HELVETICA CHIMICA ACTA

EDITA A SOCIETATE CHIMICA HELVETICA

VOLUMEN XXVII

VENEUNT BASILEAE ET GENAVAE APUT GEORG & CO. LIBRARIOS
MCMXLIV

REDAKTIONS-KOMITEE — COMITÉ DE RÉDACTION — COMITATO DI REDAZIONE

FR. FICHTER, Präsident
Realpstrasse 69, Basel.

E. BRINER, Vice-prés., Lab. de Chim. techn., théor. et d'Electrochimie de l'Univ., Genève.

H. DE DIESBACH, Institut de chimie de l'Université, Fribourg.

P. KARRER, Chem. Institut der Universität, Zürich.

H. RUPE, Chemische Anstalt der Universität, Basel.

L. RUZICKA, Labor. für organische Chemie, Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

W. D. TREADWELL, Lab. für anorgan. Chemie, Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

Sekretär: E. GOETZ, Basel. — Secrétaire: J. DRUEY, Riehen-Bâle.

POLITECHNIKA ŚLĄSKA BIBLIOTEKA GŁÓWNA Gliwice

P.76/44/II

Copyright 1944 by: Schweizerische chemische Gesellschaft Basel.
Société suisse de chimie, Bâle.
Società svizzera di chimica, Basilea.

Nachdruck verboten — Tous droits réservés.

Druck von E. Birkhäuser & Cie., A. G., Basel.

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.

118. La biotine, l'aneurine et le méso-inositol, facteurs de croissance pour *Eremothecium Ashbyii* Guillermond. La biosynthèse de la riboflavine

par W. H. Schopfer.

(12 V 44)

1. Introduction.

Eremothecium Ashbyii est un champignon Ascomycète, parasite des capsules du cotonnier, décrit pour la première fois par *Guillermond* en 1935[1]). Il présente un grand intérêt pour le biologiste par le fait qu'il produit une quantité anormalement élevée de flavine. Cette dernière a été l'objet d'études de *Guillermond* et de ses élèves[2]). Mlle *A. Raffy*[3]) met en évidence les propriétés vitaminiques de cette flavine qui se révèle être de la riboflavine, vitamine de croissance du groupe B_2. Le même auteur[4]) fait une étude spectrographique de ce pigment. *Mirimanoff* et Mlle *A. Raffy*[5]) l'obtiennent à l'état cristallisé. A l'aide des méthodes les plus diverses: cytologique, microchimique, spectrographique, physiologique, le pigment jaune produit par le champignon, fortement fluorescent en lumière de *Wood* a pu être définitivement identifié avec la riboflavine. La combinaison de ces méthodes, qui donne d'heureux résultats, avait déjà été effectuée pour l'identification du carotène de *Phycomyces blakesleeanus* (*Schopfer* et *Jung* 1935).

Un aspect du problème a cependant été négligé. En effet, la physiologie culturale et le métabolisme de ce champignon sont pour ainsi dire inconnus. Seule une étude de ce genre permettrait de préciser les conditions de formation du pigment flavinique. Par le fait que la riboflavine s'accumule en quantités énormes dans le milieu et peut y être directement décelée, nous avons là une occasion unique d'étudier la biosynthèse d'une vitamine dont on sait qu'elle est de première importance pour les microorganismes. Jusqu'à maintenant, cette vitamine a été avant tout étudiée au titre de facteur de croissance exogène requis par quelques microorganismes auxo-hétérotrophes (B. lactiques p. ex. *Orla-Jensen*).

---

[1]) *A. Guillermond*, C. r. **200**, 1556 (1935).

[2]) *A. Guillermond*, Rev. Mycologie **1**, 115 (1936); *A. Guillermond, M. Fontaine* et Mlle *A. Raffy*, C. r. **201**, 1077 (1935).

[3]) Mlle *A. Raffy*, C. r. Soc. Biol. **126**, 875 (1937).

[4]) Mlle *A. Raffy*, C. r. Soc. Biol. **128**, 392 (1938).

[5]) *A. Mirimanoff* et Mlle *A. Raffy*, C. r. **206**, 1507 (1938); Mlle *A. Raffy* et *A. Mirimanoff*, Bl. Soc. chim. biol. Paris, **20**, 1166 (1938).

Une étude du genre de celle que nous nous proposons sous-entend que l'on sache cultiver le champignon sur un milieu synthétique. Jusqu'à maintenant, cette culture n'a été effectuée que sur quelques milieux naturels types: moût de bière, gélose de *Sabouraud*, bouillon de pomme de terre et de carotte, tranche de pomme de terre et de carotte. Ces milieux font la joie du mycologiste, mais désespèrent le physiologiste qui ne sait exactement ce qu'il introduit dans son milieu.

Nous étudierons tout d'abord la croissance et la production de flavine sur quelques milieux naturels, puis tenterons les mêmes recherches sur milieux synthétiques.

Toutes nos cultures se font à l'obscurité complète, à la température constante de 28°. Le milieu de base est constitué par du glucose 1%, du glycocolle ou de l'asparagine 0,1%, du sulfate de magnésium 0,05% et du phosphate acide de potassium 0,15%. Les différents extraits sont ajoutés à ce milieu et stérilisés avec lui, à 120° pendant 15 minutes. La souche utilisée provient de Baarn. Le thalle et le milieu sont fortement colorés. La suspension destinée à l'inoculation contient, finement dispersés, des fragments de hyphes et des spores. L'inoculation se fait avec un petit nombre de gouttes (2—5), toutes les fioles d'une même expérience étant ensemencées avec le même nombre de gouttes. Nous vérifions à la lumière de *Wood* si la suspension d'inoculation n'introduit pas dans le milieu une quantité de flavine telle que les résultats des analyses ultérieures soient faussés. Ce n'est jamais le cas. Il faut cependant noter que chaque milieu reçoit de ce fait une très faible quantité de flavine, inférieure à 0,3 γ pour 25 cm³ de liquide nutritif. Toutes les expériences se font dans des erlenmeyers en verre d'Iéna de 150 cm³, contenant 25 cm³ de milieu.

Les analyses de flavine se font par comparaison avec des solutions standards exactement étalonnées, à la lumière ordinaire ou à la lumière de *Wood*, dans des conditions telles que les comparaisons soient possibles et les résultats valables. En lumière de *Wood*, il est possible de déceler des quantités de flavine inférieures à 0,5 γ pour 25 cm³ de milieu. Nous ne sommes pas certains que la riboflavine seule soit produite, quoique cette dernière constitue certainement la majeure partie des pigments formés. Par convention, nous exprimons nos résultats en riboflavine (6, 7-diméthyl-9-(*d*-1'-ribityl)-iso-alloxazine, $C_{17}H_{20}O_6N_4$), par comparaison avec des étalons de riboflavine pure.

2. Cultures sur milieux naturels et semi-synthétiques[1]).

Sur milieu agarisé avec extrait d'avoine, de levure ou de carotte, le développement est bon. La production de flavine est très forte sur avoine, forte sur levure, plus faible sur carotte.

Sur milieu liquide, les résultats sont les suivants, après 7 jours de culture.

On voit donc que différents extraits animaux et végétaux permettent la croissance et la flavinogenèse. Le thalle reste submergé et est constitué par des flocons globuleux en nombre variable, se laissant très facilement séparer du milieu par filtration. On constate que sur le milieu synthétique seul, sans extrait, aucun développement ne se produit. Celui-ci, de même que la flavinogenèse, sont déclanchés par les

[1]) Nous appelons semi-synthétique le milieu contenant une source azotée et carbonée connue, et, en plus, un extrait naturel ou un concentrat agissant selon toute probabilité comme source de facteurs de croissance.

substances introduites par les extraits. Il y a donc beaucoup de chances pour que cet organisme soit auxo-hétérotrophe. Si nous voulons parvenir à cultiver notre organisme sur milieu synthétique, il est donc nécessaire d'y introduire des facteurs de croissance vitaminiques. Or, *Eremothecium Ashbyii* est très voisin d'*Ashbya gossypii* (Ashby et Nowell) Guil. (*Nematospora gossypii* Ashby et Nowell), dont il diffère par quelques caractères culturaux, morphologiques (forme des spores),

Tableau 1.

Milieu de base +	Croissance	Flavine
Extrait de germe de blé conc.	+ + + +	+ + + +
Extrait d'avoine	+ +	+ +
Extrait de carotte	+ +	+
Extrait de pomme de terre	+ + + +	+ + + +
Extrait de betterave	+ +	+ +
Extrait de foie	+ +	+(+)
Extrait de thalle de *Phycomyces*	+	+(+)
Extrait de thalle de *Rhizopus suinus*	+(+)	+ +
Milieu de culture de *Phycomyces, Rhizopus suinus, Ceratostomella ulmi*	0+	0+
Urine stérilisée par filtration	+ +	+ + +
Urine stérilisée à chaud	+	(+)
Contrôle (sans extrait)	0	0

L'intensité de la croissance et de la flavinogenèse est indiquée par les signes suivants: (+) très faibles; +, +(+) faible et moyenne; + + moyenne; + + + forte; + + + + très forte.

physiologiques et surtout par le fait qu'*Ashbya* ne forme qu'une faible quantité de flavine. Ce dernier champignon a été étudié par *Kögl* et *Fries*[1]), et *Fries*[2]). Pour sa culture sur un milieu synthétique déterminé, il requiert la biotine (vitamine H), l'aneurine (vitamine B_1) et le méso-inositol. Or, malgré la présence en doses certainement supra-optimales de ces trois vitamines, il n'a pas été possible de cultiver notre champignon sur milieu synthétique. *Eremothecium Ashbyii* doit être auxo-hétérotrophe d'une manière différente d'*Ashbya gossypii*. Son auxo-hétérotrophie doit probablement être plus marquée, ce que nous étudierons par la suite.

Une expérience avec adjonction d'un extrait de levure (Faex sicc.) à 3 % au milieu à base de glucose et de glycocolle confirmera les essais précédents. Cultures de 7 jours:

---

[1]) *F. Kögl* und *N. Fries*, Z. physiol. Ch. **249**, 93 (1937).
[2]) *N. Fries*, Symbolae Botan. Upsalienses III, 2 (1938).

Tableau 2.

Extrait de levure	0	0,1	0,5	1	2	4 cm³
Poids sec mgr.	0	0,4	2,4	3,6	4,2	7
Flavine pour 25 cm³ milieu, γ .	0	0	50	175	400	750

L'action de l'extrait de levure est quantitative, tant en ce qui concerne le poids sec de matière vivante formée qu'en ce qui concerne la flavinogenèse.

Action de diverses sources carbonées et azotées (en présence d'extrait de levure).

Six glucides sont étudiés en présence d'asparagine et de glycocolle et de 0,5 et 4 cm³ d'extrait de levure pour 25 cm³ de milieu.

Tableau 3.

Extrait de levure, cm³			0	0,5	4
Glucose après 12 j.	A	poids	0	—	10,4 mgr.
		flavine	0	100	800 γ
	G	poids	0	1	8,6 mgr.
		flavine	0	25	600 γ
Maltose de *Kahlbaum* après 12 j.	A	poids	4,2	3,4	18 mgr.
		flavine	77	300	600 γ
	G	poids	2,1	3,8	18,4 mgr.
		flavine	5	25	400 γ
Lactose après 9 j.	A	poids	0	—	5,4 mgr.
		flavine	0	—	175 γ
	G	poids	0	0,6	3,8 mgr.
		flavine	0	10	175 γ
Saccharose après 9 j.	A	poids	0	1,2	13,6 mgr.
		flavine	0	350	750 γ
	G	poids	0	—	13,8 mgr.
		flavine	0	—	350 γ
Galactose après 9 j.	A	poids	0	0,8	4,2 mgr.
		flavine	0	125	200 γ
	G	poids	0	0,2	1,8 mgr.
		flavine	0	50	165 γ
Lévulose après 9 j.	A	poids	0	2,6	12,4 mgr.
		flavine	0	400	700 γ
	G	poids	0	1,2	8,2 mgr.
		flavine	0	50	375 γ

A = asparagine, G = glycocolle à la dose de 1 gr.$^0/_{00}$.

Une expérience de contrôle, effectuée avec chaque sucre, en présence d'asparagine ou de glucose et des vitamines (aneurine, biotine et méso-inositol), atteste à nouveau qu'aucun développement ne se produit.

On constate que le maltose, le saccharose, le glucose et le lévulose sont particulièrement favorables, avec 4 cm³ d'extrait de levure, tandis que le lactose et le galactose le sont moins. En présence d'asparagine, et sauf pour le glucose et le maltose où il y a égalité, les poids sont plus élevés qu'en présence de glycocolle. Les glucides peu favorables au développement, le sont également moins pour la flavinogenèse. Les taux de flavine sont plus élevés avec asparagine qu'avec glycocolle.

On relève avec surprise que le maltose de *Kahlbaum* permet un développement et une flavinogenèse nettes *sans adjonction d'extrait de levure*. Ce sucre que nous avons déjà étudié en 1931 est riche en impuretés vitaminiques. Il contient non seulement de l'aneurine (test *Phycomyces*), mais aussi 1,45 mγ de biotine par gr. (test *Saccharomyces cerevisiae*) et probablement des traces d'adermine. On peut provisoirement admettre que les impuretés vitaminiques du maltose *K.*, jointes *aux substances inconnues* apportées par ce sucre, peut-être des catalyseurs minéraux, permettent un début de développement et de flavinogenèse. L'hypothèse que notre champignon, en présence de maltose acquiert une auxo-autotrophie partielle a été examinée et reste posée, mais n'est pas démontrée pour l'instant.

Ces expériences n'ont naturellement — à part celle relative au maltose sans extrait de levure — qu'une valeur d'orientation. L'extrait de levure apporte non seulement des facteurs de croissance, mais des matériaux nutritifs capables de modifier quelque peu les résultats. Nous sommes obligés de nous contenter de ces résultats pour l'instant par le fait que nous ne savons pas cultiver le champignon sur un milieu rigoureusement synthétique.

Influence de la concentration en glucide.

Glucose, en présence d'asparagine et de 4 cm³ d'extrait de levure. Cultures de 8 jours.

Tableau 4.

Glucose	1%	3%	6%	12%	18%	24%
Flavine p. 25 cm³, γ . .	450	540	450	414	319	178

L'optimum se trouve vers 3% de glucose, concentration que nous utilisons habituellement.

Action de la concentration en ions d'hydrogène.

Glucose, en présence d'asparagine et de 4 cm³ d'extrait de levure. Solutions tampons de *McIlwain*, acide citrique et phosphate disodique, diluées deux fois: 1 partie de solutions tampons et 1 partie de milieu concentré deux fois. De p_H 2,2 à p_H 3 aucun développement. A partir de p_H 3,6, croissance et flavinogenèse. Au 16ème jour, le p_H optimal est de 5 pour la biosynthèse de la flavine.

Tableau 5.

p_H	3,6	5,0	8,0
Poids mgr. . . .	5,2	5,4	2,9
Flavine, γ	125	600	313

On constate que sans modification notable du poids de matière sèche, en passant de p_H 3,6 à 5,0 la flavinogenèse est presque quintuplée. *Il doit donc exister des conditions spécifiques de flavinogenèse, indépendantes du développement.*

Action des peptones.

Les diverses peptones que nous avions utilisées dans nos recherches sur *Trichophyton album*[1]), comme source d'azote et de vitamines sont employées ici aux doses de 1 gr.$^0/_{00}$, ajoutées au milieu à base de glucose et de sels minéraux. Cultures de 12 jours.

Tableau 6.

Peptone	Poids culture mgr.	Flavine γ/25 cm^3	Biotine γ/gr. peptone	Rapport poids/ flavine
1. Bactopeptone *Difco* .	1,9	125	0,38	15,2
2. Bactoprotone *Difco* .	0	0	0,02	—
3. Bactotryptone *Difco* .	5,5	600	0,02—0,03 (0,025)	9,2
4. Néopeptone *Difco* . .	8,9	325	0,455	27,4
5. Protéose-peptone *Difco*	7,4	175	0,440	42,3
6. Peptone sèche *Chapoteaut*	10,9	450	0,05—0,1 (0,075)	24,2
7. Peptone granulée . .	5,4	300	0,2—0,4 (0,3)	18,0
8. Peptone exempte d'indol *Poulenc*. . .	6,0	275	0,2—0,4 (0,3)	21,8
9. Peptone pepsique *Poulenc*	5,1	125	0,05—0,1 (0,075)	40,8
10. Peptone de soie . . .	0,3	375	0,1—0,2 (0,15)	0,8
11. Peptone spongieuse *Poulenc*	traces	0	moins de 0,02	—
12. Peptone bactériologique *Byla*	2,7	750	0,1—0,2 (0,15)	3,6
13. Peptone *BDH*	0,4	50	0,02—0,05 (0,035)	8,0
14. Peptone sine sale *Merck*	0	0	moins de 0,02	—
15. Peptone *Witte*	1,6	700	0,02—0,05 (0,035)	2,3
16. Peptone *Roche*	0,6	75	0,05—0,10 (0,075)	8,0
17. Peptone *Siegfried* . . .	2,2	650	0,05—0,10 (0,075)	3,4
Contrôle	0	0	—	—

On constate tout d'abord le contraste marqué entre l'intense formation de flavine et les poids relativement faibles de matière sèche produite. Le poids le plus élevé est fourni par la peptone sèche de *Chapoteaut*, soit 10,9 mgr. Une série parallèle d'expériences a été

[1]) *W. H. Schopfer* und *S. Blumer*, Ber. schweiz. bot. Ges. **53**, 409 (1943).

faite en ajoutant au milieu, à part la peptone, 1 gr.$^0/_{00}$ de glycocolle. Les résultats sont très peu différents en ce qui concerne le poids des cultures. Une peptone qui, employée seule comme source d'azote, agit faiblement n'a pas son action augmentée par la présence du glycocolle. L'azote de ce dernier n'exerce pas un effet marqué, en présence des peptones utilisées. Pour la peptone *Roche* seule, le poids des cultures est doublé par l'adjonction de l'acide aminé. Par contre la flavinogenèse est modifiée, notablement plus faible, sauf pour les peptones pepsique, bactériologique *Byla* et *Roche* où elle est un peu plus forte. Pour la peptone de soie et la peptone *BDH*, il n'y a pas de changements.

On relève les grandes variations qui se manifestent dans l'action des différentes peptones, tant au sujet des poids secs des cultures que de la flavinogenèse. Les peptones bactériologiques *Byla, Witte, Siegfried* ainsi que la bactotryptone *Difco* sont les plus actives pour la flavinogenèse. La *bactoprotone Difco*, les peptones spongieuse, *Merck* sine sale, sont sans aucune action sur la croissance qui, en 12 jours, ne se déclanche pas. Il est hors de doute que c'est tout d'abord comme source d'azote que les peptones agissent sur la croissance. Il est intéressant de relever que la bactoprotone est, parmi les peptones *Difco*, celle qui est la plus pauvre en acides aminés libres et la plus riche en protéoses (*Difco* Manual). C'est très probablement ce caractère qui la rend inutilisable pour *Eremothecium*.

Les peptones utilisées sont également source de facteurs de croissance vitaminiques (voir tableau 6). En déterminant leur teneur en biotine, à propos de recherches sur *Trichophyton album*[1]), nous avons montré que leur taux en vitamine H expliquait dans une certaine mesure leur action sur ce champignon, si fortement auxo-hétérotrophe. La question se pose ici de savoir si le même phénomène peut être observé pour *Eremothecium*. Nous déterminerons plus loin les doses actives de biotine pour notre champignon. Nous constaterons qu'avec 1×10^{-5} γ un début de développement se produit et que la dose de 1×10^{-3} γ est optimale. Or, si nous considérons au tableau 6, les doses de biotine les plus faibles qui aient été observées, 0,02 γ par gr., nous constatons qu'en introduisant 1 gr. de peptone par litre, nous avons pour 25 cm^3 de milieu 5×10^{-4} γ de vitamine. Si la biotine contenue dans les peptones est utilisable, il n'est donc pas impossible que cette vitamine détermine en partie l'activité de ces dernières.

Nous avons, dans l'expérience transcrite au tableau 6, 3 facteurs variables: le poids sec des cultures, la teneur en flavine des milieux, la teneur en biotine des peptones.

Relations entre la production de matière sèche et la teneur en biotine des peptones.

Les deux peptones dont les teneurs en biotine sont les plus élevées (n° 4 et 5) fournissent des poids de matière sèche très élevés également. Les peptones 2, 11, 13, 14, dont les teneurs en vitamine H sont très faibles donnent les poids de matière sèche les plus bas (n° 13) ou ne permettent aucun développement (n° 2, 11, 14). Mais cette régularité est troublée par la peptone sèche de *Chapoteaut* (n° 6) dont la teneur en biotine n'est pas très élevée et qui fournit le poids sec de culture le plus fort. D'autre part, la peptone de soie dont le taux en biotine est appréciable ne permet qu'une croissance insignifiante. Il n'y a donc pas corrélation absolue entre les deux facteurs. La biotine est certainement un facteur essentiel pour le développement d'*Eremothecium* se développant en présence de peptone. Mais l'action de ces dernières dépend également de sa teneur en azote assimilable, de la nature et de la quantité des acides aminés qu'elles contiennent, éventuellement de l'existence de substances inhibitrices qui peuvent freiner le développement malgré la présence d'une quantité appréciable de vitamine H.

Relations entre la flavinogenèse et la teneur en biotine des peptones.

Là encore un certain parallèlisme se manifeste qui n'est cependant pas constant. Les peptones 2, 11, 13, 14 qui ont des teneurs en biotine faibles ne permettent que des flavinogenèses faibles aussi: avec les n° 2, 11 et 13 il n'y a d'ailleurs aucune croissance.

---

[1]) *W. H. Schopfer* und *S. Blumer*, loc. cit.

La peptone n° 6, avec peu de biotine, livre une quantité appréciable de flavine. Surtout, les peptones 10, 12, 15 et 17, les trois dernières fournissant les taux de flavine les plus élevés, ont des teneurs en biotine relativement faibles. La corrélation biotine-flavine est encore moins satisfaisante que la corrélation biotine-poids sec des cultures. Il doit donc certainement exister des conditions spécifiques de la flavinogenèse telles que malgré le poids faible des cultures, allant de pair avec une teneur peu élevée des peptones en biotine, la flavine est produite en grande quantité. Dans ce dernier cas, il n'existe aucune corrélation entre la production de matière sèche et la flavinogenèse.

3. Détermination de la constellation de facteurs de croissance pour *Eremothecium Ashbyii*.

Nous nous trouvons donc en face du paradoxe suivant: *Eremothecium Ashbyii* est très voisin d'*Ashbyia gossypii* qui réclame comme facteurs de croissance vitaminiques l'aneurine, la biotine et l'inositol, mais ces vitamines n'agissent pas sur le premier champignon. Les peptones qui sont riches en aneurine et en biotine agissent sur *Eremothecium* et tout se passe comme si leur teneur en aneurine et en biotine déterminait partiellement leur activité.

Pour résoudre ce problème, nous avons imaginé la méthode suivante. Une peptone particulièrement favorable est privée de ses facteurs vitaminiques, aneurine et biotine, par un traitement à la norite qui adsorbe ces dernières. Le liquide clair obtenu (filtrat), qui, employé seul est inactif, est ajouté au milieu synthétique *avec* la biotine et l'aneurine.

L'adsorption se fait en deux temps: un premier traitement avec deux fois 25 gr. de norite détermine une adsorption incomplète et le filtrat est encore légèrement coloré. Une deuxième adsorption avec 20 gr. de norite supplémentaire fournit un filtrat décoloré complètement. Les solutions de peptone sont à 6%: 1 cm^3 = 60 mgr., 0,5 cm^3 = 30 mgr., 0,1 cm^3 = 6 mgr. de substance. Ces chiffres ne correspondent plus à la réalité puisque le traitement à la norite a éliminé certaines substances.

Les solutions de peptones sont analysées du point de vue de leur teneur en biotine à l'aide du test *Saccharomyces* selon *Snell*, *Eakin* et *Williams*.

Tableau 7.

Peptone	mγ biotine par gr.		
	non traitée	1er traitement	2ème traitement
Bactotryptone (n° 3) . .	233	76,3	0
Peptone sèche (n° 6) . .	88,8	6,2	0
Peptone granulée (7) . .	206,7	—	0
Peptone bactériol. (12) .	145	—	0
Peptone *Witte* (15) . . .	45,7	—	0

Les taux indiqués pour les peptones sont en accord avec les taux moyens établis lors des recherches sur *Trichophyton album*. Les taux en biotine après le premier traitement n'ont été établis qu'avec les deux premières peptones: ils attestent une diminution notable, surtout pour la peptone n° 6. Après le 2ème traitement, il ne reste plus trace de biotine décelable par le test *Saccharomyces*.

Tableau 8.

Peptone mgr. (filtrat)		Sans vitamines						Avec vitamines					
		6		30		60		6		30		60	
		mgr.	γ	mgr.	γ	mgr.	γ	mgr.	γ	mgr.	γ	mgr.	γ
Btr	a	1,4	150	8,8	163	—	—	4,6	25	30	525	57,8	850
	b	2,6	75	7	150	9,2	250	4,4	50	24,6	350	40	650
	c	0	0	0	0	0	0	1,4	7,5	9,8	50	19,8	125
PCh	a	3	100	7,2	100	10,6	100	10,4	113	23,2	250	31,4	400
	b	0,8	2,5	4,2	50	5,6	63	5,6	43	12,4	100	13,2	225
	c	0	0	0	0	0	tr	1,4	10	6,4	43	7	75
PGr	a	1,6	113	7,6	100	9,2	100	4,2	88	16,4	200	28,6	225
	b	1,2	25	3,6	75	5,6	88	3,8	43	—	—	16,4	125
	c	0	0	0	tr	0	0	0,8	15	2,6	75	6,8	75
PBy	a	3,4	250	6,2	375	—	—	7,6	100	22,4	500	35,8	700
	b	0,1	tr	1,6	10	3,4	38	2,6	50	5,2	150	14,2	400
	c	0,1	tr	0	0	0,1	tr	10,2	25	20	88	—	—
PWi	a	1,4	38	2,6	450	3,8	500	5,8	75	27,2	250	57,2	350
	b	0,1	2,5	2,4	150	3,8	175	3,2	75	17,8	150	23	175
	c	0	0	0,1	5	0,1	0	0,8	25	7,8	100	9,4	125

Btr: Bactotryptone *Difco*
PCh: Peptone sèche *Chapoteaut*
PGr: Peptone granulée
PBy: Peptone bactériologique *Byla*
PWi: Peptone *Witte*
a: Peptone normale, non traitée.
b: Filtrat de la peptone après une première adsorption par la norite.
c: Filtrat de la peptone après une deuxième adsorption par la norite.

Pour chaque dose de peptone, de 6 à 60 mgr. pour 25 cm³ de milieu, deux colonnes: dans la première le poids sec de la culture en mgr., dans la seconde, la teneur en flavine en γ pour 25 cm³ de milieu. tr = traces: dose de flavine inférieure à 0,30 γ.

La fig. 1 indique l'intensité de la flavinogenèse en présence de peptone *Siegfried* normale (a), traitée une fois (b) et deux fois (c), par la norite.

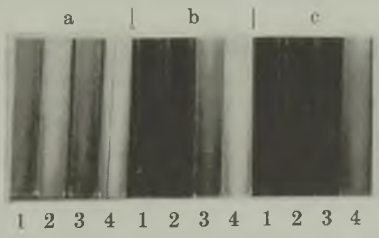


Fig. 1.

Production de flavine en présence de peptone *Siegfried*.

a: Peptone non traitée.
b: Filtrat de peptone après la première adsorption à la norite.
c: Filtrat de peptone après la deuxième adsorption à la norite.

1: 6 mgr. de peptone
2: 60 mgr. de peptone } sans vitamines.
3: 6 mgr. de peptone
4: 60 mgr. de peptone } avec aneurine, inositol et biotine.

Les milieux de culture ont été répartis dans des tubes égaux. Lumière de *Wood*, exposition 2 minutes, filtre objectif.

On remarquera que les mêmes peptones ne fournissent pas toujours des taux de flavine identiques. La cause de ces différences réside dans le fait que les souches d'inoculation, au cours de plusieurs repiquages, ne conservent pas le même pouvoir flavinogène. Ces variations spontanées ou progressives seront étudiées dans un autre mémoire. Pour l'instant, les comparaisons ne peuvent être effectuées qu'entre expériences inoculées en même temps à partir de la même souche.

L'expérience relatée au tableau 8 est effectuée avec 5 peptones, non traitées et après deux adsorptions, en doses croissantes, avec et sans vitamines. Les vitamines sont en doses supra-optimale: aneurine 10 γ, biotine 0,06 γ, méso-inositol 1 mgr. Elles sont stérilisées à part et ajoutées à froid, après la stérilisation des milieux, de même que les peptones.

L'examen du tableau 8 dispense de tout commentaire. Nous constatons que: 1) les peptones agissent quantitativement, 2) avec adjonction de vitamines les poids de matière sèche produite sont plus élevés que sans vitamine, 3) l'action des peptones sur la biosynthèse des flavines est quantitative, 4) l'adjonction de vitamine augmente la flavinogenèse, sauf pour la peptone *Witte* où elle est diminuée, 5) une première adsorption diminue la production de matière sèche ainsi que la flavinogenèse, en présence ou non de vitamines, 6) une deuxième adsorption — complète — supprime développement et flavinogenèse en l'absence de vitamines, *alors qu'en présence de vitamines, un développement et une flavinogenèse appréciables se manifestent.* Alors que les vitamines seules et la peptone traitée seule sont sans action, les deux ensemble déterminent le développement. *Tout se passe comme si l'aneurine, la biotine et le méso-inositol étaient les facteurs de croissance nécessaires, mais en présence d'une ou plusieurs inconnues apportées par les peptones traitées.* Entre les deux groupes, vitamines et peptone traitée, un synergisme se manifeste.

On ne peut encore considérer le milieu créé ainsi comme strictement synthétique, par le fait que nous ignorons la nature des substances indispensables apportées par la peptone traitée (filtrat). Il représente cependant un notable progrès, comparé au milieu naturel. Sa constitution provisoire sera donc la suivante:

Glucose puriss. 3 gr., glycocolle 0,1 gr., sulfate de magnésium 0,05 gr., phosphate acide de potassium 0,15 gr., peptone *Witte* traitée à la norite (filtrat) inactif sur *Saccharomyces cerevisiae* 4 cm^3, aneurine 40 γ, biotine 0,25 γ, méso-inositol 4 mgr. pour 100 cm^3 d'eau distillée.

Il est maintenant possible de déterminer exactement la part qui revient à chaque facteur vitaminique.

L'expérience suivante se fait en présence de glucose et de glycocolle et 0,5 cm^3 de bactotryptone traitée. Age des cultures 25 jours. Chaque chiffre est une moyenne de 10 à 12 cultures (tableau 9).

Les teneurs en flavine sont plus faibles que celles fournies précédemment par la bactotryptone. Les taux ont diminué par suite d'un séjour prolongé à 28°.

On constate donc que l'auxo-hétérotrophie d'*Eremothecium* est comparable à celle d'*Ashbya gossypii*: la biotine est facteur essentiel puisqu'à elle seule elle détermine un développement appréciable. L'aneurine et l'inositol qui augmentent l'effet de la biotine sont des

facteurs complémentaires. Le facteur essentiel et les facteurs complémentaires ne le sont qu'en présence des substances introduites avec les peptones traitées. Ces substances inconnues sont également essentielles, puisqu'aucun développement ne se produit en leur absence.

Tableau 9.

B_1	I	H	Poids mgr.	Flavine γ
10 γ	—	—	0,2	5
—	1 mgr.	—	0,1	1,25
—	—	0,06 γ	11,9	225
10 γ	1 mgr.	—	0,09	5
10 γ	—	0,06 γ	13,1	250
—	1 mgr.	0,06 γ	16,1	225
10 γ	1 mgr.	0,06 γ	37,3	250
Peptones seules			0	0
Vitamines seules			0	0

L'action de la biotine, facteur essentiel, est quantitative. Dans l'expérience indiquée par le tableau 10 nous constatons que l'effet commence à s'exprimer avec 1×10^{-5} γ. La dose de 1×10^{-3} est optimale dans les conditions de nos expériences. La courbe de la flavinogenèse a la même allure que celle du développement pondéral des cultures.

Tableau 10.

Cultures de 9 jours, sur milieu glucose-glycocolle, 1 cm³ de peptone traitée (filtrat) *Witte* par fiole. Pour chaque mesure 6 cultures.

	γ biotine p. 25 cm³					
	1×10^{-1}	1×10^{-2}	1×10^{-3}	1×10^{-4}	1×10^{-5}	1×10^{-6}
Poids sec mgr. .	1,8	1,9	2,0	1,6	0,65	moins de 0,1 mgr.
Flavine, γ . .	125	75	100	75	3,75	0
Rapport poids sec/flavine	14,4	25,3	20,0	21,3	17,3	—

Contrôle: 1 cm³ de peptone non traitée: 4,3 mgr., 350 γ flavine, rapport poids sec/flavine 12,3.

Ce tableau indique l'action de la biotine seule, sans les facteurs complémentaires.

L'action *quantitative* de la biotine s'exprime ici par une expérience de *durée limitée*. Nous ne savons pas ce qui se passe avec les diverses doses de biotine au cours d'expériences en fonction du temps. *Fries*, au cours d'expériences avec *Ashbya gossypii*, a émis l'hypothèse que la biotine pourrait avoir une autre action que l'aneurine; elle ne serait pas quantitative, mais une quantité minimale pourrait, avec le temps, suffire à produire un développement intense. Au cours d'expériences avec *Trichophyton* (*Schopfer* et *Blumer*), nous avions également conclu à une action quantitative de la vitamine H. La question ne peut pas être résolue ici. Remarquons encore une fois que pour *Eremothecium*

l'affirmation que l'action de la biotine est quantitative est basée sur une expérience de durée limitée.

L'action de la peptone traitée est quantitative également, comme l'indique l'expérience suivante, faite sur un milieu glucose-glycocolle contenant 10 γ d'aneurine, 1 mgr. d'inositol et 0,06 γ de biotine.

Tableau 11.

	cm³ peptone traitée (*Witte*)						
	0	0,05	0,1	0,5	1	2	4
Poids mgr.	moins de 0,1	0,85	2,10	9,53	13,20	22,28	19,95
Flavine γ, p. 25 cm³ .	0	7,5	13	50	100	125	150

De quelle manière agit la peptone traitée, qui semble aussi indispensable que la biotine? Elle peut agir: 1) en modifiant les caractéristiques physico-chimiques du milieu, p_H, etc. ce qui paraît peu vraisemblable; 2) en apportant d'autres vitamines non adsorbées par la norite. Une expérience d'ensemble faite avec la β-alanine, l'acide pantothénique, l'adermine, l'acide nicotinique, l'acide p-aminobenzoïque, la riboflavine, l'adénosine, employés seuls ou en combinaisons diverses en remplacement de la peptone traitée, n'ont conduit à aucun résultat positif. S'il s'agit d'un facteur de croissance, celui-ci reste à identifier; 3) elle peut agir comme antagoniste d'ions inhibiteurs, présents dans le milieu et apportés par l'eau distillée ou introduits comme impuretés par les constituants du milieu. Cette hypothèse n'a pas été examinée à fond; 4) par les catalyseurs minéraux qu'elle apporte et dont la présence serait indispensable à l'action des vitamines; 5) elle peut enfin agir comme source d'azote en apportant une constellation particulière d'acides aminés intervenant comme aliment ou comme microaliment. Nous avons déjà relevé le fait remarquable que la bactoprotone qui contient de la biotine (0,02 γ/gr.), mais très peu d'acides aminés libres est inactive. Le filtrat des diverses peptones traitées donne encore une réaction à la ninhydrine fortement positive. Les recherches, déjà avancées, faites au sujet du mode d'action des peptones traitées indiquent que ce sont les hypothèses 4 et 5 qui peuvent nous conduire au but.

4. Intensité de la flavinogenèse.

On ne peut manquer d'être frappé par la quantité extrêmement élevée de flavine formée, en un temps relativement court, par *Eremothecium Ashbyii*. La pratique des facteurs de croissance habitue le biologiste à travailler avec de très petites quantités de vitamines. Pour exprimer la haute activité d'un facteur de croissance requis par une espèce auxo-hétérotrophe, nous utilisons une manière de « coefficient économique » exprimant le rapport existant entre la quantité de matière vivante sèche produite et la dose de facteur vitaminique

requis à cet effet. (*Schopfer* 1934, *Schopfer* et *Blumer* 1938, *Fries* 1938). Les chiffres obtenus sont naturellement très élevés et donnent une image frappante de l'intensité d'action de ces catalyseurs biologiques. Ces rapports ont été établis jusqu'à maintenant pour des espèces auxo-hétérotrophes: ils indiquent dans ce cas un rapport de nécessité[1]).

Si la possibilité existe d'analyser exactement la quantité de vitamine produite par un organisme auxo-autotrophe, il est possible d'établir également un rapport identique qui, dans ce cas, sera un rapport de biosynthèse. Les deux rapports devraient en principe concorder et, pour une même vitamine, requise dans un cas et fabriquée dans l'autre, exprimer des ordres de grandeur identiques. Cette conception est basée sur le principe suivant: le besoin en facteurs vitaminiques exprimé par une espèce auxo-hétérotrophe est déterminé par une perte de pouvoir de synthèse. Le facteur requis doit être absorbé par l'organisme et être intégré — au bon endroit — dans l'édifice de la matière vivante. Il doit y jouer exactement le même rôle que dans la matière vivante de l'espèce auxo-autotrophe qui le synthétise. Il ne peut exister aucune différence quant au mode d'action entre le facteur requis et le facteur synthétisé; la seule différence réside dans la manière dont le facteur est acquis par l'organisme qui en a besoin: reçu de l'extérieur, ou fabriqué à l'intérieur.

A la réflexion, on peut se persuader qu'une dissemblance entre les deux rapports ne serait pas étonnante. En effet, pour les espèces auxo-hétérotrophes, la dose de vitamine requise représente la quantité minimale, juste suffisante, sans aucun excès, pour obtenir dans des conditions données un poids déterminé de matière vivante. Pour les espèces auxo-autotrophes il s'agit au contraire de la quantité totale de vitamine fabriquée et recelée non seulement par le thalle, mais diffusée dans le milieu au cours de sa biogenèse. Dans ce dernier cas, on peut s'attendre à un excès. Les données qui suivent nous renseigneront à ce sujet (voir ici le tableau 12, p. 1030).

1) *Schopfer* 1934[2]). — 2) *Schopfer* et *Blumer* 1938[3]). — 3) *Schopfer* 1938[4]). — 4) *Fries* 1938[5]). En considérant que la biotine agit quantitativement, après une durée d'expérience limitée (15 jours), en présence de 10 mgr. d'inosite. — 5) En présence de 10 mgr. d'inosite et de 1 γ d'aneurine. *Nematospora gossypii* = *Ashbyia gossypii*. — 6) *Schopfer* 1943[6]). Température 18°, poids de thalle maximum, biotine totale (thalle et milieu); sous la dénomination de biotine est comprise la biotine + un facteur différent, qui ne prend qu'une part faible à l'action auxogène et dont la nature n'est pas connue. — 6a) En ne tenant

---

[1]) *W. H. Schopfer*, Erg. Biol. **16**, 1—172 (1939); *W. H. Schopfer*, Plants and Vitamins, Chronica botanica, Waltham, 300 pp., 1943.

[2]) *W. H. Schopfer*, Arch. Mikrobiol. **5**, 513 (1934).

[3]) *W. H. Schopfer* und *S. Blumer*, Arch. Mikrobiol. **9**, 305 (1938).

[4]) *W. H. Schopfer*, Protoplasma **31**, 105 (1938).

[5]) *N. Fries*, loc. cit.

[6]) *W. H. Schopfer*, Z. Vitaminforschung **14**, 42 (1943).

compte que de la biotine présente dans le thalle. — 6b) Avant l'obtention du poids maximum, biotine totale (thalle + milieu). — 6c) En ne tenant compte que de la biotine présente dans le thalle. — 7) En présence de peptone de soie. — 7a) En présence de protéose-peptone; riboflavine totale.

Le coefficient pour les espèces auxo-autotrophes n'a qu'une valeur très relative, par le fait que l'intensité de la biosynthèse dépend dans une large mesure des conditions culturales.

Tableau 12.

Espèce	Poids culture mgr.	Vitamine requise γ	Coefficient
Espèces auxo-hétérotrophes.		Aneurine	
1. *Phycomyces blakesleeanus* .	100	0,5	200 000
2. *Ustilago violacea*	25	0,01	2 500 000
3. *Dematium nigrum*	20	0,02	1 000 000
		Biotine	
4. *Nematospora gossypii* . . .	9,8	0,01	980 000
4a. *Nematospora gossypii* . . .	11,0	0,01	1 100 000
5. *Eremothecium Ashbyii* . . .	2,0	0,001	2 000 000
Espèce	**Poids culture mgr.**	**Vitamine synthétisée γ**	**Coefficient**
Espèces auxo-autotrophes.		Biotine.	
6. *Phycomyces blakesleeanus* .	95 mgr.	0,28786	330 022
6a. id.	95 mgr.	0,065	1 461 538
6b. id.	74 mgr.	0,190	389 474
6c. id.	74 mgr.	0,029	2 551 724
		Riboflavine	
7. *Eremothecium Ashbyii* . . .	0,3	375	0,8
7a. id.	7,4	175	42,3

Si nous comparons les coefficients pour la biotine, chez les espèces auxo-autotrophes et auxo-hétérotrophes, nous constatons que les chiffres sont du même ordre de grandeur, à la condition de ne tenir compte que de la biotine synthétisée et *retenue* dans le thalle de *Phycomyces*, et en négligeant celle diffusée dans le milieu. Nous avons dit plus haut les raisons pour lesquelles la comparaison des deux coefficients ne devait être faite qu'avec prudence, et dans des conditions bien déterminées. Le but de ce tableau comparatif est avant tout de mettre en valeur la position exceptionnelle d'*Eremothecium Ashbyii* au sujet de la biosynthèse de la riboflavine. Le tableau 12 nous indique pour les diverses peptones les coefficients obtenus. Nous constatons qu'ils ne dépassent pas 42,3 et qu'ils peuvent être inférieurs à 1: dans ce cas le microorganisme synthétise un poids de vitamine dépassant celui de la matière vivante siège de la biosynthèse. A première vue, ce phénomène apparaît comme une véritable

monstruosité physiologique. Pour parvenir à la justifier, il faut admettre que la substance ne fonctionne plus comme vitamine, mais comme substance de réserve, ou comme produit d'élimination.

Remarquons encore que la flavine se produit chez *Eromethecium* dans des conditions particulières, non pas en anaérobiose comme c'est le cas pour la majorité des bactéries étudiées, mais en aérobiose, partielle tout au moins. Ce fait qui a déjà été mis en évidence par Mlle *Raffy*[1]), confère à la flavinogenèse d'*Eremothecium* un intérêt particulier. Il sera étudié dans un autre mémoire, le présent travail n'ayant pour but que d'établir la constellation de facteurs vitaminiques nécessaires au développement du champignon.

Conclusions.

1. *Eremothecium Ashbyii* peut être cultivé sur divers milieux naturels contenant des extraits végétaux ou animaux. Les milieux à base de peptone sont modérément actifs en ce qui concerne le développement, mais très favorables à la production de flavine.

2. Une peptone traitée par la norite est inactive. L'aneurine, la biotine et le méso-inositol employés seuls sont sans action, mais ajoutés au filtrat de peptone traitée, déterminent la croissance du microorganisme. Le filtrat de peptone agit quantitativement. Il en est de même pour la biotine, au cours d'une expérience de durée limitée. L'activité des peptones, variable selon la nature et l'origine de ces dernières, peut donc s'expliquer en partie par leur teneur en biotine et en aneurine, et par leur teneur en substances non encore déterminées, se retrouvant dans le filtrat et manifestant un synergisme d'action avec les vitamines requises. Il est peu probable qu'en présence de peptone, le champignon devienne auxo-autotrophe.

3. L'auxo-hétérotrophie d'*Eremothecium Ashbyii* est analogue à celle d'*Ashbya gossypii*: la biotine est un facteur de croissance essentiel, sans lequel aucun développement ne se produit, et suffisant seul à assurer la croissance. L'aneurine et le méso-inositol sont des facteurs de croissance complémentaires, amplifiant l'action de la biotine. L'hétérotrophie d'*Eremothecium* est cependant plus marquée que celle d'*Ashbya* par le fait que les substances du filtrat de peptone sont nécessaires.

4. Le champignon est le siège d'une flavinogenèse intense qui se marque sur divers milieux naturels, mais particulièrement en présence de peptones. Il n'y a pas de corrélation absolue entre la flavinogenèse, la production de matière sèche et la teneur des peptones en biotine. Il existe des conditions spécifiques de la flavinogenèse.

5. Le fait que la constellation de facteurs de croissance pour *Eremothecium Ashbyii* est analogue à celle d'*Ashbya gossypii*, mais

[1]) Mlle *A. Raffy*, C. r. **209**, 900 (1939).

plus complexe est une nouvelle preuve à l'appui du principe de l'indépendance systématique et de la polytopie de l'auxo-hétérotrophie. La complexité des pertes de pouvoir de synthèse est indépendante de la position systématique des organismes: dans un même genre, des espèces très voisines peuvent exprimer des besoins différents.

Nous exprimons notre reconnaissance aux Etablissements *F. Hoffmann-La Roche*, et particulièrement au Dr. *M. Guggenheim* pour les vitamines qu'il nous a fait aimablement parvenir. Nous remercions Mlle *M. Guilloud*, laborantine, pour sa collaboration. Nous sommes redevable de la lampe Hanau utilisée pour ces recherches à la *Fondation pour l'encouragement aux recherches scientifiques de l'Université de Berne.*

Institut et jardin botaniques de l'Université de Berne.

---

119. Über eine Eichsubstanz für spektrographische Absorptionsmessungen [1])

von **H. v. Halban** und **K. Wieland.**

(20. V. 44.)

Es sind in Zeitschriften und Monographien verschiedene Methoden und Anordnungen zur spektrographischen Ermittlung der Lichtabsorption beschrieben worden. Letztere können zum Teil fertig bezogen werden. Tatsächlich hat sich in den dreissig Jahren, seit *V. Henri*[2]) die erste praktisch brauchbare Methode der Absorptionsspektrographie beschrieben hat, die Anwendung der Absorptionsspektrographie unter den Chemikern ausserordentlich verbreitet, und heute verfügt wohl die Mehrzahl der chemischen Institute über einen Spektrographen. Es gibt aber unter den physikalischen Konstanten, die bei chemischen Untersuchungen bestimmt werden, kaum eine, bei deren Ermittlung gelegentlich mit so ungenügender Kritik vorgegangen wird und bei der die Genauigkeit und Richtigkeit[3]) der Ergebnisse von den betreffenden Autoren so falsch eingeschätzt wird, wie dies bei der Bestimmung der Lichtabsorption der Fall ist. Es ist vorgekommen, dass ein Autor als Fehlergrenze seiner spektrographisch ermittelten Werte des molaren Extinktionskoeffizienten 5% angab, während die Fehler tatsächlich um mehr als zwei Zehnerpotenzen grösser waren.

---

[1]) Eine kurze vorläufige Veröffentlichung darüber findet sich in Helv. phys. acta **15**, 525 (1942).

[2]) *V. Henri*, Phys. Z. **14**, 516 (1913).

[3]) Gerade die Unterscheidung zwischen den Begriffen Genauigkeit und Richtigkeit spielt auf diesem Gebiet eine besondere Rolle und wird häufig ausser acht gelassen. Es sei darauf hingewiesen, dass man mit der photoelektrischen Zweizellen-Apparatur auf Bruchteile von Promillen genau messen kann, dass aber die Richtigkeit der absoluten Werte der so erhaltenen Extinktionskoeffizienten je nach der Lichtquelle um mehrere Prozente unsicher sein kann. Vgl. *G. Kortüm* und *H. v. Halban*, Z. physikal. Ch. [A] **170**, 212 (1934).

Auch die Genauigkeit der okularen Spektralphotometrie wird gelegentlich stark überschätzt. Immerhin werden bei okularen Messungen mit den käuflichen Spektralphotometern auch demjenigen, der noch über keine grosse Erfahrung verfügt, bei sorgfältiger Arbeit kaum Messfehler unterlaufen, die die kleinsten erreichbaren grössenordnungsmässig so übersteigen, wie das bei der Spektrographie vorkommt[1]). Bei der spektrographischen Methode ist das anders. Bei dieser besteht der einzige Weg, sich davon zu überzeugen, dass eine fertig gekaufte oder selbst gebaute Anordnung richtige Werte liefert, darin, die Apparatur mittels einer Lösung zu prüfen, deren Absorptionsspektrum genügend zuverlässig bekannt ist. Eine solche „Eichsubstanz" soll eine Anzahl von noch zu erörternden Bedingungen erfüllen. Für das ultraviolette Gebiet entsprechen wässerige Lösungen von Kaliumchromat und Pikrat[2]) diesen Anforderungen. Dagegen stand bisher für das sichtbare Gebiet keine solche Standardsubstanz zur Verfügung. Eine solche sollte folgenden Anforderungen entsprechen.

1. Eine, wenn möglich wässerige, Lösung der Substanz soll in dem in Betracht kommenden Spektralgebiet ein geeignetes Absorptionsspektrum, d. h. breite Maxima und Minima mit genügend grossen Werten des Extinktionskoeffizienten aufweisen. An zu flachen Teilen des Absorptionsspektrums wird die Ermittlung der Stellen gleicher Schwärzung auf der photographischen Platte unsicher, und man ist überdies genötigt, mit sehr kleinen Änderungen der Schichtdicke zu arbeiten, um überhaupt Stellen gleicher Schwärzung zu erhalten. Andererseits entsprechen bei zu grosser Steilheit der Kurven kleinen Fehlern in der Wellenlänge bei der Ermittlung der Stellen gleicher Schwärzung sehr grosse Fehler im Extinktionskoeffizienten. Auch reicht für Spektren mit sehr schmalen Banden das Auflösungsvermögen einfacher Prismen-Spektrographen unter Umständen nicht mehr aus.

Genügend grosse Werte des Extinktionskoeffizienten sind notwendig, damit so verdünnte Lösungen verwendet werden können, dass die Gültigkeit des *Beer*'schen Gesetzes erfüllt ist.

2. Der Einfluss der Temperatur auf das Absorptionsspektrum sollte so gering sein, dass er innerhalb der in Laboratoriumsräumen vorkommenden Temperaturschwankungen die Fehlergrenze der spektrographischen Methode nicht übersteigt. Andernfalls ist eine Einrichtung zur Konstanthaltung der Temperatur in den *Baly*-Rohren bzw. -Küvetten notwendig, über die die meisten chemischen Laboratorien nicht verfügen.

3. Die Substanz muss in chemisch reinem Zustande im Handel erhältlich oder aus einem im Handel erhältlichen Ausgangsstoff leicht rein darstellbar sein.

4. Die Substanz soll ferner im reinen ungelösten Zustand praktisch unbegrenzt haltbar, d. h. weder licht- noch wärmeempfindlich noch hygroskopisch sein. Die Lösung soll sich, wenn möglich, wochenlang halten.

Sieht man die in den Tabellen von *Landolt-Börnstein* zusammengestellten Absorptionsspektren (soweit sie das sichtbare Spektral-

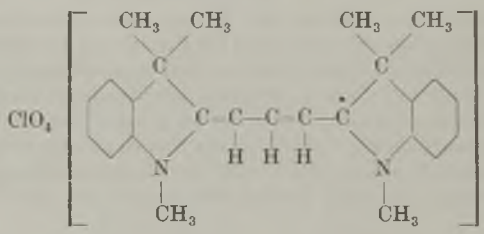
---

[1]) In bezug auf das ganze Gebiet sei auf die Monographie von *G. Kortüm*, Kolorimetrie und Spektralphotometrie, Berlin 1942, verwiesen.

[2]) Siehe *H. v. Halban, G. Kortüm* und *B. Szigeti*, Z. El. Ch. **42**, 628 (1936), sowie *H. v. Halban* und *M. Litmanowitsch*, Helv. **24**, 44 (1940).

gebiet betreffen) unter Berücksichtigung der unter 1) genannten Anforderungen durch, so wird man nur wenige geeignete Kurvenformen finden. Und die Substanzen, deren Kurvenform geeignet erscheint (z. B. Hexaquochromion, Dichlorotetraaquochromion, Chlorochromsulfat, Kaliumkobalt(III)-oxalat, Methylorange, Kaliumchrom(III)-tartrat), scheiden ausnahmslos aus, weil sie die eine oder andere der oben unter 3) und 4) genannten Bedingungen nicht erfüllen.

Für das sichtbare Spektralgebiet steht nun noch die grosse Klasse der organischen Farbstoffe zur Verfügung, von denen aber nur in wenigen Fällen quantitative Absorptionsmessungen vorliegen und schon aus diesem Grunde unbekannt ist, ob sie die übrigen oben besprochenen Bedingungen erfüllen. (Die Haltbarkeit der Lösung z. B. kann bei so verdünnten Lösungen mit genügender Genauigkeit nur durch Absorptionsmessung festgestellt werden.) Auf Rat von Herrn Prof. *R. Wizinger* haben wir Astraphloxinperchlorat untersucht und gefunden, dass dieser Stoff allen Anforderungen in befriedigender Weise genügt[1]). Dem Astraphloxinperchlorat kommt die Bruttoformel $C_{25}H_{29}N_2ClO_4$ (Molekulargewicht 456,7) bzw. die Konstitutionsformel



zu.

Der Farbstoff lässt sich sehr einfach aus dem im Handel erhältlichen Astraphloxin (z. B. Astraphloxin FF von der *Gesellschaft für chemische Industrie* in Basel) folgendermassen darstellen. Aus einer ca. 2-proz. wässerigen Lösung des käuflichen Farbstoffes wird durch Zugabe von Perchlorsäure im Überschuss das Perchlorat gefällt. Der rotviolette Niederschlag wird abfiltriert, aus heissem Wasser umkrystallisiert und im Exsikkator getrocknet. Wegen der geringen Wasserlöslichkeit des Perchlorats erhält man beim Auskrystallisieren aus einem Liter heisser wässeriger Lösung nur 1—2 g Substanz, was indessen für die Herstellung einer grossen Zahl von Lösungen für Eichzwecke genügt (siehe unten).

Das in der Figur wiedergegebene Absorptionsspektrum der wässerigen Lösung des Astraphloxinperchlorats hat nicht nur im Sichtbaren, sondern auch im Ultraviolett eine geeignete Gestalt, und die

---

[1]) Das darf vielleicht als ein glücklicher Zufall angesehen werden, da auf Grund von Untersuchungen von *G. Scheibe* (siehe z. B. Z. angew. Chem. **52**, 631 (1930) oder Z. El. Ch. **49**, 372 und 383 (1943)) zahlreiche Methinfarbstoffe, zu denen ja auch Astraphloxin gehört, selbst in relativ verdünnter wässeriger Lösung starke Neigung zu Assoziation zeigen (wie z. B. Pseudo-isocyanin), was sich in einer Beeinflussung des Absorptionsspektrums durch Änderung der Konzentration bezw. der Temperatur äussert.

absoluten Werte der molaren Extinktionskoeffizienten ε[1]) sind im grössten Teil des Spektrums sehr gross.

Die in verschlossener Glasflasche aufbewahrte feste Substanz hält sich, soweit unsere Erfahrung reicht, beliebig lange unverändert. Es wurde ausserdem festgestellt, dass die feste Substanz, nachdem sie während zweier Tage offen der Laboratoriumsluft ausgesetzt gewesen war, innerhalb einer Genauigkeit von 0,1‰ keine Gewichtsänderung aufwies. Das Absorptionsspektrum einer wässerigen Lösung, die während zweier Tage dem vollen Tageslicht ausgesetzt war, sowie dasjenige einer wässerigen Lösung, die während zweier Monate im Dunkeln gestanden hatte, zeigte keinerlei Veränderung.

Unter Benützung eines von unserem Institutsmechaniker, Hrn. *Gerber*, konstruierten, mit Quarzfenstern versehenen Thermostaten, in welchen ein *Baly*-Rohr eingebaut und von aussen eingestellt werden konnte, haben wir ferner Absorptionsaufnahmen innerhalb des in Laboratoriumsräumen vorkommenden Temperaturintervalls 13—30° C gemacht. Dabei zeigten sich keine Veränderungen im Extinktionskoeffizienten, weder im sichtbaren noch im ultravioletten Gebiet.

Innerhalb des verwendeten Konzentrationsbereiches von 10^{-6}—10^{-4}-molar konnte innerhalb der Fehlergrenze der spektrographischen Methode, bzw. der okularen Messungen mit dem Spektralphotometer nach *König-Martens* (siehe unten), keine Abweichung vom *Beer*'schen Gesetz festgestellt werden.

Die sehr geringe Löslichkeit der Substanz hat einerseits den Vorteil, dass man sie aus dem Ausgangsmaterial sofort rein erhält, andererseits ergeben sich deswegen Schwierigkeiten bei der Herstellung der zu verwendenden Lösungen.

Selbst bei der Herstellung von Lösungen, deren Konzentration erheblich unter der Sättigungskonzentration bei Zimmertemperatur (etwa 50 mg pro Liter, bzw. etwa 1×10^{-4}-molar) liegt, muss man die Substanz in einer Achat-Reibschale fein zerreiben und die Lösung etwa 1 Stunde kochen. Wo ein gutes Spektralphotometer zur Verfügung steht, empfiehlt es sich, jede frisch hergestellte Lösung rasch okular auf ihre Richtigkeit zu überprüfen, am besten mit der grünen Quecksilberlinie 5461 ÅE, zu welcher der Wert $\log \varepsilon = 5{,}045$ gehört.

Es empfiehlt sich deshalb, die Stammlösung in keiner höheren Konzentration als etwa 20 mg pro Liter (entsprechend $4{,}4 \times 10^{-5}$-molar) herzustellen. Da man andererseits nicht mit kleineren Extinktionen als 0,3 arbeiten soll, kommt so bei einer maximalen Schichtdicke von 10 cm, wie sie die gewöhnlichen *Baly*-Rohre bieten, nur der Teil des Absorptionsspektrums in Betracht, innerhalb dessen $\log \varepsilon > 3{,}8$ ist. Aber dies genügt für Eichzwecke vollständig, da der Wert von $\log \varepsilon$ in den Bereichen 5650—4500 ÅE und 2925—2650 ÅE über 3,8 liegt. Für das Gebiet 4500—2500 ist Pikrat und für 4000—2150 Chromat als Eichsubstanz sehr geeignet. Im übrigen wird es im allgemeinen genügen, eine spektrographische Anordnung an einem Teil des Spektrums zu eichen.

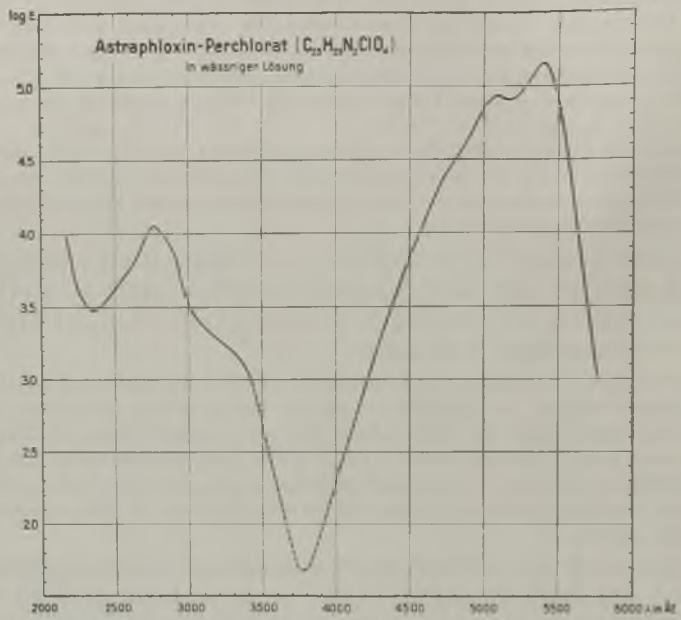
Baly-Rohre bzw. -Küvetten, die mit wässerigen Lösungen von Astraphloxin in Berührung kommen, müssen, bevor sie wieder für andere Substanzen benützt werden,

---

[1]) Als molarer Extinktionskoeffizient ε wird der Ausdruck $\varepsilon = \frac{1}{cd} \log \frac{I_0}{I}$ bezeichnet. Hier bedeutet c die Konzentration in Mol/Liter, d die Schichtdicke in cm, I_0 bzw. I die Intensität des ein- bzw. austretenden Lichtes. Der Ausdruck $\log \frac{I_0}{I}$ wird als Extinktion bezeichnet.

sorgfältig gereinigt werden, weil Spuren von Astraphloxin von der Oberfläche der Gefässe adsorbiert werden, und wenn sie später wieder in Lösung gehen, infolge der grossen Werte des Extinktionskoeffizienten, Fehler verursachen können. Am besten wäscht man die Gefässe mit Aceton[1]).

Wir glauben nach dem Gesagten, dass Astraphloxinperchlorat als Standardsubstanz für Absorptionsmessungen sowohl im sichtbaren als auch im ultravioletten Spektralbereich empfohlen werden kann. Die in



der Figur wiedergegebene Absorptionskurve wurde auf Grund zahlreicher, von mehreren Angehörigen des Instituts ausgeführten Messungen konstruiert. Hierbei wurde durchwegs die in unserem Institut übliche Methode der zentrisch rotierenden Sektoren verwendet[2]). Im sichtbaren Spektralgebiet wurde ein *Zeiss*-Prismenspektrograph mit Glasoptik der Firma *Halle* (Berlin), im Ultraviolett oberhalb 2400 ÅE ein *Hilger*'scher Quarzspektrograph mittlerer Grösse, unterhalb 2400—2150 ÅE ein kleiner Quarzspektrograph der

[1]) Eine ähnliche Erfahrung wurde s. Z. mit Pikrinsäure gemacht. Vgl. *H. v. Halban* und *E. Zimpelmann*, Z. physikal. Ch. **117**, 468 (1925).

[2]) Bezüglich der von uns verwendeten Methode vgl. *H. v. Halban, G. Kortüm* und *B. Szigeti*, Z. El. Ch. **42**, 628 (1936); *H. v. Halban* und *M. Litmanowitsch*, Helv. **24**, 44 (1940). Es sei noch in Ergänzung zu dieser Veröffentlichung erwähnt, dass die Sektoren später auch photoelektrisch geeicht wurden. Auch nach dieser Eichung übersteigen die Abweichungen von den Sollwerten in keinem Fall die Fehlergrenze der spektrographischen Methode. Bezüglich der Lichtquelle für das U.V. vgl. *F. Almasy* und *G. Kortüm*, Z. El. Ch. **42**, 607 (1936); *F. Almasy*, Helv. phys. acta **10**, 471 (1937).

Tabelle.

log ε-Werte von Astraphloxinperchlorat in wässeriger Lösung.

λ (ÅE)	ν (cm^{-1})	log ε	λ (ÅE)	ν (cm^{-1})	log ε
5750	17385	3,075	4150	24090	2,775
5700	17540	3,470	4100	24380	2,615
5650	17690	3,840	4050	24680	2,455
5600	17850	4,235	4000	24990	2,290
5550	18015	4,595	3950	25310	2,105
5500	18180	4,900	3900	25630	1,945
5475	18260	5,000	3850	25970	1,790
Hg 5461	18305	5,045	3800	26310	1,690
5450	18345	5,085	Min. 3775	26480	1,675
5425	18430	5,140	3750	26660	1,690
Max. 5400	18515	5,160	3700	27020	1,855
5375	18600	5,145	3650	27390	2,050
5350	18685	5,110	3600	27770	2,270
5325	18775	5,070	3550	28160	2,475
5300	18860	5,030	3500	28560	2,705
5275	18950	4,995	3450	28980	2,925
5250	19040	4,960	3425	29190	3,010
5225	19135	4,935	3400	29400	3,065
5200	19225	4,915	3350	29840	3,145
Min. 5175	19320	4,910	3300	30290	3,200
5150	19410	4,919	3250	30760	3,240
5125	19505	4,925	3200	31240	3,280
Max. 5100	19600	4,940	3150	31740	3,325
5075	19700	4,935	3100	32250	3,375
5050	19795	4,915	3050	32780	3,430
5025	19895	4,890	3000	33320	3,525
5000	19995	4,850	2975	33600	3,595
4975	20095	4,805	2950	33890	3,690
4950	20195	4,755	2925	34180	3,810
4925	20300	4,700	2900	34470	3,875
4900	20400	4,655	2850	35080	3,965
4875	20505	4,605	2800	35700	4,035
4850	20615	4,565	Max. 2775	36030	4,055
4825	20720	4,525	2750	36350	4,040
4800	20830	4,490	2700	37030	3,945
4775	20940	4,450	2650	37720	3,825
4750	21050	4,415	2600	38450	3,750
4700	21270	4,315	2550	39200	3,685
4650	21500	4,200	2500	39990	3,620
4600	21730	4,075	2450	40800	3,550
4550	21970	3,950	2400	41650	3,500
4500	22220	3,825	Min. 2360	42360	3,470
4450	22470	3,695	2325	43000	3,490
4400	22720	3,550	2300	43460	3,520
4350	22980	3,410	2250	44430	3,620
4300	23250	3,255	2225	44930	3,705
4250	23520	3,100	2200	45440	3,845
4200	23800	2,940	2175	45960	3,960

Firma *Hilger* (London) benützt. Die ausgemittelten, der Kurve entnommenen log ε-Werte finden sich für den Spektralbereich 5750 bis 2150 ÅE in der Tabelle zusammengestellt. Besonders sorgfältig wurde das Hauptmaximum der Kurve (oberhalb log $\varepsilon = 4$), das für Eichzwecke im sichtbaren Gebiet in erster Linie in Frage kommt, vermessen. Hier dürfte der Fehler im log $\varepsilon \pm 0{,}007$ nicht übersteigen (was einer Unsicherheit im Wert von ε von $\pm$ 1,5 % entspricht). Andererseits konnte der Bereich, wo log ε unter den Wert 3 sinkt, trotz Verwendung einer Schichtdicke von 30 cm nur mit geringer Genauigkeit gemessen werden, da dort zum Teil erheblich kleinere Extinktionen als 0,3 verwendet werden mussten. Dieser Teil der Kurve ist deshalb punktiert gezeichnet.

Wir beabsichtigen, die Herstellung von Astraphloxinperchlorat als Eichsubstanz einer chemischen Firma zu empfehlen. Inzwischen sind wir jedoch gerne bereit, Interessenten kleine Proben der fertigen Substanz abzugeben.

Zürich, Physikalisch-Chemisches Institut der Universität.

---

120. A propos de la microanalyse des silicates. Analyse d'une porcelaine de Chine du 18e siècle

par **Paul-E. Wenger** et **Z. Besso.**

(27 V 44)

Préambule.

En guise d'introduction, nous nous permettons de donner quelques renseignements d'ordre général, extraits d'une conférence de M. *B. Vuilleumier*. Cet érudit spécialisé en art chinois a bien voulu nous confier l'analyse de deux pièces de sa collection de porcelaines de Chine.

Malgré tous les efforts antérieurs, ce n'est qu'au 18e siècle et plus exactement de 1728—1749 que l'on est arrivé en Chine à créer des objets ou des œuvres d'art en porcelaine d'une forme parfaite, d'une légèreté exceptionnelle, d'une transparence et d'un éclat particuliers.

La Dynastie Mandchoue qui régnait en Chine à partir de 1666 et dont les divers représentants ont favorisé la culture et les arts, avait créé aux abords du Palais impérial de Pékin des manufactures dont les ouvriers étaient particulièrement habiles; des artistes éminents furent choisis d'autre part pour l'exécution de certains objets d'art. Aux environs de 1728, on découvrit une matière nouvelle qui entra dans la pâte de la céramique, sorte de craie agglutinée, com-

posée de grains excessivement fins et très légers et comme les spécialistes avaient pour eux un procédé particulier, l'ensemble de ces conditions permit la réalisation de véritables chefs-d'œuvre.

A partir de 1749, le secret des fabriques impériales fut perdu et l'on constata sitôt après une différence dans la fabrication des porcelaines chinoises.

Pendant la période héroïque, la décoration de ces objets magnifiques se faisait dans le « Pavillon de la Lune Antique » à Pékin.

Lors de la révolution, les ateliers, les manufactures impériales furent incendiés et les quelques objets qui restaient de l'époque citée se sont dispersés dans le monde.

M. *B. Vuilleumier*, collectionneur averti, a réussi toutefois à rassembler 19 vases d'une beauté exceptionnelle, étant tous, semble-t-il, de même constitution chimique et provenant de l'époque en question si l'on s'en rapporte aux inscriptions, aux marques de fabrique (Ku-yueh-hsüan) et même aux sceaux de l'Empereur.

Fig. 1.

Fig. 2.

M. *Vuilleumier* désirait cependant comparer la constitution de ces vases avec celles de la porcelaine de Chine telle qu'elle est décrite dans les documents consultés. Il nous demanda, en conséquence, de faire l'analyse de ces vases, mais sans pour cela les détériorer.

Seules les méthodes microchimiques pouvaient arriver au but désiré; nous eûmes ainsi l'occasion d'appliquer à ces porcelaines la microanalyse des silicates. Considérant cette application comme intéressante et nouvelle, nous nous permettons d'indiquer le mode opératoire suivi, mode opératoire qui n'est pas original, certes, mais que nous avons adapté au cas particulier qui nous était soumis.

La méthode qui nous a servi de base est citée dans le traité de *Hecht-Donau*[1]), à la page 326. On trouve également dans ce volume une bibliographie étendue sur ce sujet.

[1]) Anorganische Mikrogewichtsanalyse von *Friederich Hecht* und *Julius Donau*, 350 pages. Springer, Wien 1940.

Mode opératoire adapté à la détermination des constituants de la porcelaine de Chine.

On part de 3 prises séparées, l'une servant au dosage de la silice en effectuant une désagrégation au carbonate de sodium; une deuxième permettant de déterminer les oxydes de fer, d'aluminium, de calcium et de magnésium après avoir chassé la silice au moyen de l'acide fluorhydrique. Enfin la dernière servant au dosage des alcalis; c'est-à-dire des métaux alcalins, sodium et potassium à l'état d'oxydes.

1. *Dosage de la silice* (SiO_2).

On pèse dans un petit tube 10 mgr. de substance soigneusement pulvérisée; on verse cette substance au fond d'un petit creuset de platine; on recouvre avec 0,15 gr. de carbonate de sodium calciné. On chauffe au four électrique après avoir placé le couvercle sur le creuset pendant 1 heure au moins (950—1000°). Après ce laps de temps, la fusion doit être complète. On laisse refroidir dans le four, on verse dans le creuset 2—3 cm³ d'eau distillée, on couvre avec un verre de montre percé, muni d'un petit tube terminé par un capillaire. On fait couler doucement goutte à goutte de l'acide chlorhydrique dilué à travers ce capillaire; on évite ainsi un dégagement d'anhydride carbonique trop violent. Après cessation de ce dégagement, on chauffe pendant ½ heure au bain-marie (le creuset toujours couvert) et on rince bien le verre de montre; on évapore à sec, on ajoute 1 cm³ d'acide chlorhydrique concentré; on évapore à nouveau, pour ajouter une seconde fois de l'acide chlorhydrique concentré que l'on chasse par évaporation.

Le résidu est traité au bain-marie avec 4 à 5 cm³ d'acide chlorhydrique 1 : 3. Le liquide résultant est aspiré avant refroidissement à travers une baguette filtrante en platine (la liqueur est ensuite recueillie dans un autre creuset de platine pour servir au dosage de la silice soluble). La silice insolubilisée est lavée 3 fois tout d'abord avec ½ cm³ d'acide chlorhydrique 1 : 3, puis avec de l'eau chaude par petites portions. On sèche au bain-marie, puis à l'étuve; on évapore à sec avec 3 gouttes d'acide sulfurique concentré, dans un bloc d'aluminium (ceci pour transformer les sels éventuellement présents en sulfates, qui supportent mieux la température de calcination); on calcine pendant 3 heures au four électrique (950—1000°); on refroidit, on pèse à la 25e minute après refroidissement, en laissant le creuset d'abord dans le dessicateur, puis au moins 10 minutes à l'intérieur de la balance. Après la première pesée, il est bon de recalciner pendant une demi-heure et de répéter les opérations afin de contrôler le premier poids obtenu. Cependant, d'après nos expériences, si l'on calcine pendant 3 heures on obtient directement le poids constant à la première pesée. On a donc le poids du creuset, plus celui de la baguette filtrante, plus la silice insoluble.

On traite la silice avec l'acide fluorhydrique; le fluorure de silicium formé est évaporé et par différence des deux pesées (avant et après) on obtient donc le poids de la silice pure. Pour ce faire, en emploie 4 à 5 cm³ d'acide fluorhydrique, un demi-cm³ d'acide nitrique que l'on introduit dans le creuset; puis on chauffe au bain-marie tout d'abord avec 0,1 cm³ d'acide sulfurique et 1 cm³ d'acide fluorhydrique; on calcine au four à 950° jusqu'à poids constant.

Dosage de la silice soluble: On recueille le filtrat ainsi que les eaux de lavage de la silice insoluble; on les évapore, on reprend par l'acide chlorhydrique concentré, on filtre et on calcine exactement comme déjà fait pour la silice insoluble. Comme il s'agit dans ce cas de très petites quantités de silice, une seule évaporation avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique suffit; la durée de calcination peut aussi être réduite de 3 heures à une demi-heure.

La détermination de silice (insoluble et soluble) est d'une durée assez longue. Mais on peut, en même temps, commencer le dosage des autres éléments; c'est ainsi qu'on arrive (avec une baguette filtrante et 3 creusets en platine) à faire l'analyse complète d'une porcelaine en une semaine.

2. *Dosage des oxydes* (Al_2O_3, Fe_2O_3, CaO, MgO).

Pour cette deuxième prise il faut tout d'abord éliminer la silice. Une prise d'environ 20 mgr. est pesée avec précision, puis versée dans un creuset de platine. On humecte avec un demi-cm³ d'eau plus 2 cm³ d'acide fluorhydrique, on chauffe une demi-heure au bain-marie; on laisse refroidir, on ajoute 0,2 cm³ d'acide sulfurique concentré, puis on chauffe au bain-marie jusqu'à constance de volume; on ajoute encore 1 cm³ d'acide fluorhydrique; on replace sur le bain-marie jusqu'à disparition de l'odeur de cet acide. Ensuite on chauffe doucement sur le bloc d'aluminium pour faire partir l'acide sulfurique. Le résidu doit être repris par 1,5 cm³ d'eau distillée, et reporté sur le bain-marie. Si le résidu ne se dissout pas dans l'eau (et c'est presque toujours le cas), il faut ajouter une goutte d'acide chlorhydrique et chauffer au bain-marie jusqu'à dissolution.

Précipitation des ions $Al^{\cdots}$ et $Fe^{\cdots}$.

On transvase cette liqueur en aspirant par une baguette filtrante dans un creuset de porcelaine (taré avec la baguette filtrante); on ajoute à froid, goutte à goutte, de l'ammoniaque (1 : 3) jusqu'à début de précipitation. Avec une goutte d'acide chlorhydrique dilué on redissout ce trouble pour avoir le milieu indiqué pour la précipitation de l'$Al^{\cdots}$ et du $Fe^{\cdots}$ par l'*hydroxy-8-quinoléine.*

Préparation du réactif pour la précipitation du $Fe^{\cdots}$ et de l'$Al^{\cdots}$.

On dissout 4 gr. d'hydroxy-8-quinoléine (= oxine) dans 8 gr. d'acide acétique glacial en chauffant doucement. On ajoute 88 gr. d'eau bouillante, puis on porte au bain-marie jusqu'à ce qu'on obtienne un liquide homogène jaune. Pour la précipitation du $Fe^{\cdots}$ et de l'$Al^{\cdots}$, il faut prendre 2 à 3 fois la quantité théorique de ce réactif. C'est ainsi qu'il faut compter 1,5 à 2,0 cm³ de ce réactif pour 10 mgr. de substance.

Ayant une solution claire, c'est-à-dire faiblement chlorhydrique de 3 à 4 cm³, on ajoute la quantité nécessaire de réactif en agitant doucement; on chauffe au bain-marie (le creuset couvert!) pendant 5 minutes. Ensuite on ajoute 1 cm³ d'acétate d'ammonium à 50% (ou un petit cristal de 0,01 gr.) et 5 gouttes d'ammoniaque à 10%.

On laisse encore 10 minutes sur le bain-marie, on ajoute quelques gouttes d'ammoniaque; dépôt 5 minutes; puis on filtre à travers une baguette en porcelaine qui a été tarée avec le creuset; on lave à l'eau chaude 5 à 6 fois, par petites portions, en remuant le précipité qui est volumineux et retient facilement des substances étrangères.

Les hydroxyquinolates d'aluminium et de fer doivent être séchés à l'étuve au moins pendant 1 heure à 120°. Malgré le séchage très soigné il est excessivement difficile d'obtenir un poids constant, le précipité étant assez volumineux. Nous avons préféré calciner ce précipité sec pour le transformer en oxyde d'aluminium et oxyde de fer. Au début, on chauffe avec une toute petite flamme qu'on augmente progressivement jusqu'au maximum (bec *Teclu*). On continue à calciner à cette température pendant une demi-heure. Il est entendu qu'après la calcination, le creuset de porcelaine doit se refroidir très lentement avant d'être pesé. On le pose d'abord 5 minutes sur un bloc en nickel, puis 5 minutes sur un autre bloc, 10 minutes dans le dessicateur et enfin 10 minutes dans la balance. Le creuset a été traité exactement de la même manière pour établir sa tare.

Dosage du $Ca^{\cdot\cdot}$.

Après l'élimination du $Fe^{\cdots}$ et de l'$Al^{\cdots}$ (éventuellement du titane) par l'hydroxyquinoléine, on évapore la liqueur à sec dans une capsule en verre „pyrex". Pour détruire l'excès d'hydroxyquinolate ainsi que les sels ammoniacaux, on traite le résidu avec 2 cm³ d'eau régale. La réaction est très vive au début, il faut couvrir avec un verre de montre et chauffer très doucement au bain-marie. Lorsque le dégagement de gaz est complètement terminé, on rince bien le verre de montre et on évapore à sec. Pour détruire les derniers restes de substance organique il vaut mieux transvaser dans un creuset de platine et calciner doucement pour obtenir un résidu blanc. On reprend celui-ci par quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué, on filtre et on transvase dans un petit becher

taré, d'après *Emich*. La liqueur légèrement chlorhydrique ne doit pas dépasser 2 à 3 cm³. On chauffe à l'ébullition; on ajoute 0,5 cm³ d'acide oxalique à 3%, puis en agitant, goutte à goutte, de l'ammoniaque à 10% jusqu'à début d'opalescence. On introduit 1 goutte de rouge de méthyle, la solution doit être rouge (si non, ajouter 1 goutte d'acide chlorhydrique). On chauffe, la solution doit être rouge et transparente. Pour empêcher la précipitation du $Mg^{\cdot\cdot}$, on dilue un peu (au maximum: deux fois le volume primitif); on verse quelques gouttes d'ammoniaque jusqu'au jaune clair. On laisse déposer le précipité d'oxalate de calcium une à deux heures; on filtre et lave d'abord à l'oxalate d'ammonium très dilué, ensuite à l'eau froide, par petites portions. Garder l'eau de lavage. On sèche à 110° dans l'étuve *Benedetti-Pichler* en aspirant l'air pendant une demi-heure. On pèse à la vingtième minute après avoir refroidi le becher. On obtient l'oxalate de calcium plus eau ($C_2O_4Ca + H_2O$).

Dosage du $Mg^{\cdot\cdot}$.

Le filtrat ainsi que les eaux de lavage, après la séparation du $Ca^{\cdot\cdot}$, doivent être gardés pour le dosage du $Mg^{\cdot\cdot}$. On les évapore à sec, on traite avec 2 cm³ d'eau régale pour détruire l'acide oxalique; pendant ce temps, il faut couvrir la capsule (en verre „pyrex"), car la réaction est vive. Lorsque le dégagement de gaz nitreux est terminé, on rince le verre de montre, on évapore à sec pour chasser l'acide nitrique, puis on chauffe à l'étuve à 200° progressivement pour faire partir l'acide oxalique. On reprend le résidu avec 0,5 cm³ d'acide nitrique et chlorhydrique concentré (eau régale), on évapore encore une fois à sec, on reprend à l'eau plus une goutte d'acide chlorhydrique dilué. On transvase la liqueur dans un becher avec une baguette pesée: son volume ne doit pas dépasser 1 cm³.

Dans la liqueur presque neutre ou faiblement chlorhydrique, on introduit 0,2 cm³ de chlorure d'ammonium à 15% et 0,5 cm³ d'hydrogénophosphate disodique à 10%; on fait bouillir et on alcalinise par l'ammoniaque tout en agitant. On obtient ainsi un beau précipité cristallin de phosphate ammoniaco-magnésien ($Mg \cdot NH_4 \cdot PO_4 \cdot 6\,H_2O$) qu'on laisse déposer une demi-heure; on filtre en aspirant à la baguette, on lave d'abord à l'ammoniaque, puis à l'alcool méthylique par petites portions. On sèche à la température de la chambre, en aspirant doucement l'air jusqu'à ce qu'on obtienne le poids constant; on pèse le phosphate ammoniacomagnésien ($Mg \cdot NH_4 \cdot PO_4 \cdot 6\,H_2O$) (facteur pour l'oxyde de magnésium = 0,1643).

Nous avons fait une série de dosages pour vérifier cette méthode et nous avons obtenu des résultats satisfaisants. Il faut surtout éviter un trop grand volume de liquide avant la précipitation. Si tel est le cas, il est préférable d'évaporer.

3. *Dosage des alcalis.*

Une prise de 10—20 mgr. est introduite dans un creuset de platine. On ajoute 0,2 cm³ d'acide sulfurique concentré et 4 cm³ d'acide fluorhydrique; on chauffe d'abord au bain-marie, puis au bloc d'aluminium jusqu'à l'apparition de vapeurs blanches. On ajoute encore 1 cm³ d'acide fluorhydrique et on évapore à sec. Le résidu est repris par 2 cm³ d'eau bidistillée chaude; on transvase, en filtrant, dans une grande capsule de platine contenant 0,15 gr. d'oxyde de calcium fraîchement préparé et 10 cm³ d'eau bidistillée. On évapore au bain-marie, de façon à concentrer au tiers du volume primitif; on filtre en aspirant le liquide à travers une baguette filtrante. On chauffe le filtrat et on précipite l'excès de $Ca^{\cdot\cdot}$ par le carbonate d'ammonium. On filtre à nouveau et on recueille la liqueur dans une capsule de platine. On évapore à sec et on calcine doucement pour chasser les sels ammoniacaux. On reprend le résidu par quelques gouttes d'eau bidistillée et 1 goutte d'acide chlorhydrique; on précipite le reste du $Ca^{\cdot\cdot}$ par l'oxalate d'ammonium. Il faut laisser déposer assez longtemps, car la quantité de $Ca^{\cdot\cdot}$ encore présente est petite et ne précipite pas tout de suite.

Après 2 à 3 heures on filtre en recueillant le filtrat dans un creuset de platine. On évapore et on calcine sur le bloc d'aluminium pour faire partir les sels ammoniacaux.

On reprend le résidu par l'eau bidistillée chaude, on transvase en filtrant dans un creuset de platine taré et préalablement chauffé au four électrique à 750°. On ajoute 2 à 3 gouttes d'acide sulfurique concentré; on évapore au bain-marie, puis au bloc d'aluminium. On calcine 1 heure à 700—750°. On pèse la somme des sulfates.

On dissout ensuite avec 2 à 3 cm³ d'eau bidistillée et on précipite le Na' au moyen de la méthode au « triple acétate ». On laisse déposer 16 à 24 heures dans l'obscurité, on filtre sur un tube filtrant d'après *Pregl*; on lave d'abord avec le réactif, ensuite à l'alcool absolu jusqu'à ce que tout le précipité se trouve sur le tube filtrant; on sèche à 110° et pèse le précipité: $NaMg(UO_2)_3 \cdot (C_2H_3O_2)_9 \cdot 6\,H_2O$.

Facteur pour $Na_2O = 0{,}02071$
$Na' = 0{,}01536$

Microdosage du Na' à l'acétate triple d'après Hecht-Donau.

Préparation du réactif.

On fait une solution de 3,2 gr. d'acétate d'uranyle, 10 gr. d'acétate de magnésium, 2 cm³ d'acide acétique dilué dans 50 cm³ d'alcool et 30 cm³ d'eau; on chauffe le tout au bain-marie; on refroidit. Après avoir complété le volume à 100 cm³, on laisse déposer 48 heures; on filtre et on garde la solution dans un flacon brun, à l'obscurité. Le réactif, s'il devient vert au bout de quelque temps, est inutilisable; s'il se forme au fond du flacon un petit précipité, cela ne gêne pas; il faut seulement éviter de le prendre en utilisant une pipette.

La quantité nécessaire pour précipiter le Na' est: par 1 mgr. de Na', 12 cm³ de réactif et environ 6 cm³ d'eau. Nous avons obtenu les meilleurs résultats en prenant un peu plus d'eau que la moitié du volume de réactif, par exemple en prenant pour 1 mgr. de Na' 12 cm³ de réactif et 8 cm³ d'eau bidistillée. Dans nos analyses de porcelaine nous avions 0,15 à 0,20 mgr. de Na' pour une prise de 20 mgr. Nous prenions alors (pour avoir un excès suffisant) 4 à 5 cm³ de réactif et 3 cm³ d'eau.

A titre de conclusion, nous donnons les résultats des deux analyses que nous avons effectuées et qui concernent deux vases différents:

	Vase chinois A	Vase chinois B		Vase chinois A	Vase chinois B
SiO_2 . . .	69,42%	69,30%	MgO . . .	0,89%	0,88%
Al_2O_3 . . .	22,84%	21,65%	K_2O . . .	3,25%	3,40%
Fe_2O_3 . . .	0,48%	1,42%	Na_2O . . .	1,91%	1,84%
CaO . . .	1,25%	1,60%	Total	100,04%	100,09%

Si nous comparons les rapports

$$\frac{SiO_2}{R_2O_3}\left(\frac{\text{silice}}{\text{oxydes de fer et d'aluminium}}\right)$$

nous trouvons la même valeur pour nos analyses et pour la pâte que l'un des documents de M. *Vuilleumier* attribue à la Manufacture Impériale chinoise. Par contre, pour le rapport:

$$\frac{SiO_2}{RO}$$

dans lequel R peut être le calcium, le magnésium ou le potassium, nous trouvons un chiffre inférieur à celui du document indiqué plus

haut. Ceci s'explique parfaitement, la glaçure n'ayant pas pu être séparée de la pâte. Cette glaçure est beaucoup plus riche en calcium, donc il est normal que notre rapport soit inférieur.

En résumé, l'étude analytique de ces porcelaines montre qu'au point de vue chimique elles peuvent appartenir à la collection de la Manufacture Impériale « Ku Yüeh Hsüan » du « Pavillon de la Lune Antique ».

Genève, le 26 mai 1944.

Laboratoire de Chimie analytique et de Microchimie.

---

121. Bestimmung von Keto-Enol-Gleichgewichten in Wasser.

von G. Schwarzenbach und E. Felder.

(27. V. 44.)

Wir interessierten uns für die Lage des Keto-Enol-Gleichgewichtes in wässeriger Lösung[1]). Die Durchsicht der Literatur zeigt, dass wir hierüber sehr spärlich unterrichtet sind. Sorgfältige Messungen liegen nur für das Acetylaceton vor[2]) und wir fanden dann, dass auch diese Werte einer erheblichen Korrektur bedürfen. Weil die Hin- und Herreaktion des desmotropen Gleichgewichtes der Säure-Basen-Katalyse unterliegen, stellt sich dieses in Wasser besonders schnell ein; das ist der Grund der besonderen Meßschwierigkeiten, denen man in diesem Lösungsmittel begegnet.

Von den verschiedenen zur Verfügung stehenden Methoden haben wir die bekannte Bromierung der Enolform nach *K. H. Meyer*[3]) zur Grundlage unseres Verfahrens gemacht.

Leider kommt eine physikalische Bestimmungsmethode nicht in Betracht, da uns zuverlässige Angaben über die Refraktion[4]) oder Lichtabsorption[5]) der beiden Tautomeren fehlen. Wir wissen heute, dass es sehr gewagt ist, auf die Annahme zu bauen, dass Verbindungen ähnlicher Konstitution, z. B. die Enolform und der Enoläther, exakt dasselbe absorptive Verhalten zeigen werden[6]). Über die Möglichkeit, mit Hilfe des Polarographen das Gleichgewicht zwischen dem Keton und der Enolform zu bestimmen, wissen wir nichts Zuverlässiges. Wahrscheinlich sind die diesbezüglichen Messungen[7]), die an Hand der

---

[1]) Siehe nächstfolgende Arbeit.

[2]) *F. C. Nachod*, Z. physikal. Ch. [A] **182**, 193 (1938).

[3]) *K. H. Meyer*, A. **380**, 212 (1911).

[4]) *L. Knorr*, B. **44**, 1138 (1911).

