

## 186. Über Carotinoide aus Blüten des Besenginsters (*Sarothamnus scoparius*). Chrysanthemaxanthin

von P. Karrer und E. Jucker.

(5. IX. 44.)

Blüten von Ginsterarten sind schon wiederholt auf das Vorkommen von Carotinoiden geprüft worden. 1888 wies *Courchet*<sup>1)</sup> qualitativ nach, dass die Blüten von *Genista racemosa* und *Genista tinctoria* solche Farbstoffe enthalten. *Schön* und *Mesquita*<sup>2)</sup> untersuchten die Blüten von *Genista tridentata* und isolierten daraus  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin und Xanthophyll. Und *Schön*<sup>3)</sup> berichtet, dass die Blüten von Stechginsterarten, und zwar von *Ulex europaeus* und *Ulex galli*  $\alpha$ -,  $\beta$ -Carotin, Violaxanthin, Taraxanthin und vielleicht Flavoxanthin enthalten.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den Carotinoidfarbstoffen aus Blüten des Besenginsters, die aus dem Kanton Tessin stammten. Zur Extraktion gelangten 6 kg getrocknetes Blütenpulver. An epiphasischen Farbstoffen wurden  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin nachgewiesen. Auch der hypophasische Pigmentanteil war ein Gemisch. Es bestand aus Xanthophyll  $C_{40}H_{56}O_2$  und einem Farbstoff, den wir erst kürzlich<sup>4)</sup> in einer Chrysanthemen-Blüte entdeckt hatten, dem Chrysanthemaxanthin. In den Ginsterblüten war es viel reichlicher vorhanden als in jenen der Chrysanthemen, so dass wir diese Verbindung nun etwas genauer untersuchen konnten. (In Ginsterblüten, die aus einer andern Gegend stammten, wurde ausserdem Flavoxanthin gefunden.)

Chrysanthemaxanthin wird etwas stärker als Xanthophyll in der Absorptionssäule zurückgehalten, doch sind die Unterschiede nicht sehr gross, was eine mehrmalige chromatographische Trennung erforderlich macht. Mischungen der beiden Pigmente besaßen in Schwefelkohlenstoff Absorptionsmaxima bei 500 und 470  $m\mu$  und hätten daher das Vorliegen von Taraxanthin vortäuschen können. Wir vermuten, dass sich die Angaben von *Schön*<sup>3)</sup>, aus Ginsterblüten Taraxanthin isoliert zu haben, vielleicht auf solche Mischungen beziehen; Analysen werden keine angegeben. Auch bei der Untersuchung der Carotinoide der Chrysanthemenblüten hatten wir seiner Zeit<sup>5)</sup> im

<sup>1)</sup> Ann. Sci. nat. bot. [VII], 7, 263 (1888). — Dasselbe erwähnt *Tammes*, Flora Jena 87, 205 (1900).

<sup>2)</sup> Biochem. J. 30, 1966 (1936).      <sup>3)</sup> Biochem. J. 30, 1960 (1936).

<sup>4)</sup> P. Karrer und E. Jucker, Helv. 26, 626 (1943).

<sup>5)</sup> P. Karrer und E. Jucker, Helv. 26, 626 (1943).

Chromatogramm eine unter dem Chrysanthemaxanthin liegende, kleine Zone beobachtet, welche die Absorptionsmaxima des Taraxanthins aufwies und in der wir daher diesen Farbstoff vermuteten. Auf Grund unserer neuen Erfahrungen bezweifeln wir, dass diese Auffassung richtig war; wir glauben, dass auch jene Farbstoffschicht mit den Absorptionsbanden des Taraxanthins in Wirklichkeit noch eine Mischung von Chrysanthemaxanthin und Xanthophyll darstellte.

Nachdem es in diesem Laboratorium<sup>1)</sup> auch nie gelungen ist, aus Löwenzahnblüten, in denen Taraxanthin entdeckt worden sein soll<sup>2)</sup>, dieses zu isolieren, scheint uns die Frage nach der Einheitlichkeit, bzw. Existenz dieses Farbstoffs erneut zur Diskussion zu stehen. Es wird nachzuprüfen sein, ob sich die wenigen anderen, in der Literatur verzeichneten Vorkommen von Taraxanthin bestätigen lassen (im Springkraut, *Impatiens noli me tangere*<sup>3)</sup>, in *Ranunculus acer*<sup>4)</sup>, in *Helianthus annuus*<sup>5)</sup>, *Leontodon autumnalis*<sup>6)</sup>, in *Tussilago farfara*<sup>7)</sup>).

Chrysanthemaxanthin krystallisiert in goldgelben Blättchen und schmilzt bei 184—185° (unkorrigiert, im evakuierten Röhrchen). Bei der Einwirkung konz. wässriger Salzsäure auf die Ätherlösung des Farbstoffs tritt keine Blaufärbung ein. Die Zusammensetzung des Chrysanthemaxanthins scheint  $C_{40}H_{56}O_3$  zu sein; die Kohlenstoffbestimmungen lieferten allerdings bisweilen etwas zu tief liegende Werte. Der gegenüber Xanthophyll höhere Sauerstoffgehalt steht mit der Tatsache, dass Chrysanthemaxanthin im Chromatogramm über dem Xanthophyll liegt, in Übereinstimmung.

Die Mikrohydrierung führte zur Aufnahme von 11 Mol Wasserstoff. Chrysanthemaxanthin besitzt somit 11 Kohlenstoffdoppelbindungen, von denen nach der Lage der Absorptionsbanden (in Schwefelkohlenstoff Maxima bei 480 und 450  $m\mu$ ) mehrere (2—3) nicht in Konjugation stehen dürften. Methoxyl- und Carbonylgruppen liessen sich in dem Pigment nicht nachweisen, wohl aber drei Hydroxylgruppen mit der Methode von *Zerewitinoff*.

Wir versuchten, zwecks Bestimmung der Zahl der im Chrysanthemaxanthin vorhandenen, veresterbaren OH-Gruppen einen p-Nitrobenzoesäure-ester darzustellen. Mangels Material wurde die Verbindung bisher nicht in ganz reinem Zustand erhalten. Die Analyse macht es indessen sehr wahrscheinlich, dass ein Di-ester entstanden war.

<sup>1)</sup> P. Karrer und J. Rutschmann, *Helv.* **25**, 1144 (1942).

<sup>2)</sup> R. Kuhn und Lederer, *Z. physiol. Ch.* **200**, 108 (1931).

<sup>3)</sup> R. Kuhn und Lederer, *Z. physiol. Ch.* **213**, 188 (1932).

<sup>4)</sup> R. Kuhn und Brockmann, *Z. physiol. Ch.* **213**, 192 (1932).

<sup>5)</sup> Zechmeister und Tuzson, *B.* **67**, 170 (1934).

<sup>6)</sup> R. Kuhn und Lederer, *Z. physiol. Ch.* **213**, 188 (1932).

<sup>7)</sup> P. Karrer und R. Morj, *Helv.* **15**, 863 (1932).

### Experimenteller Teil.

Zur Extraktion gelangen 6 kg getrocknete und fein gemahlene Ginsterblüten. Sie wurden mit Petroläther erschöpfend ausgezogen, das Lösungsmittel abdestilliert und der ölige Rückstand mehrmals mit Alkohol ausgekocht, wobei eine grosse Menge farbloser Bestandteile in Lösung ging. Es ist vorteilhaft, die Begleitstoffe schon vor der Verseifung der Polyenester grösstenteils abzutrennen. Nach dieser Behandlung gelingt es dann mühelos, die Carotinoide nach der Verseifung in krystallisierter Form zu erhalten. Nach den Auskochungen mit Alkohol blieb eine geringe Menge dunkelrotes Harz zurück, das die Phytoxanthinester enthielt und wie üblich mit alkoholischer Kalilauge verseift wurde. Hierauf arbeitete man in üblicher Weise das Verseifungsprodukt auf, trennte die Carotinoide durch Verteilung zwischen Petroläther-Methanol in hypophasische und epiphasische Pigmente und chromatographierte die hypophasischen Farbstoffe aus Benzollösung an einer Säule von Aluminiumoxyd, wobei das Chromatogramm zuerst mittels Benzol, hierauf mit einer Mischung von Benzol und Äther (1:1) entwickelt wurde. Nach der Elution der Farbstoffschicht erhielten wir 1,27 g Krystalle des Carotinoidgemisches (aus Methanol krystallisiert).

#### Trennung des Carotinoidgemisches.

Der krystallisierte, rohe Farbstoff wurde an Zinkcarbonat chromatographiert und das Chromatogramm mit Benzol entwickelt:

		Absorpt. Max. in CS <sub>2</sub>	479	449	mμ
1.	(oberste) Zone orange	„ „ „ „	479	449	mμ
2.	„ „ hellorange	„ „ „ „	480		mμ
3.	„ „ orange	„ „ „ „	500	470	mμ
4.	„ „ orange	„ „ „ „	502	471	mμ
5.	„ „ rot	„ „ „ „	509	479	mμ
6.	„ „ karmin	„ „ „ „	509	479	mμ

Die Schichten 5 und 6 enthielten Xanthophyll. Der Farbstoff wurde nach der üblichen Aufarbeitung gut krystallisiert erhalten und als Xanthophyll identifiziert.

#### 2. Chromatogramm.

Die Farbstoffe aus den Zonen 1 und 2 haben wir nach der Elution vereinigt und nochmals an Zinkcarbonat chromatographiert:

		Absorpt. Max. in CS <sub>2</sub>	480	450	mμ
1a	(oberste) Zone (3 cm)	„ „ „ „	480	450	mμ
2a	„ „ (2 cm)	„ „ „ „	480	450	mμ
3a	„ „ (3 cm)	„ „ „ „	509	479	mμ

Nach der Elution und üblichen Aufarbeitung liessen sich die Farbstoffe aller 3 Schichten krystallisiert isolieren. Derjenige aus Zone 3a war Xanthophyll, die Pigmente aus den Zonen 1a und 2a erwiesen sich identisch (Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt, übliche Eigenschaften); sie waren Chrysanthemaxanthin.

#### 3. Chromatogramm.

Die Farbstoffe aus den Zonen 3 und 4 des ersten Chromatogramms, 400 mg, die dieselben Absorptionsmaxima wie Taraxanthin besaßen, wurden ebenfalls als Mischungen erkannt und daher einem neuen chromatographischen Trennungsverfahren an Zinkcarbonat unterworfen:

		Absorpt. Max. in CS <sub>2</sub>	480	450	mμ
1b	(oberste) Zone (2 cm)	„ „ „ „	480	450	mμ
2b	„ „ (3 cm)	„ „ „ „	501	471	mμ
3b	„ „ (2 cm)	„ „ „ „	509	479	mμ

Aus Zone 1b wurde nach der Elution Chrysanthemaxanthin, aus Zone 3b Xanthophyll erhalten, während die Mittelschicht 2b wiederum aus dem Gemisch der beiden Farbstoffe bestand, das ähnliche Banden wie Taraxanthin aufwies. Diese Mittelschicht 2b liess sich in einem vierten Chromatogramm erneut in Chrysanthemaxanthin, Xanthophyll und eine kleine, uneinheitliche Mittelschicht zerlegen. Letztere haben wir in einem fünften Chromatogramm nochmals in Chrysanthemaxanthin und Xanthophyll aufgeteilt.





## 188. Über Ionenkonzentrationsgradienten und ihre biochemische Bedeutung<sup>1)</sup>.

IV. Mitteilung

von F. Almasy.

(20. IX. 44.)

§ 1. Falls in einem Diffusionsfeld, das für die Säure  $AH_n$  quellenfrei ist, ein  $p_H$ -Gefälle entsteht oder seine Grösse zeitlich ändert, verschiebt sich das elektrolytische Gleichgewicht der Säure in verschiedenen Volumelementen im allgemeinen in verschiedener Weise. Im einzelnen Volumelement folgt die (lokale) Neueinstellung des Gleichgewichtes der Störung praktisch verzögerungsfrei; die zeitliche Änderung von  $\text{grad } p_H$  sucht daher örtliche Konzentrationsdifferenzen der undissoziierten Säuremolekeln hervorzubringen. Dem entgegen wirkt die Tendenz der entstehenden  $[AH_n]$ -Gradienten, sich durch Diffusion auszugleichen, was seinerseits das lokale Gleichgewicht wieder stört. Aus dieser Verknüpfung resultiert ein gemeinsamer Transport von Wasserstoffionen und Säureanionen, dessen Geschwindigkeit mit der Annäherung an die homogene Verteilung von  $AH_n$  und die beim betreffenden  $p_H$ -Gefälle damit verbundene *Donnan*-Verteilung der Säureanionen gegen Null sinkt. Der Transport erfolgt im Sinne des  $[H^+]$ -Gefälles oder im entgegengesetzten Sinn, je nachdem ob  $|\text{grad } p_H|$  zeitlich zu- oder abnimmt. Transportvorgänge dieser Art, für die in der III. Mitt.<sup>2)</sup> die Bezeichnung induzierte Diffusion vorgeschlagen wurde, spielen sich innerhalb mikroskopischer und submikroskopischer Raumbezirke des Inneren lebender Zellen ab (vgl. Diagr. 2 der III. Mitt.), was ihre experimentelle Untersuchung sehr erschwert<sup>3)</sup>.

