entstandene Ketogruppe, und somit auch das Hydroxyl des Lanosterins, in isolierter Stellung befinden.

Bei einem unter etwas energischeren Bedingungen vorgenommenem Oxydationsversuch liess sich neben grösseren Mengen Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat in geringer Ausbeute eine dunkelgelbe Verbindung der Bruttoformel $C_{32}H_{48}O_5$ isolieren. Analysenresultate und Spektrum (λ_{max} = 285 mμ; log ε = 3,95; vgl. Fig. B, Kurve 3) deuten darauf hin, dass unter Austritt von zwei Wasserstoffatomen wahrscheinlich eine dritte Ketogruppe in Konjugation zu dem vorhandenen Chromophor CO—C=C—CO in die Molekel eingetreten ist.

Es ist bemerkenswert, dass die reaktionsträge Doppelbindung auch von überschüssigem Ozon nicht angegriffen wird, sondern dass dabei die der Doppelbindung benachbarten Methylengruppen[2]) oxydiert werden, genau gleich wie mit Chromsäure. Die bei der Ozoneinwirkung entstandenen Verbindungen waren mit denjenigen der Oxydation durch Chromsäure identisch.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war der Abbau des die sekundäre Alkoholgruppe aufweisenden Ringes des Lanosterins. Aus dem Dihydro-lanostenon stellten wir die Oxymethylenverbindung her (Absorptionsspektrum im U.V., λ_{max} = 295 mμ, log ε = 3,9; vgl. Fig. B, Kurve 4) und spalteten sie mit Hilfe von Perhydrol in alkalisch-alkoholischer Lösung glatt zu der Dicarbonsäure $C_{30}H_{50}O_4$. Der mit Diazomethan bereitete, flüssige, aber doch analysenreine Methylester war im Gegensatz zur Säure selbst gegenüber Tetranitromethan stark ungesättigt. Darnach folgt, dass keine der beiden Carboxylgruppen der reaktionsträgen Doppelbindung benachbart ist. Beim Kochen des Methylesters mit 0,5-n. alkoholischer Kalilauge während 24 Stunden konnte keine der beiden Estergruppen verseift werden. Durch Er-

[1]) Die beiden Ketogruppen reagieren auch unter energischen Bedingungen nicht mit Ketonreagenzien.

[2]) Vgl. *Durland* und *Adkins*, Am. Soc. **61**, 429 (1939).

hitzen der Dicarbonsäure $C_{30}H_{50}O_4$ auf 300° entstand unter Abspaltung von Wasser und Kohlendioxyd das Nor-dihydro-lanostenon $C_{29}H_{48}O$. Gestützt auf die *Wieland-Blanc*'sche Regel könnte danach für die Hydroxylgruppe Bindung in einem sechsgliedrigen, endständigen Ringe gefolgert werden.

Weitere Umsetzungen wurden in der Absicht unternommen, Beiträge zur Klärung der Beziehungen zwischen Lanosterin und anderen tetracyclischen Triterpenverbindungen zu erhalten. Wir stellten zu diesem Zwecke die dem Dihydro-lanosterin, γ-Lanosterin und Iso-dihydro-lanosterin[1]) zugrunde liegenden Kohlenwasserstoffe her[2]). Die drei erhaltenen Kohlenwasserstoffe waren jedoch verschieden von den bis heute bekannten Isomeren der Bruttoformel $C_{30}H_{52}$. Das Dihydro-lanosten und das Iso-dihydro-lanosten haben wir vor kurzem[3]) zusammen mit Dihydro-kryptosten[4]), Elemen und Iso-elemen in einer Tabelle zusammengestellt unter Anführung von Schmelzpunkten und $[\alpha]_D$. Diese Daten für das dort nicht erwähnte Lanosten lauten: Smp. 93—94,5°, $[\alpha]_D = +75{,}5°$.

Zusammenfassend sei hervorgehoben, dass im Bau der ungesättigten Seitenkette, sowie im Verhalten des die reaktionsträge Doppelbindung aufweisenden Teils der Molekel, das Lanosterin mit den Elemadienolsäuren übereinstimmt. Die Entscheidung darüber, wie weit die beiden Verbindungsgruppen auch im übrigen Teil der Molekel übereinstimmen, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Wir danken der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[5])

Isolierung von Lanosterin, Dihydro-lanosterin, γ-Lanosterin und Agnosterin aus dem Wollfett der Schafe.

Beim fraktionierten Umkrystallisieren des durch Behandeln von „Isocholesterin" (Smp. 135—137°)[6]) mit Acetanhydrid erhaltenen Acetatgemisches aus Essigester nach dem Dreieckschema liessen sich aus den leichtlöslichen Fraktionen bei ungefähr 110° schmelzende Anteile gewinnen, woraus bei weiterer Krystallisation Lanosterylacetat[7]) in verfilzten Nadeln vom Smp. 113,5—114,5° erhalten wurde. Im Gemisch mit

---

[1]) *Wieland* und *Benend*, Z. physiol. Ch. **274**, 215 (1942).

[2]) Über die Herstellung vgl. den exp. Teil dieser Arbeit.

[3]) *Ruzicka, Rey, Spillmann* und *Baumgartner*, Helv. **26**, 1659 (1943).

[4]) *Wieland, Pasedach* und *Ballauf*, A. **529**, 68 (1937).

[5]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und wurden im offenen Schmelzpunktsröhrchen bestimmt. Alle optischen Drehungen wurden in Chloroformlösungen und mit einem Polarisationsrohr von 1 dm Länge bestimmt. Wo nichts anderes vermerkt wird, betrug die Trocknungszeit der Analysenpräparate 15 Stunden im Hochvakuum.

[6]) B. **6**, 252 (1873); Z. physiol. Ch. **155**, 241 (1926).

[7]) Schmelzpunkt und $[\alpha]_D$ stimmen mit den in der Literatur angegebenen Daten überein. Vgl. Z. physiol. Ch. **191**, 55 (1930).

Cholesterin-acetat (Smp. 113—114°) trat eine Erniedrigung des Schmelzpunktes um 10° ein. Zur Analyse wurde bei 130° im Hochvakuum sublimiert.

3,930 mg Subst. gaben 11,780 mg CO_2 und 4,000 mg H_2O

$C_{32}H_{52}O_2$ Ber. C 81,99 H 11,18%
Gef. „ 81,80 „ 11,39%

$[\alpha]_D^{14} = +55{,}2^0$ (c = 1,179)

Verseifung. Durch Verseifung mit methanolischer Kalilauge wurde das nur aus methanolhaltigen Lösungsmitteln gut krystallisierende Lanosterin[1]) vom Smp. 140 bis 141° gewonnen. Bromlösung wurde momentan entfärbt. Zur Analyse wurde bei 150° im Hochvakuum sublimiert.

3,613; 3,807; 1,830 mg Subst. gaben 11,153; 11,80; 5,662 mg CO_2 und 3,849; 4,07; 1,95 mg H_2O

$C_{30}H_{50}O$ Ber. C 84,44 H 11,81%
Gef. „ 84,24; 84,59; 84,43 „ 11,92; 11,96; 11,92%

$[\alpha]_D^{15} = +58{,}2^0$ (c = 0,978)

Lanosteryl-benzoat (Smp. 191°)[2]).

3,606 mg Subst. gaben 11,07 mg CO_2 und 3,36 mg H_2O

$C_{37}H_{54}O_2$ Ber. C 83,72 H 10,26%
Gef. „ 83,78 „ 10,42%

Lanosteryl-3,5-dinitro-benzoat (Smp. 201°)[2]).

3,750 mg Subst. gaben 9,834 mg CO_2 und 2,859 mg H_2O

$C_{37}H_{52}O_6N_2$ Ber. C 71,58 H 8,44%
Gef. „ 71,57 „ 8,53%

Beim Stehenlassen einer Fraktion von mittlerer Löslichkeit schieden sich nach einigen Tagen grosse, sechseckige Prismen aus, die nach weiterem Krystallisieren aus Essigester bei 122—123° schmolzen. Die Substanz entfärbte Bromlösung nicht und war gegen Tetranitromethan ungesättigt. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,714; 3,698; 3,574 mg Subst. gaben 11,103; 11,063; 10,670 mg CO_2 und 3,858; 3,826; 3,655 mg H_2O

$C_{32}H_{54}O_2$ Ber. C 81,64 H 11,56%
Gef. „ 81,58; 81,64; 81,47 „ 11,62; 11,58; 11,44%

$[\alpha]_D^{20} = +60{,}3^0$ (c = 0,864)

Es liegt Dihydro-lanosteryl-acetat[3]) vor.

Verseifung. Der Alkohol schmolz bei 142,5—143,5°. Verfilzte Nadeln aus Aceton-Methanol. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 145° sublimiert.

3,648; 3,792; 3,034 mg Subst. gaben 11,224; 11,666; 9,345 mg CO_2 und 4,032; 4,158; 3,327 mg H_2O

$C_{30}H_{52}O$ Ber. C 84,04 H 12,23%
Gef. „ 83,96; 83,96; 84,06 „ 12,37; 12,27; 12,27%

$[\alpha]_D^{20} = +60{,}9^0$ (c = 0,64)

Es liegt Dihydro-lanosterin[3]) vor.

---

[1]) Schmelzpunkt und $[\alpha]_D$ stimmen mit den in der Literatur angegebenen Daten überein. Vgl. Z. physiol. Ch. **191**, 55 (1930).

[2]) In der üblichen Weise dargestellt durch Einwirkung der Säurechloride in Gegenwart von Pyridin und aus Benzol-Methanol umkrystallisiert.

[3]) Schmelzpunkt und $[\alpha]_D$ stimmen mit den in der Literatur angegebenen Daten überein. Vgl. Z. physiol. Ch. **191**, 61 (1930).

Durch fortgesetztes Umkrystallisieren der schwerlöslichen Fraktionen stieg deren Schmelzpunkt allmählich auf 172,5—174°. 1 g dieses höchstschmelzenden Anteils wurde in Hexanlösung auf eine in Hexan bereitete Säule aus 30 g Aluminiumoxyd aufgezogen und chromatographiert[1]):

1. Eluat: mit 100 cm³ Hexan-Benzol (1 : 4) . . . . . 300 mg kryst.
2. Eluat: mit 100 cm³ Hexan-Benzol (1 : 4) . . . . . 120 mg kryst.
3. Eluat: mit 100 cm³ Hexan-Benzol (1 : 4) . . . . . 280 mg kryst.
4. Eluat: mit 100 cm³ Hexan-Benzol (1 : 4) . . . . . 220 mg kryst.

Aus Eluat 1 wurden beim Umkrystallisieren aus Essigester lange Nadeln vom Smp. 168,5—169,5° erhalten. Mit Tetranitromethan entstand eine Braunfärbung. Bromlösung wurde sofort entfärbt. Mit γ-Lanosteryl-acetat[2]) zeigte das Präparat keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde ein Probe bei 160° im Hochvakuum sublimiert.

3,810; 3,788; 3,732 mg Subst. gaben 11,425; 11,361; 11,200 mg CO_2 und 3,758; 3,755; 3,688 mg H_2O

$C_{32}H_{52}O_2$ Ber. C 81,99 H 11,18%
Gef. „ 81,83; 81,85; 81,90 „ 11,04; 11,09; 11,06%

$$[\alpha]_D^{16} = +85{,}9^0 \ (c = 0{,}531)$$

Absorptionsspektrum im U.V.[3]): λ_{max} 240—245 mμ, log ε = 4,15. Es liegt γ-Lanosteryl-acetat vor.

Verseifung. Der durch Verseifung entstandene Alkohol wurde aus Aceton-Methanol umkrystallisiert. Er schmolz bei 156—157,5°. Mit γ-Lanosterin[4]) konnte keine Schmelzpunktserniedrigung beobachtet werden. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 150° sublimiert.

3,099; 3,844; 3,536 mg Subst. gaben 9,575; 11,874; 10,934 mg CO_2 und 3,298; 4,119; 3,749 mg H_2O

$C_{30}H_{50}O$ Ber. C 84,44 H 11,81%
Gef. „ 84,32; 84,30; 84,39 „ 11,91; 11,99; 11,86%

$$[\alpha]_D^{16} = +66{,}2^0 \ (c = 0{,}748)$$

Es liegt γ-Lanosterin vor.

Die Eluate 3 und 4 erwiesen sich als identisch. Aus Essigester erhielt man grosse Nadeln vom Smp. 174—176°. Mit Tetranitromethan entstand eine starke gelbbraune Färbung. Bromlösung wurde momentan entfärbt. Zur Analyse wurde bei 170° im Hochvakuum sublimiert.

3,700; 3,697; 3,623 mg Subst. gaben 11,153; 11,166; 10,914 mg CO_2 und 3,575; 3,612; 3,528 mg H_2O

$C_{32}H_{50}O_2$ Ber. C 82,34 H 10,80%
Gef. „ 82,25; 82,42; 82,21 „ 10,81; 10,93; 10,90%

$$[\alpha]_D^{15} = +88{,}3^0 \ (c = 0{,}877)$$

Es liegt Agnosteryl-acetat[5]) vor.

---

[1]) Die aus dem Chromatogramm gewonnenen Acetate zeigten in der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigungen.

[2]) Hergestellt nach Soc. **1941**, 176. Die von uns gefundenen Daten stimmen mit den dort angegebenen überein.

[3]) Die U.V.-Absorptionsspektren wurden in alkoholischer Lösung aufgenommen.

[4]) Soc. **1941**, 176.

[5]) Z. physiol. Ch. **191**, 55 (1930).

Verseifung. Der Alkohol, der auf übliche Weise durch Verseifung dargestellt wurde, krystallisierte aus Essigester-Methanol in verfilzten Nadeln vom Smp. 163,5 bis 164,5°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 160° sublimiert.

3,656; 3,760 mg Subst. gaben 11,321; 11,691 mg CO_2 und 3,815; 3,824 mg H_2O

$C_{30}H_{48}O$ Ber. C 84,84 H 11,39%
Gef. „ 84,50; 84,85 „ 11,68; 11,38%

$[\alpha]_D^{20} = +76{,}9°$ (c = 0,676)

Es liegt Agnosterin[1]) vor.

Dehydrierung von „Isocholesterin" mit Selen.

57 g „Isocholesterin" wurden mit 120 g Selen während 46 Stunden bei 340—355° dehydriert. Das Reaktionsgemisch extrahierte man mit tiefsiedendem Petroläther und erhielt 16,8 g braunes Harz (A). Der noch ungelöste Rückstand wurde nun mit Benzol extrahiert, bis die Extrakte nur noch schwachgelb waren. Der Benzolauszug wog 4,5 g und bildete ein fast schwarzes Pech (B).

Verarbeitung von Produkt A. Beim Stehenlassen der Petrolätherlösung schieden sich 1,8 g braune Flocken ab (A_1). Sie wurden mit 10-proz. methanolischer Lauge 24 Stunden geschüttelt. Der Laugenauszug enthielt keine phenolischen Anteile. Der so behandelte Anteil A_1 krystallisierte aus Benzol-Alkohol als gelbes, mikrokrystallines Pulver. Nach Sublimieren im Hochvakuum bei 180—190° Blocktemperatur gewann man daraus 340 mg eines Gemisches vom Smp. 240—270°. Zur weiteren Reinigung wurde die Substanz in einer Lösung von Benzol-Hexan (1 : 4) an einer Säule aus 14 g Aluminiumoxyd adsorbiert und mit Benzol-Hexan (1 : 4) bzw. (1 : 1) in zwei Fraktionen A_2 und A_3 aufgeteilt (A_2 = 190 mg; A_3 = 150 mg). Mehrfaches Umkrystallisieren und Sublimieren von A_2 lieferte weisse Blättchen vom Smp. 232—236° (vgl. darüber weiter unten). A_3 konnte durch analoge Reinigung bis zum Smp. 297—301° gebracht werden. Wegen Materialmangel musste auf eine weitere Reinigung verzichtet werden. Es liegt wohl das weiter unten beschriebene Produkt vom Smp. 327—328° in weniger reiner Form vor.

Die Petroläther-Mutterlauge von A_1 wurde durch eine Säule aus 10 g Aluminiumoxyd filtriert, wobei sie sich klärte und eine intensive Fluoreszenz zeigte. Den nach Verdampfen des Petroläthers verbleibenden Rückstand löste man in Benzol und schüttelte die Lösung zur Reinigung mehrmals mit konz. Schwefelsäure aus. Beim weiteren Umkrystallisieren aus Benzol-Alkohol fielen gelbe, mikrokrystalline Fraktionen vom ungefähren Smp. 188—192° aus. 900 mg dieses Gemisches zog man in Hexanlösung an einer Säule aus 30 g Aluminiumoxyd auf. Hexan eluierte 180 mg ölige Substanz. Mit Benzol-Hexan (1 : 4) und (1 : 1) lösten sich insgesamt 320 mg fluoreszierendes Öl ab, das aus Alkohol-Benzol feine glänzende Blättchen ergab, die nach häufigem Umkrystallisieren und Sublimieren im Hochvakuum konstant bei 237,5—238,5° schmolzen. Zur Analyse gelangte ein Sublimat. Der Anteil A_2 von oben erwies sich mit dem vorliegenden Präparat als identisch.

3,528 mg Subst. gaben 11,967 mg CO_2 und 2,250 mg H_2O

C_nH_n Ber. C 92,26 H 7,74%
$C_{22}H_{20}$ Ber. „ 92,91 „ 7,09%
Gef. „ 92,57 „ 7,15%

Absorptionsspektrum im U.V.: vgl. Fig. A, Kurve 1.

Es liegt wahrscheinlich ein homologes Chrysen vor.

Bei weiterem Einengen der Mutterlauge von A_1 fielen keine festen Fraktionen mehr aus. Der Rückstand wurde deshalb im Hochvakuum bei 0,1 mm Hg destilliert.

[1]) Z. physiol. Ch. **191**, 55 (1930).

Tabelle 2.

Frakt.	Bad-temperatur	Sdp.	Destillat
1	170°	170°	0,42 g gelbes Öl
2	220°	170°	0,86 g gelbe Krystalle
3	255°	190°	1,25 g gelbe Krystalle
4	265°	190—210°	1,18 g amorph erstarrt
5	265°	210—220°	1,59 g amorph erstarrt
6	bis 340°	230—260°	1,60 g amorph erstarrt

Fraktion 1 wurde ins Pikrat übergeführt. Die roten Nädelchen schmolzen unscharf bei 120—130°. Das Trinitro-benzolat zeigte ebenfalls einen unscharfen Schmelzpunkt von 164—170°. Trotz erheblicher Bemühungen konnten daraus keine einheitlichen Verbindungen gewonnen werden.

Aus den Fraktionen 2 und 3 liess sich das 1,7,8-Trimethyl-phenanthren vom Smp. 145,5—146,5° isolieren. Eine Mischprobe mit einem synthetisch hergestellten Vergleichspräparat[1]) ergab keine Erniedrigung des Schmelzpunktes. Das Trinitro-benzolat schmolz nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Methanol bei 192,5—193,5°. Im Gemisch mit dem Trinitro-benzolat des obigen Vergleichspräparates[1]) trat keine Schmelzpunktserniedrigung ein. Zur Analyse wurde das Trinitro-benzolat 3 Tage lang im Vakuumexsikkator über Kaliumhydroxyd getrocknet.

3,847 mg Subst. gaben 8,995 mg CO_2 und 1,508 mg H_2O

$C_{23}H_{19}O_6N_3$ Ber. C 63,73 H 4,42%

Gef. „ 63,81 „ 4,39%

Aus den Fraktionen 4—6 konnten keine krystallinen Verbindungen erhalten werden.

Verarbeitung von Produkt B. Die benzolische Lösung derselben wurde durch Aluminiumoxyd filtriert. Das Filtrat schüttelte man längere Zeit mit konz. Schwefelsäure. Es konnten aber bei der weiteren Verarbeitung keine festen Produkte gefasst werden.

Aus einem zweiten Dehydrierungsansatz, bei dem der Rückstand mit Benzol extrahiert und anschliessend im Hochvakuum destilliert wurde, konnten neben beträchtlichen Mengen 1,7,8-Trimethyl-phenanthren eine höher siedende Fraktion erhalten werden, die sich durch oftmaliges Umkrystallisieren aus Pyridin, Butylacetat und durch Sublimieren im Hochvakuum bis zum Smp. 327—328° reinigen liess. Der hohe Schmelzpunkt deutet auf das Vorliegen eines Picenhomologen hin[2]). Die geringe Menge ermöglichte jedoch die Ausführung einer Analyse nicht. Eine leichterflüchtige Zwischenfraktion lieferte nach etlichen Reinigungsoperationen ein in gelben Blättchen anfallendes Produkt, das bei 212—214° schmolz. Dieses bildete ein bei 185—189° schmelzendes Trinitro-benzolat, welches beim Umkrystallisieren sofort wieder in seine Komponenten zerfiel. Der daraus regenerierte Kohlenwasserstoff war gelblich und schied bei weiterem Sublimieren stets Selen ab. Er konnte deshalb nicht analysiert werden.

Ozonisation von Lanosteryl-acetat.

3 g Lanosteryl-acetat (Smp. 113—114°) wurden in 50 cm³ Tetrachlorkohlenstoff bei 0° so lange ozonisiert, bis eine herausgenommene Probe Bromlösung nicht mehr entfärbte. Nach dem Absaugen des Lösungsmittels blieb das Ozonid als farblose, amorphe

[1]) Helv. **23**, 130 (1940).

[2]) Es könnte sich um das in unreiner Form vorliegende Picen-Homologe vom Smp. 345—346° handeln, welches bei der Dehydrierung von Elemadienolsäure mit Selen erhalten worden war, *Ruzicka, Rey* und *Spillmann*, Helv. **25**, 1375 (1942).

Masse zurück. Zur Spaltung wurde mit 150 cm³ Wasser am Rückfluss 30 Minuten erhitzt und anschliessend 50 cm³ davon abdestilliert. Aus dem Destillat erhielt man beim Versetzen mit einer wässerigen Lösung von p-Nitro-phenylhydrazin unter Zusatz einiger Tropfen Salzsäure gelbe Nädelchen, die nach Umkrystallisieren aus wässerigem Alkohol bei 147,5—149° schmolzen (Ausbeute 35%). Mit Aceton-p-nitro-phenylhydrazon trat keine Schmelzpunktserniedrigung ein. Der schwerflüchtige Anteil wurde in Äther aufgenommen und mit Lauge in saure und neutrale Bestandteile zerlegt. Der Laugenauszug ergab beim Ansäuern 270 mg Säure, die mit Diazomethan verestert wurden. Bei der chromatographischen Adsorption des Esters in Hexan-Lösung an Aluminiumoxyd liessen sich mit Benzol-Hexan (1 : 2) 120 mg einer aus Alkohol krystallisierenden Substanz eluieren. Zweimaliges Umkrystallisieren aus Methanol und Sublimieren im Hochvakuum brachten den Smp. auf 168—170°. Mit Tetranitromethan entstand eine Gelbfärbung. Zur Analyse gelangte ein Sublimat.

3,840 mg Subst. gaben 10,742 mg CO_2 und 3,581 mg H_2O

$C_{30}H_{48}O_4$ Ber. C 76,22 H 10,24%

Gef. „ 76,34 „ 10,44%

Es liegt der Acetyl-tris-nor-lanosterinsäure-methylester vor.

Verseifung. Die Mutterlaugen wurden mit methanolischer Kalilauge verseift und das Verseifungsprodukt durch Umkrystallisieren aus Essigester-Methanol und Sublimation im Hochvakuum bis zum Smp. 257,5—259,5° (im evak. Röhrchen) gereinigt. Mit Tetranitromethan entstand eine schwache Gelbfärbung.

3,768 mg Subst. gaben 10,761 mg CO_2 und 3,572 mg H_2O

$C_{27}H_{44}O_3$ Ber. C 77,83 H 10,64%

Gef. „ 77,94 „ 10,61%

Es liegt die Tris-nor-lanosterinsäure vor.

Methylester: 50 mg dieser Oxysäure wurden in ätherischer Lösung mit Diazomethan verestert. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol schmolz der Ester bei 152,5—154,5°. Mit Tetranitromethan gab er eine deutliche Gelbfärbung. Zur Analyse wurden im Hochvakuum bei 150° sublimiert.

3,811 mg Subst. gaben 10,900 mg CO_2 und 3,697 mg CO_2

$C_{28}H_{46}O_3$ Ber. C 78,09 H 10,77%

Gef. „ 78,05 „ 10,86%

Es liegt der Tris-nor-lanosterinsäure-methylester vor.

Die neutralen Anteile der Ozonisierung wurden nicht näher untersucht.

Oxydation von Dihydro-lanosteryl-acetat mit Chromsäure.

Zu einer Lösung von 3,0 g Dihydro-lanosteryl-acetat in 130 cm³ Eisessig wurden bei 40° 1,5 g Chromtrioxyd in 15 cm³ 90-proz. Essigsäure innerhalb 15 Minuten zufliessen gelassen und anschliessend bei der gleichen Temperatur mehrere Stunden gerührt. Darnach zerstörte man die unverbrauchte Chromsäure mit 10 cm³ Methanol und goss die Lösung in Wasser. Der Ätherauszug lieferte nach dem Waschen mit verdünnter Lauge und Wasser 2,9 g neutrale Produkte. Saure Anteile wurden nur in Spuren erhalten. Die Neutralfraktion löste man in Hexan und adsorbierte an einer Säule aus 90 g Aluminiumoxyd. Hexan löste 260 mg Substanz ab, die nach mehrfachem Umkrystallisieren aus Alkohol konstant bei 151,5—152,5° schmolz[1]). Mit Tetranitromethan entstand keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

---

[1]) Wenn die Substanz analysenrein und trocken bei 146° in den Schmelzpunktsapparat gegeben wurde, schmolz sie sofort zu einer trüben Schmelze, die sich erst bei ca. 157° klärte. Beim Einführen in den auf 140° erhitzten Apparat und langsamer Temperatursteigerung zeigte sich der oben erwähnte Schmelzpunkt.

3,816 mg Subst. gaben 11,117 mg CO_2 und 3,660 mg H_2O

$C_{32}H_{52}O_3$ Ber. C 79,28 H 10,81%
Gef. „ 79,50 „ 10,73%

$[\alpha]_D^{16} = +18{,}2^0$ (c = 1,026)

Es liegt das α,β-ungesättigte Keto-dihydro-lanosteryl-acetat vor, welches auch bei der Ozonisation von Dihydro-lanosteryl-acetat entsteht.

Mit Benzol liessen sich 1,0 g gelbgefärbte Krystalle eluieren, welche nach mehrmaligem Krystallisieren aus Alkohol bei 156,5—158,8° schmolzen. Bei weiterem Erhitzen verfestigte sich der Schmelzfluss wieder, um bei 160,5° erneut scharf durchzuschmelzen. Mit dem Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat aus γ-Lanosteryl-acetat trat keine Erniedrigung des Schmelzpunktes ein[1]). Tetranitromethan ergab keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,840 mg Subst. gaben 10,83 mg CO_2 und 3,44 mg CO_2

$C_{32}H_{50}O_4$ Ber. C 77,06 H 10,11%
Gef. „ 76,97 „ 10,02%

$[\alpha]_D^{16} = +90{,}5^0$ (c = 0,999)

Es liegt das Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat vor, das auch aus λ-Lanosteryl-acetat durch Oxydation mit Chromsäure erhalten wurde[2]).

Beim Erhitzen mit Hydrazinhydrat in Alkohol bei 180° im Bombenrohr trat keine Veränderung ein; auch beim Kochen mit Acetanhydrid blieb das Diketo-acetat unverändert.

Verseifung. 240 mg Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat wurden mit methanolischer Kalilauge verseift. Aus Methanol erhielt man feine gelbe Nädelchen vom Smp. 113—115°. Mit Tetranitromethan gaben sie keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde bei 120° im Hochvakuum sublimiert.

3,842 mg Subst. gaben 11,132 mg CO_2 und 3,671 mg H_2O

$C_{30}H_{48}O_3$ Ber. C 78,89 H 10,60%
Gef. „ 79,07 „ 10,69%

$[\alpha]_D^{16} = +78{,}3^0$ (c = 1,373)

Es liegt Diketo-dihydro-lanosterin vor.

Diketo-dihydro-lanostenon. 200 mg Diketo-dihydro-lanosterin wurden in 25 cm³ Eisessig bei Zimmertemperatur mit 200 mg Chromtrioxyd in 10 cm³ 10-proz. Essigsäure oxydiert. Nach üblicher Aufarbeitung wurden aus Methanol gelbe Prismen vom Smp. 105—107° erhalten. Sie gaben mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,900 mg Subst. gaben 11,327 mg CO_2 und 3,602 mg H_2O

$C_{30}H_{46}O_3$ Ber. C 79,24 H 10,20%
Gef. „ 79,26 „ 10,33%

$[\alpha]_D^{16} = +172{,}6^0$ (c = 1,22)

Es liegt das Diketo-dihydro-lanostenon vor[3]). Dieses Triketon entstand auch in guter Ausbeute bei der Oxydation von Dihydro-lanostenon mit Chromsäure.

Bei der weitergehenden Oxydation des Diketo-dihydro-lanostenons mit Chromsäure liessen sich nur ölige Fraktionen erhalten, die gegenüber dem Ausgangsmaterial keine

[1]) Vgl. Note 1, Seite 484.

[2]) Erhalten durch genau analoge Oxydation von γ-Lanosterin-acetat mit Chromsäure (im exp. Teil dieser Arbeit daher nicht beschrieben).

[3]) Auch erhalten durch genau analoge Oxydation von γ-Lanosterin-acetat mit Chromsäure (im exp. Teil dieser Arbeit daher nicht beschrieben).

Farbvertiefung aufwiesen. Die Reduktion des Triketons nach *Wolff-Kishner* lieferte ein gelbes Öl.

Triketo-dihydro-lanosteryl-acetat. Aus einem anderen Ansatz der Oxydation mit Chromsäure von Dihydro-lanosteryl-acetat wurde bei der Chromatographie der neutralen Produkte neben grösseren Mengen von Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat (Benzol-Eluate) mit Benzol-Äther-Gemischen eine aus Alkohol bei 183° schmelzende Fraktion eluiert. Mehrfaches Umkrystallisieren aus Methylalkohol erhöhte den Schmelzpunkt auf 186,5—188,5°. Die dunkelgelben Blättchen gaben mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,652 mg Subst. gaben 9,965 mg CO_2 und 3,063 mg H_2O

$C_{32}H_{48}O_5$ Ber. C 74,96 H 9,44%
Gef. „ 74,46 „ 9,39%

Es liegt sehr wahrscheinlich Triketo-dihydro-lanosteryl-acetat vor.

Ozonisation von Dihydro-lanosteryl-acetat.

Durch eine Lösung von 1,5 g Dihydro-lanosteryl-acetat in 20 cm³ Tetrachlorkohlenstoff wurde bei 0° nur so lange ein Ozonstrom geleitet, bis eine herausgenommene Probe mit Tetranitromethan gerade keine Gelbfärbung mehr ergab. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Ozonid eine Stunde mit Wasser gekocht. Nach Aufnehmen des Reaktionsproduktes in Äther entfernte man mit verdünnter Lauge Spuren von sauren Bestandteilen (70 mg nicht krystallisierendes Öl). Die schwach gelbgefärbten Neutralteile (1,4 g) wurden an einer Säule aus 50 g Aluminiumoxyd adsorbiert. Hexan-Benzol (4 : 1) und (1 : 1) eluierten 300 mg eines bei 148—150° schmelzenden Produktes. Mehrmaliges Umkrystallisieren aus Methanol-Essigester erhöhten den Schmelzpunkt auf 151,5—152,5°. Die in feinen Nädelchen anfallende Verbindung gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung und gemischt mit dem aus Dihydro-lanosteryl-acetat durch Oxydation mit Chromsäure entstehenden Keto-dihydro-lanosteryl-acetat trat keine Erniedrigung des Schmelzpunktes ein. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,777 mg Subst. gaben 10,985 mg CO_2 und 3,656 mg H_2O

$C_{32}H_{52}O_3$ Ber. C 79,28 H 10,81%
Gef. „ 79,37 „ 10,83%

$[\alpha]_D^{16} = +21{,}3^0$ (c = 1,045)

Absorptionsspektrum im U.V.: λ_{max} 255 mμ, log ε = 4,02 (entspr. Kurve 1, Fig. B).