[5]) *A. Hantzsch*, B. **43**, 3049 (1910).

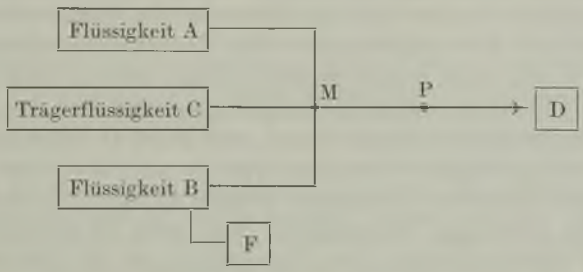
[6]) Z. B. *H. Biltz*, B. **72**, 809/10 (1939), bei der Kritik einer Arbeit von *Fromherz*, B. **71**, 1391 (1938).

[7]) *O. H. Müller* und *I. P. Baumberger*, Am. Soc. **61**, 590 (1939). Über die Interpretation der mit Hilfe des Polarographen bei Ketonen erhaltenen Stromspannungskurven siehe auch: *O. H. Müller*, Am. Soc. **62**, 243 (1939); *A. Winkel* und *G. Proske*, B. **71**, 1785 (1938); *G. Proske*, „Die Chemie" **56**, 24 (1939).

Brenztraubensäure durchgeführt wurden, falsch interpretiert worden, denn deren Befunde stehen der sonstigen chemischen Erfahrung[1]) diametral entgegen. Von weiteren chemischen Methoden, welche vorgeschlagen worden sind, hat sich die alkalimetrische Titration der sauren Enolform nach *Seidel*[2]) sowohl theoretisch wie praktisch als undurchführbar erwiesen[3]), während die Fällung des Kupfersalzes nach *Hieber*[4]) nur in alkoholischer Lösung anwendbar ist.

1. Die Apparatur und Arbeitsweise.

Wegen der raschen Einstellung des desmotropen Gleichgewichtes ist es nötig, die Bromtitration in möglichst kurzer Zeit auszuführen. Mit Hilfe der von uns für Aciditätsmessungen schon einmal benutzten Strömungsapparatur[5]) ist es uns gelungen, diese Zeit auf 1—2 Sekunden zu reduzieren und trotzdem den Endpunkt genau festzustellen, obschon bei sehr grossen Verdünnungen gearbeitet wird. In dieser Apparatur strömen in einer kleinen Mischkammer M drei Flüssigkeiten A, B und C zusammen (die Buchstaben beziehen sich zugleich auf die Bezeichnung der Gefässe in der Fig. 1 der Arbeit mit *K. Lutz*[5]), wonach das Gemisch an einer Platinelektrode P vorbeistreicht (diese ersetzt die mit *K. Lutz* verwendete Glaselektrode) und in das Gefäss D gelangt.



---

[1]) *F. Arndt* und Mitarbeiter, Rev. Faculté des Sciences, Univ. Istambul **4**, 1—5 (1938). [2]) *Seidel*, B. **69**, 650 (1936).

[3]) *G. Schwarzenbach* und *K. Lutz*, Helv. **23**, 1151, Fussnote 1 (1940); *H. Böhme*, B. **76**, 106 (1943). [4]) *W. Hieber*, B. **54**, 902 (1921).

[5]) *G. Schwarzenbach* und *K. Lutz*, Helv. **23**, 1147 (1940). In dieser Arbeit ist es unterlassen worden, darauf hinzuweisen, dass schon früher Apparate konstruiert worden sind, in welchen die Lösungen der Reaktionsteilnehmer schnell verlaufender Reaktionen rasch gemischt werden können, worauf die strömende Mischung zur, meist optischen, Beobachtung gelangt. Auch im phys. chem. Institut der Universität Zürich ist ein derartiger Apparat konstruiert worden und die diesbezügliche Veröffentlichung enthält eine Literaturzusammenstellung (*v. Halban* und *Eisner*, Helv. **18**, 724 (1935)). Ein Vorwurf, wir hätten uns für die Erfinder des Strömungsverfahrens gehalten, ist indes unbegründet. Im Gegenteil war es uns stets bewusst, dass unsere Apparatur, die mit den einfachsten Mitteln selbst zusammengebaut wurde, in ihrer Leistungsfähigkeit weit hinter manchen der komplizierteren Konstruktionen anderer Autoren zurücksteht. Allerdings glauben wir, dass die Strömungsmethode noch nie in Kombination mit der Glaselektrode dazu verwendet wurde, Aciditätsgleichgewichte unbeständiger Substanzen zu messen. In der vorliegenden Arbeit besteht eine Neuheit darin, dass eine der zusammenströmenden Flüssigkeiten ihre Zusammensetzung während des Versuches ändert.

Die Trägerflüssigkeit C ist meistens destilliertes Wasser, welches mit einer konstanten Geschwindigkeit von etwa 5 Litern pro Stunde den Apparat durchfliesst. In einigen Fällen (beim Dimedon S. 1059) wurden Pufferlösungen hoher Pufferkapazität als Trägerflüssigkeit benutzt. Der Flüssigkeit C werden bei M die beiden andern A und B in konstantem Strom in Mengen von je etwa 300 cm^3 pro Stunde beigemischt. Diese haben die folgende Zusammensetzung:

Flüssigkeit A: Lösung des Gleichgewichtsgemisches der Tautomeren in einer Konzentration von etwa 0,01- bis 0,001-molar mit 0,1-n. $\{KCl\}$ als Indikator. Diese Lösung kann zudem andere Substanzen enthalten, um einen bestimmten p_H-Wert in A zu erzeugen.

Flüssigkeit B: Lösung von Bromat und Bromid im Gemisch mit einem sauren Puffer, nämlich $H_2SO_4 + \{K_2SO_4\}$, zur Erzeugung eines p_H-Wertes in der Gegend von 1 bis 3. Je nach der Acidität und der Bromatkonzentration entwickelt sich in dieser Lösung mehr oder weniger rasch elementares Brom.

Da sich in der Flüssigkeit B langsam elementares Brom entwikkelt, treffen in der Mischkammer M immer grössere Mengen davon mit der Flüssigkeit A zusammen. Schliesslich wird der Moment kommen, in welchem die Flüssigkeit B der Mischkammer eben gerade die dem Enolgehalt von A entsprechende Menge Brom zuführt. Diesen Äquivalenzpunkt erkennt man am Potential der Elektrode P, welches als Funktion der Zeit aufgetragen wird, durch einen scharfen Potentialsprung. Wenn man nun ermitteln kann, wieviel freies Brom die Flüssigkeit B in diesem Moment enthält, so lässt sich der Enolgehalt aus dem Mischungsverhältnis von A und B in D berechnen.

Es wurde anfänglich versucht, den Bromgehalt von B aus dem Potential einer weiteren Elektrode, welche direkt in B taucht, zu berechnen. Die erreichte Genauigkeit war aber ungenügend und so wurde dazu übergegangen, den Bromgehalt in B titrimetrisch mit Arsenit als Masslösung zu bestimmen. Sobald nämlich die Elektrode P durch ihren Potentialsprung den Äquivalenzpunkt anzeigt, wird durch Öffnen eines Hahns die Flüssigkeit B in das evakuierte Gefäss F gesaugt, in welchem sich etwas festes Natriumacetat befindet (das Gefäss F wurde in der Arbeit mit *K. Lutz* nicht verwendet und findet sich nicht in dortiger Fig. 1). Durch diese Beimischung steigt der p_H-Wert von B plötzlich an und die weitere Bromentwicklung wird unterbunden. Nun hat man genügend Zeit, die Bromkonzentration zu ermitteln, was mit Arsenit und potentiometrischer Endpunktsbestimmung[1]) mit hoher Genauigkeit geschehen kann.

Das zweite Bestimmungsstück zur Berechnung des Enolgehaltes, nämlich das Mischungsverhältnis von A und B in der endgültigen Mischung D, wird folgendermassen erhalten: D wird zunächst stark angesäuert und zur Entfernung des eventuell entstehenden Broms Aceton zugegeben. Dadurch verschwindet alles Bromat und zugleich

[1]) *E. Müller*, Elektrometrische Massanalyse. Dresden und Leipzig 1932. S. 203.

pro Bromation noch zwei Bromionen. Nun werden mit Silbernitrat und potentiometrischer Endpunktsbestimmung die Konzentrationen von Cl′ und Br′ in dieser Lösung ermittelt. Gleichartig wird mit einem weiteren Teil der Lösung in F verfahren, indem man auch hier durch Ansäuern und Acetonzusatz das Bromat und elementare Brom zum Verschwinden bringt und das verbleibende Br′ titriert. Der Vergleich der Cl′-Konzentrationen von A und D ergibt die Verdünnung V_A, welche die Flüssigkeit A erlitten hat und der Vergleich der Br′-Konzentrationen von F und D diejenige V_B der Flüssigkeit B.

$$V_A = [Cl']_A/[Cl']_D \tag{1}$$

$$V_B = [Br']_F/[Br']_D \tag{2}$$

Bezeichnen wir nun die molare Konzentration an elementarem Brom in F mit $[Br_2]_F$ und die aus der Einwage zu berechnende Konzentration der enolisierbaren Substanz in A mit S_A, so berechnet sich der Enolgehalt zu:

$$\% \text{ Enol} = \frac{100 \cdot [Br_2]_F \cdot V_A}{[S]_A \cdot V_B} \tag{3}$$

Laut Angaben in der Literatur[1]) verursacht die gleichzeitige Bestimmung von Cl′ und Br′ mit Silbernitrat auf potentiometrischem Wege etwelche Schwierigkeiten, weil der erste Potentialsprung, welcher das Bromid anzeigt, zu spät erscheint. Wir haben deshalb verschiedene Testkurven an Gemischen aufgenommen, welche in ihrer Zusammensetzung der Flüssigkeit D entsprachen. Dabei zeigte sich, dass der erste Wendepunkt bei langsamer Zugabe der Masslösung und sorgfältiger Potentialeinstellung, genau an der richtigen Stelle erschien. Wahrscheinlich wirken sich die grosse Verdünnung und die hohe Konzentration an Schwefelsäure (0,5) günstig aus. Glücklicherweise hatte die Flüssigkeit in D bei allen Bestimmungen fast dieselbe Zusammensetzung, so dass alle diese Titrationen unter identischen Bedingungen ausgeführt werden konnten. Trotzdem ist diese Titration von Cl′ und Br′ nebeneinander das am wenigsten genaue Bestimmungsstück unseres Messverfahrens, so dass durch sie die Fehlergrenze unserer Resultate bedingt wird.

2. Die Deutung der Potential-Zeit-Kurven der Elektrode P und der Anwendungsbereich der Methode.

Wir müssen uns noch genau überlegen, wie das Potential der Elektrode P zustande kommt, welches als Funktion der Zeit aufgetragen wird und uns den Äquivalenzpunkt anzeigt. Fast stets war es so, dass bald nach Ingangsetzen der Strömung die Elektrode einen konstanten Potentialwert von etwa + 500 Millivolt (gegen gesättigte Kalomelelektrode) annahm und bis kurz vor den Äquivalenzpunkt behielt. Dieser selbst macht sich dann durch einen sehr raschen Potentialanstieg auf + 800 M.V. bemerkbar (s. Kurve Fig. 1). Der Moment des Äquivalenzpunktes, in welchem der Hahn zum Gefäss F geöffnet werden muss, kann somit sehr genau ermittelt werden. Die Kurven der verschiedenen Substanzen unterschieden sich lediglich im

[1]) *H. Flood* und *E. Sletten*, Z. anal. Ch. **115**, 30 (1938); *H. Schutza*, Angew. Ch. **51**, 55 (1938).

Anfangspotential, welches einmal nur 400 M.V. betrug und beim Bromacetylaceton und Methylsulfonyl-acetylaceton in der Gegend von 600 M.V. lag. Der Endwert des Potentials war natürlich stets derselbe, da hier die Elektrode mit einem Überschuss von Brom in Berührung ist.

Sicherlich äussert sich in den Anfangspotentialen der Charakter des durch die Bromierung entstehenden Bromdiketons, welches ein mehr oder weniger starkes Oxydationsmittel sein kann. Allerdings muss man bedenken, dass die Anfangspotentiale keine stabilen Gleichgewichtspotentiale sind, da ein Gemisch von Diketon und Bromdiketon einer Elektrode kein bestimmtes Redoxpotential aufdrückt, wie es reversible Redoxsysteme tun. Auch die Anfangspotentiale sind Brom-Bromidpotentiale, wobei der wenig positive Wert einer sehr kleinen Bromkonzentration entspricht.

Unsere obige Frage lautet deshalb jetzt: Wie kommt diese Bromkonzentration zustande? Offenbar bestehen die folgenden Möglichkeiten:

a. Die Bromierung der Enolform erfolgt sehr rasch, so dass beim Passieren der Elektrode das Gleichgewicht:

$$\text{Enol} + \text{Br}_2 \rightleftharpoons \text{Bromketon} + \text{Br}' + \text{H}^{\cdot} \qquad \text{(I)}$$

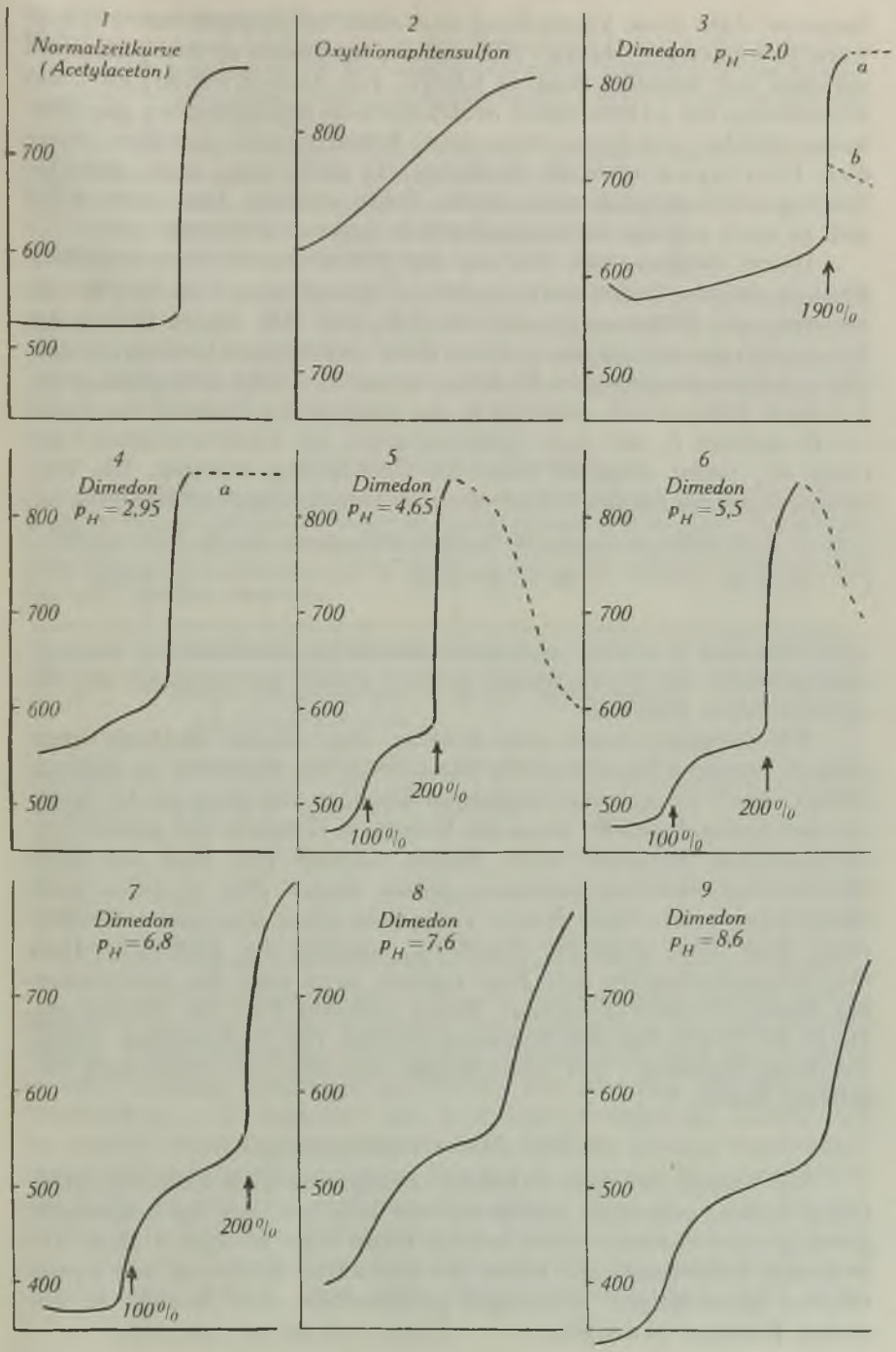
praktisch schon erreicht ist.

b. Die Bromierung erfolgt nicht momentan. Dann kommt die Elektrode mit einer Bromkonzentration zusammen, welche höher ist als diejenige, die der Gleichgewichtskonzentration entspricht.

Wir glauben, dass unsere Potential-Zeit-Kurven sich nicht anders interpretieren lassen als mit der Annahme a. Wenn das Bromierungsgleichgewicht an der Elektrode noch nicht erreicht wäre, so würde das Anfangspotential nicht so schön konstant bleiben, sondern müsste schon lange vor dem Äquivalenzpunkt stark ansteigen. Dieser selbst könnte sich nicht durch einen so gut ausgeprägten Potentialsprung äussern, wie wir ihn in allen Fällen beobachtet haben, in denen eine gewisse Menge Enolform im Gleichgewicht mit der Ketoform vorliegt. Im Falle b bekämen wir Kurven von der Form derjenigen in Fig. 2, die dem nicht enolisierten Oxythionaphtensulfon angehört (s. unten).

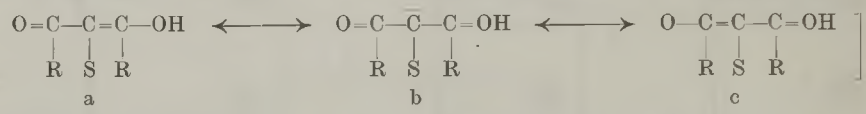
So schliessen wir, dass auch die Enolformen von Diketonen mit stark acidifizierenden Substituenten am mittelständigen C-Atom (wir haben Bromacetylaceton und Methylsulfonyl-acetylaceton untersucht) momentan mit Brom reagieren und stehen damit im Widerspruch zu einer Äusserung *Arndt*'s, wonach acidifizierende Substituenten die Bromierungsgeschwindigkeit herabsetzen würden[1]). Diese Annahme verleitet dann später *Böhme* und *Fischer* dazu, das Methylsulfonyl-acetylaceton als vollkommen enolisiert anzusprechen, obschon es nicht rasch bromiert wird[2]), währenddem wir feststellen

[1]) *F. Arndt* und Mitarbeiter, A. **521**, 101, Zeile 13 (1935); *F. Arndt* und *B. Eistert*, B. **74**, 428 (1941). [2]) *H. Böhme* und *H. Fischer*, B. **76**, 100, 102, 103 (1943).


1
Normalzeitkurve
(Acetylaceton)
700
600
500
2
Oxythionaphtensulfon
800
700
3
Dimedon $p_H = 2{,}0$
a
b
800
700
600
190 %
500
4
Dimedon
$p_H = 2{,}95$
a
800
700
600
500
5
Dimedon
$p_H = 4{,}65$
800
700
600
500
200 %
100 %
6
Dimedon
$p_H = 5{,}5$
800
700
600
500
200 %
100 %
7
Dimedon
$p_H = 6{,}8$
700
600
500
400
200 %
100 %
8
Dimedon
$p_H = 7{,}6$
700
600
500
9
Dimedon
$p_H = 8{,}6$
700
600
500
400

konnten, dass diese Verbindung nur einen Enolgehalt von 1% aufweist in wässeriger Lösung. Wir sind im Gegensatz zu den genannten Autoren der Ansicht, dass es nicht die Geschwindigkeit der Bromierung ist, welche durch acidifizierende Substituenten eine Einbusse erleidet, sondern, dass diese Substituenten bewirken, dass das Gleichgewicht der Reaktion (I) mehr links liegt, also das Gleichgewichtsgemisch mehr freies Brom enthält. Dies eben wirkt sich ja auch auf die Anfangspotentiale unserer Elektrode aus.

Dieser Schluss, den wir aus der Form unserer Potential-Zeit-Kurven ziehen, findet durch andere Überlegungen eine Stütze. An die einsamen Elektronenpaare von NH_3 und OH' lagert sich ja das Brom auch momentan an, obschon diese viel weniger basisch (nucleophil) sind als ein einsames Elektronenpaar an selbst sehr stark acidifiziertem Kohlenstoff. Je mehr in der mesomeren Partikel des Enols die Grenzform b, mit dem Carbeniatatom, am Zwischenzustand anteilig ist, umso schneller muss die Bromierung erfolgen. Die Bromierungsgeschwindigkeit wird deshalb durch einen acidifizierenden



Substituenten S erhöht und nicht erniedrigt, obschon das Bromierungsprodukt das Brom wieder leichter abgibt als dasjenige des unsubstituierten Diketons.

Wir kommen somit zum Schluss, dass unsere Methode nicht deshalb versagen kann, weil die Bromierung der Enolform zu langsam erfolgt. Auch bei unserem Verfahren kommen wir dann an die Grenzen der Anwendbarkeit, wenn die Ketoform ebenfalls mit grosser Geschwindigkeit bromiert wird. Einem solchen Fall sind wir beim Oxythionaphtensulfon begegnet, dessen Kurve (Fig. 2) schon oben Erwähnung fand. Diese Kurve entspricht einer langsamen Bromierung, aber nicht etwa der Enolform, sondern der Ketoform. Dass Oxythionaphtensulfon kein Enol enthält, zeigt auch die Abwesenheit der Eisen(III)-chloridreaktion. Einen weiteren Fall von Zeitkurven, die in der Form von der normalen Gestalt Fig. 1 abweichen, trafen wir beim Dimedon. Wir beschäftigen uns dort (S. 1058) noch eingehend damit.

3. Die Messresultate.

Wir wollen hier jede Substanz, welche wir einer Prüfung unterzogen haben, gesondert aufführen und angeben, wie sie hergestellt, gereinigt und charakterisiert wurde. Dann folgt in einer kleinen Tabelle das Zahlenmaterial, wobei die vertikalen Kolonnen den ausgeführten gleichartigen Messungen entsprechen. Die Zeichen in der ersten Kolonne bedeuten:

A: Zusammensetzung der Flüssigkeit A.

B: Zusammensetzung der Flüssigkeit B. Das Wort „H_2SO_4-Puffer" bedeutet dabei eine 1-n. Schwefelsäure, die mit Kaliumsulfat gesättigt ist. Das Wort „Bromid-Bromat" bedeutet eine Lösung, welche 0,5 Formelgewichte $\{KBr\}$ und 0,02 Formelgewichte $\{KBrO_3\}$ im Liter enthält.

$[S]_A$: Der Gehalt der Flüssigkeit A an enolisierbarer Substanz in Molen im Liter.

$[Br_2]_F$: Molare Konzentration an elementarem Brom in F.

V_A: Die Verdünnung der Flüssigkeit A in D gemäss Gleichung (1).

V_B: Die Verdünnung der Flüssigkeit B in D gemäss Gleichung (2).

% Enol: Der Enolgehalt in der Flüssigkeit A in % der Einwage S_A.

Wo nichts Spezielles bemerkt ist, hat die Potential-Zeitkurve die normale Form der Fig. 1. Sämtliche Messungen sind in einem Raumthermostaten durchgeführt worden, in welchem alle Lösungen und das benötigte destillierte Wasser aufbewahrt wurden. Die Zahlen gelten also für dessen Temperatur von 20°.

Acetylaceton-Enolat.

Eine grössere Menge von Acetylaceton wurde nach *Adkins*[1]) hergestellt, über das Kupferenolat gereinigt und das wieder in Freiheit gesetzte Diketon über Calciumchlorid und dann über geglühter Pottasche getrocknet. Schliesslich wurde sorgfältig in einer Glasschliffapparatur destilliert und für die Messungen nur die Fraktion, welche zwischen 135—137° überging, verwendet.

A	Diketon, 0,08-n. KCl, 0,02-n. NaOH				
B	30 cm³ „Bromid-Bromat" + 10 cm³ „H_2SO_4-Puffer" auf 110 cm³ aufgefüllt				
$[S]_A$	$4{,}20 \times 10^{-3}$	$3{,}63 \times 10^{-3}$	$4{,}32 \times 10^{-3}$	$4{,}20 \times 10^{-3}$	
$[Br_2]_F$	$3{,}59 \times 10^{-3}$	$3{,}09 \times 10^{-3}$	$3{,}60 \times 10^{-3}$	$3{,}59 \times 10^{-3}$	
V_A	15,62	15,40	16,33	15,26	
V_B	13,40	13,32	13,75	13,23	
% Enol	99,6%	98,5%	99,0%	98,5%	Mittel: 98,8%

Das Acetylaceton-Enolat sollte als Testsubstanz für die Zuverlässigkeit unseres neuen Verfahrens zur Bestimmung des Enolgehaltes dienen. Dieses hat ja den besonderen Vorteil, dass man das Diketon in einer Lösung beliebigen p_H-Wertes zur Messung bringen kann. Oberhalb $p_H = 11$ liegt aber das Acetylaceton sicher als Enolat vor. In unserer Strömungsapparatur wird nun diese Lösung rasch angesäuert und gleichzeitig bromiert. Wir haben erwartet, dass dann 100 % des Diketons als Enol titrierbar sein müsse. Dies ist in der Tat angenähert der Fall. Die Abweichung von etwa 1 % nach unten hat sicher zum Teil als Ursache den langsamen Zerfall des Acetylacetons in Aceton oder Acetat. Dass diese alkalischen Lösungen recht unbe-

[1]) *Adkins*, Am. Soc. **52**, 3218 (1930).

ständig sind, ist von uns schon früher gezeigt worden[1]). Leider lässt es sich nicht vermeiden, dass zwischen den Momenten der Herstellung der Lösung A und der Erreichung des Äquivalenzpunktes bei der Bromierung etwa ¼ Stunde verstreicht. Wahrscheinlich rührt ein Teil der Abweichung von 100 % auch davon her, dass sich beim raschen Ansäuern der Enolatlösung eine kleine Menge Diketon bildet. Innerhalb des Puffergebietes verläuft die Ketisierung sehr rasch. Diese Messung des Acetylaceton-Enolates zeigt aber, dass unser Bestimmungsverfahren gut arbeitet. Wir glauben, dass die auftretenden Fehler geringer sind als die Differenz von 1,2 %, die wir hier beim Acetylaceton-Enolat vom erwarteten Wert von 100 % festgestellt haben. Sie dürften 1 % des Enolgehaltes nicht überschreiten und bei Enolgehalten von weniger als 10 % also nur 0,1 betragen.

Acetylaceton.

Zur Bestimmung des Enolgehaltes vom Diketon selbst wurde dieses in einem verdünnten Phosphatpuffer gelöst, wobei die Lösung einen p_H-Wert von 6,3 annahm. Die Pufferkapazität ist dabei so gering gewählt worden, dass durch die Anwesenheit des Puffers die Acidität der Mischung beim Bromieren nicht wesentlich geändert wird. Die Flüssigkeit A wurde 12 Stunden vor der Messung zubereitet, um dem desmotropen Gleichgewicht Zeit zur Einstellung zu geben.

A	Diketon, 0,08-n. KCl, 0,004-n. Phosphat, $p_H = 6{,}3$			
B	30 cm³ „Bromid-Bromat“ + 10 cm³ „H_2SO_4-Puffer“ auf 110 cm³ aufgefüllt			
$[S]_A$	$2{,}48 \times 10^{-3}$	$2{,}48 \times 10^{-3}$	$2{,}48 \times 10^{-3}$	
$[Br_2]_F$	$3{,}49 \times 10^{-3}$	$3{,}44 \times 10^{-3}$	$3{,}57 \times 10^{-3}$	
V_A	16,23	15,56	16,26	
V_B	14,58	13,97	15,24	
% Enol	15,6	15,5	15,4	Mittel: 15,5%

Zum Vergleich dieses Wertes mit dem besten der Literatur sei erwähnt, dass *Nachod*[2]) 19,2% Enol fand.

Methyl-acetylaceton (Methyl-diacetylmethan).

Dieses Diketon wurde nach Angaben von *Sprague*[3]) aus Acetylaceton und Methyljodid gewonnen und über das Kupferenolat gereinigt; es ging unter 20 mm Hg bei 70° über. Beim Aufbewahren im Eisschrank bildete sich aus dem Öl ein grosser Krystall von hohem Lichtbrechungsvermögen und einem Schmelzpunkt von +7°. Die Eisen(III)-chloridreaktion ist tief violett. Zur weiteren Charakterisierung wurde auch ein Kondensationsprodukt mit o-Phenylendiamin erzeugt[4]).

---

[1]) *G. Schwarzenbach* und *K. Lutz*, Helv. **23**, 1147 (1940).
[2]) l. c.
[3]) *Sprague*, Am. Soc. **56**, 2667 (1934).
[4]) *J. Thiele, Steimig*, B. **40**, 955 (1907).

Die Lösung für die Messoperation in der Strömungsapparatur wurde wieder einige Stunden vor Beginn zubereitet.

A	Diketon in 0,1-n. KCl			
B	20 cm³ „Bromid-Bromat" + 10 cm³ 0,5-n. KBr + 10 cm³ „H_2SO_4-Puffer" auf 110 cm³ aufgefüllt			
$[S]_A$	$4{,}02 \times 10^{-2}$	$4{,}02 \times 10^{-2}$	$4{,}02 \times 10^{-2}$	
$[Br_2]_F$	$8{,}85 \times 10^{-4}$	$9{,}35 \times 10^{-4}$	$9{,}45 \times 10^{-4}$	
V_A	17,8	18,48	19,90	
V_B	14,26	15,30	16,39	
% Enol	2,75	2,81	2,84	Mittel: 2,80%

Brom-acetylaceton (Brom-diacetylmethan).

Diese Verbindung ist von *v. Auwers*[1]) und dann später von *Birkenbach*[2]) beschrieben worden. Ersterer fasste sie als ein gelbliches Öl vom Sdp. 96°/13 mm Hg, während letzterer Krystalle erhalten konnte, Smp. 23—24°. Wir stellten zunächst das Präparat genau nach der Vorschrift von *v. Auwers* her (Präparat I), dessen Angaben wir bestätigen konnten. Dann wurde das folgende Herstellungsverfahren entwickelt, welches Krystalle Smp. 29,0—29,5° lieferte (Präparat II):

10 g Acetylacetonkupfer wurden in 50 cm³ CS_2 aufgeschlämmt und unter heftigem Rühren bei etwa −10° innerhalb von 30 Minuten 8 g Brom in 30 cm³ CS_2 zugetropft. Aus dem Filtrat dieser Suspension schied sich das Bromacetylaceton in 1 cm langen farblosen Nadeln ab, die im Hochvakuum getrocknet wurden.

Sowohl von Präparat I als auch von Präparat II wurden Messungen in der Strömungsapparatur durchgeführt. Um die hydrolytische Zersetzung kleiner zu gestalten, wurde im 2. Fall Salzsäure an Stelle von KCl in der Flüssigkeit A verwendet, ohne dass sich dieses aber wesentlich auf das Resultat auswirkte.

Die Zeit-Potential-Kurve hat die übliche Gestalt, das Anfangspotential liegt aber bei 630 M.V., so dass der den Äquivalenzpunkt anzeigende Sprung auf 800 M.V. weniger gross erscheint. Wie eingangs erwähnt, hängt dieses Verhalten mit den stark oxydierenden Eigenschaften des Dibrom-acetylacetons zusammen.

A	Präparat I, 0,1-n. KCl			
B	20 cm³ „Bromid-Bromat" + 10 cm³ 0,5-n. KBr + 10 cm³ „H_2SO_4-Puffer" auf 110 cm³ aufgefüllt			
$[S]_A$	$1{,}19 \times 10^{-2}$	$1{,}19 \times 10^{-2}$	$1{,}19 \times 10^{-2}$	
$[Br_2]_F$	$8{,}40 \times 10^{-4}$	$8{,}80 \times 10^{-4}$	$9{,}35 \times 10^{-4}$	
V_A	16,40	16,20	16,20	
V_B	15,00	14,98	14,90	
% Enol	7,7	8,0	8,5	Mittel: 8,1%

[1]) *K. v. Auwers*, B. **50**, 951 (1917).
[2]) *L. Birkenbach*, B. **65**, 1078 (1932).

A	Präparat II in 0,1-n. HCl			
B	20 cm³ „Bromid-Bromat" + 10 cm³ 0,5-n. KBr + 10 cm³ „H_2SO_4-Puffer" auf 110 cm³ aufgefüllt			
$[S]_A$	$1{,}40 \times 10^{-2}$	$1{,}40 \times 10^{-2}$	$1{,}40 \times 10^{-2}$	
$[Br_2]_F$	$7{,}25 \times 10^{-4}$	$7{,}90 \times 10^{-4}$	$7{,}75 \times 10^{-4}$	
V_A	19,85	19,48	19,20	
V_B	14,20	13,62	13,70	
% Enol	7,3	7,52	7,74	Mittel: 7,53%

Sowohl bei Präparat I als auch bei Präparat II sind die drei Messungen jeweils mit ein und derselben Lösung des Bromdiketons ausgeführt worden. Da zwischen den Messungen eine erhebliche Zeit verstreicht, kann sich eine eventuelle Zersetzung der Substanz bemerkbar machen. Damit erklären wir die deutlich steigende Tendenz der Messwerte beider Reihen und glauben, dass der wirkliche Enolgehalt des Brom-acetylacetons eher etwas unter 7,5% liegt. Dass wir beim weniger reinen, nicht krystallisierten Präparat I einen höheren Enolgehalt finden, erklärt sich mit einem Gehalt an unbromiertem Acetylaceton.

Methylsulfonyl-acetylaceton[1]) (1,1-Diacetyl-dimethylsulfon).

Zu 2,3 g feinzerschnittenen Natriums wurde 10 g reines Acetylaceton gegeben. Nach vollendeter Salzbildung wurde im Laufe von 15 Minuten 11,5 g Methansulfochlorid zugetropft und 4 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Nun wurde mit sehr kalter 2-n. NaOH versetzt, der Äther im Scheidetrichter abgetrennt und die Lösung des Enolates mit kalter 2-n. H_2SO_4 angesäuert. Schliesslich wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, das Chloroform wegdestilliert und so 2,5 g krystallisiertes Rohprodukt erhalten. Dieses liess sich im Hochvakuum sehr schön sublimieren, wobei farblose Krystalle vom Smp. 65° entstanden. Die Eisen(III)-chloridreaktion ist gelbrot.

Wie *Böhme* nachwies, zerfällt das Methylsulfonyl-acetylaceton mit heissem Wasser in Essigsäure und Methylsulfonaceton. Wir dachten, dass eine Lösung in verdünnter Salzsäure beständiger sein könnte als eine Lösung höheren p_H-Wertes. Eine Prüfung zeigte,

A	Diketonsulfon in 0,1-n. HCl					
B	20 cm³ „Bromid-Bromat" + 10 cm³ 0,5-n. KBr + 10 cm „H_2SO_4-Puffer" auf 110 cm³ aufgefüllt					
Zeit	15 Minuten	65	130	145	330 Minuten	
$[S]_A$	$1{,}73 \times 10^{-2}$	$1{,}73 \times 10^{-2}$	$1{,}73 \times 10^{-2}$	$1{,}73 \times 10^{-2}$	$1{,}73 \times 10^{-2}$	
$[Br_2]_F$	$12{,}2 \times 10^{-4}$	$1{,}94 \times 10^{-4}$	$1{,}27 \times 10^{-4}$	$1{,}64 \times 10^{-4}$	$1{,}57 \times 10^{-4}$	
V_A	23,1	18,7	20,75	20,70	18,55	
V_B	15,82	17,13	16,58	16,80	15,50	
% Enol	10,3	1,23	0,92	1,16	1,09	Mittel: 1,1

[1]) *H. Böhme* und *H. Fischer*, B. **76**, 99 (1943).

dass bei langem Stehen in 0,1-n. HCl unter den Zersetzungsprodukten auch Acetylaceton auftritt, denn der Chloroformauszug gibt nun violette Eisen(III)-chloridreaktion. Für die Bestimmung des Tautomeriegleichgewichtes wurden derart saure Lösungen hergestellt und zu verschiedenen Zeiten nach dem Moment der Herstellung der Messung unterworfen. Diese Zeiten sind in der Tabelle S. 1054 in der dritten Horizontalreihe aufgeführt.

Wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, fanden wir kurz nach der Herstellung der Lösung einen recht grossen Gehalt an Enol, der aber dann rasch absinkt und schon nach einer Stunde den konstant bleibenden Wert von etwa 1% annimmt. Sicherlich ist das, was wir hier beobachten, die langsame Einstellung des Tautomeriegleichgewichtes, denn wenn es sich um die von *Böhme* beschriebene Zersetzung handelte, so könnten die Werte nicht einem konstanten Wert zustreben. Zudem entsteht ja bei der Zersetzung in saurer Lösung nach unserem Befund auch Acetylaceton, was ja den scheinbaren Enolgehalt erhöhen müsste.

Acetessigester.

Acetessigester „reinst *Kahlbaum*" wurde zweimal destilliert und jeweils die Mittelfraktion abgetrennt. Zur Messung in der Strömungsapparatur kamen relativ konz. Lösungen (ca. 0,1-molar) zur Verwendung, da der Enolgehalt in Wasser sehr gering ist. Auch hier wurde eine kleine Menge Phosphatpuffer zugegeben.

A	Esterketon, 0,08-n. KCl, 0,004-m. Phosphat, p_H der Mischung = 7,2			
B	5 cm³ „Bromid-Bromat" + 7 cm³ „H_2SO_4-Puffer" + 25 cm³ KBr, aufgefüllt auf 110 cm³			
$[S]_A$	$9{,}48 \times 10^{-2}$	$9{,}48 \times 10^{-2}$	$9{,}48 \times 10^{-2}$	
$[Br_2]_F$	$3{,}54 \times 10^{-4}$	$3{,}43 \times 10^{-4}$	$3{,}34 \times 10^{-4}$	
V_A	16,04	16,04	16,82	
V_B	15,05	15,10	15,16	
% Enol	0,40	0,39	0,38	Mittel: 0,38%

1-Acetyl-cyclohexanon-(2).

Dieses Diketon wurde nach der Vorschrift von *Meerwein*[1]) aus Cyclohexanon und Essigsäure-anhydrid unter Einwirkung von Bortrifluorid dargestellt. Schliesslich wurde ein Präparat erhalten, welches bei 14 mm Druck genau bei 101° überging. Die Lösung für die Messung des Enolgehaltes ist einige Stunden vor Beginn der Messoperation hergestellt worden.

A	Diketon + 0,1-n. KCl in Wasser			
B	20 cm³ „Bromid-Bromat" + 10 cm³ 0,5-n. KBr + 10 cm³ „H_2SO_4-Puffer" verdünnt auf 110 cm³			
$[S]_A$	$4{,}79 \times 10^{-3}$	$4{,}79 \times 10^{-3}$	$4{,}79 \times 10^{-3}$	
$[Br_2]_F$	$1{,}29 \times 10^{-3}$	$1{,}30 \times 10^{-3}$	$1{,}28 \times 10^{-3}$	
V_A	16,62	16,26	16,62	
V_B	15,48	15,15	15,17	
% Enol	29,0	29,1	29,2	Mittel: 29,1%

[1]) *H. Meerwein*, J. pr. [2] **141**, 159 (1934).

1-Acetyl-cyclopentanon-(2)[1]).

Herstellung ganz analog dem Acetyl-cyclohexanon aus Cyclopentanon, Essigsäureanhydrid und BF_3. Nach Vollendung der Reaktion wurde mit Wasserdampf destilliert, aus dem Destillat das Kupfersalz gefällt und aus diesem das Diketon in Freiheit gesetzt. Schliesslich wurde ein Produkt erhalten, welches scharf bei 82° bei einem Druck von 14 mm überging. Auch hier wurde die Lösung A 10 Stunden vor Beginn der Messung zubereitet.

A	Diketon + 0,1-n. KCl in Wasser			
B	22 cm³ „Bromid-Bromat" + 8 cm³ 0,5-n. KBr + 10 cm³ „H_2SO_4-Puffer" verdünnt auf 110 cm³			
$[S]_A$	$1{,}81 \times 10^{-2}$	$1{,}81 \times 10^{-2}$	$1{,}81 \times 10^{-2}$	
$[Br_2]_F$	$2{,}45 \times 10^{-3}$	$2{,}50 \times 10^{-3}$	$2{,}37 \times 10^{-3}$	
V_A	16,22	16,41	16,41	
V_B	14,61	15,02	14,17	
% Enol	15,1	15,1	15,1	Mittel: 15,1%

1-Oxymethylen-cyclohexanon-(2).

Die Synthese dieser Verbindung erfolgte nach *Borsche*[2]), durch Kondensation von Cyclohexanon und Isoamylformiat, mit Natriummetall. Das Fertigprodukt ging unter 14 mm bei 86—87° über und stellt eine geruchlose, wasserklare Flüssigkeit dar, die intensiv violette Eisen(III)-chloridreaktion gibt. Die wässerige Lösung für die Messoperation wurde 24 Stunden vor Beginn zubereitet.

A	Ketonaldehyd in 0,1-n. KCl			
B	30 cm³ „Bromid-Bromat" + 8 cm³ „H_2SO_4-Puffer" aufgefüllt auf 111 cm³			
$[S]_A$	$4{,}50 \times 10^{-3}$	$4{,}50 \times 10^{-3}$	$4{,}50 \times 10^{-3}$	
$[Br_2]_F$	$1{,}82 \times 10^{-3}$	$1{,}84 \times 10^{-3}$	$1{,}99 \times 10^{-3}$	
V_A	19,90	19,90	17,73	
V_B	16,55	16,80	16,30	
% Enol	48,6	48,4	48,2	Mittel: 48,4%

1-Oxymethylen-cyclopentanon-(2).

Dieser Ketonaldehyd wurde nach *Wallach*[3]) durch Kondensation von Cyclopentanon und Isoamylformiat mit Hilfe von Natrium dargestellt. Schliesslich wurde er im Vakuum bei 65° sublimiert und in schönen farblosen Krystallen vom Smp. 73° erhalten. Bei der alkalimetrischen Titration wurde genau die theoretische Menge NaOH verbraucht. Oxymethylen-cyclopentanon gibt violette Eisen(III)-chloridreaktion.

---

[1]) *R. Kuhn*, Z. physiol. Ch. **242**, 197 (1936).
[2]) *W. Borsche*, A. **377**, 84 (1910).
[3]) *O. Wallach*, A. **329**, 114 (1903).

A	Ketonaldehyd in 0,1-n. KCl			
B	30 cm³ „Bromid-Bromat" + 15 cm³ „H_2SO_4-Puffer" aufgefüllt auf 110 cm³			
$[S]_A$	$5{,}82 \times 10^{-3}$	$5{,}82 \times 10^{-3}$	$5{,}82 \times 10^{-3}$	
$[Br_2]_F$	$2{,}27 \times 10^{-3}$	$2{,}25 \times 10^{-3}$	$2{,}10 \times 10^{-3}$	
V_A	18,00	17,92	19,80	
V_B	17,22	17,15	17,55	
% Enol	40,7	40,3	40,8	Mittel: 40,6%

Indandion-(1,3) (1,3-Dioxo-hydrinden).

Dieses cyclische Diketon wurde nach *Wislicenus*[1]) durch Kondensation von Phthalsäure-ester und Äthylacetat und nachherige Decarboxylierung gewonnen. Zur Reinigung wurde aus heisser Salzsäure umkrystallisiert, wobei das Präparat in schönen langen Nadeln erhalten wurde, die sich in Natronlauge mit rein gelber Farbe lösen. Sowohl die stark saure als auch die stark alkalische Lösung sind völlig beständig, während in Wasser oder Acetatpuffer rasche Kondensation zu Bindon eintritt.

Zur Bereitung der Flüssigkeit A wurden 0,1007 g Indandion in wenig Natronlauge gelöst und die rein gelbe Lösung in 20 cm³ n. HCl gegossen und mit Wasser auf 200 cm³ aufgefüllt. Die Messung fand am nächsten Tag statt.

A	Indandion in 0,1-n. HCl			
B	20 cm³ „Bromid-Bromat" + 10 cm³ 0,5-n. KBr + 10 cm³ „H_2SO_4-Puffer" aufgefüllt auf 110 cm³			
$[S]_A$	$3{,}45 \times 10^{-3}$	$3{,}45 \times 10^{-3}$	$3{,}45 \times 10^{-3}$	
$[Br_2]_F$	$4{,}35 \times 10^{-4}$	$4{,}24 \times 10^{-4}$	$4{,}17 \times 10^{-4}$	
V_A	18,90	18,70	19,50	
V_B	14,25	14,71	14,28	
% Enol	1,66	1,55	1,60	Mittel: 1,60%

2-Methyl-indandion-(1,3).

Methyl-indandion wurde uns von cand. chem. *W. Jenny* zur Verfügung gestellt. Wir haben es in das Natriumsalz übergeführt, welches in schönen, dunkelroten Blättchen ausfiel und sich leicht umkrystallisieren lässt. Beim Trocknen im Vakuum verlieren die Krystalle Krystallwasser und färben sich dabei heller rot. Dann wurde die Säure in Freiheit gesetzt und aus Wasser-Alkohol umkrystallisiert. Methyl-indandion zeigt wie Indandion keine Eisen(III)-chloridreaktion.

Zur Messung wurden etwa 0,1 g des Diketons in 10 cm³ Alkohol gelöst und die Lösung dann in Wasser gegossen.

---

[1]) *J. Wislicenus*, A. **252**, 72 (1889).

A	Methylindandion, 0.1-n. KCl, 2% Alkohol			
B	10 cm³ „Bromid-Bromat“ + 20 cm³ 0,5-n. KBr + 10 cm³ „H_2SO_4-Puffer“ aufgefüllt auf 110 cm³			
$[S]_A$	$3{,}01 \times 10^{-3}$	$3{,}01 \times 10^{-3}$	$3{,}01 \times 10^{-3}$	
$[Br_2]_F$	$2{,}10 \times 10^{-4}$	$2{,}42 \times 10^{-4}$	$2{,}17 \times 10^{-4}$	
V_A	20,95	21,00	21,00	
V_B	15,30	15,54	14,55	
% Enol	0,96	1,08	1,04	Mittel: 1,03%

4. Die Zeit-Potential-Kurven beim Dimedon (1,1-Dimethyl-cyclohexandion-(3,5).

Beim Dimethyl-dihydroresorcin haben wir überraschende Feststellungen gemacht. Zunächst diente als Trägerflüssigkeit C, wie bei allen bisherigen Versuchen, Wasser. Die Potential-Zeit-Kurve, die dabei erhalten wurde (Fig. 3), weicht von der üblichen Form (Fig. 1) nur wenig ab, obschon es bemerkenswert ist, dass das Anfangspotential von der 2. Hälfte an etwas anzusteigen beginnt, um dann erst später den steilen Sprung aufzuweisen. Die Titrationen zeigten, dass dieser Potentialsprung in dem Moment eintritt, bei welchem in der Mischkammer 1,90 Mol Brom auf ein Mol Dimedon auftreffen. Offenbar ist also Dibromierung eingetreten. Wie wird aber nun die Zahl von 190% verständlich? Ist alles Diketon zunächst monobromiert und 90% davon weiter dibromiert worden, oder haben sich 95% direkt dibromiert, während ein Rest von 5% unbromiert geblieben ist? Von diesen beiden Möglichkeiten kann nur die zweite die richtige Annahme sein. Der steile Potentialsprung beweist nämlich, dass auch in diesem Fall beim Passieren der Elektrode P die Bromierung eines sich schnell bromierenden Anteils der Substanz zum Abschluss gekommen ist. Der Potentialsprung stellt nicht einen zufälligen Punkt einer noch nicht zum Stillstand gekommenen Reaktion dar. Die Annahme, dass das Dimedon zu 100% enolisiert sei und zunächst zu 100% monobromiert wurde, worauf eine ebenfalls noch ziemlich schnelle Dibromierung eintrete, von der zufällig mit dem Potentialsprung der Punkt bei 90proz. Dibromierung erfasst wurde, kann den Kurvenverlauf keineswegs erklären. Auch die Annahme, dass das Monobromdimedon eben zu 90% enolisiert sei, ist zu verwerfen, denn dieses entsteht ja zunächst als Ketoform und die rasche Dibromierung beweist, dass diese selbst sehr rasch enolisiert und deshalb auch sehr rasch weiterbromiert wird. Daher müssen, ungeachtet des Gleichgewichtswertes [Monobromketon $\rightleftarrows$ Monobromenol], 100% des Monobromketons dibromiert werden. Die festgestellte Tatsache, dass beim Po-

tentialsprung 1,90 Mol Brom auf 1,00 Mol Dimedon kommen, kann nur bedeuten, dass das Dimedon zu 95 % rasch dibromiert wird, währenddem die restlichen 5 % viel langsamer mit Brom reagieren. Das Dimedon enthält somit einen Enolgehalt von 190/2 = 95 %. Diese Enolform wird unter den vorliegenden Bromierungsbedingungen direkt dibromiert.

A	Dimedon in 0,1-n. KCl			
B	30 cm³ „Bromid-Bromat" + 10 cm³ „H_2SO_4-Puffer" auf 110 cm³ aufgefüllt			
$[S]_A$	$3{,}57 \times 10^{-2}$	$3{,}44 \times 10^{-2}$	$3{,}44 \times 10^{-2}$	
$[Br_2]_F$	$5{,}03 \times 10^{-4}$	$4{,}93 \times 10^{-4}$	$4{,}88 \times 10^{-4}$	
V_A	19,00	19,30	18,48	
V_B	14,18	14,41	13,95	
% Bromaufnahme	190	192	190	
% Enol	95	96	95	Mittel: 95,3%

Um eine weitere Stütze für die oben gegebene Erklärung der Zeit-Potential-Kurve des Dimedons zu bekommen, haben wir verschiedene derartige Kurven aufgenommen und dabei jeweils die Zusammensetzung der Trägerflüssigkeit C geändert. Diese wurde nämlich mit puffernden Substanzen beschickt, so dass die Bromierung bei verschiedenen p_H-Werten zu erfolgen hatte. Ist die Trägerflüssigkeit Wasser, so wird die Acidität in der Mittelflüssigkeit durch den „H_2SO_4-Puffer" der Bromid-Bromatlösung B erzeugt und auf etwa $p_H = 2{,}0$ gehalten. Durch Zugabe von Acetat oder Phosphat zur Trägerflüssigkeit C kann man natürlich auch andere p_H-Werte innerhalb der Mischkammer, wo die Bromierung stattfindet, erzeugen und damit die Geschwindigkeit der verschiedenen, nebeneinander verlaufenden Reaktionen verändern. Einige der typischen derart erhaltenen Potential-Zeit-Kurven geben die Fig. 4 bis 9 wieder. Der in jedem Bild vermerkte p_H-Wert ist jeweils in der Mischung in C ermittelt worden und bedeutet somit den p_H-Wert, bei dem die Bromierung stattfindet. (Wir dürfen wohl annehmen, dass sich der p_H-Wert momentan einstellt, also rascher als die Bromierung erfolgt.) Die Abszisse der Bilder registriert die Zeit. Einige Pfeile geben aber an, wieviel Molprozente Brom in jenem Zeitpunkt auf ein Mol Dimedon kommen. Um das zu bestimmen musste die Operation jeweils in jenem Zeitpunkt unterbrochen und die Bestimmungsstücke V_A, V_B und $[Br_2]_F$ ermittelt werden. Zudem enthalten die Bilder gestrichelte Kurven. Im Zeitpunkt, wo die gestrichelte Kurve von der ausgezogenen abzweigt, ist die Strömung jeweils durch Schliessen eines Hahns in der Leitung zwischen M und P unterbrochen worden. Die gestrichelte Kurve gibt dann den Potentialverlauf von P nach diesem Unterbruch an, während also die Elektrode P in der nunmehr ruhenden Flüssigkeit liegt. In dieser gestrichelten Kurve spiegeln sich deshalb auch nachträglich vor sich gehende langsame Bromierungsreaktionen wieder.

Durch nur eine kleine Erhöhung des p_H-Wertes von 2 auf 2,95 erscheint in der Potential-Zeit-Kurve Fig. 4 ein neuer Sprung, der sich weiter ausbildet, wenn der p_H-Wert ansteigt. Beim p_H-Wert 4,65, Fig. 5, ist er so deutlich geworden, dass es leicht gelingt, genau an dieser Stelle die Strömung zu unterbrechen und das Mischungsverhältnis zu bestimmen. Dabei zeigt es sich, dass hier 100 Molprozente Brom auf ein Dimedon kommen und beim zweiten Potentialsprung genau doppelt so viel. Diese Werte von 100% beim ersten Potentialanstieg und 200% beim zweiten können auch bei p_H 5,5 und 6,8 bestätigt

werden. Die Dibromierung erfolgt also bei höheren p_H-Werten, im Gegensatz zu den stark sauren Lösungen, stufenweise. Hier kann man auch nach Angaben in der Literatur das Monobrom-dimedon fassen, was in sauren wässerigen Lösungen nicht gelingt. Dass 100 Molprozente und nicht 95 auf ein Dimedon beim ersten Sprung kommen, ist darauf zurückzuführen, dass wir uns bei p_H 4,65 bereits im Puffergebiet des Dimedons befinden, dieses also zum Teil schon als Enolat vorliegt. Im Puffergebiet ist ja auch die Einstellungsgeschwindigkeit des desmotropen Gleichgewichtes besonders gross, so dass das Enol nachgeliefert wird bei der Bromierung, bevor die Strömung die Elektrode passiert.

Nach Zugabe von 200 Molprozenten Brom spielen sich in der sauren Lösung bei p_H 2,0 und p_H 2,95 keine weiteren Vorgänge ab (konstantes Brompotential, gestrichelte Kurven a in den Fig. 3 und 4). Unterbricht man bei p_H 2,00 die Strömung mitten im Sprung, so wird natürlich durch Nachenolisieren der restlichen 5% Ketoform die kleine Menge des überschüssigen Broms gebunden und wir erhalten die fallende gestrichelte Kurve b in Fig. 3. Bei den p_H-Werten 4,65 und 5,50 werden in langsamer Folgereaktion noch mehr als 200% Brom verschluckt (gestrichelte Kurven Fig. 5 und 6), wobei Dimethylglutarsäure und Bromoform entstehen.

Je alkalischer die Lösung wird, desto undeutlicher erfolgt die Dibromierung, was sich in einer Verflachung des zweiten Potentialsprungs bei p_H 7,6 und 8,6 äussert. Offenbar erfolgen hier die Reaktionen der Dibromierung und der Aufspaltung zu Dimethylglutarsäure nebeneinander.

Der *Gesellschaft für chemische Industrie* in Basel danken wir bestens für die Überlassung grösserer Mengen Cyclohexanon und Oxythionaphtencarbonsäure.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

---

122. Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus.
3. Über den oxydativen Abbau der Aminosäuren im Gehirn

von **S. Edlbacher** und **O. Wiss.**

(6. VI. 44.)

Thunberg[1]) zeigte als Erster im Jahre 1923, dass *l*-Glutaminsäure durch Nervengewebe oxydiert wird. Weiterhin konnten *Quastel* und *Wheatley*[2]) sowie *H. A. Krebs*[3]) zeigen, dass Retina und Gehirngewebe bei Gegenwart von *l*-Glutaminsäure eine erhöhte Atmung bewirken. Endlich hat *Weil-Malherbe*[4]) 1936 dieselbe Frage bearbeitet und gefunden, dass die einzige Aminosäure, welche durch Gehirngewebe oxydiert wird, die *l*-Glutaminsäure sei. Das Enzym, welches für die Oxydation der *l*-Glutaminsäure zu α-Ketoglutarsäure verantwortlich ist, reagiert mit *d*-Glutaminsäure so lange nicht, als es an die Zelle gebunden ist. In wässriger Lösung kehrt sich die Spezifität des Enzyms um und nur *d*-Glutaminsäure wird oxydiert (vgl. jedoch weiter unten, S. 1072). Neben diesem oxydativen Abbau zu α-Ketoglutarsäure beschrieb *H. A. Krebs*[3]) eine Umwandlung von glutaminsaurem Am-

[1]) Skand. Arch. Physiol. **43**, 275 (1923).
[2]) Biochem. J. **26**, 2169 (1932).
[3]) Z. physiol. Ch. **217**, 191 (1933).
[4]) Biochem. J. **30**, 665 (1936).

monium zu Glutamin. In den vorhergehenden Mitteilungen von *S. Edlbacher* und *H. Grauer*[1]) wurden die Verhältnisse des oxydativen Aminosäure-Abbaues in der Niere zum Gegenstand einer Untersuchung gemacht, und es wurde der Schluss gezogen, dass wahrscheinlich verschiedene Enzyme für den Abbau der *l*-Aminosäuren in der Niere in Betracht kommen. *P. Karrer* und *H. Frank*[2]) haben es andererseits wahrscheinlich gemacht, dass auch für den Abbau der *d*-Aminosäuren, der ja nicht an die Zellstruktur gebunden ist, verschiedene Enzymsysteme vorhanden sind.

In seiner Arbeit über die Unterschiede zwischen dem Abbau der *l*- und *d*-Aminosäuren diskutiert nun *H. A. Krebs*[3]) die Möglichkeit, dass die *l*- und *d*-Aminosäure-oxydasen eventuell gewisse Komponenten gemeinsam haben. In der oben zitierten Arbeit mit *H. Grauer* wurde auf ähnliche Verhältnisse bereits hingewiesen. Dass der oxydative Abbau von *l*- und *d*-Aminosäuren unter Umständen manchmal durch das gleiche Enzym katalysiert werden kann, konnte der eine von uns (*E.*) gemeinsam mit *H. Grauer*[4]) am Beispiel der Histidinoxydase der Rattenleber zeigen. Hier liegt ein Fall vor, der beweist, dass tatsächlich *l*- und *d*-Histidin mit gleicher Intensität abgebaut werden. Immerhin besteht aber sonst zwischen dem Abbau von *l*- und *d*-Aminosäuren im tierischen Organismus ein grosser Unterschied. Schon *J. Wohlgemuth*[5]) konnte feststellen, dass bei Belastung von Tieren mit racemischen Aminosäuren ein grosser Teil der unnatürlichen *d*-Komponente sich aus dem Harn isolieren lässt. In Verfolgung dieser Untersuchungen haben dann *E. Abderhalden* und *Tetzner*[6]) gezeigt, dass bei Verabreichung von *d,l*-Alanin ein grosser Teil des *d*-Alanins aus dem Harn wieder isoliert werden konnte. Endlich sei in diesem Zusammenhang noch darauf hingewiesen, dass nach *V. du Vigneaud*, *M. Cohn*, *G. B. Brown* und *O. J. Irish*[7]) eine Umwandlung von *d*-Phenylamino-buttersäure in Acetyl-*l*-phenylamino-buttersäure vor sich geht. Von diesem speziellen Fall abgesehen, kann man die gegenwärtige Auffassung über den Abbau von *d*- und *l*-Aminosäuren dahin zusammenfassen, dass die Aminosäuren der natürlichen *l*-Reihe im allgemeinen nur durch ein Enzymsystem oxydativ abgebaut werden, welches an die Zellstruktur gebunden ist und welches durch 0,01-m. HCN gehemmt wird.

In der genannten Abhandlung beschreiben *Abderhalden* und *Tetzner* nun ein eigentümliches Phänomen, welches besonders bei Tauben auftritt, wenn man ihnen *d*-Alanin in grösseren Mengen einspritzt. Kurze Zeit nach der Injektion verfallen die Tiere in einen

---

[1]) Helv. **27**, 151 (1944). [2]) Helv. **23**, 948 (1940).
[3]) Biochem. J. **29**, 1620 (1933), speziell S. 1642.
[4]) Helv. **26**, 864 (1943). [5]) B. **38**, 2064 (1905).
[6]) Z. physiol. Ch. **232**, 79 (1935).
[7]) J. Biol. Chem. **131**, 273 (1939).

lähmungsartigen Zustand, der bei höheren Dosen zum Tode führen kann. Manchmal dauert dieses Phänomen über zwei Tage, und dann erholen sich die Tiere wieder vollkommen. Diese Beobachtung bildet den Ausgangspunkt für die vorliegenden Untersuchungen. Wir vermuteten zunächst, dass durch die Wirkung der sogenannten *d*-Aminosäure-oxydase in den Geweben besonders im Gehirn eine grössere Menge von Brenztraubensäure entsteht und nahmen an, dass die Tiere während des *Abderhalden*-Phänomens unter der Wirkung einer solchen Brenztraubensäure-Vergiftung ständen. Es würde also in dieser Richtung eine gewisse Ähnlichkeit mit der Beri-Beri vorliegen, bei der ja auch in den Organen eine Anhäufung von Brenztraubensäure stattfindet, die durch das Fehlen der Carboxylase bedingt ist. Wie wir weiter unten zeigen werden, ist aber eine solche Brenztraubensäure-Vergiftung nicht eindeutig zu beweisen. Wohl zeigten alle untersuchten Tiere eine Erhöhung der Brenztraubensäure im Gehirn, und es gelang uns auch bei Ratten und Meerschweinchen ähnliche Verhältnisse durch *d*-Alanin- und Brenztraubensäure-Injektion hervorzurufen. In vielen Fällen jedoch zeigten schon normale Tiere einen höheren Brenztraubensäure-Spiegel des Gehirns als die Tiere im *d*-Alanin-Schock. Es genügt also die einfache Annahme einer Brenztraubensäure-Vergiftung nicht, um das von *Abderhalden* beobachtete Phänomen zu erklären. Da aber der Zustand der Tiere anderseits deutlich auf eine zentrale Lähmung schliessen liess, unterzogen wir das Verhalten von *d*-Alanin unter dem Einfluss von Gehirngewebe einer Prüfung.

Wie oben erwähnt wurde, haben verschiedene Autoren angegeben, dass nur die *l*-Glutaminsäure im Gehirn oxydativ desaminiert wird. Wir konnten nun aber zu unserer Überraschung feststellen, dass ausser der *l*-Glutaminsäure unter geeigneten Bedingungen sowohl das *d*-Alanin als auch das *l*-Alanin von überlebenden Hirnzellen oxydativ desaminiert werden. Untersucht man unter den üblichen Bedingungen den Abbau von *d*- und *l*-Alanin durch Gehirnzellen, so ist derselbe nicht messbar. Erhöht man jedoch die Aminosäure-Konzentration oder die Enzym-Konzentration um ein Mehrfaches, so werden beide Antipoden deutlich abgebaut, und zwar ist der Abbau sowohl durch einen vermehrten Sauerstoff-Verbrauch als auch durch eine vermehrte Ammoniakbildung nachweisbar. Von einer Isolierung des Reaktionsprodukts der Desaminierung haben wir zunächst noch abgesehen. Es ist charakteristisch, dass bei den angewandten hohen Konzentrationen *d*-Alanin stärker abgebaut wird als die *l*-Modifikation. Auf Grund dieser Beobachtung scheint es uns wahrscheinlich, dass das *Abderhalden*'sche Phänomen darauf zurückzuführen ist, dass bei der hohen *d*-Alanin-Konzentration in den Geweben eine teilweise Blockierung normaler Stoffwechselvorgänge des Gehirns durch die unnatürliche Aminosäure eintritt und auf diesem Wege der Schock

zustande kommt. Gerade die Tatsache, dass in vitro *l*-Alanin immer deutlich geringer abgebaut wird als der Antipode weist darauf hin, dass *l*-Alanin nicht imstande ist, lebenswichtige Stoffwechsel-Reaktionen des Gehirns in vivo zu blockieren. Es liegt also hier ein Fall von sogenannter „Fixierungs-Spezifität" nach *Thunberg* vor. Ob es sich dabei um eine spezifische antipodische Hemmung handelt, wie sie von *S. Edlbacher* gemeinsam mit *H. Baur* und *M. Becker*[1]) für den Fall der Histidase nachgewiesen wurde, wird durch weitere Versuche zu klären sein. In diesem Sinn verweisen wir wieder auf die vorhin erwähnten Angaben von *H. A. Krebs*, der bezüglich der Aminosäuredesaminasen in der Niere auch die Möglichkeit gemeinsamer Enzym-Komponenten in Erwägung zog.

Verhalten von Tauben und Ratten nach Injektion von *d*-Alanin.

Es wurden durchschnittlich Dosen von 100—250 mg *d*-Alanin pro 100 g Tiergewicht intramuskulär in den Pectoralis in Form einer 10—15-proz. wässrigen Lösung injiziert. Bei geringer Reaktion wurde die Injektion wiederholt. Die Tauben verhielten sich unmittelbar nach der Injektion völlig normal. Als erstes abnormes Symptom zeigten die Tiere nach wenigen Minuten häufigen und verlangsamten Lidschlag. Nach ca. einer halben Stunde traten ataktische Symptome auf. Leichtes Schwanken steigerte sich allmählich zu schwersten Gleichgewichtsstörungen, so dass die Tiere sich an die Gitter anlehnten oder sich mit ausgebreiteten Flügeln am Boden stützten. Nach ca. einer Stunde legten sie sich hin und atmeten tief und stossartig. In vielen Fällen trat Würgen auf und geringe Mengen von grüner, schleimiger Flüssigkeit quoll aus dem Schnabel. Nach ca. 2—3 Stunden lagen die Tiere bewegungslos mit krampfartigen Atembewegungen und erloschenen Cornealreflexen. Je nach der Grösse der verabreichten Dosis verendeten die Tiere nach einigen Stunden, oder sie erholten sich, nachdem sie oft bis 48 Stunden die schwersten Symptome gezeigt hatten.

Brenztraubensäure-Bestimmung.

Gehirn, Herz und Leber wurden nach Töten des Tieres durch Decapitierung möglichst rasch entnommen und unter Eiskühlung verarbeitet. Leber und Herzmuskel wurden mit Quarzsand, Gehirn mit feinem Seesand verrieben. Nach Suspendierung des Breies in bestimmter Puffermenge (*Soerensen*-Phosphatpuffer 0,067-m., $p_H = 7{,}0$) liess sich durch Zentrifugieren der Extrakt vom Bodensatz gut trennen. Man versetzt nun 2 cm³ des Extraktes mit 1 cm³ 30-proz. Trichloressigsäure und bestimmt den Brenztraubensäure-Gehalt nach der Salicylaldehyd-Methode von *Straub*[2]). Wir haben 15 Tauben in moribundem Zustand untersucht und in Gehirn, Herzmuskel und Leber den Brenztraubensäuregehalt in der angegebenen Weise bestimmt. Der Vergleich mit den entsprechenden Werten einer Anzahl normaler Tauben ergibt folgende Gegenüberstellung.

Tabelle 1a.

Tauben normal Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Durchschnitt
a) Gehirn . .	* 0,14	0,09	0,10	0,07	0,12	0,36	0,12	0,17	0,17	0,15 mg
b) Herzmuskel	* 0,20	0,12	0,25	0,38	0,28	0,64	0,19	0,19	0,60	0,32 mg
c) Leber . . .	* 0,68	0,53	0,37	1,50	1,10	1,10	0,62	1,30	0,77	0,89 mg

* mg Brenztraubensäure pro g Organ.

[1]) Z. physiol. Ch. **265**, 61 (1940). [2]) Z. physiol. Ch. **244**, 117 (1936).

Tabelle 1b.

Tauben gespritzt Nr.	10	11	12	13	14	15	16	17
Injektion von mg *d*-Alanin pro 100 g Gewicht	100	230	150	150	137	150	200	100 2 mal
a) Gehirn	*0,20	0,24	0,24	0,20	0,24	0,10	0,16	0,22
b) Herzmuskel . .	*0,36	0,34	0,46	0,45	0,60	0,26	0,63	0,44
c) Leber	*0,88	0,88	1,20	1,1	1,1	0,75	1,3	1,0

Tauben gespritzt Nr.	18	19	20	21	22	23	Durchschnitt
Injektion von mg *d*-Alanin pro 100 g Gewicht	250	200	200 2 mal	200	200	200	
a) Gehirn	*0,17	0,29	0,38	0,39	0,19	0,24	0,23
b) Herzmuskel . .	*0,47	0,32	0,64	0,39	0,40		0,44
c) Leber	*0,59	0,49	0,92	0,9	0,77		0,91

Tauben gespritzt Nr.	24	25	26	Durchschnitt
Injektion von mg Natrium-Pyruvinat pro 100 g Gewicht	500	558	590	
a) Gehirn	*0,17	0,22	0,24	0,21
b) Herzmuskel . .	*0,54	0,64	0,31	0,50
c) Leber	*1,50	0,75	0,47	0,90

* mg Brenztraubensäure pro g Organ

Wir fanden im Durchschnitt bei normalen Tauben einen Brenztraubensäure-Gehalt des Gehirns von 0,15 mg pro g Gehirn, bei den gespritzten hingegen 0,23 mg pro g Gehirn. Wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, schwanken jedoch die Werte erheblich. Es lässt sich keine eindeutige Relation zwischen der Intensität der Krankheitserscheinungen und dem Brenztraubensäure-Gehalt des Gehirns feststellen. So zeigen einzelne normale Tiere, die unter anderen Lebensbedingungen gestanden hatten, höhere Brenztraubensäure-Werte als gespritzte Tiere. Bei einigen Tieren haben wir Natriumpyruvinat in Dosen von 600—800 mg pro 100 g Tiergewicht injiziert. Sie verhielten sich wie jene, die mit 200—300 mg *d*-Alanin behandelt waren.

Wichtig ist die Tatsache, dass Tiere, denen entsprechende Dosen von *l*-Alanin und *d*-Valin verabreicht wurden, keine auffallenden Symptome zeigten.

Die Brenztraubensäure-Werte des Herzmuskels und der Leber ergeben keine Anhaltspunkte für die Erklärung des Phänomens.

Wir haben auch versucht, dieses Phänomen beim Säuger hervorzurufen. Bei Ratten und Meerschweinchen waren sehr hohe Dosen, d. h. ca. 700 mg pro 100 g Tiergewicht notwendig. Die Tiere zeigten schwerste ataktische Erscheinungen, Lähmungen der Extremitäten und krampfartige Zuckungen der Körpermuskulatur. Da die Injektion solcher hohen Dosen und auch die Belastung mit den dazu nötigen Flüssigkeitsmengen an und für sich schwerwiegende Eingriffe bedeuten, lässt sich keine einheitliche Deutung geben. Es können

aber auch in Hinsicht auf den Säuger die Ergebnisse *Abderhalden*'s bestätigt werden. Eine Beeinflussung des Brenztraubensäure-Gehaltes des Gehirns liess sich bei der Ratte nicht nachweisen.

Atmungsversuche am Gehirn.

Für alle Versuche wurde sogenannter Hackbrei verwendet. Einerseits ist es sehr schwierig, das Gehirn der Ratte zu gleichmässigen Schnitten zu verarbeiten, andererseits ist die Herstellung eines gleichmässigen Hackbreies deshalb von Vorteil, weil dieser im Gegensatz zu Organschnitten in viel höheren Konzentrationen für die Versuche verwendet werden kann. Der Vergleich unserer Ergebnisse mit Hackbrei mit demjenigen anderer Autoren, die mit Hirnschnitten arbeiteten, zeigte bezüglich der Abbaugrösse eine gute Übereinstimmung. Dieser Hackbrei wurde in folgender Weise hergestellt: Das frisch entnommene Rattenhirn wurde mit dem Messer eines Mikrotoms auf einer Holzunterlage durch gleichmässiges Schlagen zu einem feinen Brei zerhackt. Dieser Brei wurde dann in der zehnfachen Menge Phosphatpuffer $p_H = 7{,}0$ suspendiert und mit der Pipette in einzelne Portionen unterteilt. Das mehrmalige Auswaschen des Hackbreies bewirkte eine weitgehende Reduktion der Leeratmung. Dadurch konnte die Steigerung des Sauerstoff-Verbrauches nach Substrat-Zusatz genauer gemessen werden. Der Hackbrei wurde gewogen und nach dem Waschen wurde er in der gleichen Puffermenge suspendiert. Von dieser Suspension wurde jeweils die in den Versuchen angegebene Menge verwendet. Bei Versuchen mit hoher Enzym-Konzentration wurde ausgewaschener Hackbrei ohne Phosphatpuffer in die *Warburg*-Gefässe pipettiert.

Tabelle 2.

Ratten normal Nr.	1	2	3	4	5	6	Durchschnitt
a) Gehirn	*0,18	0,16	0,18	0,18	0,17	0,18	0,175
b) Herzmuskel . .	*	0,45	0,50		0,39	0,42	
c) Leber	*	0,80	0,86		0,70	0,70	
Ratten gespritzt Nr.	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	
Injektion von mg *d*-Alanin pro 100 g Gewicht	750	190	850	840	800	800	400	600	
a) Gehirn	*0,11	0,17	0,16	0,13	0,14	0,17	0,18	0,18	0,155
b) Herzmuskel . .	*0,42	0,29							
c) Leber	*0,55	0,61							

* mg Brenztraubensäure pro g Organ

Die einzelnen Gehirnteile zeigten verschiedene Atmungswerte. So zeigte die Grosshirn-Hemisphäre bei Leeratmung nach einer Stunde einen Quotienten O_2 von 9,8, Stamm und Kleinhirn unter gleichen Verhältnissen einen Quotienten O_2 von 5—7. Aus diesem Grunde wurde jeweils das ganze Hirn zu Hackbrei verarbeitet und der Brei homogen gemischt. Die gefundenen Werte stimmen grössenordnungsweise mit denen von *Weil-Malherbe* überein. Wird nun der Hackbrei wie oben angegeben, dreimal mit Phosphatpuffer ausgewaschen, so lässt sich der Quotient O_2 der Leeratmung auf ca. 1 reduzieren. Alle in der Folge angegebenen Versuche sind mit solchem ausgewaschenem Hackbrei durchgeführt. Ursprünglich wurde der Sauerstoff-Verbrauch auf das Trockengewicht des Hackbreies bezogen. Da aber bei Parallelbestimmungen die Schwankungen des Sauerstoff-Verbrauchs in bezug auf Trockengewicht oder auf eine bestimmte pipettierte Menge des

Hackbreies gleich gross waren, wurde in der Folge immer nur auf das Volumen der Hackbrei-Suspension Bezug genommen.

Zur Ausführung der Versuche wurden gewöhnliche *Warburg*-Manometer verwendet. Die neutrale Lösung der Aminosäuren wurde mit Phosphatpuffer $p_H = 7{,}0$ verdünnt und in den Hauptraum gegeben. Dann wurde so viel der gleichen Phosphatpufferlösung zugegeben, dass in allen Gefässen gleiches Flüssigkeitsvolumen vorhanden war. Es hat sich als praktisch erwiesen, die Substrate direkt in den Hauptraum einzufüllen und nicht erst nach einer 10 Minuten langen Temperatur-Ausgleichsperiode von der seitlichen Ansatzbirne in den Hauptraum zu kippen. Die Atmungssteigerung durch Substratzusatz kam auf diese Weise deutlicher zum Ausdruck, da sie nicht sofort maximal einsetzte. Unmittelbar vor Beginn des Versuches wurde der frisch bereitete Hirnhackbrei mit der Pipette eingefüllt. In den mittleren Einsatz wurde 0,2 cm³ n. KOH-Lösung pipettiert. Im Gasraum befand sich Sauerstoff. Die Versuchstemperatur betrug 38°. Es wurde nach einer 10 Minuten langen Temperaturausgleichsperiode mit der Messung begonnen. Die Versuchsdauer erstreckte sich immer auf eine Stunde. Je nach der Grösse des Sauerstoff-Verbrauches wurde in Abständen von 15 oder 30 Minuten abgelesen. Die Menge und Konzentration der verwendeten Hackbrei-Suspension sowie des Gesamtflüssigkeitsvolumens ist bei den einzelnen Versuchen angegeben. Die dort angegebene Konzentration der Aminosäuren betrifft die Endkonzentration, bezogen auf das Gesamtflüssigkeitsvolumen.

Tabelle 3.

Atmungssteigerung durch *l*-Glutaminsäure, *d*-Alanin und *l*-Alanin bei kleinen Enzymkonzentrationen.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 2,5 cm³

Ausgewaschener Hirn-Hackbrei mit gleichem Volumen Puffermenge versetzt und je 0,5 cm³ davon pro Ansatz.

Enzym cm³	Substrat	O_2-Verbrauch in mm³ nach 60 Minuten	O_2-Verbrauch abzüglich Leeratmung
0,5	0	47	
0,5	*l*-Glutaminsäure m/1600	107	60
0,5	*l*-Glutaminsäure m/400	156	109
0,5	*l*-Glutaminsäure m/100	193	146
0,5	*l*-Glutaminsäure m/25 .	262	215
0,5	*l*-Glutaminsäure m/6,25	341	294
0,5	0	55	
0,5	*d*-Alanin m/128 . . .	53	– 2
0,5	*d*-Alanin m/32	105	50
0,5	*d*-Alanin m/8	118	63
0,5	*d*-Alanin m/2	122	67
0,5	*d*-Alanin m	100	45
0,5	0	55	
0,5	*l*-Alanin m/32	51	– 4
0,5	*l*-Alanin m/8	72	17
0,5	*l*-Alanin m/2	81	26
0,5	*l*-Alanin m	90	35
0,5	*l*-Alanin m/0,75 . . .	75	20

Es ergibt sich aus den obigen Versuchen, dass parallel mit der Steigerung der *l*-Glutaminsäure-Konzentration eine Steigerung des Sauerstoff-Verbrauchs stattfindet. Steigerung der *d*- und *l*-Alanin-Konzentration ergibt bei einer bestimmten Konzentration einen maximalen Sauerstoffverbrauch.

Tabelle 4.

Konkurrenzversuche zwischen *d*-Alanin und *l*-Alanin
Versuchsanordnung wie unter Tabelle 3

Enzym cm³	Substrat	O_2-Verbrauch in mm³ nach 60 Minuten	O_2-Verbrauch abzüglich Leeratmung
0,5	0	71	
0,5	*d*-Alanin 0,025-m. .	119	48
0,5	*l*-Alanin 0,20-m. .	86	15
0,5	*d*-Alanin 0,025-m. + *l*-Alanin 0,20-m.	131	60

Bei mittleren Konzentrationen von *d*- und *l*-Alanin addieren sich die verbrauchten Sauerstoffbeträge, d. h. also dass keine kompetitive Hemmung eintritt.

Tabelle 5.

Konkurrenzversuche zwischen *d*- und *l*-Alanin bei hoher Substratkonzentration.
Versuchsanordnung wie unter Tabelle 3.
Der Hackbrei wurde jedoch in 1,5-facher Puffermenge suspendiert.

Enzym cm³	Substrat	O_2-Verbrauch in mm³ nach 60 Minuten	O_2-Verbrauch abzüglich Leerwert
0,5	0	39	
0,5	*d*-Alanin 0,04-m.	89	50
0,5	*l*-Alanin m.	68	29
0,5	*d*-Alanin 0,04-m. + *l*-Alanin m.	77	38

Aus diesem Versuch ergibt sich, dass bei hoher Substrat-Konzentration eine Konkurrenz um den Sauerstoff eintritt.

Tabelle 6.

Konkurrenz zwischen *l*-Glutaminsäure und *l*-Alanin.
Versuchsanordnung wie unter Tabelle 3.

Enzym cm³	Substrat	O_2-Verbrauch in mm³ nach 60 Minuten	O_2-Verbrauch abzüglich Leeratmung
0,5	0	67	
0,5	*l*-Glutaminsäure 0,002-m. . . .	137	70
0,5	*l*-Alanin m.	121	54
0,5	*l*-Glutaminsäure 0,002-m. + *l*-Alanin m.	147	80
0,5	*l*-Glutaminsäure 0,2-m.	300	233
0,5	*l*-Alanin 0,1-m.	74	7
0,5	*l*-Glutaminsäure 0,2-m. + *l*-Alanin 0,1-m.	252	185

Es ergibt sich deutlich, dass *l*-Glutaminsäure und *l*-Alanin dann um den Sauerstoff konkurrieren, wenn die Konzentration einer der beiden Aminosäuren hoch gewählt wird.

Tabelle 7.

Konkurrenzversuche zwischen *l*-Glutaminsäure und *d*-Alanin.
Versuchsanordnung wie unter Tabelle 3.
Gesamtflüssigkeitsvolumen 4 cm³.

Enzym cm³	Substrat	O_2-Verbrauch in mm³ nach 60 Minuten	O_2-Verbrauch abzüglich Leeratmung
0,5	0	57	
0,5	*l*-Glutaminsäure 0,002-m. . . .	134	77
0,5	*d*-Alanin 0,1-m.	137	80
0,5	*l*-Glutaminsäure 0,002-m. + *d*-Alanin 0,1-m.	208	151

Bei niedrigen Konzentrationen von *l*-Glutaminsäure und mittleren Konzentrationen von *d*-Alanin addiert sich der Sauerstoffverbrauch.

Tabelle 8.

Konkurrenzversuch zwischen *l*-Glutaminsäure und *d*-Alanin bei hohen Konzentrationen.
Versuchsanordnung wie unter Tabelle 3.
Gesamtflüssigkeitsvolumen 4 cm³.

Enzym cm³	Substrat	O_2-Verbrauch in mm³ nach 60 Minuten	O_2-Verbrauch abzüglich Leerwert
0,5	0	57	
0,5	*l*-Glutaminsäure 0,2-m.	349	292
0,5	*d*-Alanin 0,1-m.	137	80
0,5	*l*-Glutaminsäure 0,2-m. + *d*-Alanin 0,1-m.	316	259
0,5	*l*-Glutaminsäure 0,002-m. . . .	134	77
0,5	*d*-Alanin 0,67-m.	96	39
0,5	*l*-Glutaminsäure 0,002-m. + *d*-Alanin 0,67-m.	116	59

Im Gegensatz zu Tabelle 7 ergibt sich, dass bei hoher Konzentration von *l*-Glutaminsäure und mittlerer Konzentration von *d*-Alanin eine Konkurrenz eintritt, und dass bei niederen Konzentrationen von *l*-Glutaminsäure und hoher Konzentration von *d*-Alanin ebenfalls eine Konkurrenz um den Sauerstoff eintritt. Die in den Tabellen 3 bis 8 aufgeführten Resultate liessen sich durch häufig wiederholte Versuche immer wieder bestätigen.

Aus all diesen Versuchen ergibt sich also, dass bei Steigerung der Konzentration einer der beiden Aminsoäuren eine Konkurrenz um den Sauerstoff stattfindet. Nur bei niederen Konzentrationen der Substrate findet ein additiver Sauerstoff-Verbrauch statt. Auf die Deutung dieser Erscheinung wird erst später eingegangen werden.

Tabelle 9.

Atmungssteigerung und Ammoniakbildung durch *l*-Glutaminsäure, *d*-Alanin und *l*-Alanin bei hohen Enzymkonzentrationen.

Der ausgewaschene Hackbrei wurde ohne Puffergemisch pipettiert. Gesamtflüssigkeitsvolumen 4 cm³.

Enzym cm³	Substrat	O_2-Verbrauch in mm³ nach 60 Minuten	O_2-Verbrauch abzüglich Leerwert	Ammoniak-Bildung	Ammoniakbildung abzüglich Leerwert
1,0	0	214		32 γ	
1,0	*l*-Glutaminsäure m/100	549	335	70 γ	38 γ
1,0	*d*-Alanin m/100 . . .	300	86	55 γ	23 γ
1,0	*l*-Alanin m/10	293	79	44 γ	12 γ

In wiederholten Versuchen steigerte 0,01-m. *l*-Glutaminsäure den Sauerstoff-Verbrauch durchschnittlich um 200%. Die Werte schwankten zwischen 140—320%.

Durch 0,01-m. *d*-Alanin liess sich die Atmung des Hackbreies durchschnittlich um 42% steigern. Die Werte schwankten zwischen 28—65%. Es hat sich als notwendig erwiesen, *l*-Alanin in 0,1-m. Konzentration zuzusetzen, um eine Atmungssteigerung deutlich sichtbar zu machen. Es ergab sich so eine Steigerung des Sauerstoff-Verbrauches von durchschnittlich 35%, bei Schwankungen von 32—48%.

In den in Tabelle 9 angeführten Versuchen sind auch die Ammoniakwerte angegeben. Die Ammoniakbestimmung geschah nach der Methode von *Conway*, in der bei *H. Grauer* (l. c.) angegebenen Modifikation.

Zunächst geht aus der Tabelle 9 hervor, dass bei allen drei untersuchten Aminosäuren eine deutliche Bildung von Ammoniak stattfindet. Da aber alle Versuche ohne Zusatz irgendwelcher Hemmkörper ausgeführt wurden, ist es sehr wahrscheinlich, dass ein Teil der primären Desaminierungsprodukte einer weiteren Oxydation anheimfiel. Weiterhin ist es möglich, dass ein Teil des gebildeten Ammoniaks zu irgendeiner Umaminierungsreaktion unbekannter Natur verbraucht wurde. Es lässt sich demnach unter den hier gewählten Versuchsbedingungen noch keine einheitliche Beziehung zwischen Sauerstoff-Verbrauch und Ammoniak-Bildung feststellen. Sicher bewiesen ist durch diese Versuche, dass eine oxydative Desaminierung stattfindet.

Tabelle 10.

Im Zähler ist der Sauerstoff in mm³, im Nenner das Ammoniak in mm³ angegeben.

m/100 *l*-Glutaminsäure .	309/37	335/52	315/36	300/37	210/47	340/154
m/100 *d*-Alanin	73/17	86/30	87/15	59/22	78/32	
m/100 *l*-Alanin	83/16	79/17	46/8	51/13	64/5	

Weil-Malherbe gibt in seiner Mitteilung an (l. c. und zwar auf S. 667), dass „*l*(+)-Glutaminic acid is the only amino-acid oxidised in brain". Er hat bei zwölf anderen natürlichen *l*-Aminosäuren keinerlei Abbau gefunden. Die oben mitgeteilten Beobachtungen über den Abbau von *d*- und *l*-Alanin durch Gehirn-Hackbrei liessen uns demnach die Frage des Abbaues weiterer Aminosäuren im Gehirn einer neuerlichen Prüfung unterwerfen. Nun hat *Weil-Malherbe* seine Untersuchungen mit Gehirn-Schnitten durchgeführt,

währenddem wir mit Gehirn-Hackbrei arbeiteten. Es ist tatsächlich kaum möglich, einen Abbau anderer Aminosäuren als von *l*-Glutaminsäure bei Verwendung von Schnitten nachzuweisen. In Erweiterung der Versuche von *Weil-Malherbe* untersuchten wir deshalb eine Anzahl von *l*- und *d*-Aminosäuren bezüglich ihres oxydativen Abbaues durch Gehirn-Hackbrei und -Extrakt. Und zwar wurde nicht nur der Sauerstoff-Verbrauch gemessen, sondern es wurde auch immer das auftretende Ammoniak nach der *Conway*-Methode bestimmt. Dabei ergaben sich zwischen den einzelnen Aminosäuren grosse Unterschiede, indem bei manchen Aminosäuren der Sauerstoff-Verbrauch sehr gering oder fast nicht messbar, jedoch eine deutliche Ammoniak-Mehrbildung feststellbar war. Bei anderen Aminosäuren wieder war sowohl Ammoniak-Bildung als Sauerstoff-Verbrauch feststellbar. Es wurden ausser dem schon genannten *l*- und *d*-Alanin noch *l*- und *d*-Glutaminsäure, *l*- und *d*-Asparaginsäure, *l*- und *d*-Valin und *l*- und *d*-Leucin untersucht. Bei all diesen Aminosäuren liess sich ein Abbau feststellen (siehe Tabellen 12 und 13 weiter unten).

Zur Bereitung des Extraktes wurden die gewogenen Gehirne mit viel Seesand verrieben und der Brei in der doppelten Puffermenge suspendiert und 15 Minuten lang zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde verwendet.

Titration des Ammoniaks nach *Conway*.

Die Titration wurde in der in der Arbeit mit *H. Grauer* beschriebenen Bürette und zwar unter Verwendung von ca. m/300 Bariumhydroxyd durchgeführt. Als Indikator diente der Mischindikator Methylrot/Methylenblau. Bei Verwendung der obigen Bariumhydroxyd-Konzentration entspricht z. B. ein Teilstrich der Bürette = 1 mm³, also ca. 0,06 γ Ammoniak. Man kann deshalb unter Berücksichtigung des Pipetten-Fehlers mit einer Genauigkeit von $\pm$ 1 γ das Ammoniak titrieren. Die Ammoniakwerte für einzelne Aminosäuren sind nur sehr gering, sie betragen oft nur wenige Gamma. Durch vielfache Wiederholung bei verschiedensten Konzentrationen haben wir uns überzeugt, dass die geringe zusätzliche Ammoniakbildung bei stattfindender Desaminierung regelmässig auftritt. Wir haben in Kontrollversuchen festgestellt, dass ohne Enzym-Zusatz kein wesentlicher Sauerstoff-Verbrauch und vor allem keine messbare Ammoniakbildung auftritt. Die gefundenen Grössen des Sauerstoff-Verbrauchs bzw. der Ammoniak-Bildung sind also unbedingt auf den enzymatischen Abbau der zugesetzten Aminosäuren zu beziehen. In der folgenden Tabelle 11 sind solche Leerwertversuche mitgeteilt. Sie zeigen tatsächlich, dass die Proben ohne Enzym reaktionslos sind.