Im Nachtrag zur II.<sup>4)</sup> und in der III. Mitt. wurde versucht, eine Grundlage für das Studium der induzierten Diffusion zu gewinnen, die nicht nur den Fall praktisch vollständig dissoziierter Elektrolyten umfasst, sondern auch denjenigen unvollständiger Dissoziation zu behandeln gestattet, der mittels der Beziehungen, welche in der II. Mitt.<sup>5)</sup> abgeleitet worden sind, nicht untersucht werden kann. In der Zwischenzeit hat mich jedoch Herr Dr. F. Grün, Basel, in dankenswerter Weise darauf aufmerksam gemacht, dass mir die Durchführung dieses Vorhabens nicht gelungen ist, indem er darauf hinwies, dass Gl. (24a), welche im Nachtrag zur II. Mitt. als Verallgemeinerung der in der II. Mitt. erhaltenen Gl. (24) aufgestellt wurde (in die sie bei vollständiger Dissoziation übergeht), bei der Anwendung auf eine einwertige Säure  $AH$  die definitionsmässig zu fordernde Beziehung:

$$\sum_{i=0}^{i=1} i \alpha_{i, AH} = \alpha_1 = \frac{K}{[H^+] + K}$$

nicht erfüllt. Gl. (24) genügt dagegen dieser Forderung. In vorliegender Arbeit werden infolgedessen die Grundlagen der induzierten Diffusion erneut untersucht, wobei der Fall unvollständiger Dissoziation korrekt erfasst werden kann, und die Ungültigkeit der Gl. (24a) aufgeklärt wird. Die zu diesem Zweck angestellten Überlegungen fassen auf der klassischen Ionentheorie.

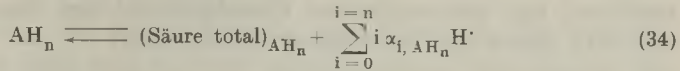
<sup>1)</sup> Arbeit mit Unterstützung der Jubiläumsspende für die Universität Zürich. <sup>2)</sup> Helv. 25, 1255 (1942), III. Mitt.

<sup>3)</sup> Über die Abhängigkeit der Einstelldauer des *Donnan*-Gleichgewichtes von der Grösse des Diffusionsfeldes und der Grösse der Säure- und Basendissoziationskonstanten wird an anderem Ort ergänzend berichtet.

<sup>4)</sup> Helv. 25, 508 (1942), Nachtr. z. II. Mitt.

<sup>5)</sup> Helv. 24, 1480 (1941), II. Mitt.

Um zu einer den Verhältnissen im Diffusionsfeld angemessenen Darstellung des elektrolytischen Gleichgewichtes zu gelangen, bringen wir das Dissoziationsgleichgewicht z. B. einer n-wertigen Säure  $AH_n$  folgendermassen zum Ausdruck:



$(\text{Säure total})_{AH_n}$  entspricht der von *Michaelis*<sup>1)</sup> vor mehr als 30 Jahren eingeführten Konzentrationsgrösse  $[\text{Säure total}]_{AH_n}$  und stellt ein Mol der Säure  $AH_n$  in jenem Dissoziationszustand dar, in welchem die teils frei und teils in Salzform gelöste Säure beim gegebenen Wert der Wasserstoffionenkonzentration sowie gegebenem T und p vorliegt. Die totale Anionenladung des Mols Säure beträgt

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, AH_n} \text{ Faraday} \quad (\alpha_i = i\text{-ter Dissoziationsgrad der Säure}),$$

sie wird hier als „Elektrovalenz“ von  $(\text{Säure total})_{AH_n}$  betrachtet. Eine derartig definierte Wertigkeit kann thermodynamisch oder reaktionskinetisch in Rechnung gestellt werden, wogegen ihre molekularphysikalische Deutung keinen Sinn hat, indem es sich (abweichend vom sprunghaften Charakter wahrer chemischer Unterschiede) um eine Grösse handelt, die mit zunehmendem  $[H^+]$  kontinuierlich von n bis Null abnimmt.

Falls  $\ln[H^+]$ , die Temperatur und der Aussendruck festgehalten werden, bleibt die Valenz von  $(\text{Säure total})_{AH_n}$  selbstverständlich konstant. Gl. (34) stellt in diesem Fall einen Prozess dar, welcher sich in thermodynamischer Hinsicht wie eine gewöhnliche chemische Reaktion behandeln lässt.

Beeinflusst eine Änderung von  $\ln[H^+]$  bei konstantem T und p den Wert von

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, AH_n},$$

dann findet die Umwandlung von  $(\text{Säure total})_{AH_n, \ln[H^+]_1}$  in  $(\text{Säure total})_{AH_n, \ln[H^+]_2}$  statt, die sich durch die Valenz und den Gehalt an dissoziablen H-Atomen unterscheiden. Da diese Umwandlung den Änderungen von  $\ln[H^+]$  stetig folgt, entspricht einer infinitesimalen Variation von  $\ln[H^+]$  eine ebensolche des „chemischen Charakters“ von  $(\text{Säure total})_{AH_n}$ . Das Analoge gilt für den Einfluss von Temperaturänderungen bei festgehaltenem  $\ln[H^+]$  und p sowie den (praktisch wenig bedeutsamen) Einfluss von Druckänderungen bei festgehaltenem  $\ln[H^+]$  und T.

<sup>1)</sup> *Michaelis, L., Bioch. Z. 33, 182 (1911); Die Wasserstoffionenkonzentration, Berlin, 1922.*

Unter den Voraussetzungen:

$$T = \text{konst.} \quad p = \text{konst.} \quad \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} = \text{konst.}$$

erscheint das elektrolytische Gleichgewicht der Säure  $\text{AH}_n$  gemäss Gl. (34) durch die Bedingung beschrieben:

$$\ln [\text{Säure total}]_{\text{AH}_n} + \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} \ln [\text{H}^+] - \ln [\text{AH}_n] = \ln K^*, \quad (35)$$

deren thermodynamische Ableitung nachstehend erbracht wird.

§ 2. Die drei Partner der Reaktion Gl. (34) mögen bei der Temperatur  $T$  und dem Aussendruck  $p$  in gesonderten Lösungen von hinreichend grossem Volumen vorliegen, dass die in Frage kommenden Stofftransporte keine merkliche Konzentrationsänderung hervorbringen. Die erste Lösung enthalte (Säure total) $_{\text{AH}_n}$  in der Konzentration  $[\text{Säure total}]_{\text{AH}_n}^0$ . Die Valenz

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n}$$

von (Säure total) $_{\text{AH}_n}$  wird in dieser Lösung durch einen gegebenen Wert der Wasserstoffionenkonzentration festgelegt (der mit nachstehendem  $[\text{H}^+]^0$  nicht verwechselt werden darf). Die zweite Lösung enthalte  $\text{H}^+$  in der Konzentration  $[\text{H}^+]^0$ , und die dritte Lösung enthalte  $\text{AH}_n$  in der Konzentration  $[\text{AH}_n]^0$ . Die drei Vorratslösungen werden im folgenden mit 1, 2 und 3 bezeichnet.

Die chemische Umsetzung (Dissoziation) von einem Mol  $\text{AH}_n$ , das der Lösung 3 entnommen wird, zu einem Mol (Säure total) $_{\text{AH}_n}$  und

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} \text{ Mol H}^+,$$

die den Lösungen 1 bzw. 2 zugeführt werden, vermag eine bestimmte maximale Nutzarbeit zu liefern, deren Grösse — dem Verbot eines perpetuum mobile zweiter Art entsprechend — ausschliesslich vom Zustand abhängt, in welchem die drei Reaktionspartner in den Vorratslösungen 1, 2 und 3 vorliegen. Diese Nutzarbeit erscheint also durch die Festlegung der Konzentrationen  $[\text{AH}_n]^0$ ,  $[\text{Säure total}]_{\text{AH}_n}^0$  und  $[\text{H}^+]^0$  sowie von  $T$ ,  $p$  und

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n}$$

eindeutig definiert.

In einer Lösung  $L_{\text{eq}}$  von genügend grossem Volumen, dass die Konzentrationen der gelösten Stoffe durch die in Frage kommenden Stofftransporte und chemischen Umsetzungen nicht merklich beeinflusst werden, mögen die Reaktionspartner  $\text{AH}_n$ , (Säure total) $_{\text{AH}_n}$  und  $\text{H}^+$  im Gleichgewicht vorliegen, und zwar unter den-



selben Bedingungen von T und p wie in den Vorratslösungen 1, 2 und 3. Ferner möge die Wertigkeit

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n}$$

von (Säure total)<sub>AH<sub>n</sub></sub> in der Lösung L<sub>eq</sub> gleich wie in der Vorratslösung 1 gewählt sein, was im Fall unvollständiger Dissoziation die Gleichheit von ln [H<sup>·</sup>] in den beiden Lösungen erfordert. Ohne diese Festlegung, die hinzukommt zur Voraussetzung ein und desselben Wertepaares von T und p für den Anfangs-, den Gleichgewichts- und den Endzustand, würde die nachstehend betrachtete Überführung von (Säure total)<sub>AH<sub>n</sub></sub> aus der Lösung L<sub>eq</sub> in die Lösung 1 einen Wertigkeitswechsel erfordern. Derselbe stünde, wie eine Änderung von T oder p, der Ableitung einer Beziehung im Weg, die die mit der Reaktion Gl. (34) verbundene Standardabnahme der freien Energie mit den Konzentrationsvariablen des Gleichgewichtes verknüpft.

Mit Hilfe einer geeigneten Anordnung soll nun 1 Mol AH<sub>n</sub> aus der Vorratslösung 3 isotherm und reversibel auf die in L<sub>eq</sub> bestehende Gleichgewichtskonzentration gebracht und in die letztere Lösung überführt werden, wobei die maximale Nutzarbeit:

$$RT \ln [\text{AH}_n]^0 - RT \ln [\text{AH}_n]$$

nach aussen abgegeben oder von aussen aufgenommen wird. (Die Gleichgewichtskonzentrationen sind nicht speziell indiziert). In der Lösung L<sub>eq</sub> möge das Mol AH<sub>n</sub> ohne endliche Abweichung vom Gleichgewicht zu einem Mol (Säure total)<sub>AH<sub>n</sub></sub> und

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} \text{ Mol H}^{\cdot}$$

umgesetzt werden, was beispielsweise durch eine differentielle Senkung von [H<sup>·</sup>] unter den Gleichgewichtswert zu bewerkstelligen ist und keine merkliche Arbeit erfordert oder leistet. Die zwei Reaktionsprodukte mögen darauf isotherm und reversibel aus dem Gleichgewichtszustand auf die Konzentrationswerte [Säure total]<sub>AH<sub>n</sub></sub> und [H<sup>·</sup>]<sup>0</sup> gebracht und in die Vorratslösungen 1 bzw. 2 überführt werden, unter Leistung oder Verbrauch der maximalen Nutzarbeit:

$$RT \ln [\text{Säure total}]_{\text{AH}_n} - RT \ln [\text{Säure total}]_{\text{AH}_n}^0 + \\ + \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} RT \ln [\text{H}^{\cdot}] - \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} RT \ln [\text{H}^{\cdot}]^0$$

Der Umstand, dass (Säure total)<sub>AH<sub>n</sub></sub> keine chemische Verbindung, sondern ein gelöstes Gemisch sämtlicher Wertigkeitsstufen der Säure AH<sub>n</sub> darstellt, verhindert die (gedankliche) Durchführung zweier der erwähnten Transportvorgänge mittels semipermeabler Membranen. Es ist nämlich nicht statthaft, Membranen anzunehmen, die für AH<sub>n</sub> undurchlässig (durchlässig) sind, (Säure total)<sub>AH<sub>n</sub></sub> dagegen durchlassen (nicht

durchlassen), da (Säure total)<sub>AH<sub>n</sub></sub> zu einem gewissen, wenn auch unter Umständen sehr geringen Teil aus AH<sub>n</sub> besteht. Hiernach erscheinen selbst grundsätzliche Angaben über eine Apparatur zur Realisierung der fraglichen Transporte nicht möglich, was zweifellos einen Mangel an Anschaulichkeit bildet. Einen wesentlichen Einwand gegen die Zulässigkeit der vorliegenden Überlegung können wir daraus jedoch nicht ableiten.