Mit Benzol liessen sich geringe Mengen eines gelben Produktes ablösen. Die Substanz konnte aus Alkohol nicht ganz rein erhalten werden. Smp. 154—156°. Es liegt wahrscheinlich rohes Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat vor.

Oxydative Öffnung des hydroxylierten Ringes von Dihydro-lanostenon.

Oxymethylen-dihydro-lanostenon. 1,5 g pulverisiertes Natrium wurden mit 50 cm³ absolutem Alkohol einige Minuten geschüttelt und darnach eine Lösung von 3,7 g Dihydro-lanostenon (Smp. 117—118°) in 5,0 g frisch destilliertem Amylformiat und 50 cm³ absolutem Äther langsam zugetropft. Nach dem Abklingen der Reaktion wurde 30 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt und anschliessend bei Raumtemperatur über Nacht stehen gelassen. Das unverbrauchte Natrium wurde durch Unterschichten mit wenig Methanol in Lösung gebracht und das Gemisch in Eiswasser gegossen. Durch zweimaliges Durchschütteln mit Äther entzog man der wässerigen Lösung das unverbrauchte Dihydro-lanostenon und säuerte dann die alkalische Lösung mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion an. Die abgeschiedene Oxymethylen-Verbindung zog man mit Äther aus und wusch den Exktrakt mit Wasser neutral. Als Rückstand erhielt man 3,5 g einer gelbbraunen Schmiere, welche bei Zugabe von Alkohol in flachen Nadeln vom Smp. 124—126° krystallisierte. Bei weiterem Krystallisieren änderte sich der Schmelzpunkt stets ein

wenig. Mit Eisen(III)-chlorid in Aceton-Lösung entstand eine Violettfärbung. Tetranitromethan gab eine deutliche Gelbfärbung.

3,785 mg Subst. gaben 11.327 mg CO_2 und 3,745 mg H_2O

$C_{31}H_{50}O_2$ Ber. C 81,88 H 11,08%
Gef. „ 81,67 „ 11,07%

Dicarbonsäure $C_{30}H_{50}O_4$. 1,5 g Oxymethylen-Verbindung wurden in 20 cm³ Alkohol gelöst und mit 25 cm³ wässeriger 10-proz. Natronlauge versetzt. Die ausgefallene Natrium-Verbindung ging nach Zugabe von 5 cm³ Perhydrol in Lösung. Man erwärmte auf dem Wasserbad und fügte nach 20 Minuten neuerdings 25 cm³ 10-proz. Natronlauge und 10 cm³ Perhydrol zu[1]). Nach Stehenlassen über Nacht wurde angesäuert und die abgeschiedene Dicarbonsäure in Äther aufgenommen. Mit 2-n. Sodalösung liessen sich 1,1 g saure Anteile ausziehen. Beim Umkrystallisieren des erhaltenen Produktes aus Eisessig erhielt man feine, zu Rosetten vereinigte Nädelchen vom Smp. 194,5—196°. Mit Tetranitromethan trat keine Gelbfärbung ein. Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,729 mg Subst. gaben 10,383 mg CO_2 und 3,531 mg H_2O
6,680 mg Subst. verbrauchten bei der Titration 2,938 cm³ 0,01-n. KOH

$C_{30}H_{50}O_4$ Ber. C 75,90 H 10,62% Äqu.-Gew. 237,20
Gef. „ 75,98 „ 10,60% „ 227,37

$[\alpha]_D^{20} = +86{,}7°$ (c = 0,727)

Dimethylester. 300 mg Dicarbonsäure wurden in ätherischer Lösung mit Diazomethan verestert. Der Ester liess sich nicht in krystalliner Form erhalten und wurde deshalb in Benzol-Hexan-Lösung durch Aluminiumoxyd filtriert. Im Filtrat war ein farbloses Öl enthalten, das aus allen üblichen Lösungsmitteln stets ölig anfiel. Zur Analyse wurde das Öl im Hochvakuum bei 140° „sublimiert". Mit Tetranitromethan resultierte eine Gelbfärbung.

3,660 mg Subst. gaben 10,242 mg CO_2 und 3,550 mg H_2O

20,184 mg Subst. verbrauchten bei 36-stündigem Kochen mit 0,5-n. KOH keine Lauge.

3,491; 3,869 mg Subst. verbrauchten bei der Methoxylbestimmung nach *Vieböck* und *Brecher* 3,748; 4,157 cm³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$

$C_{32}H_{54}O_4$ Ber. C 76,44 H 10,83 2 OCH_3 12,28%
Gef. „ 76,37 „ 10,85 „ 11,10; 11,11%

Nor-dihydro-lanostenon. 95 mg Dicarbonsäure wurden im Sublimierrohr in Stickstoffatmosphäre auf 280—310° im Wasserstrahlvakuum erhitzt. Nach 15 Minuten war die Gasentwicklung beendet und anschliessend wurde bei 180° Blocktemperatur im Hochvakuum sublimiert. Aus Methanol krystallisierte das Sublimat in schuppigen Blättchen vom Smp. 113,5—115°. Mit Tetranitromethan entstand eine deutliche Gelbfärbung. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,691 mg Subst. gaben 11,411 mg CO_2 und 3,875 mg H_2O

$C_{29}H_{48}O$ Ber. C 84,40 H 11,73%
Gef. „ 84,37 „ 11,75%

$[\alpha]_D^{20} = +124{,}8°$ (c = 0,425)

Es liegt das nor-Dihydro-lanostenon vor.

Oxim. Das auf üblichem Wege bereitete Oxim krystallisierte aus Methanol in feinen Nädelchen vom Smp. 202° (Zers.). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,842 mg Subst. gaben 11,473 mg CO_2 und 3,977 mg H_2O

$C_{29}H_{49}ON$ Ber. C 81,44 H 11,55%
Gef. „ 81,49 „ 11,59%

[1]) Bei Versuchen zur Oxydation der Oxymethylen-Verbindung mit Chromsäure in Eisessig wurden stets grüne Chromkomplexe erhalten, die auch bei langem Kochen mit konz. Lauge unverändert blieben.

Herstellung von Dihydro-lanosten.

Dihydro-lanostenon wurde nach den Angaben von *Marker*[1]) hergestellt. Smp. 118—119°; $[\alpha]_D^{18} = +70{,}2°$ (c = 0,911).

Oxim. 50 mg Dihydro-lanostenon wurden in 20 cm³ Methanol mit 100 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 200 mg Kaliumacetat 2 Stunden gekocht. Beim Einengen fiel das Oxim in feinen Nädelchen aus, welche abgesaugt, mit Wasser und Methanol gewaschen und aus Methanol umkrystallisiert wurden. Smp. 169—171°

3,670 mg Subst. gaben 10,976 mg CO_2 und 3,852 mg H_2O

$C_{30}H_{51}ON$	Ber. C 81,57	H 11,64%
	Gef. „ 81,62	„ 11,74%

Semicarbazon. 500 mg Dihydro-lanostenon wurden mit Semicarbazid-acetat (aus 1,0 g Semicarbazid-hydrochlorid und 2,0 g krystallisiertem Natriumacetat) in 80 cm³ Methanol 2 Stunden am Rückfluss erhitzt. Beim Abkühlen fiel das Semicarbazon aus. Die farblosen Nädelchen schmolzen nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol bei 236—238° unter Zersetzung (evak. Schmelzpunktsröhrchen).

$C_{31}H_{53}ON_3$	Ber. C 77,0	H 11,0%
	Gef. „ 77,7	„ 11,2%

Dihydro-lanosten. 520 mg Semicarbazon wurden mit einer Lösung von 1,5 g Natrium in 25 cm³ absolutem Äthanol im Einschlussrohr 20 Stunden lang auf 180° erhitzt. Der Ätherauszug des Reaktionsgemisches wurde mit verdünnter Salzsäure, verdünnter Lauge und Wasser gewaschen. Der Rückstand wurde in Hexan gelöst und durch eine Säule aus 5 g Aluminiumoxyd filtriert. Beim Umkrystallisieren des Eluates aus Aceton erhielt man farblose Blättchen vom Smp. 72,5—73,5°. Mit Tetranitromethan entstand eine intensive Gelbfärbung. Zur Analyse wurde im Vakuumexsikkator über Kaliumhydroxyd 5 Tage lang getrocknet.

3,720 mg Subst. gaben 11,894 mg CO_2 und 4,224 mg H_2O

$C_{30}H_{52}$	Ber. C 87,30	H 12,70%
	Gef. „ 87,25	„ 12,71%

$[\alpha]_D^{16} = +104°$ (c = 1,142)

Isomerisierung von Dihydro-lanosten mit Chlorwasserstoff.

Durch eine Lösung von 250 mg Dihydro-lanosten (Smp. 72,5—73,5°) in trockenem Chloroform wurde während 3 Stunden ein trockener Strom von Chlorwasserstoff geleitet. Das Lösungsmittel wurde durch Absaugen im Vakuum entfernt und der Rückstand mehrmals aus Aceton umkrystallisiert, bis die farblosen, silbrigen Blättchen konstant bei 79,5—80,5° schmolzen. Mit Tetranitromethan entstand eine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde 5 Tage im Vakuumexsikkator über Kaliumhydroxyd getrocknet.

3,840 mg Subst. gaben 12,290 mg CO_2 und 4,332 mg H_2O

$C_{30}H_{52}$	Ber. C 87,30	H 12,70%
	Gef. „ 87,34	„ 12,62%

$[\alpha]_D^{15} = +36°$ (c = 0,847)

Es liegt Iso-dihydro-lanosten vor.

Herstellung von γ-Lanosten.

γ-Lanostenon[2]). 240 mg γ-Lanosterin wurden mit der vierfachen Menge Kupferpulver auf dem üblichen Wege[3]) dehydriert. Das Reaktionsprodukt wurde in Hexan-

[1]) Am. Soc. **59**, 1368 (1937). Die gefundenen Daten stimmen mit den von *Marker* angegebenen überein.

[2]) Von *Bellamy* und *Dorée*, Soc. **1941**, 180, hergestellt durch Oxydation von γ-Lanosterin mit Chromsäure.

[3]) Vgl. z. B. *Ruzicka, Brenner* und *Rey*, Helv. **24**, 515 (1941).

lösung durch Aluminiumoxyd filtriert. Aus Methanol krystallisierte die Substanz in spitzigen Blättchen vom konstanten Smp. 128—129°. Mit Tetranitromethan entstand eine bräunlichgelbe Färbung. Zur Analyse wurde bei 140° im Hochvakuum sublimiert.

3,748 mg Subst. gaben 11,689 mg CO_2 und 3,750 mg H_2O

$C_{30}H_{48}O$ Ber. C 84,84 H 11,39%
Gef. „ 85,11 „ 11,20%

$[\alpha]_D^{16} = +45{,}6^0$ (c = 1,081)

Das auf dem üblichen Wege hergestellte Oxim schmolz bei 188,5—190,5°.

γ-Lanosten. 80 mg γ-Lanostenon wurden mit Semicarbazid-acetat (aus 100 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 200 mg Natriumacetat) in 25 cm³ Methanol 1 Stunde gekocht. Das beim Erkalten ausfallende Semicarbazon schmolz bei 222—225°. Es wurde mit einer Lösung von 0,6 g Natrium in 10 cm³ absolutem Alkohol unter Zugabe eines Tropfens Hydrazinhydrat im Einschlussrohr 8 Stunden auf 180° erhitzt. Der Ätherauszug des Reaktionsgemisches wurde mit verdünnter Säure, verdünnter Lauge und Wasser gewaschen und lieferte den rohen Kohlenwasserstoff. Filtrieren in Hexanlösung durch Aluminiumoxyd ergab nach Konzentration des Filtrats farblose, silbrige Blättchen vom Smp. 93—94,5°. Mit Tetranitromethan entstand eine intensive gelbbraune Färbung. Zur Analyse wurde im Vakuumexsikkator 5 Tage über Kaliumhydroxyd getrocknet.

3,782 mg Subst. gaben 12,153 mg CO_2 und 4,144 mg H_2O

$C_{20}H_{50}$ Ber. C 87,73 H 12,27%
Gef. „ 87,69 „ 12,26%

$[\alpha]_D^{15} = +75{,}5^0$ (c = 0,689)

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg.
Technischen Hochschule, Zürich.

---

56. Strukturchemische Untersuchungen X. Zur Kenntnis des reaktiven Verhaltens von Di-thio-amiden aliphatischer Dicarbonsäuren

von **H. Lehr** und **H. Erlenmeyer.**

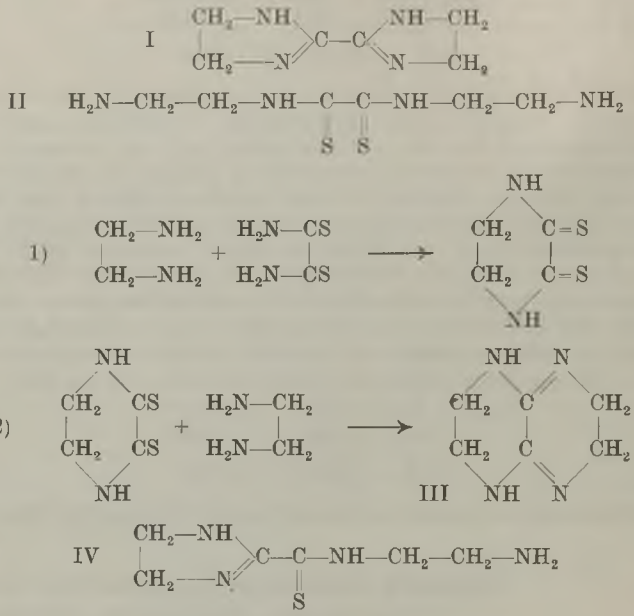
(12. II. 44.)

Die Herstellung des Di-thio-amids der Adipinsäure durch *H. Erlenmeyer* und *G. Bischoff*[1]) ermöglichte das vergleichende Studium von einigen Kondensationsreaktionen mit Di-thio-amiden, über die wir in vorliegender Arbeit berichten wollen.

G. Forssel[2]) erhielt bei der Kondensation von Rubeanwasserstoff mit Äthylendiamin eine krystallisierte, schwefelfreie, bei 290—300° unter Zersetzung schmelzende Substanz, der er die Konstitution eines Bis-Imidazolins (I) zuschrieb. Als hypothetisches Zwischenprodukt wurde die lineare Verbindung von der Formel II angenommen.

[1]) Helv. **27**, 412 (1944). [2]) B. **24**, 1846 (1891).

In einer späteren Arbeit[1]), die das gleiche Problem ausführlicher behandelt, schlägt *Forssel* das Reaktionsschema 1) und 2) vor und spricht dem Endprodukt die recht unwahrscheinliche Konstitutionsformel III zu.



Bei Einhaltung der Versuchsbedingungen *Forssel*'s, der Äthylendiaminhydrat ohne Lösungsmittel auf das Thio-amid einwirken liess, erhielten wir ebenfalls einen krystallisierten, bei 290—298° unter Zersetzung schmelzenden Körper. Wurde jedoch die Kondensation in alkoholischer Lösung ausgeführt, wobei auf ein Rubeanwasserstoff 2 Mole Äthylendiaminhydrat zur Einwirkung kamen, dann konnte nach mehrstündigem Erhitzen auf dem Wasserbad[2]), nach dem Erkalten, ein krystallisiertes Reaktionsprodukt erhalten werden, aus dem sich eine farblose, schwefelhaltige Verbindung mit einem Zersp. 250—255° gewinnen liess. Die Isolierung erfolgte durch wiederholte Extraktion mit heissem Alkohol. Aus dem Rückstand der Extrakte lässt sich alsdann durch Umkrystallisieren aus Alkohol ein gereinigtes Produkt gewinnen. Die Analyse der im Vakuum getrockneten Substanz gab folgende Resultate:

4,298 mg Subst. gaben 6,65 mg CO_2 und 2,38 mg H_2O
2,014 mg Subst. gaben 0,629 cm³ N_2 (22°, 754 mm)
4,838 mg Subst. gaben 6,63 mg $BaSO_4$

$C_6H_{12}N_4S$	Ber.	C 41,81	H 7,02	N 32,54	S 18,62%
	Gef.	„ 42,22	„ 6,20	„ 33,01	„ 18,82%

Die Werte stimmen recht gut auf die Formel $C_6H_{12}N_4S$, die am besten durch die Struktur (IV) sich deuten lässt, wodurch die erste Auffassung von *Forssel* gestützt wird, nach der dem Endprodukt der Kondensation von Rubeanwasserstoff und Äthylendiamin die Formel eines Di-[Δ^2-Imidazolinyl-(2)] zukommt (I).

[1]) B. **25**, 2132 (1892).

[2]) Im Rückflusskühler konnte sublimierter Schwefel nachgewiesen werden.

Um diese Annahme sicherzustellen, wurde das von uns isolierte Zwischenprodukt (IV) mit überschüssigem Äthylendiaminhydrat leicht erwärmt. Hiebei erhält man eine intensiv blaue Lösung, die langsam verblasst und schliesslich farblos wird. Hierauf wird das überschüssige Äthylendiamin bis zur beginnenden Krystallisation des Reaktionsproduktes abdestilliert. Aus Alkohol erhält man farblose Krystalle, die einen Schmelzpunkt von 290—298° zeigen. Die Substanz ist schwefelfrei und identisch mit der nach der Vorschrift *Forssel*'s hergestellten Verbindung. Zur weiteren Charakterisierung des schwefelhaltigen Zwischenproduktes wurde sein Pikrat hergestellt. Es wurde in Form kleiner, hellgelber Krystalle erhalten, die, aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert, einen Schmelzpunkt von 284—285° zeigten. Die Stickstoffbestimmung der bei 100° im Vakuum getrockneten Substanz zeigte, dass ein Dipikrat vorlag.

1,689 mg Subst. gaben 0,323 cm³ N_2 (14°, 741 mm)

$C_{18}H_{18}O_{14}N_{10}S$ Ber. N 22,22 Gef. N 22,18%

Untersucht man den Reaktionsverlauf der entsprechenden Kondensationsreaktion mit Adipinsäure-di-thio-amid an Stelle des Oxalsäure-di-thio-amids, so erhält man mit Äthylendiamin nur schwefelfreie Endprodukte, gleichgültig, ob die Reaktion ohne Lösungsmittel oder in Alkohol durchgeführt wird.

Hierbei ist zu beobachten, dass, wenn Adipinsäure-di-thio-amid mit überschüssigem Äthylendiaminhydrat versetzt und erwärmt wird, das Thio-amid zunächst in Lösung geht, worauf dann unter lebhaftem Aufschäumen eine spontane Reaktion eintritt und das ganze Reaktionsgemisch zu einem Krystallbrei erstarrt. Aus Xylol werden farblose Krystalle erhalten, die einen Schmelzpunkt von 209—210° zeigen.

1,176 mg Subst. gaben 0,293 cm³ N_2 (15°, 739 mm)

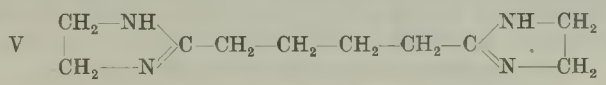
$C_{10}H_{18}N_4$ Ber. N 23,86 Gef. N 23,72%

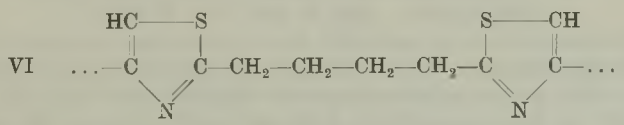
Das Dipikrat krystallisiert aus Alkohol in kleinen, hellgelben Krystallen vom Smp. 207°.

1,270 mg Subst. gaben 0,234 cm³ N_2 (15°, 753 mm)

$C_{22}H_{24}O_{14}N_{10}$ Ber. N 21,47 Gef. N 21,64%

Wird die Kondensation in Alkohol durchgeführt, so erhält man nach mehrstündigem Erhitzen auf dem Wasserbad, nach dem Abdestillieren des Alkohols, das oben beschriebene, schwefelfreie Reaktionsprodukt vom Smp. 209—210°. Der Verbindung kommt die Struktur eines α,ω-Di-[Δ^2-Imidazolinyl-(2)]-butans (V) zu.

V 

VI 

Bemerkenswert ist, dass die erwähnten Kondensationsprodukte von Di-thio-amiden mit Äthylendiamin den Charakter von monomeren Verbindungen tragen. Das bedeutet, dass die theoretisch mögliche Polymerisationsreaktion in diesem Fall und unter diesen Bedingungen durch die Ringschlussreaktion erfolgreich konkurrenziert wird.

Anders liegen die Verhältnisse, wenn man dem Adipinsäure-di-thio-amid die Möglichkeit zu Thiazolkondensationen mit dem sym-

metrischen Dibrom-diacetyl bietet. Die hierbei gewonnenen Produkte müssen auf Grund ihrer Eigenschaften als hochpolymere Verbindungen aufgefasst werden.

Molare Mengen von Adipinsäure-di-thio-amid und Dibrom-diacetyl wurden in absolutem Alkohol gelöst und blieben über Nacht stehen. Nach dieser Zeit hat sich ein schwachgelber, feinpulveriger Niederschlag abgeschieden[1]). Man erwärmt kurze Zeit auf dem Wasserbad und filtriert. Die Substanz konnte nicht zur Bildung grosser Krystalle gebracht werden und zeigte keinen scharfen Schmelzpunkt. Sie sintert bei 230° und zersetzt sich allmählich unter Schwarzfärbung. Die Verbindung ist in den gebräuchlichen, organischen Lösungsmitteln unlöslich. Sie löst sich ziemlich gut in konz. Salzsäure und Pyridin, besser in starker Bromwasserstoffsäure, Chinolin und Nitrobenzol. Aus allen Lösungen wird sie durch Alkohol als amorpher, feinpulveriger Niederschlag gefällt. Die salzsaure Lösung hinterlässt nach dem freiwilligen Abdunsten der Salzsäure eine durchscheinende, glasartige Masse.

Für die Konstitution kommt wohl nur eine kettenpolymere Struktur (VI) in Frage, da es unwahrscheinlich ist, dass eine Molekel Dibrom-diacetyl mit den beiden Thio-amidgruppen der gleichen Adipinsäure-di-thio-amidmolekel in Reaktion tritt. Diese Auffassung wird auch besonders durch die physikalischen Eigenschaften des Kondensationsproduktes gestützt[2]).

Die Analyse der durch Auskochen mit Alkohol gereinigten und im Vakuum bei 100° getrockneten Substanz ergab folgende Werte:

2,541 mg Subst. gaben 0,258 cm³ N_2 (14°, 739 mm)
2,341; 2,173 mg Subst. verbrauchten 2,120; 1,918 cm³ 0,02-n. Jodlösg.

$[C_{10}H_{10}N_2S_2]_n$ Ber. N 12,60 S 28,86%
Gef. „ 11,74 „ 27,73; 28,30%

Um den Unterschied zwischen monomeren und polymeren Thiazolderivaten des Adipinsäure-di-thio-amids zu verdeutlichen, wurde Adipinsäure-di-thio-amid mit ω-Bromacetophenon kondensiert.

1 Mol Adipinsäure-di-thio-amid wurden mit 2 Molen ω-Bromacetophenon in absolutem Alkohol etwa eine halbe Stunde auf dem Wasserbad erwärmt, wobei sich ein festes Reaktionsprodukt ausschied, das sich als ein Gemisch von α,ω-Di-[4-Phenyl-thiazolyl-(2)]-butan-dihydrobromid und freier Base erwies. Die beiden Substanzen konnten durch fraktionierte Krystallisation aus Alkohol sehr leicht getrennt werden. Zunächst krystallisierte das Hydrobromid in farblosen, nadelförmigen Krystallen vom Smp. 288°.

7,064 mg Subst. gaben 0,297 cm³ N_2 (13°, 748 mm)

$C_{22}H_{22}N_2S_2Br_2$ Ber. N 5,20 Gef. N 4,94%

Das Hydrobromid ist nicht beständig. Beim Aufbewahren, besonders im Vakuum, verwittern die Krystalle rasch. Die freie Base, die aus der Mutterlauge des Hydrobromids krystallisiert, erhält man in weissen, glänzenden Blättchen vom Smp. 89°.

2,214; 2,492 mg Subst. gaben 0,147; 0,164 cm³ N_2 (22°, 744 mm; 22°, 734 mm)
4,082 mg Subst. gaben 5,25 mg $BaSO_4$
1,998 mg Subst. verbrauchten 1,040 cm³ 0,02-n. Jodlösg.

$C_{22}H_{20}N_2S_2$ Ber. N 7,45 S 17,04%
Gef. „ 7,52; 7,35 „ 17,66; 16,92%

Zur Kontrolle wurde die Base auch aus dem Hydrobromid mittels Ammoniak in Freiheit gesetzt. Nach Ausäthern, Trocknen über festem Ätzkali und Abdunsten des Äthers erhält man aus Alkohol weisse, glänzende Blättchen vom Smp. 89°.

[1]) Die Kondensation verläuft wesentlich rascher in Amylalkohol.
[2]) Genaue Angaben hierüber werden in einer späteren Mitteilung folgen.

Das Pikrat krystallisiert aus Alkohol in grossen, gelben Nadeln vom Smp. 194°. Die Analyse zeigte, dass ein Monopikrat vorliegt.

3,204 mg Subst. gaben 0,313 cm³ N_2 (15°, 745 mm)
$C_{28}H_{23}O_7N_5S_2$ Ber. N 11,57 Gef. N 11,36%

Die Leichtigkeit, mit der ω-Bromacetophenon mit Adipinsäure-di-thio-amid reagierte, veranlasste uns, die Einwirkung dieses halogenierten Ketons auf Rubeanwasserstoff zu studieren. Überraschenderweise und im Gegensatz zu den Kondensationsversuchen mit Chloraceton wurde in glatter Reaktion das zu erwartende 4,4'-Diphenyl-2,2'-dithiazolyl erhalten.

Die Kondensation wurde in absolutem Alkohol bei Wasserbadtemperatur ausgeführt, wobei auf ein Mol Rubeanwasserstoff 2 Mole ω-Bromacetophenon zur Einwirkung kamen. Schon nach kurzem Erhitzen schied sich ein festes Reaktionsprodukt aus, das aus viel Alkohol umkrystallisiert werden konnte. Die farblosen Nadeln zeigten einen Schmelzpunkt von 222°.

5,095 mg Subst. gaben 12,56 mg CO_2 und 1,72 mg H_2O
2,627 mg Subst. gaben 0,200 cm³ N_2 (22°, 750 mm)
10,258 mg Subst. gaben 14,96 mg $BaSO_4$
$C_{18}H_{12}N_2S_2$ Ber. C 67,45 H 3,77 N 8,75 S 20,03%
Gef. „ 67,26 „ 3,78 „ 8,69 „ 19,98%

Ein Hydrobromid oder Pikrat konnte nicht erhalten werden.

Vergleichend lässt sich feststellen, dass Adipinsäure-di-thio-amid bedeutend reaktionsfähiger ist als Rubeanwasserstoff.

Die Mikroanalysen verdanken wir z. T. dem Mikrolaboratorium der *Gesellschaft für chemische Industrie* (Dr. *H. Gysel*), z. T. wurden sie in unserer Anstalt durchgeführt (Frl. *E. Beck* und Frl. *J. Ramser*).

Universität Basel, Anstalt für Anorganische Chemie.

---

57. Wanderungsdoppelbrechung von Fadenmolekelionen im elektrischen Feld

von **Werner Kuhn** und **Hans Kuhn.**

(12. II. 44.)

Betrachten wir ein geometrisch anisotropes, etwa ein länglich**es**, in einer Lösung befindliches Teilchen, welches an einem bestimmten Punkte, z. B. am Ende, eine elektrische Ladung e trage. Bringen wir dieses Teilchen in ein elektrisches Feld, so greift offenbar am Orte der Ladung eine der Feldstärke $\mathfrak{E}$ entsprechende Kraft

$$\mathfrak{K}_1 = e\,\mathfrak{E} \qquad (1)$$

an. Infolge der Einwirkung dieser Kraft wird das Ion gegenüber dem ruhenden Lösungsmittel eine Translationsgeschwindigkeit u erhalten und zwar wird

$$u = \frac{\mathfrak{K}_1}{\mu}$$

wenn μ die Beweglichkeit des Ions, d. h. die unter Wirkung der Kraft ein Dyn auftretende Wanderungsgeschwindigkeit ist. In diesem Falle ist nämlich die am Ion angreifende Reibungskraft

$$\Re_2 = -u \cdot \mu$$

und die Summe der am Ion angreifenden Gesamtkraft

$$\Re_1 + \Re_2 = 0;$$

d. h. es ist dann die Beschleunigung des Ions gleich Null, die Geschwindigkeit stationär.

Da wir uns die resultierende Reibungskraft $\Re_2$ ungefähr im Schwerpunkt des Teilchens, $\Re_1$ dagegen nach Voraussetzung am einen Ende desselben angreifend zu denken haben (Fig. 1), so sieht man, dass die Wirkungslinien von $\Re_1$ und $\Re_2$ im allgemeinen nicht zusammenfallen, so dass auf das sich bewegende Ion ein Kräftepaar wirkt, welches ein Drehmoment ausübt. Dabei ist die eine Komponente des Kräftepaars elektrostatischen, die andere hydrodynamischen Ursprungs. Das Drehmoment verschwindet nur dann, wenn der Vektor r, welcher die Angriffspunkte der Kräfte $\Re_1$ und $\Re_2$ verbindet, mit der Richtung des Feldes $\mathfrak{E}$ übereinstimmt; d. h.: der Vektor r (Fig. 1) wird durch die auf das wandernde Ion wirkenden Kräfte in die Feldrichtung eingestellt, sofern die *Brown*'sche Bewegung der Teilchenachse diese Orientierung nicht zu zerstören vermag.

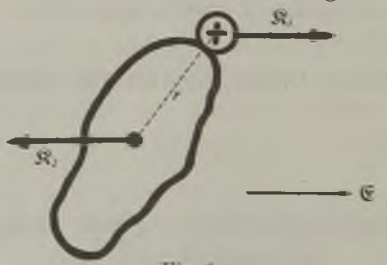


Fig. 1.

Ist das geometrisch anisotrope Teilchen auch optisch anisotrop (Stäbchendoppelbrechung, Eigendoppelbrechung), so erkennt man, dass eine in ein elektrisches Feld gebrachte Lösung solcher Teilchen infolge der im Felde auftretenden wenigstens teilweisen Orientierung doppelbrechend wird. Wir erwarten eine neue Art künstlicher Doppelbrechung, welche den bekannten ähnlichen Effekten wie *Kerr*-Effekt, *Maxwell*-Effekt, *Faraday*-Effekt oder der akustischen Doppelbrechung an die Seite zu stellen ist. Als Unterschied gegenüber diesen Effekten ist der schon erwähnte Umstand interessant, dass das bei der Ionenwanderungsdoppelbrechung auftretende, den Effekt bewirkende Kräftepaar aus zwei Komponenten verschiedener Natur (einer elektrostatischen einerseits, einer hydrodynamischen anderseits) zusammengesetzt ist.

Wie man qualitativ leicht erkennt, wird die erwartete Ionenwanderungsdoppelbrechung symbat mit der Konzentration, sowie mit der Stärke des angewendeten elektrischen Feldes ansteigen; ausserdem wird sie mit zunehmender Grösse des Abstandes r in Fig. 1, also mit zunehmender Linearabmessung des Ions zunehmen. Das letztere wird deswegen der Fall sein, weil mit zunehmendem Wert von r der Wert von $r \cdot \Re_1$, d. h. des möglichen Drehmoments, zunimmt, während die der Ausrichtung entgegenwirkende *Brown*'sche Bewegung der Molekelachse bekanntlich mit steigendem r abnimmt. Dies legt die Vermutung nahe, dass der erwartete Effekt am ehesten an solchen Ionen zu beobachten sein wird, die aus Fadenmolekeln bestehen, welche am einen Ende des Gesamtfadens eine durch Ionisation in Lösung entstehende elektrisch geladene Gruppe tragen.

Die teilweise Orientierung, welche sich durch Zusammenwirken von elektrischen und hydrodynamischen Kräften einerseits, der *Brown*'schen Bewegung andererseits ergibt, lässt sich in teilweiser Analogie zu Betrachtungen, welche vor kurzem mitgeteilt worden sind[1]), etwa wie folgt beschreiben:

a) Für starre Molekeln.