Tabelle 11.

Leerkontroll-Versuche.

Gesamtflüssigkeitsvolumen 3 cm³.

Aminosäure	Mol	mm³ O_2	O_2 abzüglich Leeratmung	γ NH_3-Bildung	NH_3-Bildung abzüglich Leerwert γ
		– 32		1,9	
l-Alanin	0,25	– 14	18	3	1,1
l-Valin	m/10	– 29	3	2	0,1
l-Leucin	m/10	– 28	4	1,8	– 0,1
d-Asparaginsäure .	m/10	– 23	9	1,6	– 0,3
d-Alanin	m/100	– 25	7	2	0,1
d-Valin	m/25	– 11	21	2,7	0,8
d-Leucin	m/10	– 15	17	1,6	– 0,3
l-Asparaginsäure .	m/10	– 7	25	3,3	1,4

Tabelle 12.
Hackbrei.
Gesamtflüssigkeitsvolumen 4 cm³.

Aminosäure	Hackbrei cm³	Mol	mm³ O_2	O_2 abzüglich Leeratmung	γ NH_3-Bildung	NH_3-Bildung abzüglich Leerwert γ
	1,0		290		50,5	
l-Alanin	1,0	m/10	318	28	58,5	8
l-Valin	1,0	m/10	289	– 1	60,5	10
l-Leucin	1,0	m/10	248	– 42	54,5	4
d-Asparaginsäure .	1,0	m/10	233	– 57	61	10,5
d-Alanin	1,0	m/100	340	50	77,5	27
d-Valin	1,0	m/25	323	33	75	24,5
d-Leucin	1,0	m/10	288	– 2	76	25,5
l-Asparaginsäure .	1,0	m/10	280	– 10	72	21,5
d-Glutaminsäure .	1,0	m/10	181	– 109	33,5	– 17
l-Glutaminsäure .	1,0	m/100	571	281	78,5	28

Tabelle 13.
Extrakt
Gesamtflüssigkeitsvolumen 3 cm³.

Aminosäure	Extrakt cm³	Mol	mm³ O_2	O_2 abzüglich Leeratmung	γ NH_3-Bildung	NH_3-Bildung abzüglich Leerwert γ
	1,5	m/4	127		71,5	
l-Alanin	1,5	m/4	123	– 4	77,5	6
l-Valin	1,5	m/10	105	– 22	74	2,5
l-Leucin	1,5	m/10	111	– 16	75,5	4
d-Asparaginsäure .	1,5	m/10	90	– 37	96	44,5
d-Alanin	1,5	m/100	130	3	92,5	21
d-Valin	1,5	m/25	136	9	94,5	23
d-Leucin	1,5	m/10	123	– 4	94,5	23
l-Asparaginsäure .	1,5	m/10	96	– 31	85,5	14
d-Glutaminsäure .	1,5	m/10	108	– 19	72	0,5
l-Glutaminsäure .	1,5	m/10	113	– 14	71,5	0

In den angeführten Zahlenreihen sind in der 4. und 5. Kolonne die Sauerstoffwerte und in der 6. und 7. Kolonne die Ammoniakwerte bei wechselnder Substratkonzentration angegeben. Es hat sich gezeigt, dass mit steigender Substrat- oder Enzym-Konzentration bei Alanin, Valin, Leucin und Asparaginsäure sowohl beim Abbau der *l*- als auch der *d*-Formen und bei *l*-Glutaminsäure die Ammoniakwerte ansteigen, die Sauerstoffwerte hingegen variieren, denn es liegen hier ganz komplizierte Konkurrenzerscheinungen zwischen dem Aminosäure-Abbau und der Leeratmung vor.

Es wurde schon in der ersten Mitteilung gemeinsam mit *H. Grauer* und zwar speziell auf S. 161 auf ähnliche Verhältnisse hingewiesen. Wie schon *Weil-Malherbe* zeigte, hemmt *d*-Glutaminsäure die Sauerstoffzehrung der Leeratmung in deutlicher Weise. Diese

Hemmung der Leeratmung im Hackbrei wird von uns ebenfalls gefunden. Ausserdem gibt der Autor an, dass Ochsenhirn-Extrakt in Veronalpuffer einen leichten Abbau der *d*-Glutaminsäure bewirkt. Es ist aus unseren Versuchen auch ersichtlich, dass das aus dem Gehirnbrei selbst immer entstehende Ammoniak bei Zusatz von *d*-Glutaminsäure verringert ist. *d*-Glutaminsäure hemmt also sowohl den Sauerstoff-Verbrauch als die Ammoniak-Bildung aus Gehirnbrei, währenddem unsere Versuche mit Rattenhirn-Extrakt in dieser Hinsicht nicht eindeutig sind. Dadurch unterscheidet sich *d*-Glutaminsäure von allen anderen untersuchten in charakteristischer Weise. Die komplizierten Konkurrenzerscheinungen, bei dem gleichzeitigen Abbau verschiedener Aminosäuren, über deren erstes Beispiel wir im Obenstehenden berichtet haben, werden wir weiter untersuchen, desgleichen werden wir die Versuche auf andere Aminosäuren ausdehnen.

Monoamino-monocarbonsäuren einerseits und Monoamino-dicarbonsäuren andererseits bilden zwei Gruppen von Aminosäuren, die sich in gewisser Hinsicht gegenteilig verhalten. Vergleicht man die Abbauverhältnisse zwischen Hirn und Niere, so findet man ähnliche Verhältnisse. Nur sind in der Niere die Abbau-Vorgänge alle viel intensiver als im Gehirn. Eine ausführliche Klärung dieser Verhältnisse wird in einer späteren Mitteilung erfolgen.

Bezüglich der Klärung des *Abderhalden*'schen *d*-Alanin-Phänomens lässt sich auf Grund unserer bisherigen Versuche wohl mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit aussagen, dass durch die Überschwemmung des Organismus mit der unnatürlichen Aminosäure wichtige Stoffwechsel-Vorgänge blockiert werden. Es ist sehr wahrscheinlich, dass durch die Konkurrenz um den Sauerstoff der Schock zustande kommt. Welche Reaktionen durch das *d*-Alanin beeinflusst werden, lässt sich aber aus den bisherigen Versuchen noch nicht schliessen. Ob eine einfache Hemmung des Abbaues der natürlichen Aminosäure durch die Überschwemmung mit dem unnatürlichen Antipoden eintritt, wie das von uns eindeutig am Beispiel der Histidase nachgewiesen wurde, kann noch nicht entschieden werden. Gemeinsam mit *E. A. Zeller* konnten wir früher[1]) zeigen, dass die in der Natur auftretende Arginase bei Steigerung der Enzymkonzentration auch befähigt ist, das unnatürliche Arginin abzubauen. Ob solche Verhältnisse auch im Gehirn bezüglich der untersuchten Aminosäuren bestehen, muss erst erwiesen werden. Teilweise sprechen unsere bisherigen Beobachtungen dafür, teilweise aber lassen sich gegen eine solche Anschauung auch Einwände erheben.

Gegenüber dem starken Abbau der *l*-Glutaminsäure sind die Abbauwerte für Alanin, Valin, Leucin und Asparaginsäure relativ gering. Besonders fällt dies bei den *l*-Formen dieser Aminosäuren auf.

---

[1]) Z. physiol. Ch. **242**, 253 (1936).

die erst in m/10 Konzentration messbare Abbauwerte ergaben. Demnach bleibt die von *Weil-Malherbe* vertretene Anschauung über die Vorzugsstellung der *l*-Glutaminsäure beim Stoffwechsel des Gehirns im Prinzip bestehen. Es ist aber für die Erkenntnis des Stoffwechsels des Gehirns und für das Vorkommen der Aminosäure-oxydasen von grosser Bedeutung, dass hier gezeigt werden konnte, dass bei Wahl geeigneter Versuchsbedingungen eine ganze Anzahl von Aminosäuren abgebaut werden kann. Es bestehen dafür zwei Erklärungsmöglichkeiten: Entweder sind tatsächlich auch im Gehirn mehrere Aminosäure-oxydasen vorhanden, von denen die *l*-Glutaminsäure-oxydase dominiert, oder es liegen die Verhältnisse so, dass eine universelle Aminosäure-oxydase bei variierten Konzentrationsverhältnissen auch mit anderen Aminosäuren reagieren kann. Auf Grund der Untersuchungen, die wir gemeinsam mit *H. Grauer* am Nierengewebe unter dem Einfluss verschiedener Inhibitoren durchgeführt haben, könnte man durch Analogieschluss sagen, dass auch im Gehirn wahrscheinlich verschiedene Aminosäure-oxydasen vorhanden sind. Auf Grund unserer mitgeteilten Untersuchungen über Arginase und Histidase könnte man andererseits annehmen, dass ein universelles Enzym für den Abbau aller Aminosäuren im Gehirn verantwortlich zu machen ist.

Zusammenfassung.

1) Das von *Abderhalden* und *Tetzner* beschriebene Schock-Phänomen nach Verabreichung von *d*-Alanin wird bestätigt.

2) In Erweiterung der Versuche von *Weil-Malherbe* wird gezeigt, dass im Gehirn nicht nur *l*-Glutaminsäure, sondern auch *l*- und *d*-Alanin, *l*- und *d*-Valin, *l*- und *d*-Leucin und *l*- und *d*-Asparaginsäure oxydativ desaminiert werden.

3) Die oxydative Desaminierung der unter 2 genannten Aminosäuren lässt sich eindeutig an der Bildung des Ammoniaks beobachten, während der Sauerstoff-Verbrauch von komplizierten Konkurrenz-Verhältnissen abhängig ist.

Basel, im Juni 1944.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität.

123. Polarographische Natriumbestimmung in Aluminium und Aluminiumlegierungen

von P. Urech und R. Sulzberger.

(8. VI. 44.)

Zu den das technische Aluminium begleitenden Spurenelementen gehört auch das Natrium. Bei den eutektischen Aluminium-Silicium-Legierungen wird es absichtlich zur Legierungsschmelze zugesetzt und bewirkt eine auffällige Kornverfeinerung des Gussgefüges. *Scheurer*[1]) gibt an, dass veredeltes Silumin einen Natriumgehalt von 0,01 % aufweise; bei Natriumgehalten unter 0,003 % sei das Material unveredelt; bei 0,015 % Na „überveredelt". *Brook*[2]) sagt, dass Handels-Aluminium einen Natriumgehalt von 0,001–0,008 % aufweise, während bei Aluminium-Silicium-Legierungen derselbe von 0,005–0,04 % variieren könne. *Ginsberg*[3]), „Leichtmetallanalyse", erwähnt im Kapitel über Natriumbestimmung, dass dessen Gehalt in technischen Aluminiumsorten einige Hundertstelprozent betragen könne. Als Untersuchungsmethoden wurden von diesen und anderen Autoren die klassischen gravimetrischen Verfahren angewandt.

Ausser den Genannten haben *Bridge* und *Lee*[4]) das sogenannte Ausschmelzverfahren angewandt, das darauf beruht, dass das Metall über seinen Schmelzpunkt erhitzt wird, wobei sich angeblich das Natrium an der Oberfläche abscheiden bzw. (bei *Scheurer*) verdampfen soll. Nach gründlicher Extraktion mit Wasser wird das gebildete Natriumhydroxyd durch Titration mit Säure ermittelt.

Von besonderer Bedeutung ist die Fällung mit Zinkuranylacetat als Natriumsalz nach *Barber* und *Kolthoff*[5]), welche Methode 1938 von *Jander* und *Hermann*[6]) auf Aluminium angewandt wurde. Die von der Alcoa für Aluminium und Aluminium-Legierungen 1941 herausgegebene Sammlung von Analysenmethoden verwendet ebenfalls die Zinkuranylacetatmethode für Natriumbestimmungen in Aluminium.

Alle diese Arbeitsvorschriften arbeiten bei Gehalten über 0,01 % befriedigend. Da jedoch das Roh- und Umschmelzaluminium in der Regel nur Natriumgehalte unter 0,01 % aufweisen, musste nach einer

---

[1]) *Scheurer*, Z. Metallkunde **25**, 139 (1933).
[2]) *Brook*, Analyst **63**, 32 (1938).
[3]) *Ginsberg*, Leichtmetallanalyse 1941, Verlag Walter de Gruyter & Co., Berlin.
[4]) *Bridge* und *Lee*, Ind. Eng. Chem., Anal. **4**, 264 (1932).
[5]) *Barber* und *Kolthoff*, Soc. **50**, 1625 (1928).
[6]) *Jander* und *Hermann*, Z. anorg. Ch. **65**, 239 (1938).

prinzipiell neuen Methode gesucht werden. Schon 1932 hatten *Bridge* und *Lee*[1]) die spektralanalytische Methode vorgeschlagen. Diese Methode hat jedoch nur halbquantitativen Charakter. Eine spektralanalytische Methode, die gestattet, Werte bis hinunter zu 0,0005 % Na im Aluminium zu bestimmen, wurde kürzlich von *F. Rohner*[2]) in dieser Zeitschrift veröffentlicht. Die Natriumgehalte der von *Rohner* verwendeten Eichproben wurden durch Lösungs-Spektralanalyse ermittelt.

Im Interesse einer vollständigen Abklärung dieses Problems wurde nach einem weiteren von der Spektralanalyse völlig unabhängigen Verfahren gesucht, welches gestattet, auch die kleinsten Gehalte an Natrium von gewöhnlichem und reinstem Aluminium zu bestimmen. Betrachtet man die elektrochemischen Eigenschaften der Alkalisalzlösungen hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit für die analytische Chemie, so findet man, dass bei der Elektrolyse unter gewissen Bedingungen die Erscheinungen an polarisierten Elektroden, die Werte der Abscheidungspotentiale und das Vorhandensein gewisser Ionenarten, mit deren Konzentration in der Lösung in Zusammenhang stehen. Auf dieser Grundlage hat *V. Majer*[3]) die polarographische Bestimmung der Alkalimetalle realisiert. In seinem Buch „Polarographie"[4]) macht *J. Heyrovsky* nur kurze Angaben über eine polarographische Natriumbestimmung in Aluminium. Wendet man diese Methode auf Roh- oder Umschmelzaluminium an, so ergibt sich folgendes:

Damit das Aluminium bei der polarographischen Natriumbestimmung nicht stört, muss es in den Tetramethylammonium-aluminat-Komplex übergeführt werden. 3 mg Aluminium brauchen dazu 0,5 cm^3 10-proz. Tetramethylammoniumhydroxydlösung. Da diese Lösung nur 10-proz. im Handel erhältlich ist, dürfen pro cm^3 nur 6 mg Al vorhanden sein. Uns interessieren nun Natriumgehalte von 0,01% und darunter. Bei einem Natriumgehalt von 0,001—0,01% sind in 6 mg Aluminium 0,00006—0,0006 mg Na enthalten. Das entspricht einer Konzentration von 3×10^{-5} bis 3×10^{-6}-n. Bei einer Konzentration von 10^{-6}-n. verschwinden jedoch die Stufen bereits im Ladungsstrom. Unter einer Konzentration von 10^{-4}-n. ist es ausserdem notwendig, den Sauerstoff aus der Lösung zu vertreiben. Eine andere Möglichkeit besteht darin, durch Anreicherung des Natriums zu polarographisch brauchbaren Konzentrationen zu gelangen. Als Anreicherungsverfahren wählten wir die Trennung durch Krystallisation mittelst Salzsäuregas, bei der die Hauptmenge des Aluminiums als $AlCl_3 \cdot 6\ H_2O$ abgeschieden wird, während das Natrium als NaCl in der Mutterlauge bleibt. Bei einer Einwaage von 1 g Metall wird ein Natriumgehalt von 0,001—0,01% eine Konzentration von 2×10^{-4} bis 2×10^{-3}-n. erhalten. Bei diesen Konzentrationen können genügend hohe Natriumstufen beobachtet werden, ohne dass der Sauerstoff eliminiert werden muss. Da Eisenionen die Natriumstufe stören, werden dieselben mit den noch vorhandenen Aluminiumionen mittelst Ammoniak gefällt, filtriert und hierauf das Filtrat eingedampft und die Ammoniumsalze vertrieben. Das zurückbleibende Natriumchlorid wird mit 2 cm^3 Wasser aufgenommen. Durch eine grössere Einwaage kann natürlich die Natrium-Konzentration noch gesteigert werden. Es ist leider nicht zu vermeiden, dass die Analysensubstanz einen ziemlich hohen Blindwert aufweist,

[1]) *Bridge* und *Lee*, Eng. Chem., Anal. **4**, 265 (1932).
[2]) *Rohner*, Helv. **27**, 268 (1944).
[3]) *Majer*, Z. anal. Ch. **72**, 321 (1933).
[4]) *Heyrovsky*, Polarographie, Verlag Springer, Wien (1941), S. 296.

obschon die Reagenzien noch speziell gereinigt wurden. Um die Reproduzierbarkeit zu prüfen, wurde eine grössere Anzahl von Blindwertbestimmungen ausgeführt. Diese konnte nach einigen anfänglichen Schwierigkeiten genügend genau durchgeführt werden. Der Blindwert wurde aus 10 Bestimmungen, welche zwischen 8 und 12 mm variierten, zu 10 mm Stufenhöhe gemittelt. Alsdann wurde zur Aufstellung einer Eichkurve Fig. 1 geschritten.

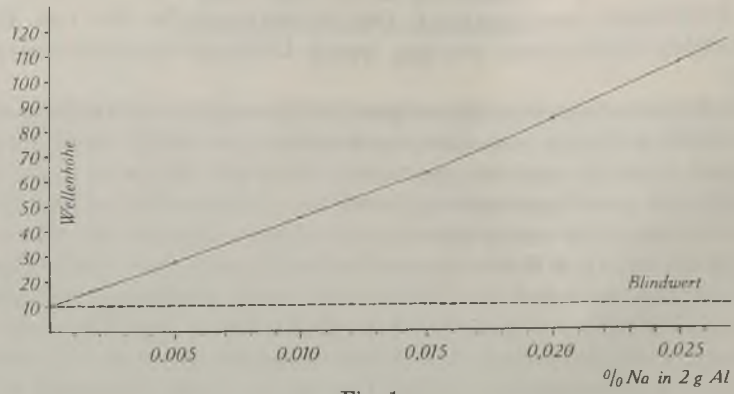


Fig. 1.

Eichkurve zur polarographischen Bestimmung von Natrium in Aluminium.

Arbeitstemperatur: 18° C.

Analysenvorschrift:

2 g Metallspäne werden in einer bedeckten Porzellanschale mittelst 60 cm³ Salzsäure 1:1 gelöst. Bei Raffinal setzt man zur Beschleunigung der Reaktion 6 Tropfen Eisen(III)-chloridlösung (2 g $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ in 100 cm³ H_2O) zu. Man dampft ein bis zur Krystallisation (ca. 28—30 cm³), spült in einen Messzylinder und bringt die Lösung auf 35 cm³. Unter Kühlung wird HCl eingeleitet bis zur Sättigung. Dann wird durch einen Jenaer Glasfiltertiegel G 3 abfiltriert. Vom Filtrat werden 25 cm³ in einer Platinschale zur Trockene verdampft. Man nimmt mit 2 Tropfen Salzsäure und Wasser unter Erwärmung wieder auf, verdünnt auf ca. 100 cm³, versetzt mit 1 Tropfen Wasserstoffperoxyd, kocht und fällt die Sesquioxyde mit ca. 3 Tropfen konz. Ammoniak. Man lässt ca. eine halbe Stunde in der Wärme stehen, filtriert durch ein Weissbandfilter in eine Platinschale und verdampft wieder zur Trockene. Dann stellt man die Schale einige Minuten in den Trokkenschrank und während 3 Minuten bedeckt in eine Muffel von 350° C. Dann wird mit 5 cm³ Wasser aufgenommen, erwärmt, nochmals abfiltriert durch ein Weissbandfilter und wieder zur Trockene verdampft. Die dazu verwendete Platinschale wird bedeckt in die Muffel von 350° C gestellt und dort ca. 3 Minuten belassen. Dann nimmt man den Rückstand mit 2,0 cm³ Wasser + 0,2 cm³ 10-proz. Tetramethylammoniumhydroxydlösung + 1 Tropfen 2-n. Phosphorsäure auf.

Diese Lösung, welche sämtliches Natrium enthält, wird bei 1,8—2,2 Volt polarographiert; Empfindlichkeit = $^1/_{20}$. Die Stufenhöhe wird bei 2,20 Volt ausgemessen.

Nach dieser Methode wurde eine grosse Anzahl von Aluminiumproben auf Natrium analysiert. Wie aus Tabelle II und III hervorgeht, ist die Übereinstimmung zwischen polarographischen und spektralanalytischen Resultaten mit wenigen Ausnahmen befriedigend. Die Reproduzierbarkeit der polarographischen Resultate geht

deutlich aus Fig. 2 hervor. Von jeder Probe wurde eine Doppelbestimmung (Tabelle I) ausgeführt, wobei die Stufenhöhe der beiden Bestimmungen in der Regel gut übereinstimmen.

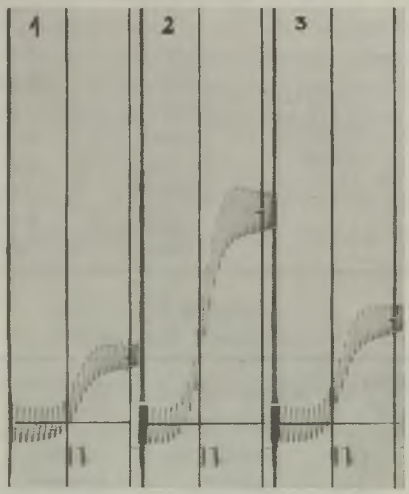


Fig. 2.
Ausschnitt aus polarogr. Aufnahmen zur Natriumbestimmung in Aluminium.
1 = Blindwert
2 = Stufenhöhe 33½ mm 0,007% Na
3 = „ 16 mm 0,002% Na

Tabelle I.
Reinaluminium 99,4—99,5%

Probe Nr.	Polarographische Doppelbestimmungen	
	I.	II.
1	0,006%	0,008%
2	0,002%	0,001%
3	0,008%	0,009%
4	0,003%	0,003%
5	0,003%	0,003%
6	0,005%	0,007%
7	0,002%	0,002%
8	0,007%	0,007%
9	0,006%	0,006%
10	0,008%	0,008%
11	0,003%	0,002%
12	0,007%	0,007%
13	0,003%	0,002%
14	0,003%	0,003%

Tabelle II.
Raffinal

Probe Nr.	Reinheit %	polarographisch	spektral-analytisch
1	99,991—99,997	<0,001%	0,0020%
2		0,001%	0,0017%
3		<0,001%	0,0022%
4		0,001%	0,0013%
5		0,001%	0,0013%
6		0,002%	0,0013%
7		0,001%	0,0015%
8		0,001%	0,0017%

Tabelle III.
Reinaluminium 99,4—99,5%

Probe Nr.	polarographisch	spektral-analytisch
1	0,003%	0,0024%
2	0,001%	0,0020%
3	0,002%	0,0023%
4	0,001%	0,0018%
5	0,002%	0,0028%
6	0,002%	0,0020%
7	0,002%	0,0024%
8	0,003%	0,0020%
9	0,006%	0,0043%
10	0,002%	0,0024%
11	0,006%	0,0040%
12	0,002%	0,0027%
13	0,008%	0,0044%
14	0,003%	0,0024%
15	0,007%	0,0046%
16	0,002%	0,0026%
17	0,003%	0,0033%
18	0,003%	0,0023%
19	0,004%	0,0029%
20	0,001%	0,0020%

Zusammenfassung.

Die zur Natriumbestimmung in Aluminium und Aluminiumlegierungen vorgeschlagenen Bestimmungsmethoden werden diskutiert und die polarographische Bestimmung nach *Heyrovsky* auf Roh- und Umschmelzmetallproben angewandt. Dabei zeigte es sich, dass dieselbe bei den üblichen Natriumgehalten von Roh- und Umschmelzaluminium nicht anwendbar ist. Die nötigen Natriumkonzentrationen

werden durch ein Anreicherungsverfahren erreicht und nach Aufstellung einer Eichkurve Resultate erzielt, welche mit spektralanalytischen Werten befriedigend übereinstimmen. Die untere Bestimmungsgrenze der Methode liegt bei ca. 0,001 %. Trotz relativ grosser Unterschiede in Einzelresultaten, ist die Übereinstimmung zweier völlig verschiedener Untersuchungsmethoden bei den in Frage stehenden Gehalten bemerkenswert. Über die Grössenordnung des in Aluminium enthaltenen Natriums dürfte somit heute kein Zweifel mehr bestehen.

Aluminium-Industrie A.-G.
Zentrallaboratorium der Aluminium-Betriebe.

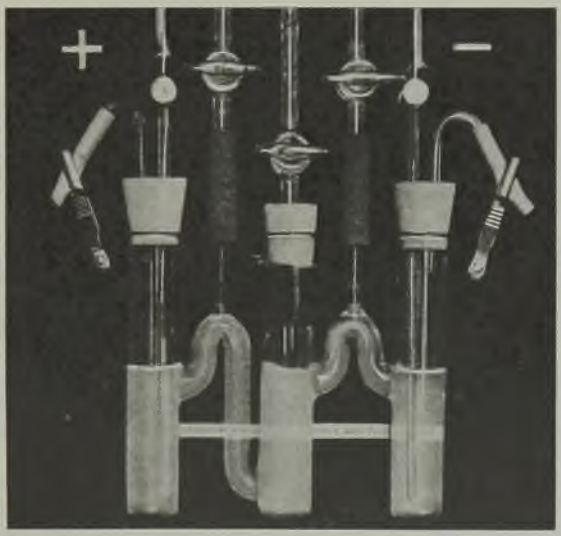
---

124. A propos de l'électrodialyse

par **Charles Dhéré.**

(17 V 44)

Qu'on me doive l'introduction (en 1909) de l'électrodialyse en chimie organique, spécialement en biochimie, c'est ce que personne, depuis longtemps, ne conteste plus, et c'est ce que reconnaissait formellement d'ailleurs M. *Wolfgang Pauli* en me citant dans le premier des intéressants Mémoires qu'il a publiés, depuis 1942, dans ces Acta; seulement, il ajoutait: « Die Versuche von *Dhéré* wurden noch in U-Röhrchen vorgenommen »[1]). Or cela n'est pas tout à fait exact.



[1]) Helv. **25**, 137 (1942).

En 1911, j'ai publié, en effet, la photographie reproduite ici (bien réduite!), qui représente une expérience quantitative d'électrophorèse portant sur une solution de gélatine parfaitement déminéralisée par électrodialyse préalable[1]). Le résultat du transport vers l'anode (alors partiellement réalisé) est directement visible grâce à la forte opalescence de la gélatine purifiée, que j'ai été le premier à faire connaître.

Après avoir décrit cet appareil à trois vases communicants et insisté sur les avantages qu'il présente pour certaines déterminations quantitatives, j'ajoutais: « En vue de recherches spéciales (dont nous ne parlerons pas ici), nous avons imaginé un modèle modifié qui diffère du précédent en ce que le fond de verre de chacun des vases extrêmes est remplacé par une membrane de collodion; ces membranes sont immergées dans de l'eau distillée, les électrodes étant placées au-dessous »[2]). Les recherches auxquelles il était fait allusion ont porté sur l'hémocyanine[3]), sur l'hématoporphyrine (à l'état colloïdal)[4]), sur les protéines du sérum[5]) et sur des solutions colloïdales de carotène et de chlorophylles[6]).

L'omission de M. *Pauli* pour ce qui est de l'appareil en question me semble bien explicable et excusable; et, sauf dans le cas de l'hémocyanine (où la désignation est expresse), il ne pouvait savoir l'emploi que j'avais fait encore de l'appareil transformé en électrodialyseur, car cela n'est pas indiqué dans mes publications.

Genève, Boulevard des Philosophes 15.

---

125. Untersuchungen über optisch aktive Diphenylverbindungen I

(Problemstellung und experimentelle Ergebnisse)

von **W. Kuhn** und **R. Rometsch.**

(21. VI. 44)

1. Optische Drehung als Summe der Drehungsbeiträge einzelner Absorptionsbanden.

Das Drehungsvermögen, welches eine optisch aktive Verbindung bei einer bestimmten Wellenlänge, beispielsweise im Sichtbaren, aufweist, setzt sich bekanntlich additiv aus Beiträgen zusammen, welche von den einzelnen Absorptionsbanden der Verbindung beigesteuert werden.

Im einfachsten Falle einer optisch einheitlichen, isoliert liegenden Absorptionsbande bestimmt sich dabei die Absorption und der Drehungsbeitrag der Bande in folgender Weise:

---

[1]) *Ch. Dhéré*, J. Physiol. Path. **13**, 167 (1911).

[2]) Cf. *Ch. Dhéré*, Koll. Z. **41**, note 59 au bas de la page 255 (1927).

[3]) *Ch. Dhéré* et *A. Burdel*, C. r. **158**, 978 (1914); *Ch. Dhéré*, J. Physiol. Path. **18**, 514 et 517 (1919).

[4]) *Ch. Dhéré* et *S. Sobolewski*, C. r. Soc. Biol. **70**, 511 (1911) et recherches inédites.

[5]) *Ch. Dhéré* et *M. Gorgolewski*, C. r. **150**, 993 (1910). Première de mes publications sur l'électrodialyse du sérum.

[6]) Recherches inédites, faites avec *W. de Rogowski*, mais non consignées dans sa thèse sur les pigments chlorophylliens (Fribourg, 1912).

Der molekulare Absorptionskoeffizient k lässt sich in seiner Abhängigkeit von der Frequenz ν praktisch stets darstellen durch die Beziehung[1])

$$k = k_{max}\, e^{-\left(\frac{\nu_0-\nu}{\Theta}\right)^2} \tag{1}$$

$\nu_0 = c/\lambda_0$ ist hierbei die Frequenz des Absorptionsmaximums, $\lambda_0 = c/\nu_0$ die entsprechende Wellenlänge. Θ ist ein Mass für die Breite der Absorptionsbande, indem $\Theta \cdot 1{,}6651 = \nu'$ ist, wenn ν' die Halbwertsbreite der Bande ist. (ν' = Frequenzdifferenz der Stellen, bei welchen $k = \frac{1}{2} k_{max}$ ist). Der durch die Beziehung (1) beschriebene, „normale" Verlauf einer Absorptionsbande ist in Kurve 1, Fig. 1, dargestellt.

Der von einer solchen Absorptionsbande herrührende Beitrag zur molekularen Drehung [M] ist, wenn die Drehung in Graden gemessen wird, in Abhängigkeit von der Frequenz ν gegeben durch[2])

$$[M]_\nu^0 = 3723\, k_{max} \frac{\nu}{\nu_0} g_0 \left[e^{-\left(\frac{\nu_0-\nu}{\Theta}\right)^2} \cdot \int_0^{\frac{\nu_0-\nu}{\Theta}} e^{x^2} dx - e^{-\left(\frac{\nu_0+\nu}{\Theta}\right)^2} \int_0^{\frac{\nu_0+\nu}{\Theta}} e^{x^2} dx \right] \tag{2}$$

was praktisch genommen gleich ist:

$$[M]_\nu^0 = 3723\, k_{max} \frac{\nu}{\nu_0} g_0 \left[e^{-\left(\frac{\nu_0-\nu}{\Theta}\right)^2} \cdot \int_0^{\frac{\nu_0-\nu}{\Theta}} e^{x^2} dx - \frac{\Theta}{2(\nu_0+\nu)} \right] \tag{2a}$$

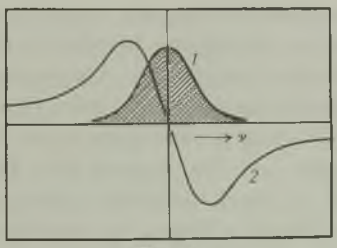


Fig. 1.

Kurve 1: Normaler Verlauf des Absorptionskoeffizienten, dargestellt durch Gleichung 1, in einer isoliert liegenden Absorptionsbande.
Kurve 2: Zugehöriger Drehungsbeitrag (nach Gl. 2 bzw. 2a).

---

[1]) *J. Bielecki* und *V. Henri*, Phys. Z. **14**, 516 (1913); *W. Kuhn* und *E. Braun*, Z. physikal. Ch. [B] **8**, 281 (1930).

[2]) *W. Kuhn* und *E. Braun*, l. c., sowie *W. Kuhn*, Z. physikal. Ch. [B] **30**, 356 (1935). In der letzteren Arbeit wurde insbesondere gezeigt, dass der durch Gl. (1), (2) und (4) (vgl. unten) angedeutete quantitative Zusammenhang zwischen Drehung und Zirkulardichroismus exakt auch dann erhalten bleibt, wenn der Einfluss des Brechungsindex des Einbettungsmediums berücksichtigt wird. Notwendig ist nur, dass Drehung und Absorption bzw. Zirkulardichroismus im selben Lösungsmittel gemessen werden.

g_0 ist dabei der Anisotropiefaktor, eine für die optische Aktivität der Bande charakteristische Konstante. Der Verlauf des Drehungsbeitrages nach Gl. 2 oder 2a ist als Kurve 2 in Fig. 1 eingetragen.

Aus Fig. 1, wie auch aus den Formeln (1) und (2), ist die bekannte Tatsache ersichtlich, dass die Absorption praktisch genommen auf einen kleinen Bereich in der Nähe des Absorptionsmaximums ν_0 beschränkt ist, während der Drehungsbeitrag auch sehr weit ausserhalb des Absorptionsgebietes merklich bleibt. Der letztere Umstand wiederum erklärt die eingangs erwähnte Tatsache, dass die Gesamtdrehung an irgend einer Stelle des Spektrums, beispielsweise im Sichtbaren, aus den Drehungsbeiträgen, welche von vielen Banden beigesteuert werden, additiv zusammengesetzt ist.

Bei Bildung dieser Summe ist es wichtig zu wissen, dass der Anisotropiefaktor g (in Gl. 2) zwar im Bereich einer homogenen Absorptionsbande nahezu konstant ist, dass aber die Konstante g und damit nach (2) der Drehungsbeitrag von einer Bande zur andern nicht nur den Betrag, sondern sogar das Vorzeichen wechseln kann.

Es gilt hier sogar ein quantitatives Summengesetz, demzufolge das Integral

$$\int_0^\infty \frac{k \cdot g}{\nu} \, d\nu = \int_0^\infty \frac{k_l - k_r}{\nu} \, d\nu = 0 \tag{3}$$

ist, dass also der gesamte Zirkulardichroismus einer Substanz (genommen über alle Absorptionsbanden des Stoffes) verschwindet.

Dieses Nebeneinandervorkommen verschiedener Vorzeichen von g bei einer und derselben Substanz bedeutet, offenbar (nach Gl. 2), dass die im Ultravioletten liegenden Absorptionsbanden teils positive, teils negative Drehungsbeiträge zur Drehung im Sichtbaren liefern, dass also die Drehung im Sichtbaren in recht komplizierter Weise zusammengesetzt ist. Da ferner der Drehungsbeitrag einer Bande (Fig. 1, Kurve 2) stark ansteigt, wenn man sich, etwa vom Langwelligen her, der Bande nähert, so versteht man, dass trotz der Kompliziertheit des Drehungsbetrages in den meisten Fällen die Regel gilt, dass das Vorzeichen der Drehung im Sichtbaren mit dem Vorzeichen des Drehungsbeitrages der langwelligsten ultravioletten Absorptionsbande übereinstimmt.

Die ganze Übersicht zeigt aber, dass man zu einem tieferen Verständnis der optischen Aktivität einer Verbindung auf das optisch aktive Verhalten der einzelnen Absorptionsbanden einzugehen hat.

Die völlige Kennzeichnung einer optisch aktiven Absorptionsbande umfasst ausser der Angabe von Absorption (Gl. 1) und Drehungsbeitrag (Gl. 2) eine Angabe über den Zirkulardichroismus:

Im Bereiche optisch aktiver Absorptionsbanden ist der Absorptionskoeffizient für rechtszirkulares Licht (k_r) von dem für linkszirkulares Licht (k_l) verschieden, und zwar gilt für eine einheitliche Bande:

$$\frac{k_l - k_r}{k} = g = g_0 \frac{\nu}{\nu_0} \tag{4}$$

wobei die Grösse g wiederum den Anisotropiefaktor, g_0 dessen Wert im Mittelpunkt der Absorptionsbande (für $\nu = \nu_0$) bedeutet.

Die Beziehung (4) sagt aus: Der Anisotropiefaktor ist gleich dem relativen Unterschied des Absorptionskoeffizienten für rechts- und linkszirkulares Licht $(k_l - k_r)/k$. Er ist im Bereich einer isoliert liegenden, optisch einheitlichen Absorptionsbande praktisch genommen konstant. (Im Bereich einer schmalen Absorptionsbande ist ja ν ungefähr gleich ν_0, also

$$\frac{k_l - k_r}{k} = g_0 \frac{\nu}{\nu_0}$$

praktisch genommen gleich g_0, also konstant.) Das Vorliegen einer solchen Beziehung ist in einer Reihe von Fällen experimentell nachgewiesen worden, wobei aber die merkwürdige Feststellung anzufügen ist, dass sowohl am langwelligen als auch am kurzwelligen Rande der Absorptionsbande ein Abfallen des Anisotropiefaktors auf Null festzustellen war, während im Hauptteil der Absorptionsbande die Beziehung (4) genau erfüllt war[1]).

Das durch Gl. (4) gekennzeichnete Verhalten ist in Fig. 2, S. 1084, anschaulich gemacht: Bei einer einheitlichen Absorptionsbande stimmt die Lage des Absorptionsmaximums (Frequenz ν_0) für linkszirkulares Licht (k_l), rechtszirkulares Licht (k_r) und gewöhnliches Licht (k) genau überein. Weiter ist (nach Gl. 4 und Fig. 2) im Bereich der ganzen Bande das Verhältnis $k_l/k_r \simeq 1 + g$ nahezu konstant[2]); es ist also, wenn g grösser als Null ist, in der ganzen Bande $k_l > k_r$ und umgekehrt, wenn $g < 0$ ist, in der ganzen Bande $k_l < k_r$. Wir weisen auf dieses Verhalten der optisch einheitlichen Absorptionsbanden hin, weil sich zeigen wird, dass die Banden der aktiven Diphenylverbindungen hievon grundsätzlich abweichen.

---

[1]) Vgl. *W. Kuhn* und *E. Braun*, Z. physikal. Ch. [B] **8**, 445 (1930).

[2]) Es ist ja $k_l + k_r = 2\,k$ und $k_l - k_r = g \cdot k$, woraus durch Bildung der Summe bzw. Differenz folgt $k_l = k + \frac{g\,k}{2}$; $k_r = k - \frac{g\,k}{2}$ und daraus für kleine Werte von g:

$$\frac{k_l}{k_r} = \frac{k + \frac{g\,k}{2}}{k - \frac{g\,k}{2}} = \frac{1 + \frac{g}{2}}{1 - \frac{g}{2}} \simeq 1 + g.$$

2. *Modellmässige Deutung des optisch aktiven Verhaltens einer Absorptionsbande.*

a) Beschaffenheit des Schwingungsbildes; einfachster Fall des Schwingungsbildes einer optisch aktiven Absorptionsbande.

Nach dem Gesagten, bzw. Gl. 1, 2 und 4, ist das optisch aktive Verhalten einer einheitlichen Absorptionsbande, ausser durch Grösse und Verlauf der gewöhnlichen Absorption (Gl. 1) vollständig bestimmt durch den der Bande zukommenden Anisotropiefaktor g, bzw. g_0 (Gl. 4).

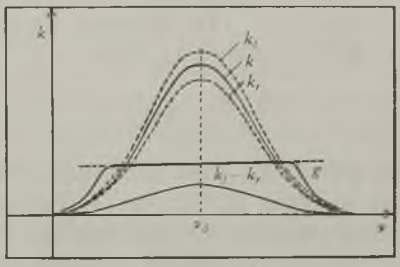


Fig. 2.

Gewöhnlicher Absorptionskoeffizient (k), Absorption für linkszirkulares (k_l) und rechtszirkulares Licht (k_r), Zirkulardichroismus ($k_l - k_r$), sowie Anisotropiefaktor $g = (k_l - k_r)/k$ im Bereiche einer einheitlichen Absorptionsbande. g ist konstant, die übrigen Kurven stimmen hinsichtlich der Lage des Maximums (Frequenz ν_0) überein.

Die modellmässige Bedeutung des Anisotropiefaktors g besteht nun ihrerseits darin, dass g ausschliesslich bestimmt wird durch die räumliche Verteilung und Richtungsverteilung der Komponenten des der Bande entsprechenden schwingenden Streumomentes in der Molekel. Wir meinen damit folgendes: Wenn eine Molekel wie etwa α-Acido-propionsäure eine bestimmte Absorptionsbande (Frequenz ν_0) betätigt (beispielsweise eine Bande bei 3000 Å), so ist die Betätigung (Absorption oder Emission) der Bande mit dem Vorhandensein eines schwingenden elektrischen Momentes in der Molekel verknüpft; das elektrische Moment ist dabei in erster Näherung an einer bestimmten Stelle (chromophore Gruppe, in unserem Beispiel an der N_3-Gruppe) lokalisiert und dort in bestimmter Weise zum Molekelgerüst orientiert. Die Lokalisierung des mit der Frequenz ν_0 schwingenden Momentes ist jedoch nicht streng, sondern es ist wesentlich, dass an verschiedenen Punkten der Molekel gleichzeitig mit derselben Frequenz ν_0 Schwingungen stattfinden. Wir sprechen dann davon, dass die Schwingung von der Frequenz ν_0 Komponenten in den verschiedenen Molekelteilen besitzt. Die Absorptionsbande ist dann op-

tisch aktiv, wenn die zur Schwingung gehörenden Komponenten windschief gegeneinander orientiert sind.

Damit die Bande optisch aktiv ist, muss die Zahl der Komponenten, welche das Streumoment konstituieren, mindestens gleich 2 sein und diese Komponenten dürfen nicht komplanar, sondern sie müssen windschief zueinander orientiert sein; sie können beispielsweise, wie in Fig. 3a und b angedeutet, senkrecht zueinander und senkrecht zur Verbindungslinie der Punkte 1 und 2 orientiert sein. Der Anisotropiefaktor ist um so grösser, je weiter die Punkte 1 und 2, in welchen wir uns die Komponenten lokalisiert denken, auseinander liegen. Bezeichnen wir diesen Abstand mit d_g und ist die Orientierung der Komponenten die in Fig. 3a und 3b angedeutete, so ist der Betrag des Anisotropiefaktors g_0 der Bande, gemittelt über die sämtlichen Orientierungen der Molekel gegenüber den einfallenden Lichtstrahlen gleich

$$|g_0| = \frac{2\pi}{\lambda_0} d_g \tag{5}$$

Wie die genauere Betrachtung zeigt, ist g positiv für das Schwingungsbild Fig. 3b, dem Betrage nach gleich gross, aber negativ für das Schwingungsbild 3a.

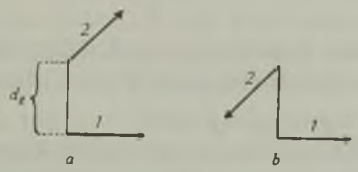


Fig. 3a, b.
Einfachster Fall der Verteilung und Orientierung des Streumomentes bei einer optisch aktiven Absorptionsbande. Für die Schwingung Fig. 3a wäre $k_r > k_l$, für 3b dagegen $k_l > k_r$.

Für den Fall, dass die Komponenten anders als in Fig. 3a und 3b gegeneinander orientiert sind, sowie für den Fall, dass mehr als 2 Komponenten am schwingenden Streumoment einer Absorptionsbande teilnehmen, treten an die Stelle der Beziehung (5) andere Beziehungen, welche unschwer anzugeben sind und auf die hier verwiesen wird[1]). Wichtig ist, dass durch die räumliche Verteilung und Winkelung der einer Absorptionsbande zugehörenden Komponenten des Streumomentes der Anisotropiefaktor — der Grösse und dem Vorzeichen nach — völlig bestimmt ist.

Die Feststellung der Konstanz des Anisotropiefaktors g innerhalb einer einheitlichen Absorptionsbande besagt daher, dass das Schwingungsbild innerhalb einer einheitlichen Absorptionsbande überall dasselbe ist.

Es ist leicht einzusehen, dass dies auch plausibel ist: Das Auftreten einer optischen Absorptionsbande im Sichtbaren oder Ultravioletten beruht ja, quantenmechanisch beschrieben, auf einem Elektronensprung, welchem sich mechanische Schwingungen der Molekelteile gegeneinander sowie Rotationen überlagern.

---

[1]) Siehe z. B. *W. Kuhn* und *K. Bein*, Z. physikal. Ch. [B] **24**, 335 (1934), insbesondere S. 356; für den Einfluss des Brechungsindex des Einbettungsmediums siehe *W. Kuhn*, l. c.

Dabei ist die Frequenz ν_0 der Absorptionsbande in erster Linie durch den Elektronensprung bedingt, während die den Elektronensprung begleitenden Schwingungen und Rotationen des Molekelgerüstes nur eine Verbreiterung der Bande zur Folge haben. Dem entspricht es, dass auch die Verteilung des Streumomentes in erster Linie durch den Elektronensprung bedingt ist, durch Rotationen und Kernschwingungen sowie durch Lösungsmitteleinfluss aber nur mässig stark beeinflusst wird. Dass gewisse Beeinflussungen trotzdem vorhanden sind, beweist das erwähnte in mehreren Fällen beobachtete Absinken des Anisotropiefaktors am Rande von Absorptionsbanden in Flüssigkeiten und sogar im Dampfzustande[1]).

Wir sehen damit, dass der Anisotropiefaktor nichts anderes ist als ein empfindlicher Indikator für die räumliche Verteilung und Orientierung der Komponenten des Streumomentes optisch aktiver Absorptionsbanden. Er besitzt diese Indikator-Eigenschaft ganz unabhängig von den Bildern, die wir uns darüber machen, wie die räumliche Verteilung und Orientierung der Komponenten des Streumomentes im einzelnen zustande kommen.

b) Entstehung des Schwingungsbildes durch Koppelung der elektrischen Schwingungen innerhalb der Molekel.

Es ist klar, dass Schwingungsbilder von der Art, wie sie in Fig. 3a oder b dargestellt sind, nur dann entstehen können, wenn Wechselwirkungen zwischen den in benachbarten Molekelteilen vorhandenen elektrischen Ladungen stattfinden. Es ist mit das Ziel der vorliegenden Untersuchungen, mit Hilfe der optischen Aktivität auf dem Weg über die Schwingungsbilder die Koppelungskräfte in der Molekel kennen zu lernen.

Unter den verschiedenen Ansätzen, durch welche eine Berechnung von Schwingungsbildern in optisch aktiven Molekeln versucht wurde, hat sich bisher der folgende am besten bewährt: 1. In erster Näherung ist die Schwingung an einer chromphoren Gruppe lokalisiert und besitzt dort eine bestimmte Vorzugsrichtung (Ersatzresonator, der an bestimmter Stelle in der Molekel fixiert und in bestimmter Weise zum Molekelgerüst orientiert ist). 2. Eine dort mit der Frequenz ν_0 stattfindende Schwingung erzeugt ein mit der Frequenz ν_0 schwingendes elektrisches Feld in den Nachbarteilen und dieses Feld bringt die Nachbarteile (auf Grund der Polarisierbarkeit) zum Mitschwingen mit eben derselben Frequenz ν_0 (Vizinalwirkung). Gegebenenfalls wirken die in den Nachbarteilen erzeugten erzwungenen Schwingungen auf die chromophore Gruppe zurück.

Bemerkung: Wenn sich auch dieser Ansatz zur Berechnung des Zirkulardichroismus weitgehend bewährt hat, wollen wir doch darauf hinweisen, dass gerade bei den Diphenylverbindungen und gewissen Derivaten derselben ein Fall vorliegt, in welchem die Voraussetzung eines an bestimmter Stelle in der Molekel fixierten Ersatzresonators nicht gut zutrifft. Die Bemerkung betrifft allgemein die Fälle, in welchen ausgedehnte

[1]) *W. Kuhn* und *H. L. Lehmann*, Z. physikal. Ch. [B] **18**, 32 (1932); *H. B. Elkins* und *W. Kuhn*, Am. Soc. **57**, 296 (1935).

Systeme von konjugierten Doppelbindungen vorliegen. Hier wird das konjugierte System als einheitlicher aber räumlich stark ausgedehnter Chromophor anzusehen sein. Um so interessanter muss es sein, aus der optischen Aktivität Näheres über das hier auftretende tatsächliche Schwingungsbild zu erfahren. Auch in dieser Hinsicht sollen in der vorliegenden Arbeit experimentell und in einer nachfolgenden theoretisch einige Schritte unternommen werden.

3. *Beispiele von Schwingungsbildern optisch aktiver Verbindungen.*

a) Verbindungen mit asymmetrischem Kohlenstoffatom.

Frühere Arbeiten zeigten, dass Schwingungsbilder mit 2 und mehr voneinander räumlich getrennten, zueinander windschief gerichteten Komponenten des Streumomentes notwendigerweise bei den Molekeln auftreten, bei welchen Bild und Spiegelbild durch Translation und Drehung nicht miteinander zur Deckung gebracht werden können. Dies heisst: die physikalischen Voraussetzungen für das Auftreten optisch aktiver Schwingungen infolge innermolekularer Koppelung erweisen sich als identisch mit dem bekannten strukturchemischen Kriterium für das Auftreten optischer Aktivität. Insbesondere ist das Kriterium bei den Verbindungen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen erfüllt.

An organischen Verbindungen mit asymmetrischem C-Atom konnten erstmals Absorptionsbanden mit einheitlichem Schwingungsbilde (mit in der Bande konstantem Anisotropiefaktor) nachgewiesen werden (l. c.).

Der Nachweis solcher Banden war insofern wichtig, weil er den ersten unbestrittenen Beweis dafür gegeben hat, dass die an einer chromophoren Gruppe stattfindende Schwingung von vornherein nicht isotrop, und in ihrer Richtungsbeschaffenheit zum Molekelgerüst festgelegt ist[1]).

Durch Übergreifen einer solchen Schwingung auf die Nachbarsubstituenten entstehen, wie im vorangehenden Abschnitt angedeutet wurde, die optisch aktiven Schwingungsbilder. Da die Schwingung von der chromophoren Gruppe aus grundsätzlich auf die sämtlichen Nachbarsubstituenten übergreift und da bei Verbindungen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen bekanntlich neben der hervorgehobenen Gruppe drei weitere Substituenten zugegen sind, so ist es klar, dass das schliesslich resultierende Schwingungsbild bei diesen Verbindungen zumindest 4 und nicht 2 Komponenten in den verschiedenen Molekelteilen besitzt. Es ist also komplizierter als das dem einfachsten Falle Fig. 3 entsprechende Schwingungsbild. D. h.: es sind bei den Verbindungen mit asymmetrischem C-Atom die qualitativen und quantitativen Überlegungen, durch welche das optisch

[1]) Die Richtigkeit dieser Tatsache ist lange Zeit von *M. Born* bestritten worden; sie ist aber seitdem durch weitere Versuche, insbesondere durch Untersuchung der Lichtabsorption an künstlich (durch elektrische Felder) orientierten Molekeln experimentell bewiesen worden. (Siehe *W. Kuhn, H. Dührkop* und *H. Martin*, „Anisotropie der Lichtabsorption gelöster Moleküle im elektrischen Feld", Z. physikal. Ch. [B] **45**, 121 (1939).)

aktive Schwingungsbild zu begründen ist, etwas umständlich, in einzelnen Fällen aber praktisch durchführbar[1]).

b) Anorganische Komplexverbindungen.

Bei den optisch aktiven anorganischen Komplexverbindungen, insbesondere bei den einfachsten Vertretern derselben, wie z. B. bei $K_3[Co(ox)_3]$ oder beim $[Co(en)_3]Br_3$ ist die Diskussion des optisch aktiven Schwingungsbildes schon wesentlich übersichtlicher. Wir haben es bei diesen Verbindungen mit einem Zentralatom zu tun, welches in erster Näherung als isotrop zu betrachten ist und sodann mit 3 koordinativ zweiwertigen an das Zentralatom gebundenen Substituenten (Oxalation bzw. Äthylendiamin). Bei den langwelligsten Absorptionsbanden dieser Stoffe ist das Zentralatom die chromophore Gruppe; die primär dort vorhandene Schwingung greift von dort auf die peripheren Substituenten über. Bei Berechnung des Schwingungsbildes ist zu berücksichtigen, dass zwischen dem Zentralatom und den peripheren Substituenten Koppelungskräfte wirken (Zentrale Koppelung), daneben aber auch Koppelungskräfte, welche die peripheren Substituenten (z. B. die Oxalsäuremolekeln) aufeinander ausüben (periphere Koppelung).

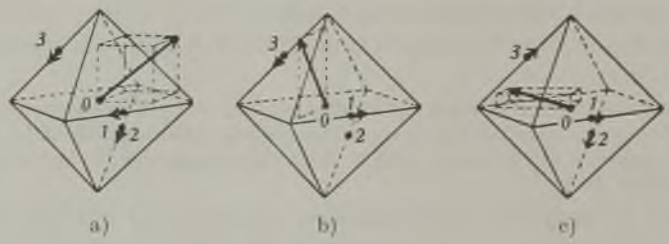


Fig. 4.

Schwingungsbilder bei anorganischen Komplexverbindungen wie $K_3[Co(ox)_3]$. Die Pfeile bedeuten in den verschiedenen Molekelteilen vorhandene, zum selben Schwingungsvorgang gehörige Komponenten des Streumomentes.

Auch in diesen Fällen besitzen die Schwingungsbilder (Fig. 4) mehr als 2 Komponenten. In Fig. 4a sind es z. B. 4 Komponenten (eine am Zentralatom und drei an jedem der peripheren Substituenten). Die Schwingungsbilder sind also noch immer komplizierter als im einfachsten denkbaren Fall der Fig. 3a und b. Dadurch, dass aber das Modell aus nur 2 Teilchensorten (dem Zentralatom und den peripheren Resten) aufgebaut ist und dadurch, dass diese Teilchen in besonders regelmässiger Weise gegeneinander gelagert sind, ist das

[1]) Siehe insbesondere *W. Kuhn*, Absolute Konfiguration der Milchsäure, Z. physikal. Ch. [B] **31**, 23 (1935). Zusatz bei der Korrektur: In einer soeben erschienenen Arbeit (Z. El. Ch. **50**, 13 (1944)) sind von *E. Hückel* gegen diese Betrachtung Bedenken geäussert worden, welche wir aber nicht für gerechtfertigt halten. Wir werden darauf in Teil II kurz eingehen.

Problem einfacher als das der Verbindungen mit asymmetrischem Kohlenstoffatom.

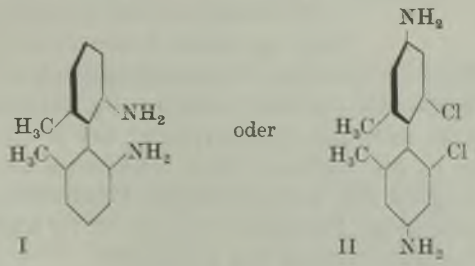
In einem Punkte sind die genannten anorganischen Komplexverbindungen allerdings weniger einfach als die erstbesprochenen organischen Verbindungen: während isoliert liegende Absorptionsbanden der anorganischen Verbindungen mit asymmetrischem Kohlenstoffatom in der Regel einheitlich sind (konstanter Anisotropiefaktor im Bereich der Bande; vgl. Fig. 2), sind die isoliert liegenden Absorptionsbanden der anorganischen Komplexverbindungen nicht einheitlich. Hier ändert sich die räumliche Verteilung und Richtungsverteilung der Komponenten des Streumomentes innerhalb der Bande.

Es ist dies eine unmittelbare Folge der bereits erwähnten Feststellung, dass die Schwingung am Zentralatom in erster Näherung isotrop, also entartet ist. Die Aufhebung der Entartung durch Koppelung mit den peripheren Substituenten hat eine Aufspaltung der ursprünglichen Schwingung in 2 bzw. 3 Schwingungen mit benachbarten Frequenzen und voneinander verschiedenen Schwingungsbildern (Fig. 4a, b und c) zur Folge.

Ein ähnlicher, aber noch einfacherer Fall, in welchem eine Entartung, unter Entstehung optisch aktiver Schwingungsbilder aufgehoben wird, liegt bei den asymmetrischen Diphenylverbindungen vor.

4. Vermutungen über das Schwingungsbild bei asymmetrischen Diphenylverbindungen.

Einige organische, optisch aktive Stoffe ohne asymmetrisches Kohlenstoffatom zeichnen sich durch besondere Einfachheit aus, indem sie aus 2 chemisch identischen, gegeneinander um etwa 90° gedrehten Hälften bestehen. Es sind dies asymmetrische Spirane und Allene sowie optisch aktive Diphenylverbindungen wie:



Um einzusehen, dass Verbindungen dieser Art für die Untersuchung der optischen Aktivität besonderes Interesse beanspruchen, stellen wir beispielsweise bei der Verbindung I fest, dass die Richtung von der CH_3- nach der NH_2-Gruppe eine ausgezeichnete Richtung in jeder der beiden Molekelhälften darstellt. Wir kennzeichnen

diese Richtung je durch einen entsprechenden Pfeil und sehen sofort, dass wir dabei das Bild erhalten, welches in Fig. 3 als Schwingungsbild der einfachsten optisch aktiven Schwingung aufgezeichnet wurde. Wir erhalten nämlich 2 voneinander getrennte, senkrecht zueinander weisende Pfeile. Ähnliches ist bei der Verbindung II festzustellen, wenn wir die Richtung von der Cl- nach der CH_3-Gruppe in beiden Molekelhälften je durch einen Pfeil kennzeichnen. Es wird damit klar, dass das Bauprinzip dieser Verbindungen eine besonders übersichtliche Entstehung der optischen Aktivität erwarten lässt.

Für ein stark idealisiertes Modell dieser Art ist eine theoretische Aussage über das Verhalten von Absorptionsbanden von Verbinbindungen vom Typus I oder II bereits vor einiger Zeit gegeben worden[1]).

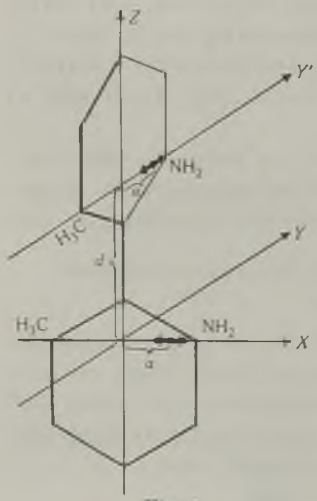


Fig. 5.

Das idealisierte Modell bestand, auf den Fall der Molekel I übertragen, in folgendem (Fig. 5): Die Längsachse der Molekel I wird zur z-Achse, die Linie, welche im untern Benzolrest die CH_3- mit der NH_2-Gruppe verbindet, zur x-Achse gemacht, so dass offenbar die untere Benzolebene in der x-z-Ebene liegt. Die Linie, welche in der zweiten Molekelhälfte die CH_3- mit der NH_2-Gruppe verbindet, liegt dann um einen Betrag d in der z-Richtung verschoben und weist in die positive y-Richtung. Wir nehmen nun an, im ersten (untern) Benzolrest der Fig. 5 weise für eine bestimmte Absorptionsbande (Frequenz ν_0) das elektrische Streumoment in der x-Richtung und der Schwerpunkt desselben liege in einem Abstand a von der Molekelachse entfernt, bei $x = +a$; aus Symmetriegründen ist dann in der zweiten Molekelhälfte ein in der y-Richtung schwingendes Streumoment vorhanden, mit dem Schwerpunkt bei $x = o$, $y = a$, $z = d$. Ist m_0 die Masse, e_0 die Ladung eines Elektrons und f die Oszillatorenstärke der in jeder der Molekelhälften lokalisierten Absorptionsbande (von gemeinsamer Frequenz ν_0), so ist es leicht zu zeigen[1]), dass der Koppelungskoeffizient k_{12} gleich ist:

$$k_{12} = \frac{3\, e_0^2\, f\, \frac{m}{m_0}}{\sqrt{d^2 + 2\,a^2}} \; \frac{a^2}{(d^2 + 2\,a^2)^2} \qquad (6)$$

[1]) *W. Kuhn* und *K. Bein*, Z. physikal. Ch. [B] **24**, 335 (1934).

Das heisst, es ist die Gesamtenergie, wenn die Koppelung zwischen den beiden Oszillatoren berücksichtigt wird, gleich:

$$U = \frac{k}{2} x_1^2 + k_{12} x_1 y_2 + \frac{k}{2} y_2^2 + \frac{m}{2} x_1^{\cdot 2} + \frac{m}{2} y_2^{\cdot 2}, \tag{7}$$

wenn x_1 und y_2 die Verschiebung des ersten bzw. des zweiten Oszillators aus seiner Gleichgewichtslage, m die Masse, k die Bindungskonstante jedes einzelnen Oszillators bedeuten. Bekanntlich ist dabei

$$\nu_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}} \tag{8}$$

Es ist leicht zu zeigen, dass bei Berücksichtigung der Koppelung (6) an die Stelle der einen Absorptionsbande mit der Frequenz ν_0 zwei unter sich gleich starke Absorptionsbanden mit etwas verschiedener Frequenz treten. Die eine besitzt ein Schwingungsbild wie Fig. 3a und die Frequenz $\nu_0 + \delta$, die andere ein Schwingungsbild wie Fig. 3b und die Frequenz $\nu_0 - \delta$, wo

$$\delta = \frac{1}{8\pi^2 \nu_0} \frac{k_{12}}{m} = 3 \frac{e_0^2}{m_0} \frac{f}{8\pi^2 \nu_0} \cdot \frac{1}{(d^2 + 2a^2)^{\frac{3}{2}}} \cdot \frac{a^2}{d^2 + 2a^2} \tag{9}$$

ist. Tatsächlich treten also bei unserem Molekelmodell die Schwingungsbilder von dem einfachsten Typus Fig. 3a, 3b auf. Interessanterweise aber treten sie so auf, dass die Frequenzen der entgegengesetzt dichroitischen Banden 3a und 3b unmittelbar nebeneinander bei $\nu_0 + \delta$ und $\nu_0 - \delta$ liegen sollen, wobei δ gemäss (Gl. 9) einfach proportional dem Koppelungskoeffizienten k_{12} ist. Die unten zu beschreibenden Versuche werden zeigen, dass diese Vermutungen durch die Tatsachen bestätigt werden, dass sich aber gleichzeitig die Möglichkeit und die Notwendigkeit ergibt, das zugrunde gelegte Modell in einzelnen Punkten zu vervollständigen und zu verbessern. Wir tun dies, indem wir zuerst eine Beschreibung der tatsächlichen Eigenschaften unserer Verbindungen geben. Vorgängig dieser Beschreibung soll auch das Wesentliche über deren chemische Darstellung angegeben werden.

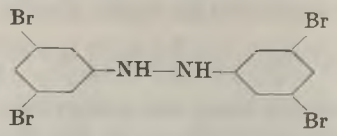
5. *Synthese von 2,2'-Dichlor-6,6'-dimethyl-benzidin* (Formel II) *und Derivaten.*

a) Allgemeines.

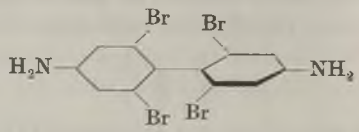
Fast alle bisher untersuchten asymmetrischen Diphenylverbindungen sind aus zweifach ortho-subtituierten Jodbenzolen durch Kondensation mit Hilfe von Natrium oder Kupfer gewonnen worden. Die Ausbeuten solcher Kondensationen sind meistens schlecht, die Darstellungsmethoden der Jodbenzole mit zwei Ortho-Substituenten nicht immer einfach.

Ein experimentell einfacherer Weg führt über die Benzidinumlagerung vierfach meta-substituierter Hydrazobenzole. Als Beispiel sei

die von *R. Meyer, W. Meyer* und *K. Taeger*[1]) untersuchte Umlagerung von

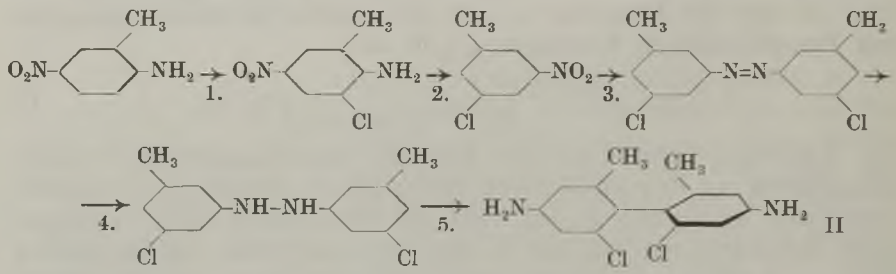


zu



erwähnt.

Unter Benützung einer in der letzten Stufe der Gesamtsynthese analogen Reaktion haben wir die Verbindung II auf folgendem Reaktionswege, ausgehend von technischem p-Nitro-o-toluidin dargestellt:



b) Experimentelles über die einzelnen Reaktionsstufen.

Für die einzelnen im Schema durch Ziffern gekennzeichneten Reaktionsstufen seien (sofern nicht Literaturhinweise genügen), die nachstehenden Vorschriften angegeben:

1. Zur Darstellung von 2-Chlor-6-methyl-4-nitranilin werden 100 g p-Nitro-o-toluidin in 600 cm³ Methylalkohol aufgeschlämmt und zum Teil gelöst. Es wird darauf eine Messerspitze Jod zugefügt und sodann Chlor unter ständigem Rühren eingeleitet. Dabei geht zunächst alles unter Selbsterwärmung in Lösung. Hält man die Temperatur durch Kühlen unterhalb 40° C, so beginnen sich bald orangefarbene Krystalle von 2-Chlor-6-methyl-4-nitranilin auszuscheiden. Nachdem ca. 20% mehr Chlor, als theoretisch nötig ist, eingeleitet ist, stellt man die Chlorzufuhr ab und lässt vollständig erkalten. Es krystallisieren 86 g (= ca. 70% der Theorie) Chlornitrotoluidin von Smp. 164—167° (statt 168°) aus. Das Produkt ist zur Weiterverwendung genügend rein.

2. Das 3-Chlor-5-methyl-nitrobenzol erhält man durch Entamidierung des 2-Chlor-6-methyl-4-nitranilins genau nach der von *Meyer, Meyer* und *Taeger* (l. c.) für das 3,5-Dibrom-nitrobenzol angegebenen Vorschrift.

3. und 4. 3,3′-Dichlor-5,5′-dimethyl-hydrazobenzol erhält man aus 3-Chlor-5-methylnitrobenzol nach den von *Meyer* und *Taeger* für die Reduktion von 3,5-Dibromnitrobenzol zu 3,3′,5,5′-Tetrabrom-hydrazobenzol gemachten Angaben.

Der Schmelzpunkt des rohen 3,3′-Dichlor-5,5′-dimethyl-hydrazobenzols (66 g aus 100 g Chlornitrotoluol) liegt zunächst zwischen 98 und 106°; er steigt beim Umkrystallisieren aus 190 cm³ Ligroin auf 107—108°. Die Substanz krystallisiert in farblosen Würfeln, die sich an der Luft mit einer gelb-orangen Haut überziehen.

5,500 mg Subst. gaben 0,488 cm³ N_2 (20,2°, 739 mm)

$C_{14}H_{14}N_2Cl_2$ Ber. N 9,96 Gef. N 10,05%

---

[1]) *R. Meyer, W. Meyer* und *K. Taeger*, B. **53**, 2034 (1920).

5. 2,2′-Dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin durch Umlagerung der Hydrazoverbindung.

Verschiedene Versuche ergaben als geeignetste Vorschrift: 100 g feinst pulverisiertes 3,3′-Dichlor-5,5′-dimethyl-hydrazobenzol werden in 2000 cm³ 4-n. Salzsäure 12 Stunden lang bei Zimmertemperatur geschüttelt. Dann wird vom Ungelösten (in der Hauptsache durch Oxydation und Disproportionierung entstandene Azokörper) abgesaugt und das rot gefärbte Filtrat unter Eiskühlung neutralisiert. Es fällt ein im wesentlichen weisser Niederschlag aus, der aber von kleinen Mengen einer violett-roten Substanz begleitet ist. Diese lässt sich durch Kochen der rohen Benzidinbase in salzsaurer Lösung mit Tierkohle entfernen. Die wieder ausgefällte Base ist dann rein weiss und krystallisiert aus Alkohol-Wasser in farblosen dicken Nadeln vom Smp. 167—168°. Ausbeute ca. 70% der Theorie.

4,274 mg Subst. gaben 9,39 mg CO_2 und 1,94 mg H_2O
3,701 mg Subst. gaben 0,328 cm³ N_2 (21,4°, 743 mm)

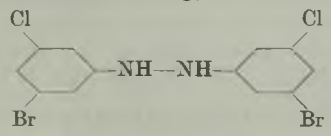
$C_{14}H_{14}N_2Cl_2$	Ber.	C 59,92	H 5,08	N 9,96%
	Gef.	„ 59,78	„ 5,02	„ 10,01%

c) Bemerkung über die Benzidinumlagerung 4fach meta-substituierter Hydrazobenzole.

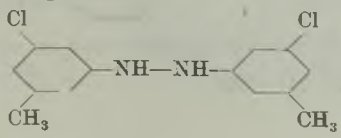
Es ist von gewissem Interesse, die im vorigen beschriebene Umlagerung von 3,3′-Dichlor-5,5′-dimethyl-hydrazobenzol zu vergleichen mit der vorstehend (Abschnitt a)) erwähnten analogen Umlagerung von Tetrabrom-hydrazobenzol und ähnlichen Verbindungen.

Zunächst ist festzustellen, dass (nach den Angaben von *R. Meyer*, *W. Meyer* und *K. Taeger*) das Tetrabrom-hydrazobenzol der Umlagerung einen erheblich stärkeren Widerstand entgegensetzt, als man es von andern Hydrazoverbindungen gewohnt ist. Durch Eintragen in einen grossen Überschuss 78-proz. Schwefelsäure bei 80° C kann man zwar die Umlagerung erzwingen; dabei werden aber 40% der Hydrazoverbindung zu Dibromanilin und Azoverbindung disproportioniert und es tritt ausserdem leichte Verharzung ein. *P. Jacobson*[1]) führt diese Umlagerungsschwierigkeiten auf die sterische Hinderung der vier Bromatome zurück, eben jene sterische Hinderung, die es ermöglicht, solche Molekeln, wenn sie asymmetrisch substituiert sind, in stabilen, optisch aktiven Antipoden zu erhalten.

Wir glauben, dass im Gegensatz zu dieser Auffassung im wesentlichen andere Gründe für die Erschwerung der Umlagerung des Tetrabrom-hydrazobenzols massgebend sind. Von Bedeutung ist dabei die von uns gemachte Beobachtung, dass



ebenso schwer umzulagern ist, wie das Tetrabrom-hydrazobenzol, während die Umlagerung von



unter den *Jacobson*'schen Normalumlagerungsbedingungen[1]) momentan erfolgt. Da die Substituenten $-CH_3$ und $-Br$ bekanntlich etwa gleich gross sind, kann der grosse Unterschied in der Umlagerungsgeschwindigkeit der beiden letztgenannten Verbindungen nicht, wie *Jacobson* bei der Tetrabromverbindung annimmt, durch die Raumerfüllung der Substituenten gedeutet werden. Wir vermuten vielmehr, dass die elektrischen Eigenschaften für die Umlagerungsmöglichkeit entscheidend sind. Bei den Tetrahalogenverbindungen wird der Umstand entscheidend sein, dass die Halogene als negativierende Substituenten die Protonenaffinität der Stickstoffatome in der Hydrazoverbindung und namentlich im Benzidin stark herabsetzen, indem man beachtet, dass die Benzidinumlagerung unter Anlagerung von Protonen vor sich geht. Wenn diese letztere erschwert wird, muss zwangsläufig auch die Umlagerung gehemmt werden.

Dass die Raumerfüllung der Substituenten, nur wenn sie extrem gross ist, die Umlagerung beeinflussen kann, sieht man auch am geometrischen Modell: Bei der Benzidinumlagerung als rein innermolekularer Reaktion müssen die Benzolkerne der reagierenden Molekel in annähernd parallelen Ebenen liegen. Dabei stören sich die Substituenten, solange sie nicht grösser als die Kohlenstoffatome sind, keineswegs.

d) Herstellung der Kondensationsprodukte der Verbindung II mit Benzaldehyd und Zimtaldehyd.

Die Kondensationsprodukte asymmetrischer Benzidine mit Benzaldehyd und Zimtaldehyd sollten wegen des grossen Abstandes zwischen den windschief zueinander stehenden chromophoren Gruppen und der durchgehenden Konjugation optisch besonders interessant sein. Sie lassen sich folgendermassen darstellen:

N,N′-Dibenzal-2,2′-dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin: Zu einer Lösung von 1 g 2,2′-Dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin in 30 cm³ Alkohol werden 0,76 cm³ (theoretische Menge) Benzaldehyd gegeben, worauf man das Gemisch bei Zimmertemperatur stehen lässt. Nach 10 Minuten schon beginnt die Krystallisation der Dibenzalverbindung; nach 24 Stunden haben sich 1,6 g schwach gelblicher Prismen ausgeschieden. Der Smp. 177 bis 178,5° wird durch Umkrystallisieren aus Benzol-Petroläther eher herabgesetzt.

5,215 mg Subst. gaben 0,293 cm³ N_2 (21,5°, 741 mm)

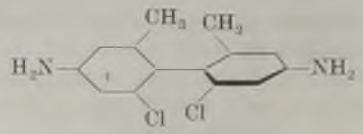
$C_{28}H_{22}N_2Cl_2$ Ber. N 6,13 Gef. N 6,35%

N,N′-Dicinnamal-2,2′-dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin: Ähnlich wie mit Benzaldehyd erhält man aus 0,5 g 2,2′-Dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin in 25 cm³ Alkohol mit 0,44 cm³ Zimtaldehyd 0,85 g gelbes, in feinen Nadeln krystallisierendes Dicinnamal-2,2′-dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin. Der Zersetzungspunkt liegt bei 244—247°, doch fängt die Substanz schon bei 200° an braun zu werden.

5,345 mg Subst. gaben 0,296 cm³ N_2 (20,0°, 739 mm)

$C_{32}H_{26}N_2Cl_2$ Ber. N 5,50 Gef. N 5,70%

e) Konstitutionsbeweis von



[1]) *P. Jacobson*, A. **427**, 211 (1922).

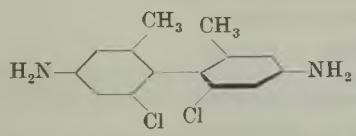
P. Jacobson (l. c.) hat an einer grossen Zahl von Beispielen gezeigt, dass bei der Umlagerung von Hydrazoverbindungen mit freien p-Stellungen die Bildung von Benzidin bevorzugt wird. Beim Versuch, 2,2′-Dichlor-6,6′-dibrom-benzidin durch Umlagerung zu gewinnen, hatten wir aber sehr beträchtliche Mengen der isomeren Diphenyline erhalten (Verbindungen vom Typus der nachstehend mit B und C bezeichneten Stoffe, gekennzeichnet durch andere Stellung der Substituenten).

Die beiden isomeren Diphenyline (Formel B und C), die entstanden sein könnten, müssten sich dabei genau so wie das 2,2′-Dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin (Formel A) in optische Antipoden spalten lassen.

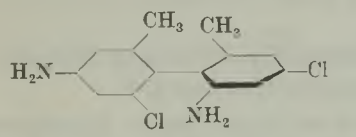
Bei den Verbindungen B und C bestünde aber die asymmetrische Molekel nicht mehr aus zwei identischen Teilen und die für die theoretische Deutung so wertvolle Einfachheit wäre verloren.

Infolgedessen schien uns eine sichere Konstitutionsbestimmung des vermutlich erhaltenen 2,2′-Dichlor-6,6′-dimethyl-benzidins notwendig zu sein.

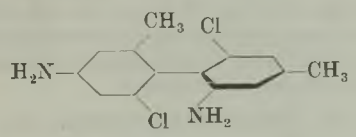
Der einfachste und sicherste Nachweis der Konstitution des Umlagerungsproduktes von 3,3′-Dichlor-5,5′-dimethyl-hydrazobenzol kann durch die Messung des Dipolmomentes erbracht werden[1]). Man sieht sofort, dass das Benzidin das kleinste Dipolmoment haben muss, weil sich in dieser Molekel die axialen Komponenten des elektrischen Momentes gerade aufheben. Durch geometrische Addition der Gruppenmomente (Anilin $1{,}54 \times 10^{-18}$, Chlorbenzol $-1{,}55 \times 10^{-18}$ und Toluol $0{,}4 \times 10^{-18}$) erhält man für



(A) . . . . . $\mu = 2{,}39 \times 10^{-18}$,



(B) . . . . . $\mu = 5{,}05 \times 10^{-18}$,



(C) . . . . . $\mu = 4{,}11 \times 10^{-18}$

Die Messung ergab für unser Umlagerungsprodukt

$$\mu = 2{,}32 \pm 0{,}05 \times 10^{-18} \text{ a. e. s. E.}$$

womit seine Konstitution als 2,2′-Dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin eindeutig bewiesen ist.

---

[1]) Vgl. analoge Messungen an andern Diphenylverbindungen bei *R. J. W. Le Fèvre* und *H. Vine*, Soc. **1938**, 967.

Die zur Berechnung des Dipolmomentes aus den Dielektrizitätskonstanten der Lösungen in Benzol verwendete Molrefraktion wurde aus den Atomrefraktionen zusammengesetzt; das Ultrarotglied vernachlässigt.

Die Messung wurde mit dem von *H. Mohler* und *J. Sorge* beschriebenen[1]) Apparat ausgeführt.

f) Racematspaltung.

Das *d,l*-2,2′-Dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin bildet mit zwei Molekeln *d*-Weinsäure sehr gut krystallisierende Salze, von denen das mit der *l*-Base in 96-proz. Alkohol das etwas schwerer lösliche ist. Durch mehrfaches Umkrystallisieren konnte eine weitgehende Trennung herbeigeführt werden. Die *l*-Base wurde optisch rein, die *d*-Base zu 84 % aktiv erhalten.

l-Base: $[\alpha]_D^{16} = -1{,}32^0$ (p = 9,89, in 96-proz. Alkohol)

d-Base: $[\alpha]_D^{15} = +1{,}11^0$ (p = 9,04, in 96-proz. Alkohol)

Die alkoholischen Lösungen der weinsauren Salze färben sich an der Luft ziemlich rasch gelb (die trockenen Salze sind weniger empfindlich). Da die einzelnen Fraktionen mindestens 12 Stunden zur Krystallisation stehen bleiben müssen, ist das Endprodukt braun gefärbt. Es kann aber leicht wieder gereinigt werden durch Kochen mit Tierkohle in salzsaurer Lösung. Es tritt dabei, auch bei anhaltendem Sieden, keine Spur von Racemisierung ein.

In ähnlicher Weise wie die racemischen kann man auch die optisch aktiven *Schiff*'schen Basen mit Benzaldehyd und Zimtaldehyd gewinnen. Unerwarteterweise sind die Kondensationsprodukte der *l*-Base rechtsdrehend.

l-N,N′-Dibenzal-2,2′-dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin:

$[\alpha]_D^{15} = +1{,}33^0$ (p = 7,88, in Benzol)

l-N,N′-Dicinnamal-2,2′-dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin:

$[\alpha]_D^{25} = +0{,}8^0$ (p = 2,26, in Chloroform)

6. *Messung von Absorption, Rotationsdispersion und Zirkulardichroismus an Diphenylverbindungen.*

Die Absorption der vorstehend genannten und einiger weiterer Diphenylverbindungen wurde in bekannter Weise photographisch nach der Methode des rotierenden Sektors bestimmt; die Drehung für Natriumlicht wurde optisch, die Rotationsdispersion photographisch mit einem Quarz-Halbschatten-Polarimeter aufgenommen[2]), ebenso der Zirkulardichroismus mit Hilfe eines Ultraviolett-Zirkulardichrometers[3]).

Die Messung der Drehung und des Zirkulardichroismus im Innern der Absorptionsbanden begegnete den bekannten Schwierigkeiten, weil die starke Absorption die Anwendung grosser Konzentrationen und Schichtdicken der aktiven Substanz ausschliesst. Über

[1]) Helv. **20**, 1447 (1937). Für die bereitwillige Überlassung seiner Apparatur möchten wir Herrn P.D. Dr. *H. Mohler* unseren verbindlichsten Dank aussprechen.

[2]) *W. Kuhn*, B. **62**, 1727 (1929).

[3]) *W. Kuhn* und *E. Braun*, Z. physikal. Ch. [B] **8**, 445 (1930).

die grundsätzlich erreichbare und auch erreichte Messgenauigkeit soll in einer gesonderten Notiz berichtet werden. Es wird dort gezeigt werden, dass die Messbarkeit der Effekte nach der photographischen Halbschattenmethode sowohl bei der Drehung als auch beim Zirkulardichroismus praktisch genommen aufhört, wenn der Anisotropiefaktor g kleiner als 10^{-3} wird. Diese Grenze ist bei allen nachstehend untersuchten Diphenylverbindungen, ausser bei der Verbindung I (2,2′, 6,6′-Dimethyl-diamino-diphenyl), unterschritten, so dass also meistens nur die Absorption, sowie die Drehung ausserhalb der Absorptionsgebiete gemessen werden konnten.

Dies trifft insbesondere zu für:

2,2′-Dinitro-diphensäure-(6,6′) (Fig. 6),

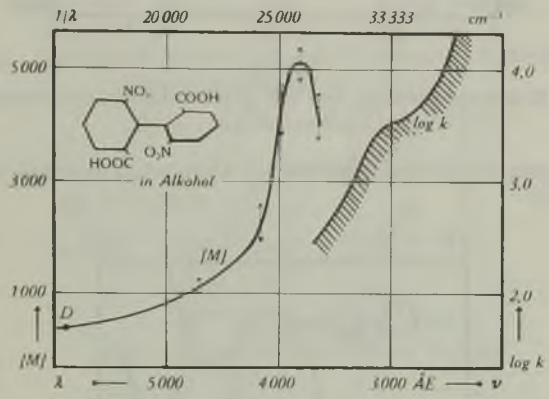


Fig. 6.

Absorption und Rotationsdispersion von 2,2′-Dinitro-diphensäure-(6,6′) in Alkohol. t = 16° C. Die punktierten Doppelpfeile geben die Fehlergrenzen der Drehungsmessung an.

2,2′-Dioxy-dinaphtyl-(1,1′)-dicarbonsäure-(3,3′)-diäthylester (Fig. 7),

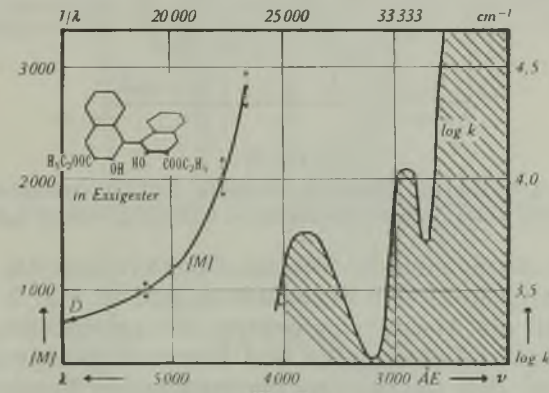


Fig. 7.

Absorption und Rotationsdispersion von 2,2′-Dioxy-dinaphtyl-(1,1′)-dicarbonsäure-(3,3′)-diäthylester in Äthylacetat. t = 16° C.

und 2,2′-Dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin (Fig. 8),

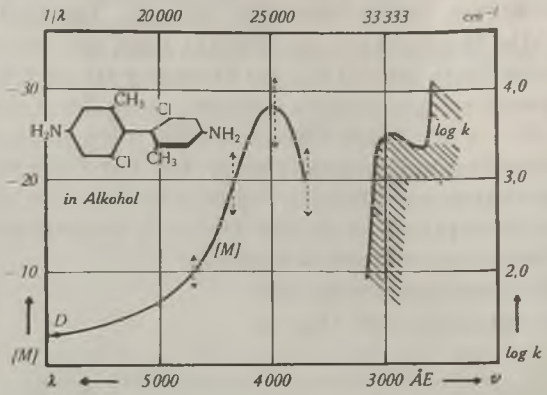


Fig. 8.

Absorption und Rotationsdispersion von 2,2′-Dichlor-6,6′dimethyl-benzidin in Alkohol. t = 16° C.

ebenso für die beiden *Schiff*'schen Basen des 2,2′-Dichlor-6,6′-dimethyl-benzidins (Fig. 10 und 12). (Fig. 9).

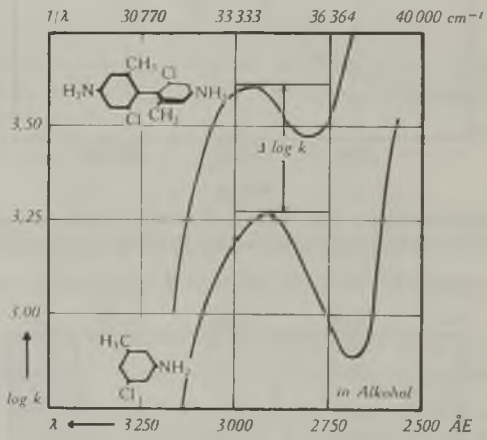


Fig. 9.

Absorption von 2,2′-Dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin, 3-Chlor-5-methyl-anilin in Äthylalkohol. Δ log k der Absorptionsmaxima = 0,33 entsprechend $k_2/k_1 = 2{,}14$.

Für das asymmetrische Dichlor-dimethyl-benzidin und dessen Kondensationsprodukt mit Benzaldehyd sind in Fig. 9 und 11 zum Vergleich auch die Absorptionsspektren der entsprechenden Benzolderivate (3-Methyl-5-chlor-anilin und Kondensationsprodukte) angegeben. Es wird sich zeigen, dass der eingehende Vergleich eine Abschätzung der zwischen den Molekelhälften wirkenden Koppelung gestattet (s. II. Teil).

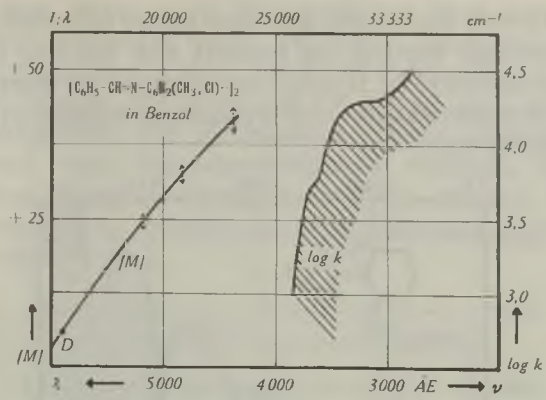


Fig. 10.

Absorption und Rotationsdispersion von N,N′-Dibenzal-2,2′-dichlor-6,6′-dimethylbenzidin in Benzol. t = 15° C.

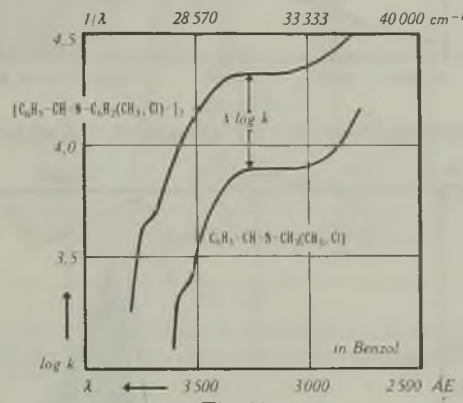


Fig. 11.

Vergleich der Absorption von N,N′-Dibenzal-2,2′-dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin und N-Benzal-3-methyl-5-chlor-anilin in Benzol. Δ log k der Absorptionsmaxima = 0,40 entsprechend $k_2/k_1 = 2{,}5$.

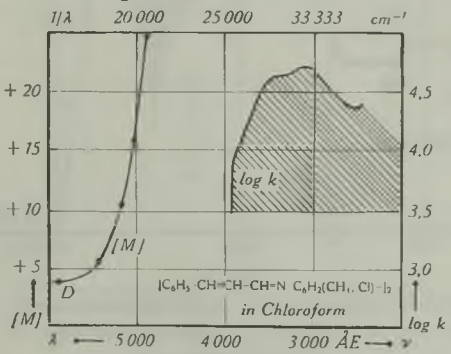


Fig. 12.

Absorption und Rotationsdispersion von N,N′-Dicinnamal-2,2′-dichlor-6,6′-dimethylbenzidin in Chloroform. t = 15° C.

In Fig. 13 sind Messungen aus einer bisher unveröffentlichten Arbeit[1]) übernommen worden. Es handelt sich um das 2,2′-Diamino-6,6′-dimethyl-diphenyl in Hexan, bei welchem im Bereich der langwelligsten Absorptionsbande eine wenigstens angenäherte Drehungsmessung möglich war.