Die resultierende Arbeitsleistung der vorstehend betrachteten drei Teilvorgänge stellt die maximale Nutzarbeit dar, welche die chemische Reaktion Gl. (34) unter den erwähnten Voraussetzungen zu leisten imstande ist. An Stelle dieser Nutzarbeit führen wir die ihr entgegengesetzt gleichende Änderung  $\Delta G$  der Zustandsfunktion (*Gibbs'sche*) freie Energie ein. Es gilt dann:

$$\begin{aligned}
 -\Delta G &= RT \ln [\text{AH}_n]^0 - RT \ln [\text{Säure total}]_{\text{AH}_n}^0 - \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} RT \ln [\text{H}^+]^0 - \\
 &\quad - RT \ln [\text{AH}_n] + RT \ln [\text{Säure total}]_{\text{AH}_n} + \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} RT \ln [\text{H}^+]
 \end{aligned}$$

Falls Ausgangs- und Endkonzentrationen der Reaktionspartner in den Vorratslösungen 1, 2 und 3 folgendermassen standardisiert werden:

$$\ln [\text{Säure total}]_{\text{AH}_n}^0 = 0 \quad \ln [\text{H}^+]^0 = 0 \quad \ln [\text{AH}_n]^0 = 0$$

vereinfacht sich die erhaltene Beziehung zu:

$$-\Delta G^0 = RT \ln [\text{Säure total}]_{\text{AH}_n} + \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} RT \ln [\text{H}^+] - RT \ln [\text{AH}_n]$$

Wie zu Beginn dieses Paragraphen bemerkt wurde, hängt die mit der Reaktion Gl. (34) verknüpfte Änderung  $\Delta G$  bzw. Standardänderung  $\Delta G^0$  der freien Energie nur von den Zustandsvariablen des Ausgangs- und Endzustandes ab und ist demnach von den Zustandsvariablen des intermediär erreichten Gleichgewichtes nicht abhängig. Die rechte Seite der obigen Beziehung muss somit für ein jedes Gleichgewicht von (Säure total)<sub>AH<sub>n</sub></sub>, H<sup>+</sup> und AH<sub>n</sub>, das den Voraussetzungen:

$$T = \text{konst.} \quad p = \text{konst.} \quad \sum_{i=n}^{i=0} i \alpha_{i, \text{AH}_n} = \text{konst.}$$

genügt, ein und denselben Wert aufweisen. Unter diesen Voraussetzungen gilt daher:

$$-\Delta G^0 = RT \ln [\text{Säure total}]_{\text{AH}_n} + \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} RT \ln [\text{H}^+] - RT \ln [\text{AH}_n] = RT \ln K^*, \quad (35a)$$

was bis auf den konstanten Faktor RT mit der zu beweisenden Gl. (35) übereinstimmt.

§ 3. Falls in Gl. (35a) die Konzentrationsvariablen und die Wertigkeit

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n}$$

bei festgehaltenem T und p in einer Weise infinitesimal verändert werden, dass das Dissoziationsgleichgewicht der Säure  $\text{AH}_n$  erhalten bleibt, erfüllt die zugehörige Gleichgewichtsverschiebung die Relation:

$$\begin{aligned} & RT \, d \ln [\text{Säure total}]_{\text{AH}_n} + \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} RT \, d \ln [\text{H}^+] + \\ & + RT \ln [\text{H}^+] \, d \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} - RT \, d \ln [\text{AH}_n] = RT \, d \ln K^* = d(-\Delta G^0) \end{aligned} \quad (36)$$

Da  $\ln K^*$  durch isotherm-isobare Änderungen der Gleichgewichtskonzentrationen, die unter der Bedingung:

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} = \text{konst.}$$

erfolgen, nicht beeinflusst wird, darf Gl. (36) in die folgenden zwei Teilbeziehungen zerlegt werden:

$$RT \, d \ln [\text{Säure total}]_{\text{AH}_n} + \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} RT \, d \ln [\text{H}^+] - RT \, d \ln [\text{AH}_n] = 0 \quad (37)$$

$$RT \ln [\text{H}^+] \, d \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} = RT \, d \ln K^* = d(-\Delta G^0) \quad (38)$$

Eine solche Zerlegung erscheint nur bei infinitesimaler Gleichgewichtsverschiebung statthaft. Gl. (37) stellt die Verschiebung so dar, als ob sie bei konstanter Wertigkeit von  $(\text{Säure total})_{\text{AH}_n}$  erfolgen würde. Diese Gleichung entspricht einer gewöhnlichen Gleichgewichtsbedingung bis auf den im allgemeinen unganzzahligen Valenzwert

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n}.$$

Gl. (38) bringt die mit der Gleichgewichtsverschiebung verknüpfte Wertigkeitsänderung derart zum Ausdruck, als ob von einem Mol  $(\text{Säure total})_{\text{AH}_n}$  bei konstantem  $\ln [\text{H}^+]$ , T und p

$$d \sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} \text{ Mol H}^+$$

gebunden bzw. abgespalten würden.

Wir setzen in Gl. (37) für  $\ln [\text{AH}_n]$  den Ausdruck  $\ln \alpha_0 + \ln [\text{Säure total}]_{\text{AH}_n}$  ein und erhalten die Gl. (24) der II. Mitt. (vgl. § 1):

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, \text{AH}_n} = d \ln \alpha_0 / d \ln [\text{H}^+]. \quad (24)$$

Im Nachtrag zur II. Mitt. wurde an Stelle dieser Beziehung Gl. (24a) erhalten, weil die Veränderlichkeit von  $\ln K^*$  mit  $\ln [\text{H}^+]$  unberücksichtigt blieb. Dieses Vorgehen (und ebenso die Nullsetzung von:  $F_{\text{AH}_n} = f(\ln[\text{H}^+])$  in der III. Mitt.) konnte also nur bei prak-

tisch vollständiger oder verschwindender Dissoziation sowie im Fall einer horizontalen Wendetangente von:

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, AH} = f(\ln [H\cdot])$$

zum richtigen Ergebnis führen. Durch die Bestätigung der Gl. (24) wird der Zusammenhang der Diagr. 1a und 1b der II. Mitt. mit den dort angegebenen Dissoziationskonstanten wieder hergestellt.

Falls in Gl. (35a) für

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, AH_n}$$

der obige Wert  $d \ln \alpha_0 / d \ln [H\cdot]$  und für  $\ln [AH_n]$  wie vorhin  $\ln \alpha_0 + \ln [\text{Säure total}]_{AH_n}$  eingesetzt wird, ergibt sich:

$$RT \ln K^* = RT \ln [H\cdot] d \ln \alpha_0 / d \ln [H\cdot] - RT \ln \alpha_0, \quad (39)$$

was die Berechnung von:  $K^* = f(\ln [H\cdot])$  erlaubt, sobald die Dissoziationskonstanten  $K_1, K_2 \dots K_n$  bekannt sind. Bei verschwindender, bzw. vollständiger Dissoziation erreicht  $\ln K^*$  nach Gl. (39) den Wert Null, bzw.  $\ln K_1 K_2 \dots K_n$  (vgl. Gl. (35)).

Schreibt man Gl. (24) wie folgt:

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, AH_n} = \frac{d \ln \alpha_0}{d \alpha_0} \frac{d \alpha_0}{d [H\cdot]} \frac{d [H\cdot]}{d \ln [H\cdot]} = \frac{1}{\alpha_0} \frac{d \alpha_0}{d [H\cdot]} [H\cdot],$$

und setzt für  $1/\alpha_0$  sowie  $\alpha_0$  die auf S. 1036 der I. Mitt.<sup>1)</sup> erhaltenen Ausdrücke ein ( $\alpha_0 = \varrho$ ), dann ergibt sich nach Ausdifferenzieren und einfacher Umformung:

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, AH_n} = \frac{K_1 [H\cdot]^{n-1} + 2 K_1 K_2 [H\cdot]^{n-2} + \dots + (n-1) K_1 K_2 \dots K_{n-1} [H\cdot] + n K_1 K_2 \dots K_n}{[H\cdot]^n + K_1 [H\cdot]^{n-1} + K_1 K_2 [H\cdot]^{n-2} + \dots + K_1 K_2 \dots K_{n-1} [H\cdot] + K_1 K_2 \dots K_n} \quad (40)$$

Diese Beziehung verknüpft die Dissoziationskonstanten  $K_1, K_2, \dots K_n$  mit den Messgrößen  $[H\cdot]$  und (vgl. S. 1494 der II. Mitt.)

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, AH_n}$$

Im Fall einer einwertigen Säure folgt aus Gl. (40) übereinstimmend mit dem im § 1 erwähnten Ausdruck für den Dissoziationsgrad  $\alpha_1$ :

$$\sum_{i=0}^{i=1} i \alpha_{i, AH} = \frac{K}{[H\cdot] + K} \quad \text{bzw.} \quad K = \frac{[H\cdot] \Sigma}{1 - \Sigma}, \quad (40a)$$

wobei in der letzteren Beziehung der Kürze halber  $\Sigma$  an Stelle von

$$\sum_{i=0}^{i=1} i \alpha_{i, AH}$$

steht. Im Fall einer zweiwertigen Säure findet man laut Gl. (40):

$$\sum_{i=0}^{i=2} i \alpha_{i, AH_2} = \frac{K_1 [H\cdot] + 2 K_1 K_2}{[H\cdot]^2 + K_1 [H\cdot] + K_1 K_2} \quad (40b)$$

Auf Grund dieser Gleichung können die Dissoziationskonstanten (Parameter)  $K_1$  und  $K_2$  ermittelt werden, indem man die Gleichung für zwei Wertepaare von

$$[H\cdot] \quad \text{und} \quad \sum_{i=0}^{i=2} i \alpha_{i, AH_2}$$

<sup>1)</sup> Helv. 24, 1025 (1941), I. Mitt.

(d. h. für zwei Punkte der Titrationskurve der Säure  $AH_2$ ) aufstellt und nach  $K_1$  und  $K_2$  auflöst. Wir unterscheiden die beiden Wertepaare durch die Indizes I und II und schreiben zur Abkürzung wieder  $\Sigma$  statt

$$\sum_{i=0}^{i=2} i \alpha_{i, AH_2}$$

Es ergibt sich:

$$K_2 = \frac{[H^+]_I [H^+]_{II} [\Sigma_I \Sigma_{II} ([H^+]_I - [H^+]_{II}) - [H^+]_I \Sigma_I + [H^+]_{II} \Sigma_{II}]}{\Sigma_I \Sigma_{II} (-[H^+]_I^2 + [H^+]_{II}^2) + 2 ([H^+]_I^2 \Sigma_I - [H^+]_{II}^2 \Sigma_{II})} \quad (41)$$

$$K_1 = \frac{[H^+]_I^2 \Sigma_I}{[H^+]_I (1 - \Sigma_I) + K_2 (2 - \Sigma_I)}$$

Der praktische Wert dieser Berechnungsmethode der Dissoziationskonstanten liegt namentlich darin, dass sie auch im Fall:  $K_1/K_2 < 10^4$  anwendbar ist, in welchem die einfachen Methoden versagen (vgl. <sup>1)</sup>). Die Gl. (41) gelten für eine zweiwertige Base, wenn man  $[OH^-]$  an Stelle von  $[H^+]$  einführt und

$$\sum_{i=0}^{i=2} i \alpha_{i, AH_2}$$

durch (vgl. S. 1495 der II. Mitt.):

$$\sum_{k=0}^{k=2} k \alpha_{k, B(OH)_2} = ([\text{total zugefügtes HCl}] - [H^+] + [OH^-]) / [\text{Base total}]$$

ersetzt.