Wenn pro Kubikzentimeter Lösung G starre Molekeln vorhanden sind und wenn bei jeder Molekel der Abstand zwischen dem Angriffspunkt der elektrischen Kraft einerseits, der resultierenden hydrodynamischen Reibungskraft andererseits gleich r ist (Fig. 1), so wird die Verteilungsfunktion, d. h. die Anzahl von Molekeln pro Kubikzentimeter, deren Vektor r mit der Feldrichtung einen Winkel, welcher zwischen ϑ und $\vartheta + d\vartheta$ liegt, einschliesst, gleich

$$dG_{\vartheta, \vartheta + d\vartheta} = G \frac{\alpha}{e^{\alpha} - e^{-\alpha}} e^{-\alpha \cos \vartheta} \sin \vartheta \, d\vartheta \qquad (2)$$

wobei

$$\alpha = \frac{\mathfrak{E} e r}{kT} \qquad (3)$$

gesetzt ist. (k = *Boltzmann*'sche Konstante, T = absolute Temperatur.) Ist die mittlere Polarisierbarkeit des einzelnen Teilchens parallel bzw. senkrecht zum Vektor r gleich δ_1 bzw. gleich δ_2, so entspricht der durch (2) gegebenen Orientierung eine beobachtbare Ionenwanderungsdoppelbrechung

$$n_1 - n_2 = \frac{(n_0^2 + 2)^2}{6 n_0} \frac{4\pi}{3} G \left[1 - \frac{3}{\alpha}\left(\mathfrak{C}\mathrm{ctg}\, \alpha - \frac{1}{\alpha}\right)\right](\delta_1 - \delta_2) \qquad (4)$$

n_0 ist dabei der Brechungsindex des Lösungsmittels. Gegebenenfalls ist die Anisotropie des innern Feldes durch Wahl eines passenden Wertes von $(\delta_1 - \delta_2)$ zu berücksichtigen.

---

[1]) *W. Kuhn* und *H. Kuhn*, Helv. **26**, 1394 (1943), im Folgenden als l. c. I bezeichnet.

b) Für Fadenmolekeln, welche am einen Ende eine ionisierte Gruppe enthalten.

Bei bespülten Fadenmolekeln, welche am einen Ende eine ionisierte Gruppe enthalten, besteht der bei der Ionenwanderung eintretende Effekt einerseits in einer Orientierung des Vektors h, welcher den Anfangs- mit dem Endpunkt der Molekel verbindet, andererseits in einer teilweisen Entknäuelung der Fadenmolekel. In Anlehnung an die Bezeichnungen, welche in der erwähnten kürzlich erschienenen Arbeit über die Aufrollung von Fadenmolekeln in strömenden Lösungen (l. c. I) eingeführt worden sind, ergibt sich dabei als Unterschied der Polarisierbarkeit der Lösung parallel und senkrecht zum angelegten elektrischen Felde:

$$P_1 - P_2 = (\alpha_1 - \alpha_2)\, G \left[N_m - \sum_{i=1}^{i=N_m} \frac{3}{a_i} \left(\mathfrak{Cotg}\, a_i - \frac{1}{a_i} \right) \right] \tag{5}$$

Dabei ist a_i zur Abkürzung gesetzt für

$$a_i = \frac{\mathfrak{E}\, e}{kT} \frac{i - \frac{1}{2}}{N_m} A_m \tag{6}$$

Es bedeuten ferner, so wie früher: α_1 und α_2 die Polarisierbarkeiten des einzelnen statistischen Fadenelementes, N_m die Zahl von statistischen Vorzugselementen pro Fadenmolekel. Wenn, wie es in praktischen Fällen zutrifft,

$$\frac{e\, \mathfrak{E}\, A_m}{kT}$$

eine kleine Grösse ist (A_m ist die Länge des statistischen Vorzugselementes), so ergibt sich daraus als beobachtbare Ionenwanderungsdoppelbrechung:

$$(n_1 - n_2) = \mathfrak{E}^2 \cdot c \cdot \frac{(n_0^2 + 2)^2}{6\, n_0} \frac{4\pi}{3} (\alpha_1 - \alpha_2) \frac{N_L}{45 \cdot 10^3} A_m\, b \left(\frac{e}{kT} \right)^2 \tag{7}$$

Für kleine Werte von N_m wäre, etwas genauer, auf der rechten Seite dieser Gleichung ein Faktor

$$1 - \frac{1}{4 N_m^2}$$

anzufügen.

In Gleichung (7) ist bereits die Anzahl G von Fadenmolekeln pro Kubikzentimeter durch die Konzentration c in Grundmol pro Liter ersetzt, indem

$$G = \frac{c}{10^3} \cdot \frac{N_L}{Z}$$

ist. (N_L = *Loschmidt*'sche Zahl pro Mol; Z = Polymerisationsgrad.) Ausserdem bedeutet b die hydrodynamische Länge der Grundmolekel.

Aus (7) entnehmen wir: Die zu erwartende Wanderungsdoppelbrechung $(n_1 - n_2)$ von Fadenmolekelionen ist pro-

portional dem Quadrat der elektrischen Feldstärke, sowie proportional der Konzentration c in Grundmol pro Liter. Merkwürdigerweise ergibt sich, dass $n_1 - n_2$ unabhängig vom Polymerisationsgrade Z ist, indem Z selber oder eine zu Z proportionale Grösse auf der rechten Seite der Gleichung (7) nicht vorkommt.

In Analogie zu Begriffsbildungen, welche bei der Strömungsdoppelbrechung und bei der Viskosität die Eigenschaften einer polymerhomologen Reihe kennzeichnen, können wir das Ergebnis (7) in der Form festhalten, dass

$$\varepsilon = \frac{n_1 - n_2}{\mathfrak{E}^2 c} = K_\varepsilon \tag{8}$$

eine innerhalb einer polymerhomologen Reihe konstante, insbesondere von Konzentration c und angewandter Feldstärke $\mathfrak{E}$ unabhängige Grösse sein muss (solange nicht besondere Störungen zu Abweichungen Anlass geben). Wir bezeichnen daher die Grösse ε als die Wanderungsdoppelbrechungszahl.

Von grossem Interesse ist es, dass die Konstante K_ε mit der l. c. I eingeführten Strömungsdoppelbrechnungskonstanten K_ν in quantitative Beziehung gesetzt werden kann. Auf Grund von (7) und (8), sowie Gleichung l. c. I Nr. 29 ergibt sich nämlich:

$$K_\varepsilon = \frac{K_\nu}{\lambda b} \frac{4 e^2}{3 kT} \tag{9}$$

λ ist der l. c. I in Gleichung (11a, b) eingeführte Zahlenfaktor von der ungefähren Grösse

$$\frac{3\pi}{2}$$

Für Methyl-cellulose in Wasser gilt nach l. c. I:

$$K_\nu = 0{,}84 \times 10^{-9},\ b = 5{,}15 \times 10^{-8}\ \text{cm},\ \lambda = 6{,}3.$$

Wenn wir, wie es in den unten zu beschreibenden Versuchen geschehen ist, Molekeln von Methyl-cellulose anwenden, welche am einen Ende durch Oxydation mit einer Carboxylgruppe ausgestattet sind, so wird, sofern die Carboxylgruppe in wässeriger Lösung vollständig zur elektrolytischen Dissoziation gebracht wird, die in (9) vorkommende Ladung e gleich der einfachen elektrischen Elementarladung. Einsetzen der Zahlen in (9) gibt dann:

$$K_{\varepsilon,\,\text{ber}} = 1{,}9 \times 10^{-8}$$

Für endständig oxydierte Methyl-cellulose lässt sich somit der Betrag der zu erwartenden Ionenwanderungsdoppelbrechung quantitativ voraussagen.

Es sei noch erwähnt, dass sich für die Lösung von polymerhomologen Stabmolekelionen eine vom Polymerisationsgrad Z stark abhängige Wanderungsdoppelbrechungszahl $K'_{\varepsilon,\,\text{Stab}}$ ergeben würde, indem gelten müsste:

$$\varepsilon_{\text{Stab}} = K'_{\varepsilon,\,\text{Stab}} \cdot Z^2$$

Weiter sei bemerkt, dass sich auch für nicht völlig durchspülte Knäuel ähnliche Betrachtungen durchführen lassen mit dem Ergebnis, dass die Ionenwanderungsdoppelbrechungszahl ε sich im durchspülten und im nichtdurchspülten Fall nur wenig unterscheidet.

Experimentelles.

Um die Existenz der vorausgesagten Ionenwanderungsdoppelbrechung festzustellen, haben wir Methyl-cellulose durch saure Hydrolyse bis zu einem Polymerisationsgrad von etwa $Z = 60$ abgebaut und darauf die Endgruppen durch Jod oxydiert. Die Ionenwanderungsdoppelbrechung der so erhaltenen Methyl-cellulose-monocarbonsäure wurde darauf in wässeriger Lösung zwischen vergoldeten Platten-Elektroden von einem Meter Länge, welche sich in einem Abstand von 4 mm gegenüberstanden, untersucht. Die angewendeten Feldstärken lagen zwischen 450 und 1200 Volt pro cm. Es wurde erwartungsgemäss eine starke positive Ionenwanderungsdoppelbrechung festgestellt. Sie ist in 1-proz. Lösung etwa 100mal grösser als der gleichzeitig am Lösungsmittel (Wasser) auftretende elektrooptische *Kerr*-Effekt.

Die erhaltenen Ergebnisse sind in Fig. 2 und 3 deutlich gemacht. Fig. 2 zeigt den gemäss Gl. (7) zu erwartenden Anstieg der beobachteten Doppelbrechung $(n_1 - n_2)$ mit der Konzentration c in Grundmol pro Liter. Fig. 3 zeigt die ebenso vorausgesagte Proportionalität mit dem Quadrat der elektrischen Feldstärke $\mathfrak{E}$.

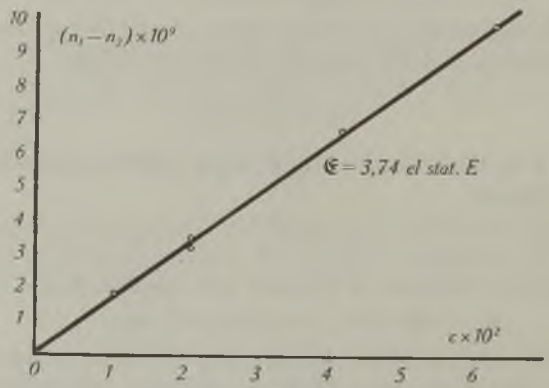


Fig. 2.

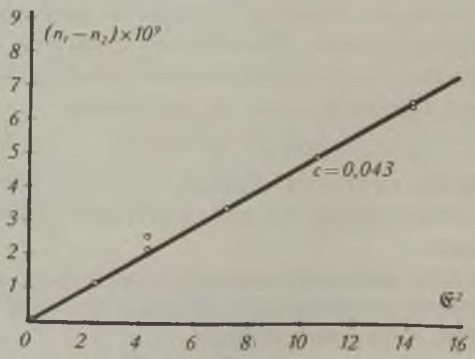


Fig. 3.

Der aus diesen Messungen folgende Betrag der Wanderungsdoppelbrechungskonstanten K_ε ist gleich $1{,}1 \times 10^{-8}$. Er ist zu vergleichen mit dem vorhin im Anschluss an (9) aus der Strömungsdoppelbrechungskonstanten K_ν berechneten Werte $K_{\varepsilon,\,ber} = 1{,}9 \times 10^{-8}$. Wenn man berücksichtigt, dass zur Ermittlung von $K_{\varepsilon,\,ber}$ Daten über die Strömungsdoppelbrechung benützt sind, die mit ganz andern Präparaten erhalten wurden als unsere Wanderungsdoppelbrechungsdaten, so ist die Übereinstimmung zwischen K_ε und $K_{\varepsilon,\,ber}$ sehr befriedigend. Tatsächlich zeigen weitere Versuche, über welche demnächst berichtet werden soll, dass erstens der Betrag des Effekts vom Ausgangsmaterial etwas abhängt, und zweitens, dass sich der Wanderungsdoppelbrechung eine rein elektrostatische Doppelbrechung der Makromolekel überlagert. Die gefundene Übereinstimmung kann daher als grundsätzliche Stütze für die mitgeteilten Modellbetrachtungen angesehen werden. Anderseits dürfte die Weiterverfolgung des Effekts interessante Aufschlüsse über die Molekelform und über die Verteilung der elektrischen Ladungen auf der Molekel bei Methyl-cellulose und bei anderen Verbindungen gestatten. Es sei erwähnt, dass ein ähnlicher Effekt auch bei Gelatine-Lösungen beobachtet werden kann.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Basel.

---

58. Zur Frage der Cyclo-pentan-1,3-dione

(4. Mitteilung über Ketone, Ketonsäuren und Enol-lactone[1])

von **Paul Ruggli** und **Julius Schmidlin.**

(12. II. 44.)

Vor kurzem zeigten *P. Ruggli* und *A. Maeder*[2]), dass manche Reaktionen, die zu Derivaten des in der Grundform unbekannten Cyclo-pentan-1,3-dions (I) führen könnten, statt dessen ein isomeres Enol-lacton (II) ergeben.

Es war daher wünschenswert, den Aufbau eines 5-Ring-β-Diketons (I) von einem fertigen Cyclopentan-Derivat aus zu versuchen. Als Ausgangsmaterial kamen Cyclopentan-1,2,4-triketone in Betracht, in denen eine der beiden benachbarten Ketongruppen durch Methylen zu ersetzen war.

Wir gingen daher vom 1,3-Diphenyl-cyclopentan-2,4,5-trion oder „Oxalyl-dibenzyl-keton" (III) aus, das nach *L. Claisen* und *Th. Ewan*[3]) durch Kondensation von Dibenzyl-keton mit Oxalester in Gegenwart von Natriumäthylat leicht erhältlich ist. Die Formel III wurde von den Forschern eingehend begründet. Auch die gelbe Farbe spricht für zwei benachbarte Ketongruppen. Die Enolisation, die in verschiedener Weise formuliert werden kann, dürfte vorwiegend im Sinne der Formel IV eintreten[4]).

---

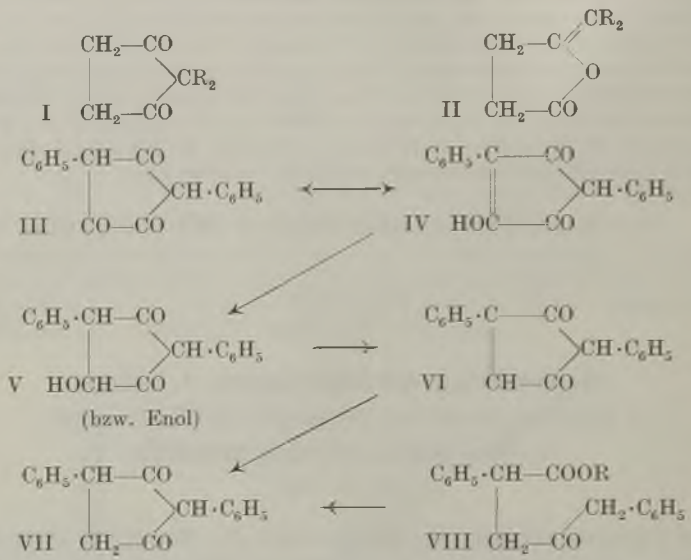
[1]) *P. Ruggli* und *A. Maeder*, Helv. **27**, 436 (1944).

[2]) Helv. **26**, 1476, 1499 (1943).

[3]) A. **284**, 250 (1895).

[4]) Andernfalls müsste die von uns beschriebene Reaktionsfolge zu einem cyclischen 1,2-Diketon führen, das in der farblosen Substanz VII nicht vorliegen kann.

Das Triketon (III bzw. IV) liess sich leicht hydrieren und ergab ein Dihydro-Produkt (V), das bei gelinder Behandlung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin ein (offenbar von einem Enol abzuleitendes) Diacetyl-Derivat gibt. Erhitzt man die Substanz V jedoch auf 185°, so spaltet sie Wasser ab, und es entsteht eine neue Doppelbindung (VI), die schliesslich wieder hydriert wird (VII).



Die erhaltene Substanz (VII) erwies sich nun als identisch mit einem von *S. Eskola*[1]) beschriebenen Körper, der aus α-Phenyl-γ-benzyl-$\Delta^{\alpha,\beta}$-croton-lacton mit Natriummethylat in Methanol entsteht. Die Umwandlung verläuft nach Mitteilung der genannten Autorin zunächst unter Verschiebung der Doppelbindung nach β,γ, darauf unter Bildung des α,δ-Diphenyl-lävulinsäure-esters (VIII) und dessen innere Esterkondensation zum Diketon (VII). Nachdem wir auch diese Synthese wiederholt und die Präparate durch die Mischprobe identifiziert haben, scheint die 1,3-Dion-Formel (VII) durch zwei unabhängige Synthesen gestützt.

Wir möchten vorläufig nur diese experimentelle Übereinstimmung feststellen, denn die Konstitution scheint uns noch nicht sichergestellt. So teilt *S. Eskola*[2]) mit, dass die Substanz (VII) nicht mit Ketonreagentien umgesetzt werden konnte und durch Kochen in Natronlauge nicht gespalten wird. Auch andere Autoren fanden in ähnlichen Fällen bemerkenswerte Eigenschaften, so dass man die Frage diskutieren muss, ob man den Cyclopentan-1,3-dionen unge-

[1]) Suomen Kemistilehti (B) 15, 17, 19 (1942).

[2]) *S. Eskola*, Diss. Helsinki 1937, S. 54. Wir danken der finnischen Kollegin für die Freundlichkeit, mit der sie uns ihre Arbeiten zugänglich gemacht hat.

wöhnliche Eigenschaften zuschreiben soll, oder ob sie eine andere Struktur besitzen. Da mehrere Isomeriemöglichkeiten in Betracht zu ziehen sind, kann die Konstitutionsfrage nur durch weitere Versuche unter Heranziehung eines grösseren Materials geklärt werden.

Experimenteller Teil.

Dibenzyl-keton.

Von den in der Literatur erwähnten Darstellungsmethoden für Dibenzyl-keton wurde die neueste Angabe von *C. D. Hurd, R. Christ* und *Ch. L. Thomas*[1]), wonach Phenylessigsäure-anhydrid bei der Destillation im Vakuum unter Kohlendioxydabspaltung das gewünschte Keton ergibt, zuerst erprobt. Da unsere Ausbeuten hinter den angegebenen zurückblieben, benutzten wir mit Vorteil das ältere Verfahren der trockenen Destillation von sorgfältig entwässertem Calcium-phenylacetat nach *H. Apitzsch*[2]), das uns mit 75% Reinausbeute das gewünschte Keton vom Smp. 33,5° (Lit. 34°) lieferte.

1,3-Diphenyl-cyclopentan-2,4,5-trion (III).

Wir konnten die Angaben von *L. Claisen* und *Th. Ewan*[3]) über die Kondensation von Oxalester mit Dibenzyl-keton in allen Punkten bestätigen und erhielten das Kondensationsprodukt mit 90% Rohausbeute. Nach Umlösen aus kochendem Xylol (50 g: 320 cm³) wurde das Produkt mit Benzol und Äther ausgewaschen. Aus 42 g Dibenzylketon erhielten wir 33 g vom Smp. 190—192° (Lit. 192—193°).

2,4-Diphenyl-5-oxy-cyclopentan-1,3-dion (V oder Enol).

20 g Oxalyl-dibenzyl-keton (III) wurden in 300 cm³ Alkohol von 50° gelöst und noch warm unter Zugabe von *Raney*-Nickel in eine Hydrierflasche gebracht. Ohne weiteres Erwärmen wurde unter dem geringen Überdruck von 1 m Wassersäule in 6 Stunden 20 Minuten die für 1 Molekel Wasserstoff berechnete Menge von 1655 cm³ aufgenommen. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde der Alkohol im Vakuum vollständig abdestilliert und der dunkle Rückstand in 30 cm³ siedendem Eisessig gelöst. Nach mehrstündigem Stehen wurden die weissen Krystalle abgesaugt und getrocknet, 14,8 g. Durch Einengen im Vakuum erhielt man weitere Anteile, so dass die Gesamtausbeute 17,2 g oder 86% der Theorie betrug. Durch Umkrystallisieren aus siedendem Eisessig, Waschen mit Tetrachlorkohlenstoff und Petroläther und Trocknen an der Luft wurden 14,5 g vom Smp. 173—175° unter Zersetzung erhalten. Zur Analyse wurde noch mehrmals aus Alkohol-Ligroin (1 : 4) umgelöst; diese Präparate schmolzen bei 171 bis 173° unter Zersetzung (Gasentwicklung und Gelbfärbung).

4,111 mg Subst. gaben 11,549 mg CO_2 und 2,008 mg H_2O

$C_{17}H_{14}O_3$ Ber. C 76,67 H 5,30%
Gef. „ 76,66 „ 5,47%

Die Substanz löst sich in Natriumcarbonatlösung schon in der Kälte.

Di-acetyl-Derivat. 2 g der Substanz V werden in 10 cm³ reinem Pyridin kalt gelöst und in etwa 45 Minuten 8 cm³ Essigsäure-anhydrid zugetropft, wobei man durch gelinde Kühlung die Temperatur zwischen 15 und 20° hält. Man lässt noch 4 Stunden stehen und giesst unter starkem Rühren in 200 cm³ 2-n. Schwefelsäure. Nach eintägigem Rühren ist das gelbrote Reaktionsprodukt grösstenteils krystallin geworden. Nach Dekantieren und Trocknen auf Ton digeriert man mit 3 cm³ Äther und wäscht nach Absaugen noch zweimal mit je 2 cm³ Äther nach. (Der Ätherrückstand gibt nach Umlösen aus Toluol 0,1 g des unten beschriebenen Anhydrisierungsproduktes VI vom Smp. 146°.)

Das in Äther ungelöste Produkt (1,25 g) vom Rohsmp. 89—92° wird in 3 cm³ warmem Benzol gelöst und vorsichtig mit insgesamt 9 cm³ heissem Ligroin versetzt, wo-

[1]) Am. Soc. **55**, 2591 (1933).
[2]) B. **37**, 1429 (1904). [3]) A. **284**, 250 (1895).

bei sich 0,9 g farblose Krystalle abscheiden, die nach weiterem zweimaligem Umkrystallisieren 0,6 g vom Smp. 114,5—115,5° ergeben. Bei langsamem Erkalten bilden sich glasklare rhombische Krystalle.

4,617 mg Subst. gaben 12,201 mg CO_2 und 2,096 mg H_2O

$C_{21}H_{18}O_5$ Ber. C 71,99 H 5,18%
Gef. „ 72,11 „ 5,08%

2,4-Diphenyl-cyclopenten(4)-1,3-dion.
(Dehydratisierungsprodukt VI.)

3 g der Substanz V werden mit 4 g wasserfreiem Glycerin verrührt und 30 Minuten lang im Ölbad auf 185—190° Innentemperatur erhitzt. Nach Erkalten auf 100° giesst man in 30 cm³ siedendes Wasser. Nachdem das gelbbraune Reaktionsprodukt fest geworden ist, wird es zerkleinert, abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Durch Umkrystallisieren aus wenig Toluol erhält man 1,2—1,5 g gelbe Nädelchen, die nach weiterem Umlösen bei 146—146,5° schmelzen.

4,584; 4,097 mg Subst. gaben 13,820; 12,327 mg CO_2 und 1,993; 1,766 mg H_2O

$C_{17}H_{12}O_2$ Ber. C 82,24 H 4,87%
Gef. „ 82,27; 82,11 „ 4,86; 4,82%

Die Substanz ist in verdünnter Natronlauge erst beim Erwärmen löslich. Die wässrig-alkoholische Lösung gibt keine Färbung mit Eisen(III)-chlorid.

2,4-Diphenyl-cyclopentan-1,3-dion (VII).

1 g des vorigen Präparates (VI) wurde in 30 cm³ Benzol von 40° gelöst und nach Zugabe von *Raney*-Nickel bei Zimmertemperatur hydriert. Nach 20 Minuten und Aufnahme von 119 cm³ Wasserstoff (18°, 753 mm) entsprechend 1 Mol kam die Hydrierung zum Stillstand, und es hatten sich farblose kurze Nadeln abgeschieden. Nach Erwärmen und Absaugen des Katalysators wurde das Benzol durch Erwärmen unter vermindertem Druck bis auf 2 cm³ entfernt. Der krystalline Brei wurde auf Ton gestrichen; Ausbeute 0,75 g vom Smp. 192—196°. Die Substanz wurde aus alkoholhaltigem Benzol oder besser Xylol, schliesslich aus Methanol umkrystallisiert und zeigte den Smp. 204—205° (unkorr.).

4,394; 4,149 mg Subst. gaben 13,098; 12,430 mg CO_2 und 2,285; 2,185 mg H_2O

$C_{17}H_{14}O_2$ Ber. C 81,58 H 5,64%
Gef. „ 81,34; 81,76 „ 5,82; 5,89%

Die Substanz löst sich in 2-n. Natriumcarbonat schon in der Kälte. Eine warme Lösung in 50-proz. Alkohol gibt mit Eisen(III)-chlorid eine grüne Färbung, wie schon von *S. Eskola* beobachtet wurde. Eine kalt bereitete Dioxanlösung gibt beim Eingiessen in Eisen(III)-chlorid enthaltendes Wasser eine stahlblaue Färbung. Die alkoholische Lösung gibt mit wässriger Kupferacetatlösung eine ockerbraune Kupferverbindung. Diese ist in allen untersuchten Lösungsmitteln, auch Chloroform, unlöslich und konnte daher nicht umkrystallisiert werden.

Die Darstellung des 2,4-Diphenyl-cyclopentan-1,3-dions (VII) nach *S. Eskola*[1]) aus α-Phenyl-γ-benzyl-$\Delta^{\alpha,\beta}$-crotonlacton führte zu einem gleichartigen Produkt vom Smp. 204—205° (*S. Eskola* 206°). Die Mischprobe mit dem nach unserem Verfahren dargestellten Produkt gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Universität Basel, Anstalt für Organische Chemie.

[1]) Suomen Kemistilehti [B] **15**, 17, 19 (1942); C. **1942**, II, 896.

59. Steroide und Sexualhormone.

(93. Mitteilung[1]).

Über die Hydrierung der beiden Oxyde von trans-Dehydro-androsteron-acetat

von L. Ruzicka und A. C. Muhr.

(12. II. 44.)

Beim Versuch, das Oxyd des trans-Dehydro-androsteron-acetats vom Smp. 222—223° durch Hydrierung mit Platin in Eisessig in das Mono-acetat des Androstendiol-oxyds überzuführen, machten wir die Beobachtung, dass die Hydrierung erst nach Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff zum Stillstand kam. An Stelle des gesuchten Oxydes entstand in guter Ausbeute ein um zwei Wasserstoffatome reicheres Produkt, dessen Konstitution als die eines 3β-Acetoxy-5,17-dioxy-androstans sichergestellt werden konnte[2]). Diese Beobachtung veranlasste uns, die Hydrierung der beiden isomeren Oxyde des trans-Dehydro-androsteron-acetats etwas eingehender zu untersuchen.

Oxyde des trans-Dehydro-androsterons bzw. seines Acetats sind schon von verschiedener Seite hergestellt worden. Aus dem bei der Oxydation mit Persäuren entstehenden Gemisch wurde von den meisten Autoren[3])[4]) ein Oxyd vom Smp. 228—230° sowie ein Oxido-acetat vom Smp. 222—223° isoliert. Das Oxyd lässt sich durch Behandlung mit Acetanhydrid in das Oxido-acetat überführen[5]), so dass der Zusammenhang zwischen diesen beiden Verbindungen, die im allgemeinen als α-Formen bezeichnet werden, geklärt ist. Nur *Ehrenstein*, der das Acetat vom Smp. 222—223° auch bei der Oxydation von trans-Dehydro-androsteron-acetat mit Kaliumpermanganat in Eisessig erhalten hatte, gab ihm ursprünglich die Bezeichnung β-Oxido-acetat, die jedoch später[6]) in α-Oxido-acetat abgeändert wurde. Bei der gleichen Oxydation isolierte *Ehrenstein* ein zweites isomeres Oxido-acetat des trans-Dehydro-androsterons, das bei 188—190° schmolz. Anzeichen für die Entstehung eines isomeren Oxydes lagen auch bei der Oxydation mit Persäuren vor, doch war bei dieser Arbeitsweise das isomere Acetat vom Smp. 188—190° (von *Ehrenstein* ursprünglich α-, später[6]) β-Oxido-acetat genannt) noch nicht erhalten worden.

[1]) 92. Mitt. Helv. **27**, 390 (1944).

[2]) Über eine ähnliche Beobachtung vgl. *E. Fernholz*, A. **508**, 215 (1934).

[3]) *N. D. Zelinsky* und *M. I. Uschakow*, C. **1937**, II, 2534; *M. I. Uschakow* und *A. I. Lutenberg*, C. **1938**, I, 4659; *K. Miescher* und *W. H. Fischer*, Helv. **21**, 336 (1938); *L. Ruzicka, L. Grob* und *S. Raschka*, Helv. **23**, 1518 (1940).

[4]) *M. Ehrenstein* und *M. T. Decker*, J. Org. Chem. **5**, 544 (1940).

[5]) *M. Ehrenstein* und *M. T. Decker*, J. Org. Chem. **5**, 555 (1940).

[6]) *M. Ehrenstein*, J. Org. Chem. **6**, 629 (1941).

Die Verhältnisse scheinen hier ähnlich zu liegen wie bei den Oxyden des Cholesterins, wo bei der Oxydation mit Persäuren ebenfalls nur eines der beiden Stereoisomeren leicht in reiner Form zu isolieren ist[1]).

Durch Anwendung der chromatographischen Trennungsmethode konnten wir nun das durch Oxydation von trans-Dehydro-androsteron-acetat mit Phthalmonopersäure entstehende Gemisch ziemlich vollständig in zwei isomere Oxido-acetate auftrennen[2]). Die eine, bei 222—223° schmelzende Verbindung war identisch mit dem oben erwähnten α-Oxido-acetat. Dieses zeigt in Aceton und Chloroform nach übereinstimmenden Angaben[3])[4]) eine spez. Drehung $[\alpha]_D$ von etwa −11°. Für das zweite isolierte Isomere, das β-Oxido-acetat, fanden wir in annähernder Übereinstimmung mit den Angaben von *Ehrenstein* einen Schmelzpunkt von 186—187°. Während *Ehrenstein* für diese Verbindung in Aceton aber eine spez. Drehung von + 58° findet, zeigte unser Präparat in diesem Lösungsmittel ein $[\alpha]_D$ von + 47°, in Chloroform den noch tieferen Wert von etwa + 41°. Es scheint jedoch möglich, dass unseren Präparaten noch gewisse Mengen des linksdrehenden α-Oxido-acetates beigemengt waren.

Trotz dieser Unsicherheit über die genaue spez. Drehung der β-Verbindung kann auf Grund der Drehungen der Schluss gezogen werden, dass die als α- bzw. β-Oxyde des trans-Dehydro-androsteron-acetats bezeichneten Verbindungen sterisch mit den α- bzw. β-Cholesterin-oxyd-acetaten übereinstimmen. Diese Schlussfolgerung ist auf Grund von Analogien im chemischen Verhalten bereits von *Ehrenstein*[4]) gezogen worden und wird auch durch die Resultate der Hydrierung bestätigt. Bildet man nämlich die Differenz der Drehungen der α- und β-Verbindungen, so ergibt sich bei den Oxyden des Cholesterin-acetats ein Drehungsunterschied $(\alpha - \beta)$ von −45°[5]), der unter Berücksichtigung der Molekulargewichte mit der bei den beiden Oxyden des trans-Dehydro-androsterons[6]) beobachteten Differenz von etwa −58° befriedigend übereinstimmt. Auf die Frage nach der Konfiguration dieser Oxyde soll im Zusammenhang mit einer Untersuchung über die Konfiguration von α- und β-Cholesterin-oxyd-acetat eingegangen werden. Hier möchten wir nur feststellen, dass die für diese Oxido-acetate verwendeten Bezeichnungen α und β, wie bereits erwähnt, vorläufig keine sterische Zuordnung bedeuten sollen.

---

[1]) Vgl. dazu Helv. **27**, 513 (1944).