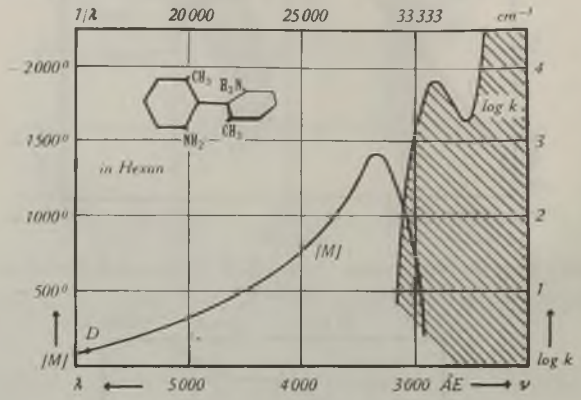


Fig. 13.

Absorption und Rotationsdispersion von 2,2′-Diamino-6,6′-dimethyl-diphenyl in Hexan

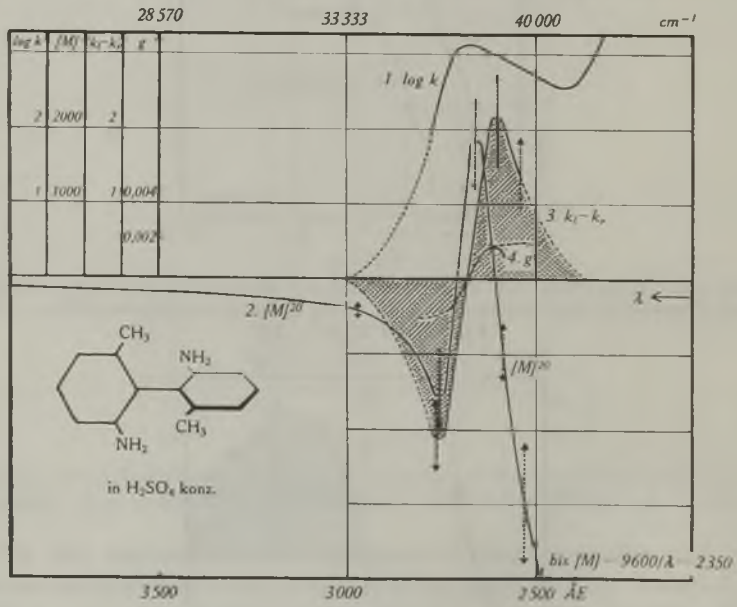


Fig. 14.

Absorption (log k), Rotationsdispersion [M], Zirkulardichroismus ($k_l - k_r$) und Anisotropiefaktor $g = (k_l - k_r)/k$ von 2,2′-Dichlor-6,6′-dimethyl-benzidin in konz. Schwefelsäure ($\overset{\wedge}{\underset{\vee}{}}$ Fehlergrenzen).

[1]) Diss. von *A. Wortmann* (Kiel 1939).

An derselben Substanz in konzentrierter Schwefelsäure konnte dann der Drehungsverlauf durch die ganze Absorptionsbande und deren Zirkulardichroismus, wenn auch mit Fehlern bis zu 30 %, wirklich gemessen werden. Es zeigt sich (Fig. 14), dass, im Gegensatz zu bisher Bekanntem, der Zirkulardichroismus (Anisotropiefaktor) antisymmetrisch zum Bandenmittelpunkt verläuft, während der Drehungsbeitrag (Gesamtdrehung vermindert um den starken Beitrag der kürzerwelligen Banden) in erster Näherung symmetrisch zur Absorptionsbande liegt.

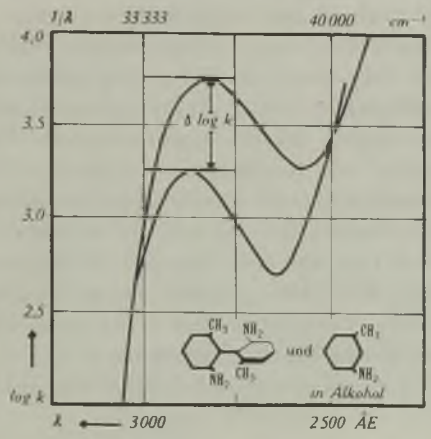


Fig. 15.

Vergleich der Absorption von 2,2′-Diamino-6,6′-dimethyl-dipenhyl und m-Toluidin in Alkohol. Δ log k der Absorptionsmaxima = 0,57 entsprechend $k_2/k_1 = 3{,}7$.

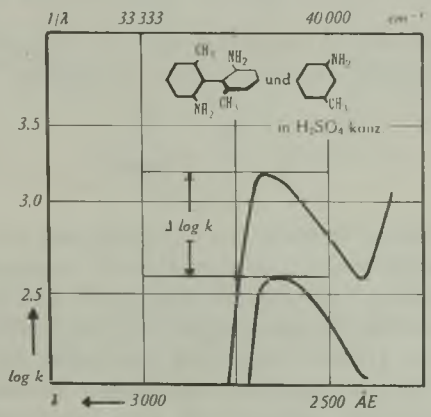


Fig. 16.

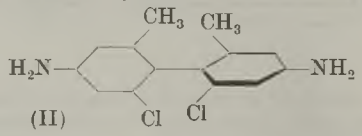
Vergleich der Absorption von 2,2′-Diamino-6,6′-dimethyl-diphenyl und m-Toluidin in konz. Schwefelsäure. Δ log k der Absorptionsmaxima = 0,52 entsprechend $k_2/k_1 = 3{,}3$.

Zusammenfassung.

Modellmässige Betrachtungen über das Zustandekommen der optischen Aktivität führen zu bestimmten Vermutungen über das Schwingungsbild, welches bei asymmetrischen Diphenylverbindungen, die aus 2 identischen, gegeneinander gedrehten Molekelhälften bestehen, zu erwarten ist.

Es ist insbesondere die Aufspaltung der einzelnen Absorptionsbanden in 2 entgegengesetzt dichroitische Halbbanden zu erwarten und als Folge davon ein zum Mittelpunkt der Gesamtbande symmetrischer Verlauf des Drehungsbeitrages nebst einem zum Mittelpunkt antisymmetrischen Verlauf des Zirkulardichroismus. Da optisch einheitliche Banden einfacher organischer Stoffe mit asymmetrischem Kohlenstoffatom im Gegensatz hierzu einen antisymmetrischen Verlauf der Rotationsdispersion und einen symmetrischen Verlauf des Zirkulardichroismus zeigen, ist die experimentelle Untersuchung von Diphenylverbindungen von besonderem Interesse. Von weiterem Interesse ist der Umstand, dass sich durch Kondensation mit *Schiff*'schen Basen Verbindungen herstellen lassen, in welchen räumlich ausgedehnte Systeme von konjugierten Doppelbindungen vorliegen. Das ist deswegen wichtig, weil die optische Aktivität allgemein als Indikator für die räumliche Verteilung und Winkelung der Komponenten des Streumomentes in der Molekel anzusehen ist.

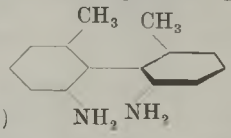
Die Darstellung eines asymmetrischen Benzidins,



(II)

sowie seiner *Schiff*'schen Basen mit Benzaldehyd und Zimtaldehyd, wird beschrieben.

Schliesslich werden Absorption und Rotationsdispersion einiger asymmetrischer Diphenylverbindungen mitgeteilt. Von



(I)

in konz. Schwefelsäure werden Drehungsbeitrag und Zirkulardichroismus der langwelligsten Absorptionsbande angegeben.

In einem zweiten Teil dieser Arbeit soll das Zustandekommen der speziellen optischen Eigenschaften der Verbindungen (I) und (II) besprochen werden. Daraus wird sich einerseits die Möglichkeit zur Abschätzung der Kopplungskräfte in diesen Molekeln, sowie deren absoluter Konfiguration, andererseits eine Verfeinerung der Modellvorstellungen ergeben. Ein Teil dieser Ergebnisse ist auch bereits in der ausführlichen Fassung der Diss. von *R. Rometsch* enthalten.

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel.

126. Etudes sur les matières végétales volatiles XXXI [1]). Sur l'isolement des huiles essentielles dissoutes dans les eaux de distillation

par Y. R. Naves.

(23 VI 44)

En vue d'isoler analytiquement l'huile essentielle (essence) contenue dans les extraits végétaux, nous avons annoncé dès 1936 et développé en 1937 [2]), un appareil et une technique qui mettent à profit l'entraînement de l'essence dans un courant de vapeur d'eau surchauffée sous pression réduite, l'essence étant isolée du distillat saturé de chlorure de sodium (salaison) par un dissolvant.

Nous avons constaté par la suite l'imperfection des prescriptions initiales: les essences de jasmin qui renferment de l'alcool benzylique ne sont qu'incomplètement extraites par le pentane [3]).

Le problème fondamental réside dans l'extraction de l'essence contenue en proportion très faible dans un volume V d'eau par un volume S de dissolvant, les procédés usant d'un percolateur étant laissés de côté. Le choix de S dépend de conditions techniques (mode d'extraction, pertes d'essence au cours de la distillation du dissolvant) et de conditions économiques. Lorsque S est fixé, il convient de débattre le mode d'utilisation.

On peut considérer valablement, du point de vue de l'approximation pratique, l'extraction d'un seul élément essentiel, le plus difficile à extraire. La faible proportion de chacun des éléments par rapport à V et à S et le faible volume d'essence décantée ou émulsionnée justifient cette considération. Supposons encore que le coefficient de partage c soit indépendant de la concentration [4]).

Appelons K le quotient cS/V, M la masse totale du corps à extraire, on a [5]): m_n (masse demeurant dissoute après la n-ième extraction) $= M/(1 + K/n)^n$ qui devient, lorsque n approche l'infini, e étant la base des logarithmes naturels:

$$\lim_{n \to \infty} \frac{M}{\left(1 + \frac{K}{n}\right)^n} = Me^{-K}$$

[1]) XXXème communication: Helv. **27**, 942 (1944).

[2]) *Naves*, Documentation Scientifique, n° **50**, 305 (1936); n° **59**, 269 (1937); *Naves, Sabetay, Palfray*, Ann. chim. anal. [3] **19**, 201 (1937).

[3]) *Naves, Grampoloff*, Helv. **25**, 1507 (1942).

[4]) Conditions de *Nernst*, Z. physikal. Ch. **8**, 110 (1891); voy. *Herz*, Der Verteilungssatz, Stuttgart, 1909.

[5]) Voy. *Jantzen*, Dechema-Monographie, n° **48**, Berlin, 1932; *Holleman*, Chem. Weekbl. **29**, 762 (1932); *Hunter, Nash*, J. Soc. Chem. Ind. **51**, 285 T (1932); Industrial Chemist **9**, 245 (1933); *Evans*, Ind. Eng. Chem. **26**, 439 (1934).

Il en résulte que le pourcentage maximum extractible par le volume S de dissolvant est: $(1 - e^{-K})\ 100\,\%$.

Evans a étudié la fonction:

$$\frac{n = n}{n = \infty} = f(K, n) = \frac{1 - \left(\frac{n}{n+K}\right)^n}{1 - e^{-K}}$$

Au minimum,

$$\left(\frac{\delta f}{\delta K}\right)_n = \frac{\left(\frac{n}{n+K}\right)^{n+1} - e^{-K}\left[\left(\frac{n}{n+K}\right)^{n+1} - \left(\frac{n}{n+K}\right)^n + 1\right]}{(1 - e^{-K})^2} = 0.$$

Quand $n = 5$, le minimum est approximativement atteint lorsque $K = 1{,}6$.

Supposons que nous ayons traité 10 gr. d'extrait éthéropétrolique soluble dans l'alcool (absolue) de fleur de jasmin, livrant 40 % d'essence. La teneur en alcool benzylique varie autour de 8,5 %[1]), et la quantité de 0,34 gr. est insuffisante pour saturer, à 18°, 600 cm³ d'eau (solubilité: 4,14 %).

En utilisant pour l'extraction 100 cm³ de pentane ($c = 1{,}02$; $K = 0{,}17$), en une seule fois, ou en deux, ou en cinq fractions égales[2]), on peut extraire:

	1 extr.	2 extr.	5 extr.	maximum extractible ($n = \infty$)	$\frac{n = 5}{n = \infty}$
gr. d'alcool benzylique	0,050	0,051	0,052	0,053	
% de l'alcool benzylique	14,7	15,0	15,3	15,63	97,9

Il existe deux moyens particulièrement efficaces pour améliorer ce résultat peu satisfaisant. Le premier est l'accroissement de la quantité de dissolvant utilisée; le calcul montre qu'il faudrait la porter à 700 cm³ pour extraire 90 % de l'alcool benzylique. Le second consiste dans l'élévation du coefficient K par la salaison, car c est porté à 18° à 6,4.

En utilisant 250 cm³ de pentane et la salaison[3]), on peut extraire:

	1 extr.	2 extr.	5 extr.	maximum extractible ($n = \infty$)	$\frac{n = 5}{n = \infty}$
gr. d'alcool benzylique	0,25	0,28	0,30	0,307	
% de l'alcool benzylique	73,5	82,4	88,3	93,04	94,9

[1]) *Hesse, Müller*, B. **32**, 778 (1899), *Hesse*, ibid. 249, indiquent 6 % pour l'essence d'enfleurage. Cfr. *Naves, Grampoloff*, loc. cit. p. 1506.

[2]) L'équipartition correspond au maximum d'efficacité: *Smith*, J. Soc. Chem. Ind. **47**, 159 T (1928); *Nash*, Oil & Gas J., 30 mars 1933, p. 52.

[3]) *Naves, Grampoloff*, loc. cit.; les conditions furent déterminées empiriquement.

Il apparaît préférable de recourir simultanément à la salaison, peu coûteuse et efficace, et à l'emploi d'un dissolvant tel que K atteigne 5. En divisant S en 5 fractions, on peut alors extraire environ 97 % de l'alcool benzylique. Pour atteindre 99 %, il faut approcher K de 10. L'éther et le mélange à parties égales de pentane et d'éther[1]), moins émulsionnable, S étant ramené à 100 cm³, permettent ceci.

Prenons maintenant l'exemple d'un extrait soluble dans l'alcool de rose de Bulgarie, donnant 65 % d'essence renfermant 65 % d'alcool phényléthylique[2]). La distillation de 10 gr. donne 6,50 gr. d'essence accompagnant 400 cm³ d'eau et renfermant 4,125 gr. d'alcool phényléthylique (sol. à 18° = 2,28 %; c = 3,23).

On peut extraire, par 100 cm³ de pentane:

	1 extr.	2 extr.	5 extr.	maximum extr. pour n = ∞	n = 5 / n = ∞
Eaux non salées					
gr. d'alcool phényléthylique	1,845	2,04	2,13	2,286	
% de l'alcool phényléthylique	44,7	49,5	51,6	55,40	93,14
Eaux salées					
gr. d'alcool phényléthylique	3,63	3,94	4,01	4,123	
% de l'alcool phényléthylique	88,0	95,6	97,3	99,94	97,36

Par conséquent, dans le cas de l'essence de rose, le pentane peut être utilisé à la condition de saler les eaux. Il en est de même dans le traitement des distillats qui contiennent du cyanure de benzyle, de l'aldéhyde anisique, du para-crésol, de l'anthranilate de méthyle. On emploiera donc 100 cm³ de pentane en 5 fractions de 20 cm³ pour traiter environ 500 cm³ d'eau salée. Par contre, l'exclusion du pentane est indiquée lors de l'extraction des essences de jasmin[3]).

Le mode opératoire prescrit par la pharmacopée française pour le dosage des essences dans les eaux distillées officinales[4]) pourrait être revisé avec fruit sur la base de ces considérations[5]).

---

[1]) La composition de ce mélange n'est pas altérée sensiblement par la dissolution dans l'eau salée (*Thorne*, Soc. **119**, 262 (1921)).

[2]) Cfr. *v. Soden*, J. pr. [2] **69**, 265 (1904); *Glichitch, Naves*, Parfums France, **11**, 162 (1933); *Naves, Mazuyer*, Les Parfums Naturels, 270, Paris, 1939.

[3]) Les extraits d'ylang-ylang ne renferment pas d'alcool benzylique. La présence de celui-ci traduit une addition frauduleuse, qui peut être celle d'essence. Cfr. *Naves, Mazuyer*, loc. cit., 291.

[4]) Pharmacopée française **2**, 287 (1937).

[5]) Le cas de l'essence de l'eau de fleur d'oranger a été débattu empiriquement. Voy. *S. A. Tombarel frères*, Perfumery Record, **29**, 206 (1938); *Harmel*, Contribution à l'étude des eaux distillées des hespéridées des Alpes-Maritimes, Thèse, 13—24, Marseille, 1939.

Les mêmes considérations peuvent être appliquées aux cas de l'extraction des essences contenues dans les distillats glycériniques ou glycoliques obtenus en appliquant les techniques de *Bullock*[1]) et de *Sabetay*[2]). Ces techniques recourent à la codistillation des essences avec la glycérine et le glycol, sous pression réduite[3]). Dans la plupart des cas, une fraction importante de l'essence demeure dissoute dans la phase glycérinique ou glycolique diluée d'eau. Il ne convient en aucune manière de la négliger. *Sabetay* recommande d'extraire par du pentane ou par le mélange à volumes égaux de pentane et d'éther les seuls distillats dilués dont décante l'essence; il conçoit la répétition des lavages comme le correctif de décantations inexactes[4]). Nos essais d'extraits de jasmin montrent qu'il est nécessaire d'apporter des modifications foncières à son mode opératoire[5]). Il convient de souligner que l'extraction des distillats glycoliques par percolation ne peut être retenue en raison de l'entraînement du glycol.

Partie expérimentale.

Réactifs. Le pentane utilisé provenait de la rectification du produit commercial: p. d'éb. = 36—36,5°/760 mm.; $d_4^{20} = 0{,}6288$; $n_C^{20} = 1{,}35607$; $n_D^{20} = 1{,}35780$; $n_F^{20} = 1{,}36199$; $(n_F - n_C) \times 10^4 = 59{,}2^6$).

Le glycol également: $d_4^{20} = 1{,}1131$; $n_C^{20} = 1{,}42986$; $n_D^{20} = 1{,}43198$; $n_F^{20} = 1{,}43722$; $(n_F - n_C) \times 10^4 = 73{,}6$.

Détermination des solubilités. Nous n'avons pu disposer d'un dispositif thermostatique[7]) adaptable à l'interféromètre qui aurait permis la mesure nécessaire de n à la sixième décimale. Dans ces conditions il a fallu écarter la technique interférométrique[8]) et déterminer les solubilités aqueuses par l'extraction prolongée au percolateur[9]), malgré les critiques que l'on peut adresser à ce procédé. Les solutions dans l'eau et dans l'eau salée saturées de pentane ont été préparées à $18^0 \pm 0{,}1^0$. Le pentane a été éliminé des extraits au percolateur et des solutions directes dans le pentane humide par la distillation. Des essais de distillation de pentane humide sur un poids connu de chacun des corps étudiés montrent que cette opération n'entraîne pas de pertes notables.

---

[1]) Perfumery Record **15**, 279 (1924).

[2]) Ann. chim. anal. [3] **21**, 173 (1939); **22**, 217 (1940). Cfr. *Naves, Grampoloff*, Helv. **25**, 1501, 1507 (1942).

[3]) *M. G. Igolen*, C. r. **214**, 772 (1942); Parfumerie **1**, 132 (1943), utilise le diéthylène-glycol au lieu du glycol dans la technique de *Sabetay*.

[4]) « Si dans quelques cas il reste des « yeux » à la surface de l'eau, on épuise une quatrième et même une cinquième fois .... » (Ann. chim. anal. [3] **21**, 174 (1939)).

[5]) Cet auteur (ibid.) annonce qu'il a analysé les extraits à la fois par distillation dans la vapeur d'eau et par codistillation glycolique. Rien dans sa publication n'établit une relation précise entre les indications recueillies.

[6]) Cfr. *v. Auwers, Eisenlohr*, Z. physikal. Ch. **83**, 429 (1913); *Karvonen*, Acta chim. Fennica **3**, 101 (1930).

[7]) $A \pm 0{,}0012^0$.

[8]) *Adams*, Am. Soc. **37**, 1181 (1915); *Gross*, ibid. **51**, 2362 (1929); *Gross, Taylor*, ibid. **53**, 1744 (1931).

[9]) Théorie: *Varteressian, Fenske*, Ind. Eng. Chem. **28**, 1353 (1936), **29**, 276 (1937); meilleures conditions: *J.* et *W. Friedrichs*, Ch. Fabrik, **8**, 247 (1935).

Coefficients de partage. Ils ont été déterminés également à $18^0 \pm 0{,}1^0$, sur des solutions aqueuses chargées à 90% et à 50% de la saturation. Toutes les valeurs sont la moyenne de mesures s'écartant peu.

	Eau			Eau salée		
	Solub. gr./100 cm³	c(50%)	c(90%)	Solub. gr./100 cm³	c(50%)	c(90%)
Alcool benzylique[1]) . .	4,14	1,02	0,98	0,66	6,4	6,3
Alcool phényléthylique .	2,28	3,23	3,1	0,25	29,5	27,4
Para-crésol[2])	2,25	3,3	3,3	0,37	20,0	18,9
Cyanure de benzyle . .	0,41	6,75	6,1	0 25	11,5	10,8
Aldéhyde anisique . . .	0,27	14,0	13,6	0,125	29,0	29,4
Anthranilate de méthyle	0,27	25,2	23,9	0,042	170	158

Exemple d'une essence de jasmin[3]). Le distillat de 20 gr. d'extrait éthéropétrolique de jasmin, exactement décanté de l'essence, a été partagé en deux, également. La première fraction (I) a été extraite sans salaison (300 cm³ par 5 fois 20 cm³ de pentane), la seconde (II) après salaison (300 cm³ par 5 fois 20 cm³ de mélange à volumes égaux de pentane et d'éther). Les eaux-mères de I ont été épuisées au percolateur par du pentane. En raison de l'existence d'émulsion, nous n'avons pas considéré isolément les fractions d'essence isolées des eaux; chacune a été réunie à une moitié de l'essence décantée. Les valeurs entre parenthèses sont relatives à II.

Poids d'essence: 2,076 gr. (2,204 gr.); $d_4^{20} = 0{,}9804$ (0,9833); $n_D^{20} = 1{,}4930$ (1,4959). Indice d'ester = 220,5 (210,5); alcools libres phtalisables[4]), exprimés comme alcool benzylique = 16,6% (20,4%).

Essence des eaux-mères de I: poids isolé = 0,094 gr.; $n_D^{20} = 1{,}5160$; alcools libres phtalisables = 84,1%.

Extraction de distillats glycoliques. 10 gr. d'extrait éthéropétrolique soluble dans l'alcool (absolue) de jasmin ont été traités par 3 fois 20 cm³ de glycol[5]).

Dans un premier essai, conforme aux prescriptions formulées par *Sabetay*[6]), le distillat des premiers 20 cm³ a été additionné de 100 cm³ d'eau, les deux suivants de 50 cm³. Seuls les deux premiers mélanges ont libéré une couche surnageante d'essence. Ils ont été réunis et le produit additionné de sel a été extrait par trois fois 20 cm³ de mélange à volumes égaux de pentane et d'éther.

Dans un second essai, les trois distillats glycoliques réunis ont été additionnés de 600 cm³ de saumure[7]) et extraits par cinq fois 20 cm³ du même mélange de dissolvants.

---

[1]) Solubilité à $17^0 = 4{,}0$ d'après *Meyer*, B. **14**, 2395 (1881).

[2]) Solubilité dans l'eau à $20^0 = 1{,}94$ d'après *Sidgwick, Spurell, Davies*, Soc. **107**, 1202 (1915).

[3]) Une série d'essais semblables ont été effectués, dont plusieurs par *Grampoloff*, sur des extraits de jasmin, de rose.

[4]) Technique de *Radcliffe, Chadderton* suivant *Glichitch, Naves*, Parfums France **11**, 239 (1933). La majeure partie des phtalates doit correspondre à l'alcool ou mélange d'alcools $C_{18}H_{34}O$ (*Naves, Grampoloff*, Helv. **25**, 1510 (1942)).

[5]) *Naves, Grampoloff*, loc. cit., 1507.

[6]) Hormis que le réfrigérant et les récepteurs ont été lavés par les premiers 20 cm³ de dissolvants, en raison de la rétention du glycol par les surfaces de verre (cfr. *Trimble, Frazer*, Ind. Eng. Chem. **21**, 1063 (1929)).

[7]) *Naves, Grampoloff*, loc. cit. 1507. Le mélange de saumure au glycol entraîne la saturation approximative du mélange; voy. à ce sujet: *Trimble*, Ind. Eng. Chem. **23**, 165 (1931).

La tentative a été renouvelée sur un second lot d'absolue jasmin. Parallèlement, l'essai des deux lots a été pratiqué par entraînement dans la vapeur d'eau surchauffée sous une pression de 30 à 40 mm[1]).

	Glycol; technique originale		Glycol; technique modifiée		Vapeur d'eau	
	lot I	lot II	lot I	lot II	lot I	lot II
Rendement, %	28,6	30,4	35,2	38,0	38,1	40,6
d_4^{20}	1,0006	0,9982	0,9964	0,9932	0,9906	0,9894
n_D^{20}	1,5013	1,5043	1,4970	1,4981	1,4966	1,4978
Indice d'ester	236	215	212	198	202	192
Alcools par phtalisation[2]), %	15,3	18,2	22,1	24,2	21,0	21,3

Extractibilité du glycol. Le mélange de 20 cm³ de glycol et de 50 cm³ de saumure a abandonné à cinq extractions par 20 cm³ de mélange de pentane et d'éther: 0,0852 gr. de glycol ($n_C^{20} = 1{,}4306$; $n_D^{20} = 1{,}4324$; $n_F^{20} = 1{,}4382$).

RÉSUMÉ.

L'isolement de l'essence des distillats aqueux d'extraits végétaux libérant des constituants solubles dans l'eau (alcool benzylique, alcool phényléthylique, etc.) doit être effectué après salaison, dans des conditions précises. Il est recommandé de ne pas traiter par le pentane les produits qui renferment l'alcool benzylique, mais d'utiliser le mélange de pentane et d'éther. La technique de codistillation d'essences avec le glycol décrite par ailleurs doit être amendée.

Je remercie M. le Dr. *A. V. Grampoloff* pour l'assistance qu'il a apportée à l'étude des conditions de la codistillation glycolique et de l'isolement de l'essence des distillats.

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

---

127. Über m-Phenylen-di-glykol

(53. Mitteilung über Stickstoff-Heterocyclen[3]))

von **Paul Ruggli** und **Karl Knecht**.

(23. VI. 44.)

Im Anschluss an frühere Synthesen von Derivaten des lin. Benzo-dipyrrols ist es wünschenswert, neue Substitutionsprodukte des m-Diäthyl-benzols darzustellen, die nach Nitrierung in 4, 6-Stellung und Reduktion zum Diamin für einen doppelseitigen Ringschluss in Betracht kommen. In der vorliegenden Arbeit beschreiben wir einige

[1]) *Naves, Grampoloff,* loc. cit. 1506.

[2]) Les quatre premiers chiffres sont influencés par l'entraînement de glycol par les dissolvants.

[3]) Letzte Mitteilung Helv. **27**, 649 (1944).

Substanzen mit reaktionsfähigen Gruppen in den beidseitigen α- und β-Stellungen. Da wir auf leichte Zugänglichkeit des Materials Wert legten, gingen wir von der Isophtalsäure aus.

Lässt man auf Isophtaloylchlorid (I) überschüssige Diazomethanlösung einwirken, so erhält man in fast quantitativer Ausbeute das doppelseitige Diazoketon (II). Es ist eine schön krystallisierte Substanz, die in der Flamme verpufft, aber auch in grösseren Mengen gefahrlos gehandhabt und einen Monat lang aufbewahrt werden kann. Während sich die trockene Substanz erst beim Schmelzpunkt (129°) zersetzt, tritt in Lösung oder Suspension schon bei 40—50° Stickstoffentwicklung ein.

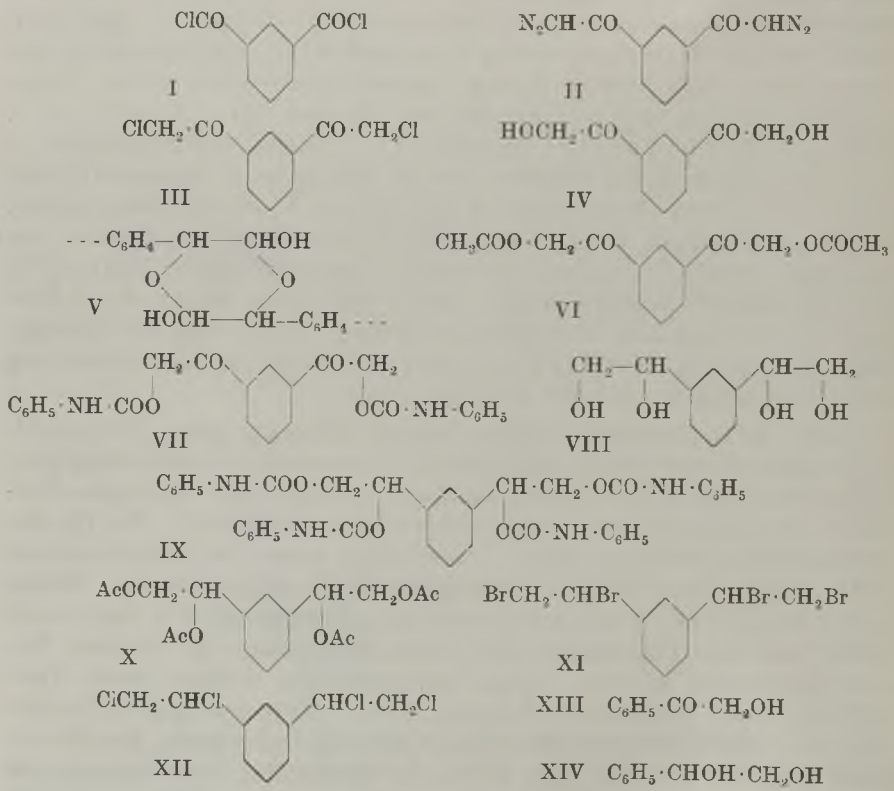
Zu definierten Präparaten kommt man am besten durch Einwirkung von Säuren. Giesst man die Lösung des Diazo-ketons (II) in warme verdünnte Salzsäure, so ist der Verlust des Stickstoffs mit einer Anlagerung von Chlorwasserstoff verbunden und man erhält das 1,3-Bis-chloracetyl-benzol (III). Die Zersetzung des Diazo-ketons mit heisser 5-proz. Schwefelsäure führt unter Stickstoffentwicklung und Anlagerung von Wasser zum „Ketol", d. h. zum 1,3-Bis-oxyacetyl-benzol (IV). Dieses wird zunächst in einer polymeren Form erhalten, die — analog dem dimeren Glykolaldehyd — einer Makromolekel des Typus V entsprechen dürfte. Durch einstündiges Kochen mit Alkohol tritt Depolymerisation ein und man erhält das Ketol nunmehr in krystallisierter Form (IV) mit definiertem Schmelzpunkt. Als α-Oxy-keton reduziert es *Fehling*'sche Lösung und Silberdiamminlösung. In verdünnter Natronlauge löst sich das Ketol (IV) mit tiefroter Farbe, die auf Entstehung eines beidseitigen En-diols schliessen lässt.

Die Ketongruppen wurden durch Bildung eines Di-phenylhydrazons nachgewiesen. Ein Osazon wurde auch mit überschüssigem Phenylhydrazin-acetat nicht erhalten, was mit dem analogen Verhalten des einfachen Benzoyl-carbinols übereinstimmt[1]). Die Hydroxylfunktionen wurden durch Darstellung eines Di-phenylurethans (VII) und eines Di-acetylderivates (VI) nachgewiesen. Dieses 1,3-Bis-(acetoxy-acetyl)-benzol („Ketolester" VI) kann auch direkt aus dem Diazoketon (II) durch Zersetzung mit heissem Eisessig gewonnen werden. Seine Ketongruppen wurden durch Darstellung eines leuchtend orangegefärbten Di-(p-nitrophenyl-hydrazons) und eines farblosen Di-semicarbazons nachgewiesen. Der Ketolester (VI) ist wie das freie Ketol in verdünnter Natronlauge mit roter Farbe löslich, was auf die Bildung eines En-diol-acetates hinweist.

Die Hydrierung des Ketolesters (VI) ergab eine Aufnahme von vier Wasserstoffatomen und verlief unter Abspaltung von Essig-

[1]) *E. Fischer*, B. **20**, 822 (1887).

säure (1 Mol. also einseitig oder unvollständig). Ähnliche Erscheinungen sind schon in andern Fällen beobachtet worden[1]), doch zeigte das verbleibende Öl keine Keton- oder Alkoholeigenschaften mehr. Wir gingen daher zur Hydrierung des freien Ketols (IV) über; sie verlief in Gegenwart von *Raney*-Nickel sehr glatt und führte zum m-Phenylen-di-glykol (VIII), das in schön krystallisierter Form erhalten wurde. Infolge der vier Hydroxylgruppen ist es auch in Wasser löslich. Umsetzungen mit Aceton oder Thionylchlorid ergaben wenig charakteristische ölige Körper, doch wurden die Hydroxylgruppen durch Umsetzung mit Phenyl-isocyanat zu einem krystallisierten Tetra-phenylurethan (IX) nachgewiesen. Als geeignet für weitere Umsetzungen erwies sich vor allem das Tetraacetat (X), das zwar ölig ist, aber durch Destillation im Vakuum rein erhalten wird.



[1]) Bei Benzoyl-carbinol-acetat, dem einseitigen Analogon, erhielten wir Essigsäure und Acetophenon, bei Gegenwart von Magnesiumoxyd α-Phenyl-äthylalkohol. Ähnliche Reaktionen sind unter andern Bedingungen beobachtet worden von *Birnbaum* und *Pawell*, J. Org. Chem. **4**, 139 (1937), sowie von *A. Dornow*, B. **73**, 353 (1940). Die Titration der Essigsäure ist übrigens in Gegenwart von Dioxan sehr ungenau; vgl. *Pregl-Roth*, Quantitative org. Mikroanalyse, S. 485.

Ein Versuch, das m-Phenylen-diglykol durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure in m-Phenylen-diacetaldehyd umzulagern, führte bisher nur zu undefinierten Körpern. Hingegen ergab die analoge Verkochung des einfachen Phenyl-glykols (XIV) mit 55% Ausbeute Phenylacetaldehyd[1]).

Ein Ziel dieser Arbeit war der Ersatz der Hydroxylgruppen im m-Phenylen-diglykol durch Halogen. Er gelang nicht auf direktem Wege, wohl aber liess sich das Tetra-acetylderivat (X) durch Erhitzen mit Bromwasserstoff in Eisessig mit ausgezeichneter Ausbeute in das Tetrabromid (XI) des m-Divinyl-benzols überführen. Dieses ist identisch mit einem Tetrabromid, das *R. Deluchat*[2]) durch Anlagerung von Brom an m-Divinyl-benzol erhalten hat; doch dürfte die neue Synthese ergiebiger sein. Auch das analoge Tetrachlorid (XII) wurde durch Umesterung des Tetra-acetats mit Chlorwasserstoff-Eisessig dargestellt. Es ist zwar ölig, lässt sich aber unzersetzt im Vakuum destillieren und dadurch rein erhalten.

Für die eingangs erwähnten Ringschlüsse wäre eine Di-nitrierung in 4,6-Stellung erwünscht, die mit mehreren der erhaltenen Präparate versucht wurde. Die zuletzt genannten Tetra-halogenide erwiesen sich als ungeeignet, da sie mit Salpetersäure schon bei -10^0 in nennenswertem Masse Halogenwasserstoff abspalten. Mehr Aussicht bot die Nitrierung des Tetra-acetats (X), doch wurden niemals krystallisierte Körper erhalten. Die öligen oder harzigen Produkte enthielten je nach Intensität der Nitrierung 4 bis 9,6% Stickstoff, während sich für ein Dinitro-derivat 7,14% berechnen. Die katalytische Hydrierung dieser Produkte ergab aber u. a. Ammoniak, das zum Teil in freier Form wie auch bei der Benzoylierung als Benzamid nachgewiesen wurde. Daraus kann man schliessen, dass wenigstens teilweise eine Umesterung eingetreten ist, so dass ein Teil des Stickstoffs als Salpetersäure-ester der Glykolgruppen vorhanden ist.

Manche Versuche dieser Arbeit wurden vergleichsweise auch mit dem einfachen Phenylglykol (XIV) ausgeführt, für dessen Darstellung aus Benzoyl-carbinol (XIII) wir im experimentellen Teil eine verbesserte Vorschrift wiedergeben.

Experimenteller Teil.

Isophtaloyl-chlorid (I) wurde nach *F. Reindel* und *F. Siegel*[3]) in Ansätzen von 40 g Isophtalsäure und 120 g Thionylchlorid dargestellt und im Vakuum destilliert. Die Reinausbeute war mit 92% der Theorie erheblich besser als die in der Literatur angegebene; Smp. 41—43°, Sdp.$_{11\,mm}$ 136°.

---

[1]) Letzterer Versuch wurde schon von *Th. Zincke* ohne Angabe der Ausbeute mitgeteilt, A. **216**, 298 (1883).

[2]) Ann. chim. [11] **1**, 237 (1934).

[3]) B. **56**, 1554 (1923); vgl. auch *P. Ruggli* und *E. Gassenmeier*, Helv. **22**, 499 (1939).

1,3-Bis-(diazo-acetyl)-benzol (II).

Die für einen Ansatz erforderliche Diazomethanlösung wurde aus 40 g Nitrosomethyl-harnstoff nach *F. Arndt*[1]) bereitet; sie enthielt in 500 cm³ Äther nach dem Ergebnis der Titration 11,5 g Diazomethan. Nach Zugabe einiger grober Siedesteinchen liess man unter Rühren mit der Hand bei 8—10° eine Lösung von 10 g Isophtaloylchlorid in 80 cm³ Äther zutropfen. Nach 20 Minuten war die unter lebhafter Stickstoffentwicklung verlaufende Reaktion beendet. Auf ein Mol Isophtaloylchlorid wurden 5,5 Mol statt der berechneten 4 Mol Diazomethan verwendet, um die Bildung des Chlor-ketons (III) zu verhindern.

Nach Zusatz der halben Säurechloridmenge begann bereits die Ausscheidung des gelben Diazoketons (II); nach beendeter Zugabe liess man unter gelegentlichem Umrühren noch zwei Stunden bei Zimmertemperatur stehen, um die Ausbeute zu verbessern. Der abgesaugte gelbe flockige Niederschlag wurde mit kaltem Äther gewaschen, Ausbeute 9,8 g oder 94% der Theorie. Das Rohprodukt schmilzt unter Zersetzung bei 124 bis 127° und kann direkt weiter verwendet werden. Nach Umkrystallisieren aus der 20fachen Menge Dioxan von 50° erhält man hellgelbe Krystalle vom Zersp. 125—126°. Durch Lösen in der 19fachen Menge Chloroform und Fällung mit Petroläther stieg der Zersetzungspunkt einzelner Fraktionen bis auf 129°. Das Diazoketon ist löslich in Chloroform, Essigester und Dioxan, schwerlöslich in Äther, unlöslich in Petroläther. Beim Erhitzen verpufft es.

1,691 mg Subst. gaben 0,393 cm³ N_2 (17°, 729 mm)

$C_{10}H_6O_2N_4$ Ber. N 26,17 Gef. N 26,24%

1,3-Bis-chloracetyl-benzol (III).

3 g Diazoketon (II) werden in 40 cm³ Aceton unter schwachem Erwärmen gelöst und portionenweise in 100 cm³ 5-proz. Salzsäure von 70—80° eingegossen. Unter Stickstoffentwicklung destilliert das Aceton ab. Nach 10 Minuten scheidet sich das Reaktionsprodukt in gelben Öltropfen aus. Man erwärmt noch eine Stunde auf dem siedenden Wasserbad und lässt erkalten, wobei das Öl fest wird (Smp. 85—92°) und nach Umlösen aus Alkohol gelbe Nadeln vom Smp. 97,5—98° bildet. Aus der wässrigen Reaktionslösung krystallisieren weisse Nädelchen (Smp. 90—92°), die nach Umlösen aus Wasser bei 94—96° schmelzen. Trotz verschiedener Farbe sind beide nach der Mischprobe identisch; die Gesamtausbeute beträgt 2,67 g oder 83% der Theorie. Die Substanz ist leicht löslich in kaltem Chloroform, löslich in heissem Alkohol, Methanol oder Wasser.

8,371 mg Subst. gaben 10,191 mg AgCl

$C_{10}H_8O_2Cl_2$ Ber. Cl 30,70 Gef. Cl 30,11%

1,3-Bis-(oxy-acetyl)-benzol („Ketol" IV).

10 g rohes Diazoketon (II) werden mit 250 cm³ 55-proz. Schwefelsäure übergossen und nach Zugabe einiger Siedesteine auf dem Wasserbad erwärmt. Die bei Zimmertemperatur beginnende Gasentwicklung wird bei 55—65° lebhaft. Man erwärmt im offenen Becherglas noch eine halbe Stunde auf 90—95°, so dass das Volum etwa 200 cm³ beträgt, filtriert heiss von einigen Flocken oder Öltropfen ab und lässt erkalten. Dabei scheiden sich 7,1 g oder 78,5% der Theorie eines gelben bis rötlichen Körpers ab, der als polymere Form (V) keinen Schmelzpunkt zeigt, sondern sich beim Erhitzen rot, braun und bei 300° schliesslich schwarz färbt.

Zur Depolymerisation kocht man 5 g eine Stunde unter Rückfluss mit 150 cm³ Alkohol, filtriert heiss und kühlt auf −15°, wobei 4,25 g hellgelbe Blättchen vom Smp. 164—165,5° krystallisieren. Das Ketol löst sich mit tiefroter Farbe in Natronlauge und

[1]) Z. angew. Ch. **43**, 444 (1930); **46**, 47 (1933). Ergänzende Bemerkungen finden sich in der Diss. *K. Knecht*, Basel 1944; hervorgehoben sei, dass man vor dem Öffnen des Rührkolbens die Luft zweckmässig durch Stickstoff verdrängt, da sonst beim Herausnehmen des Rührers gelegentlich eine hohe Stichflamme beobachtet wurde.

wird durch Säuren wieder gelb ausgefällt. Es zeigt die zu erwartenden reduzierenden Eigenschaften.

3,001; 3,062 mg Subst. gaben 6,808; 6,949 mg CO_2 und 1,538; 1,526 mg H_2O

$C_{10}H_{10}O_4$ Ber. C 61,83 H 5,19%
Gef. „ 61,87; 61,89 „ 5,73; 5,57%

Di-phenylhydrazon. In eine Lösung von 3,5 cm³ Phenylhydrazin in 10 cm³ 70-proz. Essigsäure werden 0,2 g Ketol (IV) eingetragen und eine Stunde auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Erkalten wird der dunkelgelbe Niederschlag abgesaugt und mehrmals aus der zehnfachen Menge siedenden Dioxans umkrystallisiert. Die hellgelben Krystalle schmelzen bei 184—186,5° und sind in Alkohol, Eisessig, Essigester und Dioxan löslich.

2,397 mg Subst. gaben 0,349 cm³ N_2 (17°, 744 mm)

$C_{22}H_{22}O_2N_4$ Ber. N 16,75 Gef. N 16,78%

Di-phenylurethan (VII). 0,4 g Ketol (IV) werden mit 0,7 g Phenylisocyanat 5 Minuten lang zum Sieden erhitzt und nach Erkalten das erstarrte Reaktionsprodukt gründlich mit Äther verrieben. Durch Digerieren mit kaltem Chloroform kann die Substanz gelöst und von ungelöstem Diphenyl-harnstoff getrennt werden. Nach Verdunsten des Chloroforms wird die Substanz aus Äthyl- oder Amylalkohol umkrystallisiert, Smp. 225—225,5° unter Zersetzung.

3,947 mg Subst. gaben 0,232 cm³ N_2 (17°, 727 mm)

$C_{24}H_{20}O_6N_2$ Ber. N 6,48 Gef. N 6,62%

1,3-Bis-(acetoxy-acetyl)-benzol („Ketolester" VI).

1. Darstellung aus Ketol (IV). 0,2 g Ketol werden mit 3 cm³ Essigsäureanhydrid und etwas geschmolzenem Natriumacetat langsam erwärmt und schliesslich 10 Minuten lang gekocht. Nach Zerlegung mit Wasser wird der braune, flockige Niederschlag gut gewaschen und zweimal aus Methanol umkrystallisiert, Smp. 121—121,5°. Die Mischprobe mit dem nach der zweiten Methode dargestellten Präparat ergibt Identität.

2. Darstellung aus dem Diazoketon (II). 4 g rohes Diazoketon werden auf einmal in 15 cm³ Eisessig eingetragen und nach Zugabe einiger Siedesteine unter Rühren im Paraffinölbad erwärmt, wobei Lösung eintritt. Die bei 40—50° beginnende Gasentwicklung wird bei 80° stürmisch. Nach einer halben Stunde gibt man 1—2 g festes Kaliumacetat hinzu und kocht eine Stunde unter Rückfluss. Nach Erkalten giesst man in Wasser und saugt nach einigem Stehen den bräunlichen Niederschlag ab. Nach Trocknen auf Ton im Vakuum beträgt die Ausbeute 4,1 g oder 79% der Theorie. Der Schmelzpunkt des gelben Pulvers steigt nach Umlösen aus Methanol auf 121—121,5°.

3,805 mg Subst. gaben 8,390 mg CO_2 und 1,792 mg H_2O

$C_{14}H_{14}O_6$ Ber. C 60,43 H 5,04%
Gef. „ 60,14 „ 5,26%

Durch Destillation oder Sublimation im Vakuum (Sdp.$_{11\ mm}$ 219°) wird die Substanz fast farblos, doch ist das verlustreiche Verfahren nicht empfehlenswert. Die Substanz ist in Eisessig leicht, in Wasser und Alkohol schwer löslich. In verdünnter Natronlauge ist sie mit roter Farbe löslich und wird durch Säuren wieder gelb ausgefällt.

Di-(p-nitrophenyl-hydrazon). Zu einer heissen filtrierten Lösung von 0,33 g p-Nitrophenyl-hydrazin in 10 cm³ 50-proz. Essigsäure gibt man 0,2 g Ketolester (VI) in 2 cm³ heissem Eisessig. Der abgepresste Niederschlag wird mit 3 cm³ Eisessig ausgekocht und das Ungelöste aus Eisessig umkrystallisiert. Die leuchtend orange Substanz schmilzt bei 280° unter Zersetzung.

2,454 mg Subst. gaben 0,327 cm³ N_2 (15°, 738 mm)

$C_{26}H_{24}O_8N_6$ Ber. N 15,33 Gef. N 15,34%

Di-semicarbazon. Die heisse Lösung von 1 g Ketolester (VI) in 8 cm³ Methanol wird in eine heisse wässrig-alkoholische Lösung von 3 g Semicarbazid-hydrochlorid und 3,6 g Kaliumacetat eingetragen. Nach 2 Stunden giesst man in 40 cm³ Wasser und saugt am andern Tage den bräunlichen Niederschlag ab; 0,8 g vom Zersp. 150°.

Aus dem Filtrat scheiden sich nach zweitägigem Stehen 0,52 g weisse Kryställchen vom Smp. 174° ab. Die Gesamtausbeute beträgt 93%. Aus beiden Fraktionen erhält man beim Umkrystallisieren aus der zehnfachen Menge siedenden Eisessigs schneeweisse Krystalle vom Smp. 184° unter Zersetzung, löslich in Eisessig, Alkohol und Essigester.

2,661 mg Subst. gaben 0,507 cm³ N_2 (19°, 741 mm)

$C_{16}H_{20}O_6N_6$ Ber. N 21,44 Gef. N 21,64%

Katalytische Hydrierung des Ketolesters (VI). Die Versuche wurden mit je 1 g Substanz in 15 cm³ Dioxan in Gegenwart von *Raney*-Nickel bei Zimmertemperatur durchgeführt. Die anfangs rasche Wasserstoffaufnahme liess bald nach und war erst nach 7 Stunden beendet; Aufnahme 172 cm³ oder 4,4 Atome Wasserstoff. Die Titration der abgespaltenen Essigsäure ergab 0,247 g oder 1,1 Mol, während sich für 2 Mol 0,403 g berechnen. Die nach Abtrennung des Acetats verbleibende Substanz reagierte nicht mit Phenylisocyanat, Benzoylchlorid, p-Nitrobenzoylchlorid oder Semicarbazid. Die Reaktion soll daher weiter untersucht werden.

m-Phenylen-di-glykol (VIII).

5 g umkrystallisiertes Ketol (IV) werden in 200 cm³ siedendem Alkohol gelöst und im Hydriergefäss durch rasches Abkühlen in fein verteilter Form ausgefällt. Nach Zugabe von zwei kleinen Löffeln alkoholfeuchten *Raney*-Nickels hydriert man etwa 8 Stunden lang mit Wasserstoff von etwas über Atmosphärendruck. Die Aufnahme betrug etwa 1170 cm³, während sich für 4 Atome 1140 cm³ berechnen. Aus dem Filtrat wird der Alkohol im Vakuum abdestilliert, wobei zunächst eine honigartige Masse hinterbleibt, die beim Anreiben mit wenig Aceton fest wird. Beim Verdunsten erhält man 4,65 g oder 91% der Theorie einer weissen Substanz vom Smp. 90—95°.

Das rohe m-Phenylen-di-glykol kann ohne weiteres verarbeitet werden. Durch Umkrystallisieren aus Aceton steigt der Schmelzpunkt der farblosen Blättchen auf 98—99°. Die Substanz ist in Wasser, Alkohol und Chloroform leicht löslich; in kaltem Pyridin, Aceton und Äther löst sie sich schwer, in warmem Pyridin oder Aceton leicht.

3,200 mg Subst. gaben 7,081 mg CO_2 und 1,960 mg H_2O

$C_{10}H_{14}O_4$ Ber. C 60,57 H 7,12%

Gef. „ 60,35 „ 6,85%

Tetra-phenylurethan (IX). 1,2 g Phenylisocyanat werden mit 0,5 g m-Phenylen-di-glykol im zugeschmolzenen Reagenzglas 45 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Erkalten wird die erstarrte Reaktionsmasse mit absolutem Äther von Phenylisocyanat befreit. Der Rückstand wird mit einigen cm³ eiskalten Chloroforms behandelt, wobei Diphenylharnstoff zurückbleibt. Durch Verdunsten des Chloroforms im Vakuum erhält man Krystalle, die zur völligen Entfernung des Diphenylharnstoffs noch zweimal mit Chloroform behandelt werden; Ausbeute 1,2 g oder 70% der Theorie. Die Substanz schmilzt unter Zersetzung bei 58—60° und ist in Methanol, Alkohol, Essigester und Chloroform, Aceton und Dioxan leicht, in Äther schwer, in Petroläther nicht löslich.

4,340 mg Subst. gaben 0,229 cm³ N_2 (14,5°, 748 mm)

$C_{38}H_{34}O_8N_4$ Ber. N 8,31 Gef. N 8,05%

Tetra-acetat (X). 8,4 g m-Phenylen-diglykol (VIII) werden in 100 cm³ kaltem Pyridin gelöst und mit 40 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt. Das Gemisch erwärmt sich auf etwa 40°, worauf man noch zwei Stunden auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten giesst man auf eine Mischung von 200 g Eis und 120 cm³ 85-proz. Phosphorsäure[1]). Man schüttelt mit Äther aus und wäscht diesen so lange mit Sodalösung, verdünnter Phosphorsäure und Wasser, bis Essigsäure-anhydrid und Pyridin entfernt sind. Nach Trocknen und Abdestillieren hinterbleiben 13,5 g oder 87% der Theorie eines gelblichen viskosen Öles, das zur Weiterverarbeitung genügend rein ist. Bei 11 mm Druck geht es unzersetzt bei 233—236° als farbloses Öl über.

---

[1]) Phosphorsäure ist zur Entfernung des Pyridins gut geeignet, da sie in Äther sozusagen unlöslich ist.

3,871 mg Subst. gaben 8,365 mg CO_2 und 2,042 mg H_2O

$C_{18}H_{22}O_8$ Ber. C 58,97 H 6,05%
Gef. „ 58,93 „ 5,90%

Tetrabromid des *m*-Divinyl-benzols[1]) (XI).

3,3 g Tetra-acetat (X) des m-Phenylen-di-glykols werden mit 15 cm³ Bromwasserstoff-Eisessig (Präparat *Kahlbaum*, 34-proz.) im Einschmelzrohr 20 Stunden lang im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Erkalten giesst man die braune Lösung unter Rühren in 150 cm³ 10-proz. Sodalösung, wobei sich eine Ölhaut abscheidet, die beim Impfen oder längerem Reiben fest wird. Nach Abfiltrieren und Waschen erhält man 3,6 g oder 89% d. Th. an braunem Krystallpulver, das man in der zehnfachen Menge Methanol von 50—55° löst. Bei langsamem Erkalten bilden sich schöne Krystalle vom Smp. 63,5—64° (*Deluchat:* 65°), die in Eisessig, Alkohol, Chloroform und Aceton löslich sind.

8,244 mg Subst. gaben 13,761 mg AgBr

$C_{10}H_{10}Br_4$ Ber. Br 71,08 Gef. Br 71,03%

Tetrachlorid des m-Divinyl-benzols (XII).

5 g Tetra-acetat (X) werden mit 25 cm³ gesättigtem Eisessig-Chlorwasserstoff im Einschmelzrohr 24 Stunden im siedenden Wasserbad erwärmt und nach Erkalten unter Rühren in 150 cm³ eisgekühlte 10-proz. Sodalösung gegossen. Das ausfallende braune Öl wird in Äther aufgenommen, mit Sodalösung und Wasser neutral gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren hinterbleiben 3,0 g oder 82% der Theorie bräunliches Öl, das bei einem Druck von 13 mm bei 233—235° ohne Zersetzung beinahe farblos übergeht.

7,660 mg Subst. gaben 15,928 mg AgCl

$C_{10}H_{10}Cl_4$ Ber. Cl 52,16 Gef. Cl 51,44%

Phenyl-glykol (XIV).

Aus 40 g ω-Brom-acetophenon wurden durch Umsetzung mit alkoholischem Kaliumacetat nach *R. Stoermer*[2]) 28,2 g Benzoylcarbinol-acetat erhalten, was einer Ausbeute von 79% entspricht. Die Verseifung wurde durch Kochen mit einer wässrigen Suspension von Bariumcarbonat nach *O. Fischer* und *M. Busch*[3]) durchgeführt und ergab mit 78% Ausbeute Benzoyl-carbinol (XIII).

Die Reduktion des Benzoyl-carbinols (XIII) wurde bisher von *A. Kling*[4]) mit Natriumamalgam ausgeführt, wobei Phenylglykol neben α-Phenyl-äthylalkohol entstand. *Th. Zincke*[5]) erhielt Phenyl-glykol (XIV) durch mehrtägiges Kochen von Styrol-dibromid mit Kaliumcarbonatlösung in einer Ausbeute 27—30%. *W. L. Evans* und *L. M. Morgan*[6]) erhitzten Styrol-dibromid mit geschmolzenem Bleiacetat und verseiften das Acetat durch Kochen mit Kaliumcarbonatlösung. Wir erhielten das Phenyl-glykol (XIV) auf leichte Weise und mit 85-proz. Ausbeute durch katalytische Hydrierung von Benzoyl-carbinol (XIII).

4 g Benzoyl-carbinol (XIII) werden in 70 cm³ kaltem Alkohol gelöst und in Gegenwart von *Raney*-Nickel bei Zimmertemperatur hydriert. Die Wasserstoffaufnahme beträgt 680 cm³, während sich für 1 Mol H_2 659 cm³ berechnen. Wenn man aus dem Filtrat den Alkohol im Vakuum abdestilliert, hinterbleibt die Substanz in hellen Krystallen; Ausbeute 3,45 g. Nach dem Umkrystallisieren aus Benzol liegt der Schmelzpunkt bei 68—70° (*Zincke:* 67—68°).

Universität Basel, Anstalt für Organische Chemie.

---

[1]) *R. Deluchat* stellte das Tetrabromid durch Addition von Brom an m-Divinylbenzol dar, Ann. chim. [11] **1**, 237 (1934).

[2]) B. **39**, 2294 (1906). [3]) B. **24**, 2680 (1891).

[4]) Ann. chim. [8] **5**, 557 (1905). *Beilstein*'s Handbuch gibt irrtümlich β-Phenyläthylalkohol an. [5]) A. **216**, 293 (1883). [6]) Am. Soc. **35**, 58 (1913).

128. Zur Charakterisierung der 1,3,5-Amino-sulfo-benzoesäure und ähnlicher Amino-sulfo-carbonsäuren

(4. Mitteilung über Sulfo-carbonsäuren[1])

von **Paul Ruggli** und **Hans Dahn.**

(23. VI. 44.)

In unserer letzten Mitteilung[1]) war die Darstellung von säureamid-artig gekoppelten Amino-sulfo-benzoesäuren des Typus I beschrieben worden. Da die Analysenzahlen bei diesen annähernd polymerhomologen Stoffen zu geringe Unterschiede aufweisen und osmotische Molekulargewichtsbestimmungen sowie Schmelzpunktsbestimmungen bei diesen Sulfosäuren nicht in Betracht kommen, war die Charakterisierung der Molekulargrösse mit Schwierigkeiten verknüpft. Bisher führten nur zwei Wege zum Ziel, nämlich die Stickstoffbestimmung der stabilen Diazoniumsalze und die potentiometrische Titration der freien Aminogruppe mit Nitritlösung. Um weitere Möglichkeiten zur Charakterisierung zu gewinnen, prüften wir die Herstellung geeigneter Derivate am einfachsten Glied der Reihe, d. h. an der 1,3,5-Amino-sulfo-benzoesäure. Als brauchbar erwiesen sich 1. die Überführung in 1,3,5-Chlor-sulfo-benzoesäure und deren charakteristische Amide, 2. die Carbobenzoxylierung der Aminogruppe.

1. Der Ersatz der Aminogruppe durch Chlor erfolgt durch Zersetzung der inneren Diazoniumverbindung mit Kupfer(I)-chlorid[2]). Die entstehende 1,3,5-Chlor-sulfo-benzoesäure wird durch Phosphorpentachlorid in ein Dichlorid (II) verwandelt, das sich mit kaltem Wasser zum krystallinen Sulfochlorid (III) hydrolysieren lässt. Letzteres wird durch Pyridin in einen Komplex (IV) verwandelt, der sich vom Chlor-sulfo-benzoylchlorid ableitet. Die drei Chloride wurden durch Amide und Anilide gekennzeichnet. Die Verbindungen ähneln in Schmelzpunkt, Löslichkeit und sonstigen Eigenschaften den analogen Körpern aus m-Sulfo-benzoesäure oder 1,3,5-Nitro-sulfo-benzoesäure[3]), lassen sich aber durch den Chlorgehalt charakterisieren. Die freien Sulfo-benzoesäuren dieser Gruppe sind oft nur durch Hydrolyse der charakteristischen und gut umkrystallisierbaren Sulfochloride rein erhältlich.

2. Carbobenzoxy-chlorid oder Chlorameisensäure-benzylester $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot OCOCl$ ergibt bekanntlich mit Aminoverbindungen Acyl-

[1]) Letzte Mitteilung: *P. Ruggli* und *H. Dahn*, Helv. **27**, 867 (1944); vgl. auch *P. Ruggli* und *F. Grün*, Helv. **24**, 9E (1941).

[2]) Vgl. *C. F. H. Allen* und *G. F. Frame*, J. Org. Chem. **7**, 15 (1942).

[3]) *P. Ruggli* und *F. Grün*, Helv. **24**, 212, 13E (1941).

derivate, die unter Vermeidung der oft gefährlichen Verseifungsmethoden durch blosse Hydrierung gespalten werden können[1]). Die Verwendbarkeit dieser Methode wurde bisher vorwiegend an aliphatischen Aminosäuren und andern biologischen Produkten erprobt. Die Brauchbarkeit zur Acylierung aromatischer Amine ist nur kurz in einem Patent[2]) an den Beispielen Piperidin und p-Aminophenol erwähnt. Wir haben die Methode an einer Reihe weiterer aromatischer Amine geprüft und die Carbobenzoxyverbindungen des Anilins[2]), p-Brom-anilins[3]), p-Toluidins (V), der drei Phenylendiamine (VI), des Phenylhydrazins (VII), Benzidins sowie der Anthranilsäure und p-Amino-benzoesäure (VIII) krystallisiert erhalten. m-Toluidin, o-Anisidin und N-Methylanilin ergaben nur ölige Derivate. Die Schmelzpunkte dieser Carbobenzoxyderivate liegen stets tiefer als die der analogen Acetylverbindungen. In allen diesen Fällen gelingt die Carbobenzoxylierung nach *Schotten-Baumann* mit Natronlauge. Bei den Amino-benzoesäuren entstanden intermediär leicht verseifbare gemischte Anhydride des Typus IX[4]).

Bei der schwer acylierbaren Amino-sulfo-benzoesäure erwies sich das *Schotten-Baumann*'sche Verfahren als nicht anwendbar. Es gelang uns jedoch, durch Erwärmen in Chinolin (Pyridin war ungeeignet) auch die 1,3,5-Carbobenzoxy-amino-sulfo-benzoesäure (X) darzustellen. Die „Verseifung" dieser Substanz war wie bei den andern Verbindungen durch hydrierende Spaltung möglich; wir stellten fest, dass diese Spaltung zu Toluol, Kohlendioxyd und Amino-sulfobenzoesäure auch sehr gut mit *Raney*-Nickel gelingt, wie auch bei den andern von uns untersuchten Beispielen.

Bei der Darstellung der Carbobenzoxy-amino-sulfo-benzoesäure (X) in Chinolinlösung ist es übrigens bemerkenswert, dass der Säurechlorid-Charakter des Carbobenzoxy-chlorids nicht auf die Carboxylgruppe übertragen wird, wie dies z. B. beim Phosgen bekannt ist[5]). Jedenfalls trat keine anderweitige Amidbildung auf; bei der Aufarbeitung mit Strontiumhydroxydlösung wurde nur Carbobenzoxy-amino-sulfo-benzoesäure (X) erhalten.

Diese ist auch mit stärkeren Mitteln wie Phosphorpentachlorid oder Phosphoroxychlorid nicht in ein Säurechlorid zu verwandeln, sondern gibt, offenbar unter primärer Abspaltung des Acyls, amorphe unschmelzbare Produkte. Es war daher nicht möglich, den aliphatischen Peptidaufbau mittels der Carbobenzoxy-Verbindungen auf

---

[1]) *M. Bergmann* und *L. Zervas*, B. **65**, 1192 (1932).

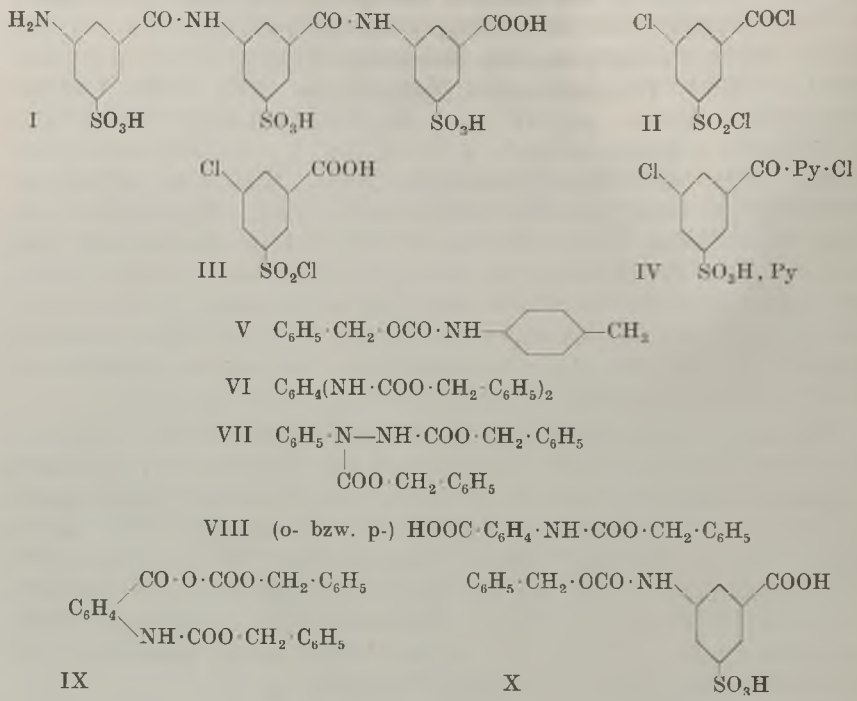
[2]) *M. Bergmann* und *L. Zervas*, D.R.P. 556798, Frdl. **19**, 600.

[3]) Diese beiden Substanzen waren bereits aus den entsprechenden Isocyanaten und Benzylalkohol dargestellt.

[4]) Analoge Anhydride, z. B. aus Phloroglucin-carbonsäure und Carbomethoxy-Reagens hat schon *E. Fischer* beobachtet, B. **47**, 768 (1914).

[5]) Vgl. die theoretischen Überlegungen in der Diss. *H. Dahn*, Basel 1944.

unsere aromatische Sulfosäure zu übertragen. Hier bleibt die Bedeutung der Carbobenzoxy-Verbindungen auf ihre analytische Verwendung beschränkt.



Experimenteller Teil.

1, 3, 5-Chlor-sulfo-benzoesäure.

2,16 g kryst. Kupfersulfat werden in 7 cm³ Wasser mit 0,56 g Kochsalz versetzt und unter Rühren eine Lösung von 0,46 g festem Natriumhydrogensulfit und 0,33 g Natriumhydroxyd in 3 cm³ Wasser zugegeben. Das abgeschiedene weisse Kupfer(I)-chlorid wird abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und in 10 cm³ konz. Salzsäure gelöst. Nach Kühlung auf 5° gibt man unter Rühren eine Suspension von Diazo-sulfo-benzoesäure hinzu, welche aus 1,6 g Amino-sulfo-benzoesäure (7,5 mMol) in 10 cm³ Wasser durch Zusatz von 0,41 g wasserfreiem Natriumcarbonat (7,7 mMol), 19 cm³ konz. Salzsäure und 4,4 cm³ 2-n. Natriumnitritlösung (7,6 mMol) bereitet ist. Die anfangs schwache Stickstoffentwicklung wird durch halbstündiges Erwärmen auf 60—70° vervollständigt. Nach Erkalten leitet man Schwefelwasserstoff ein, filtriert das Kupfersulfid ab und dampft das Filtrat zur Trockne. Die rohe Chlor-sulfo-benzoesäure enthält noch anorganisches Salz und ist hygroskopisch.

Die Reinigung erfolgt über das unten beschriebene Sulfochlorid (III), indem dieses umkrystallisiert und durch Erhitzen mit Wasser verseift wird. Das in der üblichen Weise gewonnene neutrale Strontiumsalz wird mit Schwefelsäure genau zerlegt. Das zur Trockne gedampfte Filtrat hinterlässt eine graue hygroskopische Krystallmasse, die in wenig Wasser gelöst, mit Tierkohle entfärbt und stark eingeengt wird. Beim Erkalten bilden sich strahlige Krystallaggregate der freien Chlor-sulfo-benzoesäure, die nochmals aus Wasser um-

krystallisiert werden. Zur Analyse wurde die Säure im Vakuum über Schwefelsäure zur Konstanz getrocknet.

7,883 mg Subst. gaben 4,691 mg AgCl
2,235 mg Subst. verbrauchten 0,976 cm³ 0,02-n. KJO_3[1])
$C_7H_5O_5ClS$ Ber. Cl 14,99 S 13,55%
Gef. „ 14,71 „ 13,85%

Die trockene Substanz löst sich leicht in Wasser; kurz darauf krystallisiert ein Hydrat.

1,3,5-Chlor-sulfo-benzoesäure-dichlorid (II).

1,8 g Säure — hier kann das Rohprodukt verwendet werden — werden mit 5 g Phosphorpentachlorid eine Stunde im Wasserbad erwärmt, wobei sich die Masse verflüssigt. Nach Erkalten wird auf Eis gegossen und die wässerige Lösung vom öligen Dichlorid abdekantiert. Die folgenden Reaktionen zeigen die Analogie mit dem Dichlorid der Nitro-sulfo-benzoesäure.

Diamid. Das aus 1,8 g Säure erhaltene ölige Dichlorid wurde in 10 cm³ Benzol aufgenommen. 1 cm³ dieser Lösung wurde mit 2 cm³ konz. wässrigem Ammoniak geschüttelt. Nach Verdampfen des Benzols hinterblieb das Diamid als farblose, in Wasser unlösliche Krystallkruste, die nach Absaugen auf dem Wasserbad getrocknet und aus Alkohol umkrystallisiert wurde, Smp. 142—143°. Das Diamid löst sich in 2-n. Sodalösung erst beim Erwärmen, wobei Verseifung eintritt.

3,990 mg Subst. gaben 0,421 cm³ N_2 (19°, 744 mm)
$C_7H_7O_3N_2ClS$ Ber. N 11,96 Gef. N 11,80%

Di-anilid. 1 cm³ der Benzollösung des Dichlorids wurde mit ätherischem Anilin eine Stunde gekocht. Nach längerem Stehen wurde das Anilinhydrochlorid abfiltriert, das Filtrat mit verdünnter Salzsäure von Anilin befreit und die abgetrennte Äther-Benzollösung teilweise abdestilliert. Die erhaltene Krystallkruste wurde nach Auskochen mit Wasser aus Alkohol umkrystallisiert, Smp. 170—171°.

4,765 mg Subst. gaben 0,305 cm³ N_2 (19°, 744 mm)
$C_{19}H_{15}O_3N_2ClS$ Ber. N 7,24 Gef. N 7,31%

1,3,5-Chlor-benzoesäure-sulfochlorid (III).

Eine benzolische Lösung des Dichlorids (II) wurde bei Zimmertemperatur mit Wasser verrührt. Nach 72 Stunden war das Öl zu einem Pulver erstarrt, das in Äther leicht, in Benzol schwerer löslich war. Nach Umkrystallisieren aus Benzol und Chloroform lag der Smp. bei 160—161°.

2,032 mg Subst. gaben 2,271 mg AgCl
$C_7H_4O_4Cl_2S$ Ber. Cl 27,80 Gef. Cl 27,64%

Sulfamid (Carboxyl-ammoniumsalz). 0,4 g 1,3,5-Chlor-benzoesäure-sulfochlorid (III) werden mit 10 cm³ konz. Ammoniaklösung übergossen, wobei alles unter Erwärmung in Lösung geht. Nach Eindampfen zur Trockne wird der graue Rückstand aus 1 cm³ Wasser unter Zusatz eines Tropfens Ammoniak umkrystallisiert. Man erhält 0,2 g farblose Krystalle, die nach nochmaligem Umlösen aus Wasser bei 197—199° schmelzen.

3,609 mg Subst. gaben 0,340 cm³ N_2 (18°, 741 mm)
$C_7H_6O_4NClS, NH_3$ Ber. N 11,09 Gef. N 10,78%

Sulfanilid. 0,4 g Chlor-benzoesäure-sulfochlorid (III) werden in 10 cm³ Äther mit 0,8 cm³ Anilin zwei Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Erkalten schüttelt man mit verdünnter Salzsäure und dampft die Ätherschicht zur Trockne ein. Der Rückstand wird aus Alkohol oder viel Wasser umkrystallisiert. Ausbeute 0,25 g farblose Krystalle,

[1]) Diese Schwefelbestimmung erfolgte nach *K. Bürger*, Z. angew. Ch. **54**, 480 (1941), durch Schmelzen mit Kalium und titrimetrische Sulfidbestimmung mit Jodid-Jodat und Natriumthiosulfat.

die in Äther leicht, in Wasser schwer, in verdünntem Ammoniak leicht löslich sind, Smp. 179—180°.

4,866 mg Subst. gaben 0,207 cm³ N_2 (16°, 740 mm)
$C_{13}H_{10}O_4NClS$ Ber. N 4,49 Gef. N 4,88%

Benzamid (mit freier Sulfogruppe). 0,8 g 1,3,5-Chlor-benzoesäure-sulfochlorid (III) werden mit 1 cm³ Pyridin übergossen, wobei sich unter Selbsterwärmung eine homogene Lösung bildet, die das Pyridin-Addukt des Chlor-sulfo-benzoylchlorids (IV) enthält. Nach Verdünnen mit 5 cm³ Äther wird das Gemisch mit Ammoniakgas gesättigt. Der Niederschlag wird abgesaugt und auf dem Wasserbad getrocknet. Da die Löslichkeitseigenschaften des Körpers — im Gegensatz zum Sulfamid — denen des Ammoniumchlorids sehr ähnlich sind, lassen sich kleine Mengen nicht durch Umkrystallisieren reinigen. Daher wurde das Gemisch fünf Stunden im Vakuum auf 220—240° erwärmt, bis keine Sublimation mehr sichtbar war. Der durch Tierkohle entfärbte Rückstand wurde aus Alkohol umkrystallisiert, Smp. ungefähr 290°.

4,496 mg Subst. gaben 0,247 cm³ N_2 (15°, 740 mm)
$C_7H_6O_4NClS$ Ber. N 5,94 Gef. N 6,34%

Carbobenzoxy-Verbindungen.

Das Reagens wurde nach *M. Bergmann* und *L. Zervas*[1]) durch Versetzen von 240 cm³ gekühlter 20-proz. Phosgen-Toluollösung mit 45 cm³ Benzylalkohol, halbstündiges Stehen in Eis und Vertreiben des überschüssigen Phosgens und Toluols im Vakuum bei 60° mit 80—90-proz. Ausbeute erhalten.

Carbobenzoxy-anilid (Carbanilsäure-benzylester). Zu einer eisgekühlten Mischung von 2 g Reagens und 2 cm³ Benzol werden 2,8 cm³ Chinolin[2]) hinzugetropft, wobei die Temperatur auf 30° steigt und bei weiterem Kühlen in reichlicher Menge ein schönes farbloses Additionsprodukt ausfällt, das wegen seiner Zerfliesslichkeit nicht isoliert wurde. Gibt man nun 1 cm³ Anilin und 2 cm³ Benzol hinzu, so geht der farblose Niederschlag unter Gelbfärbung vorübergehend in Lösung, worauf sich bei weiterem Kühlen ein gelber Niederschlag bildet. Durch Erwärmen unter Rückfluss erhält man eine homogene Lösung, die beim Abkühlen Krystalle (Anilin-hydrochlorid) ausscheidet. Man äthert aus, wäscht den Äther mit verdünnter Salzsäure und trocknet über Calciumchlorid. Nach dem Abdestillieren hinterbleibt ein bald krystallisierendes Öl, das nach Umlösen aus Methanol den Smp. 74—75° zeigt.

4,803 mg Subst. gaben 0,274 cm³ N_2 (19°, 741 mm)
$C_{14}H_{13}O_2N$ Ber. N 6,16 Gef. N 6,48%

Trotz Anwendung berechneter Mengen Anilin konnte dieses im salzsauren Waschwasser reichlich nachgewiesen werden, ein Zeichen, dass die äquivalente Menge Reagens nicht ausreicht, sondern ein Überschuss genommen werden muss. Ein analoger Versuch mit Pyridin statt Chinolin zeigte ungünstigen Verlauf und gab nur geringe Ausbeute. Wohl aber liess sich — wenigstens in diesem einfachen Falle — die Reaktion ohne Tertiärbase durch Zusammengeben der Komponenten in Äther, Waschen mit verdünnter Salzsäure und Vertreiben des Äthers in einfacher Weise durchführen.

Die hydrierende Spaltung wurde bisher nur mit Edelmetallkatalysatoren ausgeführt, gelingt aber auch mit *Raney*-Nickel und Wasserstoff. 0,1 g Carbobenz-oxyanilid wurden in 10 cm³ Methanol und 5 cm³ Wasser zwei Stunden bei Zimmertemperatur in der Mikro-Hydrierapparatur mit Wasserstoff und *Raney*-Nickel geschüttelt. Ein Gasverbrauch war kaum zu bemerken, da für jede absorbierte Wasserstoffmolekel eine Molekel Kohlendioxyd frei wird. Die farblosen Krystalle gehen allmählich in Lösung und nach Öffnung der Apparatur ist der Geruch nach Toluol wahrzunehmen.

---

[1]) B. **65**, 1192 (1932).

[2]) Zur Umsetzung mit den gewöhnlichen aromatischen Aminen kann auch Natronlauge verwendet werden. Wir haben Chinolin vorgezogen, mit Rücksicht auf die weiter unten beschriebene Umsetzung mit Amino-sulfo-benzoesäure, da bei Amino-sulfosäuren die Verwendung von Natronlauge unvorteilhaft ist.

Carbobenzoxy-p-brom-anilid (p-Brom-carbanilsäure-benzylester). 1 g p-Bromanilin wurde in 5 cm³ 2-n. Natronlauge suspendiert und portionsweise mit Carbobenzoxy-chlorid geschüttelt, bis die Diazotierbarkeit aufhörte; dazu waren 3,5 g Reagens (etwa 3,5 Mol) erforderlich. Durch Absaugen der wässrigen und öligen Anteile wurde ein krystallines Produkt erhalten, das nach Waschen mit Wasser und Salzsäure auf Ton im Vakuum getrocknet wurde. Die erhaltenen 1,6 g wurden wiederholt aus 6 cm³ Methanol umkrystallisiert. Lange schmale mikroskopische Prismen vom Smp. 117—118° (Lit. 123°).

$C_{14}H_{12}O_2NBr$ Ber. N 4,58 Gef. N 4,71%

Carbobenzoxy-p-toluidid (p-Methyl-carbanilsäure-benzylester V). Die Darstellung erfolgte mit p-Toluidin analog dem vorigen Beispiel und ergab aus Methylalkohol mikroskopische Nadeln vom Smp. 82°, Ausbeute 79%.

3,819 mg Subst. gaben 0,206 cm³ N_2 (19°, 741 mm)

$C_{15}H_{15}O_2N$ Ber. N 5,81 Gef. N 6,13%

m-Toluidin ergab auf diesem Wege nur ein öliges Produkt. Das mit o-Toluidin zu erwartende Produkt ist auf anderem Wege (aus o-Tolyl-isocyanat) bereits dargestellt. Auch mit o-Anisidin und N-Methyl-anilin entstanden ölige Produkte.

Carbobenzoxy-phenylen-diamide (Phenylen-di-(carbaminsäure-benzylester), VI). Die drei Phenylen-diamine wurden analog mit Carbobenzoxy-chlorid und Natronlauge umgesetzt, wobei man auf 1 g Diamin 3,5 g Reagens verbrauchte. Die Ausbeute war durchweg gut. Aus o-Phenylen-diamin entstanden prismatische Täfelchen vom Smp. 107° aus Methanol. Die m-Verbindung ergab kleine Kryställchen vom Smp. 115—116° aus Methanol. Die schwerlösliche p-Verbindung wurde aus wenig Pyridin enthaltendem Aceton oder aus Eisessig umkrystallisiert, Tafeln vom Smp. 222,5—223°.

(ortho) 3,459 mg Subst. gaben 0,229 cm² N_2 (19°, 743 mm)
(meta) 4,787 mg Subst. gaben 0,317 cm³ N_2 (19°, 743 mm)
(para) 4,559 mg Subst. gaben 0,297 cm³ N_2 (19°, 743 mm)

$C_{22}H_{20}O_4N_2$ Ber. N 7,48 Gef. N 7,55; 7,55; 7,26%

Di-carbobenzoxy-phenylhydrazid (Phenylhydrazin-di-(carbonsäure-benzylester), VII). Der Umsatz des Carbobenzoxy-Reagens mit Phenylhydrazin ergab bei analogem Verlauf kleine Prismen vom Smp. 108—108,5° aus Methanol; beide Stickstoffatome waren carbobenzoxyliert, was auch aus der Unlöslichkeit in Salzsäure hervorgeht.

3,775 mg Subst. gaben 0,251 cm³ N_2 (19°, 741 mm)

$C_{22}H_{20}O_4N_2$ Ber. N 7,48 Gef. N 7,55%

Di-carbobenzoxy-benzidid (Diphenyl-p,p′-di-(carbaminsäure-benzylester)). Die analoge Umsetzung mit Benzidin ergab sehr kleine Prismen, die in fast allen Lösungsmitteln sehr schwer löslich waren und aus heissem Pyridin umkrystallisiert wurden. Smp. 266—266,5°.

4,835 mg Subst. gaben 0,261 cm³ N_2 (19°, 744 mm)

$C_{28}H_{24}O_4N_2$ Ber. N 6,19 Gef. N 6,30%

Carbobenzoxy-anilid-o-carbonsäure (2-Carboxy-carbanilsäure-benzylester, VIII). Die Umsetzung von 1 g Anthranilsäure, in Natronlauge gelöst, verbrauchte 6 g Carbobenzoxy-chlorid bis zum Verschwinden der Diazotierbarkeit; infolgedessen wurde mehr 2-n. Natronlauge (etwa 10 cm³) zur Erhaltung der alkalischen Reaktion verbraucht. Eine vorhandene ölige Schicht bestand offenbar aus überschüssigem Reagens, Dibenzylcarbonat, Benzylalkohol und einem gemischten Anhydrid aus Benzyl-kohlensäure und Carbobenzoxy-anthranilsäure. Letzteres wurde aus der abgetrennten Ölschicht durch Äther ölig gefällt. Diese Fällung gab nach viertägigem Stehen mit 2-n. Salzsäure 1,2 g krystalline Carbobenzoxy-anthranilsäure, die aus Eisessig umkrystallisiert kleine Prismen vom Smp. 140—141° bildete.

5,570 mg Subst. gaben 0,267 cm³ N_2 (19°, 744 mm)

$C_{15}H_{13}O_4N$ Ber. N 5,16 Gef. N 5,47%

Die Umsetzung mit p-Aminobenzoesäure wurde analog wie bei der o-Verbindung durchgeführt und ergab 1,2 g feine Prismen vom Smp. 214—215° aus Eisessig. Dieser Schmelzpunkt wurde erst erhalten, als Reste von beigemischtem Anhydrid (analog dem oben erwähnten) durch Aufnehmen in Natronlauge und Fällen mit Salzsäure entfernt wurden.

4,461 mg Subst. gaben 0,208 cm³ N_2 (19°, 744 mm)
$C_{15}H_{13}O_4N$ Ber. N 5,16 Gef. N 5,32%

Carbobenzoxy-1,3,5-amino-sulfo-benzoesäure (X).

2,4 g Carbobenzoxy-Reagens wurden mit 5 cm³ Benzol versetzt und mit Eis gekühlt, worauf man langsam 5,3 cm³ frisch destilliertes Chinolin[1]) zugibt, so dass die Temperatur nicht über 10° steigt. Beim Reiben mit dem Glasstab fällt die Additionsverbindung des Reagens mit Chinolin reichlich aus. Unter Rühren und weiterer Kühlung wird das Chinolinsalz aus 1 g Amino-sulfo-benzoesäure hinzugegeben, das durch Lösen in 5 cm³ Chinolin von 100° und Erkalten dargestellt ist. Die Additionsverbindung geht in Lösung und es fallen gelbe Flocken aus, die beim weiteren Kühlen in 15 Minuten zu gelben Krystallen werden. Sie werden nun durch Erwärmen auf 50—60° in Lösung gebracht. Auch jetzt ist die Reaktion noch nicht beendet; man heizt daher eine halbe Stunde[2]) im siedenden Wasserbad, worauf sich das Produkt als Öl unter der Benzol-Chinolin-Schicht abscheidet. Falls noch Amin nachweisbar ist (Diazotierung und Kupplung einer Probe), wird die Reaktion durch Zugabe von weiteren 0,5 g Reagens vervollständigt.

Nach Abgiessen der oberen Schicht wird das Öl mit 2 g Strontiumhydroxyd (+ 8 H_2O) in 60 cm³ Wasser versetzt und zur Entfernung von Chinolin und Benzol dreimal ausgeäthert. Nach Ausfällen des überschüssigen Strontiumhydroxyds durch Einleiten von Kohlendioxyd, Aufkochen, Filtrieren und Waschen wird das Filtrat auf dem Wasserbad bis auf 5 cm³ eingedampft, worauf sich nach Erkalten 1,8 g farblose Krystalle absaugen lassen. Durch Umkrystallisieren aus der vierfachen Menge heissen Wassers lässt sich beigemischtes Strontiumchlorid entfernen und man erhält das reine Strontiumsalz der Carbobenzoxy-amino-sulfo-benzoesäure (Hexahydrat).

14,142 mg Subst. gaben 4,765 mg $SrSO_4$
1,835 g Subst. verloren bei 180° 0,375 g H_2O
$C_{15}H_{11}O_7NSSr$, 6 H_2O Ber. Sr 16,08 H_2O 19,83%
Gef. „ 16,07 „ 20,41%

Durch Zusatz von Bariumchlorid lässt sich aus der Lösung des Strontiumsalzes das Bariumsalz fällen, das infolge seiner geringeren Löslichkeit noch leichter zu reinigen ist.

Die freie Carbobenzoxy-1,3,5-amino-sulfo-benzoesäure lässt sich erhalten, wenn man das Strontium- oder Bariumsalz mit verdünnter Schwefelsäure genau zerlegt und das Filtrat unter vermindertem Druck — andernfalls kann Selbstverseifung eintreten — einengt. Das zähe Öl wird über Calciumchlorid krystallin und ist etwas hygroskopisch. Im Gegensatz zur nicht acylierten Amino-sulfo-benzoesäure löst es sich spielend im Wasser, lässt sich aber aus viel Alkohol umkrystallisieren. Die Säure verkohlt oberhalb 260°.

5,566 mg Subst. gaben 0,199 cm³ N_2 (16°, 740 mm)
$C_{15}H_{13}O_7NS$ Ber. N 3,98 Gef. N 4,11%

Universität Basel, Anstalt für Organische Chemie.

---

[1]) Versuche zur Carbobenzoxylierung der Amino-sulfo-benzoesäure in gekühlter Natronlauge nach dem üblichen Verfahren ergaben trotz vielfachem Überschuss keine genügende Acylierung, was auf der schweren Acylierbarkeit der Amino-sulfo-benzoesäure beruht. Auch Pyridin bewährte sich nicht; vgl. *B. Josephson*, Bioch. Z. **264**, 441 (1933).

[2]) Längeres oder stärkeres Erhitzen, z. B. auf 150°, bewirkt eine Spaltung.

129. Über den Einfluss des hydrostatischen Druckes auf die Sedimentationsgeschwindigkeit in der Ultrazentrifuge

von H. Mosimann und R. Signer.

(24. VI. 44.)

Mit Hilfe der *Svedberg*'schen Ultrazentrifuge kann man die Sedimentationsgeschwindigkeit grosser Molekeln oder kolloider Teilchen in intensiven Zentrifugalfeldern bestimmen[1]). Eine Teilchensorte sedimentiert umso schneller, je grösser die auf sie einwirkende Zentrifugalkraft und je kleiner ihr Reibungswiderstand ist. Für die Sedimentationsgeschwindigkeit dx/dt gilt demnach folgender Ausdruck 1):

$$dx/dt = \frac{M(1 - V\varrho)\omega^2 x}{f} \qquad 1)$$

Hier bedeuten M das Molekulargewicht und V das partielle spezifische Volumen der gelösten Substanz, ϱ die Dichte des Lösungsmittels, ω die Winkelgeschwindigkeit des Zentrifugenrotors, x den Abstand der Molekel vom Rotationszentrum, f den Reibungskoeffizienten für ein Mol der Substanz und t die Zeit.

Die Sedimentationsgeschwindigkeit im Felde 1 dyn wird als Sedimentationskonstante s bezeichnet (Formel 2).

$$s = \frac{dx/dt}{\omega^2 x} \qquad 2)$$

Die Sedimentationskonstanten verschiedener Teilchensorten, die in ein und demselben Lösungsmittel dispergiert werden, lassen sich aber nur dann miteinander vergleichen, wenn bei ihren Bestimmungen die gleichen Temperatur- und Druckbedingungen geherrscht haben. Ändern sich diese, so variieren auch Viskosität und Dichte des Lösungsmittels und das part. spez. Vol. der gelösten Substanz. Um Sedimentationskonstanten miteinander vergleichen zu können, die bei verschiedenen Temperaturen bestimmt wurden, reduziert man sie auf die Standardbasis[2]) von 20°. Dazu benützt man die Formel 3):

$$s_{20^\circ} = s_t \frac{\eta_t}{\eta_{20^\circ}} \cdot \frac{(1 - V_{20^\circ}\varrho_{20^\circ})}{(1 - V_t\varrho_t)} \qquad 3)$$

s_t ist die experimentell bei der Temperatur t bestimmte Sedimentationskonstante, η_t und ϱ_t sind Viskosität und Dichte des Mediums von t° (etwa einer Pufferlösung), V_t bedeutet das part. spez. Vol. des Teilchens in diesem Medium bei t°. η_{20° und ϱ_{20° sind Viskosität

[1]) Für alles Methodische vgl. *T. Svedberg* und *K. O. Pedersen*, Die Ultrazentrifuge, Steinkopff, Dresden und Leipzig 1940.

[2]) l. c. S. 31 uff.

und Dichte des reinen Lösungsmittels bei 20°. $V_{20°}$ bedeutet das part. spez. Vol. des Teilchens im reinen Lösungsmittel bei 20°.

Die Umrechnung von s_t auf $s_{20°}$ ergibt den Wert für die Sedimentationskonstante, den man bei 20° und in reinem Lösungsmittel (ohne Puffersubstanz) beobachten würde.