§ 4. Gl. (37) und (38) erfassen unter der Voraussetzung:  $T = \text{konst}^2$ ,  $p = \text{konst.}$  die infinitesimalen Verschiebungen des elektrolitischen Gleichgewichtes, welche im unstationären  $[H^+]$ -Gradientenfeld zwei benachbarte Volumelemente zum gleichen Zeitpunkt zeigen, oder ein und dasselbe Volumelement zu Beginn und am Ende eines unendlich kurzen Zeitintervalles aufweist. Falls die zeitliche Änderung des  $\ln [H^+]$ -Gefälles hinreichend langsam erfolgt, dass die Einstellung des *Donnan*-Gleichgewichtes mit ihr Schritt halten

<sup>1)</sup> *Auerbach, F. und Smolezyk, E., Z. physikal. Ch. 110, 65 (1924).*

<sup>2)</sup> Abgesehen von äusseren Wärmequellen wird die Temperaturverteilung im Diffusionsfeld durch die Wärmetönung der im Feld stattfindenden chemischen Umsetzungen beeinflusst, (vgl. das nachfolgende Beispiel *b*), sowie durch die Verdünnungswärme und die Überführungswärme (vgl. <sup>3)</sup>) der diffundierenden Stoffe. Im stationären Feld gilt für die Zustandsfunktionen  $\bar{H}_i$ ,  $\bar{G}_i$  und  $\bar{S}_i$ :  $\text{grad } \bar{H}_i = (\partial \bar{H}_i / \partial [i]) \text{ grad } [i] = 0$ ,  $\text{grad } \bar{G}_i = -T \text{ grad } \bar{S}_i$ , falls der Stoff *i* ideal gelöst ist, und:  $\text{grad } H_i \sim \text{grad } G_i$ ,  $|\text{grad } G_i| \gg |T \text{ grad } S_i|$ , falls der nicht ideal gelöste Stoff *i* bei reversibler Verdünnung eine sehr viel kleinere Verdünnungswärme aufweist als bei irreversibler Verdünnung. [Zur Anwendung der (partiellen molaren) Zustandsfunktionen auf inhomogene Phasen s. z. B. <sup>3)</sup>]. In der III. Mitt. ist zur Wahrung der Analogie des stationären elektrischen mit dem stationären Diffusionsstrom der letztere Fall konsequent vorausgesetzt worden, was jedoch infolge Unvereinbarkeit mit der Annahme idealer Lösungen aufgegeben werden muss. — Im stationären Feld tauscht das einzelne Volumelement keine Überführungswärme mit seiner Umgebung aus, da in das Volumelement pro Zeiteinheit dieselbe Menge einer jeden diffundierenden Substanz eintritt als austritt, und in ihm daher gleich grosse Mengen an Überführungswärme freigesetzt wie gebunden werden.

<sup>3)</sup> *Eastmann, E. D., Am. Soc. 48, 1482 (1926); 50, 283, 292 (1928); Wagner, C., Ann. Physik [5] 3, 629 (1929).*

kann (vgl. Fussnote 3, § 1), kommen nur Feldquellen als Ursache endlicher Konzentrationsgradienten von Säure- oder Basenmolekeln in Frage. In der III. und der vorliegenden Mitteilung setzen wir diesen Grenzfall voraus (quasi-stationäres  $[H^{\cdot}]$ -Gradientenfeld). Der Kürze halber werden nur die folgenden zwei Anwendungsbeispiele der Gl. (37), (38) erörtert.

a. Im Fall einer praktisch vollständig dissoziierten Säure  $AH_n$ , für die das  $[H^{\cdot}]$ -Gradientenfeld quellenfrei ist (s. III. Mitt., S. 1265 bis 1267), ist in Gl. (37)  $[A^n]$  an Stelle von  $[Säure\ total]_{AH_n}$  zu setzen (vollständige Dissoziation) und der Term  $RT\ d\ \ln [AH_n]$  zu vernachlässigen (Quellenfreiheit). Gl. (38) fällt weg, da  $\ln [H^{\cdot}]$  mit abnehmenden  $[H^{\cdot}]$  viel langsamer gegen  $-\infty$  sinkt, als

$$\sum_{i=0}^{i=n} i \alpha_{i, AH_n}$$

den Grenzwert  $n$  erreicht (vgl. Gl. (40)). Es resultiert:

$$RT\ d\ \ln [A^n] + n\ RT\ d\ \ln [H^{\cdot}] = 0 \quad (37a)$$

Bei strenger Gültigkeit dieser Beziehung, m. a. W. von:  $d\ \ln [AH_n] = 0$ , hängen die räumlichen Verteilungen von  $[H^{\cdot}]$  und  $[A^n]$  zu jedem Zeitpunkt im Sinne einer *Donnan*-Verteilung zusammen. Realerweise durchlaufen sie mit der zeitlichen Änderung des  $\ln [H^{\cdot}]$ -Gefälles dagegen eine stetige Folge von Verteilungszuständen, welche exakten *Donnan*-Verteilungen nur angenähert gleichen. Der Transport von  $n\ dm$  Mol  $H^{\cdot}$  und  $dm$  Mol  $A^n$  aus einem Volumelement 1 ins benachbarte Volumelement 2 des  $[H^{\cdot}]$ -Gradientenfeldes erscheint nach Massgabe der Gültigkeit von Gl. (37a) verknüpft mit der isothermen und reversiblen Leistung der Konzentrierungsarbeit  $dm\ RT\ d\ \ln [A^n]$  auf Kosten der äquivalenten Verdünnungsarbeit  $n\ dm\ RT\ d\ \ln [H^{\cdot}]$  (oder umgekehrt), was man auch auffassen kann als Austausch von chemischem Potential innerhalb der zwei Volumelemente.

b. Im Diffusionsfeld der zweistufigen fermentativen Oxydoreduktion:  $red_1 + ox_2 \rightarrow ox_1 + red_2$  (vgl. I., II. und III. Mitt.) mögen unter dem Einfluss der Feldquelle (Fermentreaktion) und der zeitlichen Änderung des  $[H^{\cdot}]$ -Gefälles je  $dm$  Mol (Säure total) $_{red_1}$ , sowie (Säure total) $_{ox_2}$  aus dem Volumelement 1 ins fermentwärts benachbarte Volumelement 2, und je  $dm$  Mol (Säure total) $_{ox_1}$ , sowie (Säure total) $_{red_2}$  aus dem Volumelement 2 ins Volumelement 1 gelangen, wobei man sich vorzustellen hat, dass eine der Wertigkeit entsprechende  $H^{\cdot}$ -Ionenmenge jeweils mit den  $dm$  Mol wandert. Unter der Bedingung:  $grad\ \ln [H^{\cdot}] < 0$  werden von den vier Partnern beim betreffenden  $\ln [H^{\cdot}]$ -Wert:

$$dm \left( d \sum_{i=0}^{i=n_1-2} i \alpha_{i, ox_1} + d \sum_{i=0}^{i=n_2+2} i \alpha_{i, red_2} - d \sum_{i=0}^{i=n_1} i \alpha_{i, red_1} - d \sum_{i=0}^{i=n_2} i \alpha_{i, ox_2} \right) = dm\ d(\bar{A}^F - \bar{A}^F)$$

Mol H<sup>+</sup>-Ionen freigesetzt oder gebunden, je nachdem ob  $d(\bar{A}^F - \bar{A}^F)$  positiv oder negativ ist (vgl. II. Mitt., S. 1492). Die Anwendung der Gl. (38) ergibt:

$$RT \ln [H^+] d(\bar{A}^F - \bar{A}^F) = d(-\Delta G^0)_{ox_1} + d(-\Delta G^0)_{red_2} - d(-\Delta G^0)_{red_1} - d(-\Delta G^0)_{ox_2} \quad (42)$$

Nach dieser Beziehung variiert die Summe:

$$(-\Delta G^0)_{ox_1} + (-\Delta G^0)_{red_2} + (-\Delta G^0)_{red_1} + (-\Delta G^0)_{ox_2}$$

der Standardänderungen der freien Energie (s. § 2) beim entgegengesetzten Durchgang der zwei Partnerpaare durchs [H<sup>+</sup>]-Gefälle nur insofern, als  $d(\bar{A}^F - \bar{A}^F)$  von Null verschieden ist, H<sup>+</sup>-Ionen also freigesetzt oder gebunden werden. Der mit dem Durchgang verknüpfte Austausch von  $d\bar{A}^F$  oder  $d\bar{A}^F$  Mol H<sup>+</sup> zwischen den zwei Partnerpaaren ändert diese Summe somit nicht.

In dem der Erörterung der induzierten Diffusion zugrunde gelegten quasistationären [H<sup>+</sup>]-Gradientenfeld muss sowohl im obigen Zusammenhang, als auch hinsichtlich der Fermentreaktion die angenäherte Gültigkeit von:  $d(\bar{A}^F - \bar{A}^F) = 0$  angenommen werden, da der unstationäre Charakter des Feldes hauptsächlich durch die Unkonstanz von  $(\bar{A}^F - \bar{A}^F)$  bedingt erscheint.

Die räumliche Konzentrationsverteilung z. B. von ox<sub>1</sub> entspricht zu jedem Zeitpunkt der Gradientenform der Gl. (37):

$$RT \text{ grad } \ln [\text{Säure total}]_{ox_1} + \sum_{i=0}^{i=n_1-2} i \alpha_{i, ox_1} RT \text{ grad } \ln [H^+] - RT \text{ grad } \ln [AH_{n_1-2}] = 0 \quad (37b)$$

$RT \text{ grad } \ln [\text{Säure total}]_{ox_1}$  kann in die Komponenten  $RT \text{ grad } \ln [\text{Säure total}]_{ox_1, irr}$  und  $RT \text{ grad } \ln [\text{Säure total}]_{ox_1, ind}$  zerlegt werden, welche mit den verbleibenden Gleichungstermen wie folgt zusammenhängen:

$$RT \text{ grad } \ln [\text{Säure total}]_{ox_1, irr} = RT \text{ grad } \ln [AH_{n_1-2}]_{ox_1} \quad (43)$$

$$RT \text{ grad } \ln [\text{Säure total}]_{ox_1, ind} = - \sum_{i=0}^{i=n_1-2} i \alpha_{i, ox_1} RT \text{ grad } \ln [H^+] \quad (44)$$

Konzentrationsverteilungen nach Gl. (43) entstehen durch irreversible Diffusion (wie sie durch Feldquellen unterhalten wird und beim Fehlen von [H<sup>+</sup>]-Gradienten allein auftritt). Konzentrationsverteilungen nach Gl. (44) entstehen durch induzierte Diffusion. Sie entsprechen dem Beispiel *a* bis auf den Umstand, dass am elementaren Transportvorgang jeweils  $dm$  Mol (Säure total)<sub>ox<sub>1</sub></sub> und

$$dm \sum_{i=0}^{i=n_1-2} i \alpha_{i, ox_1}$$

Mol H<sup>+</sup>-Ionen teilnehmen.

Als erste Anwendung der Gl. (37) und (38) auf die im Abschnitt D der III. Mitt. erwähnten biochemischen Probleme soll die Frage des Unterschiedes der Normalpotentiale der zwei Komponenten (Redoxsysteme) biologischer Oxydoreduktionssysteme demnächst zur Besprechung kommen.

## 189. Untersuchungen über Mischkrystallbildung in Lösungen.

### I. Die Gewinnung homogener Mischkrystalle

von R. Flatt, J. Wilhelm und G. Burkhardt.

(30. IX. 44.)

Wenn in einer gesättigten Lösung, die mehrere Salzkomponenten enthält, durch Temperaturänderung oder durch Verminderung der Lösungsmittelmenge Krystallisation erfolgt, so werden in der Regel reine Salze ausgeschieden. In besondern Fällen können an ihrer Stelle Mischkrystalle als Bodenkörper auftreten. Wird beispielsweise eine Lösung von  $\text{BaCl}_2$ , die geringe Mengen von  $\text{RaCl}_2$  enthält, bis zur beginnenden Krystallisation eingengt, so wird in der sich ausscheidenden festen Phase neben viel  $\text{BaCl}_2$  stets etwas  $\text{RaCl}_2$  enthalten sein, da wegen der Ähnlichkeit der Barium- und Radium-Ionen an einzelnen, dem Barium zukommenden Gitterstellen des krystallisierten Bariumchlorids Radium-Ionen eingebaut werden.

Die Aufnahme des  $\text{RaCl}_2$  in den Bariumchloridkrystall ist keinen Zufälligkeiten unterworfen. Die Zusammensetzung des Bodenkörpers wird durch diejenige der Lösung genau festgelegt.