[2]) Wir bezeichnen diese in Anlehnung an die bereits von *Ehrenstein* verwendete und auch in der Cholesterin-Reihe übliche Benennung als α- bzw. β-Oxido-acetate, wobei jedoch über die Lage der Oxido-Gruppe inbezug auf das Sterin-Gerüst nichts ausgesagt werden soll.

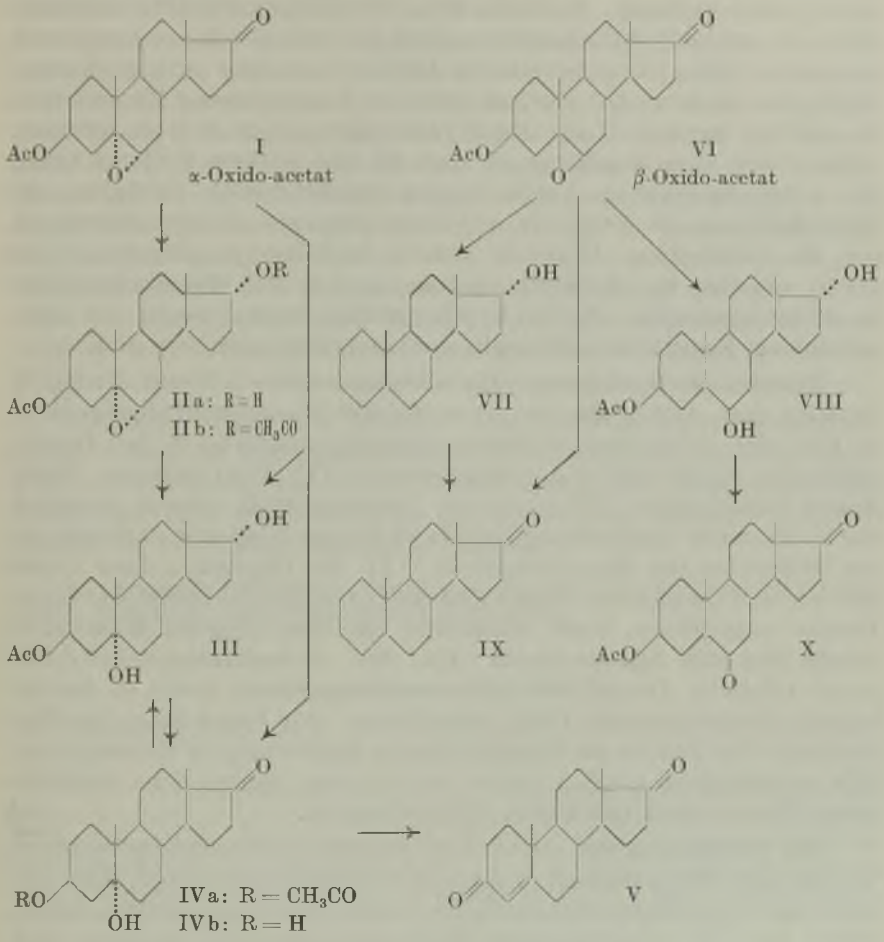
[3]) *L. Ruzicka, L. Grob* und *S. Raschka*, Helv. **23**, 1518 (1940).

[4]) *M. Ehrenstein*, J. Org. Chem. **6**, 629 (1941).

[5]) Vgl. dazu Helv. **27**, 513 (1944).

[6]) Wir haben dabei für das β-Oxido-acetat (VI) des trans-Dehydro-androsterons den mittleren Wert $[\alpha]_D = +47°$ in Rechnung gestellt.

Das gleiche gilt auch für die von uns gewählten Projektionsformeln (I) bzw. (VI), die allerdings aus praktischen Gründen so gewählt wurden, dass beispielsweise bei der α-Verbindung die Bindungen zum Oxyd-Sauerstoff punktiert dargestellt wurden, wie es für in α-Stellung, d. h. unterhalb der Projektionsebene liegende Substituenten heute üblich ist[1]).



Bei der Hydrierung des α-Oxido-acetats (I) mit Platin (*Adams*) in Eisessig entstand, wie bereits kurz erwähnt, in fast quantitativer Ausbeute das 3-Mono-acetat (III) des 3β,5,17-Trioxy-androstans. Das Präparat schmolz etwas unscharf bei 192—197°. Möglicherweise lag ein Gemisch der in 17-Stellung epimeren Oxy-Verbindungen vor.

[1]) *M. Ehrenstein* [J. Org. Chem. **6**, 628 (1941)] hat die umgekehrte Schreibweise gewählt.

Bei der Oxydation mit Chromsäure wurde nur die eine Oxy-Gruppe, diejenige in Stellung 17, angegriffen, was als erster Beweis für die Stellung des zweiten Hydroxyls am C-Atom 5 angesehen werden kann. Dabei wurde das 3β-Acetoxy-5-oxy-androstanon-(17) (IVa) gebildet. Diese Verbindung liess sich unter milden Bedingungen nicht acetylieren und wurde auch bei der Behandlung mit Chromsäure bei 40° nicht weiter oxydiert. An Stelle eines Oxydationsproduktes entstand dabei ein goldgelber Chromsäure-ester, der sich mit konz. Lauge wieder spalten liess. Da anderseits die Anwesenheit eines aktiven Wasserstoffatoms nachweisbar war, so kann die angenommene Konstitution bis auf die sterische Lage der Hydroxylgruppe an C 5 als bewiesen gelten. Diese Einschränkung gilt auch für alle weiteren in dieser Arbeit als 5-Oxy-androstan-Verbindungen beschriebenen Produkte, die möglicherweise als 5-Oxy-ätiocholan-Derivate zu formulieren wären. Die Verbindung (IVa) liess sich zu 3β,5-Dioxy-androstanon-(17) (IVb) verseifen, das durch Oxydation (an C 3) und Wasserabspaltung in Δ^4-Androstendion-(3,17) (V) übergeführt wurde, womit die angenommenen Konstitutionsformeln wohl endgültig gesichert sind.

Wurde die Hydrierung des α-Oxido-acetats (I) mit Platin in Eisessig nach Aufnahme von einer Molekel Wasserstoff abgebrochen, so liess sich neben unverändertem Ausgangsmaterial in der Hauptsache das 3β-Acetoxy-5-oxy-androstanon-(17) (IVa) isolieren. Unter diesen Bedingungen (Eisessig als Lösungsmittel) scheint demnach die hydrierende Aufspaltung des Oxyd-Ringes rascher zu erfolgen als die Reduktion der Keto-Gruppe in C 17. Im Gegensatz dazu wurde bei der Hydrierung mit Platin (*Adams*) in Alkohol zuerst die Keto-Gruppe angegriffen. Nach Aufnahme von einer Molekel Wasserstoff wurde hier das 3-Mono-acetat (IIa) des Δ^5-Androstendiol-(3β,17)-oxyds erhalten. Dieses liess sich erwartungsgemäss leicht in das bekannte Oxido-diacetat (IIb)[1]) überführen. Der Oxyd-Ring der Verbindung (IIa) konnte nachträglich durch Hydrierung in Eisessig ebenfalls aufgespalten werden, wobei wir zu dem bereits oben beschriebenen Mono-acetat des Triols (III) gelangten.

Die Hydrierung des α-Oxyds (I) des trans-Dehydro-androsteron-acetats liess sich demnach in einfacher Weise derart leiten, dass entweder der Oxyd-Ring oder die Keto-Gruppe zuerst angegriffen wurde, wobei man die entsprechenden Hydrierungsprodukte in guten Ausbeuten erhielt.

Ganz abweichend davon verhielt sich das β-Oxyd (VI) des trans-Dehydro-androsteron-acetats. Beim Hydrieren desselben mit Platin (*Adams*) in Eisessig wurde bei bedeutend rascherer Wasserstoff-Aufnahme ein Verbrauch von 3 Molekeln Wasserstoff beobachtet. In der Hauptsache war dann unter vollständiger Eliminierung der ur-

[1]) *O. S. Madajewa, M. I. Uschakow* und *N. T. Koschelewa*, C. **1940**, II, 1298.

sprünglich an C 3 und C 5–C 6 stehenden zwei Sauerstoffatome das 17α-Oxy-androstan (VII) entstanden. Im Gegensatz zum Verhalten des α-Oxyds wurde der Oxyd-Ring der β-Verbindung bei der Hydrierung mit Platin in Alkohol, wenn auch langsam, angegriffen. Als Reaktionsprodukt liess sich auch dann das 17α-Oxy-androstan (VII) erhalten. Wurde die Hydrierung des β-Oxido-acetats (VI) in Eisessig nach Aufnahme von 2 Molekeln Wasserstoff unterbrochen und das Reaktionsprodukt einer sorgfältigen chromatographischen Analyse unterworfen, so erhielten wir neben dem bereits erwähnten Alkohol (VII) noch Androstanon-(17) (IX) und das Mono-acetat $C_{21}H_{34}O_4$ eines Triols. Zum Unterschied vom isomeren 3β-Acetoxy-5,17-dioxy-androstan (III) liessen sich bei dem neuen Monoacetat die beiden durch Hydrierung entstandenen Oxy-Gruppen zu Keto-Gruppen oxydieren. Im Hydrierungsprodukt $C_{21}H_{34}O_4$ dürfte demnach das 3β-Acetoxy-6,17-dioxy-androstan (VIII) vorliegen, während das Oxydationsprodukt als 3β-Acetoxy-androstandion-(6,17) (X) formuliert wird. Die Zuordnung dieser Verbindungen zur Androstan-Reihe erfolgt im wesentlichen auf Grund analoger Beobachtungen, die bei der Hydrierung des Acetats des β-Cholesterin-oxyds gemacht wurden[1]).

Die Hydrierung des β-Oxyds von trans-Dehydro-androsteron-acetat verlief also recht uneinheitlich, teilweise spaltete sich der Oxyd-Ring unter Bildung von 6-Oxy-Verbindungen auf, grösstenteils aber wurde das Oxyd-Sauerstoffatom und gleichzeitig auch die Acetoxy-Gruppe in 3-Stellung vollständig eliminiert.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[2]).

Herstellung der beiden stereoisomeren Oxyde (I bzw. VI) aus trans-Dehydro-androsteron-acetat.

17,0 g trans-Dehydro-androsteron-acetat wurden in 100 cm³ Tetrachlorkohlenstoff gelöst und mit 500 cm³ einer ätherischen Lösung von Phtalmonopersäure (1 cm³ = 4,2 mg Sauerstoff) versetzt. Nach 48 Stunden entzog man der Lösung die sauren Bestandteile durch Ausschütteln mit Soda-Lösung und Wasser, trocknete mit Natriumsulfat und dampfte das Lösungsmittelgemisch ab. Der Rückstand lieferte beim Umkrystallisieren aus Essigester als schwerlöslichen Anteil 3,0 g feine Nadeln vom Schmelzpunkt 220—222°. Es liegt das 3β-Acetoxy-α-5,6-oxido-androstanon-(17) (I) vor.

Der in den Mutterlaugen verbleibende Rest der Reaktionsprodukte (14 g) wurde in Hexan gelöst und an einer Säule aus 80 g Aluminiumoxyd *(Brockmann)* chromatographiert. Mit Benzol konnten 10,1 g aus Essigester-Alkohol in Blättchen krystallisierende Substanz eluiert werden, die nach zweimaligem Umkrystallisieren konstant bei 186—187° schmolz. Es liegt das 3β-Acetoxy-β-5,6-oxido-androstanon-(17) (VI) vor. Benzol-Äther-Gemische lösten unscharf schmelzende Zwischenfraktionen ab, die nicht weiter verarbeitet

[1]) Helv. **27**, 513 (1944).

[2]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

wurden. Mit Äther liessen sich schliesslich noch weitere 1,1 g α-Oxido-acetat eluieren, die nach Umkrystallisieren aus Essigester-Alkohol zu einer bei 222—224° schmelzenden Spitzenfraktion führten. Zur Analyse wurden die Substanzen im Hochvakuum 18 Stunden getrocknet.

α-Oxido-acetat: 3,710 mg Subst. gaben 9,897 mg CO_2 und 2,845 mg H_2O

$C_{21}H_{30}O_4$ Ber. C 72,80 H 8,73%
Gef. „ 72,80 „ 8,58%

$[\alpha]_D^{14} = -11{,}8^0$; -12^0 (c = 1,226; 1,130 in Chloroform)

$[\alpha]_D^{16} = -12{,}4^0$ (c = 1,163 in Aceton)

β-Oxido-acetat: 3,714 mg Subst. gaben 9,920 mg CO_2 und 2,883 mg H_2O

$C_{21}H_{30}O_4$ Ber. C 72,80 H 8,73%
Gef. „ 72,89 „ 8,69%

$[\alpha]_D^{15} = +40{,}7^0$; $+40{,}3^0$ (c = 1,595; 1,320 in Chloroform)

$[\alpha]_D^{15} = +47^0$ (c = 1,128 in Aceton)

Hydrierung von 3β-Acetoxy-α-5,6-oxido-androstanon-(17) (I) zu 3β-Acetoxy-5,17-dioxy-androstan (III).

300 mg α-Oxido-acetat (I) wurden in 25 cm³ reinem Eisessig mit 72,7 mg Platinoxyd hydriert. In 5 Stunden wurden 50,6 cm³ (760 mm, 0°) Wassersoff aufgenommen (Ber. 2 Mol für $C_{21}H_{30}O_4$ = 39,9; für PtO_2 = 14,3 cm³). Die Hydrierung stand darnach still. Nun wurde vom Platin abfiltriert und der Eisessig im Vakuum abgedampft. Der Rückstand ergab beim Umkrystallisieren aus wässerigem Methanol feine Blättchen vom Smp. 192—197°. Zur Analyse wurde das 3β-Acetoxy-5,17-dioxy-androstan 14 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

4,008 mg Subst. gaben 10,570 mg CO_2 und 3,490 mg H_2O

$C_{21}H_{34}O_4$ Ber. C 71,96 H 9,78%
Gef. „ 71,97 „ 9,74%

Oxydation von 3β-Acetoxy-5,17-dioxy-androstan (III) zu 3β-Acetoxy-5-oxy-androstanon-(17) (IVa).

90 mg Triol-monoacetat (III) wurden in 4 cm³ Eisessig gelöst, mit einer Lösung von 40 mg Chromtrioxyd in 3 cm³ 90-proz. Essigsäure versetzt und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde dann in verdünnte Salzsäure gegossen und mit Äther extrahiert. Der beim Abdampfen des gewaschenen und getrockneten Äthers verbleibende Rückstand schmolz nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus wässerigem Methanol bei 152,5—153,5°, erstarrte wieder und schmolz erneut bei 162,5 bis 163,5°. Zur Analyse wurde das 3β-Acetoxy-5-oxy-androstanon-(17) 15 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,832 mg Subst. gaben 10,140 mg CO_2 und 3,210 mg H_2O
12,716 mg Subst. gaben nach *Zerewitinoff* 0,829 cm³ CH_4 (0°, 760 mm)

$C_{21}H_{32}O_4$ Ber. C 72,38 H 9,26 akt. H 0,29%
Gef. „ 72,21 „ 9,37 „ „ 0,29%

$[\alpha]_D^{13} = +59{,}3^0$ (c = 1,118 in Chloroform)

Bei der Behandlung mit Pyridin-Acetanhydrid und mit Pyridin-Benzoylchlorid in der Kälte bleibt die Verbindung unverändert.

3β,5-Dioxy-androstanon-(17) (IVb). 240 mg des obigen Monoacetats (IVa) wurden in 5 cm³ Methanol mit 170 mg Kaliumcarbonat (in 5 cm³ Wasser und 3 cm³

Methanol gelöst) 3 Stunden auf dem Wasserbad gekocht. Der neutrale Äther-Auszug ergab beim Eindampfen 220 mg in Äther schwerlösliche Anteile, welche aus Essigester-Methanol in prächtigen, sechseckigen Platten krystallisierten. Der Schmelzpunkt blieb nach zweimaligem Umkrystallisieren konstant bei 278—288° (Zers.) Im evakuierten Schmelzpunkts-Röhrchen schmolz die Substanz bei 281—282°, wobei sie teilweise sublimierte. Sie ist schwerlöslich in Äther, Aceton, Essigester, Hexan, etwas leichter löslich in Methanol. Zur Analyse wurde das 3β,5-Dioxy-androstanon-(17) 16 Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,782 mg Subst. gaben 10,316 mg CO_2 und 3,340 mg H_2O

$C_{19}H_{30}O_3$ Ber. C 74,47 H 9,87%
Gef. „ 74,44 „ 9,88%

$[\alpha]_D^{15} = +92{,}8°$ (c = 0,426 in Methanol)

Oxydation und Wasserabspaltung zu Δ^4-Androsten-3,17-dion (V). 118 mg 3β,5-Dioxy-androstanon-(17) (IVb) wurden in 8 cm³ absolutem Aceton und 5 cm³ Dioxan gelöst und eine Lösung von 430 mg Aluminium-tert.-butylat in 18 cm³ trockenem Benzol zugefügt. Nach 21-stündigem Kochen am Rückfluss wurde mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt und mit Äther ausgezogen. Der schwach gefärbte Rückstand (120 mg) wurde in Hexan-Lösung durch eine Säule aus 3 g Aluminiumoxyd *(Brockmann)* filtriert. Aus dem Filtrat krystallisierten feine Nadeln, die bis zum Smp. 171—172,5° umkrystallisiert wurden. Mit einem Vergleichspräparat von Δ^4-Androsten-3,17-dion vom Smp. 173° trat keine Schmelzpunktserniedrigung ein. Das Produkt war jedoch nicht ganz analysenrein und musste zur Vervollständigung der Wasserabspaltung im Hochvakuum sublimiert werden (Blocktemperatur 165°).

3,722 mg Subst. gaben 10,866 mg CO_2 und 3,049 mg H_2O

$C_{19}H_{26}O_2$ Ber. C 79,68 H 9,15%
Gef. „ 79,67 „ 9,17%

$[\alpha]_D^{16} = +190{,}5°$ (c = 0,864 in Chloroform)

Partielle Hydrierung von α-Oxido-acetat (I) zum 3β-Acetoxy-5-oxy-androstanon-(17) (IVa).

2,73 g α-Oxido-acetat (Smp. 220—222°) wurden in 35 cm³ reinem Eisessig mit 501 mg Platin(IV)-oxyd hydriert. Innerhalb von 20 Stunden wurden 306 cm³ (760 mm, 0°) Wasserstoff aufgenommen (Ber. 1 Mol für $C_{21}H_{30}O_4$ = 173 cm³; für PtO_2 = 9,8 cm³). Die Hydrierung wurde abgebrochen und wie angegeben aufgearbeitet. Beim Umkrystallisieren aus Essigester-Hexan wurden sehr unscharf schmelzende Gemische erhalten. Die Substanz wurde daher in 200 cm³ Benzol gelöst und an 55 g Aluminiumoxyd *(Brockmann)* chromatographiert.

Frakt. 1:	100 cm³ Benzol	770 mg farblose Krystalle
„ 2:	500 cm³ Benzol-Äther 4:1	1120 mg farbloses Öl
„ 3:	300 cm³ Benzol-Äther 1:1	380 mg farbloses Öl
„ 4:	200 cm³ Äther	220 mg farbloses Öl

Aus Fraktion 1 wurden nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Essigester-Hexan feine Nadeln erhalten, die bei 221—222,5° schmolzen und im Gemisch mit α-Oxido-acetat (I) keine Schmelzpunktserniedrigung ergaben.

Die Fraktionen 2—4 erwiesen sich beim Umkrystallisieren aus Essigester-Hexan als unter sich identisch und lieferten feine Nädelchen vom doppelten Smp. 152,5—153,5°, bzw. 162,5—163,5°. Mit dem 3β-Acetoxy-5-oxy-androstanon-(17) (IVa) trat keine Erniedrigung des Schmelzpunktes ein.

$[\alpha]_D^{14} = +58{,}9°$ (c = 1,098 in Chloroform)

Hydrierung von 3β-Acetoxy-5-oxy-androstanon-(17) (IVa) zu 3β-Acetoxy-5,17-dioxy-androstan (III). 150 mg des Monoacetats (IVa) wurden mit 25 mg Platinoxyd in Eisessig hydriert. Nach einer Stunde war 1 Mol Wasserstoff verbraucht. Man erhielt aus wässerigem Methanol feine Blättchen vom Smp. 194—197°. Mit dem Triol-monoacetat (III) aus der Hydrierung von α-Oxido-acetat trat keine Erniedrigung des Schmelzpunkts ein.

Bei der Oxydation des aus dieser Hydrierung gewonnenen Produktes mit Chromsäure gelangte man wieder zum Monoacetat (IVa) vom Smp. 152,5—153,5° bzw. 162,5 bis 163,5°.

Partielle Hydrierung von α-Oxido-acetat (I) zu 3β-Acetoxy-17-oxy-α-5,6-oxido-androstan (IIa).

400 mg α-Oxido-acetat (Smp. 220—222°) wurden in 35 cm³ Feinsprit mit 91 mg Platin(IV)-oxyd in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Die für Substanz und PtO_2 berechnete Menge Wasserstoff von 43,9 cm³ (760 mm, 0°) wurde in 48 Stunden aufgenommen. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielt man aus Essigester feine, verfilzte Nädelchen, die bei ungefähr 140° schmolzen. Durch Sublimieren stieg der Schmelzpunkt auf 146—147°. Bei weiterem Erhitzen erstarrte die Substanz wieder, um bei 152,5—153,5° erneut zu schmelzen. Im Gemisch mit 3β-Acetoxy-5-oxy-androstanon-(17) (IVa) trat eine starke Schmelzpunktserniedrigung ein. Zur Analyse gelangte ein Sublimat.

3,808 mg Subst. gaben 10,080 mg CO_2 und 3,112 mg H_2O

$C_{21}H_{32}O_4$ Ber. C 72,38 H 9,26%

Gef. „ 72,24 „ 9,15%

$[\alpha]_D^{14} = -66°$ (c = 0,515 in Chloroform)

3β,17-Diacetoxy-α-5,6-oxido-androstan (IIb). 150 mg des Monoacetats (IIa) wurden mit Pyridin und Acetanhydrid bei Zimmertemperatur acetyliert. Das Rohprodukt wurde aus Methanol umkrystallisiert. Man erhielt feine Blättchen vom konstanten Smp. 165—166°. Zur Analyse wurde 18 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,832 mg Subst. gaben 9,943 mg CO_2 und 3,041 mg H_2O

$C_{23}H_{34}O_5$ Ber. C 70,74 H 8,78%

Gef. „ 70,81 „ 8,88%

$[\alpha]_D^{14} = -69,3°$ (c = 1,030 in Chloroform)

Hydrierung von 3β-Acetoxy-17-oxy-α-5,6-oxido-androstan (IIa) zu 3β-Acetoxy-5,17-dioxy-androstan (III). 120 mg des Monoacetats (IIa) wurden in 15 cm³ reinem Eisessig mit 26 mg Platinoxyd hydriert. Nach 2 Stunden war die berechnete Menge Wasserstoff verbraucht. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man beim Umkrystallisieren aus wässerigem Alkohol feine Nädelchen vom Smp. 194—197,5°. Mit dem aus der direkten Hydrierung von α-Oxido-acetat mit Platin in Eisessig erhaltenen 3β,5,17-Triol-3β-monoacetat (III) trat keine Erniedrigung des Schmelzpunktes ein.

Bei der Oxydation mit Chromsäure bildete sich die 17-Ketoverbindung (IVa) zurück. Identifizierung durch Mischprobe.

Hydrierung von 3β-Acetoxy-β-5,6-oxido-androstanon-(17) (VI).

Totale Hydrierung in Eisessig. 500 mg β-Oxido-acetat (Smp. 186—187°) wurden in 30 cm³ reinem Eisessig mit 81 mg Platinoxyd hydriert. In 2½ Stunden wurden insgesamt 119 cm³ (760 mm, 0°) Wasserstoff aufgenommen (Ber. 3 Mol für $C_{21}H_{30}O_4$ = 96,5; für PtO_2 = 15,9 cm³). Die Hydrierung kam darnach zum Stillstand. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde das Reaktionsprodukt in Hexan gelöst und an 15 g Aluminiumoxyd *(Brockmann)* chromatographiert. Mit Benzol wurden 90% der Gesamt-

menge eluiert. Beim Umkrystallisieren dieses Eluates aus Alkohol erhielt man verfilzte Nadeln vom Smp. ca. 160°. Mehrfaches Sublimieren im Hochvakuum erhöhte den Schmelzpunkt auf 164—166°. Es liegt das 17α-Oxy-androstan vor. Zur Analyse gelangte ein Sublimat.

3,665 mg Subst. gaben 11,101 mg CO_2 und 3,801 mg H_2O

$C_{19}H_{32}O$ Ber. C 82,54 H 11,67%

Gef. „ 82,65 „ 11,62%

$[\alpha]_D^{20} = +13{,}1^0$ (c = 1,160 in Chloroform)

Totale Hydrierung in Feinsprit: 800 mg β-Oxido-acetat (Smp. 186—187°) wurden in 45 cm³ Feinsprit mit 123 mg Platinoxyd hydriert. In 48 Stunden wurden insgesamt 186 cm³ (760 mm, 0°) Wasserstoff aufgenommen (Ber. 3 Mol für $C_{21}H_{30}O_4$ = 156 cm³; für PtO_2 = 24 cm³). Die Lösung roch deutlich nach Essigsäure und reagierte gegen Lakmus sauer. Als einziges Hydrierungsprodukt wurde 17α-Oxy-androstan erhalten, das nach zweimaligem Sublimieren im Hochvakuum konstant bei 163,5—164,5° schmolz und durch Analyse, Mischschmelzpunkt und spez. Drehung indentifiziert wurde.

$[\alpha]_D^{16} = +13{,}9^0$ (c = 0,750 in Chloroform)

Bei der Oxydation mit Chromsäure in Eisessig wurde Androstanon-(17) vom Smp. 119,5—120,5° erhalten.

$[\alpha]_D^{16} = +87{,}8^0$ (c = 0,799 in Chloroform)

Partielle Hydrierung. 1,07 g β-Oxido-acetat (Smp. 187—188°) wurden mit 158 mg Platinoxyd in 50 cm³ reinem Eisessig hydriert. In zwei Stunden wurden 180 cm³ (760 mm, 0°) Wasserstoff aufgenommen (Ber. 2 Mol für $C_{21}H_{30}O_4$ = 139 cm³; für PtO_2 = 31 cm³). Nach der üblichen Aufarbeitung wurde das Reaktionsprodukt in Benzol-Hexan 1 : 1 gelöst und an einer Säule aus 30 g Aluminiumoxyd *(Brockmann)* chromatographiert.

Frakt.	Lösungsmittel	cm³	mg	Roh-Smp.
1	Benzol-Hexan 1 : 1	75	—	—
2	Benzol-Hexan 1 : 1	75	130	118—120°
3	Benzol-Hexan 1 : 1	75	25	118—121°
4	Benzol-Hexan 4 : 1	150	140	178—183°
5	Benzol	75	80	136—140°
6	Benzol	75	100	166—168°
7	Benzol	75	50	164—167°
8	Benzol	150	60	ölig
9	Benzol-Äther 4 : 1	120	120	136—141°
10	Benzol-Äther 4 : 1	90	90	175—182°
11	Benzol-Äther 4 : 1	80	80	ölig
12	Benzol-Äther 4 : 1	75	80	192—199°
13	Benzol-Äther 4 : 1	75	70	196—204°
14	Benzol-Äther 1 : 1	75	140	194—201°
15	Benzol-Äther 1 : 1	75	20	201—204°
16	Äther	75	—	—

Aus den vereinigten Fraktionen 2 und 3 wurden durch Umkrystallisieren aus Essigester-Hexan würfelige Krystalle vom konstanten Smp. 119,5—120,5° erhalten. Zur Analyse wurde 12 Stunden bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

3,706 mg Subst. gaben 11,289 mg CO_2 und 3,513 mg H_2O

$C_{19}H_{30}O$ Ber. C 83,15 H 11,02%
Gef. „ 83,13 „ 10,61%

$[\alpha]_D^{14} = +94{,}8^0$ (c = 0,681 in Chloroform)

Es liegt Androstanon-(17) vor (IX).

Beim Umkrystallisieren von Fraktion 4 aus Essigester-Hexan gelangte man zu feinen Nadeln vom Smp. 183,5—186°, die sich nicht weiter reinigen liessen. Mit β-Oxido-acetat trat bei der Mischprobe keine Erniedrigung des Schmelzpunktes ein.

Aus Fraktion 5 liess sich keine einheitliche Substanz isolieren.

Die vereinigten Fraktionen 6 und 7 krystallisierten aus Alkohol in verfilzten Nädelchen, welche nach zweimaligem Sublimieren im Hochvakuum konstant bei 164,5—166,5° schmolzen. Mit 17α-Oxy-androstan trat im Gemisch keine Schmelzpunktserniedrigung ein.

$[\alpha]_D^{16} = +11{,}3^0$ (c = 0,958 in Chloroform)

Aus den Fraktionen 8—12 konnten keine einheitlichen Verbindungen gewonnen werden.

Die Fraktionen 13—16 lieferten beim Umkrystallisieren aus dem Gemisch von Essigester mit viel Hexan oder aus wässerigem Methanol derbe, prismatische Krystalle von 3β-Acetoxy-6,17-dioxy-androstan (VIII) (Smp. 204—207°). Zur Analyse wurde 15 Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,738 mg Subst. gaben 9,835 mg CO_2 und 3,287 mg H_2O

$C_{21}H_{34}O_4$ Ber. C 71,96 H 9,78%
Gef. „ 71,80 „ 9,84%

3β-Acetoxy-6,17-diketo-androstan (X)[1]. 50 mg 3β-Acetoxy-5,17-dioxy-androstan (VIII) wurden in 3 cm³ reinem Eisessig gelöst und dann eine Lösung von 25 mg Chromtrioxyd in 3 cm³ 90-proz. Essigsäure zugefügt. Nach Stehen über Nacht bei 15° wurde wie üblich aufgearbeitet. Man erhielt aus Hexan-Essigester feine, seidige Nädelchen vom konstanten Smp. 203—205°. Bei Behandlung mit Pyridin-Acetanhydrid blieb die Substanz unverändert. Zur Analyse wurde 12 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,815; 3,394 mg Subst. gaben 10,146; 9,036 mg CO_2 und 2,942; 2,652 mg H_2O

$C_{21}H_{30}O_4$ Ber. C 72,80 H 8,73%
Gef. „ 72,58; 72,65 „ 8,63; 8,74%

$[\alpha]_D^{15} = +39{,}2^0$ (c = 0,665 in Chloroform)

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-Chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

[1]) *A. Butenandt* und *L. A. Surányi*, B. **75**, 591 (1942).

60. Über Steroide und Sexualhormone.

(94. Mitteilung[1]).

Einführung einer Hydroxyl-Gruppe in Stellung 5 des Sterinskeletts durch Hydrierung von 5,6- bzw. 4,5-Oxido-Verbindungen

von Pl. A. Plattner, Th. Petrzilka und W. Lang.

(12. II. 44.)

In der vorhergehenden Abhandlung dieser Reihe[1]) wurde mitgeteilt, dass aus dem α-Oxyd des trans-Dehydro-androsteron-acetats durch Hydrierung unter Aufspaltung des Oxyd-Ringes eine 5-Oxy-Verbindung erhalten werden konnte. Da eine ähnliche Beobachtung bereits früher von *E. Fernholz*[2]) an Stigmasterin-oxyd-acetat gemacht worden war, schien uns hier eine allgemeine Methode zur Einführung von Hydroxyl in Stellung 5 des Sterinskelettes vorzuliegen. Dieses Problem ist im Zusammenhang mit den Synthesen auf dem Aglucon-Gebiet von grossem Interesse, so dass wir die Hydrierung verschiedener 5,6- bzw. 4,5-Oxido-Verbindungen der Sterin-Reihe untersuchten.