In analoger Weise kann man auch die bei dem Druck p beobachtete Sedimentationskonstante s_p auf den Wert s_1 reduzieren, den man bei einer Atmosphäre beobachten würde. Hiezu verwendet man Formel 4):

$$s_1 = s_p \frac{\eta_p}{\eta_1} \frac{(1 - V_1 \cdot \varrho_1)}{(1 - V_p \varrho_p)} \qquad 4)$$

Darin bedeuten die mit 1 indizierten Grössen die Werte bei 1 Atmosphäre, die mit p indizierten dagegen die bei p Atmosphären Druck.

Bei den *Svedberg*'schen Ultrazentrifugen arbeitet man meistens mit Zentrifugalfeldern von etwa der 400 000-fachen Erdschwere. Wenn die Dichte des Lösungsmittels 1 ist, kommen in der Lösungszelle des Rotors hydrostatische Drucke von 500 kg/cm² und mehr vor. Hiebei können die Viskosität, in geringem Mass auch die Dichte des Lösungsmittels und das part. spez. Vol. des gelösten Stoffes Werte annehmen, die von den bei 1 kg/cm² gemessenen merklich abweichen. Die Viskosität des Lösungsmittels wächst mit steigendem Druck, dadurch wird die Sedimentationsgeschwindigkeit verlangsamt, da der Reibungsfaktor grösser wird. Durch die Kompression wächst auch die Dichte des Lösungsmittels, wodurch die Sedimentation ebenfalls verzögert wird. Das part. spez. Vol. wird durch Druckerhöhung zweifelsohne verkleinert. Dies erhöht die Sedimentationsgeschwindigkeit. Es heben sich also die Einflüsse des hydrostatischen Druckes auf die Dichte des Lösungsmittels und das part. spez. Vol. der gelösten Teilchen bei der Messung der Sedimentationsgeschwindigkeit teilweise auf.

Beim Wasser, das in der Ultrazentrifuge meist als Lösungsmittel verwendet wird, sind die Veränderungen von Viskosität und Dichte mit dem Druck so gering, dass von einer Korrektur abgesehen werden kann[1]). Nach den Daten im *Landolt-Börnstein*, variiert die Viskosität des Wassers bei 30° unter Kompression auf 500 kg/cm² um nur 3%. Rechnet man mit einem mittleren Kompressibilitätskoeffizienten von 43×10^{-6} bei 20° für das Druckintervall von 1 bis 500 kg/cm², so ergibt sich eine Dichteänderung von 2,1%. Wie weit sie durch eine Änderung des part. spez. Vol. der Substanz kompensiert wird, lässt sich nicht genau sagen, da bisher keine Kompressibilitätsmessungen an Lösungen hochpolymerer Stoffe vorliegen. An niedermolekularen organischen Stoffen liegen dagegen einige Messungen vor, welche hier herangezogen werden können. Das part.

[1]) l. c. S. 34.

spez. Vol. von Essigsäure[1]) wird beispielsweise bei einer Kompression auf 100 kg/cm² um etwa 2 ‰ kleiner (Temperatur 25°). Der Einfluss des hydrostatischen Druckes auf die Dichte des Wassers ist also grösser als der Einfluss auf das part. spez. Vol. der gelösten Substanz. Bei hochmolekularen organischen Substanzen wird das part. spez. Vol. vom Druck noch weniger abhängig sein. Man wird also in erster Näherung nur den Einfluss des hydrostatischen Druckes auf die Viskosität und die Dichte des Lösungsmittels zu berücksichtigen haben. Zusammenfassend kann man für wässrige Lösungen sagen, dass die durch die Gleichung 4) gegebene Korrektur höchstens einige Prozent betragen kann. Die Sedimentationsgeschwindigkeit am Boden der Zelle müsste etwa um 5 % geringer sein als am Meniskus. So geringe Differenzen in der Sedimentationsgeschwindigkeit kann man aber nur bei ganz speziellen Präzisionsmessungen beobachten.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bei den organischen Lösungsmitteln. Als Beispiel sei die Zentrifugierung einer Nitrocellulose in dem oft verwendeten Aceton gewählt. Nach den im *Landolt-Börnstein* zitierten Daten von *Bridgman* steigt die Viskosität des Acetons bei einer Druckerhöhung von 1 auf 500 kg/cm² um 37 % (Temperatur 30°). Für den Kompressibilitätskoeffizienten findet man 93×10^{-6} als Mittelwert für dieses Druckintervall. Die Dichte des Acetons steigt also im obigen Druckintervall um 4,7 %. Über die Änderung des part. spez. Vol. der Nitrocellulose mit dem Druck ist nichts Genaues bekannt. Man wird aber nur einen ganz kleinen Fehler begehen, wenn man V_1 und V_p gleichsetzt.

In der Tabelle 1 sind die Korrekturfaktoren zur Berechnung der Sedimentationsgeschwindigkeit einer Nitrocellulose beim hydrostatischen Druck 1 kg/cm² zusammengestellt. Die Umdrehungsgeschwindigkeit des Rotors betrage 69000 Umdr./Min. Die Zentrifugenzelle wird bis zur üblichen Höhe mit Acetonlösung gefüllt. Der Meniskus der Lösung liegt dann 5,9 cm vom Rotationszentrum entfernt. Der Zellboden befindet sich in 7,3 cm Distanz von der Rotationsachse. Die Flüssigkeitssäule ist also 1,4 cm hoch. Die erste Kolonne der Tabelle 1 gibt die Entfernung des Ortes in der Flüssigkeitszelle vom Rotationszentrum an, für den die Korrektur berechnet wird. In der zweiten Kolonne findet man für die entsprechenden Orte die Zentrifugalfelder in dyn, die dritte enthält die hydrostatischen Drucke in kg/cm², die vierte die Lösungsmitteldichten. Die nächste Kolonne enthält die Werte

$$\frac{1 - V_1 \varrho_1}{1 - V_1 \varrho_p}$$

Der Wert von V_1 in Aceton wurde von *Scholten*[2]) zu 0,52 ± 0,01 bestimmt. Die sechste Kolonne gibt das Verhältnis η_p/η_1 an (aus den Werten von *Bridgman* für die in der dritten Kolonne angegebenen Drucke linear interpoliert). In der letzten Kolonne sind die Korrektionsfaktoren

$$\frac{\eta_p}{\eta_1} \; \frac{(1 - V_1 \varrho_1)}{(1 - V_1 \varrho_p)}$$

[1]) *K. Drucker*, Z. physikal. Ch. **52**, 641 (1905).
[2]) *E. A. H. Scholten*, Diss. Bern 1942.

zusammengestellt. In der Figur 1 findet man eine graphische Darstellung der Abhängigkeit des Korrektionsfaktors von der Lage in der Zelle. Aus dieser Kurve kann bei der praktischen Arbeit der Korrektionsfaktor für jede beliebige Lage in der Zelle abgelesen werden.

Tabelle 1.

x	Feld 10^{-8}	kg/cm²	ϱ_p	$\frac{1-V_1\varrho_i}{1-V_1\varrho_p}$	η_p/η_1	Korr.faktor
5,9	3,08	00,0	0,792	1,000	1,000	1,000
6,1	3,18	50,4	0,796	1,003	1,037	1,040
6,3	3,29	102,8	0,799	1,005	1,075	1,080
6,5	3,39	157,0	0,803	1,010	1,115	1,126
6,7	3,50	213,3	0,807	1,014	1,156	1,172
6,9	3,60	271,3	0,811	1,017	1,197	1,217
7,1	3,71	331,5	0,815	1,021	1,240	1,266
7,3	3,81	393,6	0,820	1,024	1,284	1,315

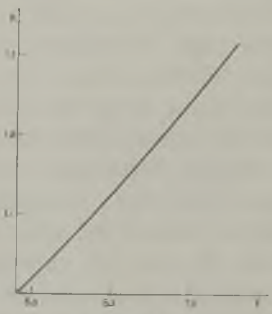


Fig. 1.

In der Tabelle 2 ist ein Beispiel aus dem umfangreichen experimentellen Material[1]) für die Bestimmung der korrigierten Sedimentationskonstanten festgehalten. Eine Nitrocellulose wurde bei 69000 Umdr./Min. zentrifugiert. Die erste Kolonne enthält die Abstände der sedimentierenden Molekeln vom Rotationszentrum und in den beiden folgenden Kolonnen sind die experimentell bestimmten und die korrigierten Werte der Sedimentationskonstanten eingetragen. Man sieht deutlich den Gang der „Konstanten", wenn die Druckkorrektion nicht berücksichtigt wird.

Tabelle 2.

x	$s_{exp.} \times 10^{13}$	$s_{korr.} \times 10^{13}$
6,19	6,64	7,10
6,39	6,48	7,19
6,53	6,26	7,06
6,74	6,18	7,28
		Mittel 7,16

[1]) *H. Mosimann*, Helv. **26**, 61 (1943).

Es wird für alle Zentrifugierungen in organischen Lösungsmitteln nötig sein, entsprechende Korrekturen anzubringen, da die Viskositäts- und Dichteänderungen mit dem Druck von der gleichen Grössenordnung sind wie beim Aceton.

Diese Arbeit wurde am physikalisch-chemischen Institut der Universität Uppsala ausgeführt. Dem Vorsteher des Instituts, Herrn Prof. *The Svedberg* danken wir für die uns gebotene Gelegenheit, diese Arbeit in Uppsala ausführen zu können. Die *Rockefeller-Stiftung* gewährte Mittel zur Durchführung dieser Untersuchung, die wir ebenfalls bestens verdanken.

Fysikalisk-kemiska Institutionen, Uppsala.

---

130. Über die Spaltung der *Tröger*'schen Base in optische Antipoden, ein Beitrag zur Stereochemie des dreiwertigen Stickstoffs

von **V. Prelog** und **P. Wieland.**

(24. VI. 44.)

Sowohl chemische wie physikalische Erfahrungen führen zum Schluss, dass die mit dem dreiwertigen Stickstoff verbundenen Atome mit diesem nicht in einer Ebene liegen. Trotz zahlreicher, mit viel Mühe und Scharfsinn durchgeführter Versuche ist es aber bisher nicht gelungen, Verbindungen mit asymmetrischem dreifach gebundenem Stickstoff in optische Antipoden zu spalten[1]). Dieser Widerspruch wurde von *Meisenheimer*[2]) so gedeutet, dass die Stickstoff-Atome durch die Ebene der Substituenten hindurchschwingen können, wodurch die Spiegelbildisomeren ineinander übergehen.

Die zuerst hypothetische Annahme *Meisenheimer*'s fand ihre experimentelle Stütze durch die Untersuchungen des Absorptionsspektrums von Ammoniak. Die Schwingungen des Stickstoffs durch die von den Wasserstoff-Atomen gebildete Ebene werden als Ursache der Dublett-Strukturen vieler Linien betrachtet[3]).

Man kann sich nun vorstellen, dass die Schwingungen des Stickstoffs durch die Substituenten-Ebene durch verschiedene Umstände, z. B. Ring-Spannungen, bedeutend erschwert oder verunmöglicht werden. Solchen Erwägungen ist es zu verdanken, dass trotz so vielen negativen Erfahrungen immer wieder neue Spaltungsversuche mit verschiedenartigen Verbindungen des asymmetrischen dreiwertigen Stickstoffs unternommen werden[4]).

---

[1]) Vgl. die Darstellungen von *J. Meisenheimer* und *W. Theilacker* in *Freudenberg*, Stereochemie, Leipzig und Wien 1933, S. 1149, von *R. L. Shriner*, *R. Adams* und *C. S. Marvel* in *Gilman*, Organic Chemistry, New York 1938, S. 328, sowie *P. Maitland* in Annual Reports **36**, 239 (1940).

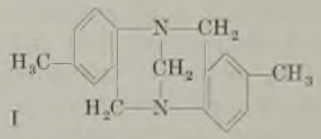
[2]) *J. Meisenheimer*, *L. Angermann*, *O. Finn* und *E. Vieweg*, B. **57**, 1747 (1924).

[3]) *E. F. Barker*, Phys. Rev. **33**, 684 (1929); *R. M. Badger*, Phys. Rev., **35**, 1038 (1930).

[4]) Vgl. z. B. neuere Versuche von *E. L. Buhle*, *A. M. Moore* und *F. Y. Wiselogle*, Am. Soc. **65**, 29 (1943); *H. H. Hatt* und *E. F. H. Stephenson*, Soc. **1943**, 659; Am. Soc. **65**, 1785 (1943); *R. W. G. Preston* and *S. H. Tucker*, Soc. **1943**, 659.

Wir sind bei unseren Versuchen in dieser Richtung von der Vorstellung ausgegangen, dass bei gewissen bicyclischen Aminen, welche an den Verzweigungsstellen des bicyclischen Systems asymmetrische Stickstoff-Atome besitzen, Schwingungen des Stickstoffs durch die Substituenten-Ebene aus sterischen Gründen nicht wahrscheinlich sind[1]). Solche Verbindungen sollten deshalb stabile Spiegelbildisomere bilden.

Zur Prüfung dieser Annahme schien uns die sog. *Tröger*'sche Base geeignet, welche aus p-Toluidin und Formaldehyd leicht zugänglich ist. Durch die schönen Untersuchungen von *M. A. Spielman*[2]) wurde für diese Verbindung auf analytischem und synthetischem Wege die Konstitution I bewiesen. Dieser Konstitution entsprechen, unter Voraussetzung einer tetraedrischen Anordnung der Stickstoff-Bindungen, zwei spannungsfreie räumliche Modelle, welche sich wie Bild und Spiegelbild verhalten (vgl. die schematische Darstellung Fig. 1). Die Verbindung enthält keine asymmetrischen Kohlenstoffatome und besitzt an den Verzweigungsstellen des bicyclischen Systems zwei asymmetrische Stickstoff-Atome[3]), deren Durchschwingen durch die Substituenten-Ebene aus sterischen Gründen nicht wahrscheinlich ist.



I

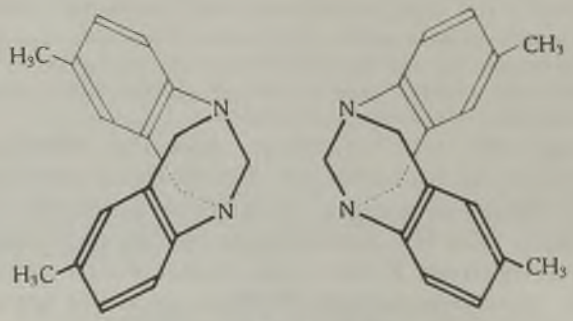


Fig. 1.

Die praktische Durchführung der Spaltungsversuche wurde zuerst durch die Tatsache erschwert, dass die *Tröger*'sche Base eine

[1]) Vgl. *J. Meisenheimer* und *W. Theilacker* in *Freudenberg*, Stereochemie, S. 1149.

[2]) Am. Soc. **57**, 583 (1935).

[3]) Ähnlich wie bei analog gebauten alicyclischen Verbindungen (das bekannteste Beispiel ist der Campher) führen die zwei Asymmetriezentren aus sterischen Gründen nur zu zwei Stereoisomeren.

verhältnismässig schwache Base ist, deren Salze leicht in ihre Komponenten zerfallen. So lässt sich z. B. das *d*-Tartrat nicht ohne Zerfall umkrystallisieren. Beständiger waren das *d*-Campher-10-sulfonat und das *d*-α-Brom-campher-π-sulfonat. Obwohl uns eine partielle Spaltung mit diesen Säuren gelang[1]), waren die Ergebnisse insofern unbefriedigend, als wir sie nicht immer reproduzieren konnten. Die Erklärung dafür wurde in der raschen Inaktivierung der optisch aktiven *Tröger*'schen Basen in sauren Lösungen gefunden[2]).

Wir versuchten deshalb, die Spaltung auf einem schonenderen Wege, durch chromatographische Analyse an optisch aktiven Adsorptionsmitteln, durchzuführen. Obwohl in der Literatur mehrere Angaben zu finden sind, welche auf die prinzipielle Möglichkeit einer solchen Spaltung hinweisen, waren die bisherigen praktischen Erfolge nicht befriedigend. Die einzigen präparativen Versuche führten *G. M. Henderson* und *H. G Rule*[3]) aus, welchen eine Spaltung von racem. p-Phenylen-bis-imino-campher durch chromatographische Analyse an *d*-Lactose gelang. Die verwendeten Mengen an Adsorptionsmittel waren jedoch so gross und die Ausbeuten an optisch aktivem Material so klein, dass der praktische Wert der chromatographischen Analyse für die Spaltung von Racematen gering erschien[4]).

Während *Henderson* und *Rule* bei ihren Versuchen die Spaltung durch Zerschneiden der „entwickelten" Adsorptionssäule ausführten, bedienten wir uns der Methode des Durchlauf-Chromatogramms. Die Vorversuche welche mit *d*-Weinsäure, *d*-Kaliumhydrogentartrat und *d*-Lactose-hydrat durchgeführt wurden, zeigten, dass eine partielle Spaltung der *Tröger*'schen Base mit allen diesen Adsorptionsmitteln prinzipiell möglich ist. Die beiden erstgenannten Verbindungen besassen ein stärkeres Adsorptionsvermögen für die rechtsdrehende Base, wogegen das *d*-Lactose-hydrat die linksdrehende Base stärker adsorbierte.

Es ergab sich weiter, dass die Leistungsfähigkeit der erwähnten Adsorptionsmittel durch Vorbehandlung, besonders durch Mahlen, beeinflusst werden kann. Ein fein krystallines käufliches *d*-Lactose-hydrat, welches nach *Henderson* und *Rule* durch Auskochen mit Chloroform „aktiviert" wurde, zeigte praktisch kein Spaltungsvermögen[5]). Durch Mahlen in einer Porzellankugelmühle erhielt man aber daraus das ziemlich aktive *d*-Lactose-hydrat **A** (vgl. Fig. 2).

---

[1]) Der eine von uns berichtete darüber in der Winterversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in Bern (28. 2. 1943.).

[2]) An diesen Versuchen war Herr *U. Geyer* beteiligt.

[3]) Nature **141**, 917 (1938); Soc. **1939**, 1568, daselbst ist die ältere Literatur angegeben.

[4]) Vgl. *G. Hesse*, Adsorptionsmethoden im chemischen Laboratorium, Berlin, 1943, S. 102.

[5]) Ein anderes, feinkörnigeres Handelsprodukt zeigte dagegen ein Spaltungsvermögen, das ungefähr demjenigen des Präparates **A** gleichkam.

Noch wirkungsvoller war das Mahlen desselben inaktiven *d*-Lactosehydrats in einer Eisenkugelmühle. Es entstand so ein weit wirksameres Präparat **B** (vgl. Fig. 2), mit welchem dann auch eine praktisch befriedigende partielle Spaltung der *Tröger*'schen Base durchgeführt werden konnte. Bei Anwendung einer 450fachen Menge an Adsorptionsmittel wurden in einer Operation insgesamt etwa 5,5 % der angewandten racemischen Verbindung gespalten, wobei Fraktionen mit $[\alpha]_D^{17} = +75^0$ bis -52^0 erhalten wurden (vgl. Tab. 1 im experimentellen Teil). Aus denselben konnten durch fraktionierte Krystallisation, verbunden mit mechanischer Trennung verhältnismässig einfach optisch reine Spiegelbildisomere gewonnen werden.

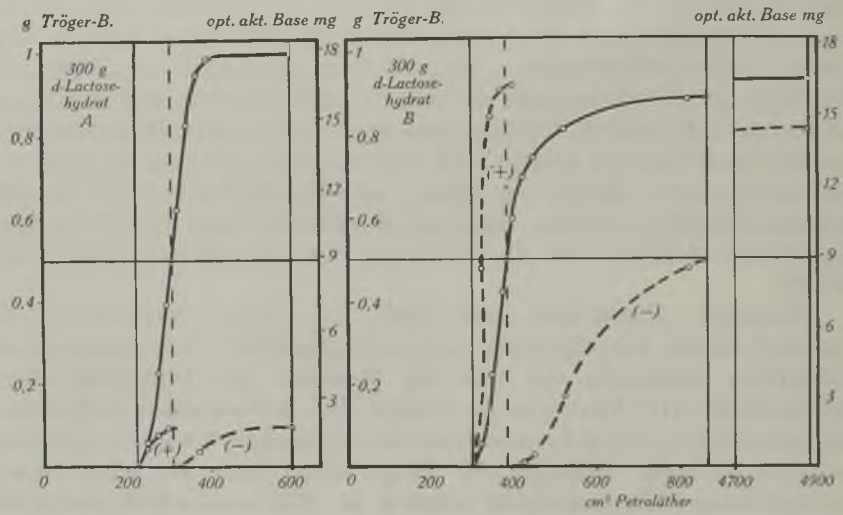


Fig. 2.

o———o Gesamtmenge der eluierten *Tröger*'schen Base in g (linke Ordinatenskala).

o— — —o Menge der opt. aktiven *Tröger*'schen Base in mg (rechte Ordinatenskala).

Die optisch reine rechtsdrehende Base zeigte ein $[\alpha]_D^{17} = +287^0$ ($\pm 7^0$) (c = 0,281 in Hexan) und schmolz bei 126—127,5°, während die linksdrehende Base mit einem $[\alpha]_D^{17} = -278^0$ ($\pm 7^0$) (c = 0,292 in Hexan) und einem Smp. von 127—128° erhalten wurde. Beide Antipoden gaben mit der racemischen Base vom Smp. 136–137° eine Schmelzpunktserniedrigung. Sie sind erwartungsgemäss recht stabil und lassen sich sogar ohne merkliche Inaktivierung im Hochvakuum sublimieren. In sauren Lösungen werden sie dagegen schon bei Zimmertemperatur in kurzer Zeit inaktiviert. Die Inaktivierung ist wahrscheinlich durch die Instabilität der N—CH_2—N-Gruppierung in saurer Lösung bedingt. Durch Mischen gleicher Mengen der spiegelbildisomeren *Tröger*'schen Basen wurde wieder das bekannte Racemat vom Smp. 135—137° erhalten.

Aus der Spaltbarkeit lässt sich schliessen, dass die Molekel der *Tröger*'schen Base nicht eben gebaut sein kann, was mit dem abgebildeten spannungsfreien räumlichen Modell der Base mit zwei tetraedrischen Stickstoff-Atomen in bester Übereinstimmung steht. Allerdings kann der Spaltungserfolg nicht als Beweis für dieses Modell gelten, da auch Modelle mit einer ebenen Anordnung der Substituenten um die Stickstoff-Atome möglich sind, welche wegen des unebenen Baues der ganzen Molekel eine molekulare Asymmetrie besitzen. Solche Modelle sind jedoch stark „gespannt", ein entsprechender Bau der Molekel müsste durch eine besonders starre, ebene Anordnung der Stickstoff-Bindungen bedingt sein. Die Annahme einer starren, ebenen Anordnung der Stickstoff-Bindungen widerspricht aber einer grossen Anzahl physikalischer und chemischer Erfahrungen. Man darf deshalb wohl annehmen, dass die Stickstoff-Atome in der *Tröger*'schen Base eine tetraedrische Anordnung der Bindungen besitzen und dass es durch die Spaltung der *Tröger*'schen Base zum ersten Male gelungen ist, eine Verbindung mit asymmetrischen dreiwertigen Stickstoff-Atomen in stabile optische Antipoden zu spalten.

Die Spaltung der *Tröger*'schen Base in optische Antipoden ist zugleich das erste Beispiel einer mit praktischem Erfolg durchgeführten Spaltung eines Racemates mit Hilfe der chromatographischen Methode. Die weitere Ausbildung dieses Verfahrens und seine Anwendung zur Spaltung von auf anderem Wege schwer spaltbaren racemischen Verbindungen verdient nach unseren Erfahrungen mehr Beachtung als man ihr bisher geschenkt hat.

Experimenteller Teil[1]).

Racem. *Tröger*'sche Base.

Das Ausgangsmaterial, welches für unsere Versuche verwendet wurde, stellten wir nach der Vorschrift von *E. Goecke*[2]) her. Da für eine erfolgreiche Isolierung der Spiegelbildisomeren ein reines Produkt notwendig ist, wurde die rohe Base mehrmals unter Verwendung von Tierkohle aus Methanol und dann aus Petroläther umgelöst. Die reine Verbindung krystallisierte aus Petroläther in dünnen, farblosen Nadeln vom Smp. 136—137°. Sie zeigte im U.V. eine Absorptionsbande mit einem Maximum bei 283 mμ (log ε = 3,3). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 20° getrocknet.

3,689 mg Subst. gaben 11,025 mg CO_2 und 2,358 mg H_2O

$C_{17}H_{18}N_2$ Ber. C 81,56 H 7,25%
Gef. „ 81,56 „ 7,15%

Die chromatographische Spaltung der racem. *Tröger*'schen Base in optische Antipoden.

a) Lösungsmittel. Zur Lösung und Eluierung wurde über Natrium getrockneter und destillierter Petroläther, Sdp. 50—60° verwendet. Die Löslichkeit der *Tröger*'schen Base in diesem Lösungsmittel betrug bei Zimmertemperatur etwas mehr als 1%.

---

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

[2]) Z. El. Ch. **9**, 473 (1903).

b) Vorversuche mit verschiedenen Adsorptionsmitteln. Wir prüften *d*-Weinsäure, *d*-Kaliumhydrogentartrat und *d*-Lactose-hydrat. 1 g *Tröger*'sche Base in 100 cm³ Petroläther wurde an 300 g Adsorptionsmittel adsorbiert und mit Petroläther nachgewaschen. Die Fraktionen von je 25 cm³ Filtrat wurden zur Trockne eingedampft und der im Vakuum getrocknete Rückstand gewogen und zur Bestimmung des spez. Drehungsvermögens verwendet. Bei Verwendung von *d*-Weinsäure und *d*-Kaliumhydrogentartrat waren die ersten Fraktionen schwach linksdrehend. Verschiedene käufliche *d*-Lactose-hydrat-Präparate, welche nach *Henderson* und *Rule* aktiviert wurden, gaben entweder inaktive oder rechtsdrehende erste Fraktionen.

c) Herstellung wirksamer *d*-Lactose-hydrat-Präparate. 5 kg eines fein krystallinen käuflichen *d*-Lactose-hydrats ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ Ber. 5,00% H_2O, Gef. 4,80% H_2O) wurden zweimal mit je 3 Liter frisch destilliertem Chloroform 5 Minuten gekocht. Das heisse Gemisch wurde unter Verwendung einer *Büchner*-Nutsche filtriert und auf dem Filter mit 4 Liter heissem Chloroform nachgewaschen. Darauf wurde in einem Rundkolben bei 25 mm Druck 12 Stunden bei Zimmertemperatur, 10 Stunden bei 50—60° und 15 Stunden bei 85° getrocknet. Ein Vorversuch zeigte, dass das so erhaltene Präparat noch kein Spaltungsvermögen besass. 300 g des unwirksamen *d*-Lactose-hydrats wurden nun 80 Stunden in einer Porzellankugelmühle gemahlen und 5 Stunden bei 75° im Vakuum nachgetrocknet. Dieses gemahlene *d*-Lactose-hydrat **A** besass jetzt, wie ein Vorversuch zeigte, ein mittleres Spaltungsvermögen (vgl. Fig. 2). Der Rest des mit Chloroform vorbehandelten unwirksamen Präparates wurde darauf 30 Stunden in einer Eisenkugelmühle gemahlen. Die teilweise gebildeten Klumpen wurden in einem Porzellanmörser zerrieben und das pulverige Produkt durch ein Sieb mit 250 Maschen pro cm² gesiebt. Anschliessend trocknete man im Vakuum 8 Stunden bei 75° nach. Das erhaltene *d*-Lactose-hydrat **B** ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ Ber. 5,00% H_2O, Gef. 4,95% H_2O) zeigte im Vorversuch ein bedeutendes Spaltungsvermögen (vgl. Fig. 2) und wurde im Hauptversuch verwendet. Eine weitere Trocknung des *d*-Lactose-hydrates **B** bei 100—110° führte zu einem weit schwächer wirksamen Produkt.

Tabelle 1.

Nr.	Petroläther cm³	*Tröger*'sche B. mg	$[\alpha]_D^{17}$ in Petroläther
1	2100	0	
2	250	20	+ 75°
3	150	210	+ 41°
4	150	1075	+ 26°
5	150	1415	+ 7°
6	150	795	+ 1,5°
7	300	700	− 2,5°
8	450	490	− 8°
9	600	260	− 17°
10	1200	340	− 25°
11	4100	390	− 30°
12	7350	180	− 35°
13	17750	130	− 52°

d) Hauptversuch. Zur Herstellung der Adsorptionssäule verwendeten wir ein Rohr aus Duran-Glas mit angeschmolzenem Glashahn. Am unteren Ende des Rohres befand sich ein Wattefilter. 2,7 kg von *d*-Lactose-hydrat **B** wurden nach dem „Einschlämm"-Verfahren als Suspension in Petroläther eingefüllt, wodurch eine gleichmässige

Säule erhalten werden konnte. Der Durchmesser der Säule betrug 7,5 cm, die Länge war am Anfang des Versuches 88 cm, am Ende 82 cm. Mit einem Überdruck von etwa 3 m Wassersäule erreichten wir eine mittlere Durchflussgeschwindigkeit von etwa 300 cm^3 pro Stunde. Vor dem Gebrauch wurde die Säule gründlich mit Petroläther nachgewaschen.

Zur Adsorption gelangte eine Lösung von 6,0 g racem. *Tröger*'scher Base in 500 cm^3 Petroläther. Anschliessend wurde mit Petroläther eluiert.

Die Adsorptionssäulen aus α-Lactose-hydrat verlieren nach erfolgter Eluierung nicht ihre Wirksamkeit und können mehrmals verwendet werden.

(+)-*Tröger*'sche Base.

Die rechtsdrehende *Tröger*'sche Base liess sich aus den Fraktionen 2—6 des Chromatogramms durch systematische fraktionierte Krystallisation aus Petroläther anreichern. Die höher drehenden Fraktionen wurden immer aus den Mutterlaugen der niedriger drehenden Fraktionen umgelöst, wobei zuerst der grösste Anteil der racemischen Verbindung auskrystallisierte. Aus den angereicherten Mutterlaugen krystallisierten nach Einengen zwei Arten von Krystallen. Die dünnen Nadeln des Racemats konnten sehr leicht von den grossen, derben Prismen der optisch aktiven Verbindung mechanisch abgetrennt werden. Durch Umlösen der letzteren aus Petroläther erhielten wir folgende Präparate: **a**, 75 mg, $[\alpha]_D^{17} = +287^0 \pm 7^0$ (c = 0,281 in Hexan); **b**, 58 mg, $[\alpha]_D^{17} = +240^0 \pm 16^0$ (c = 0,225 in Hexan) und **c**, 21,7 mg, $[\alpha]_D^{17} = +264^0 \pm 16^0$ (c = 0,299 in Hexan). Das Präparat **a** wurde nochmals aus 0,5 cm^3 Petroläther umgelöst, wodurch 42,7 mg einer optisch reinen (+)-*Tröger*'schen Base mit dem unveränderten $[\alpha]_D^{17,5} = +285^0 \pm 7^0$ (c = 0,279 in Hexan); $[\alpha]_D^{20} = +310^0 \pm 7^0$ (c = 0,291 in Chloroform) auskrystallisierten. Sie bildete derbe, farblose Prismen mit paralleler Auslöschung vom Smp. 126—127,5°. Zur Analyse wurde bei 96° und 0,01 mm sublimiert. Das Drehungsvermögen blieb dabei praktisch unverändert $[\alpha]_D^{16,5} = +279^0 \pm 7^0$ (c = 0,274 in Hexan). Das Absorptionsspektrum der rechtsdrehenden Base im U.V. war mit dem Absorptionsspektrum des Racemats identisch.

3,494 mg Subst. gaben 10,458 mg CO_2 und 2,236 mg H_2O

$C_{17}H_{18}N_2$ Ber. C 81,56 H 7,25%
Gef. „ 81,68 „ 7,16%

(−)-*Tröger*'sche Base.

Die Isolierung der linksdrehenden Base aus den Fraktionen 7—13 des Chromatogramms erfolgte auf analoge Weise wie diejenige der spiegelbildisomeren Verbindung. Folgende hochdrehende, in derben Prismen krystallisierende Präparate wurden erhalten: **a**, 27,8 mg, $[\alpha]_D^{17} = -278^0 \pm 7^0$ (c = 0,292 in Hexan); **b**, 77,6 mg, $[\alpha]_D^{16} = -255^0 \pm 19^0$ (c = 0,300 in Hexan) und **c**, 30,1 mg, $[\alpha]_D^{16} = -246^0 \pm 14^0$ (c = 0,333 in Hexan). Zur Analyse wurde das Präparat **a** bei 96° und 0,01 mm sublimiert. Die sublimierte linksdrehende Base schmolz bei 127—128°. Sie zeigte ein $[\alpha]_D^{16,5} = -272^0 \pm 8^0$ (c = 0,275 in Hexan) und besass ein gleiches Absorptionsspektrum im U.V. wie das Racemat.

2,136 mg Subst. gaben 6,380 mg CO_2 und 1,380 mg H_2O

$C_{17}H_{18}N_2$ Ber. C 81,56 H 7,25%
Gef. „ 81,51 „ 7,23%

Inaktivierung der optisch aktiven *Tröger*'schen Base in saurer Lösung.

2,83 mg der optisch reinen (+)-*Tröger*'schen Base wurden bei 20° in 0,901 cm^3 absolut alkoholischer 0.1-n. Salzsäure gelöst. Nach 8 Minuten zeigte die Lösung ein $[\alpha]_D^{20} = +35^0 \pm 7^0$, nach 8 Stunden ein $[\alpha]_D^{20} = +24^0 \pm 7^0$ und nach 50 Stunden war

sie inaktiv. Aus der Lösung wurde darauf die Base in Freiheit gesetzt und in Äther aufgenommen. Nach dem Verdampfen des Äthers sublimierte man den Rückstand im Hochvakuum. Das Sublimat schmolz bei 131,5—133° und gab mit der racem. *Tröger*'schen Base keine Schmelzpunktserniedrigung.

Herstellung der racemischen *Tröger*'schen Base aus den optischen Antipoden.

Je 2,5 mg der beiden optisch reinen Antipoden wurden in 0,1 cm³ Hexan heiss gelöst. Die nach dem Erkalten auskrystallisierten charakteristischen dünnen Nadeln wurden abgesaugt, mit 0,12 cm³ Hexan gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt so 3,3 mg eines Produktes vom Smp. 135—135,5°, welches mit der racemischen *Tröger*'schen Base keine Schmelzpunktserniedrigung gab. Das Produkt war optisch inaktiv.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von den HH. *W. Manser* und *W. Ingold* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

---

131. Fettstoffwechsel-Untersuchungen mit Deuterium als Indikator. IV. Fettbildung aus Eiweiss bei Albino-Ratten

von **Karl Bernhard, Heidi Steinhauser** und **A. Matthey.**

(26. VI. 44.)

Die Entstehung von Fett aus Eiweiss im Tierkörper hielten bereits *Pettenkofer* und *Voit*[1]) für eine gesicherte Tatsache; eindeutige Beweise erbrachte wohl erst *Longenecker*[2]) durch Verabreichung einer zu 96% aus Casein bestehenden Diät an Ratten. Die Tiere, welche durch vorangehendes Hungern ihre Fettdepots weitgehend eingebüsst hatten, erhielten dieses durch Salze, Hefe und Lebertran ergänzte Futter bis zur Erreichung des anfänglichen Körpergewichtes. Sie wiesen dann Lipide sehr ähnlicher Fettsäure-Zusammensetzung auf, wie Ratten nach ausschliesslicher Kohlenhydratfütterung. Fettbildung aus Protein bestätigten ferner *Hoagland* und *Snider*[3]).

Nach *McHenry* und *Gavin*[4]) erfolgt die Fettsynthese aus Eiweiss nur bei reichlicher Versorgung mit den Vitaminen des B-Komplexes, besonders dem Adermin. Diese Forscher fütterten wachsende Ratten unter gleichzeitiger Verabreichung wechselnder Mengen einzelner oder aller B-Vitamine ausschliesslich mit Eiweiss und bestimmten den Kadaver- und Leber-Fettsäuregehalt. *Mitchell*[5]) be-

---

[1]) *E. Voit*, Handb. d. Physiol., Bd. **6**, I S. 248 (1881).
[2]) *H. E. Longenecker*, J. Biol. Chem. **128**, 645 (1939).
[3]) *R. Hoagland* and *G. G. Snider*, J. Nutrit. **18**, 435 (1939).
[4]) *E. W. McHenry* and *G. Gavin*, J. Biol. Chem. **138**, 471 (1941).
[5]) *H. H. Mitchell*, Annu. Rev. Biochem. **11**, 257 (1942).

merkt dazu, dass Fettablagerung eine reguläre und natürliche Erscheinung fortschreitenden Wachstums darstelle und nach *MacKay*, *Barnes* und *Carne*[1]) unabhängig von Futteraufnahme bedingenden Nahrungsbestandteilen eine enge Beziehung zwischen Zuwachs und Depotfettablagerung bestehe. Die Versuche *McHenry*'s und *Gavin*'s wären daher nach *Mitchell* nicht geeignet, eine unmittelbare Beziehung eines Ergänzungsfaktors der Nahrung, also in diesem Falle der B-Vitamine, zur Synthese der Körperfette zu beweisen.

Nachdem wir in früheren Versuchen[2]) die im Tierkörper nach Kohlenhydrat-reicher Kost eintretende Fettbildung mit Hilfe des schweren Wasserstoffs als Indikator untersuchten und kürzlich zeigten, dass Ratten auch bei fortgesetztem Nahrungsentzug wohl aus Körpereiweiss Lipide zu synthetisieren vermögen[3]), haben wir die Isotopentechnik auch zum Studium der Fettbildung nach Eiweissfütterung angewandt.

Die Fettregeneration erfolgt nach *Bernhard* und *Schoenheimer*[4]) am intensivsten in der Leber, dann aber auch im Darm, worauf wir in einer späteren Arbeit zurückkommen. Die D-Gehalte der Leber- und Darmfettsäuren sind daher sichere Kriterien für stattfindende Fett-Synthese.

Ratten, welche nach vorangegangener Ernährung mit Normaldiät nach *McCollum* getrocknetes, mageres Pferdefleisch und pro Tag und Tier 20 γ Aneurinhydrochlorid, 20 γ Lactoflavin, 40 γ Adermin, 100 γ Pantothensäure, 100 γ Nicotinsäure-amid und 10 mg Cholin (alles *Roche*-Präparate) in 5 Atom %-D-haltigem Trinkwasser gelöst erhielten, wurden nach 6 Tagen getötet und zur Gewinnung der Fettsäuren aufgearbeitet. Letztere wiesen, wie aus den D-Werten der Tabelle I hervorgeht, nur wenig schweren Wasserstoff auf; eine wesentliche Fett-Neubildung trat nicht ein. Es ist dabei zu berücksichtigen, dass das Fleisch etwa 4% Ätherlösliches enthielt, womit eine merkliche Fettversorgung bereits gewährleistet war.

Tabelle I.

Gesamt-Fettsäuregehalte und D-Werte der Fettsäuren mit Fleisch gefütterter Ratten

Tier Nr.	% Fettsäuren	D-Werte*) der Fettsäure aus		
		Leber	Darm	Kadaver
1	7,93	8,0	9,2	4,0
2	9,10	8,7	6,8	3,4

$$*) \frac{\text{Atom \% D der Fettsäuren}}{\text{Atom \% D im Körperwasser}} \times 100$$

[1]) *E. M. MacKay, R. H. Barnes* und *H. O. Carne*, Am. J. Physiol. **135**, 193 (1941).

[2]) *K. Bernhard* und *R. Schoenheimer*, J. Biol. Chem. **133**, 713 (1940). *K. Bernhard, H. Steinhauser* und *F. Bullet*, Helv. **25**, 1313 (1942); *K. Bernhard* und *F. Bullet*, Helv. **26**, 1185 (1943). [3]) *K. Bernhard* und *H. Steinhauser*, Helv. **27**, 207 (1944).

[4]) *K. Bernhard* und *R. Schoenheimer*, J. Biol. Chem. **133**, 713 (1940).

Wir haben in der Folge als eiweissreiches, fettreiches Futter ein Gemisch aus 96 Teilen Casein und 4 Teilen Salzen verabreicht[1]). Zur Feststellung eines Einflusses der Komponenten des B-Komplexes auf die Fettbildung wurden die Tiere vor den Versuchen 3 Wochen Vitamin B-frei gefüttert. Sie erhielten nach *Gavin* und *McHenry*[2]) eine durch gelegentliche Lebertrangaben ergänzte Nahrung aus 10 Teilen Casein, 84 Teilen Rohrzucker, 4 Teilen Salzgemisch und 2 Teilen Agar-Agar, welche gegen Ende der Vorperiode indessen nicht mehr leicht gefressen wurde und zu Gewichtsabnahme, in erster Linie zu Verlusten der Fettbestände, führte.

Bei fünf in dieser Weise vorbehandelten Ratten (Nrn. 3—7, Gruppe A, Tabelle II) bedingte eine anschliessende sechstägige Caseinfütterung weiteren Gewichtsrückgang. Erst bei sehr geringen Gesamt-Fettsäuregehalten der Tiere (0,90—0,97 %), Nrn. 3 und 4) trat gesteigerte Fettbildung ein.

Im selben Sinne verhielten sich die Ratten Nrn. 8—11 (Gruppe B), welche täglich 20 γ Vitamin B_6 erhielten. Ein Einfluss des Adermins war nicht feststellbar.

Tabelle II.

Gesamt-Fettsäure-Gehalte und D-Werte der Fettsäuren mit Casein gefütterter Ratten.

	Tier Nr.	% Fett-säuren	D-Werte der Fettsäuren aus		
			Leber	Darm	Kadaver
Gruppe A:	3	0,90	17,3	20,2	10,0
ohne B-Vitamine:	4	0,97	26,3	26,3	10,0
	5	1,76	10,0	9,3	4,5
	6	2,11	7,8	10,2	4,1
	7	2,47	9,4	11,3	5,0
Gruppe B:	8	0,83	26,8	19,5	12,3
Adermin-Gaben:	9	2,51	10,1	11,4	6,3
	10	2,57	12,8	12,0	4,3
	11	3,59	12,7	8,2	3,4
Gruppe C:	12	1,58	31,5	30,8	15,2
mit den Vitaminen	13	1,69	33,6	35,7	17,8
des B-Komplexes:	14	3,27	22,7	20,0	10,3
	15	4,80	38,7	26,4	8,9
	16	5,31	17,6	25,8	6,6

Eine wesentliche Änderung trat indessen nach reichlichen Gaben aller B-Vitamine und des Cholins bei den Ratten Nrn. 12—16 ein. Gewichtsverluste waren auch damit bei den sechstätigen Versuchen nicht vermeidbar, hingegen enthielten Leber- und Darmfettsäuren bedeutend mehr schweren Wasserstoff; die Fettbildung war ausgesprochen erhöht.

[1]) *E. W. McHenry* and *G. Gavin*, J. Biol. Chem. **138**, 471 (1941).

[2]) *G. Gavin* and *E. W. McHenry*, J. Biol. Chem. **132**, 41 (1940).

Es schien uns von Interesse, unter gleichen Bedingungen die Auswirkung eines Kohlenhydrat-reichen Futters an Stelle der Casein-Nahrung zu prüfen. Die Ratten Nrn. 17 und 18 erhielten extrahiertes Brot und analoge Vitaminzusätze; ihre Leber- und Darmfettsäuren wiesen bei normalen Fettbeständen des Gesamtorganismus hohe D-Werte auf (vgl. Tabelle III).

Tabelle III.

Fettsäure-Gehalte und D-Werte der Fettsäuren mit Brot gefütterter Ratten.

Tier Nr.	% Fettsäuren	D-Werte der Fettsäuren aus		
		Leber	Darm	Kadaver
17	9,74	28,2	23,5	14,7
18	10,13	33,2	26,0	19,5

Experimentelles.

Als Versuchstiere dienten ausschliesslich weisse, männliche Ratten von über 200 g Anfangsgewicht. Die Anreicherung der Körperflüssigkeiten an Deuterium erfolgte in der üblichen Weise[1]).

Die Zusammensetzung der verfütterten Diäten nach den Angaben von *McHenry* wurde bereits mitgeteilt. Das verwendete Casein *Roche* war Vitamin A- und D-frei. Wir haben es zu weitgehender Entfettung während 24 Stunden mit Äther extrahiert. Als Kohlenhydrat-reiche Nahrung diente wie bei den früheren Versuchen extrahiertes Schwarzbrot. Futter und Trinkwasser standen den Tieren ad libitum zur Verfügung. Die Gewichtseinbussen nach 3-wöchiger Vitamin B-freier Diät und nach 6-tägiger Eiweissfütterung sind umstehend mitgeteilt:

Tabelle IV.

Prozentuale Gewichtsverluste der Ratten nach B-freier Ernährung (Diät I) und 6-tägiger Eiweissfütterung (Diät II).

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Diät I	—	—	9,1	19,8	13,7	7,6	15,7	9,8	18,4
Diät II	8,6	9,9	8,7	15,3	10,1	8,9	23,1	12,6	13,9
Tier Nr.	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**
Diät I	10,3	17,5	19,2	17,7	12,3	10,4	15,4	9,4	11,2
Diät II	9,3	4,2	14,1	14,4	9,4	9,6	10,0	*4,2	*6,4

*) Gewichtszunahmen.

Nach Beendigung der Versuche wurden die Ratten mit Äther getötet und wie früher angegeben[1]) zur Isolierung der Fettsäuren aus Leber, Magen-Darmtractus und Kadaver (= Carcass, Tierkörper exklusive Leber und Magen-Darmtractus) aufgearbeitet. Die erhaltenen Gesamt-Fettsäuremengen in Prozenten bezogen auf das Totalgewicht ausgedrückt, wurden bereits mitgeteilt; die mengenmässige Fettsäureverteilung auf Leber, Darm und Kadaver ist aus der Tabelle V ersichtlich. Letztere enthält auch die gemessenen D-Gehalte und zwar sowohl für die Körperflüssigkeiten als die Fettsäuren.

[1]) *K. Bernhard, H. Steinhauser* und *F. Bullet*, Helv. **25**, 1313 (1942).

Tabelle V.

Gewichte und D-Gehalte der Fettsäuren aus Leber, Darm und Kadaver.

Tier Nr.	mg Fettsäuren aus			Atom %-D					
				im Körperwasser	in den Fettsäuren aus				
							Kadaver		
	Leber	Darm	Kadaver		Leber	Darm	gesamt	gesättigt	ungesättigt
1	331	570	15509	1,75	0,14	0,16	0,07	0,09	0,05
2	283	861	18275	1,62	0,14	0,11	0,05	0,06	0,04
3	88	172	1719	2,82	0,49	0,57	0,28	0,41	0,21
4	254	177	1212	2,67	0,70	0,63	0,27	0,41	0,18
5	217	261	2369	2,48	0,25	0,23	0,11	0,16	0,09
6	123	225	4610	2,45	0,19	0,25	0,10	0,16	0,07
7	156	139	3992	1,59	0,15	0,18	0,08	0,10	0,06
8	146	338	1577	2,35	0,63	0,46	0,29	0,39	0,18
9	205	227	3418	2,53	0,27	0,29	0,16	0,20	0,13
10	217	189	6150	2,33	0,30	0,28	0,10	0,18	0,06
11	191	475	4977	2,92	0,37	0,24	0,10	0,16	0,08
12	117	199	1842	3,28	1,03	1,01	0,50	0,68	0,34
13	160	214	1833	2,98	1,00	1,06	0,53	0,83	0,36
14	190	255	7085	1,94	0,44	0,39	0,20	0,28	0,12
15	271	385	7700	2,92	0,99	0,77	0,26	0,40	0,20
16	262	530	9482	1,98	0,35	0,51	0,13	0,16	0,07
17	224	665	20167	1,70	0,48	0,40	0,25	0,38	0,20
18	254	477	19175	1,69	0,56	0,44	0,33	0,42	0,27

In vielen Fällen wurde bei der Aufarbeitung der Kadaver auch das Unverseifbare isoliert und bei Schmelzpunkten über 110° gleichfalls auf D geprüft. Tabelle VI enthält die diesbezüglichen Ergebnisse. Die Isolierung des Cholesterins war bei den geringen Mengen nicht angezeigt, indem erhältliche Reinfraktionen wohl nicht mehr zu einwandfreier D-Analyse ausgereicht hätten.

Tabelle VI.

Gewichte und D-Gehalte des Unverseifbaren aus den Kadavern.

Tier Nr.	3	4	5	6	7	8	10	11	12	13	14
erhalten mg	64	102	124	140	155	164	151	110	128	159	112
Atom % D	0,43	0,43	0,33	0,57	0,27	0,32	0,45	0,59	0,66	0,61	0,45

Diskussion der Ergebnisse.

McHenry und *Gavin*[1]) beobachteten nach ausschliesslicher Eiweissfütterung unabhängig von der Zufuhr der übrigen B-Vitamine beim Fehlen des Adermins in der Nahrung fortschreitenden Gewichtsverlust. Gewichtszunahmen traten nur bei gleichzeitigen Vitamin B_6-Gaben ein. Unsere Tiere verloren bei den kurzfristigen Versuchen

[1]) *E. W. McHenry* and *G. Gavin*, J. Biol. Chem. **138**, 471 (1941).

trotz Aneurin, Lactoflavin, Adermin, Nicotinsäure-amid, Pantothensäure und Cholinhydrochlorid bei einseitiger Eiweissfütterung beträchtlich an Gewicht. Im Gegensatz dazu führt die Kohlenhydrat-Nahrung (Brot) zu Gewichtszunahmen. Diese Beobachtungen bestätigen die Befunde von *MacKay*, *Barnes* und *Carne*[1]) über den Einfluss einer eiweissreichen Nahrung auf Appetit und Fettablagerung bei Ratten. Das Kohlenhydrat-Futter wird bevorzugt gefressen und damit in grösseren Mengen aufgenommen als das Casein. Solche Tiere bilden dadurch auch mehr Depotfett.

Die Ratten 3—11, welche ohne Vitaminzugaben oder nur mit solchen an B_6 ausschliesslich eiweissreich gefüttert wurden, verhielten sich hinsichtlich Fett-Neubildung sehr ähnlich wie die früher untersuchten Hungertiere[2]). Bei bereits stark reduzierten Fettsäure-Beständen von weniger als 1% weisen Leber- und Darm-Fettsäuren hohe, bei genügenden Fettvorräten des Gesamt-Körpers aber nur mässige D-Werte auf. In Übereinstimmung mit *McHenry* und *Gavin* kommt dem Adermin allein, d. h. ohne die übrigen B-Komponenten, keine Wirkung auf die Fettsynthese zu.

Bei den mit allen B-Vitaminen versorgten Ratten 12—16 erreichten indessen die D-Gehalte der Leber- und Darm-Fettsäuren bereits Werte, wie wir sie bei ausschliesslicher Brotfütterung und damit bedingter reichlicher Fettablagerung antreffen. Obwohl die Tiere noch immer starke Gewichtseinbussen zeigten, liegen die Gesamt-Fettsäuregehalte merklich höher. Zweifellos besteht ein deutlicher Einfluss von Seiten der B-Vitamine auf die Fettbildung. Ob diese Wirkung nur eine allgemein stimulierende ist, also z. B. den Appetit der Tiere anregt und damit eine gesteigerte Futteraufnahme bewirkt, oder ob es sich um eine eigentliche Beteiligung der B-Vitamine an den Stoffwechselvorgängen, die zur Fettbildung aus Eiweiss führen, handelt, kann nicht sicher entschieden werden, letztere Annahme scheint indessen eher richtig zu sein.

Bezüglich der D-Werte der Leber- und Darm-Fettsäuren verhalten sich die mit extrahiertem Brot gefütterten Ratten 17 und 18 sehr ähnlich wie diejenigen der Gruppe C. Ihre Gesamtfettsäure-Gehalte sind mit rund 10% aber viel grösser. Die Fettregeneration in Leber und Darm vollzieht sich daher, sowohl bei ausschliesslicher Kohlenhydrat- als bei reiner Eiweissfütterung und genügendem Angebot an B-Vitaminen, mit annähernd gleicher Halbwertzeit. Die Fettsynthese nimmt offenbar in beiden Fällen von kleinen Bruchstücken ausgehend einen analogen Verlauf.

Auf Grund des Körpergewichtes und der Fettsäurebestände wird aber mengenmässig bei der Kohlehydratnahrung mehr Fett gebildet als bei Eiweissfutter.

---

[1]) *E. M. MacKay, R. H. Barnes* and *H. O. Carne*, Am. J. Physiol. **135**, 193 (1941).
[2]) *K. Bernhard* und *H. Steinhauser*, Helv. **27**, 207 (1944).

Die Fettsäuren aus den Kadavern (0,64—9,76 % bezogen auf das Total-Gewicht der Ratten) haben wir über die Bleisalze in feste und flüssige bzw. gesättigte und ungesättigte Fraktionen zerlegt, welche auf schweren Wasserstoff geprüft wurden. Die diesbezüglichen Ergebnisse sind aus der Tabelle VII ersichtlich.

Tabelle VII.

Kadaver-Fettsäuren in % des Total-Gewichtes der Tiere, Jodzahlen der Gesamtfettsäuren aus den Kadavern und D-Werte der gesättigten und ungesättigten Säure-Fraktionen.

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
% Kadaver-Fettsäuren	—	—	0,78	0,71	1,47	1,95	2,30	0,64	2,19
Jodzahl der Kadaver-Fettsäuren	—	89,8	85,4	98,9	91,0	95,9	98,8	92,0	72,3
D-Werte der gesättigten Säuren .	5,1	3,7	14,5	15,3	6,5	6,5	6,3	16,5	7,9
ungesättigten Säuren .	2,9	2,5	7,5	6,7	3,6	2,9	3,8	7,7	5.2
Tier Nr.	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**
% Kadaver-Fettsäuren	2,40	3,17	1,34	1,40	3,08	4,43	4,91	8,05	9,76
Jodzahl der Kadaver-Fettsäuren	90,7	70,3	86,6	88,5	93.1	72,1	88,7	73,3	72,0
D-Werte der gesättigten Säuren .	7,7	5,5	20,6	27,8	14,4	13,7	8,1	22,4	24,8
ungesättigten Säuren .	2,6	2,7	10,3	12,1	6,2	6,8	3,5	11,7	16,0

Diese D-Werte, welche bei kurzfristigen Versuchen von der Menge der Depotfette und dem Ausmass stattfindender Fettsynthesen abhängig sind, zeigen deutlich die gegenüber der Casein-Nahrung bei Brotfütterung gesteigerte Fettproduktion. Sie betragen bei den Ratten 12 und 13 für die gesättigten Säuren 20,6 und 27,8 bei 1,34 und 1,40 % Depotfettsäuren, bei den Tieren 17 und 18 22,4 und 24,8 bei Fettsäuregehalten von 8,05 und 9,76 %.

Die Fettgehalte der Lebern hielten sich, wie aus der Tabelle VIII hervorgeht, innerhalb der Norm; Leberverfettungen traten auch bei den ohne Cholinhydrochlorid gefütterten Tieren nicht ein.

Tabelle VIII.

Fettsäure-Gehalte der Lebern.

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
% Fettsäuren	3,0	3,5	2,8	2,3	2,6	2,8	3,0	2,4	3,3
Tier Nr.	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**
% Fettsäuren	2,0	3,1	3,4	3,2	2,3	4,0	3,9	2,8	2,8

Die D-Werte der Sterine bzw. des Unverseifbaren (Tabelle IX) lassen keine direkte Beziehungen zum Vitamin B-Gehalt des Futters erkennen. Sie sind im allgemeinen bei niedrigem Gesamtfettsäure-Gehalt tiefer als bei hohem. Indessen konnten Abtrennungen und Bestimmungen nicht in allen Fällen durchgeführt werden.

Tabelle IX.

D-Werte des Unverseifbaren.

Tier Nr.	3	4	5	6	7	8	10	11	12	13	14
D-Wert	15,2	16,1	13,3	23,3	16,9	13,6	19,3	20,2	20,0	20,5	23,2

Zusammenfassung.

Unter Benützung des schweren Wasserstoff-Isotopen als Indikator wurde bei ausgewachsenen Ratten unter verschiedenen Bedingungen die Fettbildung aus Eiweiss untersucht, indem der Deuterium-Gehalt der aus Leber, Darm und restlichem Kadaver isolierten Fettsäuren die sichere Feststellung und Beurteilung eintretender Fett-Neubildungen erlaubt. Diese waren nach Fleischnahrung als Eiweissquelle nur von geringen Umfang, es scheint, dass der Lipoidgehalt dieses Futters eine hinreichende Fettversorgung gewährleistet und der Organismus auf eigene Fettbildungen verzichtet.

Nach einer dreiwöchigen Karenzzeit zum Zwecke der Erschöpfung der Vitamin B-Vorräte und der Fettbestände, wurden Ratten ausschliesslich mit Salzen und extrahiertem Casein gefüttert. Dabei trat nur mässige Fettsynthese ein. Lediglich, wenn die Gesamtfettsäure-Gehalte unter 1 % gesunken waren, konnte analog wie bei den Hungertieren gesteigerte Fett-Neubildung beobachtet werden. Adermin als alleinige Komponente des B-Komplexes verabreicht, war ohne Einfluss.

Die eingetretene Fettbildung erwies sich in Übereinstimmung mit Befunden *McHenry*'s und *Gavin*'s stark abhängig von der Versorgung der Tiere mit allen Vitaminen des B-Komplexes. Nach gleichzeitiger Aneurin-, Lactoflavin-, Adermin-, Nicotinsäure-amid-, Pantothensäure- und Cholingabe erfolgte die Fettgeneration in Leber und Darm mit derselben Halbwertzeit, wie nach Kohlenhydratfütterung. Die Gesamt-Fettproduktion war indessen auch unter solchen Konditionen geringer, als bei Kohlenhydratnahrung.

Der Stiftung „*Jubiläumsspende für die Universität Zürich*“ verdanken wir bestens erhaltene Subventionen.

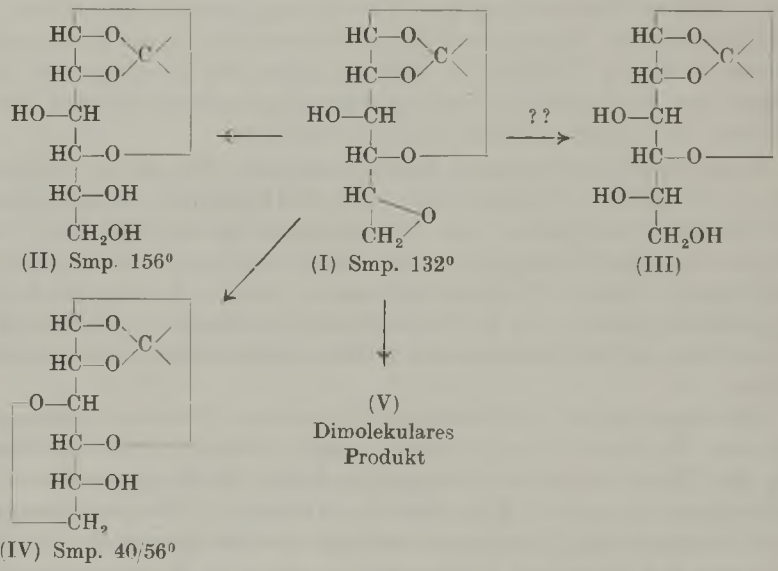
Zürich, Physiologisch-chemisches Institut der Universität.

132. Die Identifizierung der vermeintlichen *l*-Idose von *Ohle* und *v. Vargha* als 3,6-Anhydro-*d*-glucose

von E. Seebeck, A. Meyer und T. Reichstein.

(26. VI. 44.)

Ohle und *v. Vargha*[1]) haben vor längerer Zeit mitgeteilt, dass beim Erwärmen der 5,6-Anhydro-monoaceton-*d*-glucose (I)[1])[2]) mit wässriger Natronlauge der Oxydring geöffnet wird, wobei die drei folgenden Stoffe entstehen: Monoaceton-*d*-glucose (II) (ca. 50%), ein dimolekulares Produkt (V) (ca. 30%), das nicht weiter untersucht wurde, sowie ein weiterer Stoff (ca. 20%), den die genannten Autoren als Monoaceton-*l*-idose (III)[3]) ansprachen. Sie glaubten damit die relativ schwer zugängliche *l*-Idose einer ausgiebigen Untersuchung zugänglich gemacht zu haben. Da von ihnen weder (III) noch *l*-Idose



in reinem Zustand isoliert wurden, stützten sie ihre Deutung zur Hauptsache auf die Tatsache, dass nach der Hydrolyse des unreinen vermeintlichen Idose-Derivates (III) (das noch (II) enthielt) aus dem Reaktionsprodukt ein Osazongemisch erhalten wurde, aus dem sich nach Abtrennung von *d*-Glucosazon noch ein leichter lösliches

[1]) *H. Ohle, L. v. Vargha*, B. **62**, 2435 (1929).

[2]) Das von *K. Freudenberg, H. Toepffer, C. C. Andersen*, B. **61**, 1750 (1928) beschriebene Präparat soll mit dem von *Ohle* und *v. Vargha*[1]) erhaltenen identisch sein.

[3]) Von ihnen noch nach der alten Nomenklatur als *d*-Idose bezeichnet.

Osazon isolieren liess, dessen Schmelzpunkt (168°) mit demjenigen von Idosazon[1]) gut übereinstimmt[2]).

Da wir *l*-Idose benötigten, versuchten wir, sie nach dem angegebenen Verfahren zu bereiten. Wir hielten uns bei der Hydrolyse von (I) und der Vortrennung der drei Produkte möglichst genau an die Angaben von *Ohle* und *v. Vargha*. Danach wird nach der alkalischen Aufspaltung die Mono-aceton-*d*-glucose (II) durch Krystallisation möglichst abgeschieden und das als Mutterlauge verbleibende Gemisch acetyliert und der Destillation im Vakuum unterworfen, wobei sich das Acetat der vermeintlichen Monoaceton-*l*-idose zusammen mit Resten des Acetats von (II) als leicht flüchtiger Anteil sehr gut vom schwer flüchtigen Acetat der dimolekularen Verbindung abtrennen lässt. Wir erhielten auf diesem Wege die drei Produkte in den angegebenen Ausbeuten. Als aber das so gewonnene Acetat der vermeintlichen Monoaceton-*l*-idose (III) alkalisch verseift wurde, krystallisierte die nach Abtrennung geringer Reste (II) erhaltene freie Acetonverbindung fast vollständig und erwies sich nach Analyse, spez. Drehung, Schmelzpunkt und Mischprobe als identisch mit Monoaceton-3,6-anhydro-*d*-glucose (IV)[3]). Die saure Hydrolyse gab dementsprechend nicht *l*-Idose, sondern 3,6-Anhydro-*d*-glucose[3])[4]), die ein bei 198—200° schmelzendes Osazon[5]) lieferte. *l*-Idose lässt sich auf diesem Wege somit nicht bereiten[6]).

Wir danken der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel für die Ausführung einer Mikroanalyse.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze ± 2°.

3,6-Anhydro-monoaceton-*d*-glucose (IV) aus (I).

5 g 5,6-Anhydro-monoaceton-*d*-glucose (I)[7]) vom Smp. 132—134° wurden mit 50 cm³ n. Natronlauge ½ Stunde auf dem siedenden Wasserbad erwärmt. Nach dem Er-

---

[1]) *E. Fischer*, B. **17**, 579 (1884); **20**, 821 (1887) gibt für das *l*-Idosazon Smp. 164° an.

[2]) Weder Drehung noch Mischprobe sind erwähnt.

[3]) *H. Ohle, L. v. Vargha, H. Erlbach*, B. **61**, 1211 (1928).

[4]) *E. Fischer, K. Zach*, B. **45**, 456 (1912).

[5]) *H. Ohle* und Mitarb.[1]) fanden für dieses Osazon einen Schmelzpunkt von 178 bis 179°; es ist daher möglich, dass es in zwei Formen vorkommt.

[6]) Das bei 168° schmelzende Osazon von *Ohle* und *v. Vargha* muss wohl nicht ganz reines 3,6-Anhydro-*d*-glucosazon gewesen sein (vgl. [3])) trotz des dafür etwas zu tiefen Wertes der N-Bestimmung. Die C—H-Werte des vermeintlichen Trimethyläthers von (III) sind mit einem Monomethyläther von (IV) gut verträglich. Eine —OCH_3-Bestimmung, die sofort hätte Aufschluss geben müssen, wurde nicht ausgeführt. Die Analysenzahlen des Acetats stimmen allerdings besser auf ein Triacetat von (III) (der C-Wert ist für ein Monoacetat von (IV) um 2% zu niedrig), doch muss berücksichtigt werden, dass *Ohle* und *v. Vargha* ein unreines Präparat analysierten. Die spez. Drehung dieses unreinen Acetats (+58° in Chloroform) ist nicht allzu stark von derjenigen des Acetats von (IV) (+35,7° in Chloroform)[3]) verschieden.

[7]) Bereitet nach *H. Ohle, L. v. Vargha*, B. **62**, 2435 (1929).

kalten wurden 24 cm³ 2-n. H_2SO_4 zugegeben, hierauf CO_2 eingeleitet, bis die Tüpfelprobe auf Phenolphtalein keine Rötung mehr erzeugte, und im Vakuum zur Trockne gedampft. Der Rückstand wurde 3mal mit je 100 cm³ Aceton ausgekocht, die filtrierte Lösung auf ein kleines Volumen eingeengt, mit absolutem Äther nicht ganz bis zur Trübung versetzt und mit Monoaceton-*d*-glucose (II) angeimpft, worauf 1,9 g dieses Stoffes auskrystallisierten. Umkrystallisieren aus Aceton-Äther gab farblose Nadeln vom Smp. 157—158°, Mischprobe mit (II) ebenso. Die eingedampfte und im Vakuum getrocknete Mutterlauge wurde eine Stunde mit 7 cm³ absolutem Pyridin und 4 cm³ Essigsäure-anhydrid auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Eindampfen im Vakuum wurde in Äther gelöst, mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Die Destillation im Hochvakuum bei 0,12 mm lieferte 1,5 g Destillat vom Sdp. 99—101° sowie ca. 1,5 g Rückstand (dimolekulares Produkt), der nicht weiter untersucht wurde.

Das Destillat (1,5 g) wurde mit der Lösung von 3,2 g $Ba(OH)_2 \cdot 8\,H_2O$ in 24 cm³ Methanol 30 Minuten unter Rückfluss gekocht und anschliessend mit CO_2 neutralisiert (Phenolphtalein). Nach Filtration wurde im Vakuum eingedampft, der gut getrocknete Rückstand in wenig warmem Methanol aufgenommen und mit viel Aceton versetzt. Die durch Filtration abgetrennte Fällung wurde noch zweimal analog umgefällt. Die vereinigten Methanol-Acetonlösungen wurden eingedampft, der Rückstand in Aceton aufgenommen und mit viel absolutem Äther versetzt, wobei noch etwas anorganisches Material ausfiel, das durch Filtration entfernt wurde. Die Lösung wurde eingedampft, der Rückstand im Vakuum gut getrocknet, in absolutem Äther aufgenommen, mit Petroläther bis fast zur Trübung versetzt und mit (II) angeimpft, worauf beim Stehen noch wenig dieses Stoffes auskrystallisierte.

Die Mutterlauge wurde eingedampft und der verbleibende Syrup (0,8 g) über $CaCl_2$ stehen gelassen, wobei er bald völlig krystallisierte. Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther bei −20° (Impfen) gab farblose Blättchen, die bei 40—44° schmolzen, dann zu Prismen erstarrten, die bei 54—56° erneut schmolzen. Nach längerer Aufbewahrung über $CaCl_2$ erhöhte sich der erste Smp. auf 48—49°, der zweite blieb unverändert. Durch Animpfen der Lösung mit der wiedererstarrten Schmelze krystallisierte direkt die stabile Form vom Smp. 55—56° aus. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{17} = +\,27{,}64^0 \pm 0{,}5^0$ (c = 4,125 in Wasser).

104,2 mg Subst. zu 2,526 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +\,1{,}14^0 \pm 0{,}02^0$

Zur Analyse wurde im Vakuum kurz geschmolzen und im Schweinchen eingewogen.

3,788 mg Subst. gaben 7,453 mg CO_2 und 2,457 mg H_2O (E.T.H.)

$C_9H_{14}O_5$ (202,20) Ber. C 53,51 H 6,98%
Gef. „ 53,69 „ 7,26%

Ein zum Vergleich nach *Ohle* und Mitarbeitern[1]) bereitetes Vergleichspräparat von 3,6-Anhydro-monoaceton-*d*-glucose (IV)[2]) zeigte ebenfalls den Doppelschmelzpunkt 48—49°/54—56°, die Mischprobe gab keine Schmelzpunktserniedrigung. *Ohle* und Mitarbeiter[1]) fanden für dieses Produkt einen Smp. von 56—57° und eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +\,29{,}3^0$ (c = 3,172 in Wasser). Eine Probe des aus (I) bereiteten Präparates wurde in üblicher Weise[1]) tosyliert und lieferte 5-Tosyl-3,6-anhydro-monoaceton-*d*-glucose vom Smp. 132—134°. Mischprobe ebenso.

---

[1]) *H. Ohle, L. v. Vargha, H. Erlbach*, B. **61**, 1211 (1928).

[2]) Am bequemsten wird (IV) durch reduktive Detosylierung (vgl. *K. Freudenberg, F. Brauns*, B. **55**, 3238 (1922); *P. A. Levene, J. Compton*, Am. Soc. **57**, 2306 (1935)) erhalten, indem man 5-Tosyl-3,6-anhydro-1,2-monoaceton-*d*-glucose in Methanol 24 Stunden mit 12 Teilen 4-proz. Natrium-Amalgam schüttelt.

3,6-Anhydro-*d*-glucose aus obigen Krystallen.

0,11 g obiger aus (I) gewonnener Krystalle vom Doppelschmelzpunkt 40—44°/54—56° wurden mit 1,2 cm³ 1-proz. H_2SO_4 eine Stunde auf dem siedenden Wasserbad erwärmt, die Lösung hierauf mit frisch gefälltem $BaCO_3$ neutralisiert und der Niederschlag über ein mit wenig Kohle und $BaCO_3$ gedichtetes Filter abgenutscht. Das klare Filtrat reduzierte *Fehling*'sche Lösung stark. Es wurde im Vakuum eingedampft, worauf der Rückstand bald krystallisierte. Umkrystallisieren aus Alkohol-Aceton gab farblose Nadeln vom Smp. 116—118°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{14} = +50{,}0^0 \pm 1^0$ (c = 2,720 in Wasser)[1]).

27,181 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = +1{,}36^0 \pm 0{,}02^0$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,104 mg Subst. gaben 5,03 mg CO_2 und 1,76 mg H_2O (Ciba)

$C_6H_{10}O_5$ (162,14) Ber. C 44,40 H 6,23%
Gef. „ 44,22 „ 6,34%

Die Mischprobe mit authentischer 3,6-Anhydro-*d*-glucose[2]) gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

3,6-Anhydro-*d*-glucosazon.

50 mg obiger 3,6-Anhydro-*d*-glucose (aus I) wurden mit 0,1 g Phenylhydrazin in 1 cm³ Wasser und 1 Tropfen Eisessig 3 Stunden in CO_2-Atmosphäre auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wurden die ausgefallenen Krystalle abgenutscht, mit 1-proz. Essigsäure gewaschen und im Vakuum getrocknet. Umkrystallisieren aus Methanol-Äther gab hellgelbe Nadeln vom Smp. 198—200°[3]), die zur Analyse im Hochvakuum bei 80° getrocknet wurden.

3,017 mg Subst. gaben 7,01 mg CO_2 und 1,72 mg H_2O (E.T.H.)
1,156 mg Subst. gaben 0,171 cm³ N_2 (21°, 737 mm)

$C_{18}H_{20}O_2N_4$ (340,36) Ber. C 63,51 H 5,92 N 16,45%
Gef. „ 63,40 „ 6,38 „ 16,65%

Das aus authentischer, nach *Ohle* und Mitarbeitern[2]) bereiteter 3,6-Anhydro-*d*-glucose hergestellte Osazon schmolz nach Umkrystallisieren aus Methanol-Äther ebenfalls bei 198—200°, die Mischprobe ebenso. Aus Wasser wurden Blättchen vom Smp. 186—188° erhalten.

Die Mikroanalysen wurden teils im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (E.T.H.) (Leitung *H. Gubser*), teils im mikroanalytischen Laboratorium der Gesellschaft für chemische Industrie (Ciba) (Leitung *H. Gysel*) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

---

[1]) *E. Fischer, K. Zach*, B. **45**, 456 (1912) fanden Smp. 117°; $[\alpha]_D^{20} = +53{,}89^0$ (in Wasser). *Ohle* und Mitarb.[2]) fanden Smp. 119°; $[\alpha]_D^{20} = +55{,}39^0$ (c = 2,888 in Wasser), *H. Ohle, H. Wilcke*, B. **71**, 2316 (1938) dagegen $[\alpha]_D^{20} = +49{,}10^0$ (c = 2,63 in Wasser).

[2]) *H. Ohle, L. v. Vargha, H. Erlbach*, B. **61**, 1211 (1928).

[3]) *Ohle* und Mitarb.[2]) fanden für ein aus Wasser umkrystallisiertes Präparat einen Schmelzpunkt von 178—179°.

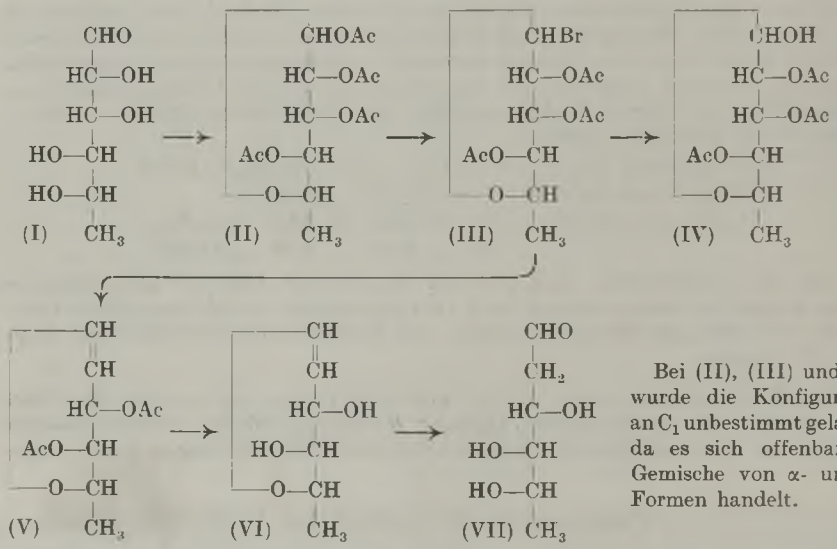
133. Krystallisierte 2-Desoxy-*l*-rhamnose (2-Desoxy-*l*-chinovose).

Desoxyzucker. 2. Mitteilung[1]).

von **B. Iselin** und **T. Reichstein**.

(28. VI. 44.)

2-Desoxyzucker kommen in der Natur ausser in Thymonucleinsäuren vor allem in herzwirksamen Glucosiden vor. Für die Synthese solcher Stoffe ist bisher nur die Glucalmethode bekannt, mit der erstmalig *d*-Glucose über das *d*-Glucal[2])[3])[4]) in 2-Desoxy-glucose[4])[5])[6]) übergeführt wurde. Die analoge Bereitung der 2-Desoxy-*l*-rhamnose (VII) aus *l*-Rhamnose (I) über das *l*-Rhamnose-tetracetat (II)[7]), die Acetobrom-*l*-rhamnose (III)[7]), das Diacetyl-*l*-rhamnal (V)[4]) und das *l*-Rhamnal (VI)[4]) ist von *Bergmann* und *Ludewig*[8]) beschrieben worden, die den Zucker als Syrup erhielten.



Bei (II), (III) und (IV) wurde die Konfiguration an C_1 unbestimmt gelassen, da es sich offenbar um Gemische von α- und β-Formen handelt.

Da die reduktive Entfernung der 2-ständigen Hydroxylgruppe nach dieser Methode bei der Rhamnose besonders gut gelingt, haben

---

[1]) Erste Mitteilung vgl. *C. Montigel*, Diss. E.T.H. Zürich, 1940.
[2]) *E. Fischer*, B. **47**, 196 (1914).
[3]) *E. Fischer, M. Bergmann, H. Schotte*, B. **53**, 509 (1920).
[4]) *M. Bergmann, H. Schotte*, B. **54**, 440 (1921).
[5]) *M. Bergmann, H. Schotte, W. Lechinsky*, B. **55**, 158 (1922).
[6]) *M. Bergmann, H. Schotte, W. Leschinsky*, B. **56**, 1052 (1923).
[7]) *E. Fischer, M. Bergmann, A. Rabe*, B. **53**, 2362 (1920).
[8]) *M. Bergmann, S. Ludewig*, A. **434**, 105 (1923).

wir die Synthese nachgearbeitet und vor allem danach getrachtet, den Weg etwas zu vereinfachen und die Ausbeuten möglichst zu verbessern, um die besten Bedingungen später auch auf schwerer zugängliche Zucker anwenden zu können. Es zeigte sich dabei, dass es vorteilhaft ist, die Überführung von (II) in (III) mit Bromwasserstoff-Eisessig in Gegenwart von Essigsäure-anhydrid[1]) vorzunehmen, um die unerwünschte Bildung von Triacetyl-rhamnose (IV)[2]) zu verhüten, und ferner die zersetzliche Acetobrom-rhamnose gar nicht zu isolieren, sondern das HBr-haltige Reaktionsgemisch direkt bei -10^0 mit verkupfertem[3]) Zinkstaub zu reduzieren, wobei lediglich zur Bindung des Bromwasserstoffs ein Überschuss an Natriumacetat zugegeben wurde. Bei rascher Aufarbeitung in der Kälte gelang es auf diese Weise, das Diacetyl-*l*-rhamnal (V) in einer Ausbeute von ca. 80 % zu gewinnen. Die kleinen Mengen Triacetyl-rhamnose (IV), die daneben entstehen, lassen sich durch Reacetylierung zu (II) wieder verwerten. Ein Versuch, die Reduktion von (III) mit Aluminium-amalgam durchzuführen, gab überhaupt keine nachweisbare Menge an (V).

Die Verseifung mit Bariumhydroxyd in Methanol lieferte in bekannter Weise das krystallisierte *l*-Rhamnal (VI), aus dem sich durch Hydrolyse mit wässeriger Schwefelsäure bei 0^0 neben anderen Stoffen der gesuchte Zucker (VII) gewinnen liess, den wir in krystallisierter Form erhalten konnten. Die 2-Desoxy-*l*-rhamnose krystallisierte aus Methyläthylketon in hygroskopischen, farblosen Nadeln vom Smp. 90—92^0 und zeigte die spez. Drehung $[\alpha]_D^{17} = -103{,}6^0 \pm 2^0$ (in Aceton). In Wasser wurde Mutarotation beobachtet von $[\alpha]_D^{14} = -45{,}6^0$ (nach 5 Minuten) $\rightarrow -18{,}2^0 \pm 2^0$ (konstant nach 90 Minuten, c = 0,986). Die Krystalle dürften demnach die α-Form darstellen. Bei der *Keller-Kiliani*-Reaktion[4]) liefert die 2-Desoxy-*l*-rhamnose die bekannte Blaufärbung.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^0$.)

l-Rhamnose-tetracetat (II)[5])[6]).

5 g *l*-Rhamnose-monohydrat wurden in 25 cm³ absolutem Pyridin gelöst, unter Kühlung mit 25 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und 2 Tage bei 20^0 stehen gelassen.

---

[1]) Dieser Zusatz ist schon von *E. Fischer* und *H. Fischer* für die Herstellung von Acetobrom-lactose vorgeschlagen worden (B. **43**, 2530 (1910)).

[2]) *E. Fischer, M. Bergmann, A. Rabe*, B. **53**, 2362 (1920).

[3]) *C. Montigel*, Diss. E.T.H. Zürich, 1940.

[4]) *C. C. Keller*, Ber. dtsch. Pharm. Ges. **5**, 277 (1895); *H. Kiliani*, Arch. Pharm. **234**, 273 (1896); **251**, 567 (1913).

[5]) *E. Fischer, M. Bergmann, A. Rabe*, B. **53**, 2362 (1920).

[6]) *W. N. Haworth, E. L. Hirst, E. J. Miller*, Soc. **1929**, 2469.

Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Eis und Chloroform zerlegt. Die mehrmals mit verdünnter H_2SO_4 und gesättigter $KHCO_3$-Lösung gewaschenen und über $CaCl_2$ getrockneten Chloroformauszüge hinterliessen beim Eindampfen im Vakuum 9,3 g (= 94%) rohes *l*-Rhamnose-tetracetat (II) als leicht gelblichen Syrup.

Diacetyl-*l*-rhamnal (V)[1].

9 g *l*-Rhamnose-tetracetat (Syrup) wurden in 2,5 cm³ Eisessig und 2,5 cm³ Essigsäure-anhydrid gelöst, bei 0° mit 18 cm³ einer eisgekühlten 30-proz. HBr-Eisessiglösung versetzt und 2 Stunden bei 16° stehen gelassen, wobei Rotfärbung eintrat. Hierauf wurde direkt in folgendes Reduktionsgemisch eingetragen.

In einem mit Tropftrichter, mechanischem Rührwerk und Thermometer versehenen Dreihalskolben wurden 25 g Natriumacetat-trihydrat in 60 cm³ 50-proz. Essigsäure gelöst, auf — 10° abgekühlt, dann unter starkem Rühren mit 18 g Zinkstaub und schliesslich mit der Lösung von 1,8 g $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$ in 5,5 cm³ Wasser versetzt. Sobald die blaue Farbe verschwunden war und Wasserstoffentwicklung einsetzte, wurde die rohe Acetobrom-rhamnoselösung innert 20 Minuten eingetropft, wobei die Reaktionstamperatur (im Kolben) auf − 10° bis − 5° gehalten wurde, und anschliessend noch 3 Stunden bei − 10° gerührt.

Die nun folgende Aufarbeitung ist möglichst rasch durchzuführen. Unter Eiskühlung wurde vom Zink-Kupfer abgenutscht und dieses mit wenig 50-proz. Essigsäure von − 10° nachgewaschen. Das mit 50 g feinem Eis versetzte Filtrat wurde dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die zuerst mit Eiswasser, dann mit gesättigter, auf 0° gekühlter $KHCO_3$-Lösung bis zur völligen Entfernung der Essigsäure gewaschenen Chloroformauszüge wurden kurz über $CaCl_2$ getrocknet und im reduzierten Vakuum bei 40° Badtemperatur eingedampft. Der Rückstand (5,12 g) lieferte bei der Destillation im Hochvakuum 4,65 g (= 80%) Diacetyl-*l*-rhamnal (V) als farbloses Öl vom Sdp. 68—69° bei 0,06 mm.

l-Rhamnal (VI)[1].

4 g Diacetyl-*l*-rhamnal (V) wurden in die filtrierte und auf 15° abgekühlte Lösung von 4 g $Ba(OH)_2 \cdot 8\,H_2O$ in 40 cm³ Methanol eingetragen und durch Schütteln gelöst, wobei bald Gelbfärbung eintrat. Es wurde verschlossen 12 Stunden bei 15° stehen gelassen und ohne vom auskrystallisierten Bariumacetat abzufiltrieren mit CO_2 neutralisiert. Der geringe Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in 5 cm³ absolutem Alkohol unter leichtem Wärmen aufgenommen und zur Fällung der Bariumsalze mit 20 cm³ einer Mischung gleicher Teile Aceton und Äther versetzt, der Niederschlag abfiltriert und gut mit Aceton-Äther (1 : 1) nachgewaschen. Das Filtrat wurde hierauf unter vermindertem Druck eingedampft und der Rückstand im Hochvakuum bei 0,06 mm destilliert (Wurstkolben), wobei das Rhamnal bei 77—78° farblos überging und bald erstarrte. Umkrystallisieren aus Benzol lieferte 2,18 g (= 89%) farblose Nadeln vom Smp. 70—73°, die für die weitere Verarbeitung rein genug waren.

2-Desoxy-*l*-rhamnose (= 2-Desoxy-*l*-chinovose) (VII).

2 g *l*-Rhamnal (VI) wurden in 20 cm³ eisgekühlter n. Schwefelsäure gelöst und 8 Stunden bei 0° stehen gelassen. Schon nach einigen Minuten begann sich die Lösung zu trüben und schied allmählich ein grünlich-gelbes Öl ab. Nach der angegebenen Zeit wurde mit feuchtem, aus $Ba(OH)_2$-Lösung mit CO_2 gefälltem und gut gewaschenem $BaCO_3$ versetzt, bis zur neutralen Reaktion bei 50° geschüttelt und durch ein mit wenig gewaschener Kohle und $BaCO_3$ gedichtetes Filter abgenutscht.

Das farblose Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 10 cm³ Aceton gelöst, mit 10 cm³ absolutem Äther versetzt und durch Filtration von wenig Flocken befreit. Die klare Lösung hinterliess beim Eindampfen im Vakuum die rohe

[1]) *M. Bergmann, H. Schotte*, B. **54**, 440 (1921).

Desoxy-rhamnose als leicht gelblichen Syrup, der nach dem Trocknen im Hochvakuum bei 40° 1,44 g wog. Er wurde mit einigen Tropfen Aceton versetzt und im Exsikkator über $CaCl_2$ stehen gelassen, wobei zum Ersatz der Verdampfungsverluste alle 2 Tage wieder wenige Tropfen Aceton zugegeben wurden. Die Krystallisation setzte nach 16 Tagen ein und war nach Zusatz von etwas Methyläthylketon nach weiteren 4 Tagen beendet. Der sehr hygroskopische Zucker liess sich am besten aus Methyläthylketon unter Feuchtigkeitsausschluss durch Impfen umkrystallisieren, wobei er in farblosen Nadeln erhalten wurde, die nach dem Trocknen über P_2O_5 bei 93—94° schmolzen. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{17} = -103{,}6^0 \pm 2^0$ (c = 1,023 in Aceton) bzw. $[\alpha]_D^{14} = -45{,}6^0 \pm 2^0$ (nach 5 Minuten) und $-18{,}2^0 \pm 2^0$ (konstant nach 90 Minuten, c = 0,986 in Wasser).

25,590 mg Subst. zu 2,501 cm³ (Aceton); $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -1{,}06^0 \pm 0{,}02^0$

24,662 mg Subst. zu 2,501 cm³ (H_2O); $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0{,}45^0 \pm 0{,}02^0$

(nach 5 Minuten) bzw. $-0{,}18^0 \pm 0{,}02^0$ (nach 90 Minuten, und weiter konstant).

Zur Analyse wurde eine Stunde im Hochvakuum bei 50° getrocknet und nach dreitägigem Stehen über P_2O_5 im Schweinchen eingewogen.

4,148 mg Subst. gaben 7,413 mg CO_2 und 3,036 mg H_2O

$C_6H_{12}O_4$ (148.16) Ber. C 48,64 H 8,16%
Gef. „ 48,77 „ 8,19%

Der Zucker lässt sich in kleineren Mengen im Hochvakuum (Molekularkolben) unzersetzt destillieren. Ausser in Wasser und Alkohol löst er sich auch leicht in Aceton, sehr wenig jedoch in Äther. Bei der *Keller-Kiliani*-Reaktion wird eine starke Blaufärbung erhalten.

Die Mikroanalyse wurde im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

---

134. Steroide und Sexualhormone.

(100. Mitteilung [1]).

Über die Epimerisierung der beiden 7-Oxy-cholesterin-diacetate am Kohlenstoffatom 7

von **L. Ruzicka, V. Prelog** und **E. Tagmann.**

(28. VI. 44.)

Die beiden am Kohlenstoffatom 7 epimeren 7-Oxy-cholesterine wurden als Zwischenprodukte der Umwandlung von Cholesterin in 7-Dehydro-cholesterin (und somit in Vitamin D_3)[2]), als Bestandteile von Organextrakten[3]) und als Autoxydationsprodukte des Chole-

[1]) 99. Mitt. Helv. **27**, 988 (1944).

[2]) *A. Windaus, H. Lettré* und *F. Schenck*, A. **520**, 98 (1935); *T. Baar, I. M. Heilbron, E. G. Parry* und *F. S. Spring*, Soc. **1936**, 1437; *O. Wintersteiner* und *W. L. Ruigh*, Am. Soc. **64**, 2453 (1942).

[3]) Vgl. die Literaturzusammenstellung bei *V. Prelog, L. Ruzicka* und *P. Stein*, Helv. **26**, 2225 (1943).

sterins[1]) in letzter Zeit mehrmals untersucht. Eine gegenseitige Umwandlung der Epimeren ineinander wurde jedoch bisher nicht beobachtet.