Untersucht man die Löslichkeitsverhältnisse von Systemen mehrerer Komponenten, die zu Mischkrystallbildung befähigt sind, so hat man nicht nur das Löslichkeitsdiagramm aufzustellen, sondern man muss zur vollständigen Beschreibung des Systems für jede gesättigte Lösung die Zusammensetzung der mit ihr im Gleichgewicht stehenden Mischkrystalle angeben.

Die Bildung von Mischkrystallen in einfachen Salzsysteinen, die entweder 2 Kationen und 1 Anion oder 1 Kation und 2 Anionen enthalten, ist an vielen Beispielen untersucht worden. Die auftretenden Bodenkörper sind binäre Mischkrystalle; sie enthalten drei Ionenarten. Dagegen liegen nur sehr wenige Untersuchungen über die Zusammensetzung von Mischkrystallen vor, die aus Lösungen mit mehr als drei Ionenarten ausgeschieden werden. In solchen Fällen ist es möglich, dass vier und mehr Ionenarten zu Mischkrystallen zusammentreten; es können ternäre, quaternäre oder quinäre Mischkrystalle entstehen.

Beispiele: Eine Lösung von  $\text{KCl}$ ,  $\text{RbCl}$  und  $\text{CsCl}$  gibt ternäre Mischkrystalle vom Typ  $(\text{K}, \text{Rb}, \text{Cs})\text{Cl}$ .

Aus einer Lösung, die die Ionen  $\text{K}'$ ,  $\text{Rb}'$ ,  $\text{Cl}'$ ,  $\text{Br}'$  und  $\text{J}'$  enthält, werden quaternäre Mischkrystalle vom Typ  $(\text{K}, \text{Rb})(\text{Cl}, \text{Br}, \text{J})$  ausgeschieden.

Zur experimentellen Untersuchung von Lösungsgleichgewichten, in denen Mischkrystallbildung erfolgt, müssen vorerst gesättigte Lösungen gewonnen werden. Dies geschieht nach den allgemein üblichen Verfahren der Löslichkeitsbestimmung. Für die Ermitt-



lung der Bodenkörperzusammensetzung ist sodann zu berücksichtigen, dass diese von der Temperatur und der Zusammensetzung der Lösung abhängt. Das von vielen Autoren benützte Verfahren, in eine gesättigte Lösung ein festes Salz einzutragen, dieses durch Temperaturerhöhung aufzulösen und durch Einsetzen in den Thermostaten zur Abscheidung zu bringen, führt zu heterogenen Bodenkörpern, deren Zusammensetzung dem Gleichgewicht mit der verbleibenden Lösung nicht entspricht, denn die Krystallisation erfolgt in diesem Fall nicht bei einer bestimmten Temperatur, sondern in einem Temperaturintervall. Ferner ändert sich im Verlaufe der Krystallabscheidung die Zusammensetzung der Lösung ganz wesentlich. Um diese Fehlerquellen praktisch auszuschalten, müsste man aus sehr viel Lösung nur ganz wenig Salz zur Krystallisation bringen, damit das Temperaturintervall klein gehalten und die Lösung durch die Auflösung des zugegebenen festen Salzes nicht merklich verändert wird.

In einer Untersuchung über Mischkrystallbildung zwischen Kalium- und Ammoniumsalzen<sup>1)</sup> benützten wir ein neuartiges Verfahren, das gestattet, grössere Mengen Mischkrystalle aus wenig Lösung zu gewinnen unter Ausschaltung der oben erwähnten Fehlerquellen.

Ein Salzgemisch geeigneter Zusammensetzung wird mit so viel Wasser versetzt, dass dieses zur vollständigen Lösung bei 25° nicht ganz ausreicht. Die Mischung wird erwärmt, bis alles gelöst ist; beim Abkühlen auf 25° im Thermostat wird durch Auskrystallisieren die Sättigung erzielt.

Der auf diesem Weg hergestellte gesättigte Lösung ist ein Punkt im Löslichkeitsdiagramm für 25° zugeordnet. Dagegen entspricht die Zusammensetzung des so erhaltenen Bodenkörpers nicht dem Gleichgewichtszustand, da die Abscheidung der innern Teile der Krystalle unter andern Bedingungen erfolgte als diejenige der äusseren Schicht.

Man giesst die gesättigte Lösung ohne Bodenkörper in das Gefäss b (Fig. 1), das sich in einem Thermostaten I auf 25° befindet. Daneben steht ein Thermostat II auf ca. 26°. Er enthält eine Zirkulationspumpe, die im Rohr d mit dem Bodenkörper beschickt und an das Gefäss b angeschlossen wird. Durch die Pumpe wird die gesättigte Lösung aus b angesaugt und, nach Erwärmung auf 26°, durch das mit Bodenkörper gefüllte Rohr d getrieben.

Da die auf 26° erwärmte Lösung nicht völlig gesättigt ist, wird eine Spur Salz in d aufgelöst. Beim Wiederabkühlen der Lösung auf 25° im Gefäss b tritt geringe Übersättigung ein, und es gelangt eine Spur Bodenkörper zur Ausscheidung, dessen Zusammensetzung genau dem Gleichgewicht mit der bei 25° gesättigten Lösung entspricht, da die Voraussetzungen hierfür erfüllt sind (konstante Temperatur und praktisch unveränderte Zusammensetzung der Lösung).

Die Konstruktion der Zirkulationspumpe ist aus Fig. 1 ersichtlich.  $c_1$  und  $c_2$  sind Quecksilberventile. Beim Abwärtsbewegen des Pumpenkolbens e wird Quecksilber zwischen den beiden Wänden in a hoch getrieben. Dabei wird vorerst das Ventil  $c_1$  durch Quecksilber verschlossen, dann wird ein Teil der über dem Quecksilber stehenden Lösung durch das Ventil  $c_2$  in den Schenkel d gedrückt. Durch Heben des Kolbens e sinkt das Quecksilberniveau in a, dadurch wird das Ventil  $c_1$  geöffnet, während  $c_2$  durch die Saugwirkung verschlossen wird. Sobald  $c_1$  frei wird, strömt die Flüssigkeit aus b nach a, um

<sup>1)</sup> R. Flatt und J. Wilhelm, Bl. [5] 5, 355 (1938); G. Burkhardt, Untersuchungen über ternäre Mischkrystallbildung, Diss., Bern 1942.

beim Absinken des Kolbens von neuem durch d nach b zu strömen. Der Pumpenkolben e wird mittels eines Exzenters durch einen langsam laufenden Elektromotor angetrieben (ca. 6 Kolbenhübe pro Minute). Um zu verhindern, dass in den aus den Thermostaten herausragenden Verbindungsrohren Krystallisation erfolgt, werden diese mit einem feinsmaschigen Drahtnetz umwickelt und mit einem Asbestdach bedeckt. Die Luft unter diesem Dach wird mit einer kleinen Gasflamme oder einem elektrischen Heizdraht dauernd über 25° gehalten.

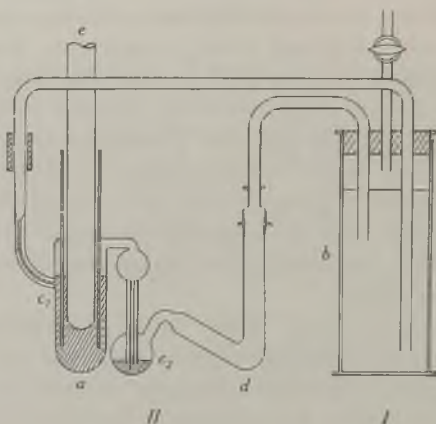


Fig. 1.

Man kann die Aufstellung eines zweiten Thermostaten umgehen, indem man in den 25°-Thermostaten ein doppelwandiges Glasgefäß einsetzt (z. B. zwei in einander gestellte Akkumulatoren gläser). Es enthält die Zirkulationspumpe und Wasser, das durch einen in ein Glasrohr eingeführten Widerstandsdraht auf ca. 26° gehalten wird. Die Heizung erfolgt kontinuierlich ohne Steuerung durch einen Thermoregulator.

In der beschriebenen Apparatur werden ca. 150—200 cm<sup>3</sup> Lösung verwendet. Zur Umkrystallisation gelangen 2—5 g. Die Operation dauert in der Regel 1—3 Tage.

Nach vollzogener Überführung des Salzes von d nach b wird die Pumpe abgestellt; die Lösung in b bleibt zur Aufhebung von Übersättigung mindestens 24 Stunden im Thermostaten auf 25°. Nun wird eine Probe der überstehenden Lösung mit einer Wägenpipette entnommen und analysiert. Sodann giesst man den Inhalt des Gefässes b auf eine Glasfrittennutsche und saugt die Mutterlauge rasch ab.

In den meisten Fällen kann man die Krystalle nicht mutterlaugefrei erhalten. Auswaschen mit Wasser ist nicht zulässig, da dadurch die Zusammensetzung der an den Krystallen haftenden Lösung in unkontrollierbarer Weise verändert würde und unter Umständen grössere Mengen Bodenkörper durch Auflösung verloren gingen. Man wird daher beim Studium von Lösungsgleichgewichten die Krystalle samt der zurückgehaltenen Mutterlauge analysieren und die Zusammensetzung der mutterlaugefreien Mischkrystalle rechnerisch oder graphisch ermitteln.

#### Algebraische Ermittlung der Bodenkörperzusammensetzung.

Für den Fall, dass ein ternäres System, bestehend aus Wasser und den beiden Salzen A und B mit zusammen drei Ionenarten vor-

liegt, gestaltet sich die Berechnung der Bodenkörperzusammensetzung wie folgt.

Der reine Bodenkörper sei eine isomorphe Mischung der beiden Komponenten  $A \cdot nH_2O$  und  $B \cdot nH_2O$ . Er enthalte  $\alpha$  Gew.-% A und  $\beta$  Gew.-% B, wobei also die Werte  $\alpha$  und  $\beta$  zu ermitteln sind, während der formelmässige Krystallwassergehalt  $n$  bekannt sein muss. Die Molekulargewichte von A, B und  $H_2O$  seien mit  $[A]$ ,  $[B]$  und  $[H_2O]$  bezeichnet.

Die Analyse der gesättigten Lösung ergab:

$$a \% A + b \% B + (100 - a - b) \% H_2O$$

Für den mutterlaugehaltigen Bodenkörper wurde durch Analyse folgende Zusammensetzung gefunden:

$$a' \% A + b' \% B + (100 - a' - b') \% H_2O$$

Er setzt sich zusammen aus  $x$  % Bodenkörper und  $(100 - x)$  % Mutterlauge.

Dann bestehen folgende Beziehungen:

1) Bilanz der Komponente A in 100 g mutterlaugehaltigem Bodenkörper

$$x \cdot \frac{\alpha}{100} + (100 - x) \cdot \frac{a}{100} = a' \quad (I)$$

2) Bilanz der Komponente B in 100 g mutterlaugehaltigem Bodenkörper

$$x \cdot \frac{\beta}{100} + (100 - x) \cdot \frac{b}{100} = b' \quad (II)$$

Aus diesen beiden Gleichungen wird  $x$  eliminiert, und man erhält

$$\frac{\alpha - a}{a' - a} = \frac{\beta - b}{b' - b} \quad (III)$$

Für den reinen Bodenkörper, der eine isomorphe Mischung der Salze  $A \cdot nH_2O$  und  $B \cdot nH_2O$  ist, gilt ferner

$$\alpha \cdot \left( \frac{[A] + n \cdot [H_2O]}{[A]} \right) + \beta \cdot \left( \frac{[B] + n \cdot [H_2O]}{B} \right) = 100 \quad (IV)$$

$= k_A$   $= k_B$

wobei die Werte  $k_A$  und  $k_B$  die Umrechnungsfaktoren vom wasserfreien Salz auf krystallwasserhaltiges Salz bedeuten.

Aus den Gleichungen (III) und (IV) folgt schliesslich

$$\alpha = \frac{(100 - b \cdot k_B) \cdot a' - (100 - b' \cdot k_B) \cdot a}{k_A(a' - a) + k_B(b' - b)} \quad (V)$$

= %-Gehalt der wasserfreien Komponente A im reinen Mischkrystall

$$\beta = \frac{(100 - a \cdot k_A) \cdot b' - (100 - a' \cdot k_A) \cdot b}{k_A(a' - a) + k_B(b' - b)}$$

= %-Gehalt der wasserfreien Komponente B im reinen Mischkrystall.