Die eingehendsten Versuche führten wir mit den beiden Oxyden des Cholesterin-acetates durch. Die sogenannte α-Form dieser Verbindung wird meist durch Oxydation des Cholesterins mit Persäuren und anschliessende Acetylierung des dabei entstehenden α-Cholesterin-oxyds vom Smp. 142° erhalten[3]). Das α-Oxyd-acetat schmilzt bei 99° und zeigt nach unseren eigenen Messungen in Chloroform $[\alpha]_D = -46°$. Während offenbar sowohl im α-Oxyd selbst als auch in dessen Acetat einheitliche Verbindungen vorliegen, sind die von *Westphalen* und *Windaus*[3]) sowie von *Windaus* und *Lüders*[4]) auf verschiedenen Wegen hergestellten und als β-Oxyd und β-Oxyd-acetat beschriebenen Präparate offenbar Gemische. Auch in dem durch direkte Oxydation von Cholesterin-acetat mit Benzopersäure hergestellten β-Cholesterin-oxyd-acetat[5]) von recht einheitlichem Aussehen und scharfem Schmelzpunkt von 114° liegt nicht das wahre β-Isomere vor. Dieses Präparat ist vielmehr nach *Hattori*[6]) eine Molekel-verbindung von α- und β-Cholesterin-oxyd-acetat. Diese Auffassung können wir bestätigen. Das wahre β-Cholesterin-oxyd kann nach *Hattori* durch

[1]) 93. Mitt. Helv. **27**, 503 (1944).

[2]) *E. Fernholz*, A. **508**, 215 (1934).

[3]) *Th. Westphalen* und *A. Windaus*, B. **48**, 1064 (1915).

[4]) *A. Windaus* und *H. Lüders*, Z. physiol. Ch. **117**, 154 (1921).

[5]) *L. Ruzicka* und *W. Bosshard*, Helv. **20**, 244 (1937).

[6]) *Z. Hattori*, J. Pharm. Soc. Japan **60**, 125 (1940), zitiert nach Chem. Abstr. **34**, 7294 (1940); die Arbeit ist im Zentralblatt offenbar nicht referiert.

Behandlung des 3β,6-Diacetoxy-5-chlor-cholestans mit Alkali erhalten werden. Es schmilzt nach den Angaben dieses Autors bei 136°, zeigt eine spez. Drehung $[\alpha]_D = -10°$ und liefert ein Acetat vom Smp. 112—113°.

Ausser nach diesem Verfahren konnten wir das β-Oxyd sowie sein Acetat auch auf folgendem Wege herstellen. Die oben erwähnte, durch Oxydation von Cholesterin-acetat mit Benzopersäure erhaltene Molekelverbindung vom Smp. 114° liess sich im Durchlauf-Chromatogramm an Aluminiumoxyd zerlegen, wobei neben dem α-Oxyd-acetat vom Smp. 99° das β-Oxyd-acetat vom Smp. 112—113° erhalten wurde. Die neue Verbindung gibt mit der fast gleich schmelzenden Molekelverbindung eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung und lässt sich auch auf Grund ihrer spez. Drehung ($[\alpha]_D = -1°$) von der Molekelverbindung unterscheiden. Diese letztere kann durch gemeinsame Krystallisation der beiden Komponenten wieder erhalten werden. Ihre spez. Drehung ($[\alpha]_D = -23{,}5°$) entspricht dem aus den Drehungen der Komponenten errechneten Mittel. Für das β-Cholesterinoxyd, das wir einerseits durch Verseifung des Acetats ($[\alpha]_D = -1°$), anderseits direkt nach *Hattori* herstellten, fanden wir einen Schmelzpunkt von 132° und eine spez. Drehung $[\alpha]_D = +10°$ [1]).

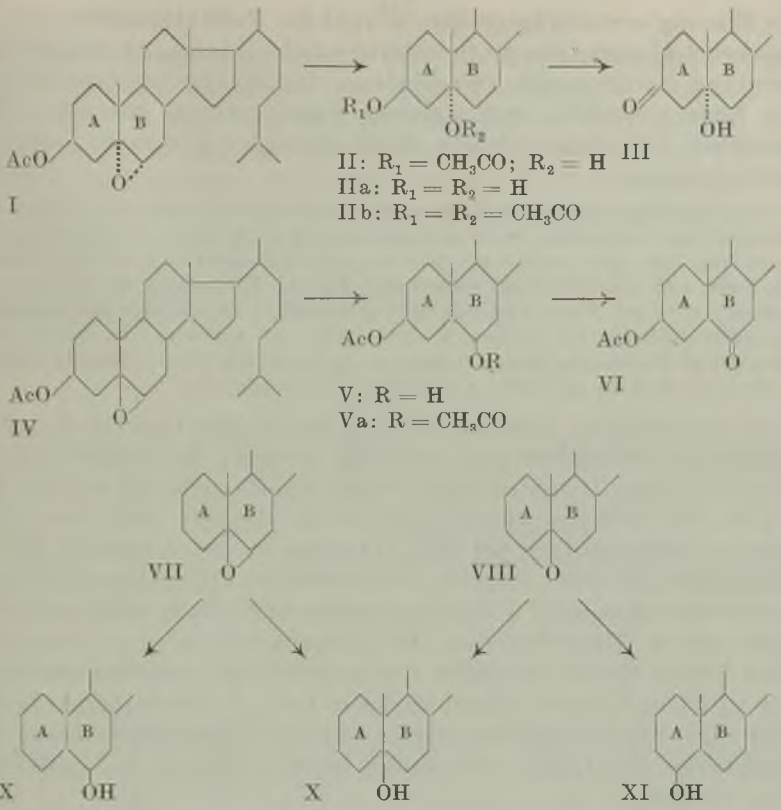
Die Hydrierung des α-Cholesterin-oxyd-acetats (I) mit Platin in Eisessig führte unter Aufnahme von einer Molekel Wasserstoff in glatter Reaktion zu einem einheitlichen Reduktionsprodukt. Auf Grund seiner Eigenschaften ist dasselbe als 3β-Acetoxy-5-oxy-cholestan (II) bzw. 3β-Acetoxy-5-oxy-koprostan anzusprechen [2]). Die Verbindung bildet mit Chromsäure einen recht beständigen Ester, und ihre freie Oxy-Gruppe lässt sich nur unter energischen Bedingungen acetylieren. Bei der Verseifung entsteht das 3β,5-Dioxy-cholestan (IIa), welches leicht in 3-Keto-5-oxy-cholestan (III) und schliesslich in das bekannte Δ^4-Cholestenon-(3) übergeführt werden konnte. Ob unser Diol (IIa) vom Smp. 224—225° und sein Monoacetat (Smp. 185°) mit den von *Tschinajewa* und *Uschakow* [3]) durch Einwirkung von Phenyl-Lithium auf α-Cholesterin-oxyd erhaltenen Präparaten (Smp. 200—201° bzw. 176—177°) identisch sind, muss vorerst offen bleiben.

---

[1]) Die Drehung stimmt dem absoluten Werte nach mit der Angabe (−10°) *Hattori*'s überein; möglicherweise handelt es sich um einen Druckfehler im uns zugänglichen Referat.

[2]) Im weiteren werden alle in dieser Abhandlung beschriebenen 5-Oxy-Verbindungen als Cholestan-Derivate formuliert. Es sei hier aber noch darauf hingewiesen, dass diese Zuordnung nicht als feststehend betrachtet werden darf. Auch die in den Projektionsformeln ausgedrückte Konfiguration der α- und β-Oxyde ist vorläufig willkürlich und unsere Darstellung weicht beispielsweise von der von *Ehrenstein* [J. Org. Chem. **6**, 627 (1941)] gewählten ab; vgl. Helv. **27**, 503 (1944).

[3]) *A. D. Tschinajewa* und *M. I. Uschakow*, C. **1942**, I, 757.



In Übereinstimmung mit unseren Beobachtungen beim β-Oxyd des trans-Dehydro-androsterons[1]) verlief auch bei β-Cholesterin-acetat-oxyd (IV) die Hydrierung wenig einheitlich. Als Reaktionsprodukte liessen sich durch sorgfältige chromatographische Analyse isolieren: Cholestan, Cholestanol-(3β)-acetat und ein 3β-Acetoxy-6-oxy-cholestan (V). Letzteres bildete leicht ein Diacetat (Va) vom Smp. 138,5°, das mit einem von *Marker*[2]) beschriebenen 3β,6-Diacetoxy-cholestan identisch sein dürfte. Das Monoacetat liess sich anderseits zu 3β-Acetoxy-6-keto-cholestan (VI) oxydieren, das durch Mischprobe identifiziert werden konnte. Die Konstitution dieses Hydrierungsproduktes und insbesondere seine Zugehörigkeit zur Cholestan-Reihe ist also gesichert[3]).

Die oben beschriebene, leicht zugängliche Molekelverbindung der beiden Cholesterin-oxyd-acetate lieferte bei der Hydrierung mit Pla-

[1]) Helv. **27**, 503 (1944).

[2]) *R. E. Marker* und *J. Krueger*, Am. Soc. **62**, 79 (1940).

[3]) Dementsprechend wurde auch das in der vorstehenden Abhandlung [Helv. **27** 503 (1944)] beschriebene Hydrierungsprodukt des β-Oxyds von trans-Dehydro-androsteron-acetat als Androstan-Derivat formuliert.

tin in Eisessig erwartungsgemäss sowohl die Reduktionsprodukte des α- als auch diejenigen des β-Cholesterin-oxyd-acetates. An der Molekelverbindung wurden auch verschiedene Hydrierungsversuche mit anderen Lösungsmitteln und anderen Katalysatoren gemacht. Eine Wasserstoff-Aufnahme erfolgte dabei entweder gar nicht oder nur äusserst langsam.

Neuerdings hat *Paige*[1]) die Hydrierung der Cholesterin-oxyde mit Natrium und Amylalkohol kurz beschrieben. Er isolierte dabei in geringer Ausbeute das Cholestan-3β,6-diol vom Smp. 218—219°, welches mit dem von uns erhaltenen Diol in Stellung 6 isomer ist. Es findet sich dort ferner die Bemerkung, dass die Hydrierung des Benzoats von β-Cholesterin-oxyd mit Platin *(Adams)* nicht gelang. Eine Angabe über das verwendete Lösungsmittel fehlt. In der gleichen Arbeit werden auch Versuche von *Stavely*[2]) über die katalytische Hydrierung von α-Cholesterin-oxyd mit Palladium in Eisessig erwähnt. Diese letztere Arbeit ist uns leider gegenwärtig nicht zugänglich.

Im wesentlichen konnten also an den beiden Cholesterin-oxyd-acetaten die Beobachtungen bestätigt werden, die vorher an den Oxyden des trans-Dehydro-androsteron-acetats gemacht worden waren, d. h. die α-Oxyde wurden glatt unter Bildung von 5-Oxy-Verbindungen aufgespalten; bei den β-Oxyden werden einerseits 6-Oxy-Verbindungen gebildet, während anderseits der Oxido-Sauerstoff und teilweise auch das an C 3 stehende Sauerstoff-Atom vollständig eliminiert werden. Diese Befunde, die übrigens mit anderen Umsetzungen der beiden Oxyde in gutem Einklang stehen, sprechen einerseits für die sterische Übereinstimmung der α- bzw. β-Verbindungen beider Reihen und dürften sich anderseits auch für eine Bestimmung der Konfiguration der Oxyde verwenden lassen, worüber wir später berichten werden.

Anschliessend wurde noch die Hydrierung des 5,6-Oxido-cholestans (VII) vom Smp. 80°[3]), sowie des 4,5-Oxido-cholestans vom Smp. 96°[4]) (VIII) untersucht. Das 5,6-Oxyd lieferte Cholestan und ein schwer trennbares Gemisch, welches zur Hauptsache aus 5- und 6-Oxy-cholestanen (IX und X) bestehen dürfte. Nach Oxydation mit Chromsäure liess dieses sich in das bekannte 6-Keto-cholestan und ein 5-Oxy-cholestan vom Smp. 110° trennen. Die tertiäre Natur des Hydroxyls in letzterer Verbindung folgt aus der Bildung eines gegen Oxydation beständigen Chromsäure-esters.

Ganz ähnlich verhielt sich auch das 4,5-Oxido-cholestan (VIII) bei der Hydrierung. Es wurden dabei Gemische erhalten, aus welchen sich das oben erwähnte 5-Oxy-cholestan (X) und daneben 4-Oxy-cholestan (XI) vom Smp. 187,5° isolieren liess.

---

[1]) *M. F. C. Paige*, Soc. **1943**, 439.

[2]) *H. E. Stavely*, Am. Soc. **64**, 2723 (1942).

[3]) Von *L. Ruzicka, M. Furter* und *G. Thomann*, Helv. **26**, 333 (1933), als α-Oxyd bezeichnet.

[4]) *I. M. Heilbron, W. Shaw* und *F. S. Spring*, R. **57**, 529 (1938).

In der Hydrierung von 4,5- bzw. 5,6-Oxyden der Steroid-Reihe liegt mithin ein Verfahren vor, welches erlaubt, in Stellung 5 des Sterinskelettes eine Oxy-Gruppe einzuführen. Der Verlauf dieser Hydrierungen scheint allerdings weitgehend einerseits von den angewandten Bedingungen, anderseits von der Konfiguration der Oxyde und der Anwesenheit von Substituenten an benachbarten C-Atomen, wie z. B. an C 3, abhängig zu sein.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[1]).

α-Cholesterin-oxyd.

Dieses Oxyd wurde nach der Vorschrift von *Westphalen* und *Windaus*[2]) aus Cholesterin und Benzopersäure hergestellt. Das analysenreine Produkt schmolz bei 142,5°.

$[\alpha]_D^{23} = -46{,}6;\ -45{,}4°$ (c = 1,104, 1,137 in Chloroform)
$-43{,}1°$ (c = 1,241 in Benzol)[3]).

Acetat. Aus obigem durch Behandlung mit Acetanhydrid erhalten. Das analysenreine Präparat schmolz bei 97°

$[\alpha]_D = -46{,}2°$ (c = 0,910; 0,853 in Chloroform).

Hydrierung des α-Cholesterin-oxyd-acetats (I). 3β-Acetoxy-5-oxy-cholestan (II).

40 mg Platinoxyd wurden in 20 cm³ Eisessig vorhydriert. Dann wurden 330 mg α-Cholesterin-oxyd-acetat vom Smp. 97° hinzugefügt. Bei der Hydrierung wurde 1 Mol Wasserstoff in etwas weniger als 3 Stunden aufgenommen. Zur Aufarbeitung wurde der Katalysator abfiltriert und das Filtrat etwas eingeengt, worauf 100 mg 3β-Acetoxy-5-oxy-cholestan in schönen Nadeln auskrystallisierten. Durch weiteres Einengen wurden nochmals 70 mg etwas weniger reine Substanz erhalten. Die beiden Fraktionen wurden zusammen zweimal aus verdünntem Aceton umkrystallisiert, wobei der Schmelzpunkt auf 185—185,5° stieg. Zur Analyse wurde über Nacht im Hochvakuum bei 120° getrocknet.

3,792; 3,800 mg Subst. gaben 10,825; 10,847 mg CO_2 und 3,826; 3,835 mg H_2O

$C_{29}H_{50}O_3$ Ber. C 77,97 H 11,28%
Gef. „ 77,89; 77,90 „ 11,29; 11,29%

$[\alpha]_D = +12{,}5;\ +10{,}7°$ (c = 0,83; 0,423 in Chloroform)

Die Mutterlaugen wurden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Hexan gelöst und an Aluminiumoxyd chromatographiert. Neben etwa 10 mg Cholestanol-3-acetat wurden weitere 150 mg fast reines 3β-Acetoxy-5-oxy-cholestan erhalten, sodass die Ausbeute an letzterem sehr gut ist.

Chromsäure-ester des 3β-Acetoxy-5-oxy-cholestans.

45 mg des Produktes vom Smp. 185—185,5° wurden in 5 cm³ Eisessig gelöst und tropfenweise mit einer Lösung von 6,5 mg Chromtrioxyd in 0,38 cm³ 90-proz. Eisessig versetzt. Schon nach Zusatz der ersten Tropfen Chromsäure-Lösung bildete sich ein Chromsäure-ester, welcher in goldgelben Nädelchen ausfiel. Das Reaktionsgemisch blieb über Nacht stehen. Nach Zusatz von 1 cm³ Methanol wurde dann das Lösungsmittel

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.
[2]) *Th. Westphalen* und *A. Windaus*, B. 48, 1064 (1915).
[3]) *Westphalen* gibt für eine Messung in Benzol den Wert $[\alpha]_D^{20} = -37{,}4°$ an.

im Vakuum bei einer Temperatur von 30° entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser und Äther aufgenommen. Dabei löste sich der Chromsäure-ester mit goldgelber Farbe im Äther, während die wässerige Schicht nur wenig Chrom(III)-Salze enthielt. Die ätherische Lösung wurde mit Kaliumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Auf eine weitere Untersuchung des nunmehr als braunes, amorphes Pulver vorliegenden Chromsäure-esters wurde verzichtet.

Verseifung. Der Chromsäure-ester wurde nach Zusatz eines Überschusses an 5-proz. alkoholischer Kalilauge während 2½ Stunden auf dem Wasserbad am Rückfluss gekocht. Das Reaktionsprodukt wurde mit Wasser verdünnt, der Alkohol im Vakuum entfernt, die Lösung hierauf angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die wässerige Schicht war jetzt durch Chrom(III)-Verbindungen stark grün gefärbt. Aus der ätherischen Lösung wurde ein farbloser Rückstand (40 mg) gewonnen, der in etwas Aceton gelöst, mit Tierkohle behandelt und aus Äther-Pentan umkrystallisiert wurde. Das in Blättchen vom Smp. 224—225,5° ausfallende Produkt konnte durch Mischprobe mit einem durch Verseifung von 3β-Acetoxy-5-oxy-cholestan erhaltenen Präparat als 3β,5-Dioxy-cholestan identifiziert werden.

3β,5-Dioxy-cholestan (IIa).

420 mg 3β-Acetoxy-5-oxy-cholestan wurden mit 30 cm³ 5-proz. methanolischer Kalilauge zwei Stunden auf dem Wasserbad am Rückfluss gekocht. Hierauf wurde mit Wasser verdünnt, die Hauptmenge des Methanols im Vakuum entfernt, die Lösung angesäuert und extrahiert. Beim Einengen der ätherischen Lösung schied sich 3β,5-Dioxy-cholestan in feinen Blättchen ab. Diese wurden abgenutscht und zeigten einen Schmelzpunkt von 215—219°, welcher sich durch dreimaliges Umkrystallisieren aus Äther auf 224—225° erhöhte. Zur Analyse wurde 4 Stunden im Hochvakuum bei 90° und 4 Stunden bei 110° im Luftstrom getrocknet.

3,748 mg Subst. gaben 11,000 mg CO_2 und 4,03 mg H_2O

$C_{27}H_{48}O_2$ Ber. C 80,14 H 11,96%

Gef. „ 80,09 „ 12,03%

$[\alpha]_D = +20{,}6°;\ +16{,}9°$ (c = 0,477; 0,860 in Chloroform)

Reacetylierung zum 3β-Mono-acetat (II). 20 mg 3β,5-Dioxy-cholestandiol wurden mit 2 cm³ Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid versetzt und über Nacht stehen gelassen. Es bildete sich in annähernd quantitativer Ausbeute das 3-Mono-acetat vom Smp. 185°.

3β,5-Diacetat (IIb). 200 mg Diol wurden in 40 cm³ Chloroform gelöst und dazu 1,6 g Dimethylanilin und 1,5 g Acetylchlorid gegeben. Nach 4-stündigem Kochen wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand in Wasser und Äther aufgenommen. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser und verdünnter Salzsäure gewaschen, wodurch die stark farbigen Verunreinigungen leicht entfernt werden konnten. Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt und gab neben Spuren von 3-Mono-acetat Smp. 185°, die als Nachlauf erschienen, 200 mg eines bei ca. 140° schmelzenden Präparates, das nach Umkrystallisieren aus Petroläther scharf bei 140—141° schmolz. Zur Analyse wurde das 3β,5-Diacetoxy-cholestan 24 Stunden bei 60° im Vakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = +31{,}3;\ +31{,}8°$ (c = 0,960; 1,220 in Chloroform)

3,778 mg Subst. gaben 10,555 mg CO_2 und 3,624 mg H_2O

$C_{31}H_{52}O_4$ Ber. C 76,18 H 10,73%

Gef. „ 76,24 „ 10,73%

Behandlung des Diols mit Dimethylanilin und Acetylchlorid in der Kälte (36 Stunden) gab ein Gemisch von etwa gleichen Teilen Diacetat und 3β-Monoacetat. Beim Kochen des Diols mit Acetanhydrid waren nach 2 Stunden hauptsächlich 3-Monoacetat, nach 15 Stunden Diacetat und 3-Monoacetat neben wenig öligen, nicht untersuchten Produkten entstanden.

3-Keto-5-oxy-cholestan (III).

240 mg 3β,5-Dioxy-cholestan wurden in 25 cm^3 Eisessig warm gelöst, mit einer Lösung von 74 mg Chromtrioxyd in 90-proz. Eisessig versetzt und über Nacht stehen gelassen. Nach Zusatz von 2 cm^3 Methanol wurde die Lösung im Vakuum bei 35° zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde in Wasser und Äther aufgenommen, die ätherische Lösung mit 10-proz. Kaliumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde aus verdünntem Aceton umkrystallisiert (200 mg, Smp. 203—207°). Eine Probe wurde zur Analyse noch zweimal aus verdünntem Aceton umkrystallisiert und über Nacht am Hochvakuum bei 120° getrocknet; Smp. 205—208°.

$[\alpha]_D = +40{,}0^0$ (c = 0,63 in Chloroform)

2,542 mg Subst. gaben 7,490 mg CO_2 und 2,579 mg H_2O

$C_{27}H_{46}O_2$ Ber. C 80,54 H 11,52%

Gef. „ 80,41 „ 11,35%

Überführung in Δ^4-Cholestenon: 50 mg 3-Keto-5-oxy-cholestan wurden in 30 cm^3 Acetanhydrid gelöst und am Rückfluss während 4 Stunden gekocht. Hierauf wurde das Acetanhydrid im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Petroläther gelöst und durch eine Säule von 3 g Aluminiumoxyd filtriert. Durch Animpfen mit Cholestenon gelang es, aus den Eluaten ca. 20 mg Krystalle vom Smp. 71—77° zu erhalten. Nach zweimaligem Umlösen lag der Schmelzpunkt bei 79—80,5°. Die Analyse entsprach der Zusammensetzung $C_{27}H_{44}O$ und die Mischprobe mit einem authentischen Cholestenon-Präparat schmolz bei 79—81°.

Die Wasserabspaltung zu Cholestenon konnte auch durch Kochen mit Chlorwasserstoff in Chloroform erzielt werden.

Additionsverbindung von α- und β-Cholesterin-oxyd-acetat.

a) Durch Oxydation von Cholesterin-acetat mit Persäure. Die Reaktion wurde nach Angaben von *Ruzicka* und *Bosshard* [1]) mit Phthalmonopersäure durchgeführt. Das erhaltene Produkt wurde so lange aus Alkohol umkrystallisiert, bis die aufeinanderfolgenden Fraktionen im Schmelzpunkt und in der spez. Drehung übereinstimmten. Die Additionsverbindung wurde in prächtigen Spiessen vom Smp. 114—115° erhalten. Eine Probe wurde über Nacht am Hochvakuum bei einer Temperatur von 80° getrocknet und zur Kontrolle analysiert.

$[\alpha]_D = -24{,}1;\ -22{,}4^0$ (c = 1,13; 1,071 in Chloroform)

b) Über 3,5,6-Cholestan-triol nach *Windaus* und *Luders*[2]). Das nach den Angaben dieser Autoren erhaltene Oxyd vom Smp. 98—108° stellt ein Gemisch von α-Cholesterin-oxyd und β-Cholesterin-oxyd dar. Es wurde durch Kochen mit Acetanhydrid am Rückfluss acetyliert. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol wurde die Additionsverbindung in schönen Spiessen vom Smp. 114—115° erhalten, welche beim Zerreiben auf der Tonplatte stark schmierten. Diese Eigenschaft wurde auch bei dem unter a) erhaltenen Produkt, mit dem eine Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigung ergab, beobachtet

$[\alpha]_D = -23{,}4^0$ (c = 1,06 in Chloroform)

Somit stimmt die erhaltene Additionsverbindung in ihren Eigenschaften mit der durch Oxydation von Cholesterin-acetat mittels Persäure hergestellten Substanz überein.

Chromatographische Zerlegung der Additionsverbindung in α- und β-Cholesterin-oxyd-acetat.

222 mg Additionsverbindung vom Smp. 114—115° wurden in 60 cm^3 Petroläther gelöst und durch eine Säule von 7 g Aluminiumoxyd chromatographiert.

[1]) *L. Ruzicka* und *W. Bosshard*, Helv. **20**, 244 (1937).

[2]) *A. Windaus* und *H. Luders*, Z. physiol. Ch. **117**, 154 (1921).

Fraktion Nr.	Lösungsmittel cm³ Petroläther	Benzol	Eluat mg	Schmelzpunkt °C
1	60	—	10	111,5—112,5
2	60	0,6	60	113,0—113,5
3	60	1,2	20	112,5—113,5
4	55	15	60	111,5—113,0
5	55	15	30	91,0—93,0
6	—	160	50	98,0—99,0

Die Fraktionen 1—3 lieferten aus Methanol stäbchenförmige Krystalle vom Smp. 112—113°.

Diese drei Fraktionen gaben mit dem Ausgangsmaterial trotz des gleichen Schmelzpunktes bei der Mischprobe eine deutliche Erniedrigung des Schmelzpunktes. Im Gegensatz zur Additionsverbindung schmierten die erhaltenen Krystalle nicht beim Zerreiben. Eine Probe wurde dreimal aus verdünntem Aceton umkrystallisiert, über Nacht am Hochvakuum bei 80° getrocknet und analysiert. Smp. 113—114°. Es handelt sich um reines β-Cholesterin-oxyd-acetat.

$[\alpha]_D = -0,5;\ -1,0^0$ (c = 0,97; 1,004 in Chloroform)

2,880; 3,708 mg Subst. gaben 8,242; 10,637 mg CO_2 und 2,855; 3,604 mg H_2O

$C_{29}H_{48}O_3$ Ber. C 78,32 H 10,88%

Gef. „ 78,10; 78,29 „ 11,09; 10,88%

Fraktion 4 wurde aus Methanol umkrystallisiert. Sie lieferte lange, spiessförmige Nadeln, die sich durch Mischprobe als unverändertes Ausgangsmaterial (Additionsverbindung) identifizieren liessen. Eine Mischprobe mit dem aus den ersten Fraktionen isolierten β-Oxyd-acetat ergab eine deutliche Erniedrigung des Schmelzpunktes auf 105—108°.

Aus den Fraktionen 5 und 6 wurden durch Umkrystallisieren aus verdünntem Aceton Nadeln vom Smp. 98—99° erhalten, die sich durch Analyse, Mischprobe und spez. Drehung ($[\alpha]_D = -44,4^0$) als α-Cholesterin-oxyd-acetat charakterisieren liessen.

Herstellung der Additionsverbindung aus α-Cholesterin-oxyd-acetat und β-Cholesterin-oxyd-acetat.

20 mg reines α-Oxyd-acetat vom Smp. 98—99° und der spez. Drehung $[\alpha]_D = -44,4^0$ und 20 mg reines β-Oxyd-acetat vom Smp. 113—114° ($[\alpha]_D = -0,5^0$) wurden zusammen in etwas Methanol in der Wärme gelöst. Beim Abkühlen schieden sich centimeterlange, einheitliche Nadeln vom Smp. 112—113° und der spez. Drehung $[\alpha]_D = -23,3^0$ (c = 0,95 in Chloroform) ab, die mit der Additionsverbindung keine Erniedrigung des Schmelzpunktes zeigten. Dagegen ergab die erhaltene Substanz, welche beim Zerreiben stark schmierig wurde, sowohl mit reinem α-Oxyd-acetat als auch mit reinem β-Oxyd-acetat bei der Mischprobe eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung.

Herstellung von β-Cholesterin-oxyd-acetat (IV).

Neben der oben beschriebenen Darstellung von β-Oxyd-acetat durch chromatographische Trennung führt auch eine von *Z. Hattori*[1]) angegebene Methode zum Ziel. Das nach diesen Angaben über das 3,5,6-Cholestantriol hergestellte β-Oxyd-acetat krystallisiert aus Methanol in stäbchenförmigen Krystallen vom Smp. 112—113°, welche mit dem durch chromatographische Trennung erhaltenen β-Oxyd-acetat keine Schmelzpunktserniedrigung ergaben.

$[\alpha]_D = -0,2^0$ (c = 1,16 in Chloroform)

[1]) *Z. Hattori*, Chem. Abstr. **34**, 7294 (1940).

Verseifung. 1 g β-Cholesterin-oxyd-acetat wurden mit 150 cm³ Methanol und 20 cm³ 0,5-n. NaOH 2 Stunden gekocht. Der grösste Teil des Methanols wurde abgedampft, der Rückstand mit Wasser verdünnt, der ausgefallene Niederschlag abfiltriert und dann aus Alkohol zweimal umkrystallisiert. Zur Analyse wurde 45 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet. Smp. 132°.

$[\alpha]_D = +10{,}3;\ 10{,}9^0$ (c = 0,509; 0,676 in Chloroform)

3,690 mg Subst. gaben 10,882 mg CO_2 und 3,811 mg H_2O

$C_{27}H_{46}O_2$ Ber. C 80,54 H 11,52%
Gef. „ 80,48 „ 11,57%

Hydrierung von β-Cholesterin-oxyd-acetat.

530 mg β-Oxyd-acetat vom Smp. 112—113° ($[\alpha]_D = -0{,}2^0$) und 100 mg Platinoxyd nahmen in Eisessig nach Vorhydrierung des Katalysators in 6 Stunden 39,8 cm³ Wasserstoff (760 mm, 0°) auf (ber. 29,2 cm³). Die Hydrierung wurde dann abgebrochen, da die Wasserstoffaufnahme nur mehr sehr langsam weiterging.

Das Reaktionsprodukt wurde wie üblich aufgearbeitet und der ölige Rückstand, der keine Neigung zum Krystallisieren zeigte, wurde an einer Säule von 10 g Aluminiumoxyd chromatographiert, wobei die folgenden Fraktionen erhalten wurden:

Fraktion Nr.	Lösungsmittel in cm³	Eluat mg	Schmelzpunkt
1	150 Petroläther	90	80— 81°
2	70 Petroläther/Benzol 10 : 1 .	20	109—110°
3	70 Petroläther/Benzol 1 : 1. .	30	ölig
4	70 Benzol	90	112—113°
5	70 Benzol	20	112—113°
6	170 Äther.	240	129—135°

Fraktion 1 lieferte aus verdünntem Aceton Nadeln vom Smp. 80—81°, welche durch Mischprobe als Cholestan identifiziert wurden.

Aus Fraktion 2 wurden durch Umkrystallisieren aus Methanol Nadeln vom Smp. 109—110° erhalten, welche in der Mischprobe mit Cholestanol-(3β)-acetat keine Erniedrigung des Schmelzpunktes ergaben.

Fraktion 3 war ölig und nicht zur Krystallisation zu bringen.

Aus den Fraktionen 4 und 5 konnte durch Umkrystallisieren unverändertes Ausgangsmaterial zurückgewonnen werden (Mischprobe).

3β-Acetoxy-6-oxy-cholestan (V). Fraktion 6 krystallisierte aus verdünntem Aceton in Blättchen vom Smp. 132—136°. Nach sechsmaligem Umlösen aus diesem Lösungsmittel erhöhte sich der Schmelzpunkt auf 143—144°. Zur Analyse wurde eine Probe der Substanz über Nacht im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = -6{,}6^0$ (c = 0,83 in Chloroform)

3,713 mg Subst. gaben 10,640 mg CO_2 und 3,793 mg H_2O

$C_{29}H_{50}O_3$ Ber. C 77,97 H 11,28%
Gef. „ 78,20 „ 11,43%

3β,6-Diacetoxy-cholestan (Va). 30 mg 3β-Acetoxy-6-oxy-cholestan wurden in 3 cm³ Pyridin und 2 cm³ Acetanhydrid gelöst und während 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde wie üblich aufgearbeitet, der krystallisierte Rückstand in Aceton gelöst, mit etwas Tierkohle gekocht und abfiltriert. Durch Zusatz von etwas Wasser zum eingeengten Filtrat wurden Blättchen vom Smp. 137—138° erhalten. Der Schmelzpunkt erhöhte sich beim weiteren Umkrystallisieren aus demselben

Lösungsmittel nur leicht auf 137,5—138,5°. Das erhaltene 3β,6-Diacetoxy-cholestan gab mit dem Ausgangsmaterial bei der Mischprobe eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde über Nacht im Hochvakuum bei 90° getrocknet.