Bei unseren Untersuchungen über die Umwandlungsprodukte der 7-Oxy-cholesterine, welche im Zusammenhang mit Arbeiten über Organextrakte durchgeführt wurden, konnten wir feststellen, dass die reinen Diacetate der beiden Verbindungen durch Erhitzen mit Eisessig in Gemische der am Kohlenstoff 7 epimeren Verbindungen übergehen. Da die epimeren Diacetate recht verschiedenes Drehungsvermögen besitzen (7α-Oxy-cholesterin-diacetat I $[\alpha]_D = +54^0$; 7β-Oxy-cholesterin-diacetat II $[\alpha]_D = -177^0$)[2]), kann man die Epimerisierungs-Reaktion gut polarimetrisch verfolgen. Man erhält von beiden 7-Oxy-cholesterin-diacetaten ausgehend ein Reaktionsprodukt mit demselben Drehungsvermögen $[\alpha]_D \sim -20^0$, was ungefähr einem Gemisch von $^2/_3$ 7α-Oxycholesterin-diacetat und $^1/_3$ 7β-Oxy-cholesterin-diacetat entspricht. Da sich aber während der Epimerisierung auch andere nicht erfasste Nebenprodukte bilden, lässt sich aus dem Drehungsvermögen das genaue Verhältnis der Epimeren nicht errechnen.

Aus dem Gemisch der Diacetate wurden nach alkalischer Verseifung die beiden epimeren 7-Oxy-cholesterine chromatographisch getrennt. Durch einen besonderen Versuch haben wir uns überzeugt, dass bei der alkalischen Verseifung selbst keine merkliche Epimerisierung stattfindet.

Die leichte Epimerisierung von 7-Oxy-cholesterin-diacetaten in essigsaurer Lösung steht wohl im Zusammenhang mit der in diesen Verbindungen erhaltenen „Allyl-Gruppierung"[3]).

Wie in anderen ähnlichen Fällen kommen für die Epimerisierung zwei Reaktionsmechanismen in Betracht[4]). Man kann annehmen, dass die 7-Oxy-cholesterin-diacetate teilweise in das Acetat-Anion und das mesomere Kation III zerfallen, das ausgehend von beiden Diacetaten entsteht, oder dass die Diacetate mit Acetat-Anionen aus Eisessig unter *Walden*'scher Umlagerung reagieren (Reaktionsmechanismus S_N1 oder S_N2 nach *E. D. Hughes* und *C. K. Ingold*[5]). Beide Reaktionsmechanismen führen schliesslich zu einem Gleichgewichtsgemisch der Epimeren.

---

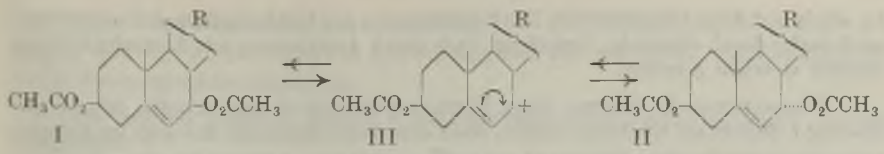
[1]) Vgl. die Literaturzusammenstellung bei *S. Bergström*, Ark. Kem. **16** A, Heft 10 (1942).

[2]) Zu den von *T. Baar* und Mitarb. (vgl. Anm. 2) eingeführten willkürlichen Bezeichnungen α und β vgl. *Pl. A. Plattner* und *H. Heusser*, Helv. **27**, 753 (1944).

[3]) Unter anderen Reaktionsbedingungen führt die „Allyl-Gruppierung" der 7-Oxycholesterine zu einer Umlagerung statt zu einer Epimerisierung. So erhielten *S. Bergström* und *O. Wintersteiner*, J. Biol. Chem. **143**, 503 (1942), beim Kochen von 7β-Oxycholesterin mit alkoholischer Essigsäure ein Δ^6-Cholesten-diol-(3β,5).

[4]) Vgl. Annual Reports, **35**, 233 (1938).

[5]) Soc. **1935**, 244.



Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[1]).

Zur Herstellung des 7α- und des 7β-Oxy-cholesterin-diacetats.

Das 7α-Oxy-cholesterin-diacetat wurde durch Acetylierung von 7α-Oxy-cholesterin mit Acetanhydrid in Pyridin in der Kälte hergestellt. Nach mehrmaligem Umlösen aus Petroläther erhielt man farblose Krystalle vom Smp. 108—110° mit einem $[\alpha]_D^{15} = +54^0$ ($\pm$ 2°) (c = 0,828 in Chloroform). Die Herstellung des 7α-Oxy-cholesterins erfolgte durch Reduktion von 7-Ketocholesterin-acetat mit Aluminium-isopropylat, Verseifung des Reduktionsproduktes mit methanolischer Kalilauge und chromatographische Reinigung über Aluminiumoxyd[2]).

Das 7β-Oxy-cholesterin-diacetat wurde ebenfalls durch kalte Acetylierung des 7β-Oxy-cholesterins mit Acetanhydrid und Pyridin gewonnen. Aus 70-proz. wässerigem Aceton krystallisierte die Verbindung in Prismen mit dem Smp. 123—124° und einem $[\alpha]_D^{14} = -175^0$ ($\pm$ 2°) (c = 0,876 in Chloroform). Das 7β-Oxy-cholesterin erhielt man durch Oxydation des sauren Cholesterin-phthalats mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung, Verseifung des Oxydationsproduktes mit methanolischer Kalilauge und chromatographische Reinigung an Aluminiumoxyd[3]).

Überführung von 7α-Oxy-cholesterin-diacetat in 7β-Oxy-cholesterin.

Vorversuche. a) In zwei Schliffkölbchen mit Rückflusskühler und Feuchtigkeitsausschluss erhitzte man je 60 mg der 7-Oxy-cholesterin-diacetate mit 2 cm³ Eisessig und 2 cm³ Acetanhydrid unter gleichen Bedingungen 5 Stunden am Rückfluss. Die Reaktionsgemische wurden darauf im Vakuum möglichst vollständig von Essigsäure und Acetanhydrid befreit. Das Produkt aus 7α-Oxy-cholesterin-diacetat zeigte ein $[\alpha]_D^{14} = -19^0$ ($\pm$ 1°) (c = 1,05 in Chloroform), dasjenige aus 7β-Oxy-cholesterin-diacetat ein $[\alpha]_D^{14} = -20^0$ ($\pm$ 1°) (c = 0,94 in Chloroform). Die epimeren Diacetate gaben demnach Produkte mit gleichem Drehungsvermögen.

b) 80,6 mg 7α-Cholesterin-diacetat wurden 3 Stunden mit 10,0 cm³ n. methanolischer Kalilauge unter Rückfluss gekocht. Auf übliche Weise erhielt man aus dem Verseifungsgemisch 66 mg neutrale Produkte mit einem $[\alpha]_D^{14} = +4^0$ ($\pm$ 1°) (c = 1,32 in Chloroform)[4]). Durch Stehenlassen über Nacht mit 2 cm³ Acetanhydrid und 2 cm³ Pyridin wurde das Verseifungsprodukt wieder reacetyliert. Das rohe Acetyl-Derivat zeigte ein $[\alpha]_D^{14} = +48^0$

---

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

[2]) Vgl. *O. Wintersteiner* und *W. L. Ruigh*, Am. Soc. **64**, 2543 (1942) (zitiert nach B.C.A. **1943**, II, 68).

[3]) Vgl. *T. Baar* und Mitarbeiter, Soc. **1936**, 1439.

[4]) *O. Wintersteiner* und *W. L. Ruigh*, Am. Soc. **64**, 2543 (1942), geben für das 7α-Oxy-cholesterin ein $[\alpha]_D = +7{,}2^0$ an.

($\pm$ 5°) (c = 1,61 in Chloroform)[1]). Die Konfiguration am Kohlenstoffatom 7 wurde demnach weder durch alkalische Verseifung, noch durch Acetylierung mit Acetanhydrid und Pyridin merklich geändert.

Hauptversuch. 500 mg reines 7α-Oxy-cholesterin-diacetat wurden mit 10 cm³ Eisessig 1 Stunde am Rückfluss erhitzt. Nach dem Verdampfen des Eisessigs im Vakuum zeigte der gelbliche ölige Rückstand ein $[\alpha]_D^{14} = -24^0$ (c = 4,02 in Chloroform).

Es wurde 2 Stunden am Rückflusskühler mit 10 cm³ n. methanolischer Kalilauge verseift. Das Verseifungsprodukt wurde mit Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherauszüge wurden mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. 430 mg des erhaltenen bräunlichen Rückstandes löste man in Benzol und chromatographierte an 20 g Aluminiumoxyd (Aktivität III)[2]). Dabei wurden Fraktionen von je 25 cm³ genommen.

Tabelle 1.

Frakt.	Eluierungsmittel	
1—6	Benzol	gelb, ölig
7—11	Benzol-Äther 19 : 1	gelb, ölig
12—13	Äther	gelb, ölig
14—25	Äther	farblos, krystallin
26—42	Äther	farblos, krystallin
43—48	Äther-Methanol 49 : 1	gelb, ölig

Die Fraktionen 26—42 wogen insgesamt 80 mg. Durch viermaliges Umlösen aus Methanol wurden daraus feine Nadeln vom Smp. 176—182° und einem $[\alpha]_D^{14} = -89^0$ ($\pm$ 2°) (c = 1,010 in Chloroform)[3]) erhalten, welche mit reinem 7β-Oxy-cholesterin keine Schmelzpunktserniedrigung zeigten. 15 mg der Verbindung wurden mit 1 cm³ Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid über Nacht kalt acetyliert. Durch Umkrystallisieren aus wässerigem Aceton wurden aus dem, auf übliche Weise aufgearbeiteten, Acetylierungsprodukt das in farblosen Prismen krystallisierende 7β-Oxy-cholesterin-diacetat vom Smp. 123—124° erhalten. Die Verbindung gab keine Schmelzpunktserniedrigung mit einem Vergleichspräparat und zeigte ein $[\alpha]_D^{14} = -177^0$ ($\pm$ 2°) (c = 0,967 in Chloroform)[4]).

3,714 mg Subst. gaben 10,404 mg CO_2 und 3,405 mg H_2O

$C_{31}H_{50}O_4$ Ber. C 76,49 H 10,36%
Gef. „ 76,45 „ 10,26%

Aus den Fraktionen 14—25 des Chromatogramms konnte das nicht epimerisierte 7α-Oxy-cholesterin als Dibenzoat abgetrennt werden. 110 mg Substanz wurden in 4 cm³ Methylen-dichlorid gelöst und mit 0,08 cm³ Benzoyl-chlorid und 6 Tropfen Pyridin 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung des Reaktionsgemisches erhielt man durch Umlösen aus wässerigem Aceton das in feinen Nadeln krystallisierende

---

[1]) Nach *O. Wintersteiner* und *W. L. Ruigh*, l. c., zeigt das 7α-Oxy-cholesterin-diacetat ein $[\alpha]_D = +51,8^0$.

[2]) *H. Brockmann* und *H. Schodder*, B. **74**, 73 (1941).

[3]) *T. Baar* und Mitarbeiter, Soc. **1936**, 1439, geben den Smp. 184—185° und ein $[\alpha]_D^{19} = -86,4^0$ (c = 0,98 in Chloroform) an.

[4]) *T. Baar* und Mitarbeiter, l. c., geben den Smp. 121—122° und ein $[\alpha]_D^{19} = -174,6^0$ (c = 0,86 in Chloroform) an.

7α-Oxy-cholesterin-dibenzoat vom Smp. 173—176° [1]). Die Verbindung zeigte ein $[\alpha]_D^{14} = +94^0$ (± 2°) (c = 0,900 in Chloroform) und gab mit einem Vergleichspräparat keine Schmelzpunktserniedrigung.

Die Analyse wurde in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

---

135. Über Steroide.

(36. Mitteilung [2])).

Zur Darstellung von Saccharidderivaten der Steroide

von **Ch. Meystre** und **K. Miescher.**

(28. VI. 44.)

Von klinischer Seite wird stets wieder der Wunsch geäussert, für Injektionszwecke die Hormone der Steroidreihe auch in wasserlöslicher Form zur Erzielung akuterer Wirkungen zu besitzen. Besonders dringlich erwies sich dieses Problem beim Desoxy-corticosteron, dem Hormon der Nebennierenrinde, da wegen der lebensbedrohlichen Erscheinungen während der *Addison*-Krisis rasch vorgegangen werden muss. Eine Lösung des Problems bot hier die von uns in der letzten Mitteilung beschriebene Herstellung des Glucosids, das in Form einer 1-proz. übersättigten Lösung in 10-proz. Glucose von *R. Meier*, *H. Gysel* und *R. Müller* [3]) pharmakologisch gründlich untersucht wurde und sich auch inzwischen bei eingehenderer klinischer Prüfung bewährt hat.

Die von uns kürzlich vorgeschlagene verbesserte Methodik zur Darstellung von Saccharidderivaten unter Entfernung des Reaktionswassers durch azeotrope Destillation erlaubte uns, den höheren Sacchariden der Steroide vermehrte Aufmerksamkeit zu schenken, nachdem wir bereits einige Derivate dieser Reihe dargestellt hatten. Von vorneherein durfte erwartet werden, dass Disaccharide der Steroidhormone infolge des stark vermehrten Sauerstoffgehaltes besser wasserlöslich seien als die Monosaccharide. Auffälligerweise

---

[1]) *A. Windaus* und Mitarbeiter, A. **520**, 103 (1935), geben den Smp. 171,5—172° und ein $[\alpha]_D^{20} = +94{,}3^0$ (c = 4,94 in Chloroform) an.

[2]) 35. Mitteilung. Siehe *Ch. Meystre* und *K. Miescher*, Helv. **27**, 231 (1944). Die vorliegende Arbeit bildet zugleich die 4. Mitteilung über Saccharide des Desoxy-corticosterons.

[3]) *R. Meier*, *H. Gysel* und *R. Müller*, Schweiz. med. Wschr. **74**, 93 (1944).

zeigte das Lactosid des Desoxy-corticosterons nur eine wenig erhöhte Löslichkeit gegenüber dem Glucosid. Beim Maltosid lag sie noch etwas günstiger. Dieses Derivat zeichnete sich aber besonders dadurch aus, dass sich damit ohne jeden Zusatz leicht übersättigte wässerige Lösungen, von 10 % und darüber, von langer Haltbarkeit erzeugen liessen. Inzwischen haben Versuche von *R. Meier* im biologischen Institut der Ciba gezeigt, dass dem Maltosid des Desoxy-corticosterons mindestens die gleiche Wirksamkeit zukommt wie dem Glucosid.

Dies veranlasste uns, insbesondere auch die freien Maltoside weiterer Steroide einer näheren Prüfung zu unterziehen. Wir gehen zunächst auf ihre Darstellung ein und besprechen anschliessend ihre Löslichkeit.

17-Maltosid des Oestradiols.

Das β-Maltosid-heptaacetat des Oestradiol-3-mono-benzoats wurde schon in der letzten Mitteilung beschrieben. Wir verseiften es in üblicher Weise mit Bariummethylat in methanolischer Lösung. Das freie 17-β-Maltosid des Oestradiols hielt auch nach längerem Trocknen bei 105° im Hochvakuum 1 Molekel Wasser fest. Es schmolz bei 272—282° unter Zersetzung; $[\alpha]_D^{20} = +52^0$ in Methanol. Durch Hydrolyse mit alkoholischer Salzsäure wurde unverändertes Oestradiol zurückgewonnen.

Maltosid des Testosterons.

Die Herstellung der Saccharide des Testosterons bietet Schwierigkeiten. *K. Miescher* und *W. Fischer*[1]) gelang die Gewinnung des Glucosids unter milden Bedingungen nicht, wohl aber *E. Rabald* und *H. Dietrich*[2]) bei energischerem Vorgehen. Die Ausbeute betrug bloss 18,6 %. Wie wir gezeigt haben, liess sie sich nach unserer neuen Methodik auf über das Doppelte erhöhen.

Die Herstellung des β-Maltosid-heptaacetats gelang uns in derselben Weise aus Testosteron und Acetobrom-maltose. Wegen der guten Löslichkeit des Reaktionsproduktes in Äther wurde es direkt der Verseifung mit Bariummethylat unterworfen und das Konzentrat mit Essigester und Wasser behandelt. Freies Testosteron ging in den Essigester, das neugebildete Maltosid in die wässrige Phase. Das rohe Maltosid wurde der wässrigen Lösung mit einem Gemisch von Chloroform und Äthanol entzogen und zur weiteren Reinigung reacetyliert. Auf diese Weise gewannen wir das β-Maltosid-heptaacetat des Testosterons in farblosen Nadeln vom Smp. 175—180°, $[\alpha]_D^{19} = +74^0$ in Methanol.

---

[1]) *K. Miescher* und *W. Fischer*, Helv. **21**, 336 (1938).

[2]) *E. Rabald* und *H. Dietrich*, Z. physiol. Ch. **259**, 251 (1939).

Durch Verseifung erhielten wir daraus das freie β-Maltosid des Testosterons und konnten das zunächst amorphe Produkt aus Methanol-Aceton in krystallisierter Form gewinnen, Smp. 250—255° unter Zersetzung, $[\alpha]_D^{19} = +73°$ in Methanol.

Durch Hydrolyse mit 2-n. Salzsäure liess sich das Maltosid unter Rückbildung von Testosteron wieder spalten.

Glucosid und Maltosid des $\Delta^{5,6;20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lactons.

Die Darstellung des Glucosid-tetraacetats beschrieben wir schon in der vorangegangenen Mitteilung. Aus Äther-Isopropyläther umkrystallisiert, wird es in 2 polymorphen Formen vom Smp. 177—178° und 192—202° gewonnen. Die niedriger schmelzende Modifikation wandelt sich bei langsamem Erhitzen in die höher schmelzende um. Durch Behandlung mit Bariummethylat in Methanol gewannen wir jetzt daraus das freie β-Glucosid. Nach Krystallisation aus Methanol-Aceton schmolz es unscharf zwischen 258 und 272° unter Zersetzung; $[\alpha]_D^{19} = -50°$ in Methanol. Es hielt auch nach dem Trocknen im Hochvakuum noch 1 Molekel Krystallwasser hartnäckig fest. In Wasser erwies es sich als unlöslich. Die *Legal*-Probe war positiv.

Auch die Herstellung des Maltosid-heptaacetats geschah in der bei uns üblichen Weise aus dem $\Delta^{5,6;20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lacton und Acetobrom-maltose. Das Rohprodukt wurde mit Barium-methylat verseift und der Rückstand mit Wasser und einem Gemisch von Alkohol und Chloroform behandelt. Die unumgesetzte Maltose ging in die wässrige Phase, während sich das unveränderte Lacton sowie sein Maltosid im Alkohol-Chloroform-Gemisch befand. Nach der Reacetylierung konnte das Maltosid-acetat des Lactons durch Chromatographieren und Umkrystallisieren rein erhalten werden. Es schmolz bei 179—181°, $[\alpha]_D^{18} = +27°$ in Methanol. Die *Legal*-Probe war positiv.

In kleinerer Menge konnte ein zweites Produkt von der gleichen Zusammensetzung, aber vom Smp. 262—274°, $[\alpha]_D^{21} = +26°$ in Chloroform, gewonnen werden. Die *Legal*-Probe war ebenfalls positiv. Eine eingehendere Untersuchung steht noch aus.

Durch Umsetzung des reinen Maltosid-acetates mit Bariummethylat in Methanol erhielten wir das freie β-Maltosid des $\Delta^{5,6;20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lactons. Aus Methanol-Aceton umkrystallisiert schmolz es bei 260—264° unter Zersetzung, $[\alpha]_D^{20} = +9°$ in Methanol, *Legal*-Probe positiv. Durch vorsichtige saure Hydrolyse konnte das Ausgangslacton zurückgewonnen werden.

Wasserlöslichkeit der beschriebenen Saccharide.

Die Löslichkeit einer Reihe von uns untersuchter Saccharide der Steroide in Wasser von 20° und von 95° ist folgender Tabelle zu entnehmen:

Aglucon	β-d-Glucosid		β-Maltosid	
	bei 20°	bei 95°	bei 20°	bei 95°
$\triangle^{5,6;\,20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lacton	weniger als 0,02‰	weniger als 0,02‰	0,2‰	1‰
Oestradiol	—	—	0,1‰	0,5‰
Desoxy-corticosteron	1,2‰	25‰	6,4‰	über 250‰
Testosteron	2,5‰	8‰	unbeschränkt	unbeschränkt

Erwartungsgemäss erwiesen sich die Maltoside durchwegs bedeutend löslicher als die Glucoside. Auffällig sind dagegen die grossen Unterschiede zwischen den verschiedenen Steroidderivaten. Besonders schwerlöslich sind die Saccharide des untersuchten künstlichen Aglucons; aber auch das Maltosid des Oestradiols zeigt geringe Löslichkeit. Günstiger stehen die Saccharide des Desoxy-corticosterons, besonders in der Siedehitze, da. Ganz besonders sticht die unbeschränkte Wasserlöslichkeit des Testosteron-maltosids, schon bei Zimmertemperatur, hervor. Worauf sich die Unterschiede zurückführen lassen, ist nicht ersichtlich. Jedenfalls besteht kein direkter Zusammenhang mit dem Sauerstoffgehalt der Steroide.

Einwirkung von Licht auf Desoxy-corticosteron-β-d-glucosid.

In wässrigen Lösungen des Desoxy-corticosteron-glucosids entsteht beim Bestrahlen (Sonnen- oder Hg-Licht) sehr bald eine weisse Ausscheidung, die sich bei weiterem Bestrahlen noch vermehrt. Das erhaltene Derivat ist fast unlöslich in Wasser. Durch Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser gereinigt, schmilzt es bei 234—240°, $[\alpha]_D^{18} = +54°$ in Methanol, (ursprüngliches Glucosid: Smp. 190—195°, $[\alpha]_D = +109°$ in Methanol).

Das neue Derivat wurde mit Pyridin-Acetanhydrid kalt acetyliert und ergab nach dem Chromatographieren und Krystallisieren aus kaltem wässerigem Äthanol ein Acetat vom Smp. 145—150°, $[\alpha]_D = +54°$ in Methanol. (Acetat des ursprünglichen Glucosids: Smp. 175—176°, $[\alpha]_D^{18} = +68°$ in Methanol).

Die Analysenwerte beider Produkte weichen fast nicht von denjenigen der entsprechenden Ausgangsstoffe ab.

Wurde das Bestrahlungsprodukt unter Bedingungen hydrolysiert, unter denen das ursprüngliche Glucosid vollständig gespalten wird, so blieb der Hauptteil unverändert und die kleine Menge der erhaltenen Spaltprodukte liess sich nicht umkrystallisieren.

Experimenteller Teil[1]).

1. 17-β-Maltosid des Oestradiols.

4 g 17-(β-Maltosid-heptaacetat)[2]) des Oestradiol-3-monobenzoats wurden zum Verseifen in 200 cm³ trockenem Methanol bei tiefer Temperatur mit 5 cm³ einer methanolischen n. Barium-methylat-Lösung versetzt und 20 Stunden stehen gelassen. Nach dem Abfiltrieren der als Bariumsulfat ausgefällten Bariumionen wurde die Lösung im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Methanol gelöst und mit etwas Wasser versetzt. Das ausgeschiedene und abgenutschte 17-β-Maltosid des Oestradiols wurde aus 50-proz. Methanol umkrystallisiert und schmolz zuletzt bei 272—282° unter Zersetzung. Es bildete schöne Plättchenbüschel. Nach 1½-stündigem Trocknen bei 105° im Hochvakuum enthielt das Maltosid noch 1 Mol Wasser. Aus wasserfreien Lösungsmitteln konnte es nicht krystallin erhalten werden.

3,478 mg Subst. gaben 7,46 mg CO_2 und 2,33 mg H_2O

$C_{30}H_{44}O_{12},H_2O$ Ber. C 58,45 H 7,55%
Gef. „ 58,53 „ 7,50%

$[\alpha]_D^{20} = +52^0 \pm 4^0$ (c = 1,07 in Methanol).

Aufspaltung des Oestradiol-Maltosids.

100 mg des freien Maltosids des Oestradiols wurden in 2 cm³ Äthanol, 10 cm³ Wasser und 2 cm³ 2-n. Salzsäure 3 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Den Alkohol entfernte man im Vakuum und schüttelte die wässrige Suspension mehrmals mit Essigester aus. Nach dem Waschen mit Wasser und Trocknen mit Natriumsulfat wurde die Essigester-Lösung durch 1 g Aluminiumoxyd filtriert und eingeengt. Die ausgeschiedenen Krystalle erwiesen sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe als identisch mit Oestradiol.

2. Maltoside des Testosterons.

a) β-Maltosid-hepta-acetat des Testosterons.

Eine Lösung von 5 g Testosteron in 200 cm³ trockenem Benzol wurde mit 8 g Silbercarbonat versetzt und zum Sieden erhitzt. Während Benzol abdestillierte, liess man unter Rühren langsam eine Lösung von 25 g Acetobrom-maltose in 400 cm³ Benzol zutropfen. Die Silbersalze wurden abgenutscht und gründlich mit Aceton ausgewaschen, worauf man das Filtrat im Vakuum eindampfte. Der Rückstand wurde in 750 cm³ trokkenem Methanol gelöst, bei tiefer Temperatur mit 10 cm³ einer n. Bariummethylat-Lösung in Methanol versetzt und 20 Stunden bei der gleichen Temperatur stehen gelassen. Nach erfolgter Verseifung wurde das Bariumion mit der berechneten Menge Schwefelsäure ausgefällt, das Bariumsulfat abfiltriert und die Lösung im Vakuum eingedampft. Den Rückstand schüttelte man mit Essigester und Wasser aus, wobei das unveränderte Testosteron in die Essigester- und das Maltosid in die wässrige Lösung ging. Die mit Natriumsulfat getrocknete und eingedampfte Essigester-Lösung hinterliess 3,54 g unverändertes Testosteron. Der wässrige Anteil wurde mit der gleichen Menge Äthanol versetzt und mehrmals mit Chloroform extrahiert. Nach dem Eindampfen der Chloroform-Lösung im Vakuum erhielt man 2,7 g rohes Maltosid des Testosterons.

---

[1]) Alle Schmelzpunkte wurden unter dem Mikroskop beobachtet und sind korrigiert.

[2]) *Ch. Meystre* und *K. Miescher*, Helv. **27**, 235 (1944). Die dort angegebene Analyse ist irrtümlich, auch wurde die Drehung in Chloroform, nicht in Methanol entnommen. Die Analyse wiederholten wir mit einem frisch gereinigten Präparat. Schmelzpunkt und Drehung zeigten keine Änderung.

4,808 mg Subst. gaben 10,84 mg CO_2 und 2,79 mg H_2O

$C_{51}H_{62}O_{20}$ Ber. C 61,55 H 6,28%
Gef. „ 61,53 „ 6,49%

Zur Reinigung wurde mit Acetanhydrid in Pyridin reacetyliert, der durch Eindampfen im Vakuum bei 40° erhaltene Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit Salzsäure, Soda und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Aus Äthanol und etwas Wasser krystallisierte langsam das β-Maltosid-heptaacetat des Testosterons in Nadeln aus. Nach dreimaligem Umkrystallisieren schmolz es bei 175—180°.

3,347 mg Subst. gaben 7.31 mg CO_2 und 2,01 mg H_2O

$C_{45}H_{62}O_{19}$ Ber. C 59,59 H 6,89%
Gef. „ 59,60 „ 6,72%

$[\alpha]_D^{19} = +74^0 \pm 4^0$ (c = 0,961 in Methanol)

In Äther ist das Heptaacetat leicht löslich.

b) Freies β-Maltosid des Testosterons.

940 mg reines Maltosid-heptaacetat des Testosterons wurden ähnlich dem Maltosid-heptaacetat des Oestradiol-3-monobenzoats mit Barium-methylat verseift. Den Rückstand der von Bariumionen befreiten und im Vakuum eingedampften Lösung nahm man zweimal in Methanol auf und fällte jeweils mit Äther wieder aus. Das zunächst amorphe freie β-Maltosid des Testosterons konnte aus Methanol-Aceton krystallin erhalten werden. Es schmolz bei 250—255° unter Zersetzung.

4,282 mg Subst. gaben 9,50 mg CO_2 und 3,00 mg H_2O

$C_{31}H_{48}O_{12}$ Ber. C 60,76 H 7,89%
Gef. „ 60,54 „ 7,84%

$[\alpha]_D^{19} = +73^0 \pm 4^0$ (c = 0,992 in Methanol).

Aufspaltung des Testosteron-β-maltosids.

20 mg Maltosid wurden auf dem siedenden Wasserbad ½ Stunde in 2 cm³ 2-n. Salzsäure erhitzt. Beim Abkühlen krystallisierte das gebildete Öl. Die Krystalle wurden abgenutscht und aus Äther-Pentan umkrystallisiert. Sie erwiesen sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe als identisch mit Testosteron.

3. Saccharide des $\Delta^{5,6;20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lactons.

a) β-*d*-Glucosid-tetraacetat.

In unserer Publikation über die Herstellung des Glucosid-tetraacetates wurde die Angabe des Schmelzpunktes unterlassen[1]). Aus Äther-Isopropyläther krystallisierte die Verbindung in zwei verschiedenen Modifikationen. Die eine schmolz bei 177—178°, die andere bei 192—202°. Bei langsamem Erhitzen wandelt sich die tiefer in die höher schmelzende Form um.

b) Freies β-*d*-Glucosid des $\Delta^{5,6;20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lactons.

54 mg Glucosid-tetraacetat wurden in der gewohnten Weise mit Bariummethylatlösung verseift. Nach Umkrystallisieren des von Bariumionen befreiten Rückstandes aus Methanol-Aceton erhielt man das Glucosid des $\Delta^{5,6;20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lactons in farblosen Krystallen, die unscharf zwischen 258 und 272° unter Zersetzung schmolzen. Die *Legal*-Probe war positiv. Das 2 Stunden bei 105° im Hochvakuum getrocknete Glucosid hielt noch 1 Mol Wasser fest.

3,421 mg Subst. gaben 8,16 mg CO_2 und 2,48 mg H_2O

$C_{29}H_{42}O_8$, H_2O Ber. C 64,90 H 8,26%
Gef. „ 65,10 „ 8,11%

$[\alpha]_D^{19} = -50^0 \pm 4^0$ (c = 0,552 in Methanol)

---

[1]) *Ch. Meystre* und *K. Miescher*, loc. cit.

c) β-Maltosid-heptaacetat des $\Delta^{5,6;20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lactons.

Auf 1 g $\Delta^{5,6;20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lacton und 2 g Silbercarbonat in 800 cm³ siedendem Benzol liess man in der beim Testosteron beschriebenen Weise 4,9 g Acetobrom-maltose in 400 cm³ Benzol einwirken. Der Rückstand der eingedampften Lösung wurde in 200 cm³ trockenem Methanol bei tiefer Temperatur mit 5 cm³ einer n. Bariummethylat-Lösung versetzt, die Bariumionen nach erfolgter Verseifung ausgefällt und die Lösung im Vakuum verdampft.

Zur Abtrennung der unumgesetzten Maltose nahm man den Rückstand in 100 cm³ Äthanol auf, versetzte mit 100 cm³ Wasser, extrahierte mehrmals mit Chloroform und dampfte die Chloroform-Lösung im Vakuum ein. Der Rückstand wog 1,77 g und enthielt das freie Maltosid neben nicht umgesetztem Lacton, während unumgesetzte Maltose in der wässrigen Phase blieb. Zur Trennung wurde der Rückstand mit Acetanhydrid in Pyridin behandelt und das reacetylierte Produkt (2,34 g) über 60 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die erhaltenen Benzol-, Äther- und Aceton-Fraktionen (zusammen 1,9 g) wurden einer erneuten chromatographischen Trennung unterzogen. Die Benzolfraktionen sowie den ersten Äther-Anteil krystallisierten wir aus Äthanol um. Die erhaltenen Krystalle (570 mg) schmolzen bei 177—181°. Nochmaliges Umkrystallisieren aus Äthanol führte zu reinem β-Maltosid-hepta-acetat des $\Delta^{5,6;20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lactons vom Smp. 179—181°.

4,799 mg Subst. gaben 10,62 mg CO_2 und 2,90 mg H_2O

$C_{49}H_{66}O_{20}$ Ber. C 60,35 H 6,82%
Gef. „ 60,39 „ 6,76%

$[\alpha]_D^{18} = +27^0 \pm 4^0$ (c = 1,012 in Methanol)

Aus den weiteren Ätherfraktionen (330 mg) des Chromatogramms liess sich eine in den meisten organischen Lösungsmitteln schwer lösliche Substanz isolieren. Aus Dioxan-Äthanol umkrystallisiert schmolz sie unscharf bei 262—274°. Die Analyse zeigte ähnliche Werte wie beim beschriebenen Maltosid-acetat.

3,942 mg Subst. gaben 8,74 mg CO_2 und 2,50 mg H_2O

$C_{49}H_{66}O_{20}$ Ber. C 60,35 H 6,82%
Gef. „ 60,50 „ 7,10%

$[\alpha]_D^{21} = +26^0 \pm 4^0$ (c = 1,020 in Chloroform)

Bei beiden Acetaten verlief die *Legal*-Probe positiv.

d) Freies β-Maltosid des $\Delta^{5,6;20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lactons.

450 mg Maltosid-acetat vom Smp. 179—181° wurden in 100 cm³ trockenem Methanol bei tiefer Temperatur mit 1 cm³ einer methanolischen n. Bariummethylatlösung versetzt und 20 Stunden stehen gelassen. Nach dem Abfiltrieren der als Sulfat ausgefällten Bariumionen dampfte man die Lösung ein und behandelte den Rückstand mit Äthanol-Aceton. Das zunächst amorphe Produkt liess sich schliesslich aus Methanol-Aceton krystallin erhalten. Das derart gewonnene freie β-Maltosid schmolz bei 260—264° unter Zersetzung. Nach 2-stündigem Trocknen bei 105° im Hochvakuum enthielt es noch 1 Mol Wasser.

3,430 mg Subst. gaben 7,58 mg CO_2 und 2,38 mg H_2O

$C_{35}H_{52}O_{13}, H_2O$ Ber. C 60,15 H 7,78%
Gef. „ 60,32 „ 7,78%

$[\alpha]_D^{20} = +9 \pm 4^0$ (c = 0,990 in Methanol)

Die *Legal*-Probe war positiv.

Aufspaltung des freien Maltosids.

50 mg des freien Maltosids wurden 3 Stunden auf dem Wasserbad mit 2 cm³ Methanol, 5 cm³ Wasser und 1 cm³ 2-n. Salzsäure erhitzt. Nach dem Entfernen des Methanols im Vakuum wurde die wässrige Suspension abfiltriert und der getrocknete Rückstand in Aceton-lösung durch 600 mg Aluminiumoxyd filtriert. Die beim Einengen der Acetonlösung erhaltenen Krystalle erwiesen sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe als identisch mit dem $\Delta^{5,6;20,22}$-3,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lacton.

Einwirkung von Licht auf Desoxy-corticosteron-β-*d*-glucosid.

a) Belichtungsprodukt.

Eine Lösung von 2 g Desoxy-corticosteron-glucosid in Wasser wurde während zwei Wochen dem Sonnenlicht ausgesetzt. Es entstand eine farblose amorphe Fällung. Sie wurde abgenutscht und aus Methanol-Wasser zweimal umkrystallisiert. Das gallertartige und hygroskopische Produkt schmolz nach Trocknung bei 100° im Hochvakuum bei 234—240°. Die Analyse zeigte mit Desoxy-corticosteron-glucosid übereinstimmende Werte.

5,342 mg Subst. gaben 12,84 mg CO_2 und 3,95 mg H_2O

$C_{27}H_{40}O_8$ Ber. C 65,82 H 8,18%
Gef. „ 65,60 „ 8,27%

$[\alpha]_D^{18} = +54^0 \pm 4^0$ (c = 1,019 in Methanol)

b) Acetat des Belichtungsproduktes.

400 mg des wasserunlöslichen Produktes wurden mit 3 cm³ Pyridin und 2 cm³ Acetanhydrid 20 Stunden stehen gelassen. Den Rückstand der bei 40° im Vakuum eingedampften Lösung löste man in Äther, wusch mit 2-n.Salzsäure und Wasser, trocknete mit Natriumsulfat, vertrieb das Lösungsmittel und chromatographierte über 12 g Aluminiumoxyd. Die Benzol-Pentan-, sowie die Benzol-Fraktionen wurden vernachlässigt. Die Äther- und Aceton-Fraktionen gaben dagegen 210 mg einer Verbindung, die aus Äthanol unter Zusatz von etwas Wasser beim starken Abkühlen krystallin ausfiel. Nach zweimaligem Umkrystallisieren schmolz sie bei 145—150°.

Die Analyse gab mit dem Acetat des Desoxy-corticosteron-glucosids übereinstimmende Werte.

4,919 mg Subst. gaben 11,41 mg CO_2 und 3,21 mg H_2O

$C_{35}H_{48}O_{12}$ Ber. C 63,61 H 7,32%
Gef. „ 63,30 „ 7,30%

$[\alpha]_D^{25} = +54^0 \pm 4^0$ (c = 1,000 in Methanol)

Versuch zur Aufspaltung des Belichtungsproduktes.

500 mg des wasserunlöslichen Belichtungsproduktes wurden in 20 cm³ Äthanol, 50 cm³ Wasser und 10 cm³ 2-n. Salzsäure 3 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Das Äthanol dampfte man hierauf im Vakuum ein und schüttelte die wässrige Suspension mit Äther mehrere Male aus. Die Ätherlösungen wurden dann mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog nur 80 mg und bildete ein unkrystallisierbares Öl. Die Hauptmenge des wasserunlöslichen Belichtungsproduktes liess sich unverändert aus der wässrigen Suspension zurückgewinnen.

Die Analysen wurden unter der Leitung von Hrn. Dr. *Gysel* in unserem mikroanalytischen Laboratorium ausgeführt.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba*, Basel,
Pharmazeutische Abteilung.

136. Die Wirkung von Oestron auf die Zitze des weiblichen Meerschweinchens

von W. Jadassohn, H. E. Fierz und E. Pfanner.

(29. VI. 44.)

1943 haben wir[1]) zusammenfassend über unsere seit 1936 durchgeführten Untersuchungen berichtet, die sich mit der Wirkung von Sexualhormonen auf die Zitze und Brustdrüse des Meerschweinchens beschäftigen.

Wir haben die Länge der Zitzen unter sehr verschiedenen Versuchsbedingungen messend verfolgt. (*Nipple*-Test). Die Versuche wurden in erster Linie bei männlichen Meerschweinchen durchgeführt; es wurden aber auch kastrierte Männchen untersucht und das Zitzenwachstum bei Weibchen während und nach einer Schwangerschaft gemessen.

Über den *Nipple*-Test bei weiblichen, nicht schwangeren Tieren hatten wir nur eine Versuchsreihe durchgeführt. Wir haben damals folgendes geschrieben:

„Auf 20 Zitzen von weiblichen Tieren haben wir täglich eine Oestronlösung aufgetropft, die 0,1 γ/cm^3 enthielt. Wir erhielten einen 30-Tagewert von 5,1 $\pm$ 0,51. (Längenzuwachs der Zitze am 30. Tag. Die Zahlen sind willkürlich, durch die Messmethode bedingt.) Es ist sehr auffallend, dass dieser Wert niedriger ist als der bei gleichzeitig behandelten männlichen Tieren erzielte, der 5,78 $\pm$ 0,58 betrug, während kastrierte Männchen eine Zitzenlänge von 6,53 $\pm$ 0,31 aufwiesen. Bevor wir Überlegungen darüber anstellen, woher es kommen kann, dass die Zitzen weiblicher Tiere sich im mit Oestron durchgeführten lokalen *Nipple*-Test weniger vergrössern als die Zitzen männlicher Tiere, wollen wir uns ein grösseres Versuchsmaterial beschaffen."

Dies ist jetzt geschehen. Die Resultate seien hier kurz mitgeteilt. Unsere Versuche, die in der Tabelle zusammengestellt sind, wurden bei 121 weiblichen Meerschweinchen durchgeführt, die bei Versuchsbeginn ein Gewicht von 250 bis 350 g aufwiesen. In der Tabelle sind die Zitzenzuwachswerte, die bei weiblichen Tieren mit verschieden konzentrierten Oestronlösungen erzielt wurden, denjenigen gegenübergestellt, die bei entsprechend behandelten Männchen früher festgestellt worden waren.

---

[1]) *W. Jadassohn* und *H. E. Fierz*, Vjschr. Naturf. Ges. Zürich, Beiheft 1, März 1943.

Tabelle.

Behandlung	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
	$M \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2{,}6$	$M \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2{,}6$	$M \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2{,}6$	$M \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2{,}6$	$M \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2{,}6$	$M \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2{,}6$
γ Oestron/cm³						
0					1,53 ± 0,69	0,23 ± 0,15
0,005	1,33 ± 0,22	0,82* ± 0,13	2,20 ± 0,43	1,47* ± 0,23	3,38 ± 0,45	2,40* ± 0,29
0,005	1,55 ± 0,35		1,95 ± 0,35		2,53 ± 0,37	
0,02	1,80 ± 0,34	1,70* ± 0,24	2,48 ± 0,43	2,92* ± 0,28	3,28 ± 0,41	3,80* ± 0,37
0,05	2,00 ± 0,30	2,00 ± 0,32	3,42 ± 0,41	3,64 ± 0,32	4,75 ± 0,64	4,97 ± 0,45
0,05		2,22* ± 0,32		4,12* ± 0,42		5,54* ± 0,49
0,1	1,85 ± 0,21		3,50 ± 0,28		5,10 ± 0,51	5,78 ± 0,58
0,2	2,85 ± 0,33	2,45* ± 0,29	4,25 ± 0,32	4,65* ± 0,32	5,00 ± 0,38	6,38* ± 0,34
0,2	3,25 ± 0,31		5,55 ± 0,57		6,50 ± 0,55	
0,5	2,83 ± 0,29	3,08 ± 0,35	5,80 ± 0,37	5,78 ± 0,33	7,10 ± 0,50	6,83 ± 0,38
0,5		2,92* ± 0,31		5,82* ± 0,36		7,62* ± 0,52
1	3,40 ± 0,28		5,78 ± 0,54	5,98* ± 0,38	6,65 ± 0,85	7,40* ± 0,37
2	3,48 ± 0,46	3,18 ± 0,33	5,00 ± 0,53	5,25 ± 0,42	5,85 ± 0,41	7,05 ± 0,48
2		3,45* ± 0,38		5,95* ± 0,40		7,40* ± 0,39
5	3,36 ± 0,42	2,70 ± 0,58	4,86 ± 0,33	3,95 ± 0,62	5,64 ± 0,46	5,40 ± 0,82

Sämtliche Substanzen wurden in Aceton und Wasser $\overline{aa}$ gelöst appliziert, mit Ausnahme der mit * bezeichneten. Diese wurden in Wasser gelöst, dem pro 0,005 γ Oestron 4 γ Aceton und 0,5 γ Igepon zugesetzt war.

M = arithmetischer Mittelwert der Zuwachswerte. (Unter Zuwachs verstehen wir die Differenz zwischen der während des Versuches gemessenen Zitzenlänge und der vor Versuchsbeginn bestimmten Zitzenlänge.)

$\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$ = mittlerer Fehler von M.

Während bei unbehandelten Männchen die Zitzen während 30 Tagen nicht sicher an Länge zunehmen, finden wir bei den weiblichen unbehandelten Zitzen eine einwandfreie Zunahme. Es ist naheliegend, diese Zitzenvergrösserung unbehandelter weiblicher Tiere auf das von ihnen selbst produzierte weibliche Sexualhormon zurückzuführen. Nach dieser Feststellung würde man erwarten, dass die Zitzen der mit Oestron lokal behandelten Weibchen eine stärkere Längenzunahme aufweisen als die männlichen Tiere, da man denken sollte, dass sich zu dem lokal applizierten Oestron noch das von den Tieren selbst produzierte weibliche Sexualhormon hinzuaddiert, abgesehen davon, dass hier die Hemmung durch die Hoden wegfällt (s. w. u.).

Unsere Versuche zeigen nun aber, dass sämtliche 30-Tagewerte der mit Oestron behandelten Tiere (abgesehen von denjenigen, denen die kleinste Oestronkonzentration verabfolgt wurde), nicht höher sind als die der analog behandelten Männchen. Die behandelten Zitzen der weiblichen Tiere sind sogar meist noch etwas kleiner als die der Männchen.

Zweck dieser Mitteilung ist es, diese Tatsache zu registrieren. Wir haben früher mitgeteilt, dass durch die Hoden das durch Oestronapplikation bedingte Zitzenwachstum etwas gebremst wird. Kastrierte, mit Oestron lokal behandelte Männchen haben etwas grössere Zitzen als nicht kastrierte. Es ist nach unseren früheren Versuchen wahrscheinlich, dass es das von den Hoden produzierte Sexualhormon ist, das für das etwas weniger gute Ansprechen der Zitzen der nicht kastrierten Männchen auf Oestron verantwortlich gemacht werden muss. Es ist naheliegend, daran zu denken, dass bei den Weibchen ein ähnlicher hemmender Mechanismus besteht. Es muss aber angenommen werden, dass dieser hemmende Mechanismus durch die Oestronapplikation stimuliert wird, denn sonst dürften die unbehandelten und mit der kleinsten Oestrondosis behandelten Zitzen der Weibchen nicht grösser sein als die der entsprechenden Männchen. Aus manchen Gründen ist es naheliegend, daran zu denken, dass es das von der Hypophyse gesteuerte Corpus luteum ist, das beim Weibchen die Oestronwirkung auf die Zitze hemmt.

Von Wattenwyl[1]) hat allerdings angegeben, dass Progesteron die Zitzenwirkung verstärkt. Er arbeitet aber mit so hohen (unphysiologischen) Dosen (25—50 mg Oestron und 100—300 mg Progesteron für ein Meerschweinchen), dass diese Versuche nicht ohne weiteres gegen die oben erwähnte Hypothese angeführt werden können. Dies um so mehr, weil bei den hohen *von Wattenwyl*'schen Dosierungen statt der von uns festgestellten oestronhemmenden Wirkung von Testosteron-propionat durch diese Substanz eine Verstärkung des Zitzenwachstums erzielt wurde.

Wir müssen aber betonen, dass die Erklärung unserer Resultate durch Progesteron nur eine Hypothese ist. Ob sie zutrifft, werden unter Umständen weitere Versuche zeigen. Was heute feststeht ist folgendes: Oestron bewirkt beim Weibchen, auf die Zitzen aufgetropft, keine stärkere Zitzenvergrösserung als beim Männchen, trotzdem beim unbehandelten Weibchen die Zitzen sich, im Gegensatz zu den Männchen, vergrössern.

Zürich, Biochemisches Laboratorium des Technisch-chemischen Institutes der Eidg. Technischen Hochschule.

---

[1]) *von Wattenwyl*, Tierexperimentelle Untersuchungen über die Wirkung langdauernder Follikelhormonapplikation und die hormonale Tumorentstehung. Verlag Benno Schwabe & Co., Basel, 1944.

137. Über Steroide und Sexualhormone.

(101. Mitteilung [1])).

Über die $\Delta^{5,16}$-3β-Oxy-ätiocholadiensäure und einige ihrer Umwandlungsprodukte

von L. Ruzicka, E. Hardegger und C. Kauter.

(29. VI. 44.)

Als Ausgangsmaterial für die vorliegende Untersuchung benötigten wir eine grössere Menge $\Delta^{5,16}$-3β-Oxy-ätiocholadiensäure (IIa). Diese zweifach ungesättigte Oxy-säure ist durch Verseifung des $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-17-cyan-androstadiens (I) mit wässerig-methanolischer Lauge zugänglich [2]) [3]). Kürzlich wurde übrigens die Oxysäure (IIa) auch bei der Oxydation von $\Delta^{5,16}$-Pregnadien-3β-ol-20-on mit Hypojodit erhalten [4]).

Die Verseifung des Nitrils (I) verläuft, wie auch aus den Angaben der Patentliteratur [3]) hervorgeht, wenig einheitlich. Die gesuchte Oxy-säure (IIa) entstand unter den besten, im Versuchsteil angegebenen Bedingungen, nur in etwa 40-proz. Ausbeute. Sie wurde zweckmässig als Acetoxy-säure (IIc) ($C_{22}H_{30}O_4$) aus dem Gemisch der sauren Verseifungsprodukte abgetrennt. Die durch verschiedene Derivate charakterisierte Oxy-säure (IIa) zeigt das für α,β-ungesättigte Carbonsäuren charakteristische U.V.-Absorptionsspektrum (λ max. 230 mμ, log ε = 4,1).

Aus den bei der Verseifung des Nitrils (I) in grosser Menge anfallenden Nebenprodukten liess sich nach der Acetylierung relativ leicht und in krystallisierter Form eine bei 217—218° schmelzende Acetoxy-säure der Zusammensetzung $C_{23}H_{34}O_5$ isolieren. Nach Behandlung der daneben entstandenen amorphen Produkte mit Diazomethan konnte ein Pyrazolin-Derivat (XId) in geringer Menge erhalten werden. Die letztere Verbindung ist wahrscheinlich mit einem als „Δ^5-3,17-Diacetoxy-ätiocholen-17-carbonsäure-methylester" beschriebenen [3]) Präparat, welches ebenfalls bei der Einwirkung von Diazomethan auf die acetylierten Verseifungsprodukte des Nitrils (I) erhalten wurde, identisch.

Die Acetoxy-säure $C_{23}H_{34}O_5$ vom Smp. 217—218° zeigte im U.V.-Absorptionsspektrum zwischen 220 mμ und 240 mμ keine selektive Bande. Das Präparat enthält demnach, im Gegensatz zur Acetoxy-säure (IIc), keine zur Carboxyl-Gruppe konjugierte Doppelbindung. Die Methoxyl-Bestimmung nach *Zeisel* ergab die Anwesenheit einer Methoxy-Gruppe. Die Überführung der Acetoxy-methoxy-säure $C_{23}H_{34}O_5$ in die α,β-ungesättigte Acetoxy-säure (IIc) bei der Destillation im Wasserstrahlvakuum weist auf das Vorliegen einer β-Methoxy-carbonsäure hin. Die Acetoxy-methoxy-säure $C_{23}H_{34}O_5$

---

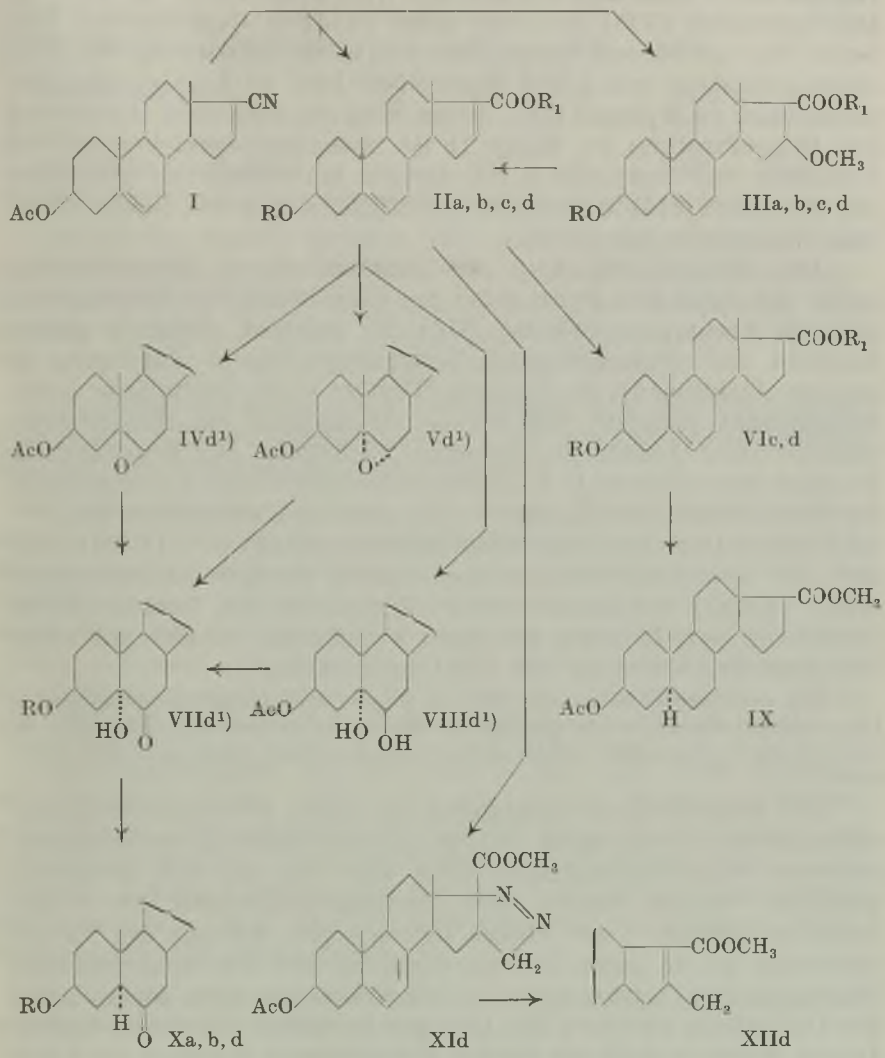
[1]) 100. Mitt. Helv. **27**, 1149 (1944).

[2]) *A. Butenandt* und *J. Schmidt-Thomé*, B. **71**, 1487 (1938); Schwz. P. 223773, F. P. 871942.

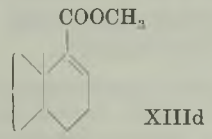
[3]) D. R. P. Anmeldg. Sch 117182.

[4]) *R. E. Marker* und *R. B. Wagner*, B. C. A. **1943**, A II, 14.

ist somit wahrscheinlich als Δ^5-3β-Acetoxy-16-methoxy-ätiocholensäure (IIIc) zu bezeichnen, wobei keine Aussagen über die sterischen Verhältnisse an den C-Atomen 16 und 17 gemacht werden können.



Die Indices a, b, c, d bedeuten:
a: R = H, R_1 = H
b: R = H, R_1 = CH_3
c: R = CH_3CO, R_1 = H
d: R = CH_3CO, R_1 = CH_3



[1]) Vgl. weiter unten über die Ungewissheit der Konfiguration an den Atomen 5 und 6 bei IV, V, VII und VIII.

Bei der katalytischen Hydrierung der Acetoxy-säure (IIc) und des Acetoxy-methylesters (IId) mit Platinoxyd in Eisessig entstanden unter Aufnahme von je 1 Mol Wasserstoff die Δ^5-3β-Acetoxy-ätiocholensäure (VIc) bzw. der Ester (VId) in quantitativer Ausbeute. Nur bei höherer Temperatur führte die Hydrierung von (IId) unter Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff zum 3β-Acetoxy-allo-ätiocholansäure-methylester (IX). Dieser Weg zur selektiven Hydrierung der Doppelbindung im Ringe D ist bedeutend einfacher, als die Vorschrift von *Butenandt* (l. c.), der die schwerlöslichen Alkalisalze der Oxy-säure (IIa) in alkalisch-wässeriger Lösung mit *Raney*-Nickel und Wasserstoff behandelt.

Die Reaktionsfähigkeit der 16,17-ständigen Doppelbindung zeigte sich besonders deutlich bei der Einwirkung von Diazomethan auf den Acetoxy-methylester (IId). Es entstand dabei in glatter Reaktion eine stickstoffhaltige Verbindung. Das in Anlehnung an analoge Reaktionen[1]) als Pyrazolin-Derivat (XId) formulierte Reaktionsprodukt zersetzte sich bei der Destillation im Wasserstrahlvakuum unter Abgabe des gesamten Stickstoffs. Das krystallisierte Destillat erwies sich im U.V.-Absorptionsspektrum als α, β-ungesättigter Ester (λ max. 233 mμ, log $\varepsilon = 4{,}1$), dem die Konstitution des $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-16-methyl-ätiocholadiensäure-methylesters (XIId) oder des $\Delta^{5,17}$-3β-Acetoxy-D-homo-androstadien-17a-carbonsäure-methylesters (XIIId) zukommen dürfte. Zugunsten der Formel (XIId) spricht die spez. Drehung der neuen Verbindung, die sich nur wenig von jener des Acetoxy-esters (IId) unterscheidet.

Eine aus dem Oxy-methylester (IIb) bei längerer Einwirkung von überschüssigem Diazomethan erhaltene, stickstoffhaltige Verbindung der Bruttoformel $C_{23}H_{34}O_3N_2$, die demnach zwei C-Atome mehr enthält als das Ausgangsmaterial, wurde nicht näher untersucht.

Mit Benzopersäure entstanden aus dem $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-ätiocholadiensäure-methylester (IId) zu gleichen Teilen die beiden stereoisomeren Oxido-Verbindungen (IVd und Vd), die sich chromatographisch trennen liessen. Der Drehungsunterschied der beiden Isomeren beträgt -49^0. Dieser Betrag steht, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, in guter Übereinstimmung mit den entsprechenden Werten bei den Oxyden des trans-Dehydro-androsteron-acetats[2]) und des Cholesterin-acetats[3]). In Analogie zu diesen 5,6-Oxido-Verbindungen wurde deshalb die stärker linksdrehende Substanz als α-5,6-Oxido-ester (Vd) und das andere Präparat als β-5,6-Oxido-ester (IVd) bezeichnet[4]).

---

[1]) *K. v. Auvers* und *O. Ungemach*, B. **66**, 1205 (1933); *K. v. Auwers* und *F. König*, A. **496**, 27 (1932).

[2]) *L. Ruzicka* und *A. C. Muhr*, Helv. **27**, 503 (1944).

[3]) *Pl. A. Plattner*, *Th. Petrzilka* und *W. Lang*, Helv. **27**, 513 (1944).

[4]) Zur Bezeichnung α- und β-, sowie zur vorläufig (aber willkürlich) gewählten Projektionsformel, vgl. Helv. **27**, 514 Anm. 2 (1944).

5,6-Oxido-Verbindungen von	$[\alpha]_D$ in Chloroform			$[M]_D$ [1])
	α-Oxyd	β-Oxyd	(α – β)	(α – β)
trans-Dehydro-androsteron-acetat . .	– 11°	+ 47°	– 58°	– 201°
Cholesterin-acetat	– 46,2°	– 0,7°	– 45,5°	– 199°
$\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-ätio-choladiensäure-methylester	– 56°	– 7°	– 49°	– 190°

Neben den beiden Oxyden (IVd und Vd) fanden wir in dem Umsetzungsprodukt des Acetoxy-esters (IId) noch das 3β-Acetoxy-5,6-trans-diol[2]) (VIIId) und eine nicht weiter untersuchte Verbindung $C_{23}H_{32}O_6$. Letztere weist gegenüber den Oxyden (IVd und Vd) einen um 1 Atom höheren Sauerstoffgehalt auf.

Die beiden isomeren Oxido-Verbindungen (IVd und Vd) wurden, ebenso wie das Acetoxy-diol (VIIId), mit Chromsäure in Eisessig zum gleichen Oxy-keton[3]) (VIId) oxydiert.

In Vorversuchen an dem aus Δ^5-3β-Acetoxy-ätiocholensäure-methylester (VId) leicht zugänglichen[4]) 3β-Acetoxy-5-oxy-6-keto-allo(?)-ätiocholansäure-methylester[3]) wurde festgestellt, dass sich die Oxy-Gruppe am C-Atom 5 mit Bromwasserstoff-Eisessig und Zink durch Wasserstoff ersetzen lässt. Aus dem ungesättigten Oxyketon (VIId) entstand auf diese Weise der Δ^{16}-3β-Acetoxy-6-keto-allo-ätiocholensäure-methylester (Xd), der bei der Einwirkung von Alkali zur Δ^{16}-3β-Oxy-6-keto-allo-ätiocholensäure (Xa) verseift wurde.

Die Zugehörigkeit der Keto-säure (Xa) und ihrer Derivate zur Allo-cholan-Reihe ergibt sich mit grosser Wahrscheinlichkeit aus früheren Untersuchungen[5]) über die Oxydationsprodukte der Hyo-desoxy-cholsäure. Die dabei erhaltenen, der Cholan-Reihe angehörenden 6-Keto-Verbindungen lagerten sich bei der Behandlung mit verdünntem Alkali oder mit Mineralsäure in die stabilen 6-Keto-Derivate der Allo-cholan-Reihe um.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

---

[1]) $[M]_D = \frac{[\alpha]_D \cdot M}{100}$; vgl. dazu *H. Landolt*, Das optische Drehungsvermögen, Braunschweig, 1898, 2. Aufl., S. 6.

[2]) Für die Hydroxyle in 5,6 ist aus Analogiegründen trans-Stellung anzunehmen. Dagegen ist ungewiss, ob ein Cholan- oder Allo-cholan-Derivat vorliegt.

[3]) Auch in diesem Falle ist die Konfiguration am C 5 ungewiss.

[4]) Vgl. eine spätere Mitteilung.

[5]) *A. Windaus* und *A. Bohne*, A. **433**, 278 (1923); *A. Wieland* und *E. Dane*, Z. physiol. Ch. **212**, 41 (1932).

Experimenteller Teil[1]).

Alkalische Verseifung von $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-17-cyan-androstadien (I).

28 g reines Acetoxy-nitril (I)[2]), 140 g Natriumhydroxyd, 500 cm³ Methanol und 450 cm³ Wasser wurden im Autoklaven unter Stickstoff (90—100 Atm. N_2 bei 20°) 15 Stunden auf 165° erhitzt (ca. 160 Atm.). Die Reaktionsprodukte wurden nach dem Ansäuern mit 4-n. Schwefelsäure in 3 Liter Essigester aufgenommen. Der mit Wasser gewaschenen Essigester-Lösung entzog man die sauren Anteile (20 g) mit 1-n. Kaliumcarbonat. Die im Essigester zurückgebliebenen stickstoffhaltigen Neutralkörper (6 g) gaben — erneut wie oben verseift — nochmals 3 g saure Produkte.

Die vereinigten Roh-Säuren (23 g) wurden in 60 cm³ Acetanhydrid und 8 cm³ Pyridin 90 Minuten unter Rückfluss gekocht. Aus den acetylierten Rohsäuren konnten durch mehrfaches Umkrystallisieren aus Essigester 12 g reine $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-ätiocholadiensäure (IIc) in filzigen Nadeln vom Smp. 255° abgetrennt werden. Zur Analyse wurde die Säure 24 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D = -50^0 \text{ (c = 0,91 in Chloroform)}$$

3,732 mg Subst. gaben 10,087 mg CO_2 und 2,837 mg H_2O

$C_{22}H_{30}O_4$	Ber. C 73,71	H 8,44%	
	Gef. „ 73,76	„ 8,51%	

Aus den Mutterlaugen krystallisierten nach mehreren Wochen noch 0,7 g Δ^5-3β-Acetoxy-16-methoxy-ätiocholensäure (IIIc). Aus Aceton krystallisierte die Acetoxy-methoxy-säure (IIIc) in langen Nadeln vom Smp. 217—218°. Zur Analyse wurde das Präparat 8 Stunden bei 100° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D = -68^0 \text{ (c = 1,26 in Chloroform)}$$

4,011 mg Subst. gaben 10,41 mg CO_2 und 3,14 mg H_2O

$C_{23}H_{34}O_5$	Ber. C 70,74	H 8,78%
	Gef. „ 70,83	„ 8,76%

Die aus Essigester nicht krystallisierbaren Anteile (12 g) der acetylierten Roh-Säuren wurden mit Diazomethan behandelt und an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Äther 1 : 1 eluierten Fraktionen krystallisierten in Blättchen vom Smp. 159—161°. Zur Analyse wurde der Δ^5-3β-Acetoxy-16-methoxy-ätiocholensäure-methylester (IIId) 8 Stunden bei 100° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D = -58^0 \text{ (c = 1,21 in Chloroform)}$$

4,040 mg Subst. gaben 10,56 mg CO_2 und 3,2 mg H_2O
3,182 mg Subst. verbrauchten 4,715 cm³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$

$C_{24}H_{36}O_5$	Ber. C 71,25	H 8,97	OCH_3 15,34%
	Gef. „ 71,33	„ 8,86	„ 15,32%

Aus den Fraktionen, welche mit Chloroform-Äther (1 : 4) vom Aluminiumoxyd abgelöst wurden, erhielt man aus wässerigem Aceton 30 mg körnige Krystalle vom Smp. 212—214° (Zers.). Das Pyrazolin-Derivat (XId) wurde zur Analyse 20 Stunden bei 140° im Hochvakuum getrocknet.

3,875 mg Subst. gaben 9,856 mg CO_2 und 2,870 mg H_2O
3,392 mg Subst. gaben 0,210 cm³ N_2 (22°, 724 mm)

$C_{24}H_{34}O_4N_2$	Ber. C 69,53	H 8,28	N 6,76%
	Gef. „ 69,41	„ 8,29	„ 6,82%

---

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.
[2]) Smp. 210°, $[\alpha]_D = -68^0$ (c = 1,20 in Chloroform).

Derivate der $\Delta^{5,16}$-3β-Oxy-ätiocholadiensäure (IIa).

Aus 2,5 g Acetat (IIc) vom Smp. 255° erhielt man die freie Oxy-säure (IIa) in quantitativer Ausbeute durch 15-stündiges Kochen mit 2,5 g Kaliumcarbonat, 70 cm³ Dioxan und 35 cm³ Wasser. Die Oxy-säure (IIa) schmolz nach dem Umkrystallisieren aus Essigester oder Dioxan bei 248—250°. Zur Analyse wurde das Präparat bei 180° im Hochvakuum sublimiert, wobei der Smp. auf 240° sank.

$[\alpha]_D = -40^0$ (c = 0,33 in Methanol)

3,780 mg Subst. gaben 10,510 mg CO_2 und 3,009 mg H_2O

$C_{20}H_{28}O_3$ Ber. C 75,91 H 8,92%
Gef. „ 75,88 „ 8,91%

Methylester (IIb). Das Präparat wurde aus der in Essigester gelösten Oxy-säure (IIa) mit der berechneten Menge Diazomethan erhalten. Aus Aceton krystallisierte der Methylester (IIb) in Nadeln vom Smp. 160—161°, die zur Analyse bei 130° im Hochvakuum sublimiert wurden.

$[\alpha]_D = -50^0$ (c = 0,90 in Chloroform)

3,982 mg Subst. gaben 11,12 mg CO_2 und 3,29 mg H_2O

$C_{21}H_{30}O_3$ Ber. C 76,32 H 9,15%
Gef. „ 76,21 „ 9,25%

Acetoxy-methylester (IId). Das Präparat wurde aus der Acetoxy-säure (IIc) mit der berechneten Menge Diazomethan in Äther hergestellt. Es krystallisierte aus Aceton in Platten vom Smp. 152—153°, die zur Analyse 50 Stunden bei 105° im Hochvakuum getrocknet wurden.

$[\alpha]_D = -69^0$ (c = 1,16 in Chloroform)

3,720 mg Subst. gaben 10,099 mg CO_2 und 2,91 mg H_2O

$C_{23}H_{32}O_4$ Ber. C 74,16 H 8,66%
Gef. „ 74,09 „ 8,75%

Pyrazolin (XId). Die Verbindung entstand aus dem Acetoxy-methylester (IId) mit überschüssigem Diazomethan bei Zimmertemperatur schon nach 1 Stunde in grösserer Menge. Nach dem Auskrystallisieren des Acetoxy-methylesters (IId) blieb das Pyrazolin in den Mutterlaugen. Man erhielt es daraus in langen, feinen Nädelchen, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Aceton bei 222—223° (Zers.)[1]) schmolzen, und die zur Analyse 8 Stunden bei 140° im Hochvakuum getrocknet wurden.

$[\alpha]_D = +112^0$ (c = 0,81 in Chloroform)

3,729 mg Subst. gaben 9,474 mg CO_2 und 2,788 mg H_2O
3,590 mg Subst. gaben 0,223 cm³ N_2 (22°, 724 mm)

$C_{24}H_{34}O_4N_2$ Ber. C 69,53 H 8,28 N 6,76%
Gef. „ 69,33 „ 8,37 „ 6,85%

Homo-acetoxy-methylester (XIId). Das Pyrazolin (XId) wurde im Kugelrohr bei 10 mm Hg über freier Flamme destilliert. Das fast farblose Destillat krystallisierte aus Aceton in Blättchen vom Smp. 176—177°. Zur Analyse wurde das stickstoffreie Präparat 8 Stunden bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = -64^0$ (c = 0,84 in Chloroform)

3,750 mg Subst. gaben 10,244 mg CO_2 und 3,008 mg H_2O

$C_{24}H_{34}O_4$ Ber. C 74,57 H 8,87%
Gef. „ 74,55 „ 8,97%

Aus dem Oxy-ester (IIb) entstand bei 15-stündigem Stehen mit überschüssigem Diazomethan ein stickstoffhaltiges Präparat, das nach dem Umkrystallisieren aus Benzol

[1]) Der Zersetzungspunkt ist stark von der Geschwindigkeit des Erhitzens abhängig.

bei 173—174° schmolz. Die Substanz wurde zur Analyse 8 Stunden bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

2,057 mg Subst. gaben 5,401 mg CO_2 und 1,604 mg H_2O
3,211 mg Subst. gaben 0,205 cm³ N_2 (17°, 723 mm)
5,705 mg Subst. verbrauchten 4,507 cm³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$

$C_{23}H_{34}O_3N_2$ Ber. C 71,47 H 8,87 N 7,26 OCH_3 8,03%
Gef. „ 71,65 „ 8,73 „ 7,15 „ 8,17%

Derivate der Δ^5-3β-Oxy-16-methoxy-ätiocholensäure (IIIa).

Die freie Oxy-säure (IIIa) wurde erhalten, indem man 100 mg reinen Acetoxy-säure-methylester (IIIc) (siehe unten) vom Smp. 160—161° mit 200 mg Natriumhydroxyd, 3 cm³ Methanol und 0,5 cm³ Wasser 90 Minuten unter Rückfluss kochte. Aus Dioxan erhielt man die Oxy-säure (IIIa) in Krystallen vom Smp. 295—296°. Das Analysenpräparat wurde 8 Stunden bei 140° im Hochvakuum getrocknet.

3,505 mg Subst. gaben 9,299 mg CO_2 und 2,894 mg H_2O

$C_{21}H_{32}O_4$ Ber. C 72,38 H 9,26%
Gef. „ 72,40 „ 9,24%

Von einer Bestimmung der spez. Drehung wurde wegen der ungenügenden Löslichkeit der Oxy-säure — die Verbindung ist nur in heissem Methanol und Dioxan löslich — abgesehen.

Methylester (IIIb). 70 mg Oxy-säure (IIIa) vom Smp. 294—296° wurden in 30 cm³ heissem Methanol gelöst und nach dem Erkalten tropfenweise mit der berechneten Menge einer ätherischen Diazomethanlösung versetzt. Der Methylester krystallisierte aus Essigester in feinen Nadeln vom Smp. 176—177°. Zur Analyse wurde das Präparat 8 Stunden bei 120° und 0,01 mm Hg getrocknet.

$[\alpha]_D = -54°$ (c = 1,38 in Chloroform)

3,614 mg Subst. gaben 9,661 mg CO_2 und 3,050 mg H_2O

$C_{22}H_{34}O_4$ Ber. C 72,89 H 9,46%
Gef. „ 72,95 „ 9,44%

Acetoxy-methylester (IIId). 100 mg reine, in 5 cm³ Essigester gelöste Acetoxy-säure (IIIc) wurden tropfenweise bis zur Gelbfärbung mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Der Acetoxy-methylester krystallisierte aus Aceton in Blättchen vom Smp. 159—161°. Er war nach Schmelzpunkt, Mischprobe und spez. Drehung mit dem als Nebenprodukt bei der Verseifung von $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-17-cyan-androstadien (I) erhaltenen Präparat identisch.

$\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-ätiocholadiensäure (IIc) aus Δ^5-3β-Acetoxy-16-methoxy-ätiocholensäure (IIIc).

90 mg reine Acetoxy-methoxy-säure (IIIc) vom Smp. 218° wurden in Gegenwart von 50 mg Naturkupfer C mehrmals bei 280—300° und 14 mm Hg destilliert. Das glasige Destillat nahm man in Äther auf, wusch je dreimal mit 1-n. Kaliumcarbonat und Wasser, trocknete die ätherische Lösung mit Natriumsulfat und dampfte ein. Das aus den alkalischen Auszügen isolierte und aus Aceton oder Essigester umkrystallisierte Präparat (IIc) schmolz bei 250—255°. Es wurde zur Analyse 6 Stunden bei 130° im Hochvakuum getrocknet.

3,645 mg Subst. gaben 9,816 mg CO_2 und 2,742 mg H_2O

$C_{22}H_{30}O_4$ Ber. C 73,71 H 8,44%
Gef. „ 73,50 „ 8,41%

Die Mischprobe mit $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-ätiocholadiensäure (IIc) zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung.

Partielle Hydrierung der $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-ätiocholadiensäure (IIc).

100 mg Acetoxy-dien-säure (IIc) wurden in 7,5 cm³ Eisessig in Gegenwart von Platin aus 20 mg Platinoxyd katalytisch hydriert. Nach 1 Stunde und nach der Aufnahme von 7,2 cm³ Wasserstoff (Ber. 7,05 cm³ H_2 bei 21°, 729 mm Hg) kam die Hydrierung zum Stillstand. Das Hydrierungsprodukt krystallisierte aus Aceton in Nadeln vom Smp. 246—247°. Es erwies sich in der Mischprobe, in der spez. Drehung ($[\alpha]_D = -22°$ in Aceton) und in der Bruttozusammensetzung mit Δ^5-3β-Acetoxy-ätiocholensäure anderer Herkunft identisch.

Acetoxy-methylester (VId). Für den aus der Acetoxy-säure (VIc) mit Diazomethan bereiteten Acetoxy-methylester (VId) vom Smp. 153—154° (aus Aceton umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 130° sublimiert) fanden wir

$[\alpha]_D = -24°$ (c = 1,23 in Chloroform)

3,866 mg Subst. gaben 10,442 mg CO_2 und 3,164 mg H_2O

$C_{23}H_{34}O_4$ Ber. C 73,76 H 9,15%
Gef. „ 73,71 „ 9,16%

Der Acetoxy-methylester (VId) entsteht auch in quantitativer Ausbeute bei der katalytischen Hydrierung des Acetoxy-methylesters (IId) mit Platin in Eisessig.

Totale Hydrierung des $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-ätiocholadiensäure-methylesters (IId).

Das durch katalytische Hydrierung des Acetoxy-methylesters (IId) mit Platin in Eisessig bei 70—80° hergestellte Präparat krystallisierte aus Aceton in grossen Platten, manchmal auch in Nadeln, vom Smp. 149—150°. Zur Analyse wurden die Krystalle 8 Stunden bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = +36°$ (c = 1,60 in Chloroform)

3,700 mg Subst. gaben 9,934 mg CO_2 und 3,205 mg H_2O

$C_{23}H_{36}O_4$ Ber. C 73,36 H 9,64%
Gef. „ 73,27 „ 9,69%

Das Präparat (IXd) erwies sich nach Mischprobe und spez. Drehung mit einem Vergleichspräparat anderer Herkunft identisch.

5,6-Oxyde des $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-ätiocholadiensäure-methylesters (IVd und Vd).

21,5 g $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-ätiocholadiensäure-methylester (IId) löste man in 450 cm³ reinem Chloroform, gab 115 cm³ Benzopersäure-Lösung (entsprechend einem Überschuss von 10%) zu und liess 16 Stunden bei 17° stehen. Nun destillierte man das Chloroform ab und nahm den Rückstand in Äther auf. Die ätherische Lösung wurde dreimal mit je 150 cm³ eiskalter 2-n. Natronlauge und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in 200 cm³ Petroläther-Benzol (1 : 1) gelöst und an 450 g Aluminiumoxyd chromatographiert.

Die aus Aceton umkrystallisierten Benzol-Eluate (9,7 g) gaben 6,8 g reines β-Oxyd (IVd). Das bei 104—105° schmelzende Analysenpräparat wurde 8 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = -70°$ (c = 1,15 in Chloroform)

3,770 mg Subst. gaben 9,794 mg CO_2 und 2,827 mg H_2O

$C_{23}H_{32}O_5$ Ber. C 71,10 H 8,30%
Gef. „ 70.90 „ 8,39%

Die aus Aceton umkrystallisierten Äther-Eluate (7,5 g) gaben 6,3 g reines α-Oxyd (Vd), vom Smp. 168—170°. Zur Analyse wurde das Präparat 5 bzw. 15 Stunden bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = -56°$ (c = 1,12 in Chloroform)

3,714; 3,767 mg Subst. gaben 9,654; 9,826 mg CO_2 und 2,833; 2,832 mg H_2O

$C_{23}H_{32}O_5$ Ber. C 71,10 H 8,30
Gef. „ 70,94; 71,18 „ 8,54; 8,41%

Aus den mit Äther-Chloroform (4 : 1) eluierbaren Anteilen[1]) wurden durch Umkrystallisieren aus Aceton 50 mg einer bei 174—176° schmelzenden Verbindung isoliert, die 1 Atom Sauerstoff mehr enthält als die Oxyde (IVd) und (Vd). Das Analysenpräparat wurde 5 Stunden bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

3,684; 3,715 mg Subst. gaben 9,226; 9,308 mg CO_2 und 2,616; 2,650 mg H_2O

$C_{23}H_{32}O_6$ Ber. C 68,29 H 7,97%
Gef. „ 68,34; 68,38 „ 7,95; 7,97%

Aus den mit Äther-Methanol (1 : 1) erhaltenen Eluaten (3,2 g) konnten durch Behandeln mit Aceton 0,9 g Δ^{16}-3β-Acetoxy-5, 6-dioxy-allo(?)-ätiocholensäure-methylester (VIIId) vom Smp. 216—217° abgetrennt werden. Zur Analyse wurde das Präparat 5 Stunden bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = -24{,}5^0$ (c = 1,03 in Chloroform)

3,753 mg Subst. gaben 9,320 mg CO_2 und 2,855 mg H_2O

$C_{23}H_{34}O_6$ Ber. C 67,95 H 8,43%
Gef. „ 67,77 „ 8,51%

Δ^{16}-3β-Acetoxy-5-oxy-6-keto-allo(?)-ätiocholensäure-methylester (VIId) aus (Vd) bzw. (IVd), bzw. (VIIId).

100 mg α-Oxyd des $\Delta^{5,16}$-3β-Acetoxy-ätio-choladiensäure-methylesters vom Smp. 168—170° löste man in 5 cm³ Eisessig und gab eine Lösung von 20 mg Chromtrioxyd in 3 cm³ 90-proz. Essigsäure zu. Nach 5 Stunden wurden 100 cm³ Wasser zugefügt, wobei das Oxydationsprodukt (VIId) in weissen Flocken ausfiel. Nach dem Abfiltrieren wurde der Rückstand mit viel Wasser gewaschen, bei 100° getrocknet und dann aus Aceton umkrystallisiert. Das Präparat schmolz bei 249—250°. Es wurde zur Analyse 5 Stunden bei 160° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = -60^0$ (c = 1,08 in Chloroform)

3,792 mg Subst. gaben 9,478 mg CO_2 und 2,705 mg H_2O

$C_{23}H_{32}O_6$ Ber. C 68,29 H 7,97%
Gef. „ 68,21 „ 7,98%

Die wie oben durchgeführte Oxydation des β-Oxyds (IVd), sowie des Δ^{16}-3β-Acetoxy-5, 6-dioxy-allo(?)-ätiocholensäure-methylesters (VIIId) gab nach Schmelzpunkt, Mischprobe und spez. Drehung identische Oxydationsprodukte.

Δ^{16}-3β-Acetoxy-6-keto-allo-ätiocholensäure-methylester (Xd) aus (VIId).

100 mg Δ^{16}-3β-Acetoxy-5-oxy-6-keto-allo(?)-ätiocholensäure-methylester (VIId) vom Smp. 249—250° löste man in 5 cm³ Eisessig, versetzte mit 5 cm³ 33-proz. Bromwasserstoff-Eisessig und gab 2 g granuliertes Zink in kleinen Portionen zu. Unter starkem Erwärmen setzte eine heftige Wasserstoffentwicklung ein, während sich die Lösung schwach gelblich färbte. Nach 5 Stunden dampfte man die Essigsäure im Vakuum ab und versetzte den Rückstand mit 50 cm³ Wasser. Die in weissen Flocken ausgeschiedene Substanz wurde in Äther aufgenommen und mit Wasser, gesättigter Kaliumhydrogencarbonat-Lösung und nochmals mit Wasser gewaschen. Die mit Natriumsulfat getrocknete ätherische Lösung wurde eingedampft. Der braune schmierige Rückstand (80 mg) krystallisierte teilweise beim Verreiben mit Aceton. Die mit Petroläther gewaschenen Kry-

[1]) Aus einem andern Ansatz mit 186 mg $\Delta^{5,16}$-3-β-Acetoxy-ätiocholadiensäure-methylester (IId) und 30% Überschuss an Benzopersäure.

stalle schmolzen nach dem Umkrystallisieren aus Methanol bei 224—226°. Das Präparat (40 mg) wurde zur Analyse 6 Stunden bei 130° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = -33^0$ (c = 0,68 in Chloroform)

3,818 mg Subst. gaben 9,939 mg CO_2 und 2,856 mg H_2O

$C_{23}H_{32}O_5$ Ber. C 71,10 H 8,30%
Gef. „ 71,04 „ 8,37%

Oxy-säure (Xa). 300 mg Acetoxy-methylester (Xd) wurden mit 300 mg Natriumhydroxyd, 10 cm³ Methanol und 1 cm³ Wasser 1 Stunde gekocht. Die Oxy-säure schmolz nach dem Umkrystallisieren aus Aceton bei 256—258°. Das Analysenpräparat wurde 5 Stunden bei 140° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = -8^0$ (c = 0,34 in Aceton)

3,846 mg Subst. gaben 10,112 mg CO_2 und 2,845 mg H_2O

$C_{20}H_{28}O_4$ Ber. C 72,26 H 8,49%
Gef. „ 71,75 „ 8,28%

Oxy-säure-methylester (Xb). 100 mg Oxysäure (Xa) wurden, in Äther suspendiert, mit der berechneten Menge Diazomethan tropfenweise versetzt. Der bei 150—160° im Hochvakuum sublimierte Oxy-ester schmolz bei 178—179°.

3,731 mg Subst. gaben 9,943 mg CO_2 und 2,873 mg H_2O

$C_{21}H_{30}O_4$ Ber. C 72,80 H 8,73%
Gef. „ 72,73 „ 8,62%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

---

138. Über Steroide und Sexualhormone.

(102. Mitteilung[1]).

Über Homologe der digitaloiden Aglucone mit einer Methyl-Gruppe in α-Stellung des Lacton-Ringes

von **L. Ruzicka, Pl. A. Plattner** und **H. Heusser.**

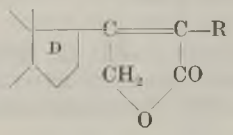
(29. VI. 44.)

In früheren Mitteilungen dieser Reihe ist die Synthese von Homologen der digitaloiden Aglucone beschrieben worden, bei denen zwischen das Cyclopentano-hydrophenanthren-Gerüst und die Lacton-Gruppe eine längere aliphatische Kette —C_4H_8— eingeschoben ist (Formel-Typus III)[2]). Aus verschiedenen Gründen schien auch die Herstellung von solchen Homologen von Interesse, welche sich von den natürlichen Verbindungen (Formel-Typus I) und den genannten

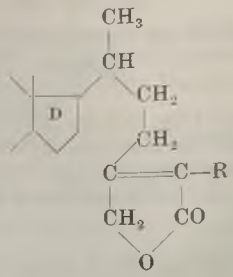
[1]) 101. Mitt. Helv. **27**, 1164 (1944).

[2]) *L. Ruzicka, Pl. A. Plattner* und *H. Heusser*, Helv. **25**, 435 (1942); Helv. **27**, 186 (1944).

Lactonen (III) durch eine zusätzliche Substitution in α-Stellung des Lacton-Ringes unterscheiden (Typus II bzw. IV).



I R = H
II R = CH_3



III R = H
IV R = CH_3

Derartige, in α-Stellung durch eine Methyl-Gruppe substituierte Butenolide sind leicht zugänglich, wenn an Stelle des bei den früheren Synthesen stets verwendeten Bromessigesters[1]) α-Brompropionsäure-ester auf die entsprechenden Ketol-acetate zur Einwirkung gebracht wird.

Es wurden in dieser Weise das β′-[Δ^5-3β-Oxy-ätiocholenyl-(17)]-α′-methyl-$\Delta^{\alpha',\beta'}$-butenolid (vgl. II) und das β′-[Δ^5-3β-Oxy-norcholenyl-(23)]-α′-methyl-$\Delta^{\alpha',\beta'}$-butenolid (vgl. IV) hergestellt. Die als Ausgangsmaterial für diese Umsetzungen dienenden Ketol-acetate waren bereits bekannt[2])[3]). Die Kondensation nach *Reformatsky* verlief glatt und mit guten Ausbeuten.

Das β′-[Δ^5-3β-Oxy-nor-cholenyl-(23)]-α′-methyl-$\Delta^{\alpha',\beta'}$-butenolid (IV) sowie sein Acetat besitzen in Chloroform ungefähr die gleichen molaren resp. spez. Drehungen, wie die entsprechenden Verbindungen ohne α′-Methyl-Gruppe. Auf diese Tatsache ist in einer früheren[4]) Mitteilung in einem etwas weiteren Rahmen bereits hingewiesen worden.

Beim β′-[Δ^5-3β-Oxy-ätiocholenyl-(17)]-α′-methyl-$\Delta^{\alpha',\beta'}$-butenolid (II) scheint dagegen die zusätzliche Methyl-Gruppe des Lacton-Ringes einen deutlich merkbaren Einfluss auf die Drehung auszuüben, da hier die Lacton-Gruppe direkt am Asymmetrie-Zentrum C 17 sitzt.

Wie erwartet, zeigen die beiden neuen Lactone im Verhältnis zu den entsprechenden Verbindungen ohne Substitution in α′-Stellung eine gewisse Verschiebung der U.V.-Absorptionsmaxima nach längeren Wellenlängen. Diese bleibt mit etwa 5 mμ für eine zusätzliche Substitution am konjugierten System aber relativ geringfügig.

---

[1]) Vgl. *L. Ruzicka, T. Reichstein* und *A. Fürst*, Helv. **24**, 76 (1941).
[2]) *T. Reichstein* und *C. Montigel*, Helv. **22**, 1219 (1939).
[3]) *L. Ruzicka, Pl. A. Plattner* und *H. Heusser*, Helv. **25**, 435 (1942).
[4]) *Pl. A. Plattner* und *H. Heusser*, Helv. **27**, 750 (1944).

Zu erwähnen ist ferner, dass die in α-Stellung ein zusätzliches Methyl tragenden Lactone im *Legal*-Test keine oder doch nur eine ganz schwache Rosafärbung geben. Bekanntlich verhalten sich auch die einfachen bekannten α,α-disubstituierten $\Delta^{\beta,\gamma}$-Butenolide im *Legal*-Test negativ[1]). Unser Befund bestätigt demnach die Ansicht, dass für das Auftreten des *Legal*-Testes die Anwesenheit eines α-Wasserstoff-Atomes am Lacton-Ring notwendig ist[2]).

Im Verhalten gegen alkalische Silber-diammin-Lösung *(Tollens)* sowie im *Knudson-Dresbach*-Test[3]) zeigt sich dagegen zwischen den Lactonen mit Substitution in α-Stellung und den unsubstituierten kein wesentlicher Unterschied.

Über die physiologische Prüfung der beiden neuen Lactone wird später in grösserem Zusammenhange berichtet werden.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[4]).

β′-[Δ^5-3β-Acetoxy-ätiocholenyl-(17)]-α′-methyl-$\Delta^{\alpha',\beta'}$-butenolid.

Aus einem Ansatz von 9,0 g mit Jod aktivierten Zinkfiltern, 6,5 g Δ^5-3β,21-Diacetoxy-20-keto-pregnen und 80 cm³ absolutem Benzol wurden zum Trocknen der Apparatur 5 cm³ Benzol abdestilliert. Darauf fügte man 18 g α-Brom-propionester, in 25 cm³ absolutem Dioxan[5]) gelöst, zu und destillierte weitere 10 cm³ Benzol ab. Dabei setzte eine Reaktion ein, die ca. 15 Minuten dauerte. Anschliessend wurde noch ½ Stunde bei einer Ölbadtemperatur von 135° am Rückfluss gekocht. Nun wurde mit absolutem Äthanol verdünnt, vom unverbrauchten Zink abgenutscht und dann das Reaktionsgemisch nach Zusatz von 25 cm³ konz. Salzsäure 2 Stunden sich selbst überlassen. Die Lösung wurde nun im Vakuum eingeengt, das Reaktionsprodukt in Äther aufgenommen und die ätherische Lösung mit Wasser, Natriumhydrogencarbonat-Lösung und nochmals mit Wasser gewaschen und dann getrocknet. Nach Abdampfen des Äthers erhielt man 10,0 g Rohprodukt, das über Nacht mit 75 cm³ Acetanhydrid am Rückfluss gekocht wurde. Das nach dem Entfernen des Acetanhydrids im Vakuum verbleibende Produkt (10,5 g) wurde zur Reinigung an 250 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die Benzol- und Äther-Eluate ergaben nach dem Umkrystallisieren aus Äthanol 3,57 g einer in langen Spiessen krystallisierenden Verbindung vom Smp. 194—195°. Diese wurde noch dreimal aus Alkohol umkrystallisiert, wobei der Smp. auf 195,5—196,5° stieg. Zur Analyse wurde 48 Stunden im Hochvakuum bei 100° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

$[\alpha]_D^{20} = -59{,}2°;\ -59{,}9°;\ [M]_D^{20} = -244°;\ -247°$ (c = 0,990; 1,142 in Chloroform)

3,674 mg Subst. gaben 10,190 mg CO_2 und 2,950 mg H_2O

$C_{26}H_{36}O_4$ Ber. C 75,69 H 8,80%
Gef. „ 75,69 „ 8,98%

Das U.V.-Absorptionsspektrum weist ein Maximum bei 227 mμ (log ε = 4,35) auf. Das Produkt zeigt im *Legal*-Test nur eine ganz schwache Rosafärbung.