Wenn die auskrystallisierenden Mischkrystalle kein Krystallwasser enthalten, so werden  $k_A$  und  $k_B$  gleich 1, und man erhält die einfache Beziehung

$$\alpha_0 = \frac{(100 - b) a' - (100 - b') a}{(a' - a) + (b' - b)} = \text{Gew.-% A} \quad (VI)$$

$$\beta_0 = \frac{(100 - a) b' - (100 - a') b}{(a' - a) + (b' - b)} = \text{Gew.-% B}$$

### Graphische Ermittlung der Bodenkörperzusammensetzung.

In sehr einfacher Weise kann die Zusammensetzung der reinen Mischkrystalle graphisch bestimmt werden.

Man trägt in einem rechtwinkligen (oder schiefwinkligen) Koordinatensystem den %-Gehalt an A auf der Abszisse, den %-Gehalt B auf der Ordinate ab. Die darstellenden Punkte von Lösung und mutterlaugehaltigem Bodenkörper sind L, bzw. M (vgl. Fig. 2). Ferner trägt man auf der Abszisse den darstellenden Punkt P des reinen krystallwasserhaltigen Salzes  $A \cdot nH_2O$  auf

$$\left( \text{Abszissenwert} = 100 \cdot \left( \frac{[A]}{[A] + n \cdot [H_2O]} \right) = \frac{100}{k_A} \right).$$

In analoger Weise wird der darstellende Punkt Q der reinen Komponente  $B \cdot nH_2O$  auf der Ordinate aufgetragen

$$\left( \text{Ordinatenwert} = 100 \cdot \left( \frac{[B]}{[B] + n \cdot [H_2O]} \right) = \frac{100}{k_B} \right).$$

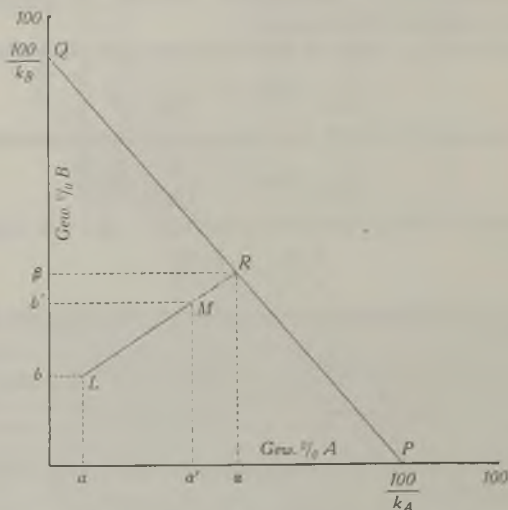


Fig. 2.

Da alle Mischungen der beiden Komponenten  $A \cdot nH_2O$  und  $B \cdot nH_2O$  den darstellenden Punkt auf der Geraden PQ haben und der darstellende Punkt des reinen Bodenkörpers auf der Verlängerung der Geraden LM liegen muss, hat man lediglich die Lage des Schnittpunktes R dieser beiden Geraden festzustellen, um sofort die Koordinaten  $\alpha$  und  $\beta$  des mutterlaugefreien, reinen Bodenkörpers ablesen zu können.

### Zusammenfassung.

1. Es wird eine Methode zur Herstellung von homogenen Mischkristallen beschrieben.
2. Ein algebraisches und ein graphisches Auswertungsverfahren zur Ermittlung der Bodenkörperzusammensetzung von Mischkristallen, die nicht mutterlaugefrei zu erhalten sind, werden mitgeteilt.

Chemisches Institut der Universität Bern,  
Laboratorium für analytische und angewandte Chemie.

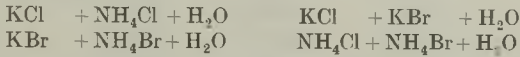
190. Untersuchungen über Mischkristallbildung in Lösungen.

II. Die Systeme  $\text{KCl} + \text{NH}_4\text{Cl} + \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KBr} + \text{NH}_4\text{Br} + \text{H}_2\text{O}$ ,  
 $\text{KCl} + \text{KBr} + \text{H}_2\text{O}$  und  $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{NH}_4\text{Br} + \text{H}_2\text{O}$  bei  $25^\circ$

von R. Flatt und G. Burkhardt.

(30. IX. 44.)

In der vorstehenden Mitteilung <sup>1)</sup> ist darauf hingewiesen worden, dass zur Gewinnung von Mischkristallen aus Lösungen besondere Massnahmen getroffen werden müssen, wenn man Mischkristalle erhalten will, deren Zusammensetzung dem Gleichgewicht mit der überstehenden gesättigten Lösung entspricht. Das beschriebene Verfahren zur Erzeugung homogener Mischkristalle wurde für das Studium der Systeme



angewandt. Wir beschränken uns im folgenden darauf, die Ergebnisse dieser Untersuchung in aller Kürze mitzuteilen. Einzelheiten finden sich in der Diss. von G. Burkhardt<sup>2)</sup>.

In den Tabellen und Figuren sind die Resultate in der von Jänecke empfohlenen Darstellungsart wiedergegeben. Die Menge ist so gewählt, dass die Summe der Salzmoles 100% beträgt. Für die gesättigten Lösungen wird die Wassermenge in Molen angegeben, die zur Auflösung eines Mols Salzgemisch gerade ausreicht. Zur Festlegung der Salzzusammensetzung genügt die Angabe der Mole der einen Komponente; die Menge der zweiten ergibt sich als Ergänzung zu 100%.

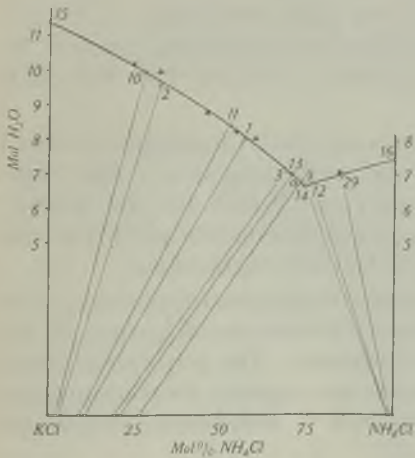


Fig. 1.

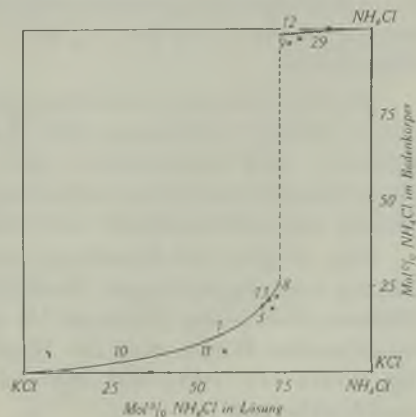


Fig. 2.

<sup>1)</sup> R. Flatt, J. Wilhelm und G. Burkhardt, *Helv.* **27**, 1600 (1944).

<sup>2)</sup> G. Burkhardt, Untersuchungen über ternäre Mischkristallbildung. Das System  $\text{K} - \text{NH}_4 - \text{Cl} - \text{Br} - \text{H}_2\text{O}$  bei  $25^\circ$ , Diss. Bern 1942.

Das System  $\text{KCl} + \text{NH}_4\text{Cl} + \text{H}_2\text{O}$  bei  $25^\circ$ .  
(Tabelle 1, Figg. 1 und 2.)

Tabelle 1.

I Versuch Nr.	II	III	IV	V
	Lösung		Bodenkörper	
	Mol.-% $\text{NH}_4\text{Cl}$	Mol $\text{H}_2\text{O}$	Mol.-% $\text{NH}_4\text{Cl}$	Krystalltyp
15	0,0	11,40	0,0	I
10	27,9	10,00	3,0	I
2	32,2	9,58	2,5	I
11	52,4	8,47	9,2	I
1	56,2	8,05	11,0	I
3	68,5	7,13	19,4	I
13	70,5	7,07	22,4	I
8	73,3	6,89	26,6	I
9	74,2	6,67	98,6	II
12	76,1	6,78	98,5	II
29	84,6	7,00	99,1	II
16	100,0	7,47	100,0	II

Über dieses System liegen bereits Untersuchungen von *Biltz* und *Marcus*<sup>1)</sup>, sowie von *Uyeda*<sup>2)</sup> vor. Es treten zwei Arten von Mischkrystallen auf. Die einen (I) sind kubisch flächenzentriert ( $B_1$ -Typ, Steinsalztyp); es sind dies die  $\text{KCl}$ -Krystalle, die  $\text{NH}_4\text{Cl}$  unter Mischkrystallbildung aufgenommen haben. Die andern (II) krystallisieren kubisch innenzentriert ( $B_2$ -Typ, Caesiumchloridtyp); sie sind  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Krystalle mit eingebautem  $\text{KCl}$ .

Es besteht eine Mischungslücke von 26,6—98,6 Mol.-%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Das Löslichkeitsdiagramm weist zwei Kurvenstücke auf, die sich im Zweisalzpunkt (25,8 Mol.-%  $\text{KCl}$ , 74,2 Mol.-%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 6,67 Mol  $\text{H}_2\text{O}$ ) schneiden.

In Fig. 1 ist das Löslichkeitsdiagramm wiedergegeben (Abszisse: Mol.-%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ; Ordinate: Mol  $\text{H}_2\text{O}$  zur Auflösung von 1 Mol Salzgemisch). Auf der Abszisse sind ferner die Werte für die Bodenkörperzusammensetzung aufgetragen. Zusammengehörige Werte von Lösung und Bodenkörper sind durch Gerade verbunden.

Fig. 2 gibt die Beziehung zwischen Salzzusammensetzung von Lösung und zugehörigem Bodenkörper (Werte der Kolonne II als Abszisse, Werte der Kolonne IV als Ordinate). Die mit einem Kreis bezeichneten Werte sind die Ergebnisse der eigenen Bestimmungen. Die Werte von *Biltz* und *Marcus* sind mit + bezeichnet, diejenigen von *Uyeda* mit ×.

<sup>1)</sup> W. Biltz und E. Marcus, Z. anorg. Ch. 71, 166 (1911).

<sup>2)</sup> K. Uyeda, 8th. int. Congr. appl. Ch. 22, 237 (1912).

Man erkennt in Fig. 1 eine befriedigende Übereinstimmung der Werte von *Biltz* und *Marcus* mit den eigenen Werten. Dagegen weichen in Fig. 2 die Angaben von *Uyeda* für die Bodenkörperzusammensetzung ganz beträchtlich von unsern Bestimmungen ab. Wir vermuten, dass der genannte Autor die Mischkristalle nicht in einwandfreier Weise gewonnen hat.

Das System  $\text{KBr} + \text{NH}_4\text{Br} + \text{H}_2\text{O}$  bei  $25^\circ$ .  
(Tabelle 2, Figg. 3 und 4.)

Tabelle 2.

Versuch Nr.	Lösung		Bodenkörper	
	Mol-% $\text{NH}_4\text{Br}$	Mol $\text{H}_2\text{O}$	Mol-% $\text{NH}_4\text{Br}$	Krystalltyp
24	0,0	9,63	0,0	I
19	27,8	8,56	8,7	I
26	48,1	7,63	18,2	I
17	54,4	7,17	23,5	I
21	63,6	6,87	33,1	I
20	64,4	6,70	—	
22	69,4	6,42	43,6	I
23	69,5	6,48	43,0	I
27	73,4	6,25	49,5	I
38	74,6	6,20	50,4	I
31	75,7	6,22	98,3	II
30	75,8	6,19	—	
28	76,2	6,23	98,4	II
18	78,7	6,22	98,7	II
7	84,3	6,42	98,8	II
25	100,0	6,92	100,0	II

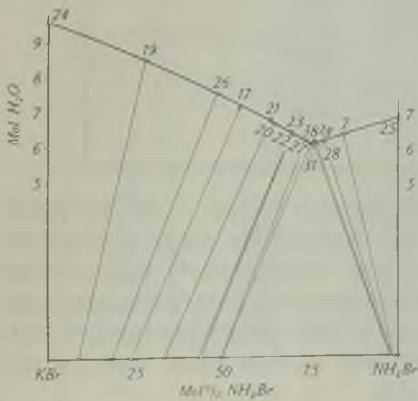


Fig. 3.