3,817 mg Subst. gaben 10,672 mg CO_2 und 3,654 mg H_2O

$C_{31}H_{52}O_4$ Ber. C 76,18 H 10,73%
Gef. „ 76,30 „ 10,71%

3β-Acetoxy-6-keto-cholestan (VI). 20 mg 3β-Acetoxy-6-oxy-cholestan wurden in 5 cm³ Eisessig gelöst, mit der Lösung von 4,92 mg Chromtrioxyd in 0,25 cm³ 90-proz. Eisessig versetzt und 48 Stunden stehen gelassen. Es wurde wie üblich aufgearbeitet, der krystallisierte Rückstand in Aceton gelöst und durch wenig Tierkohle filtriert. Aus dem Filtrat krystallisierte nach Einengen und Zusatz von etwas Wasser 3β-Acetoxy-6-keto-cholestan in Blättchen aus. Die Substanz wurde noch einmal umkrystallisiert und schmolz dann bei 128—129°. Die Mischprobe mit einem auf anderem Wege hergestellten Präparat zeigte einen Schmelzpunkt von 128—130°.

Hydrierung des Additionsproduktes von α- und β-Cholesterin-oxyd-acetat.

444 mg der Additionsverbindung und 80 mg Platinoxyd wurden in 20 cm³ Eisessig hydriert. Dauer 3½ Stunden. Wasserstoffaufnahme: gef. 38,4 cm³ (760 mm, 0°), ber. (1 Mol) 22,4 cm³.

Die Aufarbeitung wurde wie beschrieben durchgeführt. Zur Trennung der entstandenen Produkte bedienten wir uns des Durchlauf-Chromatogrammes. Es wurden isoliert: ungefähr 80 mg Cholestan (Smp. 80—81°), 90 mg β-Cholestanol-acetat (Smp. 109—110°), 140 mg 3β-Acetoxy-5-oxy-cholestan (Smp. 184,5—185,5°) und 90 mg eines Krystallisates vom Smp. 173—178,5°, das wahrscheinlich ein Gemisch von 3β-Acetoxy-5-oxy- und 3β-Acetoxy-6-oxy-cholestan darstellt.

Weitere Versuche zur Hydrierung der Additionsverbindung. Folgende Hydrierungsversuche zeigten keine Wasserstoff-Aufnahme:

1. 222 mg Subst. und 30 mg PtO_2 in 20 cm³ Essigester
2. 222 mg Subst. und 20 mg PtO_2 in 40 cm³ Feinsprit
3. 222 mg Subst. und 100 mg *Raney*-Nickel in 40 cm³ Feinsprit
4. 222 mg Subst. und 100 mg *Raney*-Nickel in 40 cm³ Feinsprit + 3 Tropfen konz. NaOH
5. 222 mg Subst. und 100 mg Pd-$CaCO_3$ in 20 cm³ Essigester
6. 222 mg Subst. und 20 mg PtO_2 in 20 cm³ Essigester + 3 Tropfen Eisessig.

Bei diesen Versuchen konnte das Ausgangsmaterial nach Entfernung des Katalysators in allen Fällen unverändert zurückerhalten werden.

5,6-Oxido-cholestan (VII).

Herstellung. 5,6-Oxido-cholestan wurde nach den Angaben von *Ruzicka, Furter* und *Thomann*[1]) hergestellt. Das Produkt wurde nach wiederholtem Umkrystallisieren aus verdünntem Aceton in feinen Blättchen vom Smp. 79,5—80,5° erhalten. Zur Kontrolle der Einheitlichkeit der Substanz wurde eine Probe an Aluminiumoxyd chromatographisch in drei gleiche Fraktionen geteilt. Von diesen wurden die Schmelzpunkte und spez. Drehungen bestimmt.

Frakt. 1. Smp. 79,5—80,5°; $[\alpha]_D = -55,7°$ ($c = 1,13$ in Chloroform)
2. Smp. 79,0—80,5°; $[\alpha]_D = -55,6°$ ($c = 0,98$ in Chloroform)
3. Smp. 79,7—80,5°; $[\alpha]_D = -55,9°$ ($c = 1,02$ in Chloroform)

Eine Probe der Fraktion 2 wurde über Nacht im Hochvakuum bei 50° getrocknet und zur Kontrolle analysiert.

3,680 mg Subst. gaben 11,327 mg CO_2 und 3,942 mg H_2O

$C_{27}H_{46}O$ Ber. C 83,87 H 11,99%
Gef. „ 84,00 „ 11,99%

[1]) *L. Ruzicka, M. Furter* und *G. Thomann*, Helv. **16**, 327 (1933).

Hydrierung. 320 mg 5,6-Oxido-cholestan vomSmp. 79,5—80,5° ($[\alpha]_D = -55,7°$) wurden mit 50 mg Platinoxyd — nach Vorhydrierung des Katalysators — in 25 cm³ reinem Eisessig hydriert. Dabei wurden in drei Stunden 20,5 cm³ (760 mm, 0°) Wasserstoff (ber. 18,6 cm³) aufgenommen. Die Hydrierung wurde dann abgebrochen.

Das Reaktionsprodukt wurde wie üblich aufgearbeitet, der farblose, ölige Rückstand in trockenem Petroläther gelöst und an einer Säule von 8 g Aluminiumoxyd im Durchlauf chromatographiert.

Die erste Fraktion lieferte aus Aceton Nadeln vom Smp. 79—80°, die durch Mischprobe als Cholestan identifiziert wurden.

Aus den folgenden Fraktionen liessen sich vorerst keine krystallisierten Anteile gewinnen. Die Fraktionen wurden deshalb vereinigt (260 mg), in Eisessig gelöst, mit einer Lösung von 50 mg Chromtrioxyd in 90-proz. Eisessig versetzt und über Nacht stehen gelassen. Dann wurde wie üblich aufgearbeitet und der Rückstand erneut an Aluminiumoxyd chromatographiert.

Die ersten Eluate (Petroläther) enthielten nun in der Hauptsache 6-Keto-cholestan (90 mg), das aus verdünntem Aceton in Blättchen vom Smp. 98—99° krystallisierte und durch die Mischprobe identifiziert wurde. Die späteren Eluate (Petroläther-Benzol) lieferten beim Umkrystallisieren aus verdünntem Aceton ein Produkt vom Smp. 109—110°, in welchem das 5-Oxy-cholestan vorliegen muss.

5-Oxy-cholestan (X). Die analysenreine Substanz schmilzt bei 109—110°. Zur Analyse wurde 12 Stunden im Hochvakuum bei 70° getrocknet.

$[\alpha]_D = +11,2;\ +9,3°$ (c = 0,89; 0,92 in Chloroform)

3,763 mg Subst. gaben 11,527 mg CO_2 und 4,155 mg H_2O
9,286 mg Subst. gaben 0,346 cm³ CH_4 (760 mm, 0°)

$C_{27}H_{48}O$	Ber. C 83,43	H 12,45	akt. H. 0,26%
	Gef. „ 83,60	„ 12,36	„ „ 0,17%

In einem etwas grösseren Ansatz wurden zur Isolierung von 5-Oxy-cholestan die Versuchsbedingungen folgendermassen abgeändert:

Durch Verwendung einer grösseren Menge Platinoxyd (620 mg für 2,3 g Substanz) wurde erreicht, dass die Wasserstoff-Aufnahme schon nach 30 Minuten beendet war. Hierauf wurde der Katalysator abfiltriert, das Filtrat sofort mit einer Lösung von 748 mg Chromtrioxyd in 90-proz. Eisessig tropfenweise versetzt und 16 Stunden lang stehen gelassen. Die Lösung trübte sich bereits bei Zugabe der ersten Tropfen Chromsäure-Lösung. Nach dem Stehenlassen hatte sich der Chromsäure-ester von Cholestanol-(5) in Form eines gelben Niederschlages abgeschieden. Dieser wurde abgenutscht, mit etwas reinem Eisessig gewaschen und über Nacht im Vakuum-Exsikkator über Kalilauge getrocknet. Es wurden 1250 mg Cholestanol-(5)-chromsäure-ester in Form eines orangegelben krystallisierten Pulvers erhalten. Das Produkt war in Äther und Petroläther leicht löslich, schwer dagegen in Eisessig, aus dem es sich gut umkrystallisieren liess und dann in schönen goldgelben Nadeln erhalten wurde. Der Chromsäure-ester ist gegen Verseifung recht beständig, indem er in ätherischer Lösung weder durch Schütteln mit Wasser noch mit kalter 10-proz. Kalilauge zerlegt werden konnte. Die Verseifung gelang aber durch Kochen mit 10-proz. alkoholischer Kalilauge. Dabei lieferten die 1250 mg Chromsäure-ester einen krystallisierten farblosen Rückstand, aus dem durch Umlösen aus verdünntem Aceton 900 mg nicht ganz reines 5-Oxy-cholestan vom Smp. 104—107° gewonnen wurden.

4,5-Oxido-cholestan (VIII).

Herstellung. „Koprosten-oxyd" wurde nach Angaben von *Heilbron, Shaw* und *Spring*[1]) hergestellt. Das so erhaltene Produkt schmolz nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Essigester bei 95—96°, also etwas tiefer als in der Literatur angegeben. Die

[1]) *I. M. Heilbron, W. Shaw* und *F. S. Spring*, R. 57, 533 (1938).

Drehung war in guter Übereinstimmung mit dem von den obigen Autoren angegebenen Wert: $[\alpha]_D = +80{,}3^0$ (c = 1,11 in Chloroform).

Hydrierung. 500 mg Koprosten-oxyd vom Smp. 95—96° ($[\alpha]_D = +80{,}3^0$), gelöst in 50 cm³ Eisessig wurden mit Platin aus 50 mg Platinoxyd hydriert. Nach 4 Stunden hatte die Lösung 41,8 cm³ (ber. 29,2 cm³ (760 mm, 0°))Wasserstoff aufgenommen. Die Hydrierung wurde hier abgebrochen. Hierauf wurde wie üblich aufgearbeitet und der Rückstand an Aluminiumoxyd im Durchlauf chromatographiert. Dabei wurden mit Petroläther zuerst 320 mg nicht krystallisierende Anteile eluiert.

Elution mit Petroläther-Benzol-Gemischen ergab 100 mg Krystalle, die durch Mischprobe und spez. Drehung als Cholestanol-(5) (X) charakterisiert wurden ($[\alpha]_D = +10{,}7^0$; c = 0,89 in Chloroform).

Durch Eluieren mit Äther wurden schliesslich noch 100 mg einer Verbindung erhalten, die aus Methanol in Nadeln vom Smp. 187—187,5° krystallisierte. Die Drehung zeigte einen Wert von $[\alpha]_D = +2{,}8^0$ (c = 1,17 in Chloroform). Durch diese beiden Daten ist die erhaltene Verbindung als 4-Oxy-cholestan (XI) charakterisiert.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg.
Technischen Hochschule, Zürich.

---

61. Über Steroide und Sexualhormone.

(95. Mitteilung [1]).

Herstellung von 2-Keto-, 2α-Oxy- und 2β-Oxy-cholestan

von **L. Ruzicka, Pl. A. Plattner** und **M. Furrer.**

(11. II. 44.)

Die vier bis heute bekannten Cholestanone enthalten die Carbonyl-Gruppe in einer der Stellungen 3, 4, 6 oder 7 des Sterin-Gerüstes. Das 2-Keto-cholestan (VII) und die beiden epimeren 2-Oxy-cholestane (X und XI), welche aus verschiedenen Gründen ein gewisses Interesse beanspruchen, sind noch nicht hergestellt worden.

Es war naheliegend, für die Herstellung dieser Verbindungen von Δ^2-Cholesten oder von geeigneten, leicht zugänglichen 2,3-disubstituierten Derivaten des Cholestans auszugehen. Nach langwierigen und präparativ sehr unergiebigen Versuchen[2]) mit dem von *Ruzicka, Plattner* und *Aeschbacher*[3]) beschriebenen 2-Acetoxy-3-keto-cholestan wurde in der „Enolform A" des 2,3-Diketo-cholestans[4]) (III) ein geeignetes Ausgangsmaterial für die geplanten Umsetzungen gefunden.

---

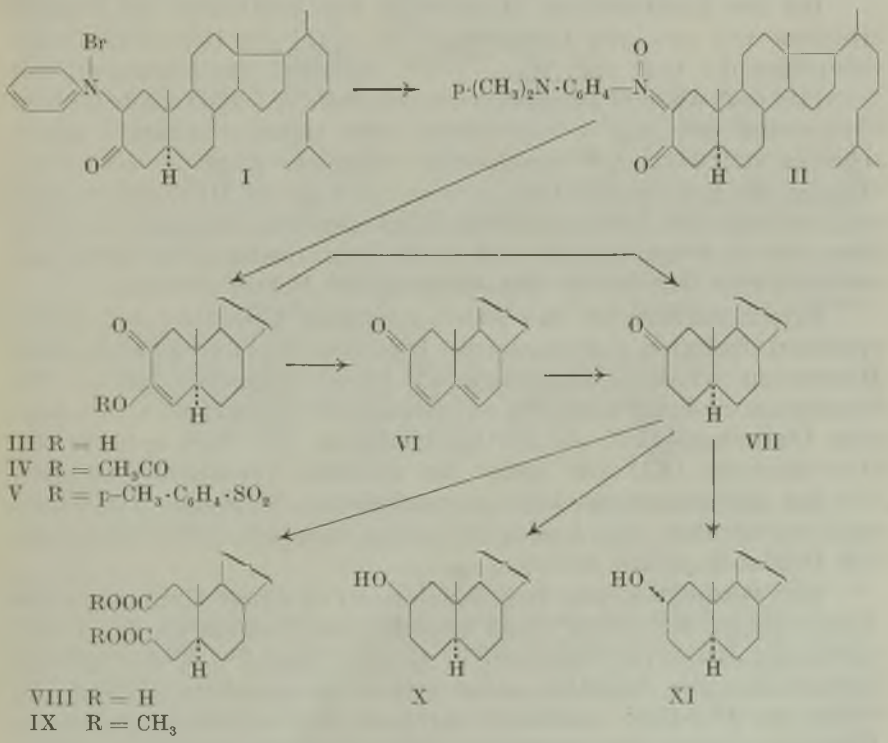
[1]) 94. Mitt. Helv. **27**, 513 (1944).

[2]) Vgl. eine spätere Mitteilung.

[3]) Helv. **21**, 866 (1938).

[4]) *E. T. Stiller* und *O. Rosenheim*, Soc. **1938**, 353; vgl. *H. Dannenberg*, Abh. Preuss. Akad. Wiss. math.-naturw. Kl. **1939**, 17.

Das 2,3-Diketo-cholestan ist von *Stiller* und *Rosenheim*[1]) aus Cholestanon-(3) durch Oxydation mit Selendioxyd in etwa 30-proz. Ausbeute erhalten worden. Geeigneter für die präparative Herstellung des Diketons schien uns die Methode von *F. Kröhnke*[2]) zu sein, welche in der Steroidchemie schon verschiedentlich zur Bereitung von α,β-Dicarbonyl-Verbindungen benutzt wurde[3]). Obschon dieses Verfahren, das ausgehend von Cholestanon-(3) über das 2-Brom-cholestanon-(3)[4]), die Pyridinium-Verbindung (I)[5]) und das Nitron (II) zum Keto-enol (III) führt, drei Zwischenstufen durchläuft, so betragen doch die Ausbeuten an (III) gut das Doppelte im Vergleich zu dem Resultat der Oxydation mit Selendioxyd. Die mit starker Kalilauge aus dem Spaltungsprodukt des Nitrons (II) erhaltene Enolform A des 2,3-Diketo-cholestans (III) gab mit Pyridin und Acetanhydrid das schon von *Stiller* und *Rosenheim* beschriebene Keto-enol-acetat (IV) und analog mit Tosylchlorid den entsprechenden Tosylester (V).



[1]) L. c., vgl. auch *H. H. Inhoffen*, B. **70**, 1695 (1937).

[2]) B. **69**, 2006 (1936); **71**, 2583 (1938); **72**, 440 (1939).

[3]) *H. Reich* und *T. Reichstein*, Helv. **22**, 1124 (1939); *H. Reich*, Helv. **23**, 219 (1940); *L. Ruzicka, V. Prelog* und *P. Wieland*, Helv. **26**, 2050 (1943).

[4]) *A. Butenandt* und *A. Wolff*, B. **68**, 2091 (1935).

[5]) *L. Ruzicka, Pl. A. Plattner* und *R. Aeschbacher*, Helv. **21**, 866 (1938).

Wurde der in Alkohol gelöste Tosylester (V) bei etwa 70° in Gegenwart von *Raney*-Nickel hydriert, so liess sich nach der Oxydation der rohen Reduktionsprodukte mit Chromsäure in guter Ausbeute ein gesättigtes Keton der Bruttoformel $C_{27}H_{46}O$ isolieren. Nach Schmelzpunkt (131°) und spez. Drehung ($[\alpha]_D = +49°$) wies das Produkt grosse Ähnlichkeit mit Cholestanon-(3) auf. Die Mischprobe mit letzterer Substanz zeigte jedoch eine starke Schmelzpunktserniedrigung, sodass an der Verschiedenheit der beiden Ketone kein Zweifel besteht.

Die Konstitution des neuen Ketons als 2-Keto-cholestan (VII) ergibt sich eindeutig aus dessen oxydativem Abbau mit Chromsäure. Die erhaltene Dicarbonsäure (VIII) und der daraus hergestellte Dimethylester (IX) erwiesen sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe als identisch mit den nach *Windaus* und *Uibrig*[1]) durch Oxydation von Cholestanol mit Chromsäure erhaltenen Präparaten.

Bei der katalytischen Hydrierung mit Platinoxyd in Eisessig erhielten wir aus dem Cholestanon-(2) (VII) ein Cholestanol vom Schmelzpunkt 155° und $[\alpha]_D = +33°$, während die Reduktion mit Natrium und Alkohol zu einem isomeren bei 178–180° schmelzenden Cholestanol mit $[\alpha]_D = +36°$ führte. Die beiden Präparate unterscheiden sich durch die verschiedene räumliche Lage der Hydroxyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 2. Sie zeigen in der Mischprobe unter sich und mit den beiden epimeren Cholestanolen-(3α) und -(3β), von denen sie im Schmelzpunkt und in der spez. Drehung nur wenig abweichen, eine bedeutende Erniedrigung der Schmelzpunkte.

Bemerkenswert ist das unterschiedliche Verhalten der beiden epimeren Cholestan-2-ole gegenüber Digitonin. Das durch katalytische Hydrierung erhaltene Cholestanol-(2) ist mit Digitonin fällbar. Wir bezeichnen es daher vorläufig auf Grund der Fällbarkeit in Analogie zum Cholestanol-(3β) als 2β-Oxy-cholestan (X). Das epimere 2α-Oxy-cholestan (XI) gibt unter den gleichen Versuchsbedingungen wie das epi-Cholestanol kein schwerlösliches Digitonid. Vergleichsweise sei erwähnt, dass keines der beiden epimeren 4-Oxy-cholestane mit Digitonin gefällt wird[2]).

Wir versuchten, aus dem Tosylester (V) durch Umsetzung mit Natriumjodid in Aceton[3]) und nachfolgende Reduktion des zu erwartenden Jodids mit Zinkstaub in Alkohol[4]) das Δ^3-2-Keto-cholesten herzustellen. Die Reaktion nahm jedoch einen anderen Verlauf. An Stelle des Δ^3-2-Keto-cholestens entstand ein zweifach ungesättigtes Keton, bei dem auf Grund des U.V.-Absorptionsspektrums (λ_{max} 290 mμ, $\log \varepsilon = 4{,}1$) eine -CO–C=C–C=C- Gruppierung vorliegen

[1]) B. **47**, 2384 (1914).
[2]) *R. Tschesche* und *A. Hagedorn*, B. **68**, 2251 (1935).
[3]) Vgl. *B. Helferich*, B. **72**, 338 (1939).
[4]) Vgl. dazu *H. H. Inhoffen* und *G. Zühlsdorff*, B. **76**, 233 (1943).

dürfte. Wir nehmen deshalb an, dass der erhaltenen Verbindung die Formel (VI) des $\Delta^{3,5}$-2-Keto-cholestadiens zukommt. Diese Vermutung wird gestützt durch katalytische Hydrierung des Dien-ons (VI) mit Platin in Eisessig und milde Oxydation des Reduktionsproduktes mit Chromsäure zum 2-Keto-cholestan (VII).

Stiller und *Rosenheim* zogen für das Keto-enol A ausser der Formel (III) auch die des tautomeren Δ^1-3-Keto-cholesten-2-ols in Betracht. Die oben beschriebenen Umsetzungen des Keto-enol-tosylesters zu den beiden Ketonen (VI und VII) sind aber nur dann einfach zu erklären, wenn dem Tosylester die Formel (V) zugeschrieben wird. Aus Analogiegründen ist auch für das Keto-enol-acetat (Form A) und wahrscheinlich auch für das freie Keto-enol (Form A) die in den Formeln (IV und III) angegebene Struktur anzunehmen.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[1]).

Nitron (II) aus 3-Keto-cholestanyl-(2)-pyridinium-bromid (I).

Zur Lösung von 10 g der Pyridinium-Verbindung (I)[2]) in 200 cm³ Chloroform-Alkohol (1 : 1) wurden bei 0° 2,77 g p-Nitroso-dimethylanilin und 18,4 cm³ wässerige 1-n. Natronlauge zugegeben. Der Ansatz wurde 3½ Stunden bei 20° geschüttelt und dann im Vakuum weitgehend eingeengt. Das Nitron (II) krystallisierte dabei in glänzenden Schuppen von dunkeloranger Farbe aus. Die Krystallisation wurde durch Zusatz von 20 cm³ Wasser und Abkühlen auf 0° vervollständigt. Die mit Wasser gründlich gewaschenen Krystalle schmolzen bei 173—175° (u. Zers.). Zur Analyse wurde eine Probe dreimal aus Aceton umkrystallisiert und 3 Stunden bei 90° im Hochvakuum getrocknet. Das Präparat schmolz dann bei 178—179° (u. Zers.).

3,688 mg Subst. gaben 10,659 mg CO_2 und 3,252 mg H_2O
4,892 mg Subst. gaben 0,236 cm³ N_2 (15°, 726 mm)
$C_{35}H_{54}O_2N_2$ Ber. C 78,60 H 10,18 N 5,22%
Gef. „ 78,87 „ 9,87 „ 5,44%

Δ^3-2-Keto-cholestenol-(3) (III) (Form A[3]) des 2,3-Diketo-cholestans).

Das noch feuchte Nitron (II) wurde in 400 cm³ Äther suspendiert und durch kräftiges Schütteln mit 200 cm³ 2-n. Salzsäure rasch zersetzt. Nun wurde mehrmals mit verdünnter Salzsäure und mit gesättigter Kaliumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die auf 0° gekühlte ätherische Lösung wurde während 3 Minuten mit 200 cm³ kalter 20-proz. Kalilauge geschüttelt, wobei das weisse Kaliumsalz des Keto-enols (III) ausfiel. Das abfiltrierte und zweimal mit Äther gewaschene Kaliumsalz wurde durch Schütteln mit verdünnter Salzsäure zersetzt und das freie Keto-enol in Äther aufgenommen. Die mit Kaliumhydrogencarbonat und Wasser gewaschene und mit Natriumsulfat getrocknete ätherische Lösung wurde bei höchstens 40° zur Trockene eingedampft. Der weisse, krystallisierte Rückstand wog 5,8 g. Er schmolz unscharf bei 130—133° (klare Schmelze erst bei 145°) und bestand zur Hauptsache aus der Form A des 2,3-Diketo-cholestans.

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert. Für sämtliche Bestimmungen der optischen Drehungen wurde Chloroform als Lösungsmittel verwendet.

[2]) Helv. **21**, 866 (1938). [3]) Soc. **1938**, 353.

Das Präparat ist für weitere Umsetzungen genügend rein. Eine Probe wurde zur Analyse dreimal aus Methanol umkrystallisiert (Smp. 135—137°) und eine Stunde bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = +75°$[1]) (c = 1,01 in Chloroform)

3,680 mg Subst. gaben 10,892 mg CO_2 und 3,680 mg H_2O

$C_{27}H_{44}O_2$ Ber. C 80,94 H 11,07%
Gef. „ 80,77 „ 11,19%

Enol-acetat A des 2,3-Diketo-cholestans (IV). 5 g Keto-enol (III) vom Smp. 130—133° wurden in 25 cm³ absolutem Pyridin gelöst und nach Zusatz von 10 cm³ Acetanhydrid 10 Minuten auf 100° erwärmt. Am folgenden Tag wurde wie üblich aufgearbeitet und das Rohprodukt einmal aus wässerigem Methanol umkrystallisiert. Man erhielt 4,5 g fast reines Keto-enol-acetat (IV), das nach Umkrystallisieren aus Eisessig bei 138—139° schmolz. Zur Analyse wurde erneut aus Methanol umkrystallisiert und 20 Stunden bei 100° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = +96°$ (c = 1,025 in Chloroform)

3,832 mg Subst. gaben 11,077 mg CO_2 und 3,611 mg H_2O

$C_{29}H_{46}O_3$ Ber. C 78,68 H 10,47%
Gef. „ 78,89 „ 10,54%

Die Verseifung des Keto-enol-acetats (IV) nach *E. T. Stiller* und *O. Rosenheim* (l. c.) gab das reine Keto-enol (III) vom Smp. 144—145°.

Δ^3-2-Keto-cholesten-3-ol-tosylester (V).

2,4 g Keto-enol (III) wurden in 14 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 1,8 g Tosylchlorid versetzt und 15 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurde mit Eis und Wasser das überschüssige Tosylchlorid zersetzt, der Tosylester in viel Äther aufgenommen und mit verdünnter Salzsäure, eiskalter Sodalösung und Wasser gewaschen. Der nach dem Eindampfen der ätherischen Lösung erhaltene Rückstand wog 2,9 g. Er wurde einmal aus Essigester-Methanol umkrystallisiert. Die Krystalle (2,5 g) schmolzen bei 160—162°. Eine Probe wurde durch Umkrystallisieren noch weiter gereinigt (Smp. 161—162°). Zur Analyse wurde 2 Stunden bei 65° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = +83°$ (c = 1,02 in Chloroform)

3,601 mg Subst. gaben 9,707 mg CO_2 und 2,948 mg H_2O

$C_{34}H_{50}O_4S$ Ber. C 73,60 H 9,08%
Gef. „ 73,55 „ 9,16%

$\Delta^{3,5}$-Cholestadien-2-on (VI) aus (V).

500 mg Tosylester (V), 1 g wasserfreies Natriumjodid und 10 cm³ trockenes Aceton wurden im Einschlussrohr 17 Stunden auf 160° erhitzt. Als neutrales Reaktionsprodukt wurden 420 mg eines dunkelbraunen Öls isoliert. Dieses wurde mit 25 cm³ Alkohol und 4 g Zinkstaub versetzt und 4 Stunden gekocht. Die filtrierte Lösung wurde zur Trockne verdampft, der ölige Rückstand (320 mg) in 35 cm³ Petroläther gelöst und an 10 g Aluminiumoxyd adsorbiert. Benzol und Benzol mit Zusatz von 2% Äther eluierten 170 mg teilweise krystallisierte Produkte. Diese wurden durch Sublimation im Hochvakuum bei 180° von den öligen Begleitsubstanzen getrennt. Aus verdünntem Methanol krystallisierte das Sublimat (30 mg) in Nadeln vom Smp. 121,5—122,5°. Zur Analyse wurde 22 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

---

[1]) Nach *E. T. Stiller* und *O. Rosenheim*, Soc. **1938**, 353, zeigt das reine Keto-enol (III) eine spez. Drehung von +79,1°.

$[\alpha]_D = -62^0$ (c = 0,535 in Chloroform)

3,810 mg Subst. gaben 11,857 mg CO_2 und 3,804 mg H_2O

$C_{27}H_{42}O$ Ber. C 84,75 H 11,07%
Gef. „ 84,93 „ 11,17%

Katalytische Hydrierung. 10 mg $\Delta^{3,5}$-Cholestadienon-(2) wurden in 3 cm³ Eisessig gelöst und unter Zusatz von 10 mg Platinoxyd hydriert. Nach 2 Stunden wurde vom Katalysator abfiltriert und mit 5 mg Chromtrioxyd in wenig Wasser versetzt. Das Oxydationsprodukt schmolz nach Umkrystallisieren und Sublimieren bei 127—128,5°. In der Mischprobe mit Cholestanon-(2) (VII) vom Smp. 130—131° wurde keine Schmelzpunktserniedrigung beobachtet.

Cholestanon-(2) (VII) aus Tosylester (V).

2,24 g Enol-tosylat (V) wurden in 200 cm³ Feinsprit suspendiert und in Gegenwart von 2 g *Raney*-Nickel während 20 Stunden bei ca. 70° hydriert. Die Wasserstoffaufnahme betrug 2,3 Mol. Die schwach grüne Lösung wurde durch wenig Aluminiumoxyd filtriert. Das Filtrat wurde in Äther aufgenommen, mit Soda und Wasser gewaschen und eingedampft. Der Rückstand (1,5 g) wurde in Chloroform-Eisessig gelöst und mit einer konzentrierten wässerigen Lösung von 400 mg Chromtrioxyd versetzt. Nach dem Stehen über Nacht wurde in viel Äther aufgenommen und die ätherische Lösung neutral gewaschen. Nach chromatographischer Reinigung wurden 1,3 g Krystalle vom Smp. 130,5—131,5° erhalten. Zur Analyse wurde aus Methanol umkrystallisiert und 4 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = +49^0$ (c = 1,015 in Chloroform)

3,764 mg Subst. gaben 11,590 mg CO_2 und 4,084 mg H_2O

$C_{27}H_{46}O$ Ber. C 83,87 H 11,99%
Gef. „ 84,01 „ 12,14%

Cholestanon-(2) zeigt in der Mischprobe mit Cholestanon-(3) eine starke Schmelzpunktserniedrigung.

Oxydation von Cholestanon-(2) (VII) zur Dicarbonsäure (VIII).

200 mg Cholestanon-(2) wurden in 15 cm³ 90-proz. Essigsäure warm gelöst, mit 130 mg Chromtrioxyd in 2,5 cm³ 90-proz. Essigsäure versetzt und die Mischung 2 Stunden auf 60° erhitzt. Zur Zerstörung der überschüssigen Chromsäure wurden 4 cm³ Methanol zugegeben und nochmals 15 Minuten erwärmt. Dann wurde mit verdünnter Schwefelsäure und Wasser versetzt und die ausgefallene Säure (VIII) in Äther aufgenommen. Sie wurde durch Behandlung mit Soda von neutralen Anteilen abgetrennt, dann dreimal aus verdünntem Eisessig umkrystallisiert und zur Analyse 20 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet. (Smp. 194—196°.)

3,790 mg Subst. gaben 10,334 mg CO_2 und 3,655 mg H_2O

$C_{27}H_{46}O_4$ Ber. C 74,61 H 10,67%
Gef. „ 74,41 „ 10,77%

Das Präparat erwies sich in der Mischprobe identisch mit der Dicarbonsäure von *Windaus* und *Uibrig*[1]). Auch der mit Diazomethan bereitete Dimethylester (IX) gab bei der Mischprobe mit einem Vergleichspräparat vom Smp. 59—60° keine Schmelzpunktserniedrigung.

2β(?)-Oxy-cholestan (X) aus (VII).

100 mg Cholestanon-(2) (VII) wurden in 20 cm³ Eisessig gelöst und in Gegenwart von 20 mg Platinoxyd hydriert. Nach 1 Stunde kam die Hydrierung zum Stillstand.

[1]) B. **47**, 2384 (1914); vgl. A. **532**, 66 (1937).

Nach dem Abfiltrieren vom Katalysator wurde der Eisessig abgesaugt und der Rückstand bei 0,01 mm Hg sublimiert. Das einheitliche Sublimat schmolz bei 154—155°.