---

[1]) *W. A. Jacobs, A. Hoffmann* und *E. L. Gustus*, J. Biol. Chem. **70**, 1 (1926).

[2]) *L. F. Fieser*, The Chemistry of Natural Products related to Phenanthren, New York, 1936, S. 266.

[3]) Vgl. *R. Tschesche*, Ergebnisse der Physiologie, **38**, 36 (1936).

[4]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

[5]) *K. Hess* und *H. Frahm*, B. **71**, 2629 (1938).

β'-[Δ^5-3β-Oxy-ätiocholenyl-(17)]-α'-methyl-$\Delta^{\alpha',\beta'}$-butenolid.

500 mg β'-[Δ^5-3β-Acetoxy-ätiocholenyl-(17)]-α'-methyl-$\Delta^{\alpha,'\beta}$-butenolid wurden in 20 cm³ Dioxan gelöst und mit 7 cm³ 2-n. Salzsäure 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Nun wurde in der Wärme bis zur leichten Trübung mit Wasser versetzt. Beim Abkühlen schieden sich 425 mm lange farblose Nadeln vom Smp. 230—231° aus. Das Produkt wurde noch viermal aus Dioxan-Wasser umkrystallisiert, wobei der Schmelzpunkt auf 232—233° stieg, und anschliessend zur Analyse 48 Stunden im Hochvakuum bei 100° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

$[\alpha]_D^{20} = -72{,}0^0;\ -72{,}6^0;\ [M]_D^{20} = -266^0;\ -269^0$ (c = 0,823; 0,902 in Chloroform)

3,811 mg Subst. gaben 10,890 mg CO_2 und 3,153 mg H_2O

$C_{24}H_{34}O_3$ Ber. C 77,80 H 9,25%
Gef. „ 77,98 „ 9,26%

Das Produkt zeigt nur eine sehr schwache Färbung im *Legal*-Test.

β'-[Δ^5-3β-Acetoxy-nor-cholenyl-(23)]-α'-methyl-$\Delta^{\alpha',\beta'}$-butenolid.

Analog der oben beschriebenen Umsetzung wurden 3,0 g Δ^5-3β,25-Diacetoxy-24-keto-25-homo-cholen[1]) mit 4,5 g Zinkflittern und 9,0 g α-Brompropionester in Reaktion gebracht. Nach der Wasserabspaltung mit Acetanhydrid wurde das Rohprodukt an Aluminiumoxyd chromatographisch gereinigt. Man erhielt nach Umkrystallisieren aus Alkohol 1,05 g feine Nadeln vom Smp. 184—185°. Zur Analyse wurde 12 Stunden im Hochvakuum bei 80° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

$[\alpha]_D^{14} = -41{,}6^0;\ [M]_D^{14} = -195^0$ (c = 1,493 in Chloroform)

3,778 mg Subst. gaben 10,630 mg CO_2 und 3,222 mg H_2O

$C_{30}H_{44}O_4$ Ber. C 76,88 H 9,46%
Gef. „ 76,78 „ 9,54%

Das U.V.-Absorptionsspektrum weist ein Maximum bei 222 mμ (log ε = 4,3) auf. Das Produkt verhält sich im *Legal*-Test negativ.

β'-[Δ^5-3β-Oxy-nor-cholenyl-(23)]-α'-methyl-$\Delta^{\alpha',\beta'}$-butenolid.

Saure Verseifung von 260 mg β'-[Δ^5-3β-Acetoxy-nor-cholenyl-(23)]-α'-methyl-$\Delta^{\alpha',\beta'}$-butenolid mit Dioxan-Salzsäure ergab nach dem Krystallisieren aus Äthanol 210 mg feine Blättchen vom Smp. 217—218°. Zur Analyse wurde dreimal aus Alkohol umkrystallisiert und anschliessend 48 Stunden im Hochvakuum bei 80° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

$[\alpha]_D^{14} = -43{,}8^0;\ [M]_D^{14} = -187^0$ (c = 1,153 in Chloroform)

3,810 mg Subst. gaben 10,983 mg CO_2 und 3,419 mg H_2O

$C_{28}H_{42}O_3$ Ber. C 78,82 H 9,92%
Gef. „ 78,67 „ 10,04%

Das Produkt verhält sich im *Legal*-Test negativ.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von den HH. *W. Manser* und *W. Ingold* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

---

[1]) *L. Ruzicka, Pl. A. Plattner* und *H. Heusser*, Helv. **25**, 437 (1942).

139. Über Steroide und Sexualhormone.

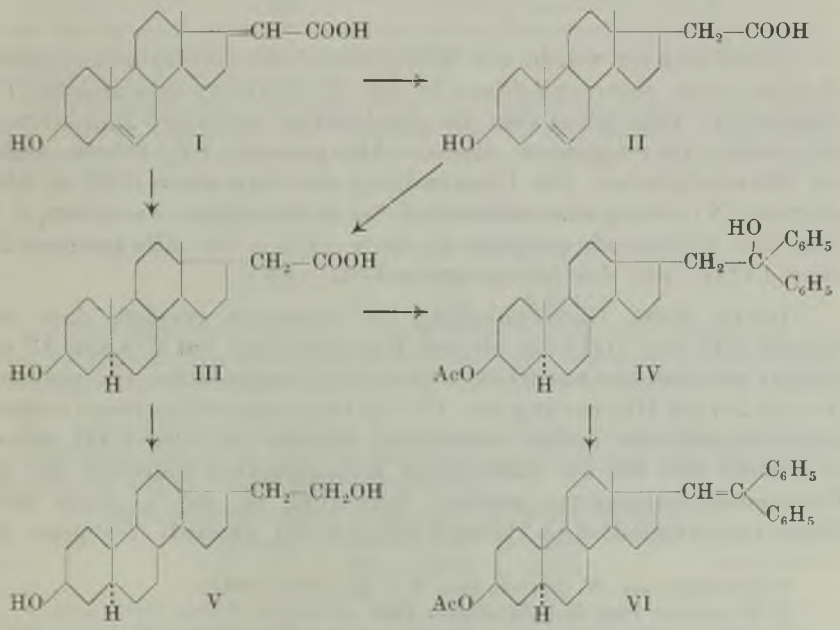
(103. Mitteilung[1])).

Über den sterischen Verlauf der Hydrierung von Doppelbindungen in 17, 20-Stellung der Steroide

von **Pl. A. Plattner, H. Bucher** und **E. Hardegger.**

(29. VI. 44.)

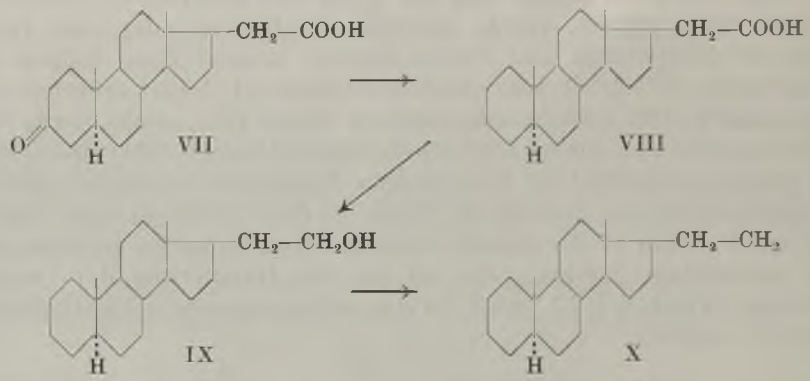
Wir haben vor einiger Zeit die Δ^5-3β-Oxy-pregnen-(21)-säure (II) beschrieben, welche durch partielle Hydrierung der aus trans-Dehydro-androsteron und Bromessigester hergestellten doppelt ungesättigten $\Delta^{5,17}$-3β-Oxy-pregnadien-21-säure (I) leicht erhalten werden kann[2]). Die einfach ungesättigte Säure (II), sowie deren Hydrierungsprodukt, die 3β-Oxy-allo-pregnan-21-säure (III) sind seither als Ausgangsmaterial für verschiedene Synthesen verwendet worden. Es interessierte uns deshalb die Frage, ob diese Verbindungen inbezug auf das C-Atom 17 die gleiche sterische Konfiguration besitzen, wie die natürlichen Sterine, oder ob bei der Hydrierung der Doppelbindung zwischen C 17 und C 20 die entgegengesetzte Konfiguration an C 17 auftritt.



[1]) 102. Mitt. Helv. **27**, 1173 (1944).

[2]) *Pl. A. Plattner* und *W. Schreck*, Helv. **22**, 1178 (1939).

In diesem Sinne wurde deshalb versucht, die 3β-Oxy-allo-pregnan-21-säure (III) in eine Verbindung mit bekannter sterischer Konfiguration überzuführen. Zuerst strebten wir eine Umwandlung der Säure (III) in die 3β-Oxy-allo-ätiocholansäure mit Hilfe des *Wieland*'schen Abbaus an[1]). Das erste Zwischenprodukt dieser Umwandlungsreihe, das 3β,21-Dioxy-21,21-diphenyl-allo-pregnan bzw. sein 3-Mono-acetat (IV) liess sich leicht erhalten. Auch die Wasserabspaltung zum Δ^{20}-3β-Acetoxy-21,21-diphenyl-allo-pregnen (VI) war noch glatt durchführbar, jedoch gab die oxydative Spaltung des letzteren keine charakterisierbaren Produkte[2]).



Anschliessend wurde der Methylester der 3β-Oxy-allo-pregnan-21-säure nach *Bouveault-Blanc* in das 3β-21-Dioxy-allo-pregnan (V) übergeführt. Hier stiess aber die gleichzeitige reduktive Eliminierung der beiden Oxy-Gruppen, die zu Allo-pregnan (X) führen sollte, auf Schwierigkeiten. Die Umwandlung der Oxy-säure (III) in Allo-pregnan (X) gelang aber schliesslich bei stufenweisem Vorgehen, d. h. über die 3-Keto-allo-pregnan-21-säure (VII), die Allo-pregnan-21-säure (VIII) und das Allo-pregnanol-(21) (IX).

Durch diese Umwandlungen ist demnach gezeigt, dass den Säuren (II) und (III) die gleiche Konfiguration am C-Atom 17 zukommt wie dem aus natürlichen Steroiden hergestellten Allo-pregnan. Da sich bei der Hydrierung der $\Delta^{5,17}$-3β-Oxy-pregnadien-säure beinahe ausschliesslich die beiden erwähnten Säuren (II) und (III) bilden, so scheint also die zur natürlichen Konfiguration führende Art der Wasserstoff-Anlagerung weitaus bevorzugt zu sein[3]). Auch beim Homo-(ω)-pregnadien-(5,17)-triol-(3β,21α,22) verläuft übrigens die

---

[1]) Bearbeitet von *W. Schreck*, Diss. E. T. H. Zürich (1941).

[2]) *W. Schreck*, Diss. E. T. H. Zürich 1941.

[3]) Erst in neuerer Zeit ist es gelungen, aus den Mutterlaugen der Säure (III) in geringer Menge ein Isomeres abzuscheiden, dem an C 17 die entgegengesetzte Konfiguration zukommen dürfte.

Hydrierung sterisch im gleichen Sinne, da die Oxydation des Hydrierungsproduktes zur 3-Keto-allo-pregnan-21-säure (VII) führt[1]).

Von anderen Verbindungen der Steroid-Reihe mit einer Doppelbindung zwischen C 17 und C 20 scheint bis jetzt nur das $\Delta^{5,17}$-3β-Oxy-pregnadien in bezug auf den sterischen Verlauf der katalytischen Hydrierung untersucht zu sein[2]). Es wurden daraus 3β-Oxy-allo-pregnan und schliesslich, wie oben, Allo-pregnan (X) selbst erhalten. Auch hier tritt also die Anlagerung des Wasserstoffs sterisch im gleichen Sinne ein.

Wir haben vor einiger Zeit[3]), ausgehend von der Säure (I) das entsprechende Methylketon und daraus durch partielle Hydrierung mit *Raney*-Nickel und anschliessende Oxydation der Oxy-Gruppe an C 3, ein Homologes des Progesterons hergestellt. Auf Grund der vorstehend beschriebenen Resultate kann angenommen werden, dass auch diesem letzteren die natürliche Konfiguration der Seitenkette an C 17 zukommt, eine Frage, die seinerzeit offen gelassen wurde.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[4]).

3β-Oxy-allo-pregnan-21-säure (III).

Acetoxy-säure: 5,0 g rohe $\Delta^{5,17}$-3β-Acetoxy-pregnadien-21-säure (I) wurden in 200 cm³ Eisessig gelöst und unter Zusatz von 250 mg Platinoxyd bei Zimmertemperatur hydriert. Die Hydrierung dauert ungefähr 70 Stunden, die gesamte Wasserstoffaufnahme betrug 630 cm³ (ber. 0°, 760 mm: 690 cm³ H_2).

Nach Beendigung der Hydrierung wurde vom Katalysator abfiltriert und der Eisessig im Vakuum abgedampft. Der Rückstand liess sich aus Essigester-Hexan umkrystallisieren. Das reine Produkt, das bei 190° schmolz, wurde zur Analyse 20 Stunden bei 65° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{15} = +5{,}5^0 \text{ (c = 1,176 in Chloroform)}$$

3,880 mg Subst. gaben 10,425 mg CO_2 und 3,359 mg H_2O

$C_{23}H_{36}O_4$ Ber. C 73,36 H 9,64%
Gef. „ 73,32 „ 9,69%

Acetoxy-säure-methylester: Dieser wurde sowohl durch Hydrierung von reinem 3β-Acetoxy-pregnadien-21-säure-methylester mit Platinoxyd als auch durch Acetylierung des unten beschriebenen 3β-Oxy-allo-pregnan-21-säure-methylesters hergestellt.

Das Analysenpräparat wurde 16 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet. Das reine Produkt schmolz bei 150°. Der Mischschmelzpunkt mit dem früher hergestellten Präparat[5]) zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung.

3,814 mg Subst. gaben 10,298 mg CO_2 und 3,274 mg H_2O

$C_{24}H_{38}O_4$ Ber. C 73,80 H 9,81%
Gef. „ 73,68 „ 9,61%

---

[1]) *H. G. Fuchs* und *T. Reichstein*, Helv. **24**, 815 (1941).
[2]) *L. Ruzicka*, *M. W. Goldberg* und *E. Hardegger*, Helv. **22**, 1294 (1939).
[3]) *Pl. A. Plattner* und *W. Schreck*, Helv. **24**, 472 (1941).
[4]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert. [5]) Helv. **22**, 1184 (1939).

Oxy-säure: 1 g 3β-Acetoxy-allo-pregnan-21-säure wurde mit 10 cm³ 5-proz. methanolischer Kalilauge eine Stunde am Rückfluss gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde nach Zusatz von 50 cm³ Wasser zur Entfernung von Neutralteilen mit Äther ausgeschüttelt.

Aus den wässerigen, alkalischen Fraktionen wurden nach Ansäuern mit verdünnter Salzsäure 970 mg krystallisierte Säure erhalten. Diese wurde aus Methanol umkrystallisiert und zur Analyse 10 Stunden bei 120° im Hochvakuum getrocknet. Das reine Produkt schmolz bei 233—234°.

$[\alpha]_D^{14} = +12{,}0^0$ (c = 1,04 in Dioxan)

3,584 mg Subst. gaben 9,897 mg CO_2 und 3,291 mg H_2O

$C_{21}H_{34}O_3$ Ber. C 75,40 H 10,25%
Gef. „ 75,36 „ 10,28%

Oxy-säure-methylester: 970 mg rohe 3β-Oxy-allo-pregnan-21-säure wurden in 50 cm³ Äther gelöst und mit Diazomethan verestert. Das Rohprodukt (1010 mg) krystallisierte aus Methanol in feinen Nadeln. Für die Analyse wurde eine Probe an Aluminiumoxyd (Aktivität II—III[1])) chromatographiert und erneut aus Methanol umkrystallisiert. Der reine Ester schmolz bei 124°. Das Analysenpräparat wurde vor dem Verbrennen geschmolzen.

$[\alpha]_D^{15} = +6{,}8^0$ (c = 3,432 in Chloroform)

3,422 mg Subst. gaben 9,479 mg CO_2 und 3,273 mg H_2O

$C_{22}H_{36}O_3$ Ber. C 75,81 H 10,41%
Gef. „ 75,59 „ 10,70%

3β,21-Dioxy-allo-pregnan (V).

2,1 g 3β-Acetoxy-allo-pregnan-21-säure-methylester wurde nach *Bouveault-Blanc* reduziert. Der Ester wurde, in 150 cm³ absolutem Alkohol gelöst, zu 20 g Natrium gegeben. Nachdem alles Natrium umgesetzt war, wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser versetzt und ausgeäthert. Die ätherische Lösung wurde mit Soda und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Es wurden daraus 600 mg Neutralkörper erhalten, der in feinen Nädelchen krystallisierte.

Aus dem wässerigen, alkalischen Teil konnten durch Ansäuern und Ausäthern 1,3 g Oxy-allo-pregnan-21-säure zurückgewonnen werden.

Das rohe Dioxy-allo-pregnan wurde in das Diacetat übergeführt (s. u.) und letzteres an Aluminiumoxyd chromatographiert. Aus den reinsten Fraktionen des Diacetates wurde dann durch Verseifen 3β,21-Dioxy-allo-pregnan gewonnen, das aus Methanol umkrystallisiert und anschliessend sublimiert wurde. Das analysenreine Präparat schmolz bei 183—184°.

$[\alpha]_D^{14} = +15{,}3^0$ (c = 0,718 in Chloroform)

3,744 mg Subst. gaben 10,768 mg CO_2 und 3,818 mg H_2O

$C_{21}H_{36}O_2$ Ber. C 78,69 H 11,32%
Gef. „ 78,49 „ 11,40%

Diacetat: Rohes 3β,21-Dioxy-allo-pregnan (190 mg) wurde mit 3 cm³ absolutem Pyridin und 3 cm³ Essigsäure-anhydrid 8 Stunden stehen gelassen. Das Acetylierungsgemisch wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft, der Rückstand in einer Mischung von Petroläther-Benzol 1 : 1 gelöst und an 9 g Aluminiumoxyd (Aktivität II—III) chromatographiert. Mit Benzol wurden 160 mg Diacetat eluiert. Aus Essigester krystallisierte das Produkt in feinen, Krystall-Lösungsmittel enthaltenden Nadeln. Das

---

[1]) *H. Brockmann* und *H. Schodder*, B. **74**, 73 (1941).

Analysenpräparat wurde zur Entfernung des Krystall-Essigesters sublimiert und schmolz dann bei 135—135,5°.

$[\alpha]_D^{15} = +2{,}5^0$ (c = 1,15 in Chloroform)

3,838 mg Subst. gaben 10,422 mg CO_2 und 3,397 mg H_2O

$C_{25}H_{40}O_4$ Ber. C 74,21 H 9,97%
Gef. „ 74,11 „ 9,90%

3β-Acetoxy-21-oxy-21,21-diphenyl-allo-pregnan (IV).

Es wurde aus 1,2 g Magnesium, 40 cm³ Äther und 5 g Brombenzol eine Lösung von Phenyl-magnesium-bromid bereitet. In das siedende Reagens liess man die Lösung von 850 mg 3β-Acetoxy-allo-pregnan-21-säure-methylester in 20 cm³ Äther eintropfen. (Der Ester war zur völligen Trocknung vorher in absolutem Toluol gelöst und die Lösung im Vakuum eingedampft worden.) Nach dem Zulaufen wurde noch eine Stunde gekocht, hierauf mit Eis und Ammoniumchlorid zerlegt, mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (1,75 g) wurde ½ Stunde mit einer Lösung von 1,5 g Kaliumhydroxyd in 50 cm³ Methanol gekocht. Das nach der üblichen Aufarbeitung erhaltene Neutralprodukt wog 1,6 g und wurde direkt weiter verarbeitet. Die alkalische Lösung lieferte nach dem Ansäuern und Ausäthern 100 mg Säure zurück.

1,6 g rohes, öliges Diol wurden mit 7 cm³ Pyridin und 5 cm³ Acetanhydrid vermischt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft, in Äther gelöst, mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (1,5 g) wurde in Hexan gelöst und chromatographisch gereinigt. Die Hauptfraktion (900 mg) war nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Benzol-Pentan rein und schmolz bei 167—168°. Zur Analyse wurde bei 100° 12 Stunden im Hochvakuum getrocknet.

3,770 mg Subst. gaben 11,287 mg CO_2 und 3,026 mg H_2O

$C_{35}H_{46}O_3$ Ber. C 81,67 H 9,01%
Gef. „ 81,70 „ 8,98%

Δ^{20}-3β-Acetoxy-21,21-diphenyl-allo-pregnen (VI).

200 mg 3β-Acetoxy-21-oxy-21,21-diphenyl-allo-pregnan wurden mit 0,8 cm³ Pyridin und 0,5 cm³ Acetanhydrid in ein kleines Rohr eingeschmolzen und 16 Stunden in siedendem Xylol auf 134° erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft, in Äther gelöst, mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft (210 mg). Der Rückstand wurde in Hexan gelöst und über eine Säule von 10 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die Hauptfraktion war nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Methanol rein und schmolz bei 182—183°. Zur Analyse wurde bei 150° 20 Stunden im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = +70{,}7^0$ (c = 0,311 in Dioxan)

3,702 mg Subst. gaben 11,492 mg CO_2 und 2,970 mg H_2O

$C_{35}H_{44}O_2$ Ber. C 84,63 H 8,92%
Gef. „ 84,71 „ 8,98%

Ein Versuch, durch oxydativen Abbau der Verbindung zu einer Oxy-ätiocholansäure zu gelangen, verlief negativ[1]).

3-Keto-allo-pregnan-21-säure (VII).

Methylester[2]): 220 mg 3β-Oxy-allo-pregnan-21-säure-methylester wurden in 5 cm³ Eisessig gelöst und mit einer Lösung von 90 mg Chromtrioxyd in 1 cm³ 90-proz.

[1]) *W. Schreck*, Diss. E. T. H. Zürich, 1941.

[2]) Vgl. *H. G. Fuchs* und *T. Reichstein*, Helv. **24**, 815 (1941).

Eisessig versetzt. Nach 4 Stunden wurde das überschüssige Chromtrioxyd durch Zugabe von 0,5 cm³ Methanol zerstört. Das Reaktionsgemisch wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft und der Rückstand in Äther und Wasser aufgenommen. Die ätherische Lösung wurde mit Salzsäure, Soda und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Der Rückstand wurde aus Methanol umkrystallisiert. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum sublimiert. Es schmolz dann bei 140,5°.

$[\alpha]_D^{14} = +29{,}3^0$ (c = 1,024 in Chloroform)

3,652 mg Subst. gaben 10,200 mg CO_2 und 3,220 mg H_2O

$C_{22}H_{34}O_3$ Ber. C 76,26 H 9,89%
Gef. „ 76,22 „ 9,87%

Säure: 50 mg des 3-Keto-allo-pregnan-21-säure-methylesters wurden 1½ Stunden mit 10-proz. methanolischer Kalilauge gekocht. Die Lösung wurde hierauf mit verdünnter Salzsäure angesäuert und die ausgeschiedene Säure in Äther aufgenommen. Der nach dem Abdampfen des Äthers erhaltene Rückstand liess sich aus Essigester schlecht umkrystallisieren. Die Säure wurde deshalb bei 160° im Hochvakuum sublimiert. Das dabei erhaltene Produkt wurde analysiert. Es schmolz zwischen 187 und 188°.

$[\alpha]_D^{14} = +25{,}2^0$ (c = 1,256 in Chloroform)

3,750 mg Subst. gaben 10,426 mg CO_2 und 3,268 mg H_2O

$C_{21}H_{32}O_3$ Ber. C 75,86 H 9,70%
Gef. „ 75,87 „ 9,74%

Allo-pregnan-21-säure (VIII).

Reduktion des Hydrazons des 3-Keto-allo-pregnan-21-säuremethylesters nach *Wolff-Kishner*: 780 mg 3-Keto-allo-pregnan-21-säure-methylester wurden in 50 cm³ absolutem Alkohol gelöst und 2 Stunden mit 2,5 cm³ Hydrazinhydrat gekocht. Nach dem Erkalten wurde das Reaktionsprodukt in 30 cm³ Wasser gegossen und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Verdampfen des Äthers blieb ein öliger Rückstand von 820 mg, der einige Male in absolutem Benzol aufgenommen und dann im Vakuum zur Trockne eingedampft wurde. Der Rückstand liess sich nicht krystallisieren. Er wurde direkt zur Reduktion verwendet. Um unnötiges Umgiessen zu vermeiden, wurde im Einschlussrohr selbst unter Feuchtigkeitsausschluss aus 600 mg Natrium und 8,5 cm³ absolutem Alkohol eine Lösung von Natriumäthylat hergestellt. Zu dieser Lösung wurden 400 mg Hydrazon, gelöst in 10 cm³ absolutem Alkohol, gegeben und dann noch 0,6 cm³ Hydrazinhydrat zugefügt[1]). Das Einschlussrohr wurde sodann zugeschmolzen und im Bombenofen 8 Stunden auf 200° erhitzt.

Nach dem Erkalten wurde das Reaktionsgemisch mit 5 cm³ Wasser versetzt, hierauf mit verdünnter Salzsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit verdünnter Salzsäure und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (375 mg) wurde in 20 cm³ Äther gelöst und mit Diazomethan verestert. Der erhaltene Ester wurde an 15 g Aluminiumoxyd (Aktivität II—III) chromatographiert. Mit Benzol konnten 210 mg Allo-pregnan-21-säure-methylester, mit Benzol-Äther 1 : 1 25 mg 3-Keto-allo-pregnan-21-säure-methylester und mit Äther 60 mg 3β-Oxy-allo-pregnan-21-säure-methylester aus dem Chromatogramm eluiert werden.

Methylester: Der Allo-pregnan-21-säure-methylester wurde aus Methanol umkrystallisiert und schmolz dann scharf bei 66°. Das Analysenpräparat wurde 24 Stunden bei Zimmertemperatur im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = +8{,}2^0$ (c = 1,098 in Chloroform)

3,646 mg Subst. gaben 10,610 mg CO_2 und 3,553 mg H_2O

$C_{22}H_{36}O_2$ Ber. C 79,46 H 10,91%
Gef. „ 79,41 „ 10,90%

---

[1]) Am. Soc. **61**, 1992 (1939).

Säure: 50 mg Allo-pregnan-21-säure-methylester wurden am Rückfluss mit 10 cm³ 5-proz. methanolischer Kalilauge während 2 Stunden gekocht. Hierauf wurde die Lösung mit Wasser versetzt, mit verdünnter Salzsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand von 45 mg krystallisierte aus Methanol nur sehr schlecht. Das Analysenpräparat wurde bei 160° im Hochvakuum sublimiert. Die Substanz sublimierte in Nadeln und schmolz bei 163°.

$[\alpha]_D = +14^0$ (c = 0,356 in Chloroform)

3,008 mg Subst. gaben 8,726 mg CO_2 und 2,905 mg H_2O

$C_{21}H_{34}O_2$	Ber. C 79,19	H 10,76%
	Gef. „ 79,17	„ 10,81%

21-Oxy-allo-pregnan (IX).

In einem Rundkolben mit Rückflusskühler wurden 400 mg Allo-pregnan-21-säure-methylester in 30 cm³ absolutem Alkohol, dem 1 cm³ Ameisensäureäthylester zugesetzt worden waren, gelöst. Zu dieser Lösung wurden 4 g Natrium in Portionen zugegeben. Um alles Natrium umzusetzen musste das Reaktionsgemisch beim Abklingen der Reaktion noch etwas erwärmt werden. Nach dem Erkalten wurde die Lösung mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Es wurden 300 mg Neutralkörper erhalten, die sofort krystallisierten. Das 21-Oxy-allo-pregnan wurde viermal aus Methanol umkrystallisiert und schmolz dann scharf bei 153°. Aus den wässrigen, alkalischen Fraktionen konnten durch Ansäuern und Ausäthern 30 mg Allo-pregnan-21-säure zurückerhalten werden. Das 21-Oxy-allo-pregnan wurde zur Analyse bei 150° im Hochvakuum sublimiert.

$[\alpha]_D^{15} = +21,4^0$ (c = 1,145 in Chloroform)

3,602 mg Subst. gaben 10,927 mg CO_2 und 3,827 mg H_2O

$C_{21}H_{36}O$	Ber. C 82,83	H 11,92%
	Gef. „ 82,79	„ 11,89%

Reduktion des 21-Oxy-allo-pregnan-tosylesters zu Allo-pregnan (X).

300 mg 21-Oxy-allo-pregnan wurden in 4 cm³ absolutem Pyridin gelöst und mit 600 mg p-Toluolsulfochlorid unter Feuchtigkeitsausschluss über Nacht stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde dann mit 3 g Eis versetzt und in Äther aufgenommen. Die Lösung wurde unter Eiskühlung mit verdünnter Salzsäure, Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (350 mg) wurde in Äther gelöst und durch eine Säule von 2 g Aluminiumoxyd (Aktivität II—III) filtriert. Das nun farblose Öl krystallisierte nicht. Es wurde direkt weiter verarbeitet.

50 mg desselben wurden in 20 cm³ Feinsprit in Gegenwart von Nickel-Katalysator (aus 300 mg *Raney*-Nickel-Legierung) unter Zusatz von 2 cm³ 10-proz. alkoholischer Kalilauge bei etwa 60° 6 Stunden hydriert. Das erhaltene rohe Allo-pregnan (43 mg) wurde an 3 g Aluminiumoxyd (Aktivität II—III) chromatographiert. Mit Petroläther wurde ein farbloses Öl eluiert, das aber nur teilweise krystallisierte. Mit Tetranitromethan zeigte das Produkt eine deutliche Gelbfärbung. Das Destillat wurde in Pentan aufgenommen und mit konz. Schwefelsäure ausgeschüttelt, mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand von 18 mg liess sich aus Aceton krystallisieren. Er zeigte mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung mehr. Das Rohprodukt hatte einen Smp. von 78—82°. Die weitere Reinigung wurde gemeinsam mit dem über das Jodid gewonnenen Allo-pregnan durchgeführt (s. u.).

Reduktion von 21-Jod-allo-pregnan zu Allo-pregnan (X).

100 mg des rohen 21-Oxy-allo-pregnan-tosylesters wurden in 5 cm^3 Aceton gelöst und mit 100 mg Natriumjodid während 12 Stunden im zugeschmolzenen Rohr auf 160° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der weisse Niederschlag abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde direkt für die Hydrierung benützt.

Das rohe 21-Jod-allo-pregnan (110 mg) wurde in 10 cm^3 Feinsprit gelöst und mit 0,5 cm^3 alkoholischer 5-proz. Kalilauge versetzt. Diese Lösung wurde in Gegenwart von 50 mg Palladium-Kohle-Katalysator bei Zimmertemperatur 8 Stunden hydriert. Nach der Reduktion wurde der Katalysator abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Äther aufgenommen, die Lösung mit verdünnter Salzsäure, Soda-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockene eingedampft. Es wurden 63 mg eines gelblichen Öles erhalten, das mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung zeigte. Es wurde wie vorne beschrieben zur Entfernung der ungesättigten Verunreinigungen mit konz. Schwefelsäure behandelt. Das so gereinigte Produkt (43 mg) zeigte mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung mehr, liess sich zuerst aus Aceton, dann aus Aceton-Methanol umkrystallisieren und schmolz schliesslich bei 84—85°. Der Mischschmelzpunkt mit dem von *Ruzicka, Goldberg* und *Hardegger*[1]) bereiteten Allo-pregnan zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung. Auch der für die Drehung gefundene Wert stimmte mit dem von obigen Autoren angegebenen überein.

$$[\alpha]_D = +18{,}1^0 \text{ (c = 0,496 in Chloroform)}$$

Das Präparat enthielt jedoch auch nach weiterem Umkrystallisieren aus Aceton und Sublimation stets etwa 1% Sauerstoff, der weder durch Kochen mit 10-proz. methanolischer Kalilauge, noch durch Chromatographieren und Sublimieren entfernt werden konnte.

20 mg dieses noch sauerstoffhaltigen Allo-pregnans wurden im Bombenrohr 2 Stunden mit Pyridin-hydrobromid in Pyridin-Wasser-Lösung auf 180° erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde in Äther aufgenommen, die Ätherlösung mit verdünnter Salzsäure, Soda-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in Petroläther gelöst und an 1,8 g Aluminiumoxyd (Aktivität II—III) chromatographiert. Die mittleren Fraktionen des mit Petroläther eluierten Allo-pregnans wurden zweimal im Hochvakuum sublimiert und analysiert. Der Schmelzpunkt des Präparates war bei dieser Reinigung nicht mehr gestiegen.

1,615 mg Subst. gaben 5,159 mg CO_2 und 1,783 mg H_2O

$C_{21}H_{36}$	Ber.	C 87,42	H 12,58%
	Gef.	„ 87,18	„ 12,34%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von den HH. *W. Manser* und *W. Ingold* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

---

[1]) *Ruzicka, Goldberg* und *Hardegger* (Helv. **22**, 1300 (1939)) bestimmten für ihr Präparat einen Smp. von 84—85° und eine spez. Drehung in Chloroform von $[\alpha]_D = +18{,}0^0$.

140. Zur Kenntnis der Triterpene.

(89. Mitteilung)[1]).

Abbau des Hederagenins zur C_{26}-Stufe

von L. Ruzicka, O. Jeger und J. Norymberski.

(29. VI. 44.)

In der 83. Mitteilung dieser Reihe[2]) haben wir über die Oxydation des aus Hederagenin gewonnenen Oxy-keto-disäure-methylester-lactons (II) — ausgehend von *Kitasato*'schen Versuchen[3]) — berichtet. Das dabei isolierte, 27 C-Atome des ursprünglichen Gerüstes aufweisende Oxy-tetrasäure-trimethylester-lacton (III) stellt einen indirekten Beweis für die Lage der Methylgruppe am Kohlenstoffatom 5 vor, indem so die einzige dafür noch mögliche Stellung am Kohlenstoffatom 6 ausgeschlossen werden konnte[4])[5]).

Es bestehen zwei Möglichkeiten, diese Beweisführung noch besser zu stützen: (a) auf indirektem Wege durch Isolierung von weiteren Abbauprodukten, die ähnlich wie die Verbindung III die Stellung 6 als möglichen Sitz der Methylgruppe ausschliessen, b) durch direkte Erfassung der Methylgruppe bei der Dehydrierung geeigneter Umwandlungsprodukte[6]). Da das nächst niedere Homologe von III, das 26 C-Atome des ursprünglichen Gerüstes enthaltende Oxy-tetrasäure-lacton (XIIIa) für die Verwirklichung beider Möglichkeiten geeignet erscheint, so haben wir uns seine Bereitung zur ersten Aufgabe gemacht.

Zu diesem Zwecke wurde das 23-Nor-2-oxo-13-oxy-oleanan-28-säure-lacton (= Hedragon-lacton) (I)[7]) in das Bromid (VIa) übergeführt[8]). Durch Kochen von VIa mit 10-proz. alkoholischer Kalilauge gewannen wir eine Verbindung der Zusammensetzung $C_{29}H_{42}O_4$, die mit Eisen(III)-chlorid eine Violettfärbung gibt und deren U.V.-

---

[1]) 88. Mitt., Helv. **27**, 972 (1944). [2]) Helv. **26**, 2242 (1943).

[3]) *Z. Kitasato*, Acta phytoch. **9**, 59 (1937); **10**, 204 (1937).

[4]) Zur Orientierung über die Verteilung von Seitenketten am hydrierten Picengerüst in der Oleanolsäure-Reihe vgl. *Ruzicka, van der Sluys* und *Jeger*, Helv. **26**, 280 (1942).

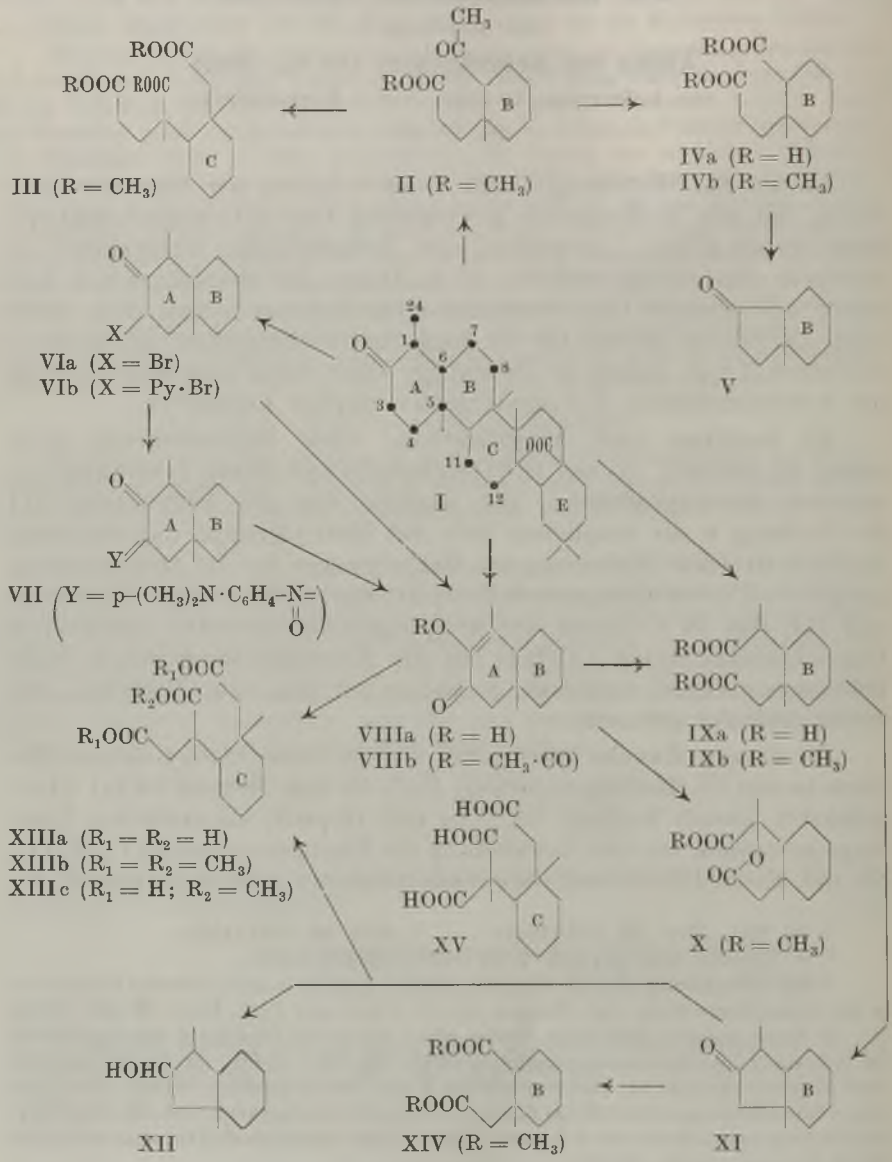
[5]) Einen anderen, indirekten Beweis sehen wir in der Enol-Form des Oxy-lactons der 2-Acetoxy-7,8-diketo-sumaresinolsäure (Helv. **26**, 2283 (1943)), die die Anwesenheit eines Wasserstoffatoms am Kohlenstoffatom 6 des Oleanangerüstes bedingt. Der Wert dieser Beweisführung ist allerdings durch die Tatsache herabgesetzt, dass die Zugehörigkeit der Sumaresinolsäure zum β-Amyrin-Typus höchst wahrscheinlich ist, aber noch nicht direkt bewiesen werden konnte.

[6]) Auf englisch: „transformation products" und nicht „rearrangement products" wie es in letzter Zeit in Chemical Abstracts übersetzt worden ist.

[7]) Vgl. Helv. **26**, 2242 (1943).

[8]) Nach *Z. Kitasato*, Acta Phytoch. **8**, 15 (1934).

Absorptionsspektrum ein Maximum bei 280 mμ ($\log \varepsilon = 4{,}04$)[1]) aufweist. Darnach liegt das durch gleichzeitige Oxydation entstandene Enol-23-nor-2,3-diketo-13-oxy-oleanan-28-säure-lacton (VIIIa) vor.



[1]) Die U. V. Absorptionsspektra der Verbindungen VIIIa und VIIIb wurden in Dioxan aufgenommen. Im Verlauf der Kurve stimmen sie gut überein mit den in Helv. **24**, 1182 (1941) Fig. A dargestellten U. V.-Absorptionsspektren des Enol-2-acetoxy-11,12-diketo-oleanans und seines Enol-acetats.

Das daraus mit Acetanhydrid-Pyridin bereitete Acetat (VIIIb) weist mit dem Absorptionsmaximum bei 246 mμ (log ε = 4,08)[1]) die für den Übergang Diosphenol → Diosphenol-acetat typische Verschiebung auf.

Aus der Tabelle I ist die interessante Tatsache ersichtlich, dass mit fortlaufender Verschiebung des gleichen Chromophors (enolisierte α-Diketo-Gruppierung) im Oleanangerüst vom Ring A über B nach C eine Verschiebung des Maximums nach Rot stattfindet. Die nächste Umgebung der Enol-α-diketo-Gruppierung im Diosphenol VIIIa ist mit derjenigen im Enol-3,4-diketocholestan vergleichbar, dementsprechend weisen diese Verbindungen identische Lage der Maxima auf.

Tabelle I.

Enol-2-acetoxy-11,12-diketo-oleanan[2]) . . .	293 mμ, logε = 4,03 Alkohol
Enol-acetat[2])	257 mμ, logε = 4,00 „
Enol-2-acetoxy-7,8-diketo-13-oxy-oleanan-28-säure-lacton[3])	287 mμ, logε = 4,09 Alkohol
Enol-23-nor-2,3-diketo-13-oxy-oleanan-28-säure-lacton (VIIIa)	280 mμ, logε = 4,04 Dioxan
Enol-acetat (VIIIb)	246 mμ, logε = 4,08 „
Enol-3,4-diketo-cholestan[4])	280 mμ, logε = 4,06 Chloroform
Enol-acetat[4])	248 mμ, logε = 4,16 „

Als Nebenprodukt der alkalischen Behandlung des Bromids (VIa) isolierten wir eine noch nicht genauer aufgeklärte Verbindung der Formel $C_{29}H_{42}O_3$, die im U.V. ein Absorptionsmaximum bei 280 mμ (log ε = 1,62) aufweist[5]), bei der Mikrohydrierung 1 Mol Wasserstoff verbraucht, gegen Tetranitromethan gesättigt ist und mit 23-Nor-2-oxo-13-oxy-oleanan-28-säure-lacton (I) $C_{29}H_{44}O_3$ gemischt eine Schmelzpunktserniedrigung gibt.

Wir haben das Diosphenol VIIIa noch auf zwei anderen Wegen bereitet, die beide für seine Konstitution beweisend sind: 1) bei der Oxydation des Ketons (I) mit Selendioxyd in alkoholischer Lösung, und 2) nach der Methode von *Kröhnke*[6]) durch Kochen des Bromids (VIa) mit Pyridin, Überführung des isolierten (23-Nor-2-oxo-13-oxy-28-säure-lacton-oleanyl-3)-pyridinium-bromids (VIb) mit p-Nitrosodimethylanilin in das Nitron VII und Zerlegung des Letzteren mit

---

[1]) Die U.V. Absorptionsspektra der Verbindungen VIIIa und VIIIb wurden in Dioxan aufgenommen. Im Verlauf der Kurve stimmen sie gut überein mit den in Helv. **24**, 1182 (1941) Fig. A dargestellten U.V.-Absorptionsspektren des Enol-2-acetoxy-11,12-diketo-oleanans und seines Enol-acetats.

[2]) *Ruzicka* und *Jeger*, Helv. **24**, 1178 (1941).

[3]) *Ruzicka, Jeger, Grob* und *Hösli*, Helv. **26**, 2283 (1943).

[4]) *Butenandt, Schramm, Wolff* und *Kudszus*, B. **69**, 2779 (1936) benützten Chloroformlösung für die Bestimmung des U. V.-Spektrums. Zum direkten Vergleich mit VIIIa haben wir das U. V.-Spektrum des 3,4-Diketo-cholestan in Dioxan aufgenommen; es erwies sich mit dem in Chloroform bestimmten als identisch.

[5]) Aufgenommen in alkoholischer Lösung.

[6]) *Kröhnke* und *Börner*, B. **69**, 2006 (1936).

Salzsäure. Für die präparative Bereitung des Diosphenols erwies sich der letzte Weg als der weitaus beste.

Bei der Oxydation des Hedragon-lactons (I) mit Chromsäure-Schwefelsäure in Eisessiglösung, kann nach Veresterung mit Diazomethan, als Hauptprodukt das Oxy-trisäure-dimethylester-lacton (IXb) isoliert werden. Das daraus durch Verseifung mit 10-proz. methanolischer Kalilauge gewonnene Trisäure-lacton (IXa) gibt beim Kochen mit Acetanhydrid und anschliessender Sublimation des Anhydrids im Hochvakuum bei 230° das C_{28}-Pyroketon (XI). Es bestand noch die Möglichkeit, dass in den Verbindungen IXa, IXb und XI die um eine Methylengruppe ärmeren Homologa vorliegen konnten, die sich von den schon bekannten Verbindungen IVa, IVb und V[1]) nur durch die räumliche Konfiguration am Kohlenstoffatom 6 unterscheiden würden. Die Entscheidung zugunsten der Formel IXa, IXb und XI wurde durch katalytische Hydrierung des Pyroketons zum entsprechenden Carbinol XII und Analyse des daraus bereiteten Tribromacetats ermöglicht.

Tabelle II.

Tribromacetat	$C_{30}H_{43}O_4Br_3$	Ber.	C 50,93	H 6,13	Br 33,89%
	$C_{29}H_{41}O_4Br_3$	Ber.	„ 50,23	„ 5,96	„ 34,58%
		Gef.	„ 51,01	„ 6,12	„ 33,75%

Eine endgültige Bestätigung dieses Befundes gelang uns auf dem Wege der Oxydation des Diosphenols (VIIIa) mit Wasserstoffperoxyd in alkalischer Lösung, wobei nach der Veresterung der sauren Reaktionsprodukte das Oxy-trisäure-dimethylester-lacton (IXb) entsteht.

Als zweites Produkt der Oxydation mit Wasserstoffperoxyd isolierten wir eine Verbindung der Zusammensetzung $C_{30}H_{44}O_6$, die nur ein Methoxyl enthält und die vielleicht den Dioxy-trisäure-dilacton-methylester (X) vorstellt.

In den Verbindungen VIIIb und XI liegen die für den weiteren oxydativen Abbau gewünschten Zwischenprodukte vor. Aus beiden konnte durch Oxydation mit Chromtrioxyd in Eisessiglösung bei identischen Versuchsbedingungen das gesuchte, 26 C-Atome des Oleanan-Gerüstes aufweisende, Oxy-tetrasäure-trimethylester-lacton (XIIIb) gewonnen werden; die Analysenwerte stimmen gut auf die Bruttoformel $C_{29}H_{44}O_8$, die Methoxylbestimmung entspricht der Anwesenheit von 3 Methylester-Gruppen, bei der Verseifung mit 0,5-n. alkoholischer Kalilauge werden 2 Äquivalente Alkali verbraucht, die spez. Drehung beträgt $-17{,}8^0$ [2]).

Als zweites Produkt der Oxydation des C_{28}-Pyroketons (XI) wurde eine Verbindung der Zusammensetzung $C_{29}H_{44}O_6$ isoliert; wir schreiben ihr aus Analogiegründen[3]) die Konstitution des Oxy-trisäure-dimethylester-lactons (XIV) zu.

---

[1]) Vgl. Helv. **26**, 2242 (1943).

[2]) Für das Oxy-tetrasäure-trimethylester-lacton (III) wurde $[\alpha]_D = -16{,}6^0$ gefunden; Helv. **26**, 2242 (1943). [3]) Vgl. Helv. **26**, 2242 (1943).

Die Verbindung XIIIb besitzt, in Übereinstimmung mit der Verseifungszahl, eine tertiäre und zwei primäre Carboxyl-Gruppen. Das Produkt der partiellen Verseifung (XIIIc) sollte durch Ringschluss zwischen den zwei primären Carboxylen zu einem Perhydrochrysen-Derivat führen, das zur erwähnten direkten Beweisführung für den Sitz des Methyls am C-Atom 5 dienen könnte. Die Bildung des Tetrasäurelactons XIIIa aus VIII ist nur verständlich, wenn das Diketon hauptsächlich nach der in letzterer Formel angenommenen Richtung enolisiert, da andernfalls bei der Oxydation des Enolacetats ein nur 25 C-Atome enthaltendes Tetrasäure-lacton mit einer Malonsäure-Gruppierung (XV) entstehen müsste, das in ein Trisäure-lacton mit 24 C-Atomen übergehen würde.

Der *Rockefeller Foundation* in New York danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[1]).

Bromierung des 23-Nor-2-oxo-13-oxy-oleanan-28-säure-lactons (I)[2]).

1,1 g Substanz werden in 10 cm³ Eisessig suspendiert und mit einer Lösung von 440 mg Brom (1,1 Mol) in 4 cm³ Eisessig bei Zimmertemperatur versetzt. Nach einigen Minuten tritt Auflösung und Entfärbung ein; kurz darauf beginnt sich ein krystalliner Niederschlag abzuscheiden. Nach 1½-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wird filtriert, mit wenig Eisessig und viel Methanol gewaschen: 970 mg farbloser Krystalle vom Smp. 281—283°. Dieses Produkt ist praktisch rein und kann zur Weiterverarbeitung verwendet werden. Nach dreimaliger Krystallisation aus Methylenchlorid-Aceton erhält man Prismen von konstantem Smp 285—286°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum 14 Stunden bei 85° getrocknet.

$C_{29}H_{43}O_3Br$	Ber.	C 67,04	H 8,34	Br 15,38%
	Gef.	„ 67,09	„ 8,26	„ 15,41%

$$[\alpha]_D = +55{,}0^0 \quad (c = 0{,}636)$$

Es liegt das 23-Nor-2-oxo-3-brom-13-oxy-oleanan-28-säure-lacton (VIa) vor.

Bereitung des Diosphenols (VIIIa).

a) Durch alkalische Behandlung des 23-Nor-2-oxo-3-brom-13-oxy-oleanan-28-säure-lactons. 940 mg Substanz werden mit 10-proz. alkoholischer Kalilauge über Nacht am Rückfluss gekocht, mit Wasser verdünnt, mit Salzsäure angesäuert und in einem Gemisch von Äther und Chloroform aufgenommen. Beim Ausschütteln mit 20-proz. Kalilauge fällt ein unlösliches Salz aus, das mit Salzsäure zerlegt und in Chloroform aufgenommen wird. Man erhält 520 mg saure und 340 mg neutrale Produkte.

Saurer Anteil. Nach Umkrystallisieren aus Chloroform-Methanol erhält man farblose Blättchen vom Smp. 325—326° (Hochvakuum)[3]), die mit alkoholischer Eisen(III)-

---

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert. Die spez. Drehungen wurden in Chloroform in einem Rohr von 1 dm Länge bestimmt.

[2]) Die Verbindung wurde von *Z. Kitasato*, Acta Phytoch. **8**, 15 (1934) erstmals dargestellt und ohne genaue Arbeitsvorschrift als bei 282° (unter Zersetzung) schmelzende Prismen beschrieben.

[3]) Die Schmelzpunkte sowie spez. Drehung des Diosphenols unterliegen Schwankungen von einigen Graden, was wohl auf eine Verschiebung des Keto-enol-Gleichgewichtes zurückzuführen ist.

chlorid-Lösung eine violette Färbung geben. Zur Analyse wurde nochmals aus Methylenchlorid-Aceton umkrystallisiert und 70 Stunden bei 105° im Hochvakuum getrocknet.

3,618; 3,802 mg Subst. gaben 10,161; 10,679 mg CO_2 und 3,001; 3,170 mg H_2O

$C_{29}H_{42}O_4$ Ber. C 76,61 H 9,31%
Gef. „ 76,64; 76,65 „ 9,28; 9,33%

$[\alpha]_D = +73{,}4^0$ (c = 0,885)[1])

Es liegt das Enol-23-nor-2,3-dioxo-13-oxy-oleanan-28-säure-lacton (VIIIa) vor. Die in zwei Ansätzen gewonnenen neutralen Anteile der Reaktion (700 mg) werden vereinigt und über 20 g Aluminiumoxyd (Aktivität 1—2) chromatographiert.

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierter Substanz
1	20 cm³ Benzol	10 mg
2	60 cm³ Benzol	70 mg, Smp. 315—316° Krystalle
3	60 cm³ Benzol	50 mg, Smp. 310—311° Krystalle
4	150 cm³ Benzol	100 mg, Smp. 215—217° amorph
5	150 cm³ Benzol	150 mg, Smp. 250—280° amorph
6	150 cm³ Benzol	40 mg, Smp. 245—270° amorph
7	200 cm³ Benzol	20 mg
8—10	200 cm³ Benzol-Äther (1:1) .	Spuren
11—13	150 cm³ Äther	Spuren
13—18	900 cm³ Aceton	100 mg amorph
18—20	200 cm³ Äther + 1% Eisessig	130 mg, Smp. ca. 300° Krystalle

Die Fraktionen 2 und 3 werden vereinigt und aus Chloroform-Methanol umgelöst. Nadeln vom Smp. 315—316°. Die Farbreaktionen mit Tetranitromethan und Eisen(III)-chlorid sind negativ. Mit dem bei 309—310° schmelzenden 23-Nor-2-oxo-13-oxy-oleanan-28-säure-lacton gibt die Verbindung eine Schmelzpunktserniedrigung von 8—10° (vgl. dazu den Theoretischen Teil). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 230° sublimiert.

3,694 mg Subst. gaben 10,738 mg CO_2 und 3,236 mg H_2O

$C_{29}H_{42}O_3$ Ber. C 79,40 H 9,65%
Gef. „ 79,33 „ 9,80%

$[\alpha]_D = +38{,}4^0$ (c = 0,833)

Mikrohydrierung. 4,670 mg Subst., gelöst in 2 cm³ Eisessig, wurden mit dem Katalysator aus 12 mg Platinoxyd hydriert. Wasserstoffverbrauch 0,293 cm³ (21°, 720 mm), d. h. ungefähr die für 1 H_2 berechnete Menge.

Die amorphen Eluate 4—6 konnten bis jetzt nicht krystallisiert werden; die Fraktionen 13—18 sind teilweise amorph und weisen mit Eisen(III)-chlorid-Lösung eine positive Reaktion auf.

Die Eluate 18—20 geben mit Eisen(III)-chlorid eine violette Färbung; nach Umlösen aus Chloroform-Methanol erhält man Blättchen vom Smp. 316—317° (Hochvakuum), die mit dem oben beschriebenen Diosphenol gemischt keine Schmelzpunktserniedrigung ergeben.

b) Nach der Methode von *Kröhnke*. Umsetzung des 23-Nor-2-oxo-3-brom-13-oxy-oleanan-28-säure-lactons (VIa) mit Pyridin. 4,96 g Substanz

[1]) Die Schmelzpunkte sowie spez. Drehung des Diosphenols unterliegen Schwankungen von einigen Graden, was wohl auf eine Verschiebung des Keto-enol-Gleichgewichtes zurückzuführen ist.

werden mit 20 cm³ Pyridin 2 Stunden am Rückfluss erhitzt; bereits nach einer Stunde fällt ein reichlicher krystalliner Niederschlag aus, der nach Abkühlen auf Zimmertemperatur abgenutscht und mit Aceton gewaschen wird: 3,1 g vom Smp. 280°. Durch Einengen der Mutterlaugen lassen sich weitere 900 mg Substanz vom gleichen Schmelzpunkt gewinnen. Durch abwechselndes Umkrystallisieren aus Methanol-Essigester und Methylenchlorid-Aceton erhält man Tafeln bzw. Prismen vom Smp. 285°. Sie sind im Gegensatz zum Ausgangsprodukt in wässerigem Alkohol gut löslich. Zur Analyse wurde über Nacht bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,918 mg Subst. gaben 9,796 mg CO_2 und 2,861 mg H_2O

$C_{34}H_{48}O_3NBr$ Ber. C 68,21 H 8,08%
Gef. „ 68,23 „ 8,17%

Es liegt das (23-Nor-2-oxo-13-oxy-28-säure-lacton-oleanyl-3)-pyridinium-bromid (VIb) vor.

Nitron (VII). 4,00 g der Pyridiniumverbindung und 1,00 g p-Nitroso-dimethylanilin werden in einem Gemisch von 25 cm³ Chloroform und 50 cm³ Alkohol gelöst. Die grüne Lösung wird mit 7,1 cm³ 1-n. Natronlauge versetzt, wobei die Farbe in ein intensives Rot umschlägt. Die Lösung wird über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen und anschliessend im Vakuum auf $^1/_3$ des Volumens eingeengt. Die ausgeschiedenen orangeroten Krystalle werden abgesaugt und mit Methanol gewaschen; sie sintern bei 216° und schmelzen bei 221°. Die Ausbeute beträgt 2,7 g. Durch Versetzen der Mutterlaugen mit 50 cm³ Wasser werden weitere 700 mg der Substanz gewonnen. Durch Umlösen aus Chloroform-Methanol erhält man orange-rote Prismen, die im Hochvakuum bei 220—221° sintern und bei 225—226° schmelzen. Zur Analyse wurde 48 Stunden bei 80° getrocknet.

3,778 mg Subst. gaben 10,461 mg CO_2 und 3,040 mg H_2O

$C_{37}H_{52}O_4N_2$ Ber. C 75,47 H 8,90%
Gef. „ 75,56 „ 9,00%

Spaltung des Nitrons. Eine Lösung von 3,25 g Nitron in Chloroform-Methanol wird bei Siedehitze mit einigen cm³ konz. Salzsäure versetzt und auf der Heizplatte bis zur beginnenden Krystallisation eingeengt. Die tief-rote Lösung hellt sich bedeutend auf und farblose Blättchen scheiden sich aus, die bei 325—326° (Hochvakuum) schmelzen und mit Eisen(III)-chlorid eine violette Färbung geben. Ausbeute 1,50 g. Durch Einengen der Mutterlaugen gewinnt man noch 460 mg Substanz vom gleichen Schmelzpunkt. Mit dem oben durch Umsetzung des Brom-hedragon-lactons mit Kalilauge bereiteten Diosphenol gemischt findet keine Erniedrigung des Schmelzpunktes statt. Zur Analyse wurde aus Methylenchlorid-Aceton umkrystallisiert und 48 Stunden bei 105° im Hochvakuum getrocknet. Für die Verbrennung und Bestimmung der spez. Drehungen wurden zwei bei verschiedenen Ansätzen erhaltene Präparate verwendet.

3,792; 3,700 mg Subst. gaben 10,655; 10,366 mg CO_2 und 3,163; 3,122 mg H_2O

$C_{29}H_{42}O_4$ Ber. C 76,61 H 9,31%
Gef. „ 76,68; 76,46 „ 9,33; 9,44%

$[\alpha]_D = +79{,}7°;\ +88{,}7°$ (c = 0,802; 0,812)

Es liegt das Enol-23-nor-2,3-dioxo-13-oxy-oleanan-28-säure-lacton (VIIIa) vor.

c) Durch Oxydation des 23-Nor-2-oxo-13-oxy-oleanan-28-säure-lactons (I) mit Selendioxyd in alkoholischer Lösung. 200 mg Substanz werden bei Siedehitze in 10 cm³ Alkohol gelöst, mit einer Lösung von 1,5 g Selendioxyd in 5 cm³ Alkohol versetzt und 1 Stunde am Rückfluss gekocht. Es wird von ausgeschiedenem Selen abfiltriert. im Vakuum eingeengt, in Chloroform-Äther aufgenommen und mit verdünnter Schwefelsäure und Sodalösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittelgemisch verdampft, der Rückstand in Benzol gelöst und über eine Säule aus 6 g Aluminiumoxyd (Aktivität 1—2) chromatographiert.

Fr. 1, 300 cm³ Benzol eluieren 120 mg gelbliche amorphe Subst.
„ 2, 300 cm³ Äther „ 30 mg „ ölige „
„ 3, 650 cm³ Äther + 1% Eisessig eluieren 60 mg farblose Subst.

Fraktion 1 wird in Benzol-Petroläther (1 : 2) gelöst und nochmals über 4 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit 750 cm³ dieses Gemisches werden 80 mg farblose, bei 267—276° schmelzende Krystalle eluiert, die aus Aceton-Methanol wiederholt umkrystallisiert, Nadeln vom Smp. 309—310° geben. Nach der Mischprobe konnten sie als unverändertes Ausgangsmaterial charakterisiert werden.

Fraktion 2 wurde nicht untersucht. Die Fraktion 3 lieferte nach Umlösen aus Chloroform-Methanol farblose Blättchen vom Smp. 321—322° (Hochvakuum), die mit Eisen(III)-chlorid eine violette Färbung geben. Mischproben mit den oben bereiteten Präparaten des Diosphenols (VIIIa) ergaben keine Erniedrigung des Schmelzpunktes.

$$[\alpha]_D = +80{,}7^0 \ (c = 0{,}620)$$

Diosphenol-acetat (VIIIb).

1,9 g Diosphenol (VIIIa) werden in 30 cm³ Pyridin warm gelöst, zur Lösung 30 cm³ Acetanhydrid zugesetzt und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Es wird im Vakuum zur Trockne verdampft und aus Chloroform-Methanol umkrystallisiert: 1,35 g farblose Blättchen vom Smp. 272—273° (Hochvakuum)[1]). Die Farbreaktionen mit Eisen(III)-chlorid und Tetranitromethan sind negativ. Durch Einengen der Mutterlaugen gewinnt man noch 230 mg reine Substanz. Zur Analyse wurde aus Methylenchlorid-Aceton umgelöst und über Nacht bei 105° im Hochvakuum getrocknet.

3,679 mg Subst. gaben 10,106 mg CO_2 und 2,970 mg H_2O

$C_{31}H_{44}O_5$ Ber. C 74,96 H 8,93%
Gef. „ 74,96 „ 9,03%

$$[\alpha]_D = +87{,}0^0 \ (c = 0{,}742)$$

Es liegt das Enol-23-nor-2,3-dioxo-13-oxy-oleanan-28-säure-lacton-acetat (VIIIb) vor.

Oxydation des Diosphenol-acetats (VIIIb) mit Chromsäure in Eisessig zum C_{26}-Oxy-tetrasäure-lacton (XIIIa).

2,5 g Substanz werden in 5 Ansätzen zu 500 mg in 20 cm³ Eisessig gelöst und bei Siedehitze mit einer Lösung von 900 mg Chromtrioxyd in 1 cm³ Wasser und 8 cm³ Eisessig versetzt. Es wird 1 Stunde am Rückfluss gekocht und danach die überschüssige Chromsäure mit Methanol zerstört. Die vereinigten Lösungen werden in ca. $^3/_4$ Liter mit Schwefelsäure angesäuertes Wasser gegossen und mit Kochsalz gesättigt. Der Niederschlag wird in Chloroform-Äther aufgenommen. Die weitere Aufarbeitung geschieht durch nacheinanderfolgendes Ausschütteln mit wenig verdünnter Schwefelsäure, gesättigter Kochsalz-Lösung, verdünnter Sodalösung und verdünnter Natronlauge. Beim Schütteln mit der Sodalösung scheidet sich ein Niederschlag ab, der sich an der Schichtengrenze sammelt; er wird nach erfolgter Entfernung der wasserlöslichen Natriumsalze mit gesättigter Kochsalzlösung von der Chloroform-Ätherschicht abgetrennt. Nach der Abtrennung der Säuren gewinnt man in ca. 10-proz. Ausbeute ein neutrales Oxydationsprodukt, in dem nach den Ergebnissen der Voruntersuchung kein unverändertes Ausgangsmaterial mehr vorliegt[2]).

Die aus dem Soda-Auszug in üblicher Weise gewonnenen sauren Anteile (900 mg) werden in ätherischer Lösung mit Diazomethan verestert. Beim Umlösen des rohen Methylierungsproduktes aus Methanol erhält man 150 mg Nadeln vom Smp. 223—226°, durch Einengen der Mutterlaugen noch weitere 40 mg vom Smp. 218—224°. Durch wiederholtes Umkrystallisieren aus Methanol steigt der Schmelzpunkt auf 231—232°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 215° sublimiert.

---

[1]) Der Schmelzpunkt ändert sich je nach der Anfangstemperatur, der Erhitzungsgeschwindigkeit und der zur Bestimmung gebrauchten Substanzmenge.

[2]) Darüber, wie auch über die als schwer lösliche Natriumsalze abgetrennten sauren Reaktionsprodukte werden wir später berichten.

4,029 mg Subst. gaben 9,882 mg CO_2 und 3,041 mg H_2O
3,629 mg Subst. verbrauchten nach *Vieböck* und *Brecher* 6,405 cm³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$
17,776 mg Subst. verbrauchten bei 15-stünd. Kochen mit 0,5-n. alkohol. Kalilauge 0,683 cm³ 0,1-n. KOH.

$C_{20}H_{14}O_8$	Ber. C 66,90	H 8,52	3 OCH_3 17,88%	Mol.-Gew. 520,6
	Gef. „ 66,93	„ 8,45	3 „ 18,25%	Äqu.-Gew. 260,2

$[\alpha]_D = -17{,}8^0$ (c = 0,957)

Es liegt das Oxy-tetrasäure-trimethylester-lacton (XIIIb) vor.

Die methanolischen Mutterlaugen werden zur Trockne verdampft (750 mg), in Benzol-Petroläther (1 : 1) gelöst und über eine Säule aus 20 g Aluminiumoxyd (Aktivität 2) chromatographiert. Durch Auswaschen mit Gemischen aus Benzol und Petroläther der Zusammensetzung 1 : 1 bis 6 : 1 werden 400 mg nur zum Teil krystalliner Produkte gewonnen, die noch nicht näher untersucht wurden. 3,5 Liter Benzol eluieren 120 mg Substanz, die nach Umlösen aus Methanol Nadeln vom Smp. 225⁰ ergeben. Nach der Mischprobe sind sie mit dem oben beschriebenen Trimethylester (XIIIb) identisch. Lösungsmittel grösseren Elutionsvermögens waschen aus der Säule nur noch wenig amorphe Produkte aus.

Die sauren Anteile des Natronlauge-Auszuges (140 mg) werden in ätherischer Lösung mit Diazomethan verestert. Das ölige Produkt wird in benzolischer Lösung auf eine Säule aus 5 g Aluminiumoxyd (Aktivität 1) gebracht.

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierte Substanz
1	50 cm³ Benzol	15 mg Krystalle, Smp. 215–220⁰
2	50 cm³ Benzol	15 mg Krystalle, Smp. 220–225⁰
3	50 cm³ Benzol-Äther (10:1) .	10 mg Krystalle, Smp. 230⁰
4	50 cm³ Benzol-Äther (10:1) .	10 mg Krystalle, Smp. 217–220⁰
5—7	150 cm³ Benzol-Äther (1:1) .	80 mg Öl
8	100 cm³ Äther	10 mg Öl

Fraktion 1 krystallisiert aus Methanol in Prismen vom Smp. 248—250⁰, die mit dem aus dem unlöslichen Natriumsalz gewonnenen Methylester vom Smp. 256⁰ gemischt keine Erniedrigung des Schmelzpunktes geben[1]).

Fraktion 3 krystallisiert aus Methanol in Nadeln vom Smp. 231—232⁰, die nach Mischprobe mit dem Oxy-tetrasäure-trimethylester-lacton (XIIIb) identisch sind.

Oxydation des Diosphenols (VIIIa) mit Wasserstoffperoxyd in alkalischer Lösung.

Eine Lösung von 200 mg Substanz in 10 cm³ 2-proz. alkoholischer Kalilauge wird bei Siedehitze mit einem Gemisch aus 4 cm³ 30-proz. Wasserstoffperoxyd und 5 cm³ Alkohol während 10 Minuten tropfenweise versetzt. Die Lösung wird im Vakuum eingeengt, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und der abgeschiedene Niederschlag in Chloroform-Äther aufgenommen. Mit verdünnter Sodalösung werden 200 mg Substanz ausgezogen; neutrale Anteile sind nicht vorhanden. Das rohe Reaktionsprodukt wird in ätherischer Lösung mit Diazomethan verestert, und der Ester durch eine Säule aus 6 g Aluminiumoxyd (Aktivität 2—3) chromatographiert.

---

[1]) Vgl. eine spätere Mitteilung.

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierte Substanz
1	60 cm³ Benzol-Petroläther (1:1)	50 mg Prismen, Smp. 229–231°
2— 5	300 cm³ Benzol-Petroläther (1:1)	40 mg Krystalle, Smp. 180–200°
6— 8	140 cm³ Benzol	60 mg Krystalle, Smp. 195–205°
9—11	200 cm³ Benzol	50 mg Blättchen, Smp. 305–320°

Fraktion 1 wird mit den durch Krystallisation der Fraktionen 2—8 aus Methanol gewonnenen Krystallen vom Smp. 217—220° vereinigt und nochmals über 2 g Aluminiumoxyd (Aktivität 2—3) chromatographiert. Mit 250 cm³ Benzol-Petroläther (1 : 2) wird die Hauptmenge der Substanz eluiert; man erhält Prismen vom Smp. 230—232°. Nach zweimaligem Umlösen aus Methanol steigt der Smp. auf 237—238°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 210° sublimiert.

3,722 mg Subst. gaben 9,827 mg CO_2 und 3,103 mg H_2O

$C_{31}H_{48}O_6$ Ber. C 72,06 H 9,36%
Gef. „ 72,05 „ 9,32%

$[\alpha]_D = +21{,}8^0$ (c = 1,01)

Nach Schmelzpunkt, Mischprobe und spez. Drehung ist die Substanz mit dem Oxy-trisäure-dimethylester-lacton (IXb) identisch[1]).

Die Fraktionen 9–11 krystallisieren aus Methanol in Blättchen vom Smp. 337—338° (Hochvakuum). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 240° Blocktemperatur sublimiert.

3,738 mg Subst. gaben 9,872 mg CO_2 und 2,967 mg H_2O
3,181 mg Subst. verbrauchten nach *Vieböck* und *Brecher* 2,117 cm³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$

$C_{30}H_{44}O_6$ Ber. C 71,96 H 8,86 OCH_3 6,19%
Gef. „ 72,07 „ 8,88 „ 6,88%

Es liegt wahrscheinlich der Dioxy-dilacton-monomethylester (X) vor.

Oxydation des 23-Nor-2-oxo-13-oxy-oleanan-28-säure-lactons (I) mit Chromsäure-Schwefelsäure.

6 g Substanz werden in 300 cm³ Eisessig gelöst, mit 5 cm³ konz. Schwefelsäure und einer Lösung von 16 g Chromtrioxyd in 15 cm³ Wasser und 150 cm³ Eisessig versetzt und 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die überschüssige Chromsäure wird mit Methanol zerstört und das Gemisch in 3 Liter Wasser gegossen. Der abgeschiedene Niederschlag wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und in Benzol aufgenommen. Die Benzollösung wird mit verdünnter Säure gewaschen und einige Stunden auf der Schüttelmaschine mit verdünnter Natronlauge geschüttelt. Weiter wird in üblicher Weise aufgearbeitet. Es werden 600 mg neutrale und 5,4 g saure Produkte erhalten.

Der neutrale Anteil schmilzt nach Umlösen aus Chloroform-Methanol bei 308 bis 309° (Hochvakuum) und erweist sich nach der Mischprobe als mit dem Ausgangsmaterial identisch.

Die sauren Anteile der Reaktion werden in ätherischer Lösung mit Diazomethan verestert und dann aus Methanol umkrystallisiert: 2,25 g Prismen vom Smp. 232—233°. Eine gute Reinigung dieses Produktes gelingt erst durch Adsorption an Aluminiumoxyd. Zu diesem Zweck wird die Substanz in Benzol gelöst und auf eine Säule aus 20 g Aluminiumoxyd (Aktivität 1—2) gebracht. 1 Liter Benzol eluiert 1,54 g Substanz, die nach einmaligem Umlösen aus Methanol konstant bei 241—242° schmilzt. Zur Analyse wurde bei 220° im Hochvakuum sublimiert.

---

[1]) Der um 3° tiefere Schmelzpunkt könnte wohl durch wiederholtes Umlösen noch gesteigert werden; das untersuchte Präparat ist aber auch so analysenrein.

3,738; 3,816 mg Subst. gaben 9,845; 10,090 mg CO_2 und 3,112; 3,193 mg H_2O
5,375 mg Subst. verbrauchten nach *Vieböck* und *Brecher* 6,119 cm³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$

$C_{31}H_{48}O_6$	Ber. C 72,06	H 9,36	2 OCH_3	12,01%
	Gef. „ 71,87; 72,16	„ 9,32; 9,36	2 „	11,77%

$[\alpha]_D = +22,7^0$ (c = 1,145)

Es liegt das Oxy-trisäure-dimethylester-lacton (IXb) vor.

Verseifung mit 10-proz. alkoholischer Kalilauge. 80 mg des Dimethylesters IXb werden mit 15 cm³ 10-proz. Kalilauge 6 Stunden am Rückfluss gekocht. Das saure Produkt wird aus Aceton-Hexan in Form gut ausgebildeter Blättchen erhalten. Smp. 265—266⁰ unter Zersetzung. Zur Analyse wurde 48 Stunden im Hochvakuum bei 130⁰ getrocknet.

3,756 mg Subst. gaben 9,795 mg CO_2 und 3,041 mg H_2O

$C_{26}H_{44}O_6$	Ber. C 71,28	H 9,08%
	Gef. „ 71,17	„ 9,05%

Es liegt das Oxy-trisäure-lacton (IXa) vor.

Pyroketon (XI). 50 mg der Säure werden mit 5 cm³ Acetanhydrid und 50 mg Kaliumacetat 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Es wird im Vakuum zur Trockne verdampft, in Äther aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Der Rückstand der ätherischen Lösung wird bei 220—230⁰ im Hochvakuum sublimiert. Nach Umlösen aus Aceton erhält man Prismen vom Smp. 313—314⁰ (Hochvakuum). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 215⁰ sublimiert.

3,818 mg Subst. gaben 10,996 mg CO_2 und 3,357 mg H_2O

$C_{28}H_{42}O_3$	Ber. C 78,82	H 9,92%
	Gef. „ 78,60	„ 9,84%

$[\alpha]_D = +114,5^0$ (c = 0,795)

Katalytische Hydrierung. 100 mg des Ketons XI werden in 10 cm³ Eisessig gelöst und mit 10 mg Platinoxyd hydriert. Nach üblicher Aufarbeitung wird das Rohprodukt aus Chloroform-Methanol krystallisiert: quadratische Tafeln vom Smp. 325 bis 326⁰ (Hochvakuum). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 220⁰ sublimiert.

3,803 Subst. gaben 10,913 mg CO_2 und 3,511 mg H_2O

$C_{28}H_{44}O_3$	Ber. C 78,45	H 10,35%
	Gef. „ 78,31	„ 10,33%

Es liegt das Carbinol (XII) vor.

Tribromacetat von XII. 70 mg Substanz werden in 5 cm³ absolutem Benzol gelöst, die Lösung mit 2 cm³ Pyridin und 0,4 cm³ frisch destilliertem Tribrom-acetylbromid versetzt und 1 Stunde am Rückfluss erhitzt. Das Gemisch wird in Äther aufgenommen und mit verdünnter Salzsäure und Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Der Rückstand der ätherischen Lösung krystallisiert aus Chloroform-Methanol in Form prismatischer Nadeln vom Smp. 253—253,5⁰. Zur Analyse wurde im Hochvakuum 24 Stunden bei 100⁰ getrocknet.

3,932 mg Subst. gaben 7,350 mg CO_2 und 2,151 mg H_2O
7,870 mg Subst. gaben 6,242 mg AgBr

$C_{30}H_{43}O_4Br_3$	Ber. C 50,93	H 6,13	Br 33,89%
	Gef. „ 51,01	„ 6,12	„ 33,75%

Oxydation des Pyroketons (XI) mit Chromsäure in Eisessig.

Zu einer siedenden Lösung von 380 mg Substanz in 10 cm³ Eisessig wird eine Lösung aus 600 mg Chromtrioxyd, 0,8 cm³ Wasser und 8 cm³ Eisessig rasch zugegeben. Nach einstündigem Kochen am Rückfluss wird der Überschuss des Oxydationsmittels mit Methanol zerstört, das Reaktionsgemisch in angesäuertes Wasser gegossen und der Nieder-

schlag in Äther aufgenommen. Die ätherische Lösung wird nacheinander mit verdünnter Schwefelsäure, verdünnter Sodalösung, verdünnter Natronlauge und Wasser gewaschen. Nach dem Abdampfen des Äthers erhält man 130 mg Neutralprodukt, das durch Schmelzpunkt und Mischprobe als unverändertes Ausgangsmaterial charakterisiert wurde.

Aus dem Soda-Auszug erhält man 180 mg saure Anteile, die mit Diazomethan in ätherischer Lösung verestert werden. Das so gewonnene Estergemisch wird aus Methanol umgelöst: 15 mg Nadeln vom Smp. 228—230°. Die methanolische Mutterlauge wird zur Trockne verdampft und der Rückstand über 6 g Aluminiumoxyd (Aktivität 1) chromatographiert.

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierte Substanz
1— 2	200 cm³ Benzol-Petroläther (1:2)	10 mg, amorph
3— 4	250 cm³ Benzol-Petroläther (1:1)	30 mg, Nadeln
5— 6	200 cm³ Benzol-Petroläther (1:1)	10 mg, amorph
7—10	150 cm³ Benzol	20 mg, amorph
11	160 cm³ Benzol-Äther (1:1) . .	30 mg, schlecht ausgebildete Krystalle
12	60 cm³ Benzol-Äther (1:1) . .	25 mg, Nadeln

Weiteres Auswaschen des Chromatogramms mit Lösungsmitteln von steigendem Elutionsvermögen ergibt nur wenig amorphe Produkte.

Fraktionen 3–4 liefern nach Umlösen aus Methanol Nadeln vom Smp. 228—230°, die mit der direkt durch Krystallisation des Rohproduktes gewonnenen Substanz nach Mischprobe identisch sind. Durch weitere Krystallisation aus Methanol erhält man aus stark verdünnter Lösung Prismen vom Smp. 233—234°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 180° sublimiert.

3,656 mg Subst. gaben 9,526 mg CO_2 und 3,110 mg H_2O
2,998 mg Subst. verbrauchten nach *Vieböck* und *Brecher* 3,468 cm³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$

$C_{29}H_{44}O_6$ Ber. C 71,28 H 9,08 2 OCH_3 12,70%
Gef. „ 71,11 „ 9,52 2 „ 11,96%

Es liegt wahrscheinlich das C_{27}-Oxy-trisäure-dimethylester-lacton (XIV) vor.

Fraktion 12 wird aus Methanol umkrystallisiert — Nadeln vom Smp. 229—230°. Mit der aus Fraktion 3—4 gewonnenen Verbindung (XIV) gemischt beobachtet man eine Schmelzpunktserniedrigung von über 25°. Nach Mischprobe und spez. Drehung liegt das Oxy-tetrasäure-trimethylester-lacton (XIIIa) vor. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 210° sublimiert.

2,704 mg Subst. gaben 6,600 mg CO_2 und 2,101 mg H_2O

$C_{29}H_{44}O_8$ Ber. C 66,90 H 8,52%
Gef. „ 66,61 „ 8,69%

$[\alpha]_D = -18^0$ (c = 0,333)

Mit verdünnter Natronlauge werden 25 mg saure Anteile der Reaktion gewonnen; sie konnten auch nach Veresterung mit Diazomethan nicht krystallisiert werden und wurden daher nicht näher untersucht.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

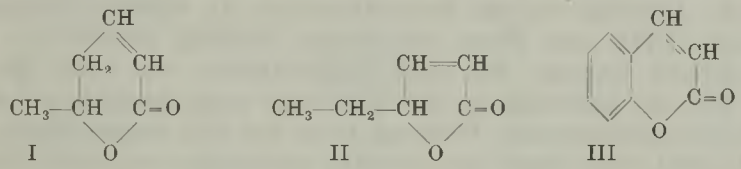
Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

141. Notiz über keimungshemmende Stoffe

von H. Schmid.

(29. VI. 44.)

In einer vor einiger Zeit erschienenen Mitteilung haben *R. Kuhn, D. Jerchel, F. Moewus* und *E. F. Möller*[1]) über die Einwirkung von ungesättigten Lactonen, wie Parasorbinsäure (I), Hexen-4-olid-5,1 (II) und Cumarin (III) auf die Samen von Kresse (Lepidium sativum) berichtet. Diese Autoren konnten dabei zeigen, dass I und II in einer Verdünnung von 1 : 1000, Cumarin in einer solchen von 1 : 10000 die Keimung der Kressesamen unterdrückt. Derartige Stoffe werden nach einem Vorschlag von *A. Köckemann*[2]) als Blastokoline bezeichnet. *H. Veldstra* und *E. Havinga*[3]) haben kürzlich die Angaben von *R. Kuhn* und Mitarbeitern bestätigen und für einige weitere ungesättigte Lactone die gleiche Wirkung auf Kressesamen feststellen können. Sie sprechen dabei die Vermutung aus, dass der ungesättigte Lactonring für diese Hemmwirkung verantwortlich ist.



Über die Beeinflussung der Samenkeimung durch pflanzliche Inhaltsstoffe liegen aber bereits die vor mehreren Jahren ausgeführten, ausführlichen Arbeiten von *W. Sigmund*[4]) vor, die bisher offenbar übersehen worden sind. Dieser Autor hat bei der Prüfung von Alkaloiden, Glucosiden und ihren Spaltprodukten, Gerbstoffen, ätherischen Ölen, Terpenen, Harzen u.a.m. gefunden, dass es unter diesen Stoffen zahlreiche Vertreter gibt, die, obwohl sie ihrer chemischen Natur nach ganz verschiedenen Körperklassen angehören, die Keimung der als Testobjekte benützten Samen von Saatwicke, Erbsen, Weizen, Raps und Senf teilweise stark hemmen können. Ferner hat sich ergeben, dass die einzelnen Samenarten verschieden stark ansprechen können. Ein direkter Vergleich der von *Sigmund* untersuchten Verbindungen im Bezug auf ihre Wirkung bei Kresse-

---

[1]) Naturwiss. **31**, 468 (1943).

[2]) Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 523 (1934); Beih. bot. Zbl. **55**, 191 (1936).

[3]) R. **62**, 841 (1943).

[4]) Bioch. Z. **62**, 299, 339 (1914); **146**, 389 (1924); **154**, 399 (1924). Vgl. auch *J. A. Anderson*, C. **1935**, I, 2387; *A. P. Lima*, C. r. Soc. Biol. **105**, 493 (1930); *M. Eisler* und *L. Portheim* C. **1927**, II, 1157.

samen ist nicht ohne weiteres möglich, da dieser Autor bei seinen Arbeiten etwas andere Versuchsbedingungen angewendet hat, als sie bei den von *R. Kuhn* und Mitarb. bzw. von *H. Veldstra* und *E. Havinga* benützten Testverfahren zur Anwendung gekommen sind. Es sei noch angeführt, dass das bei Kresse bisher aktivste Blastokolin, nämlich das Cumarin, bereits von *Sigmund* untersucht worden ist, die Samenkeimung von Wicke, Gerste und Raps offenbar aber weniger stark hemmt, als dies bei Kressesamen der Fall ist.

Aus den Arbeiten von *W. Sigmund* geht hervor, dass die Blastokolinwirkung keineswegs an das Vorhandensein eines ungesättigten Lactonringes in der Molekel des Wirkstoffes gebunden ist. Dies war allerdings von vorneherein zu erwarten, da die zur Erzielung einer eindeutigen Wirkung angewendeten Konzentrationen der Hemmstoffe für physiologische Verhältnisse sehr hoch liegen (0,01–0,001-molar). Aus dieser Erwägung heraus haben wir, vorerst ohne Kenntnis der Arbeiten *Sigmund*'s, einige andere Stoffgruppen auf ihre Wirkung gegenüber Kressesamen untersucht. Während Flavon und γ-Pyronabkömmlinge in einer Verdünnung von 1 : 1000 keine oder nur eine sehr geringe Wirkung aufwiesen, besassen α-Crotonsäure (IV), Dihydro-zimtsäure (V), p-Chinon (VI) und Piperonal (VII) etwa eine ähnliche Aktivität wie die Parasorbinsäure (I), während zimtsaures Natrium (VIII) eine etwas schwächere Wirkung aufwies (in einer 0,01-molaren Lösung). Bei einer Konzentration von 0,001 Mol pro Liter war die Entwicklung der Keimlinge noch deutlich gehemmt. Die keimungshemmende Wirkung kann bei den beiden Säuren IV und V nicht etwa durch ihre Acidität verursacht sein, denn Buttersäure, Malein- und Fumarsäure, sowie Dihydro-muconsäure waren praktisch inaktiv[1]).

Bei allen keimungshemmenden Stoffen ist noch besonders zu prüfen, inwieweit ihre Wirkung eine irreversibel toxische ist. *H. Veldstra* und *E. Havinga*[2]) haben nämlich festgestellt, dass die mit Parasorbinsäure (I) behandelten Kressesamen durch Waschen und nachfolgendes Überführen auf mit Wasser befeuchtetes Filtrierpapier nicht mehr zur Keimung gebracht werden können, im Gegensatz zu den mit Cumarin (III) behandelten Samen. Bei unseren Stoffen haben wir erst die α-Crotonsäure (IV), die Dihydro-zimtsäure (V), sowie das zimtsaure Natrium (VIII) auf ein derartiges Verhalten untersucht. Die mit V und VIII gehemmten Samen konnten nach dem Auswaschen zu 80—90 % wieder zur Keimung gebracht werden. IV wirkt dagegen toxisch.

---

[1]) Fumarsäure und einige andere einfache aliphatische Carbonsäuren können in höheren Konzentrationen die Entwicklung von Weizenkeimlingen hemmen: *E. Gal*, Nature (Lond.) **142**, 1119 (1938); vgl. auch *J. Gillis*, **59**, 526 (1940); *S. Windisch*, Arch. Mikrobiolog. **8**, 321 (1937).

[2]) R. **62**, 841 (1943).

Zusammenfassend sei festgestellt, dass nicht nur ungesättigte Lactone, sondern auch zahlreiche andere chemische Verbindungen, wie gewisse Säuren, Aldehyde, Alkaloide u.a.m. die Keimung von Pflanzensamen weitgehend hemmen können, wobei zunächst die Frage, ob es sich um eine irreversibel toxische Wirkung handelt oder nicht, bei einigen dieser Stoffe noch offen bleibt. Auch die schon lange bekannte Tatsache, dass manche Wuchsstoffe, wenn sie in grösserer Konzentration angewendet werden, die Keimung von Samen hemmen können (von 100 Kressesamen keimen z. B. in einer 0,01-molaren Lösung von Heteroauxin nur 70—80) scheint in der nur geringen Konstitutionsspezifität der Blastokoline ihre Erklärung zu finden.

Die Keimversuche wurden in Petrischalen von 14 cm Durchmesser, die mit Filtrierpapier ausgelegt waren, durchgeführt. Das Filtrierpapier wurde dabei mit Wasser bzw. mit der zu prüfenden wässerigen Lösung befeuchtet. Die Versuche mit den Verbindungen, die sich als unwirksam oder nur schwach wirksam erwiesen haben, sind hier nicht angeführt.

Substanz 0,01 Mol/l	nach 2 Tagen keimen von 100 Samen	nach 1 Woche keimen von 100 Samen	Wurzellänge in mm
α-Crotonsäure	0	1	—
Zimtsaures Natrium . .	19 (Wurzellänge 2,8 mm)	68	4,4
Dihydro-zimtsäure . . .	0	26	1,0
Piperonal	0	0	—
Chinon	0	0	—
β-Indoyl-essigsäure . .	72	—	—
Wasser	98	100	41,5

Substanz 0,001 Mol/l	von 100 Samen keimen	Wurzellänge in mm
Zimtsaures Natrium . .	90	7,6
Dihydro-zimtsäure . . .	93	1,8
Crotonsäure	87	2,6
Wasser	95	19,2
Piperonal	90	37,6
Chinon	99	30,0
Wasser	98	53,2

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

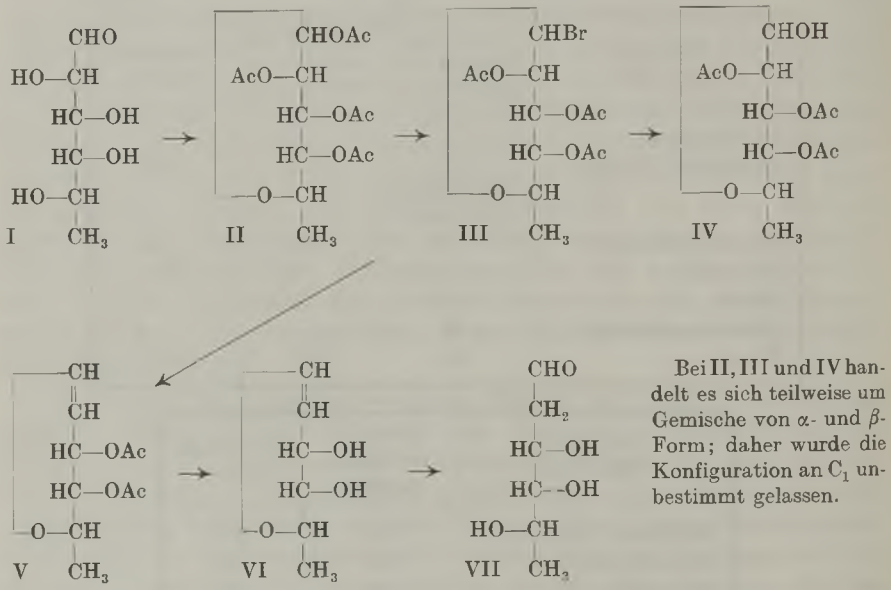
142. 2-Desoxy-*l*-fucose.