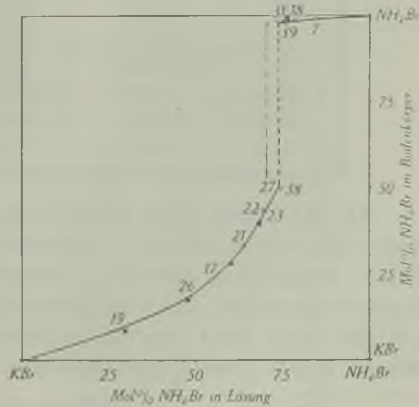


Fig. 4.

Es liegen Untersuchungen von *Fock*<sup>1)</sup> über die Zusammensetzung der Mischkrystalle vor. Die Werte sind in Fig. 4 mit × bezeichnet. Sie fügen sich sehr gut in die Kurve der eigenen Bestimmungen ein. Hingegen besteht ein erheblicher Unterschied für die Lage des Zweisalzpunktes. Unsere Bestimmungen führten zu den Werten 75,7 Mol-% NH<sub>4</sub>Br und 6,20 Mol H<sub>2</sub>O pro Mol Salzgemisch, während *Fock* den niedrigeren Wert von 70,28 Mol-% NH<sub>4</sub>Br angibt.

Das System zeigt ein durchaus gleichartiges Bild wie das System KCl + NH<sub>4</sub>Cl + H<sub>2</sub>O. Den beiden Krystalltypen I (Steinsalztyp) und II (Caesiumchloridtyp) sind zwei Kurvenstücke des Löslichkeitsdiagramms zugeordnet. Im Zweisalzpunkt erreicht der Einbau des NH<sub>4</sub>Br in das Gitter des KBr 50,4%, also erheblich mehr als im Falle der Chloride, während im Krystalltyp des NH<sub>4</sub>Br nur 1,7% KBr aufgenommen werden. Die Mischungslücke geht somit von 50,4 bis 98,3 Mol-% NH<sub>4</sub>Br.

Bemerkenswerter Weise ist im Zweisalzpunkt beider Systeme das Verhältnis K:NH<sub>4</sub> in der Lösung fast genau gleich (25,8 : 74,2 im Chloridsystem, 24,3 : 75,7 im Bromidsystem).

Das System KCl + KBr + H<sub>2</sub>O bei 25°.

(Tabelle 3, Figg. 5 und 6.)

Tabelle 3.

Versuch Nr.	Lösung		Bodenkörper	
	Mol-% KBr	Mol H <sub>2</sub> O	Mol-% KBr	Krystalltyp
15	0,0	11,40	0,0	I
32	23,4	10,47	6,8	I
4	43,3	9,70	18,3	I
6	49,6	9,26	28,4	I
35	60,0	9,12	53,8	I
5	66,2	8,95	67,8	I
34	74,5	9,08	80,0	I
33	82,4	9,31	88,5	I
36	91,8	9,46	95,7	I
24	100,0	9,63	100,0	I

Da KCl und KBr gleiches Krystallgitter haben – sie krystallisieren im Steinsalztyp –, besteht die Möglichkeit einer kontinuierlichen Mischkrystallreihe. *Amadori* und *Pampanini*<sup>2)</sup> haben denn auch festgestellt, dass im Löslichkeitsdiagramm kein Zweisalzpunkt auftritt und dass als Bodenkörper nur eine Mischkrystallart entstehen kann. Die Angaben dieser Autoren sind in Figg. 5 und 6 mit

<sup>1)</sup> A. *Fock*, Z. Kr. 28, 337 (1897).

<sup>2)</sup> M. *Amadori* und G. *Pampanini*, R. A. L. [5] 20, II, 473 (1911).



+ eingetragen. Die Übereinstimmung ist im Löslichkeitsdiagramm (Fig. 5) recht gut, dagegen treten im Diagramm für die Mischkrystallzusammensetzung (Fig. 6) erhebliche Differenzen auf.

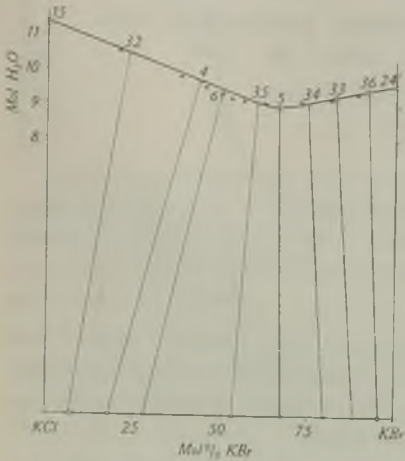


Fig. 5.

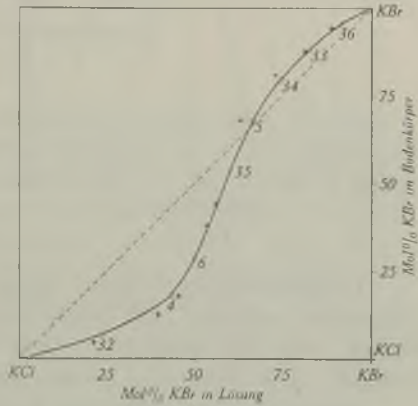


Fig. 6.

Bemerkenswert ist die Tatsache, dass die Löslichkeitskurve ein auffallend scharfes (aber kontinuierliches) Minimum bei 65,0 Mol-% KBr und 8,95 Mol H<sub>2</sub>O aufweist. Bei diesem Minimum hat der Bodenkörper die gleiche Salzzusammensetzung wie die Lösung.

Das System NH<sub>4</sub>Cl + NH<sub>4</sub>Br + H<sub>2</sub>O bei 25°.  
(Tabelle 4, Figg. 7 und 8.)

Tabelle 4.

Versuch Nr.	Lösung		Bodenkörper	
	Mol-% NH <sub>4</sub> Br	Mol H <sub>2</sub> O	Mol-% NH <sub>4</sub> Br	Krystalltyp
16	0,0	7,47	0,0	II
44	16,2	6,92	3,8	II
40	24,9	6,64	6,2	II
45	34,5	6,38	11,0	II
46	42,3	6,12	17,2	II
41	48,3	5,89	33,2	II
42	54,3	5,91	52,7	II
43	59,8	5,95	72,0	II
48	63,0	5,94	75,6	II
47	78,2	6,30	90,7	II
25	100,0	6,92	100,0	II

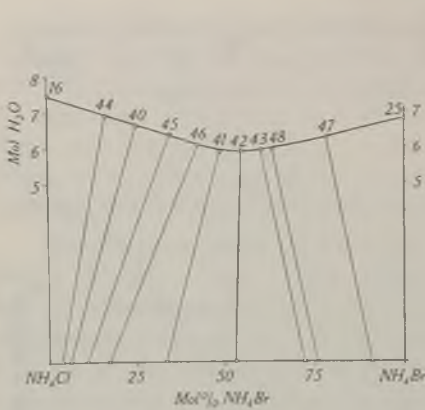


Fig. 7.

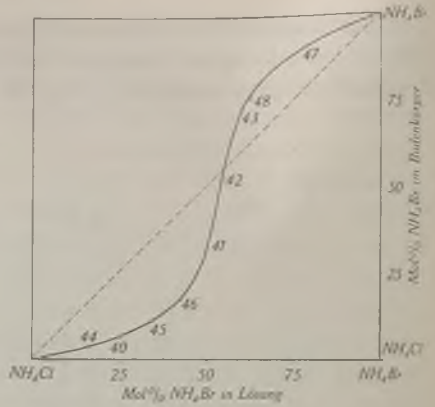


Fig. 8.

Untersuchungen über dieses System sind bisher nicht veröffentlicht worden. Da beide Salze im Caesiumchloridtyp kristallisieren, war zu erwarten, dass eine lückenlose Mischkristallreihe besteht. Die Versuche haben dies bestätigt.

Die Löslichkeitskurve ist kontinuierlich und weist bei 55,0 Mol-%  $\text{NH}_4\text{Br}$  und 5,90 Mol  $\text{H}_2\text{O}$  ein flaches Minimum auf. An dieser Stelle haben wiederum Lösung und Bodenkörper gleiche Salzzusammensetzung. Die Kurve in Fig. 8 geht denn auch bei der Abszisse 55,0 durch die Diagonale.

#### Zusammenfassung.

1. Die Löslichkeitsdiagramme der Systeme  $\text{KCl} + \text{NH}_4\text{Cl} + \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KBr} + \text{NH}_4\text{Br} + \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KCl} + \text{KBr} + \text{H}_2\text{O}$  und  $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{NH}_4\text{Br} + \text{H}_2\text{O}$  werden für  $25^\circ$  aufgestellt.

2. Die Zusammensetzung der als Bodenkörper auftretenden Mischkristalle wird in Abhängigkeit von der Lösungszusammensetzung angegeben.

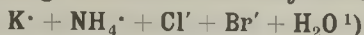
3. In den beiden ersten Systemen treten zwei Bodenkörpertypen auf; es besteht eine Mischungslücke. Das Löslichkeitsdiagramm ist aus zwei Kurvenästen zusammengesetzt.

4. Die beiden folgenden Systeme liefern eine ununterbrochene Mischkristallreihe. Die Löslichkeitskurven sind kontinuierlich und weisen Minima auf.

Chemisches Institut der Universität Bern,  
Laboratorium für analytische und angewandte Chemie.

191. Untersuchungen über Mischkrystallbildung in Lösungen.

III. Die Bildung ternärer Mischkrystalle im System



von R. Flatt und G. Burkhardt.

(30. IX. 44.)

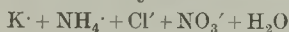
Im Gegensatz zu den vielen Untersuchungen über die Mischkrystallbildung in ternären Systemen, bestehend aus zwei Salzen und einem Lösungsmittel, findet man in der Literatur fast keine Angaben über Bildung und Zusammensetzung von Mischkrystallen in komplizierteren Systemen. Es wäre dringend erwünscht, dass Untersuchungen von quaternären Systemen, in denen Mischkrystalle auftreten können, auf breiter Basis durchgeführt würden.

Die in Betracht fallenden Vierstoffsysteme können in folgende Gruppen eingeteilt werden:

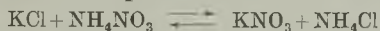
- a) Systeme bestehend aus Lösungsmittel und 3 Kationen und 1 Anion,
- b) Systeme bestehend aus Lösungsmittel und 1 Kation und 3 Anionen,
- c) Systeme bestehend aus Lösungsmittel und 2 Kationen und 2 Anionen.

Es scheint, dass bisher nur die 3. Gruppe in wenigen Beispielen bearbeitet worden ist.

Jänecke<sup>2)</sup> untersuchte das System



das man als reziprokes Salzpaar



auffassen kann. Darin sind nur die Kationen in Krystallgittern austauschbar. Es treten deshalb lediglich binäre Mischkrystalle auf, nämlich die Salztypen  $(K, NH_4)Cl$  und  $(K, NH_4)NO_3$ .

Von Ishikawa<sup>3)</sup> liegt eine Untersuchung über das System



vor, in welchem sowohl die Kationen als die Anionen isomorph vertretbar sind. Man erhält daher ternäre Mischkrystalle vom Typ  $(K, NH_4)_2(SO_4, CrO_4)$ . Die Kenntnisse über dieses System sind unvollständig. Ishikawa hat seine Untersuchungen auf die Zweisalzzlinie beschränkt und ist zu überraschenden Ergebnissen gelangt, die eine gründliche Bearbeitung des ganzen Systems rechtfertigen würden.

Bisher ist kein Fall experimentell untersucht, in dem 4 Ionen aus wässriger Lösung Mischkrystalle ohne Mischungslücke liefern.

<sup>1)</sup> 2. Mitteilung, Helv. 27, 1605 (1944).

<sup>2)</sup> E. Jänecke, Z. angew. Ch. 41, 916 (1928).

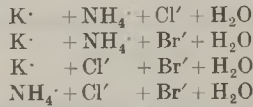
<sup>3)</sup> T. Ishikawa, Bl. Chem. Soc. Japan 1, 139 (1926).

Rein theoretisch hat *Jänecke*<sup>1)</sup> die Verhältnisse beschrieben, die im System

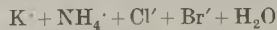


zu erwarten sind. Es ist wahrscheinlich, dass in diesem System stets nur ein Bodenkörper auftreten kann.

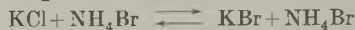
In der vorhergehenden Mitteilung<sup>2)</sup> sind die Systeme



beschrieben worden. Wie in vielen andern Fällen hat sich auch hier gezeigt, dass sowohl die Kationen  $K \cdot$  und  $NH_4 \cdot$  als auch die Anionen  $Cl'$  und  $Br'$  isomorph vertretbar sind. Im quaternären System



das als reziprokes Salzpaar



betrachtet werden kann, sind daher ternäre Mischkrystalle zu erwarten, in denen stets alle 4 Ionenarten des Systems zugegen sind.