$[\alpha]_D = +33^0$ (c = 1,015 in Chloroform)

3,605 mg Subst. gaben 11,016 mg CO_2 und 4,012 mg H_2O

$C_{27}H_{48}O$ Ber. C 83,43 H 12,45%
Gef. „ 83,39 „ 12,45%

Das 2β(?)-Oxy-cholestan ist mit Digitonin fällbar. Die Mischprobe mit 3β-Oxy-cholestan zeigt eine starke Erniedrigung des Schmelzpunktes.

Oxydation. 20 mg Oxy-cholestanol (X) wurden in üblicher Weise mit Chromsäure zu Cholestanon-(2) vom Smp. 129,5—130° oxydiert.

2α(?)-Oxy-cholestan (XI) aus (VII).

150 mg Cholestanon-(2) (VII) wurden in 40 cm³ Alkohol gelöst und portionenweise 2 g Natrium zugegeben. Nach beendeter Reaktion wurde das Alkali mit Säure abgestumpft, die Lösung mit Äther ausgeschüttelt und die gewaschene ätherische Lösung eingedampft. Das durch mehrmaliges Sublimieren und Umkrystallisieren gereinigte 2α(?)-Oxy-cholestan schmolz bei 178 bis 180°. Zur Analyse wurde bei 170° im Hochvakuum sublimiert.

$[\alpha]_D = +36^0$ (c = 0,21 in Chloroform)

3,658 mg Subst. gaben 11,199 mg CO_2 und 4,088 mg H_2O

$C_{27}H_{48}O$ Ber. C 83,43 H 12,45%
Gef. „ 83,54 „ 12,51%

Mit Digitonin entstand unter den gleichen Bedingungen wie beim 2β(?)-Oxy-cholestan keine Fällung. Bei der Mischprobe mit 3α-Oxy-cholestan wurde eine starke Erniedrigung des Schmelzpunktes beobachtet.

Oxydation. 50 mg 2α(?)-Oxy-cholestan wurden mit Chromsäure bei Zimmertemperatur oxydiert, wobei man sofort reines Cholestanon-(2) vom Smp. 130—131° erhielt.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

62. Über die Synthese von *d,l*-Heliotridan (1-Methyl-pyrrolizidin)

von V. Prelog und E. Zalán.

(12. II. 44.)

Eine Reihe von Alkaloiden, wie z. B. Retrorsin, Jacobin, Senecionin, Heliotrin, Monocrotalin u. a. m.[1]) geben bei der alkalischen Hydrolyse sauerstoffhaltige, basische Spaltstücke, welche sich in dieselbe sauerstoffreie Base $C_8H_{15}N$ überführen lassen. Diese linksdrehende, tertiäre und bicyclische Base wurde Heliotridan genannt. *G. P. Menschikoff*[2]) zeigte, dass das Heliotridan sehr wahrscheinlich ein 1-Methyl-pyrrolizidin [4-Methyl-1-aza-bicyclo-(0,3,3)-octan (I)] ist. *R. Adams* und *E. F. Rogers*[3]) haben später diese Konstitution für Heliotridan durch weitere Versuche bewiesen.

Schon *Menschikoff*[4]) versuchte die interessante Base durch Cyclisierung von N-Brom-2-sek. butyl-pyrrolidin mit konz. Schwefelsäure zu erhalten. Das in sehr schlechter Ausbeute gebildete Cyclisierungsprodukt konnte aber nur ungenügend charakterisiert werden. Eine weitere Synthese wurde von *G. R. Clemo* und *T. A. Melrose*[5]) ohne Erfolg angestrebt. Da sich bicyclische Basen mit Stickstoff an der Verknüpfungsstelle allgemein durch zweifache intramolekulare Alkylierung herstellen lassen[6]) und das Pyrrolizidin selbst auf diesem Wege erhalten wurde[7]), lag der Gedanke nahe, auch die Synthese des 1-Methyl-pyrrolizidins auf analoge Weise zu versuchen.

Die Herstellung des dafür notwendigen Ausgangsmaterials V erfolgte auf dem durch die Formeln II–V dargestellten Wege. γ-Phenoxy-α-methyl-butyronitril (II)[8]) gab mit γ-Äthoxy-propylmagnesiumbromid das Keton III, dessen Oxim durch Reduktion mit Natrium und absolutem Alkohol das Amin IV lieferte. Mit rauchender Bromwasserstoffsäure bei 100° erhielten wir daraus das Dibrom-aminhydrobromid V, welches in verdünnter Lösung mit Natronlauge behandelt das 1-Methyl-pyrrolizidin (I) gab.

---

[1]) Vgl. Annual Reports on the Progress of Chemistry **35**, 328 (1938); **39**, 202 (1942).

[2]) B. **66**, 875 (1933); **68**, 1051, 1555 (1935); **69**, 1799 (1936); Журнал общей химии [J. Chim. gén. russe] **7**, 1035 (1938).

[3]) Am. Soc. **63**, 228 (1941).

[4]) Bull. Acad. Sci. U.R.S.S. **1937**, 1035.

[5]) Soc. **1942**, 424.

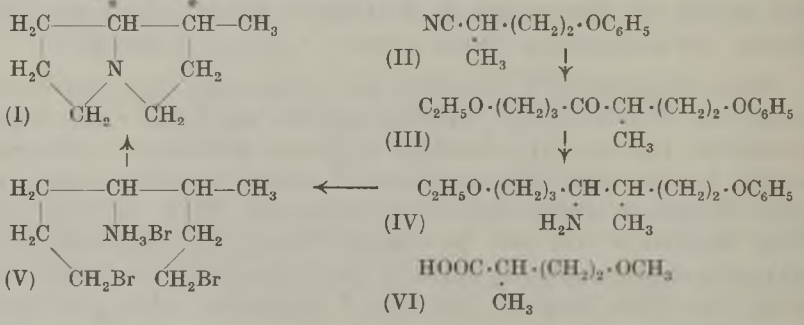
[6]) *V. Prelog*, A. **545**, 230 (1940).

[7]) *V. Prelog* und *S. Heimbach*, B. **72**, 1101 (1939).

[8]) *F. E. King* und *R. Robinson*, Soc. **1933**, 273; *R. Adams* und *E. F. Rogers*, Am. Soc. **63**, 232 (1941).

Das 1-Methyl-pyrrolizidin enthält 2 asymmetrische Kohlenstoffatome. Obwohl bei der synthetischen Herstellung zwei diastereomere Racemate zu erwarten wären, wurde nur die Entstehung einer Verbindung beobachtet, sehr wahrscheinlich, weil bei der Reduktion des Oxims von III zum Amin IV in der Hauptsache nur eine der beiden möglichen diastereomeren Formen gebildet wird. Die Eigenschaften des erhaltenen racemischen 1-Methyl-pyrrolizidins und seiner Salze stimmten recht gut mit denjenigen des natürlichen linksdrehenden Heliotridans überein. Es ist demnach anzunehmen, dass in der synthetischen Verbindung die racemische Form des natürlichen optisch aktiven Heliotridans vorliegt[1]).

Im Zusammenhang mit der Synthese des *d,l*-Heliotridans stellten wir auch die γ-Methoxy-α-methyl-buttersäure (VI) her. Als Ausgangsmaterial war diese Säure aus verschiedenen Gründen weniger geeignet als die entsprechende γ-Phenoxy-säure; die Versuche in dieser Richtung wurden deshalb abgebrochen.



Experimenteller Teil[2]).

7-Äthoxy-1-phenoxy-3-methyl-heptanon-(4) (III).

Aus 8,5 g γ-Äthoxy-propyl-bromid und 1,35 g Magnesium in 30 cm³ Äther wurde eine Lösung von γ-Äthoxy-propyl-magnesiumbromid hergestellt, zu welcher man 10,5 g γ-Phenoxy-α-methyl-butyronitril, in wenig Äther gelöst, zutropfte. Zur Beendigung der Reaktion wurde 2 Stunden unter Rückfluss gekocht. Das Reaktionsgemisch zersetzte man mit Wasser und mit verdünnter Salzsäure und schüttelte mit Äther aus. Aus den Ätherauszügen wurden 10,3 g (65% der Theorie) an Keton vom Sdp.$_{0,2\ mm}$ 100—110° erhalten. Zur Analyse wurde nochmals im Hochvakuum fraktioniert destilliert.

3,665 mg Subst. gaben 9,724 mg CO_2 und 2,914 mg H_2O

$C_{16}H_{24}O_3$ Ber. C 72,69 H 9,15%

Gef. „ 72,41 „ 8,90%

Oxim. 9 g des Ketons wurden mit einer Lösung von Hydroxylamin-acetat (aus 9 g Hydroxylamin-hydrochlorid und 14 g Natriumacetat in 20 cm³ 50-proz. Methanol) 3½ Stunden unter Rückfluss gekocht. Der Hauptanteil des Methanols wurde abdestilliert und das ölige Oxim mit Äther ausgeschüttelt. Man erhielt 8 g (84% der Theorie) des schwach gelblichen, öligen Oxims vom Sdp.$_{0,1\ mm}$ 150°.

[1]) Es wurde oft beobachtet, dass sich die Salze der optisch aktiven Basen von den Salzen der Racemate wenig oder gar nicht unterscheiden.

[2]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

7-Äthoxy-1-phenoxy-4-amino-3-methyl-heptan (IV).

8 g 7-Äthoxy-1-phenoxy-3-methyl-heptanon-(4)-oxim wurden in 200 cm³ absolutem Alkohol mit 18 g Natrium reduziert. Den Alkohol destillierte man darauf möglichst weitgehend im Vakuum ab. Der Rückstand wurde mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Kaliumcarbonat getrocknet und destilliert. Man erhielt 5,4 g (76% der Theorie) der öligen, farblosen Base vom Sdp.$_{12\ mm}$ 189—199°. Zur Analyse wurde nochmals im Vakuum destilliert. Sdp.$_{11\ mm}$ 190—191°.

4,192 mg Subst. gaben 0,193 cm³ N_2 (20°, 737 mm)

$C_{16}H_{27}O_2N$ Ber. N 5,28% Gef. N 5,20%

1-Methyl-pyrrolizidin, *d,l*-Heliotridan (I).

5,1 g 7-Äthoxy-1-phenoxy-4-amino-3-methyl-heptan wurden mit Bromwasserstoffsäure neutralisiert und das Hydrobromid der Base zur Trockne eingedampft. Das erhaltene sirupartige Salz erhitzte man im Einschlussrohr mit 60 cm³ 66-proz. Bromwasserstoffsäure 3 Stunden auf 100°. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser verdünnt, filtriert und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Durch Umlösen aus Essigester-Äther erhielt man 5,5 g (78% der Theorie) des weissen, krystallinen 1,7-Dibrom-4-amino-3-methyl-heptan-hydrobromids (V), welches für die Herstellung der bicyclischen Base diente.

4,4 g dieses Produktes, in 2 Liter Wasser gelöst, tropfte man unter Rühren bei etwa 50° in 14 Liter 0,1-n. Natronlauge langsam hinein. Die gebildete Base, welche mit Wasserdampf aus der Reaktionsmischung übergetrieben wurde, verbrauchte 120 cm³ 0,1-n. Salzsäure. Aus dem Hydrochlorid der Base wurde mit Natriumpikrat das Pikrat hergestellt und dieses aus Methanol umgelöst; Ausbeute 3,15 g (67% der Theorie).

Das Pikrat der Base bildete gelbe Nadeln vom Smp. 234—236°[1]). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 40° getrocknet.

3,702 mg Subst. gaben 6,447 mg CO_2 und 1,712 mg H_2O

$C_{14}H_{18}O_7N_4$ Ber. C 47,45 H 5,12%

Gef. „ 47,53 „ 5,17%

Die freie Base wurde aus dem reinen Pikrat durch Zersetzen mit Natronlauge und Destillation mit Wasserdampf erhalten. Die Destillate versetzte man mit festem Kaliumhydroxyd und schüttelte mit Äther aus. Die Ätherauszüge wurden mit Kaliumhydroxyd getrocknet und durch Destillation mit einer *Widmer*-Kolonne vom Äther befreit. Den Rückstand destillierte man zweimal mit einer Mikro-Kolonne nach *L. C. Craig*[2]) über Kalium (Badtemperatur 162—190°). Das so hergestellte 1-Methyl-pyrrolizidin war eine ölige, basisch riechende Flüssigkeit, $d_4^{20} = 0{,}902$, $n_D^{20} = 1{,}4638$[3]), Mol.-Ref. M_D Ber. 38,7, Gef. 38,3.

Das Styphnat bildete aus Methanol umgelöst gelbe Nadeln vom Smp. 196—197°

3,744 mg Subst. gaben 6,231 mg CO_2 und 1,644 mg H_2O

$C_{14}H_{18}O_8N_4$ Ber. C 45,40 H 4,90%

Gef. „ 45,42 „ 4,91%

Das Pikrolonat krystallisierte aus Methanol in orangegelben Nadeln vom Smp. 162—163°[4]).

3,828 mg Subst. gaben 7,761 mg CO_2 und 1,987 mg H_2O

$C_{18}H_{23}O_5N_5$ Ber. C 55,52 H 5,95%

Gef. „ 55,33 „ 5,81%

---

[1]) *G. P. Mensehikoff*, B. **66**, 875 (1933) gibt für *l*-Heliotridan-pikrat Smp. 236° an. *R. Adams* und *F. G. Rogers*, Am. Soc. **63**, 234 (1941) geben Smp. 232—236°.

[2]) Ind. Engin. Chem. (Anal. Ed.) **9**, 441 (1937).

[3]) *R. Adams* und *E. F. Rogers*, l. c. geben für *l*-Heliotridan $d_4^{25} = 0{,}911$, $n_D^{20} = 1{,}4641$—$1{,}4648$ an.

[4]) *R. A. Konowalowa* und *A. P. Orechow*, C. **1939**, II, 3421, geben für das Pikrolonat des *l*-Heliotridans Smp. 152—153° und für das Tetrachloroaurat Smp. 199—200° an.

Das Tetrachloroaurat schmolz, umkrystallisiert aus Salzsäure-haltigem Wasser, bei 200—201° (Zers.)[1].

4,000 mg Subst. gaben 2,989 mg CO_2, 1,202 mg H_2O und 1,678 mg Au

$C_8H_{16}NCl_4Au$ Ber. C 20,65 H 3,47 Au 42,39%
Gef. „ 20,39 „ 3,36 „ 41,95%

γ-Methoxy-α-methyl-buttersäure (VI).

Aus 120 g β-Methoxy-äthyl-bromid, 200 g Methyl-malonsäure-diäthylester, 600 cm³ absolutem Alkohol und 25,8 g Natrium erhielt man 125,1 g (63% der Theorie) des β-Methoxy-äthyl)-methyl-malonsäure-diäthylesters vom Sdp.$_{11\ mm}$ 111—126°. Die alkalische Verseifung mit 80 g Kaliumhydroxyd in 100 cm³ Methanol und 200 cm³ Wasser und die Decarboxylierung der erhaltenen Dicarbonsäure lieferte 60,7 g (85% der Theorie) γ-Methoxy-α-methyl-buttersäure vom Sdp.$_{11\ mm}$ 114—120°. Zur Analyse wurde nochmals im Vakuum fraktioniert destilliert.

4,000 mg Subst. gaben 7,976 mg CO_2 und 3,266 mg H_2O

$C_6H_{12}O_3$ Ber. C 54,53 H 9,15%
Gef. „ 54,42 „ 9,14%

Amid. Aus 25,5 g Säure wurde mit 50 g Thionylchlorid das Säurechlorid hergestellt[2]) und in 170 cm³ 22-proz. Ammoniak unter Kühlung eingetropft. Zum Aussalzen wurden dem Reaktionsgemisch etwa 50 g Kaliumcarbonat zugegeben, worauf sich das Amid ölig ausschied. Durch Ausschütteln mit Äther und Abdampfen des mit Kaliumcarbonat getrockneten Ätherauszuges erhielt man 12,4 g eines krystallinen Rückstandes, welcher viermal aus Äther-Petroläther bis zum konstanten Smp. 45—47° umkrystallisiert wurde; Ausbeute 10 g (40% der Theorie). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet.

3,796 mg Subst. gaben 7,634 mg CO_2 und 3,413 mg H_2O

$C_6H_{13}O_2N$ Ber. C 54,94 H 9,99%
Gef. „ 54,89 „ 10,06%

Anilid. Aus dem rohen Säurechlorid erhielten wir auf übliche Weise das Anilid, welches mehrmals aus Aceton-Petroläther umgelöst wurde, und konstant bei 102—103° schmolz. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

2,608 mg Subst. gaben 6,648 mg CO_2 und 1,928 mg H_2O

$C_{12}H_{17}O_2N$ Ber. C 69,53 H 8,27%
Gef. „ 69,56 „ 8,27%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

---

[1]) *R. A. Konowalowa* und *A. P. Orechow*, C. **1939**, II, 3421, geben für das Pikrolonat des *l*-Heliotridans Smp. 152—153° und für das Tetrachloroaurat Smp. 192—200° an.

[2]) Vgl. *V. Prelog* und *S. Heimbach-Juhász*, B. **74**, 1703 (1941).

63. Über China-Alkaloide.

(5. Mitteilung [1]).

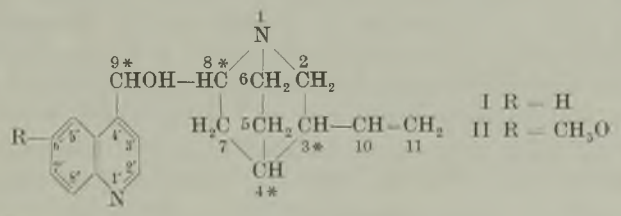
Über die Konfiguration der asymmetrischen Kohlenstoffatome 3, 4 und 8 der China-Alkaloide

von **V. Prelog** und **E. Zalán.**

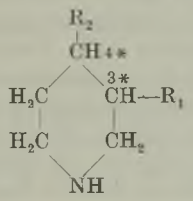
(12. II. 44.)

Die bisherigen Ergebnisse der stereochemischen Untersuchungen an China-Alkaloiden lassen sich folgendermassen kurz zusammenfassen[2]). Die wichtigsten in der Natur vorkommenden Alkaloide, die methoxylfreien stereoisomeren Verbindungen Cinchonidin und Cinchonin (I), sowie die methoxylhaltigen stereoisomeren Chinin und Chinidin (II) enthalten vier asymmetrische Kohlenstoffatome, die nach einem Vorschlag von *P. Rabe*[3]) mit den Nummern 3, 4, 8 und 9 bezeichnet werden.

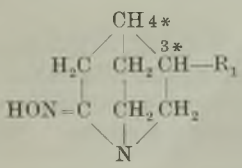
Die Konfiguration an den asymmetrischen Kohlenstoffatomen 3 und 4 ist bei allen erwähnten Alkaloiden dieselbe, weil sie sich zu den gleichen Piperidin- und Chinuclidin-Derivaten, z. B. Merochinen (III), Homo-merochinen (IV), Cincho-



I R = H
II R = CH_3O



III	$R_1 = -CH{=}CH_2$	$R_2 = -CH_2{-}CO_2H$
IV	$R_1 = -CH{=}CH_2$	$R_2 = -CH_2{-}CH_2{-}CO_2H$
V	$R_1 = -C_2H_5$	$R_2 = -CH_2{-}CO_2H$
VI	$R_1 = -C_2H_5$	$R_2 = -CH_2{-}CH_2{-}CO_2H$
VII	$R_1 = -CO_2H$	$R_2 = -CH_2{-}CO_2H$



VIII	$R_1 = -CH{=}CH_2$
IX	$R_1 = -C_2H_5$

[1]) 4. Mitt. *M. Prostenik* und *V. Prelog*, Helv. **26**, 1965 (1943).

[2]) Literaturzusammenstellung vgl. *T. A. Henry*, The Plant Alkaloids, 3. Aufl., London 1939, S. 423.

[3]) B. **55**, 522 (1922).

loipon (V), Homo-cincholoipon (VI), Cincholoipon-säure (VII), 6-Oximino-3-vinyl-chinuclidin (VIII) oder 6-Oximino-3-äthyl-chinuclidin (IX) abbauen lassen.

Das Cinchonidin unterscheidet sich vom stereoisomeren Cinchonin, ebenso wie das Chinin vom stereoisomeren Chinidin dadurch, dass es entgegengesetzte Konfiguration an den beiden asymmetrischen Kohlenstoffatomen 8 und 9 besitzt. Die Verschiedenheit der Konfiguration am Kohlenstoffatom 8 folgt eindeutig aus der Tatsache, dass die 9-Desoxy-Basen aus den stereoisomeren Alkaloiden verschieden sind, während die Verschiedenheit der Konfiguration am Kohlenstoffatom 9 durch Vergleich der Drehungsbeiträge der einzelnen Asymmetriezentren abgeleitet wurde.

Die stereochemischen Beziehungen der Hauptalkaloide der China-Rinde untereinander sind demnach aufgeklärt. Eine Konfigurationsbestimmung, d. h. eine Zuordnung bestimmter Raummodelle bzw. Projektionsformeln wurde dagegen bei den China-Alkaloiden bisher nicht durchgeführt. Es ist uns nun gelungen, die Konfiguration der symmetrischen Kohlenstoffatome 3, 4 und 8, welche sich in der Chinuclidin-Hälfte befinden, auf Grund folgender Überlegungen und Versuche festzulegen.

Konfiguration des Kohlenstoffatoms 3.

Als Ausgangsmaterial für unsere Versuche diente das Cinchonin, welches nach *A. Kaufmann*, *E. Rothlin* und *P. Brunschweiler*[1]) über Dihydro-cinchonin, Dihydro-cinchotoxin, N-Benzoyl-dihydro-cinchotoxin, Iso-nitroso-N-benzoyl-cinchotoxin und N-Benzoyl-cincholoipon-nitril in Cincholoipon-äthylester (X) übergeführt wurde.

Der auf diesem Wege von uns mehrmals hergestellte Cincholoipon-äthylester war rechtsdrehend, $[\alpha]_D^{17} = +16{,}7$ bis $+16{,}8^0$, sein Hydrochlorid war linksdrehend, $[\alpha]_D^{23} = -9{,}3^0$ ($\pm 0{,}8^0$); ($c = 2{,}53$ in Alkohol) und $[\alpha]_D^{22} = -7{,}0^0$ ($\pm 0{,}8^0$); ($c = 2{,}43$ in Wasser), was mit den einzigen bisher veröffentlichten Werten von *A. Kaufmann*[2]) insofern nicht übereinstimmt, als dieser gerade umgekehrte Drehungsvorzeichen angibt. *Kaufmann* fand für den Cincholoipon-äthylester $[\alpha]_D^{18} = -17{,}2^0$ und für das Hydrochlorid des Cincholoipon-äthylesters $[\alpha]_D^{22} = +5{,}71^0$ ($c = 8{,}29$ in Wasser). Wir stellten deshalb den Cincholoipon-äthylester auf einem andern Wege über den Merochinen-äthylester[3]) aus Chinin her und fanden, dass er praktisch dasselbe Drehungsvermögen zeigt, wie die aus Cinchonin von uns hergestellten Präparate. Es ist demnach anzunehmen, dass die Angaben von *Kaufmann* auf einer Verwechslung beruhen.

Den Cincholoipon-äthylester reduzierten wir mit Natrium und absolutem Alkohol zu 3-Äthyl-4-(β-oxy-äthyl)-piperidin (XI)[4])[5]), welches durch Erhitzen mit rauchender Bromwasserstoffsäure in das Hydrobromid des 3-Äthyl-4-(β-brom-äthyl)-piperidins (XII)[5])

[1]) B. **49**, 2299 (1916). [2]) B. **46**, 1831 (1913).
[3]) *W. H. Dirscherl* und *H. Thron*, A. **521**, 64 (1936); vgl. auch B. **46**, 1830 (1913).
[4]) *W. Königs*, B. **37**, 3246 (1904).
[5]) *V. Prelog* und Mitarb., A. **545**, 254 (1940).

übergeführt wurde. Durch Reduktion mit Zinkpulver und Eisessig erhielten wir daraus ein rechtsdrehendes 3,4-Diäthyl-piperidin (XIII)[1]). Durch Abbau seines N-Benzoyl-Derivates mit Phosphorpentabromid nach *J. v. Braun*[2]) wurde ein rechtsdrehendes 1,5-Dibrom-2,3-diäthyl-pentan (XIV) gewonnen, dessen katalytische Hydrierung mit *Raney*-Nickel im alkalischen Medium schliesslich zu (−)-3-Methyl-4-äthyl-hexan (XV), $[\alpha]_D^{18} = -12^0$, führte. Da alle erwähnten Reaktionen ohne Berührung der asymmetrischen Kohlenstoffatome 3 und 4 verlaufen, so muss man annehmen, dass der Kohlenwasserstoff mit den China-Alkaloiden stereochemisch eindeutig verknüpft ist. Er enthält nur noch ein asymmetrisches Kohlenstoffatom, welches dem asymmetrischen Kohlenstoffatom 3 der China-Alkaloide entspricht.

Das Cincholoipon und dadurch auch die China-Alkaloide konnten auf diese Weise in konfigurative Beziehung mit den optischen aktiven Kohlenwasserstoffen der allgemeinen Formel $HCR^1R^2R^3$ (XVI), den „Methinen", gebracht werden. Besonders durch die Untersuchungen von *P. A. Levene* und *R. E. Marker*[3]) ist eine grosse Anzahl solcher Kohlenwasserstoffe zu einer sterischen Reihe verknüpft worden. Die linksdrehenden „Methine" von der Zusammensetzung $HC(CH_3)(C_2H_5)R'''$ wo R''' eine Alkyl-Gruppe mit mehr als zwei Kohlenstoffatomen in einer geraden Kette bedeutet, bilden eine sterische Reihe, welcher nach *K. Freudenberg* die konventionelle Projektionsformel XVII zugeordnet wird[4]). Dem (−)-3-Methyl-4-äthyl-hexan, welches in diese sterische Reihe[5]) gehört, kommt demnach die konventionelle Projektionsformel XVa zu.

Es ist nun möglich die bei den „Methinen" getroffene Zuordnung der Raummodelle bzw. Projektionsformeln auch auf das Kohlenstoffatom 3 der China-Alkaloide anzuwenden.

Den Asymmetriezentren 3, 4 und 8 entsprechen je 8 stereoisomere

---

[1]) Das racemische 3,4-Diäthyl-piperidin stellten schon früher *W. Königs* und *K. Bernhart* [B. **38**, 3052, 3054 (1905)] auf einem ähnlichen Wege her.

[2]) B. **37**, 3211 (1904); *J. v. Braun* und *A. Steindorff*, B. **38**, 2338 (1905); vgl. auch Organic Synthesis, Coll. Vol. I, 419 (1932).

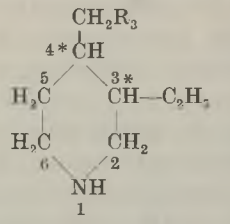
[3]) J. Biol. Chem. **91**, 405, 761 (1931); **92**, 455 (1931); **95**, 1, 153 (1932); **100**, 769 (1939).

[4]) Die konventionellen Projektionsformeln sind den Raummodellen nach einem Vorschlag von *E. Fischer* [B. **24**, 2683 (1891)] eindeutig durch die Regel zugeordnet, dass die horizontalen Bindungsstriche nach vorne, die vertikalen in bezug auf die Papierebene nach hinten gerichtet zu denken sind.

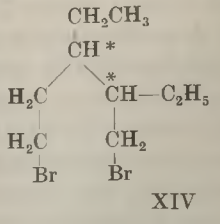
Die Wahl eines bestimmten Raummodells bzw. einer Projektionsformel für die linksdrehenden „Methine" XVII ist, solange eine absolute Konfigurationsbestimmung fehlt, selbstverständlich willkürlich. Vgl. *K. Freudenberg*, Stereochemie, Leipzig und Wien, 1932, S. 679 und 717.

[5]) Über den experimentellen Beweis für die Richtigkeit dieser Zuordnung vgl. folgende 6. Mitt. Helv. **27**, 545 (1944).

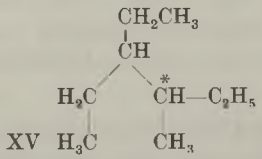
Formen, welche durch schematische Projektionsformeln XVIII bis XXV dargestellt sind (vgl. Strukturformeln I und II).



X $R_3 = -CO_2C_2H_5$
XI $R_3 = -CH_2OH$
XII $R_3 = -CH_2Br$
XIII $R_3 = -CH_3$

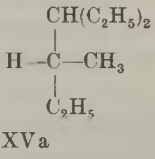


XIV

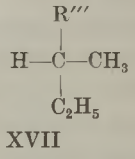


XV

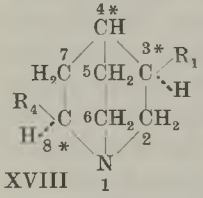
ident. ⟷



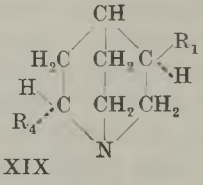
XVa



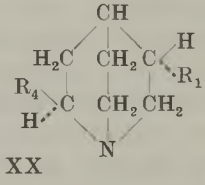
XVII



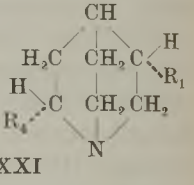
XVIII



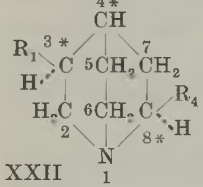
XIX



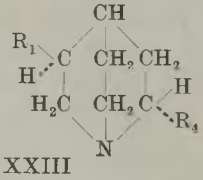
XX



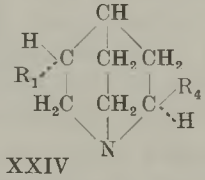
XXI



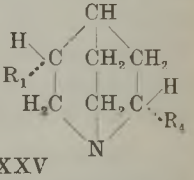
XXII



XXIII



XXIV



XXV

3-exo-8-exo	3-exo-8-endo	3-endo-8-exo (−)-Cinchonidin (−)-Chinin	3-endo-8-endo (+)-Cinchonin (+)-Chinidin

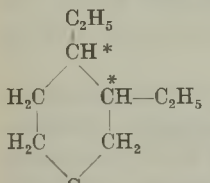
$R_1 = -CH=CH_2$
$R_4 = C_9H_6N \cdot CHOH-$ bei Chinchonidin und Cinchonin
$R_4 = CH_3O \cdot C_9H_5N \cdot CHOH-$ bei Chinin und Chinidin

Das Chinuclidin-System ist in diesen Projektionsformeln so gezeichnet, dass die Kohlenstoffatome 5 und 6 vor der Papierebene zu denken sind, ebenso wie es bei der Darstellung des Camphers und der verwandten Verbindungen üblich ist. Die nach „vorne" stehenden „exo"-Stellungen sind mit ausgezogenen, die nach „hinten" gerichteten „endo"-Stellungen mit gestrichelten Valenzstrichen bezeichnet, wie es in der Chemie der bicyclischen Terpene gebräuchlich ist.

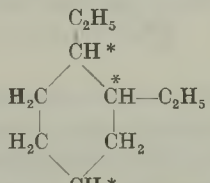
Für die natürlichen China-Alkaloide kommen die Formeln XVIII, XIX, XXIV und XXV mit derjenigen Konfiguration am Kohlenstoffatom 3 in Betracht, welche sich aus dem gefundenen Zusammenhang mit den linksdrehenden „Methinen" (XVII) ergibt (vgl. die Projektionsformel XVa).

Konfiguration des Kohlenstoffatoms 4.

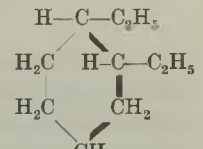
Die Konfiguration des Kohlenstoffatoms 4 lässt sich durch die Beantwortung der Frage bestimmen, ob die Reste R_1 und R_2 bei den Abbauprodukten der China-Alkaloide III bis VII in cis- oder trans-Stellung stehen. Dies konnte auf folgendem Wege entschieden werden. Das im ersten Teil erwähnte rechtsdrehende 1,5-Dibrom-2,3-diäthyl-pentan (XIV) aus Cincholoipon wurde mit Malonsäure-diäthylester zu 1,2-Diäthyl-cyclohexan-dicarbonsäure-(4,4)-diäthylester (XXVI)[1]) kondensiert. Durch die Verseifung des Esters erhielten wir die freie Dicarbonsäure (XXVII), welche durch Decarboxylierung in die 1,2-Diäthyl-cyclohexan-monocarbonsäure-(4) (XXVIII) übergeführt wurde[2]). Diese bauten wir über das Silbersalz zu dem entsprechenden 1-Brom-3,4-diäthyl-cyclohexan (XXIX) ab[3]), welches nach der Hydrierung mit *Raney*-Nickel in alkalischem Medium das 1,2-Diäthyl-cyclohexan (XXX) lieferte.