Desoxyzucker. 3. Mitteilung[1])

von **B. Iselin** und **T. Reichstein.**

(29. VI. 44.)

Im Folgenden wird die Synthese der 2-Desoxy-*l*-fucose (VII) beschrieben. Wir bedienten uns wieder des bekannten Glucalverfahrens in der kürzlich angegebenen Modifikation[1]). *l*-Fucose (I) lieferte bei der Acetylierung mit Pyridin und Essigsäure-anhydrid ein amorphes Gemisch von Tetracetaten (II)[2]), aus dem sich eine krystallisierte Verbindung vom Smp. 93° und einer spez. Drehung von $[\alpha]_D^{14} = -129{,}9^0 \pm 2^0$ (c = 2,024 in Aceton) isolieren liess. Auf Grund der starken Linksdrehung dürfte es sich um die α-Form handeln.



Bei II, III und IV handelt es sich teilweise um Gemische von α- und β-Form; daher wurde die Konfiguration an C_1 unbestimmt gelassen.

Für die weitere Verarbeitung diente das amorphe Material, dessen Umsetzung mit HBr rohe Acetobrom-*l*-fucose (III) gab, die bisher nur in amorpher Form gewonnen wurde. Beim Versuch, sie zu reinigen, erhielten wir lediglich etwas krystallisierte Triacetylfucose (IV), die, nach dem unscharfen Smp. zu urteilen, ein Gemisch von α- und β-Form darstellen dürfte. Reduktion der rohen Aceto-

---

[1]) 2. Mitteilung vgl. *B. Iselin, T. Reichstein*, Helv. **27**, 1146 (1944).

[2]) Amorphe Tetracetyl-fucose ist auch von *T. Todokoro, Y. Nakamura*, J. Biochem. [Japan] **2**, 461 (1923); C. **1924**, I, 1507 beschrieben.

brom-*l*-fucose (III) mit Zink-Kupfer lieferte trotz Einhaltung der beim Diacetyl-rhamnal bewährten Bedingungen ein Gemisch, aus dem sich durch Destillation nur etwa $^1/_3$ reines Diacetyl-*l*-fucal (V) abtrennen liess, während ca. $^2/_3$ rohe Triacetyl-*l*-fucose (IV) als Kolbenrückstand zurückblieben[1]). Da aber (IV) durch Acetylierung wieder in (II) verwandelt werden kann, ist eine Wiederverwendung dieses Teiles möglich, wodurch die Ausbeute erheblich gesteigert wird. Das Diacetyl-*l*-fucal (V) liess sich krystallisieren und schmolz bei 49—50°. Durch Verseifung mit $Ba(OH)_2$ in Methanol entstand das freie, bei 70—72° schmelzende *l*-Fucal (VI), das sich im Vakuum destillieren lässt und ausgezeichnet krystallisiert. Die daraus durch Hydrolyse mit n. Schwefelsäure bei 0° neben öligen Stoffen gewonnene 2-Desoxy-*l*-fucose (VII) krystallisiert aus Aceton leicht in farblosen Nadeln vom Smp. 103—106° und kann in kleinen Mengen im Hochvakuum (Molekularkolben) unzersetzt destilliert werden. Sie zeigte eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{15} = -136{,}2^0 \pm 3^0$ (c = 0,653 in Aceton) und $[\alpha]_D^{14} = -90{,}4^0 \pm 2^0$ (nach 5 Minuten) bzw. $-61{,}6^0 \pm 2^0$ (konstant nach 90 Minuten; c = 1,039 in Wasser). Wegen der aufsteigenden Mutarotation dürften die beschriebenen Krystalle zur Hauptsache als α-Form anzusprechen sein. Der Zucker gibt eine blaue *Keller-Kiliani*-Reaktion.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze ± 2°.)

l-Fucose-tetracetat (II) (Gemisch).

5 g *l*-Fucose (I) wurden in 50 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 25 cm³ Essigsäureanhydrid versetzt und 2 Tage bei 18° stehen gelassen. Die wie beim *l*-Rhamnose-tetracetat[2]) durchgeführte Aufarbeitung gab 10,1 g (fast 100%) rohes Tetracetat (II). Durch Impfen der Lösung in Äther-Petroläther lassen sich daraus ca. 4,5 g krystallisierte α-Form abscheiden.

α-*l*-Fucose-tetracetat.

1 g *l*-Fucose (I) wurde mit 10 cm³ absolutem Pyridin und 5 cm³ Essigsäure-anhydrid 2 Tage bei 18° stehen gelassen, hierauf mit 20 cm³ Eiswasser versetzt (es tritt Selbsterwärmung auf ca. 40° ein) und weitere 2 Stunden stehen gelassen. Dann wurde mit viel Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösung mehrmals mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und stark eingeengt. Beim Stehen trat Abscheidung von Nadeln ein. Zur Reinigung wurde im Molekularkolben bei 0,05 mm und 95—100° sublimiert, aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 40° getrocknet. Die Nadeln sinterten bei 74° und schmolzen bei 93°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{14} = -129{,}9^0 \pm 1^0$ (c = 2,024 in Aceton).

20,529 mg Subst. zu 1,014 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = -2{,}63^0 \pm 0{,}02^0$

---

[1]) Auf die möglichen Gründe für die stark verschiedenen Ausbeuten wird in einer nächsten Arbeit eingegangen.

[2]) *B. Iselin, T. Reichstein*, Helv. **27**, 1146 (1944).

4,018 mg Subst. gaben 7,450 mg CO_2 und 2,201 mg H_2O

$C_{14}H_{20}O_9$ (332,30) Ber. C 50,61 H 6,06%
Gef. „ 50,60 „ 6,12%

l-Fucal-diacetat (V).

20 g *l*-Fucose-tetracetat (II) (roher Syrup) wurden genau wie bei *l*-Rhamnal-diacetat[1]) beschrieben mit HBr-Eisessig umgesetzt und nach genau zweistündigem Stehen mit verkupfertem Zinkstaub reduziert. Es resultierten 13 g rohes Reduktionsprodukt, das der Destillation in Hochvakuum unterworfen wurde (Badtemperatur zur Schonung des Rückstands möglichst nicht über 115° treiben). Dabei destillierten 4,3 g Diacetyl-*l*-fucal (V) bei 0,2 mm und 76—80° als farbloses Öl, das nach einigen Stunden krystallin erstarrte. Der Kolbenrückstand besteht hauptsächlich aus Triacetyl-*l*-fucose (IV) und wird zweckmässig durch Acetylierung direkt wieder in (II) verwandelt. (IV) lässt sich ebenfalls krystallisieren (vgl. weiter unten). Die 4,3 g Destillat gaben aus Äther-Petroläther (Impfen) 3,9 g (= 30,4% bezogen auf II) reines Diacetyl-*l*-fucal (V) in farblosen Prismen vom Smp. 49—50° und der spez. Drehung $[\alpha]_D^{19} = +9{,}9^0 \pm 2^0$ (c = 1,007 in Aceton).

10,066 mg Subst. zu 0,999 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0{,}10^0 \pm 0{,}02^0$

Zur Analyse wurde frisch im Hochvakuum destilliert.

4,270 mg Subst. gaben 8,770 mg CO_2 und 2,58 mg H_2O

$C_{10}H_{14}O_5$ (214,21) Ber. C 56,70 H 6,59%
Gef. „ 56,05 „ 6,76%

l-Fucose-triacetat (IV).

Eine Probe des oben erwähnten Kolbenrückstandes wurde in Äther gelöst. Beim Stehen schieden sich Krystalle ab. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus viel Äther durch Einengen wurden grosse Prismen erhalten, die zur Hauptsache bei 147—153° schmolzen, ein Rest bei 162°. Zur Analyse wurde 2½ Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,002 mg Subst. gaben 7,271 mg CO_2 und 2,20 mg H_2O

$C_{12}H_{18}O_8$ (290,26) Ber. C 49,65 H 6,25%
Gef. „ 49,58 „ 6,15%

Der trotz stimmender Analyse unscharfe Smp. deutet auf ein Gemisch von α- und β-Form.

l-Fucal (VI).

3,6 g *l*-Fucal-diacetat (V) wurden mit $Ba(OH)_2$ in Methanol verseift, genau wie bei *l*-Rhamnal beschrieben[1]). Das Rohprodukt destillierte bei 0,06 mm und 76—78° und krystallisierte sofort. Zum Umkrystallisieren wurde in wenig Aceton-Benzol (1 : 1) gelöst und mit 5 Teilen absolutem Äther versetzt. Es wurden so 1,8 g (= 82%) feine, farblose Nadeln vom Smp. 68—70° erhalten. Nach nochmaligem Sublimieren im Hochvakuum und Umkrystallisieren aus absolutem Benzol wurde ein Smp. von 70—72° erreicht. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{15} = +10{,}4^0 \pm 2^0$ (c = 1,434 in Aceton).

14,335 mg Subst. zu 0,999 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0{,}15^0 \pm 0{,}02^0$

Zur Analyse wurde frisch im Hochvakuum sublimiert.

4,059 mg Subst. gaben 8,200 mg CO_2 und 2,83 mg H_2O

$C_6H_{10}O_3$ (130,14) Ber. C 55,37 H 7,75%
Gef. „ 55,13 „ 7,80%

Beim Liegen an der Luft zerfliesst das Produkt mit der Zeit zu einem gelblichen Öl.

---

[1]) *B. Iselin, T. Reichstein*, Helv. **27**, 1146 (1944).

2-Desoxy-*l*-fucose (VII).

1,5 g *l*-Fucal (VI) wurden bei 0° in 15 cm³ n. Schwefelsäure gelöst und 8 Stunden bei 0° stehen gelassen, wobei die übliche Grünfärbung und Abscheidung von grüngelben Öltropfen beobachtet wurde. Es wurde wie bei der Desoxy-*l*-rhamnose[1]) aufgearbeitet. Das Rohprodukt, ein leicht gelblicher Syrup, krystallisierte nach Anfeuchten mit wenig Aceton und eintägigem Stehen im Exsikkator über $CaCl_2$. Umkrystallisieren aus ca. 50 Teilen Aceton durch Einengen auf ca. 10 Teile und Impfen lieferte 1,2 g (= 70%) farblose, feine Nadeln vom Smp. 103—106°. Der Zucker liess sich im Molekularkolben bei 0,05 mm und 120° Badtemperatur unzersetzt sublimieren, doch wurde der Smp. dadurch nicht schärfer. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{15} = -136{,}2^0 \pm 3^0$ (c = 0,653 in Aceton) und $[\alpha]_D^{14} = -90{,}4^0 \pm 2^0$ (nach 5 Minuten) bzw. $-61{,}6^0 \pm 2^0$ (konstant nach 90 Minuten; c = 1,039 in Wasser).

16,340 mg Subst. zu 2,501 cm³ Aceton; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = -0{,}89^0 \pm 0{,}02^0$

25,992 mg Subst. zu 2,501 cm³ Wasser; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = -0{,}94^0 \pm 0{,}02^0$ (5 Minuten); $-0{,}64^0 \pm 0{,}02^0$ (konstant nach 90 Minuten).

Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum bei 60° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,986 mg Subst. gaben 7,121 mg CO_2 und 2,927 mg H_2O

$C_6H_{12}O_4$ (148,16) Ber. C 48,64 H 8,16%
Gef. „ 48,75 „ 8,22%

Der Zucker ist hygroskopisch, jedoch bedeutend weniger als Desoxy-*l*-rhamnose. Bei der *Keller-Kiliani*-Reaktion liefert er die bekannte Blaufärbung.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

---

143. Synthese der *d*-Digitoxose.

Desoxyzucker. 4. Mitteilung[2])

von **B. Iselin** und **T. Reichstein.**

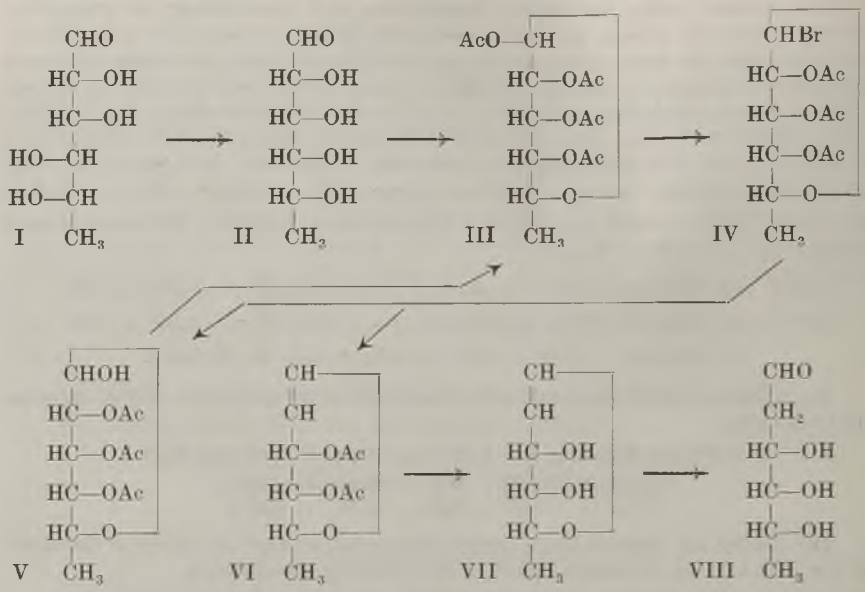
(29. VI. 44.)

Digitoxose, der für Digitalisglykoside charakteristische Zucker, wurde als erster Vertreter von 2-Desoxyzuckern zuerst von *Kiliani*[3])[4]) isoliert und als 2,6-Desoxy-hexose erkannt[5]). Die genaue Struktur

---

[1]) *B. Iselin, T. Reichstein,* Helv. **27**, 1146 (1944).
[2]) 3. Mitteilung vgl. *B. Iselin, T. Reichstein,* Helv. **27**, 1200 (1944).
[3]) *H. Kiliani,* B. **25**, 2116 (1892).
[4]) *H. Kiliani,* B. **31**, 2454 (1898).
[5]) *H. Kiliani,* B. **55**, 88 (1922) und frühere Literatur daselbst.

entsprechend (VIII) ist von *Micheel*[1]) bewiesen worden. Im Folgenden beschreiben wir die Synthese dieses Zuckers.



Als Ausgangsmaterial diente *d*-Allomethylose (II), die zuerst aus Digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VII) mit Benzopersäure erhalten wurde[2])[3]). Eine bemerkenswerte Synthese aus *l*-Rhamnose (I) durch doppelte *Walden*'sche Umkehrung, die wir zur Bereitung des benötigten Materials benützten, ist von *Levene* und *Compton*[4]) beschrieben. Acetylierung von (II) mit Essigsäure-anhydrid und Pyridin lieferte ein Gemisch von Tetracetaten (III), aus dem sich eine reichliche Menge einer einheitlichen Form in Krystallen vom Smp. 111° und $[\alpha]_D^{19} = +8{,}3^0$ (Aceton) isolieren liess. Für die weitere Verarbeitung können auch die amorphen Anteile oder das rohe Gemisch verwendet werden. Die Umsetzung von (III) mit HBr-Eisessig und Essigsäureanhydrid lieferte eine Lösung von Acetobrom-*d*-allomethylose (IV)[5]), die ohne Isolierung dieses Stoffes direkt unter den kürzlich beschriebenen Bedingungen[6]) mit verkupfertem Zinkstaub reduziert wurde. Es entstand dabei ein Gemisch von wenig Diacetyl-*d*-digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VI) und viel Triacetyl-*d*-allomethylose (V), aus dem sich (VI) durch Destillation im Hochvakuum leicht abtrennen lässt.

---

[1]) *F. Micheel*, B. **63**, 347 (1930).

[2]) *A. Windaus, G. Schwarte*, Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, **1926**, 1, mathem.-phys. Klasse. [3]) *F. Micheel*, B. **63**, 347 (1930).

[4]) *P. A. Levene, J. Compton*, J. Biol. Chem. **116**, 169 (1936).

[5]) Möglicherweise Gemisch von α- und β-Form.

[6]) *B. Iselin, T. Reichstein*, Helv. **27**, 1146 (1944).

Vermeidet man Überhitzung, so kann das als Kolbenrückstand verbleibende (V) durch Acetylierung wieder weitgehend in (III) übergeführt und dieses nach Behandlung mit HBr einer erneuten Reduktion unterworfen werden. Durch mehrfache Wiederholung dieser Reaktionsfolge konnte trotz der schlechten Ausbeute eine genügende Menge (VI) für die weiteren Stufen gewonnen werden. Das so erhaltene Diacetyl-*d*-digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VI) krystallisierte aus Äther-Petroläther in farblosen Rhomboedern vom Smp. 51—52° und zeigte eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +388^0 \pm 2^0$ (Chloroform). Diese Werte stehen in guter Übereinstimmung mit denen von *Micheel*[1]) für ein Präparat von (VI), das er durch Acetylierung einer durch thermische Spaltung von Digitoxin, also aus natürlicher Digitoxose, bereiteten Probe von *d*-Digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VII) gewonnen hatte. Die Verseifung von (VI) mit methylalkoholischem $Ba(OH)_2$ lieferte das freie *d*-Digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VII), das bei 117—120° schmolz und eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +315^0 \pm 2^0$ (Wasser) zeigte; auch diese Werte stimmen befriedigend überein mit denjenigen von *Micheel*[2]) für ein Präparat aus Digitoxin[3])[4]).

Die Hydrolyse eines natürlichen Präparates von *d*-Digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VII) mit 0,1-n. Schwefelsäure bei Raumtemperatur, wobei *d*-Digitoxose entstand, ist bereits von *Micheel*[5]) beschrieben. Wir hydrolysierten unser synthetisches Material mit n. Schwefelsäure bei 0° und erhielten neben öligen Stoffen ein Gemisch von 2 Krystallarten, die sich beide im Hochvakuum (Molekularkolben) unzersetzt sublimieren liessen und nur durch mühsame fraktionierte Krystallisation (teilweise sogar durch mechanisches Aussuchen) getrennt werden konnten. Der in grösserer Menge erhaltene Stoff krystallisierte aus Methyläthylketon oder Aceton-Äther in kompakten Aggregaten vom Smp. 108—110°, zeigte die spez. Drehung $[\alpha]_D^{19} = +37{,}1^0 \pm 2^0$ (Methanol) und besass die Formel $C_6H_{12}O_4$. Diese Werte stehen in guter Übereinstimmung mit denjenigen für natürliche *d*-Digitoxose[6])[7])[8]). Wir fanden für natürliche *d*-Digitoxose (VIII) einen Smp. von 108—110°, und die Mischprobe gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Der Zucker zeigte die bekannte Blaufärbung bei der *Keller-Kiliani*-Reaktion. Das in kleinerer Menge erhaltene Nebenprodukt krystallisierte in Nadeln vom Smp. 143—144°, und die Analyse stimmte ebenfalls auf eine Formel $C_6H_{12}O_4$. Möglicherweise liegt

---

[1]) *F. Micheel*, B. **63**, 347 (1930) fand Smp. 47—50° und $[\alpha]_D^{19} = +387^0$ (Chloroform).

[2]) *F. Micheel*, B. **63**, 347 (1930) fand Smp. 118—119,5° und $[\alpha]_D^{19} = +323^0$ (Wasser).

[3]) *M. Cloetta*, Ar. Pth. **88**, 113 (1920).

[4]) *A. Windaus, G. Schwarte*, Nachr. Ges. Wiss. Göttingen **1926**, 1, Mathem.-phys. Klasse. [5]) *F. Micheel*, B. **63**, 347 (1930).

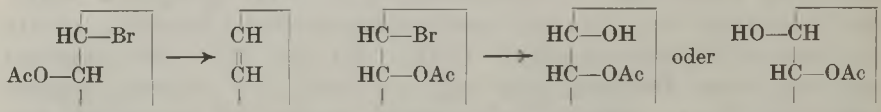
[6]) *H. Kiliani*, Arch. Pharm. **234**, 486 (1896) fand Smp. 101°.

[7]) *M. Cloetta*, Ar. Pth. **112**, 261 (1926) fand Smp. 110° und $[\alpha]_D^{20} = +46{,}38^0$.

[8]) *F. Micheel*, B. **63**, 347 (1930) fand Smp. 105—107° und $[\alpha]_D^{20} = +38{,}1^0$ (Methanol).

α, β-Isomerie vor, doch erlaubte die kleine Menge bisher keine eindeutige Entscheidung.

Vergleicht man die Ausbeuten an Diacetyl-digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VI) (18,6 %), Diacetyl-fucal (30 %)[1]) und Diacetyl-rhamnal (80 %)[2]), die aus den entsprechenden Zuckeracetaten unter genau gleichen Bedingungen gewonnen wurden, so ist der grosse Unterschied dabei auffallend, da die Ausgangsmaterialien sich lediglich durch den räumlichen Bau voneinander unterscheiden. Nimmt man an, dass die reduktive Eliminierung des Bromatons und der 2-ständigen Acetylgruppe sich dann leicht vollzieht, wenn diese Gruppen trans-ständig[3]) angeordnet sind (Teilformel (IX)), während der Ersatz des Bromatoms durch Hydroxyl unter Bildung des Triacetats (XIIa oder XIIb)



IX X XI XIIa XIIb

bevorzugt stattfindet, wenn cis-Stellung (Teilformel (XI)) vorliegt, so ist zu folgern, dass die rohen Acetobromverbindungen der *l*-Rhamnose, *l*-Fucose und *d*-Allo-methylose zur Hauptsache durchwegs α-Form enthalten, wobei der Acetobrom-*l*-fucose relativ am meisten β-Form beigemischt wäre. Denn definitionsmässig entspricht die Konfiguration der α-Acetobrom-*l*-rhamnose dem Spiegelbild von (IX), α-Acetobrom-*l*-fucose dem Spiegelbild von (XI) und α-Acetobrom-*d*-allomethylose der Teilformel (XI).

Wir danken der *J. R. Geigy A.G.* Basel für die Überlassung von Rhamnose.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^0$).

d-Allomethylose aus *l*-Rhamnose[4]).

Die zur Bereitung von *d*-Allomethylose benötigte 2,3-Monoaceton-*l*-rhamnose-⟨1,4⟩[5]) wurde in geringer Variation der Vorschrift von *Levene* und *Muskat*[6]) aus reiner, wasserfreier Rhamnose[5]) folgendermassen gewonnen. 35 g *l*-Rhamnose-monohydrat wurden gepulvert und im Vakuum 3 Stunden allmählich von 70° auf 100° erhitzt. Durch öfteres Umschütteln, besonders am Anfang, soll ein vorzeitiges Verbacken möglichst vermieden werden. Nachdem Gewichtskonstanz erreicht war, wurde die kompakte Masse fein gepulvert, in 2 Liter Aceton heiss gelöst und die Lösung auf 700 cm³ eingeengt.

---

[1]) *B. Iselin, T. Reichstein*, Helv. **27**, 1200 (1944).

[2]) *B. Iselin, T. Reichstein*, Helv. **27**, 1146 (1944).

[3]) Zur theoretischen Erklärung der öfters beobachteten bevorzugten Eliminierung trans-ständiger ortho-Substituenten vgl. *W. Hückel*, Z. angew. Ch. **53**, 49 (1940).

[4]) *P. A. Levene, J. Compton*, J. Biol. Chem. **116**, 169 (1936).

[5]) *E. Fischer*, B. **28**, 1162 (1895).

[6]) *P. A. Levene, I. E. Muskat*, J. Biol. Chem. **106**, 761 (1934).

Die beim Stehen (Impfen) in Nadeln auskrystallisierte, wasserfreie Rhamnose (I) schmolz bei 124—126°. Aus der Mutterlauge liess sich durch Einengen noch eine weitere Menge, total 28,5 g (vakuumtrocken) erhalten. Diese 28,5 g reine, wasserfreie *l*-Rhamnose[1]) wurden mit 600 cm³ trockenem Aceton, 0,6 cm³ konz. Schwefelsäure und 40 g wasserfreiem $CuSO_4$ 40 Stunden bei 17° geschüttelt. Nach dem Abfiltrieren wurde die Lösung durch 2-stündiges Schütteln mit 30 g gepulvertem CaO neutralisiert und wieder filtriert. Das Filtrat wurde eingedampft, der gelbliche Syrup in absolutem Äther gelöst und die leicht trübe Lösung über wenig Kohle filtriert. Die nunmehr klare Lösung wurde eingedampft und der Rückstand in 3 Portionen im Hochvakuum destilliert, wobei total 32 g farbloses Destillat vom Sdp. 117—119° bei 0,2 mm erhalten wurden. Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther durch Impfen[2]) gab 24,8 g krystallisierte Monoaceton-rhamnose vom Smp. 92—94°. Die weitere Verarbeitung der 24,8 g krystallisierter Monoaceton-rhamnose nach *Levene* und *Compton*[3]) lieferte 4,8 g *d*-Allomethylose (II) vom Smp. 150—152°. Auch die öligen Mutterlaugen der Aceton-rhamnose sowie die Mutterlaugen der Tosylverbindung können weiter verarbeitet werden, doch ist die Ausbeute aus diesen Anteilen noch schlechter.

d-Allomethylose-tetracetat (III).

4 g *d*-Allomethylose wurden in 20 cm³ absolutem Pyridin unter leichtem Erwärmen gelöst, nach dem Erkalten mit 20 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und 2 Tage bei 17° stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Eis versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit verdünnter HCl, $KHCO_3$-Lösung und Wasser gewaschenen und über $CaCl_2$ getrockneten Chloroformauszüge hinterliessen beim Eindampfen im Vakuum 8,6 g gelblichen Syrup, der aus Äther-Petroläther 6,5 g Krystalle vom Smp. 108—111° lieferte. Eine Probe wurde im Molekularkolben bei 0,1 mm und 110—115° Badtemperatur sublimiert, aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 70° getrocknet. Sie schmolz bei 111—112° und zeigte eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{19} = +8{,}3^0 \pm 1^0$ (c = 2,028 in Aceton).

20,268 mg Subst. zu 0,999 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0{,}17^0 \pm 0{,}02^0$

3,748 mg Subst. gaben 6,955 mg CO_2 und 2,022 mg H_2O

$C_{14}H_{20}O_9$ (332,30) Ber. C 50,61 H 6,06%
Gef. „ 50,64 „ 6,04%

Auch die Mutterlaugen der krystallisierten Form können vorteilhaft für die Bereitung von (VI) verwendet werden.

Diacetyl-*d*-digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VI) aus (III).

7,5 g krystallisiertes *d*-Allomethylose-tetracetat (III) wurden in 5 cm³ einer Mischung gleicher Teile Eisessig und Essigsäure-anhydrid gelöst, bei 0° mit 15 cm³ einer auf 0° gekühlten 30-proz. HBr-Eisessig-Lösung versetzt und 2 Stunden bei 18° stehen gelassen. Die anschliessende Reduktion mit Zink-Kupfer wurde genau unter den kürzlich beschriebenen Bedingungen[4]) durchgeführt, wobei die Temperatur anfangs auf −8°, am Schluss auf −5° gehalten wurde. Die Aufarbeitung lieferte 6,55 g leicht gelblichen Syrup, aus dem sich im Hochvakuum bei 0,1 mm und einer Badtemperatur bis zu 110° nur 0,9 g

---

[1]) Acetonierung des rohen, entwässerten Kuchens gibt schlechte Resultate.

[2]) Die ersten Impfkrystalle wurden durch mehrtägiges Stehen einer Probe des mit wenig absolutem Äther verflüssigten Syrups bei −10° unter Feuchtigkeitsausschluss erhalten. Gewissen Autoren wie *Th. Purdie* und *C. R. Young*, Soc. **89**, 1194 (1906) gelang es überhaupt nicht, die Substanz zu krystallisieren.

[3]) *P. A. Levene, J. Compton*, J. Biol. Chem. **116**, 169 (1936).

[4]) *B. Iselin, T. Reichstein*, Helv. **27**, 1146 (1944).

(= 18,6%) Diacetyl-*d*-digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VI) als farbloses Öl vom Sdp. 69—72° herausdestillieren liessen, das bald krystallisierte. Der Kolbenrückstand (5,5 g rohes Triacetat Vr wurde wieder acetyliert und das rohe Acetat (7,4 g) einer neuen Umsetzung mit HB) und anschliessender Reduktion unterworfen. Durch mehrmalige Wiederholung dieses Prozesses konnten aus 6 g Allomethylose total 2,17 g Diacetyl-*d*-digitoxoseen (VI) gewonnen werden. Zum Umkrystallisieren wurde das Produkt vorsichtig geschmolzen, die Schmelze in Pentan gelöst und die erhaltene Lösung angeimpft, wobei Abscheidung von rhombisch begrenzten Platten eintrat, die bei 51—52° schmolzen. Nach Trocknen im Hochvakuum bei 20° betrug die spez. Drehung $[\alpha]_D^{20} = +388^0 \pm 2^0$ (c = 1,033 in Chloroform)[1]).

10,328 mg Subst. zu 0,999 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +4{,}01^0 \pm 0{,}02^0$

3,742 mg Subst. gaben 7,682 mg CO_2 und 2,220 mg H_2O

$C_{10}H_{14}O_5$ (214.21) Ber. C 56,07 H 6,59%
Gef. „ 56,08 „ 6,64%

d-Digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VII).

2 g Diacetyl-*d*-digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VI) wurden, genau wie beim Rhamnal beschrieben[2]), verseift. Das im Hochvakuum bei 0,05 mm und 75° Badtemperatur sublimierte Produkt (1,04 g) krystallisierte aus Methyläthylketon-Äther (1:1) in feinen, verfilzten Nadeln vom Smp. 117—120°[1]), Ausbeute 0,85 g = 70%. Zur Analyse und Drehung wurde frisch im Hochvakuum sublimiert. $[\alpha]_D^{20} = +315^0 \pm 2^0$ (c = 1,065 in Wasser)[1]).

10,645 mg Subst. zu 0,999 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +3{,}36^0 \pm 0{,}02^0$

3,735 mg Subst. gaben 7,565 mg CO_2 und 2,607 mg H_2O

$C_6H_{10}O_3$ (130,14) Ber. C 55,37 H 7,75%
Gef. „ 55,27 „ 7,81%

d-Digitoxose (VIII) und Nebenprodukt aus (VII).

0,4 g reines *d*-Digitoxoseen-⟨1,2⟩ (VII) wurden in 5 cm³ n. Schwefelsäure von 0° durch Schütteln gelöst und 8 Stunden bei 0° stehen gelassen, worauf sich reichlich grüne Öltropfen abschieden. Die wie bei der Desoxy-rhamnose[2]) beschriebene Aufarbeitung lieferte 154 mg leicht gelblichen Syrup, der in wenig Methyläthylketon gelöst wurde. Nach Impfen mit einer Spur natürlicher *d*-Digitoxose krystallisierten rasch kompakte Körner oder feine Stäbchen vom Smp. 104—110°. Die Mutterlauge lieferte nach Zusatz von Äther und längerem Stehen neben weiteren Mengen Digitoxose noch zu Rosetten vereinigte Nadeln vom Smp. ca. 140°. Eine Trennung gelang nur durch mühsame fraktionierte Krystallisation, bei groben Krystallen gelegentlich auch durch mechanisches Aussuchen.

Die als Hauptprodukt (76 mg) erhaltenen Krystalle schmolzen nach völliger Reinigung bei 108—110°, natürliche Digitoxose sowie die Mischprobe ebenso. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{19} = +37{,}1^0 \pm 2^0$ (c = 1,024 in Methanol)[3]).

10,235 mg Subst. zu 0,999 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0{,}38^0 \pm 0{,}02^0$

---

[1]) Diese Werte stehen in guter Übereinstimmung mit denjenigen von *F. Micheel* für das aus Digitoxin erhaltene Produkt (vgl. theoretischer Teil).

[2]) *B. Iselin, T. Reichstein*, Helv. **27**, 1146 (1944).

[3]) *F. Micheel*, B. **63**, 347 (1930) fand für natürliche *d*-Digitoxose $[\alpha]_D^{20} = +38{,}1^0$ (c = 0,74 in Methanol).

Zur Analyse wurde zunächst im Hochvakuum bei 50° getrocknet, unmittelbar vor der Verbrennung noch 10 Stunden bei 20° über P_2O_5 nachgetrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,656 mg Subst. gaben 6,510 mg CO_2 und 2,676 mg H_2O

$C_6H_{12}O_4$ (148,16) Ber. C 48,64 H 8,16%
Gef. „ 48,59 „ 8,19%

Das in kleiner Menge erhaltene Nebenprodukt krystallisierte aus Aceton-Äther in Nadeln vom Smp. 143—144°. Ausbeute 6,6 mg. Es lässt sich wie Digitoxose im Hochvakuum bei ca. 100° sublimieren. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 50° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,798 mg Subst. gaben 6,774 mg CO_2 und 2,80 mg H_2O

$C_6H_{12}O_4$ (148,16) Ber. C 48,64 H 8,16%
Gef. „ 48,67 „ 8,25%

Die Mikroanalysen wurden im mikrochemischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

---

144. Über Alkyl-(β-oxy-β-aryl-äthyl)-sulfide und Dialkyl-(β-oxy-β-aryl-äthyl)-sulfonium-salze

von **V. Prelog, V. Hahn, H. Brauchli und H. C. Beyerman.**

(5. V. 44.)

Im Rahmen einer Reihe von Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen pharmakologischer Wirkung und chemischer Konstitution stellten wir eine Anzahl von Verbindungen mit den Atomgruppierungen A und B her[1]), die als Schwefelanaloga der pharmakologisch wichtigen und eingehend untersuchten β-Oxy-β-aryl-äthylamine betrachtet werden können.

A $Ar\cdot C(OH)\cdot CH\cdot S-$ B $Ar\cdot C(OH)\cdot CH\cdot S^{+}<$

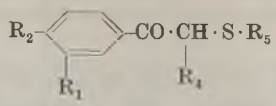
Als Ausgangsmaterial für diese Synthesen dienten verschiedene ω-Halogen-acetophenone, deren Umsetzung mit Natriumalkyl-mercaptiden zu den in der Tabelle 1 angeführten, bisher nicht beschriebenen[2]) Alkyl-phenacyl-sulfiden I—XII führte.

---

[1]) Vgl. *V. Prelog, S. Juhász, A. Režek* und *P. Stern*, Helv. **25**, 907 (1942).

[2]) Auf analoge Weise erhielten *A. Delisle*, B. **22**, 309 (1889), *K. Fries* und Mitarb., A. **527**, 109 (1937) und *E. Vinkler*, J. pr. [2] **159**, 118 (1941), Aryl-phenacyl-sulfide, *C. Wahl*, B. **55**, 1454 (1922), Benzyl-phenacyl-sulfid und *O. Behagel* und *E. Schneider*, B. **68**, 1591 (1935), Phenacyl-thio-glykolsäure.

Tabelle 1.



Nr.		R_1	R_2	R_4	R_5
I	Methyl-phenacyl-sulfid	H	H	H	CH_3
II	Äthyl-phenacyl-sulfid	H	H	H	C_2H_5
III	Methyl-(p-methyl-phenacyl)-sulfid . . .	H	CH_3	H	CH_3
IV	Äthyl-(p-methyl-phenacyl)-sulfid . . .	H	CH_3	H	C_2H_5
V	Methyl-(p-methoxy-phenacyl)-sulfid . .	H	CH_3O	H	CH_3
VI	Äthyl-(p-methoxy-phenacyl)-sulfid . . .	H	CH_3O	H	C_2H_5
VII	Methyl-(m,p-dioxy-phenacyl)-sulfid . .	HO	HO	H	CH_3
VIII	Äthyl-(m,p-dioxy-phenacyl)-sulfid . . .	HO	HO	H	C_2H_5
IX	Methyl-(m,p-dimethoxy-phenacyl)-sulfid	CH_3O	CH_3O	H	CH_3
X	Methyl-(α-benzoyl-äthyl)-sulfid	H	H	CH_3	CH_3
XI	Äthyl-(α-benzoyl-äthyl)-sulfid	H	H	CH_3	C_2H_5
XII	Methyl-β-naphtacyl-sulfid	–CH=CH–CH=CH–		H	CH_3

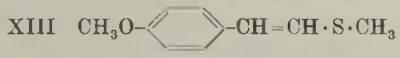
Die Alkyl-phenacyl-sulfide entstehen auf dem erwähnten Reaktionswege in guter Ausbeute, wenn man einen Überschuss an Alkylmercaptan sowie an Natrium bei der Herstellung der Mercaptide vermeidet. Wie schon von anderer Seite in ähnlichen Fällen[1]) beobachtet wurde, werden nämlich ω-Halogen-acetophenone in saurer Lösung von Mercaptanen, die dabei in Disulfide übergehen, zu den halogenfreien Acetophenonen reduziert, was die Ausbeuten ungünstig beeinflusst. Bei einem Überschuss an Natrium wird zwar diese Reaktion nicht beobachtet, es bilden sich aber nicht weiter untersuchte höher siedende Nebenprodukte, welchen ebenfalls die Ausbeute erniedrigen.

Zur Herstellung der Alkyl-(β-oxy-β-aryl-äthyl)-sulfide wurden die Alkyl-phenacyl-sulfide nach *Meerwein-Ponndorf* mit Aluminium-isopropylat reduziert. Die Reduktion verlief bei Anwendung frisch hergestellter Aluminium-isopropylat-Präparate mit guter Ausbeute. Nur diejenigen Sulfid-ketone, welche phenolische Hydroxyl-Gruppen enthalten, wie die Alkyl-(m,p-dioxy-phenacyl)-sulfide VII und VIII liessen sich, wegen der Bildung unlöslicher Aluminium-phenolate, auf diese Weise nicht reduzieren. Auch eine Veresterung der phenolischen Hydroxyle mit Essigsäure oder Benzoesäure führte in diesen Fällen nicht zum Ziele, da die Ester durch Aluminium-isopropylat leicht verseift werden.

---

[1]) ω-Brom-acetophenon gibt mit freier Thioglykolsäure Acetophenon und Dithiodiglykolsäure: *B. Holmberg*, Ark. Kem. **12A**, Heft 9 (1936), C. **1936**. I. 4564; *C. Wahl*, B. **55**, 1454 (1922) erhielt durch Einwirkung von überschüssigem Benzyl-mercaptan auf ω-Brom-acetophenon Dibenzyl-disulfid.

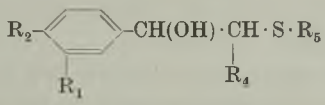
Ältere, etwas zersetzte Aluminium-isopropylat-Präparate gaben bei der Reduktion der Alkyl-phenacyl-sulfide wegen der Bildung von Nebenprodukten schlechtere Ergebnisse. So erhielten wir aus Methyl-(p-methoxy-phenacyl)-sulfid mit einem einige Monate alten Aluminium-isopropylat statt des erwarteten Sulfid-alkohols nur die ungesättigte Verbindung XIII, die daraus durch Wasserabspaltung entstanden ist.

XIII 

Die Herstellung der Alkyl-(β-oxy-β-phenyl-äthyl)-sulfide liess sich auch durch Einwirkung von Natrium-alkyl-mercaptiden auf β-Brom-α-phenyl-äthanol verwirklichen, welches aus ω-Brom-acetophenon durch Reduktion mit Aluminium-isopropylat nach *H. Lund*[1]) zugänglich ist. Leider verläuft die Reduktion anderer ω-Halogen-acetophenone mit Aluminium-isopropylat nicht mit guten Ausbeuten[2]), so dass die Anwendung dieses Verfahrens beschränkt ist.

In der Tabelle 2 sind die von uns hergestellten Alkyl-(β-oxy-β-aryl-äthyl)-sulfide mit sekundärer Hydroxyl-Gruppe XIV—XXII zusammengestellt.

Tabelle 2.



Nr.		R_1	R_2	R_4	R_5
XIV	Methyl-(β-oxy-β-phenyl-äthyl)-sulfid . .	H	H	H	CH_3
XV	Äthyl-(β-oxy-β-phenyl-äthyl)-sulfid . .	H	H	H	C_2H_5
XVI	Methyl-(β-oxy-β-p-tolyl-äthyl)-sulfid . .	H	CH_3	H	CH_3
XVII	Äthyl-(β-oxy-β-p-tolyl-äthyl)-sulfid . . .	H	CH_3	H	C_2H_5
XVIII	Äthyl-[β-oxy-β-(p-methoxy-phenyl)-äthyl]-sulfid	H	CH_3O	H	C_2H_5
XIX	Methyl-[β-oxy-β-(m,p-dimethoxy-phenyl)-äthyl]-sulfid	CH_3O	CH_3O	H	CH_3
XX	Methyl-(β-oxy-β-phenyl-isopropyl)-sulfid	H	H	CH_3	CH_3
XXI	Äthyl-(β-oxy-β-phenyl-isopropyl)-sulfid	H	H	CH_3	C_3H_5
XXII	Methyl-[β-oxy-β-naphthyl-(2)-äthyl]-sulfid	-CH=CH-CH=CH-		H	CH_3

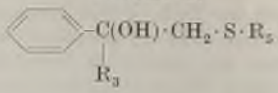
Alkyl-phenacyl-sulfide dienten auch als Ausgangsprodukte zur Herstellung der Sulfid-alkohole XXIII—XXVI mit einer tertiären Hydroxyl-Gruppe (vgl. Tab. 3), welche in guter Ausbeute bei der Einwirkung von *Grignard*'schen Verbindungen auf die Sulfid-ketone entstehen.

---

[1]) B. **70**, 1525 (1937).

[2]) Vgl *P. G. Stevens*, Am. Soc. **60**, 3089 (1938); *P. G. Stevens, O. C. W. Allenby* und *A. S. Du Bois*, Am. Soc. **62**, 1424 (1940).

Tabelle 3.



Nr.		R_3	R_5
XXIII	Methyl-(β-oxy-β-phenyl-propyl)-sulfid .	CH_3	CH_3
XXIV	Äthyl-(β-oxy-β-phenyl-propyl)-sulfid . .	CH_3	C_2H_5
XXV	Methyl-(β-oxy-β,β-diphenyl-äthyl)-sulfid	C_6H_5	CH_3
XXVI	Äthyl-(β-oxy-β,β-diphenyl-äthyl)-sulfid	C_6H_5	C_2H_5

Die hergestellten Sulfid-alkohole gaben mit Methyl- bzw. Äthyljodid die entsprechenden Sulfonium-jodide, welche auf bekannte Weise in andere Salze verwandelt werden konnten. In einigen Fällen stellten wir auch durch Addition von Dimethyl-sulfat die entsprechenden Sulfonium-methosulfate her. Während die Jodide, Chloride und Methosulfate der Sulfonium-basen mit zwei Methyl-Resten gut krystallisieren, liessen sich analoge Salze mit zwei Äthyl-Resten gewöhnlich nicht krystallin erhalten. Zur Charakterisierung wurden die gut krystallisierenden Pikrate verwendet.

Aus den Sulfid-ketonen konnten wir im allgemeinen durch Anlagerung von Alkyl-jodiden die entsprechenden Sulfonium-salze nicht erhalten. Als Reaktionsprodukte wurden Trialkyl-sulfonium-jodide isoliert. Solche Disproportionierungen bei der Bildung der Sulfoniumsalze sind schon früher oft beobachtet worden[1]).

Eine Ausnahme in dieser Beziehung machten das Methyl-(m,p-dioxy-phenacyl)-sulfid VII und sein Dimethyl-äther IX, aus welchem sich die Sulfonium-jodide XL und XLI leicht bildeten.

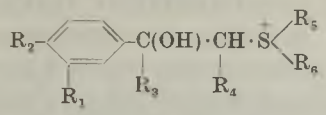
Eine Zusammenstellung derjenigen Sulfonium-basen, deren Salze von uns hergestellt wurden, befindet sich in der Tabelle 4, S. 1213.

Dem Pharmakologischen Laboratorium der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel verdanken wir folgenden zusammenfassenden Bericht über die pharmakologischen Eigenschaften einiger in dieser Arbeit beschriebenen Sulfonium-salze.

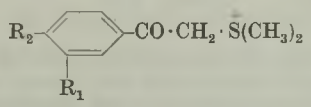
„Pharmakologisch wurden die Verbindungen XXVII, XXXI, XXXII, XXXVI, XXXVII, XXXVIII und XL geprüft. Mit Ausnahme der Verbindung XL wurde der Blutdruck am urethanisierten Kaninchen gesenkt. Lediglich die Verbindung XL steigert den Blutdruck unerheblich, wobei der Wirkungstypus nicht dem der Phenylalkylamine entspricht, sondern eher den Analeptica zuzuordnen ist. Am isolierten Froschherz erwiesen sich die Verbindungen XXVII, XXXI und XXXVI in geringem Ausmass und erst in relativ hohen Konzentrationen als kontraktionsverstärkend (positiv inotrop), worin eine gewisse Ähnlichkeit mit den Phenylalkylaminen besteht. Die andern Verbindungen vermindern die Kontraktionskraft (negativ inotrop). Qualitativ völlig anders geartet als bei den typischen Sympathicomimetica ist die tonisierende Wirkung am Dünndarm, die sowohl am Ganztier wie auch am isolierten Organ gefunden wurde. Eine therapeutische Anwendbarkeit hat sich aus diesen Befunden nicht ergeben.“

[1]) Vgl. *F. E. Ray* und *I. Levine*, J. Org. Chem. **2**, 267 (1937).

Tabelle 4.



Nr.		R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6
XXVII	Dimethyl-(β-oxy-β-phenyl-äthyl)-sulfonium	H	H	H	H	CH_3	CH_3
XXVIII	Diäthyl-(β-oxy-β-phenyl-äthyl)-sulfonium	H	H	H	H	C_2H_5	C_2H_5
XXIX	Dimethyl-(β-oxy-β-p-tolyl-äthyl)-sulfonium	H	CH_3	H	H	CH_3	CH_3
XXX	Diäthyl-(β-oxy-β-p-tolyl-äthyl)-sulfonium	H	CH_3	H	H	C_2H_5	C_2H_5
XXXI	Methyl-äthyl-[β-oxy-β-(p-methoxy-phenyl)-äthyl]-sulfonium . .	H	CH_3O	H	H	CH_3	C_2H_5
XXXII	Dimethyl-[β-oxy-β-(m,p-dimethoxy-phenyl)-äthyl]-sulfonium	CH_3O	CH_3O	H	H	CH_3	CH_3
XXXIII	Dimethyl-(β-oxy-β-phenyl-isopropyl)-sulfonium	H	H	H	CH_3	CH_3	CH_3
XXXIV	Diäthyl-(β-oxy-β-phenyl-isopropyl)-sulfonium	H	H	H	CH_3	C_2H_5	C_2H_5
XXXV	Dimethyl-[β-oxy-β-naphtyl-(2)-äthyl-]-sulfonium	—CH=CH—CH=CH—		H	H	CH_3	CH_3
XXXVI	Dimethyl-(β-oxy-β-phenyl-propyl)-sulfonium	H	H	CH_3	H	CH_3	CH_3
XXXVII	Diäthyl-(β-oxy-β-phenyl-propyl)-sulfonium	H	H	CH_3	H	C_2H_5	C_2H_5
XXXVIII	Dimethyl-(β-oxy-β,β-diphenyl-äthyl)-sulfonium	H	H	C_6H_5	H	CH_3	CH_3
XXXIX	Diäthyl-(β-oxy-β,β-diphenyl-äthyl)-sulfonium	H	H	C_6H_5	H	C_2H_5	C_2H_5



XL	Dimethyl-(m,p-dioxy-phenacyl)-sulfonium	HO	HO
XLI	Dimethyl-(m,p-dimethoxy-phenacyl)-sulfonium	CH_3O	CH_3O

Der *Gesellschaft für chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung und der *Kaštel A.G.* in Zagreb für die Erlaubnis der Veröffentlichung des in ihrem Laboratorium durchgeführten Teiles der Versuche.

Experimenteller Teil[1]).

A. Herstellung der Sulfid-ketone.

Methyl-phenacyl-sulfid (I).

Zu einer aus 50 cm³ absolutem Methanol und 2,95 g Natrium hergestellten Natriummethylat-Lösung wurden rasch zuerst 8,1 g Methyl-mercaptan in 20 cm³ Methanol und dann 20 g käufliches ω-Chlor-acetophenon zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde zwei Stunden zum Sieden erhitzt, über Nacht stehen gelassen und dann vom ausgeschiedenen Natriumchlorid filtriert. Nach dem Abdestillieren des Methanols blieb ein dickflüssiges Öl zurück, welches mit Wasser versetzt und in Äther aufgenommen wurde. Der Äther-Auszug wurde mit verdünnter Natronlauge und anschliessend mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und zuletzt im Vakuum destilliert.

Das Methyl-phenacyl-sulfid destillierte in Form eines farblosen Öles vom Sdp.$_{12\,mm}$ 131—137°, welches zur Analyse nochmals im Vakuum fraktioniert wurde; Sdp.$_{0,3\,mm}$ 94—96°, Ausbeute 19,1 g (88% d. Th.).

44,352 mg Subst. gaben 106,3 mg CO_2 und 24,0 mg H_2O

$C_9H_{10}OS$ Ber. C 65,01 H 6,07%
Gef. „ 65,41 „ 6,05%

Phenyl-glyoxal-dimethyl-mercaptal.

Bei der Herstellung von Methyl-phenacyl-sulfid wurden 1,5 g eines Nachlaufs vom Sdp.$_{12\,mm}$ 138—155° erhalten, welcher nach einiger Zeit zum grossen Teil krystallin erstarrte. Nach Umlösen aus Methanol krystallisierte das Produkt in farblosen Nadeln vom Smp. 68° und gab mit dem zum Vergleich hergestellten Phenyl-glyoxal-dimethylmercaptal keine Schmelzpunktserniedrigung. Das Nebenprodukt entstand offenbar aus ω,ω-Dichlor-acetophenon, welches dem durch Chlorierung von Acetophenon erhaltenen ω-Chlor-acetophenon beigemischt war.

Das Vergleichspräparat wurde erhalten, indem man eine Natrium-mercaptid-Lösung aus 3,1 g Natrium und 15 g Methyl-mercaptan in 100 cm³ Methanol mit einer Lösung von 6 g ω,ω-Dichlor-acetophenon[2]) in 30 cm³ Methanol 2 Stunden am Rückflusskühler erhitzte. Beim Eindampfen des vom Natriumchlorid abfiltrierten Reaktionsgemisches blieb ein hellgelbes Öl zurück, welches in der Kälte krystallisierte und durch Umlösen aus Methanol oder verdünntem Alkohol gereinigt wurde.

Zur Analyse trocknete man 8 Stunden bei 30° im Hochvakuum.

3,418 mg Subst. gaben 7,068 mg CO_2 und 1,781 mg H_2O

$C_{10}H_{12}OS_2$ Ber. C 56,57 H 5,70%
Gef. „ 56,44 „ 5,84%

Äthyl-phenacyl-sulfid (II).

In eine aus 2,3 g Natrium, 40 cm³ absolutem Alkohol und 7,4 g Äthyl-mercaptan hergestellte Natrium-mercaptid-Lösung wurde eine Lösung von 20,4 g ω-Brom-acetophenon in 40 cm³ absolutem Alkohol zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 4 Stunden am Rückfluss gekocht und auf die früher beschriebene Weise aufgearbeitet. Man erhielt 15,5 g (85% d. Th.) eines farblosen Öls, Sdp.$_{0,3\,mm}$ 104—106°. Durch wiederholte fraktionierte Destillation wurde daraus das reine Äthyl-phenacyl-sulfid, Sdp.$_{0,2\,mm}$ 96—98°, gewonnen.

32,660 mg Subst. gaben 79,80 mg CO_2 und 19,20 mg H_2O

$C_{10}H_{12}OS$ Ber. C 66,61 H 6,71%
Gef. „ 66,68 „ 6,58%

---

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

[2]) *H. Gautier*, Ann. chim. [6] **14**, 345, 347, 385 (1888).

Verschiedene Versuche haben gezeigt, dass ein Überschuss an Mercaptan sowie an Natrium-äthylat die Ausbeute bei der Herstellung von Äthyl-phenacyl-sulfid ungünstig beeinflusst.

Bei einem Überschuss an Mercaptan wurden beträchtliche Mengen niedrig siedender Nebenprodukte erhalten. Durch Destillation dieser Nebenprodukte konnten zwei Fraktionen erhalten werden: ein stark riechendes farbloses Öl vom Sdp.$_{12\,mm}$ 38—41°, welches als Diäthyl-disulfid, und eine krystalline Fraktion, Sdp.$_{12\,mm}$ 78—79°, welche als Acetophenon identifiziert werden konnte.

Bei einem Überschuss an Natrium-äthylat bildeten sich in grösseren Mengen höher siedende Kondensationsprodukte, welche ebenfalls die Ausbeuten herabsetzen.

Methyl-(p-methyl-phenacyl)-sulfid (III).

Auf übliche Weise erhielt man aus 10,65 g ω-Brom-p-methyl-acetophenon[1]) mit Natrium-methyl-mercaptid in absolutem Alkohol 7,1 g (79% d. Th.) eines fast farblosen Öls vom Sdp.$_{0,2\,mm}$ 92—100°. Zur Analyse wurde wiederholt im Hochvakuum fraktioniert, Sdp.$_{0,15\,mm}$ 92—95°.

2,630 mg Subst. verbrauchten 2,948 cm³ 0,01-n. NaOH
$C_{10}H_{12}OS$ Ber. S 17,80 Gef. S 17,97%

Äthyl-(p-methyl-phenacyl)-sulfid (IV).

Das aus ω-Brom-p-methyl-acetophenon[1]) und Natrium-äthyl-mercaptid hergestellte Produkt bildete ein schwach gelbliches Öl vom Sdp.$_{0,15\,mm}$ 103—106°; Ausbeute 53% der Theorie.

3,990 mg Subst. verbrauchten 4,043 cm³ 0,01-n. NaOH
$C_{11}H_{14}OS$ Ber. S 16,52 Gef. S 16,24%

Methyl-(p-methoxy-phenacyl)-sulfid (V).

Das aus 6,0 g ω-Chlor-p-methoxy-acetophenon[2]) in 50 cm³ absolutem Methanol und einer Natrium-methyl-mercaptid-Lösung aus 1,1 g Natrium in 50 cm³ Methanol und 2,4 g Methyl-mercaptan hergestellte rohe Produkt erstarrte krystallin und wurde aus Methanol umkrystallisiert. Es bildete flache Nadeln vom Smp. 33°. Ausbeute 6,0 g (94% d. Th.). Zur Analyse wurde 10 Stunden im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet.

4,065 mg Subst. gaben 9,132 mg CO_2 und 2,263 mg H_2O
$C_{10}H_{12}O_2S$ Ber. C 61,20 H 6,16%
Gef. „ 61,30 „ 6,23%

Äthyl-(p-methoxy-phenacyl)-sulfid (VI).

Aus 12 g Natrium in 300 cm³ Methanol und 25,7 g Äthyl-mercaptan stellte man eine Natrium-mercaptid-Lösung her, die man zu einer Lösung von 88,0 g ω-Chlor-p-methoxy-acetophenon in 200 cm³ Methanol zulaufen liess. Nach 7-stündigem Sieden wurde das Lösungsmittel durch Destillation entfernt und der Rückstand wie früher beschrieben aufgearbeitet.

Durch fraktionierte Destillation erhielt man 50,2 g (50% d. Th.) Äthyl-(p-methoxy-phenacyl)-sulfid vom Sdp.$_{11\,mm}$ 181° und 14,5 g eines krystallinen Vorlaufs, welcher als p-Methoxy-acetophenon identifiziert wurde.

---

[1]) *F. Kunckell*, B. **30**, 577 (1897).
[2]) *F. Kunckell* und *F. Johannsen*, B. **30**, 1715 (1897).

Methyl-(3, 4-dioxy-phenacyl)-sulfid (VII).

Aus 15,0 g 4-Chloracetyl-brenzcatechin[1]) und Natrium-methyl-mercaptid (1,85 g Natrium und 5 g Methyl-mercaptan in 100 cm³ absol. Alkohol) wurden 13,5 g (85% d. Th.) eines Produktes erhalten, welches aus Benzol umkrystallisiert bei 110° schmolz.

32,462 mg Subst. gaben 65,0 mg CO_2 und 14,9 mg H_2O

$C_9H_{10}O_3S$ Ber. C 54,51 H 5,09%
Gef. „ 54,64 „ 5,14%

Diacetyl-Derivat. Durch Stehenlassen des Methyl-(3,4-dioxy-phenacyl)-sulfids mit der zweifachen Menge Acetanhydrid und einer Spur konz. Schwefelsäure oder durch Einleiten von Keten in eine Suspension des Sulfids in Äther erhielt man das Diacetyl-Derivat, welches aus Alkohol umkrystallisiert bei 97—98° schmolz.

26,330 mg Subst. gaben 53,5 mg CO_2 und 12,1 mg H_2O

$C_{13}H_{14}O_5S$ Ber. C 55,31 H 5,00%
Gef. „ 55,45 „ 5,14%

Äthyl-(3, 4-dioxy-phenacyl)-sulfid (VIII).

Auf analoge Weise wie die vorhergehende Verbindung (VII) wurde mit Natrium-äthyl-mercaptid das entsprechende Äthyl-Derivat hergestellt. Aus Benzol umkrystallisiert schmolz es bei 94—94,5°.

24,502 mg Subst. gaben 51,0 mg CO_2 und 12,5 mg H_2O

$C_{10}H_{12}O_3S$ Ber. C 56,57 H 5,70%
Gef. „ 56,80 „ 5,71%

Dibenzoyl-Derivat. Das mit Benzoyl-chlorid in Pyridin erhaltene Dibenzoyl-Derivat krystallisierte in schwach gelblichen Säulen vom Smp. 107,5—108,5°.

27,040 mg Subst. gaben 67,9 mg CO_2 und 11,4 mg H_2O

$C_{24}H_{20}O_5S$ Ber. C 68,54 H 4,80%
Gef. „ 68,53 „ 4,72%

Methyl-(3, 4-dimethoxy-phenacyl)-sulfid (IX).

Aus 5,0 g ω-Chlor-3,4-dimethoxy-acetophenon[2]) und Natrium-methyl-mercaptid (1,45 g Methyl-mercaptan und 0,72 g Natrium in 15 cm³ Methanol) wurden nach Umlösen aus Methanol 2,65 g (53% d. Th.) eines farblosen Produktes vom Smp. 53° erhalten.

3,800 mg Subst. gaben 8,137 mg CO_2 und 2,108 mg H_2O

$C_{11}H_{14}O_3S$ Ber. C 58,38 H 6,24%
Gef. „ 58,44 „ 6,21%

Methyl-(α-benzoyl-äthyl)-sulfid (X).

Aus 9,5 g α-Brom-propiophenon[3]) und Natrium-methyl-mercaptid erhielt man 6,55 g (82% d. Th.) eines öligen Produktes vom Sdp.$_{0,2\,mm}$ 86—88°.

Äthyl-(α-benzoyl-äthyl)-sulfid (XI).

Auf analoge Weise wurde aus 9,5 g α-Brom-propiophenon mit Natrium-äthyl-mercaptid 7,5 g (87% d. Th.) eines farblosen Öls vom Sdp.$_{0,3\,mm}$ 100—102° gewonnen.

26,855 mg Subst. gaben 67,0 mg CO_2 und 17,3 mg H_2O

$C_{11}H_{14}OS$ Ber. C 67,98 H 7,27%
Gef. „ 68,09 „ 7,21%

---

[1]) *H. D. Hoberman*, Am. Soc. **57**, 1382 (1935).
[2]) *H. Stephen* und *C. Weizmann*, Soc. **105**, 1049 (1914).
[3]) *C. Schmidt*, B. **22**, 3251 (1889).

Methyl-β-naphtacyl-sulfid (XII).

Eine Natrium-methyl-mercaptid-Lösung aus 3,4 g Natrium in 60 cm³ absolutem Methanol und 7,1 g Methyl-mercaptan wurde mit 25 g ω-Chlor-β-acetonaphton[1]) in 60 cm³ Methanol 7 Stunden zum Sieden erhitzt und wie üblich aufgearbeitet. Zuletzt wurde das rohe Methyl-β-naphtacyl-sulfid in einem „molecular still" destilliert.

Zwischen 90—97° bei 0,2 mm gingen 15,5 g (59% d. Th.) eines hellgelben Öls über. Das Produkt krystallisierte aus Methanol in feinen Nadeln oder Blättchen vom Smp. 41°. Zur Analyse wurde 8 Stunden im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet.

2,124 mg Subst. gaben 5,592 mg CO_2 und 1,099 mg H_2O

$C_{13}H_{12}OS$	Ber. C 72,19	H 5,59%
	Gef. „ 71,85	„ 5,79%

Die zwischen 97—140° destillierenden höher siedenden Anteile liessen sich ebenfalls aus Methanol umkrystallisieren, wobei Nadeln vom Smp. 93° erhalten wurden. Zur Analyse wurde 8 Stunden bei 0,01 mm und 40° getrocknet.

3,980 mg Subst. gaben 9,392 mg CO_2 und 1,914 mg H_2O

$C_{14}H_{14}OS_2$	Ber. C 64,08	H 5,38%
	Gef. „ 64,40	„ 5,38%

Es handelt sich demnach um das β-Naphtyl-glyoxal-dimethyl-mercaptal[2]).

B. Herstellung der Sulfid-alkohole.

Methyl-(β-oxy-β-phenyl-äthyl)-sulfid (XIV).

a) Aus Methyl-phenacyl-sulfid.

10 g Methyl-phenacyl-sulfid, 180 cm³ absolutes Benzol und 12 g Aluminium-isopropylat[3]) wurden in einen Kolben mit einem 30 cm hohen *Vigreux*-Aufsatz und anschliessendem absteigendem Kühler zum Sieden erhitzt. Die Apparatur war gegen Feuchtigkeitszutritt durch ein Calciumchlorid-Rohr gesichert. Der Kolben wurde in einem Ölbad soweit erhitzt, dass etwa alle 30 Sekunden ein Tropfen überging. Sobald einige Tropfen des Destillates mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin (1 g in ½ Liter 0,5-n. Salzsäure gelöst) keine Trübung mehr gaben (nach 12—16 Stunden), wurde die Hauptmenge des noch vorhandenen Lösungsmittels durch Destillation entfernt. Den Rückstand versetzte man mit Wasser und Salzsäure und schüttelte mit Äther aus. Der Ätherauszug wurde gründlich mit verdünnter Salzsäure, mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und mit Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und durch Destillation vom Äther befreit. Die Destillation im Vakuum ergab 8,9 g (88% d. Th.) eines farblosen und fast geruchlosen Öls vom Sdp. $_{12\,mm}$ 141—142°. Zur Analyse wurde nochmals im Hochvakuum fraktioniert destilliert.

17,825 mg Subst. gaben 41,8 mg CO_2 und 11,2 mg H_2O

$C_9H_{12}OS$	Ber. C 64,23	H 7,19%
	Gef. „ 64,00	„ 7,03%

b) Aus β-Brom-α-phenyl-äthanol.

Zu einer Natrium-methyl-mercaptid-Lösung aus 1,15 g Natrium, 50 cm³ absolutem Alkohol und 5 g Methyl-mercaptan wurden 10 g β-Brom-α-phenyl-äthanol in 10 cm³ absolutem Alkohol zugetropft und das Gemisch 4 Stunden unter Rückfluss gekocht.

---

[1]) Aus β-Acetonaphton [*T. Immediata* und *A. R. Day*, J. Org. Chem. 5, 516 (1940)] durch Chlorierung unter Belichtung, Smp. 64°.

[2]) Vgl. S. 1214.

[3]) Vgl. *Th. Bersin* in: Neuere Methoden der präparativen Organischen Chemie I, Berlin 1943, S. 137.

Nach üblichem Aufarbeiten erhielt man 5,9 g (70% d. Th.) Methyl-(β-oxy-β-phenyl-äthyl)-sulfid, welches dieselben krystallinen Sulfonium-salze gab wie das auf dem ersten Wege hergestellte Produkt.

Äthyl-(β-oxy-β-phenyl-äthyl)-sulfid (XV).

a) Aus Äthyl-phenacyl-sulfid.

Durch Reduktion von 12 g Äthyl-phenacyl-sulfid in 80 cm³ Isopropylalkohol mit einer molaren Lösung von etwa 4 g Aluminium-isopropylat in Isopropylalkohol wurden 7 g (58% d. Th.) eines farblosen und fast geruchlosen Öls vom Sdp.$_{0,1\,mm}$ 96—101° erhalten.

35,698 mg Subst. gaben 86,6 mg CO_2 und 25,0 mg H_2O

$C_{10}H_{14}OS$ Ber. C 65,89 H 7,75%
Gef. „ 66,20 „ 7,84%

b) Aus β-Brom-α-phenyl-äthanol.

Dasselbe Produkt wurde durch Umsetzung einer Natrium-äthyl-mercaptid-Lösung aus 0,7 g Natrium in 10 cm³ absolutem Alkohol und 2,1 g Äthyl-mercaptan mit 6 g β-Brom-α-phenyl-äthanol hergestellt; Ausbeute 4,4 g (81% d. Th.).

Äthyl-(β-oxy-β-phenyl-äthyl)-sulfoxyd.

0,5 g des Sulfids wurden in 0,5 g Eisessig gelöst und unter starker Kühlung tropfenweise mit 0,37 g 27-proz. Wasserstoffperoxyd versetzt. Die Mischung wurde im Eisschrank über Nacht stehen gelassen und dann nach Zusatz von 5 cm³ Wasser im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand erstarrte bald zu einer Krystallmasse, welche aus viel Äther umgelöst wurde. Die erhaltenen farblosen Prismen schmolzen bei 102,5°.

28,518 mg Subst. gaben 63,3 mg CO_2 und 18,4 mg H_2O

$C_{10}H_{14}O_2S$ Ber. C 60,55 H 7,12%
Gef. „ 60,57 „ 7,22%

Methyl-(β-oxy-β-p-tolyl-äthyl)-sulfid (XVI).

Aus 5,1 g (Methyl-phenacyl)-sulfid erhielt man 4,1 g (79% d. Th.) eines farblosen Öls. Zur Analyse wurde nochmals im Hochvakuum destilliert; Sdp.$_{0,2\,mm}$ 94—95°.

2,557 mg Subst. verbrauchten 2,756 cm³ 0,01-n. NaOH

$C_{10}H_{14}OS$ Ber. S 17,60 Gef. S 17,28%

Äthyl-(β-oxy-β-p-tolyl-äthyl)-sulfid (XVII).

Durch Reduktion von Äthyl-(p-methyl-phenacyl)-sulfid mit Aluminium-isopropylat bildete sich ein farbloses Öl vom Sdp.$_{0,2\,mm}$ 98—99°; Ausbeute 77% der Theorie.

1,745 mg Subst. verbrauchten 1,788 cm³ 0,01-n. NaOH

$C_{11}H_{16}OS$ Ber. S 16,34 Gef. S 16,40%

Äthyl-[β-oxy-β-(p-methoxy-phenyl)-äthyl]-sulfid (XVIII).

Auf übliche Weise gaben 20 g Äthyl-(p-methoxy-phenacyl)-sulfid 11,4 g (57% d. Th.) eines hellgelben Öles vom Sdp.$_{0,5\,mm}$ 125—126°.

Methyl-[β-oxy-β-(m,p-dimethoxy-phenyl)-äthyl]-sulfid (XIX).

Durch Reduktion von 3 g Methyl-(m,p-dimethoxy-phenacyl)-sulfid erhielt man 2,83 g (94% d. Th.) eines krystallinen Produktes, welches aus Methanol umkrystallisiert bei 71° schmolz.

3,930 mg Subst. gaben 8,339 mg CO_2 und 2,481 mg H_2O

$C_{11}H_{16}O_3S$ Ber. C 57,87 H 7,06%
Gef. „ 57,91 „ 7,06%

Methyl-(β-oxy-β-phenyl-isopropyl)-sulfid (XX).

Aus 5,5 g Methyl-(α-benzoyl-äthyl)-sulfid wurden 4,75 g (85% d. Th.) eines farblosen öligen Produktes, Sdp.$_{0,3\,mm}$ 85—87° erhalten.

1,640 mg Subst. verbrauchten 1,808 cm³ 0,01-n. NaOH

$C_{10}H_{14}OS$ Ber. S 17,60 Gef. S 17,61%

Äthyl-(β-oxy-β-phenyl-isopropyl)-sulfid (XXI).

Auf übliche Weise gaben 6,0 g Äthyl-(α-benzoyl-äthyl)-sulfid 5,1 g (84% d. Th.) eines farblosen Öls, Sdp.$_{0,1\,mm}$ 86—88°.

28,558 mg Subst. gaben 70,2 mg CO_2 und 21,5 mg H_2O

$C_{11}H_{16}OS$ Ber. C 67,30 H 8,22%
Gef. „ 67,08 „ 8,42%

Methyl-[β-oxy-β-naphtyl-(2)-äthyl]-sulfid (XXII).

Das Reaktionsprodukt aus der Reduktion von 7,5 g Methyl-β-naphtacyl-sulfid wurde in einem „molecular still" fraktioniert destilliert. Da weitere Reinigung mit Schwierigkeiten verbunden war, wurde die Fraktion Sdp.$_{0,1\,mm}$ 130—170° (3 g) direkt zur Herstellung der Sulfonium-salze verwendet.

ω-(Methyl-thio)-p-methoxy-styrol (XIII).

5,9 g Methyl-(p-methoxy-phenacyl)-sulfid, 100 cm³ Isopropylalkohol und 2,8 g eines einige Monate alten und etwas zersetzten Aluminium-isopropylates wurden wie üblich destilliert, bis im Destillat kein Aceton mehr nachgewiesen werden konnte. Nachdem das überschüssige Lösungsmittel abdestilliert worden war, wurde das zurückbleibende Reaktionsprodukt mit Wasser und Salzsäure versetzt und in Äther aufgenommen. Der mit Salzsäure gründlich gewaschene Ätherauszug wurde mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und hierauf vom Äther, zuletzt im Vakuum, befreit. Der Rückstand liess sich aus Methanol umkrystallisieren und ergab 4,0 g (74% d. Th.) farblose Krystalle vom Smp. 73°. Zur Analyse wurde bei 40° 8 Stunden im Hochvakuum getrocknet.

3,700 mg Subst. gaben 9,023 mg CO_2 und 2,220 mg H_2O

$C_{10}H_{12}OS$ Ber. C 66,63 H 6,71%
Gef. „ 66,55 „ 6,71%

Methyl-(β-oxy-β-phenyl-propyl)-sulfid (XXIII).

Das Methyl-magnesium-jodid wurde auf übliche Weise aus 6,7 g Magnesium und 37 g Methyljodid in 150 cm³ Äther hergestellt. Zu dieser Lösung tropfte man unter Umschwenken langsam 15,0 g Methyl-phenacyl-sulfid in 70 cm³ Äther ein und erwärmte das ganze 2 Stunden auf dem Wasserbad. Das Reaktionsgemisch wurde mit Eis und konz. Ammoniumchlorid-Lösung zersetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Nach gründlichem mehrmaligem Waschen des Ätherauszuges mit Wasser, Trocknen mit Natriumsulfat und Abdestillieren des Äthers destillierte man im Vakuum.

Die Hauptfraktion bildete ein farbloses Öl vom Sdp.$_{12\,mm}$ 138—139°; Ausbeute 12,4 g (75% d. Th.). Zur Analyse wurde nochmals im Vakuum fraktioniert destilliert.

3,921 mg Subst. gaben 9,479 mg CO_2 und 2,688 mg H_2O

$C_{10}H_{14}OS$ Ber. C 65,89 H 7,74%
Gef. „ 65,97 „ 7,67%

Äthyl-(β-oxy-β-phenyl-propyl)-sulfid (XXIV).

Auf analoge Weise erhielt man aus 10 g Äthyl-phenacyl-sulfid und Methyl-magnesium-jodid 8,4 g (77% d. Th.) eines farblosen Öls vom Sdp.$_{12\,mm}$ 130—150°, welches ohne weitere Reinigung für die Herstellung des Sulfonium-jodids verwendet wurde.

Methyl-(β-oxy-β,β-diphenyl-äthyl)-sulfid (XXV).

Zu einer aus 4 g Magnesium (mit Jod angeätzt) und 27 g frisch destilliertem Brombenzol in 200 cm³ Äther hergestellten Lösung von Phenyl-magnesium-bromid wurden 9,0 g Methyl-phenacyl-sulfid in 50 cm³ Äther zugetropft und das Ganze 5 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Nachdem das Reaktionsprodukt mit Eis und Ammoniumchlorid zersetzt worden war, wurde mit Äther ausgeschüttelt. Der Ätherauszug wurde mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Äthers erhielt man 15 g eines hellgelben Öles, welches zur Entfernung des als Nebenprodukt entstandenen Diphenyls mit Wasserdampf destilliert wurde. Es blieben 11,0 g (83% d. Th.) eines nichtflüchtigen Öles zurück. Das Rohprodukt zersetzte sich bei der Destillation im Hochvakuum und wurde für die Herstellung der Sulfonium-salze ohne weitere Reinigung verwendet.

Äthyl-(β-oxy-β,β-diphenyl-äthyl)-sulfid (XXVI).

Das aus 15,0 g Äthyl-phenacyl-sulfid und Phenyl-magnesium-bromid hergestellte und mit Wasserdampf vom Diphenyl befreite Rohprodukt krystallisierte nach einigem Stehen in der Kälte aus. Durch Umkrystallisieren aus Petroläther konnten 9,2 g (43% d. Th.) feine Nadeln vom Smp. 41,5° erhalten werden. Zur Analyse wurde 12 Stunden im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet.

3,709 mg Subst. gaben 10,157 mg CO_2 und 2,329 mg H_2O

$C_{16}H_{18}OS$ Ber. C 74,45 H 6,99%
Gef. „ 74,73 „ 7,03%

C. Herstellung der Sulfonium-salze.

Die Sulfonium-jodide wurden allgemein durch Umsetzen der Sulfide mit einem Überschuss an Methyl- oder Äthyl-jodid bei Zimmertemperatur und im Dunkeln hergestellt. Das Methyl-jodid wurde mit 1—2 Volumen Aceton verdünnt, während Äthyl-jodid, welches träge reagiert, unverdünnt verwendet wurde. Die gebildeten Sulfonium-salze schieden sich aus den Reaktionsgemischen als braungefärbte Öle oder Krystalle aus. Die Addition von Methyl-jodid war meistens in 1—3 Tagen beendet; die Umsetzungen mit Äthyl-jodid dauerten 2—3 Wochen.

Zur Reinigung versetzte man das Reaktionsgemisch mit Wasser und schüttelte die nicht umgesetzten Reaktionskomponenten mit Äther aus. Die wässerigen Lösungen der Sulfonium-jodide wurden darauf im Vakuum bei möglichst niedriger Temperatur zur Trockene verdampft. Die Rückstände wurden entweder durch Krystallisation gereinigt oder durch Schütteln mit frisch gefälltem und sorgfältig gewaschenem Silberchlorid in die Sulfonium-chloride übergeführt. Nach dem Abfiltrieren der Silberhalogenide erhielt man die Chloride durch Eindampfen im Vakuum.

Die Sulfonium-methosulfate wurden durch Umsetzen der Sulfide in etwa 10-proz. benzolischer Lösung mit äquimolaren Mengen Dimethyl-sulfat bei Zimmertemperatur hergestellt.

Die Sulfonium-pikrate wurden durch Fällen der Halogenide oder Methosulfate mit Natrium-pikrat in wässeriger Lösung gewonnen.

Zur Analyse wurden die Sulfonium-salze gewöhnlich bei 40—80° im Hochvakuum etwa 8 Stunden getrocknet.

Dimethyl-(β-oxy-β-phenyl-äthyl)-sulfonium-salze (XXVII).

Das Jodid krystallisierte man aus Alkohol um. Die farblosen Nadeln schmolzen bei 132,5—133,5° (Zers.).

3,800 mg Subst. gaben 5,408 mg CO_2 und 1,673 mg H_2O

$C_{10}H_{15}OSJ$ Ber. C 38,72 H 4,87%
Gef. „ 38,84 „ 4,92%

Das Chlorid bildete aus Alkohol-Aceton oder Methanol-Äther farblose Krystalle vom Smp. 131—132° (Zers.).

3,754 mg Subst. gaben 7,553 mg CO_2 und 2,343 mg H_2O

$C_{10}H_{15}OSCl$ Ber. C 54,90 H 6,91%
Gef. „ 54,91 „ 6,98%

Das Methosulfat wurde aus Methanol umgelöst, Smp. 88°.

3,848 mg Subst. gaben 6,330 mg CO_2 und 2,141 mg H_2O

$C_{11}H_{18}O_5S_2$ Ber. C 44,88 H 6,16%
Gef. „ 44,89 „ 6,23%

Das Pikrat bildete aus Wasser umgelöst gelbe Prismen, Smp. 123—124°.

4,394 mg Subst. gaben 0,392 cm³ N_2 (21°, 763 mm)

$C_{16}H_{17}O_8N_3S$ Ber. N 10,22 Gef. N 10,40%

Diäthyl-(β-oxy-β-phenyl-äthyl)-sulfonium-salze (XXVIII).

Das Jodid und das Chlorid konnten nicht zur Krystallisation gebracht werden. Das Pikrat krystallisierte hingegen aus Wasser in schönen gelben Prismen vom Smp. 103,5—104,5°.

3,850 mg Subst. gaben 6,936 mg CO_2 und 1,674 mg H_2O
4,724 mg Subst. gaben 0,403 cm³ N_2 (18°, 742 mm)

$C_{18}H_{21}O_8N_3S$ Ber. C 49,20 H 4,83 N 9,57%
Gef. „ 49,16 „ 4,86 „ 9,77%

Dimethyl-(β-oxy-β-p-tolyl-äthyl)-sulfonium-salze (XXIX).

Das Jodid krystallisierte in farblosen Nadeln, Smp. 152—153° (Zers.). Das Chlorid, farblose Pyramiden aus Alkohol-Aceton, schmolz bei 138—139° (Zers.).

26,230 mg Subst. gaben 54,6 mg CO_2 und 17,1 mg H_2O

$C_{11}H_{17}OSCl$ Ber. C 56,74 H 7,36%
Gef. „ 56,81 „ 7,29%

Das Pikrat bildete gelbe Nadeln aus Wasser, Smp. 154—155°.

3,862 mg Subst. gaben 0,332 cm³ N_2 (19°, 751 mm)

$C_{17}H_{19}O_8N_3S$ Ber. N 9,90 Gef. N 9,93%

Diäthyl-(β-oxy-β-p-tolyl-äthyl)-sulfonium-salze (XXX).

Da das Jodid und das Chlorid nicht krystallisierten, wurde das Pikrat, gelbe Prismen aus Wasser vom Smp. 125°, hergestellt.

4,416 mg Subst. gaben 0,368 cm³ N_2 (19°, 753 mm)

$C_{19}H_{23}O_8N_3S$ Ber. N 9,27 Gef. N 9,65%

Methyl-äthyl-[β-oxy-β-(p-methoxy-phenyl)-äthyl]-sulfonium-salze (XXXI).

Das Jodid, welches aus Äthyl-[β-oxy-β-(p-methoxy-phenyl)-äthyl]-sulfid und Methyl-jodid erhalten wurde, krystallisierte aus Methanol-Äther in weissen Krystallen vom Smp. 126,5° (Zers.).

4,460 mg Subst. gaben 6,646 mg CO_2 und 2,135 mg H_2O

$C_{12}H_{19}O_2SJ$ Ber. C 40,68 H 5,41%
Gef. „ 40,67 „ 5,36%

Das Chlorid krystallisierte aus wasserhaltigem Methanol nach Überschichten mit Äther als Monohydrat vom Smp. 80° (Zers.).

3,668 mg Subst. gaben 6,887 mg CO_2 und 2,440 mg H_2O

$C_{12}H_{21}O_3SCl$ Ber. C 51,32 H 7,54%
Gef. „ 51,24 „ 7,44%

Das Methosulfat bildete aus Methanol-Äther weisse Prismen vom Smp. 117°.

3,661 mg Subst. gaben 6,180 mg CO_2 und 2,173 mg H_2O

$C_{13}H_{22}O_6S_2$ Ber. C 46,13 H 6,55%
Gef. „ 46,07 „ 6,64%

Dimethyl-[β-oxy-β-(m,p-dimethoxy-phenyl)-äthyl]-sulfonium-salze (XXXII).

Das Jodid wurde aus Methanol umkrystallisiert und schmolz dann bei 139—140°.

3,641 mg Subst. gaben 5,199 mg CO_2 und 1,676 mg H_2O

$C_{12}H_{19}O_3SJ$ Ber. C 38,92 H 5,17%
Gef. „ 38,97 „ 5,15%

Aus dem Jodid wurde auf übliche Weise das hygroskopische Chlorid hergestellt, welches aus Methanol-Aceton umgelöst bei 144° schmolz.

Dimethyl-(β-oxy-β-phenyl-isopropyl)-sulfonium-salze (XXXIII).

Das Jodid und Chlorid bilden Gemische zweier diastereomerer Verbindungen und liessen sich nicht krystallin erhalten. Durch mehrmaliges Umkrystallisieren des Pikrates aus Wasser erhielt man gelbe Prismen vom Smp. 96,5—97,5°.

3,622 mg Subst. gaben 0,311 cm³ N_2 (22°, 745 mm)

$C_{17}H_{19}O_8N_3S$ Ber. N 9,88 Gef. N 9,74%

Diäthyl-(β-oxy-β-phenyl-isopropyl)-sulfonium-salze (XXXIV).

Ebenso wie bei der vorhergehenden Sulfonium-base handelt es sich auch hier bei den Halogeniden um nicht krystalline Gemische diastereomerer Verbindungen. Das Pikrat, kleine gelbe Prismen aus Wasser, schmolz bei 74—76°.

5,370 mg Subst. gaben 0,441 cm³ N_2 (24°, 745 mm)

$C_{19}H_{23}O_8N_3S$ Ber. N 9,27 Gef. N 9,25%

Dimethyl-[β-oxy-β-naphtyl-(2)-äthyl]-sulfonium-salze (XXXV).

Das zersetzliche Jodid wurde sofort in das beständigere Chlorid übergeführt, welches aus Alkohol-Äther umgelöst in feinen farblosen Nädelchen vom Smp. 150—155° (Zers.) krystallisierte.

3,594 mg Subst. gaben 8,183 mg CO_2 und 2,071 mg H_2O

$C_{14}H_{17}OSCl$ Ber. C 62,55 H 6,38%
Gef. „ 62,14 „ 6,45%

Das Pikrat, gelbe Nadeln aus Alkohol-Äther, schmolz bei 169—170°.

2,468 mg Subst. gaben 4,680 mg CO_2 und 0,932 mg H_2O

$C_{20}H_{19}O_8N_3S$ Ber. C 52,05 H 4,15%
Gef. „ 51,75 „ 4,23%

Dimethyl-(β-oxy-β-phenyl-propyl)-sulfonium-salze (XXXVI).

Das Jodid schmolz nach Umkrystallisieren aus absolutem Methanol-Äther bei 125—126,5° (Zers.).

3,904 mg Subst. gaben 5,833 mg CO_2 und 1,898 mg H_2O

$C_{11}H_{17}OSJ$ Ber. C 40,75 H 5,29%
Gef. „ 40,77 „ 5,44%

Das Chlorid wurde ebenfalls aus absolutem Methanol durch Überschichten mit Äther umgelöst, Smp. 128° (Zers.).

3,741 mg Subst. gaben 7,731 mg CO_2 und 2,378 mg H_2O

$C_{11}H_{17}OSCl$ Ber. C 56,76 H 7,36%
Gef. „ 56,40 „ 7,11%

Diäthyl-(β-oxy-β-phenyl-propyl)-sulfonium-salze (XXXVII).

Das Jodid wurde aus Methanol-Äther umkrystallisiert Smp. 117°.

3,858 mg Subst. gaben 6,264 mg CO_2 und 2,212 mg H_2O
$C_{13}H_{21}OJS$ Ber. C 44,32 H 6,01%
Gef. „ 44,31 „ 6,42%

Das Pikrat wurde aus Methanol umkrystallisiert, Smp. 96° (Zers.).

3,668 mg Subst. gaben 6,738 mg CO_2 und 1,613 mg H_2O
$C_{19}H_{23}O_8N_3S$ Ber. C 50,32 H 5,11%
Gef. „ 50,13 „ 4,92%

Dimethyl-(β-oxy-β,β-diphenyl-äthyl)-sulfonium-salze (XXXVIII).

Das Jodid krystallisierte aus Methanol-Äther in feinen Nädelchen vom Smp. 152 bis 153° (Zers.).

3,800 mg Subst. gaben 6,881 mg CO_2 und 1,764 mg H_2O
$C_{16}H_{19}OSJ$ Ber. C 49,75 H 4,96%
Gef. „ 49,42 „ 5,19%

Das Chlorid schmolz, aus Methanol-Äther umgelöst, bei 173° (Zers.).

3,532 mg Subst. gaben 8,412 mg CO_2 und 2,071 mg H_2O
$C_{16}H_{19}OSCl$ Ber. C 65,18 H 6,50%
Gef. „ 65,00 „ 6,56%

Diäthyl-(β-oxy-β,β-diphenyl-äthyl)-sulfonium-salze (XXXIX).

Das Jodid bildete aus Methanol-Äther grosse rhombenförmige Krystalle vom Smp. 158—160° (Zers.).

4,068 mg Subst. gaben 7,77 mg CO_2 und 2,10 mg H_2O
$C_{18}H_{23}OSJ$ Ber. C 52,17 H 5,60%
Gef. „ 52,12 „ 5,78%

Das Chlorid krystallisierte aus Methanol-Äther in farblosen Prismen vom Smp. 167,5 (Zers.).

3,912 mg Subst. gaben 9,590 mg CO_2 und 2,540 mg H_2O
$C_{18}H_{23}OSCl$ Ber. C 66,95 H 7,18%
Gef. „ 66,90 „ 7,27%

Dimethyl-(m,p-dioxy-phenacyl)-sulfonium-salze (XL).

Das Jodid bildete farblose Prismen aus Alkohol, Smp. 130—130,5°.

Das Chlorid krystallisierte aus Alkohol in perlmutterglänzenden Plättchen, Smp. 151,5—152,5°.

20,732 mg Subst. gaben 36,6 mg CO_2 und 10,1 mg H_2O
$C_{10}H_{13}O_3SCl$ Ber. C 48,28 H 5,27%
Gef. „ 48,18 „ 5,45%

Dimethyl-(m,p-dimethoxy-phenacyl)-sulfonium-salze (XLI).

Das Jodid wurde aus Methanol umkrystallisiert, Smp. 107—108°.

3,878 mg Subst. gaben 5,569 mg CO_2 und 1,605 mg H_2O
$C_{12}H_{17}O_3SJ$ Ber. C 39,14 H 4,65%
Gef. „ 39,19 „ 4,63%

Dimethyl-(p-methoxy-styryl)-sulfonium-salze.

Das ω-(Methyl-thio)-p-methoxy-styrol (XIII) gab mit Methyl-jodid in Aceton ein krystallines Jodid, farblose Prismen aus Methanol, Smp. 125—126° (Zers.). Dieses wurde in das Chlorid, farblose Blättchen aus Methanol-Äther, vom Smp. 142—143° (Zers.) umgewandelt.

3,711 mg Subst. gaben 7,785 mg CO_2 und 2,193 mg H_2O

$C_{11}H_{15}OSCl$ Ber. C 57,25 H 6,55%
Gef. „ 57,25 „ 6,61%

Die Analysen wurden von Frau *N. Cerkovnikov* und von Herrn *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich;
Wissenschaftliches Laboratorium der *Kastel A.G.*, Zagreb.

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.)

Chimie, par *Robert Delacrausaz*, Directeur du Collège de Moudon, 234 pages, 112 ill., Librairie *Payot*, Lausanne, 1944.

Jahresbericht des Schweizerischen Roten Kreuzes und des Schweizerischen Roten Kreuzes, Kinderhilfe, für das Jahr 1943, 338 SS.

Des transpositions intramoléculaires dans le groupe des iminosulfures, étudiées à l'Académie, puis à l'Université de Neuchâtel de 1893 à 1943, par *H. Rivier*. Extrait du Bulletin de la Société neuchâteloise des Sciences naturelles, tome **68**, 27—31 (1943).