XXVI $R' = C_2H_5$
XXVII $R' = H$



XXVIII $R'' = -CO_2H$
XXIX $R'' = -Br$



XXX

Der etwas umständliche experimentelle Weg wurde gewählt, weil die einzelnen Reaktionsstufen unter verhältnismässig milden und gut kontrollierbaren Bedingungen verlaufen.

Das erhaltene 1,2-Diäthyl-cyclohexan war optisch inaktiv. Da die beiden asymmetrischen Kohlenstoffatome bei den durchgeführten Reaktionen nicht berührt wurden und nicht racemisiert werden konnten, befinden sich die beiden Äthyl-Gruppen in der cis-Stellung. Für die Abbauprodukte der China-Alkaloide III bis VII folgt daraus die cis-Stellung der Reste R_1 und R_2 an den Kohlenstoffatomen 3 und 4.

Von den im vorhergehenden Abschnitt für die natürlichen China-Alkaloide gewählten 4 Projektionsformeln ist mit einer solchen Konfiguration nur das Formelpaar XXIV und XXV mit den Vinyl-Gruppen am Kohlenstoffatom 3 in endo-Stellung in Einklang zu bringen.

---

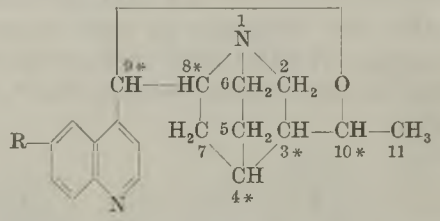
[1]) Vgl. die analoge Herstellung von Cyclohexan-dicarbonsäure-(1,1)-diäthylester von *A. W. Dox* und *L. Yoder*, Am. Soc. **43**, 1368 (1921).

[2]) Die Monocarbonsäure XXVIII und das Brom-Derivat XXIX, welche ein neues asymmetrisches Kohlenstoffatom enthalten, sind wahrscheinlich in bezug auf dieses nicht sterisch einheitlich.

[3]) Vgl. *H. Hunsdiecker* und *Cl. Hunsdiecker*, B. **75**, 291 (1942).

Konfiguration des Kohlenstoffatoms 8.

Es bleibt noch die Aufgabe übrig, eine von den beiden Projektionsformeln XXIV und XXV den linksdrehenden Verbindungen Cinchonidin und Chinin, welche eine analoge Konfiguration am Kohlenstoffatom 8 und 9 besitzen, und die andere den rechtsdrehenden Cinchonin und Chinidin mit der entgegengesetzten Konfiguration zuzuordnen. Dies kann auf Grund der schon längere Zeit bekannten Tatsache geschehen, dass nur die rechtsdrehenden Alkaloide in Verbindungen vom Typus XXXI bis XXXIII mit einem Äther-Ring übergehen.



XXXI R = H
XXXII R = CH_3O—
XXXIII R = HO

Aus Cinchonin wurden α- und β-Iso-cinchonin (XXXI) erhalten, welche sich durch Steroisomerie am neuen asymmetrischen Kohlenstoffatom 10 unterscheiden. Von Chinidin ausgehend wurden mehrere solche Verbindungen hergestellt: α-, β- und γ-Iso-chinidine (XXXII) unterscheiden sich wieder durch Stereoisomerie am Kohlenstoffatom 10 und wahrscheinlich am Kohlenstoffatom 9, während Iso-apo-chinidin (XXXIII) durch Spaltung der 6-Methoxy-Gruppe aus β-Iso-chinidin entstanden ist[1]). Da bei den linksdrehenden Alkaloiden Cinchonidin und Chinin unter denselben Reaktionsbedingungen die Bildung analog gebauter Verbindungen nie beobachtet wurde, muss man annehmen, dass sie durch verschiedene Konfiguration am Kohlenstoffatom 8 verursacht ist.

Die Modellbetrachtung zeigt, dass nur Verbindungen, welche die beiden Kohlenstoff-Reste an den Kohlenstoffatomen 3 und 8 in endo-Stellung (vgl. die Projektionsformeln XVIII—XXV) besitzen, einer solchen Äther-Ringbildung fähig sind. Demnach gehört die Projektionsformel XXV mit den beiden Kohlenstoffresten in den endo-Stellungen den rechtsdrehenden Alkaloiden Cinchonin und Chinidin, während den linksdrehenden Cinchonidin und Chinin die Projektionsformel XXIV zukommt.

Die durchgeführte Ermittlung der endo-Stellung der Vinyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 3 (vgl. den Abschnitt über Konfiguration des Kohlenstoffatoms 4 dieser Mitteilung) kann dabei als Beweis dienen, dass während der Bildung der Verbindungen mit dem Äther-

[1]) Vgl. *T. A. Henry*, The Plant Alkaloids, 3. Aufl., London 1939, S. 427.

Ring keine Konfigurationsänderung am Kohlenstoff 3 stattgefunden hat. Unter den angewandten Reaktionsbedingungen (Einwirkung starker Mineralsäuren bei erhöhter Temperatur) lässt sich nämlich ein solcher Konfigurationswechsel a priori nicht ausschliessen, da eine Wanderung der Doppelbindung in die semicyclische Stellung 3,10 unter dem Einfluss der Mineralsäuren gleichzeitig mit der Bildung des Äther-Ringes stattfindet[1]). Aus diesem Grund eignet sich die Bildung der Verbindungen mit dem Äther-Ring nicht als Beweis, dass die Vinyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 3 in endo-Stellung sitzt, wie man sonst annehmen könnte.

Selbstverständlich sind durch die beschriebenen Konfigurationsbestimmungen auch die Konfigurationen an den entsprechenden asymmetrischen Kohlenstoffatomen bei denjenigen natürlichen Nebenalkaloiden (z. B. Dihydro-alkaloiden, 9-Epi-chinin und 9-Epi-chinidin usw.) und den vielen künstlichen Umwandlungsprodukten der China-Alkaloide bestimmt, deren stereochemische Beziehungen zu den Hauptalkaloiden aufgeklärt sind.

Experimenteller Teil[2]).

A. Abbau des Cincholoipon-äthylesters (X) zu (−)-3-Methyl-4-äthyl-hexan (XV).

Cincholoipon-äthylester (X).

Bei der Herstellung des Cincholoipon-äthylesters durch Abbau von Cinchonin nach *A. Kaufmann* und Mitarbeitern[3]) erhielten wir aus 500 g Cinchonin-sulfat 81 g (28% der Theorie) an reinem Ester. Dieser bildete ein farbloses Öl vom Sdp.$_{0,04\,mm}$ 81,5—84°, Sdp.$_{11\,mm}$ 137—138° und hatte folgende Eigenschaften:

$d_4^{20} = 0{,}9918$; $n_\alpha = 1{,}4650$; $n_D = 1{,}4675$; $n_\beta = 1{,}4736$; $n_\gamma = 1{,}4782$.

Mol. Refraktion	M_α	M_D	$M_\beta - M_\alpha$
Ber.	55,79	56,05	0,909
Gef.	55,52	55,77	0,879
EM	−0,27	−0,28	−0,030
ΣM	−0,14	−0,14	−3%

$[\alpha]_D^{17} = +16{,}75°$ bis $+16{,}85° \pm 0{,}05°$ (in Substanz, 1 dm-Rohr)[4])

Ein Vergleichspräparat wurde durch Hydrierung eines Merochinen-äthylesters hergestellt, welcher durch Abbau des Chinins erhalten worden war.

$[\alpha]_D^{25} = +17{,}1° \pm 0{,}1°$ (in Substanz, 0,2 dm-Rohr)[4])

---

[1]) Beispiele socher Wanderungen sind die Bildungen von Apo-cinchonin, Apo-chinidin, Neo-iso-chinidin und Neo-apo-chinidin, vgl. *T. A. Henry*, l. c.

[2]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

[3]) B. 49, 2303—2304, 2307—2310 (1916).

[4]) Vgl. theoretischen Teil.

Das Hydrochlorid des Cincholoipon-äthylesters schmolz, umkrystallisiert aus Aceton, bei 159—160°.

$$[\alpha]_D^{23} = -9{,}3^0 \pm 1^0 \quad (c = 2{,}576 \text{ in Feinsprit})$$

$$[\alpha]_D^{22} = -7{,}0^0 \pm 1^0 \quad (c = 2{,}429 \text{ in Wasser})$$

Das Hydrochlorid des freien Cincholoipons, welches aus dem Äthylester durch Hydrolyse mit Salzsäure erhalten und aus Wasser umgelöst wurde, schmolz bei 202—203°.

$$[\alpha]_D^{18} = -4{,}6^0 \pm 1^0 \quad (c = 2{,}418 \text{ in Wasser})^1)$$

cis-(+)-3,4-Diäthyl-piperidin (XIII).

Aus 58 g Cincholoipon-äthylester wurden durch Reduktion mit Natrium und absolutem Alkohol 34 g (74,5% der Theorie) 3-Äthyl-4-(β-oxy-äthyl)-piperidin vom Sdp.$_{0{,}02\,mm}$ 103—108° erhalten.

$$[\alpha]_D^{17} = +13{,}1^0 \pm 0{,}4^0 \quad (c = 6{,}550 \text{ in Feinsprit})^2)$$

55 g 3-Äthyl-4-(β-oxy-äthyl)-piperidin gaben durch Einwirkung rauchender Bromwasserstoffsäure bei 110° im Einschlussrohr 93 g 3-Äthyl-4-(β-brom-äthyl)-piperidinhydrobromid vom Smp. 115—117° (89% der Theorie).

$$[\alpha]_D^{18} = -16{,}9^0 \pm 0{,}5^0 \quad (c = 1{,}927 \text{ in Feinsprit})^2)$$

56,5 g 3-Äthyl-4-(β-brom-äthyl)-piperidin-hydrobromid in 450 cm³ Eisessig versetzte man langsam unter Rühren bei 80—90° mit 140 g Zinkpulver. Nachher wurde 4 Stunden unter Rühren zum Sieden erhitzt, der Hauptanteil der Essigsäure mit Wasserdampf abdestilliert und dann die Base mit konz. Natronlauge in Freiheit gesetzt. Die mit Wasserdampf überdestillierte Base wurde erschöpfend mit Äther ausgezogen. Aus der ätherischen Lösung erhielt man nach Trocknen mit Kaliumcarbonat und Kaliumhydroxyd und Destillation 23,5 g (89% der Theorie) cis-(+)-3,4-Diäthyl-piperidin als wasserhelle Flüssigkeit vom Sdp.$_{12\,mm}$ 70°. Zur Analyse wurde nochmals im Vakuum destilliert.

$$[\alpha]_D^{22} = +26{,}0^0 \pm 0{,}6^0 \quad (c = 4{,}350 \text{ in Feinsprit})$$

$$[\alpha]_D^{22} = +37{,}7^0 \pm 0{,}6^0 \quad (c = 3{,}840 \text{ in Chloroform})$$

3,719 mg Subst. gaben 10,449 mg CO_2 und 4,456 mg H_2O

$C_9H_{19}N$ Ber. C 76,53 H 13,56%

Gef. „ 76,67 „ 13,41%

Das Pikrat schmolz nach Umlösen aus Methanol konstant bei 110,5—111°[3]).

3,710 mg Subst. gaben 6,610 mg CO_2 und 1,956 mg H_2O

$C_{15}H_{22}O_7N_4$ Ber. C 48,64 H 5,99%

Gef. „ 48,62 „ 5,90%

N-Benzoyl-Derivat. 10 g Base in 125 cm³ Chloroform wurden mit 5,36 g Kaliumcarbonat und 3 cm³ Wasser versetzt. Unter Rühren tropfte man zu der Mischung 13,3 g Benzoylchlorid, in der gleichen Menge Chloroform gelöst, langsam zu. Das Gemisch wurde darauf unter Rühren noch eine halbe Stunde zum Sieden erhitzt. Die filtrierte und mit Natriumsulfat getrocknete Chloroform-Lösung ergab 17,4 g (94,5% der Theorie) eines farblosen Öles vom Sdp.$_{0{,}2\,mm}$ 136°.

(+)-1,5-Dibrom-2,3-diäthyl-pentan (XIV).

Je 6,5 g N-Benzoyl-(+)-cis-3,4-diäthyl-piperidin wurden im *Hickmann*-Kolben mit

---

[1]) *W. Koenigs*, A. **347**, 212 (1906) gibt an: Smp. 198—200° (Zers.), $[\alpha]_D = -5{,}51^0$ ($c \sim 10$ in Wasser).

[2]) Vgl. *V. Prelog* und Mitarb., A. **545**, 254 (1940).

[3]) *W. Koenigs* und *K. Bernhart*, B. **38**, 3054 (1905) geben für das racemische Pikrat Smp. 107—108° an.

12 g Phosphorpentabromid vermischt und im Wasserstrahlvakuum mit russender Flamme vorsichtig erwärmt, solange ein bräunlich gefärbtes Destillat überging. Dieses wurde auf Eis gegossen und das unlösliche Öl in Äther aufgenommen. Nach dem Abdestillieren des Äthers wurde der Rückstand zur Verseifung des gebildeten Benzonitrils 3½ Stunden mit 16 cm³ 48-proz. Bromwasserstoffsäure gekocht. Das Verseifungsprodukt destillierte man mit Wasserdampf. Aus dem Destillat wurde das ölige Produkt mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherauszüge wurden mit Natriumcarbonat-Lösung gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und destilliert. Aus 23 g N-Benzoyl-Derivat erhielt man so 10,2 g (38% der Theorie) 1,5-Dibrom-3,4-diäthyl-pentan vom Sdp.$_{12\,mm}$ 127—134°. Zur Analyse wurde nochmals im Vakuum fraktioniert.

$[\alpha]_D^{21} = +11{,}64^0 \pm 0{,}02^0$ (in Substanz, $d_4^{19} = 1{,}24$, 1 dm Rohr)

$[\alpha]_D^{19} = +11{,}8^0 \pm 0{,}3^0$ (c = 7,382 in Feinsprit)

3,660 mg Subst. gaben 5,081 mg CO_2 und 2,076 mg H_2O

$C_9H_{18}Br_2$ Ber. C 37,79 H 6,34%
Gef. „ 37,89 „ 6,35%

(−)-3-Methyl-4-äthyl-hexan (XV).

5,7 g 1,5-Dibrom-2,3-diäthyl-pentan wurden mit einer Lösung von 0,92 g Natrium in 40 cm³ Methanol versetzt und mit einem *Raney*-Nickel-Katalysator aus 8 g Legierung hydriert. Wasserstoff-Verbrauch: Ber. 894 cm³, Gef. 962 cm³ (0°, 760 mm). Das Hydrierungsprodukt wurde in 300 cm³ Wasser filtriert. Der ölige Kohlenwasserstoff wurde mit Äther ausgezogen, die Ätherlösung mit Wasser gewaschen und zuerst mit Kaliumcarbonat und dann mit Natrium getrocknet. Der Äther wurde durch eine *Widmer*-Kolonne abdestilliert und der Rückstand über Kalium mit einer Mikro-Kolonne nach *Craig*[1]) fraktioniert destilliert. Bis 200° Badtemperatur gingen 1,15 g Destillat über. Das Destillat wurde mit wenig konz. Schwefelsäure mehrmals geschüttelt und noch zweimal über Kalium durch eine Mikro-Kolonne nach *Craig* destilliert. Bei der letzten Destillation erhielt man insgesamt 310 mg des reinen Kohlenwasserstoffs mit folgenden Eigenschaften:

$d_4^{20} = 0{,}7346$; $n_\alpha = 1{,}4114$; $n_D = 1{,}4135$; $n_\beta = 1{,}4185$; $n_\gamma = 1{,}4221$

Mol. Refraktion	M_α	M_D	$M_\beta - M_\alpha$
Ber.[2])	43,56	43,76	0,68
Gef.	43,36	43,55	0,65
EM	− 0,20	− 0,21	0,03
ΣM	− 0,16	− 0,16	− 4,5%

$[\alpha]_D^{18} = -11{,}70$ bis $12{,}05^0 \pm 0{,}05^0$ (verschiedene Fraktionen in Substanz, 1 dm-Rohr)

$[\alpha]_D^{17} = -9{,}1^0 \pm 0{,}6^0$ (c = 3,329 in Chloroform)

3,877 mg Subst. gaben 11,953 mg CO_2 und 5,483 mg H_2O

C_9H_{20} Ber. C 84,28 H 15,72%
Gef. „ 84,14 „ 15,83%

---

[1]) *L. C. Craig*, Ind. Engin. Chem. (Anal. Ed.) **9**, 441 (1937).

[2]) Die Mol. Refraktion wurde nach *W. A. Roth* und *F. Eisenlohr*, Refraktometrisches Hilfsbuch, Leipzig 1911, berechnet; vgl. dazu *J. P. Wibaut* und Mitarb., R. **58**, 370 (1939); **59**. 1220 (1940).

B. Überführung des (+)-1,5-Dibrom-2,3-diäthyl-pentans aus Cineholoipon in das cis-1,2-Diäthyl-cyclohexan (XXX).

(−)-cis-1,2-Diäthyl-cyclohexan-dicarbonsäure-(4,4) (XXVII).

9 g 1,5-Dibrom-2,3-diäthyl-pentan wurden im Einschlussrohr mit Natrium-malonsäure-diäthylester aus 5,52 g Malonsäure-diäthylester, 1,59 g Natrium und 36 cm³ absolutem Alkohol 4 Stunden auf 120° erhitzt. Die übliche Aufarbeitung des Reaktionsproduktes ergab 4,1 g (46% der Theorie) des cis-1,2-Diäthyl-cyclohexan-dicarbonsäure-(4,4)-diäthylesters (XXVI) vom $Sdp._{0,1\ mm}$ 116—121°.

1,5 g des Esters wurden mit einer Lösung von 3 g Kaliumhydroxyd in 2 cm³ Wasser und 10 cm³ Alkohol 4 Stunden unter Rückfluss verseift. Das Verseifungsprodukt wurde zuerst mit Äther ausgeschüttelt, dann mit verdünnter Salzsäure angesäuert und die ausgeschiedene Säure in Äther aufgenommen. Nach dem Abdestillieren des Äthers blieben 1,18 g (98% der Theorie) der freien Dicarbonsäure zurück, welche bald krystallin erstarrte. Nach mehrmaligem Umlösen aus Aceton-Benzol schmolzen die farblosen Krystalle konstant bei 163—164°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet.

$[\alpha]_D^{16} = -11{,}2^0 \pm 1^0$ (c = 1,903 in Chloroform)

3,731 mg Subst. gaben 8,635 mg CO_2 und 2,976 mg H_2O

$C_{12}H_{20}O_4$ Ber. C 63,13 H 8,83%

Gef. „ 63,16 „ 8,93%

cis-1,2-Diäthyl-cyclohexan-monocarbonsäure-(4) (XXVIII).

1,18 g der rohen Dicarbonsäure wurden zuerst durch Erhitzen auf 180° decarboxyliert und dann im Vakuum destilliert. Man erhielt 0,83 g (87% der Theorie) der farblosen öligen Monocarbonsäure.

$[\alpha]_D^{16} = -2{,}13^0 \pm 0{,}05^0$ (in Substanz, $d_4^{17} = 1{,}04$, 0,5 dm-Rohr)

0,83 g der Säure wurden zusammen mit 0,26 g Kaliumhydroxyd in 5 cm³ Wasser gelöst und mit 0,77 g Silbernitrat in 1 cm³ Wasser gefällt. Das ausgeschiedene Silbersalz wurde abfiltriert und scharf im Hochvakuum getrocknet, Ausbeute 1,15 g (84% der Theorie).

1-Brom-cis-3,4-diäthyl-cyclohexan (XXIX).

1,15 g des Silbersalzes der cis-1,2-Diäthyl-cyclohexan-monocarbonsäure-(4) wurden mit trockenem Tetrachlorkohlenstoff versetzt und zur Trocknung der grösste Teil des Tetrachlorkohlenstoffs abdestilliert. Nachher tropfte man eine 50-proz. Bromlösung in Tetrachlorkohlenstoff bei Siedetemperatur zu, bis kein Brom mehr verbraucht wurde und kochte dann das Gemisch ½ Stunde am Rückfluss. Nach dem Erkalten wurde abfiltriert, mit Natriumhydrogensulfit, verdünnter Salzsäure und Wasser gewaschen, mit Calciumchlorid getrocknet und der Tetrachlorkohlenstoff mit einer *Widmer*-Kolonne vorsichtig abdestilliert. Den Rückstand destillierte man im Wasserstrahlvakuum und erhielt so 290 mg des rohen Bromids. Eine Wiederholung der Reaktion ergab 370 mg Bromid aus 1,30 g Silbersalz. Die vereinigten rohen Bromide aus den beiden Ansätzen wurden mit kleinen Mengen konz. Schwefelsäure behandelt, bis sich diese nicht mehr färbte und dann mit Kaliumcarbonat getrocknet. Zuletzt wurde mit einer Mikro-Kolonne nach *Craig* bei 12 mm fraktioniert destilliert. Man erhielt insgesamt 460 mg einer Fraktion, welche zwischen 136 und 156° Badtemperatur destillierte. Eine Mittelfraktion ergab folgende Analysenzahlen:

$[\alpha]_D^{16} = -1{,}41^0 \pm 0{,}5^0$ (c = 4,265 in Feinsprit)

4,156 mg Subst. gaben 8,343 mg CO_2 und 3,216 mg H_2O

$C_{10}H_{19}Br$ Ber. C 54,80 H 8,74%

Gef. „ 54,78 „ 8,64%

cis-1,2-Diäthyl-cyclohexan (XXX).

450 mg 1-Brom-cis-3,4-diäthyl-cyclohexan in 4,5 cm³ Alkohol wurden mit 65 mg Natrium in 1 cm³ Alkohol versetzt und mit *Raney*-Nickel aus 500 mg Legierung hydriert. Das Hydrierungsprodukt versetzte man mit 10 cm³ Wasser und nahm das ausgeschiedene Öl in Äther auf. Die Ätherlösung wurde zuerst mit Calciumchlorid, dann mit Natrium getrocknet und mit Hilfe einer *Widmer*-Kolonne vorsichtig vom Äther befreit. Der Rückstand wurde mehrmals mit konz. Schwefelsäure behandelt und zuletzt über Kalium in einer Mikro-Kolonne nach *Craig* fraktioniert destilliert. Es wurden insgesamt 80 mg einer Fraktion, welche bei 132—197° Badtemperatur überging, erhalten. Der Kohlenwasserstoff war, in Substanz in einem 0,5 dm-Rohr gemessen, optisch inaktiv.

3,700 mg Subst. gaben 11,587 mg CO_2 und 4,814 mg H_2O

$C_{10}H_{20}$ Ber. C 85,63 H 14,37%
Gef. „ 85,46 „ 14,56%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg.
Technischen Hochschule, Zürich.

64. Über China-Alkaloide.

(6. Mitteilung [1]).

Über die Konfiguration von (—)-3-Methyl-4-äthyl-hexan

von **V. Prelog** und **E. Zalán.**

(12. II. 44.)

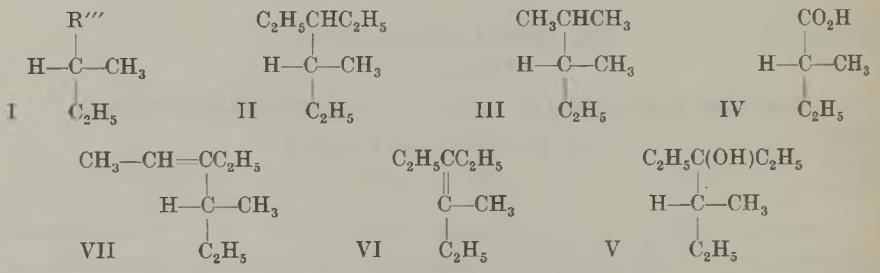
Durch Abbau von Cinchonin erhielten wir das linksdrehende 3-Methyl-4-äthyl-hexan (II), welches wir auf Grund seines Drehungsvorzeichens in die sterische Reihe der linksdrehenden „Methine" der allgemeinen Formel I einreihten[1]). In dieser Formel bedeutet R''' eine Alkylgruppe mit mehr als zwei Kohlenstoffatomen. *P. A. Levene* und *R. E. Marker*[2])[3]) konnten zeigen, dass alle solche „Methine", mit einer Ausnahme, derselben sterischen Reihe angehören. Die einzige Ausnahme bildet das linksdrehende 2,3-Dimethyl-pentan (III), welches die entgegengesetzte Konfiguration besitzt.

Wegen dieser Ausnahme war die Schlussfolgerung, dass (—)-3-Methyl-4-äthyl-hexan zu der sterischen Reihe der linksdrehenden „Methine" I angehört, mit einer gewissen Unsicherheit verbunden. Durch die experimentelle Verknüpfung von (—)-3-Methyl-4-äthyl-hexan mit der (—)-Methyl-äthyl-essigsäure (IV) gelang es, diese Unsicherheit zu beseitigen.

[1]) 5. Mitt. Helv. **27**, 535 (1944).
[2]) J. Biol. Ch. **91**, 405, 761 (1931); **92**, 455 (1931); **95**, 1, 153 (1932); **100**, 769 (1933).
[3]) *K. Freudenberg*, Stereochemie, Leipzig und Wien 1932, S. 679 und 717.

Der (−)-Methyl-äthyl-essigsäure-methylester gab mit Äthylmagnesium-bromid das 3-Methyl-4-äthyl-hexan-ol-(4) (V). Durch Erhitzen mit wasserfreier Oxalsäure erhielt man daraus ein Gemisch der 3-Methyl-4-äthyl-hexene mit der Doppelbindung zwischen den Kohlenstoffatomen 3,4 (in VI) bzw. 4,5 (in VII). Die katalytische Hydrierung dieses Gemisches mit Platinoxyd in Eisessig ergab ein linksdrehendes 3-Methyl-4-äthyl-hexan, $[\alpha]_D^{16} = -3{,}2^0$. Da das $\Delta^{3,4}$-3-Methyl-4-äthyl-hexen, welches bei der Wasserabspaltung sehr wahrscheinlich in grösserer Menge entsteht, nicht mehr das asymmetrische Kohlenstoffatom enthält, zeigt der synthetische Kohlenwasserstoff selbstverständlich eine niedrigere Drehung als der durch Abbau von Cinchonin erhaltene, welcher ein $[\alpha]_D^{21} = -12^0$ besass.

Da die (−)-Methyl-äthyl-essigsäure mit der sterischen Reihe der linksdrehenden „Methine" I experimentell eindeutig verbunden ist, wie es die Projektionsformel IV zum Ausdruck bringt, so bildet die synthetische Herstellung des (−)-3-Methyl-4-äthyl-hexans aus dieser Säure einen Beweis für die früher getroffene Zuordnung dieses Kohlenwasserstoffs zu den linksdrehenden „Methinen" I.



Experimenteller Teil[1]).

(+)-3-Methyl-4-äthyl-hexan-ol-(4).

Als Ausgangsmaterial zur Synthese des optisch aktiven (−)-3-Methyl-4-äthyl-hexans wurde die nach *O. Schütz* und *W. Marckwald* hergestellte, optisch nahezu reine (−)-Methyl-äthyl-essigsäure[2]) verwendet. Sdp.$_{12\ mm}$ 71—72°.

$[\alpha]_D^{17} = -17{,}35^0 \pm 0{,}05^0$ (in Substanz, $d_4^{16} = 0{,}934$, 1 dm-Rohr)

5,4 g der (−)-Methyl-äthyl-essigsäure wurden mit Diazomethan verestert und destilliert. Sdp.$_{730\ mm}$ 108—112°. Man erhielt 4,4 g Methylester.

$[\alpha]_D^{15} = -19{,}42^0 \pm 0{,}05^0$ (in Substanz, $d_4^{15} = 0{,}897$, 1 dm-Rohr)

Zu einer Lösung von Äthyl-magnesiumbromid, welche aus 24 g Äthylbromid und 5,3 g Magnesium in ca. 50 cm³ absolutem Äther bereitet wurde, tropfte man eine ätherische Lösung von 3,8 g (−)-Methyl-äthyl-essigsäure-methylester in 15 cm³ Äther zu.

---

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

[2]) Nach *O. Schütz* und *W. Marckwald*, B. **29**, 57 (1896), besitzt optisch reine (−)-Methyl-äthylessigsäure ein $[\alpha]_D^{20} = -17{,}85^0$ (1 dm-Rohr).

Nachher wurde weitere 2 Stunden zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde mit Ammoniumchlorid und Wasser versetzt, mit Äther ausgeschüttelt, mit Kaliumcarbonat getrocknet und destilliert. Ausbeute 3,0 g (64,5% der Theorie). Sdp.$_{11\,mm}$ 63—65°. Zur Analyse wurde nochmals im Vakuum fraktioniert destilliert.

$[\alpha]_D^{16} = +17{,}1^0 \pm 0{,}05^0$ (in Substanz, $d_4^{15} = 0{,}861$, 1 dm-Rohr)

3,815 mg Subst. gaben 10,466 mg CO_2 und 4,755 mg H_2O

$C_9H_{20}O$ Ber. C 74,93 H 13,98%
Gef. „ 74,87 „ 13,95%

(−)-3-Methyl-4-äthyl-hexan.

1 g (+)-3-Methyl-4-äthyl-hexan-ol-(4) wurde im *Hickmann*-Kolben zweimal mit je 1 g wasserfreier Oxalsäure kurz erhitzt und dann mit einer russenden Flamme abdestilliert. Das Destillat wurde direkt in 10 cm³ Eisessig mit einem Katalysator aus 50 mg Platinoxyd hydriert. Wasserstoffverbrauch 151,5 cm³ (0°, 760 mm). Das Hydrierungsprodukt wurde mit Wasser versetzt, in Äther aufgenommen und mit Kaliumcarbonat und Kalium getrocknet. Der Äther wurde vorsichtig mit einer *Widmer*-Kolonne abdestilliert und der Rückstand mit einer Mikro-Kolonne nach *Craig* über Kalium destilliert, Badtemperatur 155—162°. Der Kohlenwasserstoff hatte folgende Eigenschaften:

$d_4^{20} = 0{,}7379$; $n_\alpha^{20} = 1{,}4113$; $n_D = 1{,}4134$; $n_\beta = 1{,}4182$; $n_\lambda = 1{,}4220$

$[\alpha]_D^{16} = -3{,}18^0 \pm 0{,}05^0$ (in Substanz, 0,5 dm-Rohr)

3,752 mg Subst. gaben 11,553 mg CO_2 und 5,244 mg H_2O

C_9H_{20} Ber. C 84,28 H 15,72%
Gef. „ 84,03 „ 15,63%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

Bei der Redaktion eingelaufene Bücher:

(Die Redaktion verpflichtet sich nicht zur Besprechung der eingesandten Werke.)

Livres reçus par la Rédaction:

(La rédaction ne s'engage pas à publier des analyses des ouvrages qui lui sont soumis.)

Michel Tswett. Le créateur de l'analyse chromatographique par adsorption. Sa vie, ses travaux sur le pigments chlorophylliens, par *Charles Dhéré.* Candollea **X,** Novembre 1943, 51 pages, Genève.

Zur Chemie, Physiologie und Pathologie des Eiweisses. Eine Vortragsreihe von Prof. Dr. *R. Signer* (Bern), Prof. Dr. *H. Theorell* (Stockholm), Prof. Dr. *I. Abelin* (Bern) und Prof. Dr. *E. Glanzmann* (Bern), Sonderabdruck aus den Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft Bern, 106 SS., Verlag Paul Haupt Bern, 1944. Preis brosch. Fr. 4.80.

On the Activity of Pantothenic Acid on Growth and Fur Conditions of the Rat, by *Hans Kringstad* and *Erling Jansen.* Avhandlinger utgitt av Det Norske Videnskaps-Akademi i Oslo, I. Mat.-Naturv. Klasse 1943, Nr. 8. Universitetsbiblioteket i Oslo.

Errata.

Helv. **27,** 8 (1944), Abhandlung No. 1 von *H. Ed. Fierz-David,* Zeile 2 von oben, lies „Bis-Dehydrothio-p-toluidin" statt „Bis-Dehydro-p-toluidin".