Wir entschlossen uns, dieses quaternäre System bei 25° in allen Teilen zu untersuchen, um einen Einblick in die Beziehungen zwischen der Zusammensetzung der Lösungen und dem Aufbau der Bodenkörper zu gewinnen.

Auf Grund der Kenntnisse der 4 Randsysteme waren einfache Verhältnisse vorauszusehen, und man konnte sich eine ungefähre Vorstellung über das Löslichkeitsdiagramm machen. Da in den ternären Randsystemen keine Doppelsalze auftreten, war anzunehmen, dass auch im quaternären System nirgends ein Doppelsalz existieren kann. Die Tatsache, dass in den Systemen  $KCl + KBr + H_2O$  und  $NH_4Cl + NH_4Br + H_2O$  eine lückenlose Mischkrystallreihe besteht und dass in den Systemen  $KCl + NH_4Cl + H_2O$  und  $KBr + NH_4Br + H_2O$  je ein Zweisalzpunkt und eine Mischungslücke auftreten, gab Anlass zur Vermutung, dass das Löslichkeitsdiagramm aus nur zwei Feldern besteht, denen 2 Mischkrystalltypen zugeordnet sind.

Die vorliegende Untersuchung zerfiel in 2 Teile. In erster Linie mussten bei 25° gesättigte Lösungen mit den Komponenten  $K \cdot$ ,  $NH_4 \cdot$ ,  $Cl'$  und  $Br'$  hergestellt und analysiert werden. Sodann waren die mit diesen Lösungen im Gleichgewicht stehenden Bodenkörper zu gewinnen. Wir benützten hiefür die in der ersten Mitteilung<sup>3)</sup> beschriebene Arbeitsmethode. Die Bodenkörper wurden samt der anhaftenden Mutterlauge analysiert. Die Zusammensetzung der reinen, mutterlaugefreien Mischkrystalle wurde rechnerisch oder graphisch ermittelt.

<sup>1)</sup> *E. Jänecke*, Z. El. Ch. 43, 924 (1937).

<sup>2)</sup> *Helv.* 27, 1605 (1944).

<sup>3)</sup> *R. Flatt, J. Wilhelm und G. Burkhardt*, *Helv.* 27, 1600 (1944).

Zur Analyse von Lösungen und Bodenkörpern benützten wir folgende Verfahren.

Bestimmung des Kaliums: Abrauchen des Trockenrückstandes mit  $H_2SO_4$  und Wägung als  $K_2SO_4$ .

Bestimmung des Ammoniums: Titration des durch Destillation ausgetriebenen  $NH_3$  in bekannter Weise.

Bestimmung des Bromids: Wir verfügten über eine vor längerer Zeit von *Flatt* und *Boname*<sup>1)</sup> ausgearbeitete Methode zur Bestimmung von Bromid neben Chlorid, die selbst dann präzise Resultate liefert, wenn das Verhältnis Br : Cl 1 : 1000 beträgt. Sie beruht auf einer fraktionierten Oxydation mit  $KMnO_4$  und darauffolgender Extraktion mit  $CCl_4$ . Man erhält so alles Brom in freier Form neben etwas Chlor. Die vereinigten Extrakte werden sodann mit arseniger Säure potentiometrisch titriert. Eine Mitteilung über diese Brombestimmungsmethode wird demnächst in dieser Zeitschrift erscheinen.

Bestimmung des Chlorids: Aus der Bestimmung der Kationen  $K'$  und  $NH_4'$  und des Anions  $Br'$  könnte der  $Cl'$ -Gehalt berechnet werden. Diese Berechnung als Differenz führt insbesondere dann zu Unsicherheiten, wenn wenig  $Cl'$  neben viel  $Br'$  vorliegt. Ausserdem ist es sehr erwünscht, durch Bestimmung der Halogenide eine Kontrolle der Richtigkeit der Werte für  $K'$  und  $NH_4'$  zu besitzen. Deshalb wurde in allen Fällen das Gesamthalogenid durch potentiometrische Titration mit Silbernitrat bestimmt. Der  $Cl'$ -Gehalt ergab sich dann aus der Differenz Gesamthalogenid minus Bromidgehalt.

Die Vermutung, dass das Löslichkeitsdiagramm aus zwei Feldern besteht und dass eine Zweisalzlinie vom Zweisalzpunkt des Randsystems  $KCl + NH_4Cl + H_2O$  quer durch das Gesamtsystem zum Zweisalzpunkt des Randsystems  $KBr + NH_4Br + H_2O$  verläuft, erwies sich als richtig.

Es wurde eine grosse Zahl Löslichkeitsversuche durchgeführt, um die Lage der Zweisalzlinie genau festzustellen. Die Kontrolle, ob eine gesättigte Lösung der Zweisalzlinie angehört, ist durch mikroskopische Prüfung des Bodenkörpers leicht durchzuführen. Die Mischkristalle des Steinsalztipes (Kaliumhalogenid mit eingebautem  $NH_4'$ ) bilden schöne Würfel, während die zweite feste Phase, die im Caesiumchloridtyp kristallisiert (Ammoniumhalogenid mit eingebautem  $K'$ ), farnkrautähnliche Gebilde liefert. Fig. 1 zeigt eine Aufnahme des Bodenkörpers einer zweisalzgesättigten Lösung; die beiden Krystallformen sind deutlich erkennbar.



Fig. 1.

<sup>1)</sup> *R. Flatt* und *A. Boname*, Bl. [4] **47**, 521 (1930); *A. Boname*, Sur la séparation potentiométrique des halogénures, Diss. Mulhouse 1931.

Sodann wurden nach dem früher beschriebenen Verfahren die Bodenkörper, die mit den Zweisalzlösungen im Gleichgewicht stehen, einzeln hergestellt und analysiert.

Mit der Ermittlung der Zweisalzzlinie und der Kenntnis der Sättigungslinien der Randsysteme waren die Umrandungen der beiden Löslichkeitsfelder festgelegt. Durch eine Anzahl zweckmässig gewählter Ansätze wurden gesättigte Lösungen erhalten, deren darstellende Punkte im Innern der beiden Felder lagen. Damit wurde die Form der Sättigungsfelder bestimmt. Schliesslich wurden in solchen Lösungen die zugehörigen Bodenkörper gewonnen und untersucht.

Zur Wiedergabe der Versuchsergebnisse verwendet man im vorliegenden Fall mit Vorteil das von *Jänecke* empfohlene Verfahren. Man bezieht alle Angaben auf eine Gesamtsalzmenge von 1 Mol. Um die Zusammensetzung einer gesättigten Lösung eindeutig anzugeben, sind im quaternären System 3 Zahlenwerte mitzuteilen.

- I. die Mol-% eines der beiden Kationen (die Menge des 2. Kations ergibt sich als Ergänzung zu 100%);
- II. die Mol-% des einen der beiden Anionen;
- III. die Mole  $H_2O$ , die zur Auflösung von 1 Mol Salzgemisch mit der durch I und II festgelegten Zusammensetzung gerade ausreichen.

Die geometrische Darstellung des Lösungssystems erfordert ein räumliches Diagramm. Zur Angabe der Salzzusammensetzung trägt man im „*Jänecke-Quadrat*“ die Mol-%  $NH_4^+$  als Abszisse, die Mol-%  $Br^-$  als Ordinate auf. Die zur Auflösung eines Mols Salzgemisch notwendige Wassermenge wird senkrecht zur Quadratebene über dem darstellenden Punkt des Salzgemisches aufgetragen.

### Die Zweisalzzlinie und ihre zugehörigen Bodenkörper.

In der Dissertation von *G. Burkhardt*<sup>1)</sup> sind die Werte der zahlreichen experimentellen Bestimmungen mitgeteilt. Wir beschränken uns darauf, hier die interpolierten Koordinaten von 10 zu 10% wiederzugeben (Tabelle 1); Fig. 2 gibt die experimentellen Werte in graphischer Darstellung. Zusammengehörige Werte von Lösung und Bodenkörper sind durch Gerade verbunden. Die Linie AB ist die Normalprojektion der Zweisalzzlinie auf die Quadratebene. Die mit Lösungen der Zweisalzzlinie im Gleichgewicht stehenden Bodenkörper haben ihre darstellenden Punkte auf den Linien CD (Mischkrystalle des Steinsalztyps) und EF (Mischkrystalle des Caesiumchloridtyps).

### Linien gleichen Wassergehaltes.

Aus den Höhenquoten der Zweisalzzlinie und der 4 Randsysteme und unter Zuhilfenahme der Quoten der Einzelbestimmungen innerhalb der Felder wurde die Lage der Höhenlinien für

<sup>1)</sup> *G. Burkhardt*, Untersuchungen über ternäre Mischkristallbildung. Das System  $K^+ - NH_4^+ - Cl^- - Br^- - H_2O$  bei 25°. Diss. Bern 1942.

6, 7, 8, 9, 10 und 11 Mol H<sub>2</sub>O interpoliert (Tabelle 2). Fig. 3 ist die Normalprojektion der Höhenlinien des räumlichen Diagramms auf die Quadratebene.

Tabelle 1.

Zweisalzlösung			Bodenkörper I		Bodenkörper II	
Mol-% Br'	Mol-% NH <sub>4</sub> '	Mol H <sub>2</sub> O	Mol-% Br'	Mol-% NH <sub>4</sub> '	Mol-% Br'	Mol-% NH <sub>4</sub> '
0	74,2	6,67	0,0	26,6	0,0	98,6
10	74,3	6,58	4,2	30,7	1,5	98,2
20	75,0	6,06	10,6	36,4	4,6	97,6
30	76,3	5,75	20,0	43,8	9,0	97,2
40	78,6	5,52	33,0	52,6	16,6	97,2
50	81,0	5,41	48,3	60,2	36,0	98,0
60	81,0	5,40	64,4	62,1	72,0	98,0
70	79,4	5,52	76,5	59,2	84,8	97,2
80	77,7	5,71	86,0	56,0	91,2	97,2
90	75,9	5,94	94,2	52,9	95,6	97,6
100	75,7	6,20	100,0	50,4	100,0	98,4

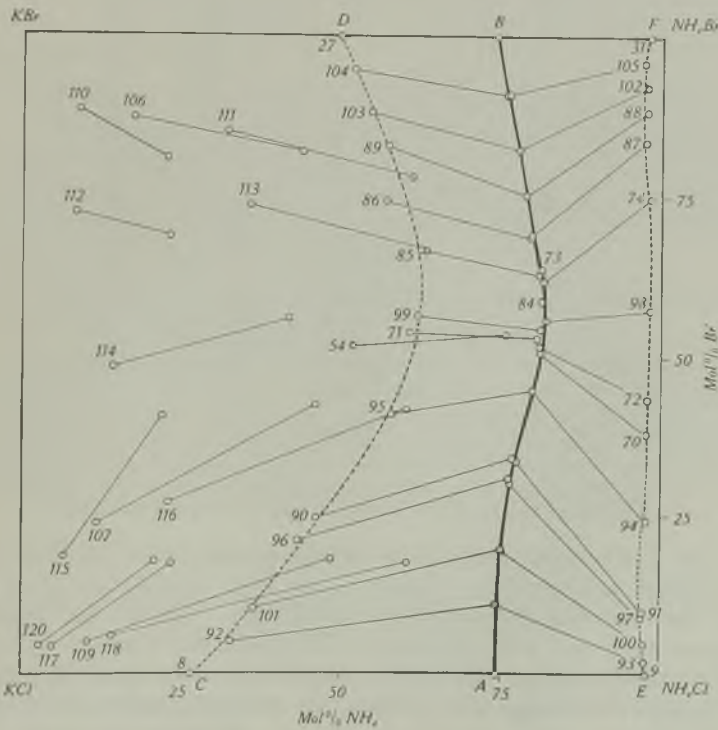


Fig. 2.

Tabelle 2.

Mol H <sub>2</sub> O	Mol-% Br' =		40	60	80	100
	0	20				
	Mol-% NH <sub>4</sub> ' =					
11	9,0	—	—	—	—	—
10	28,0	14,5	—	—	—	—
9	44,0	32,5	11,0	2,0	5,5	17,5
8	58,0	49,5	36,5	25,0	31,0	40,0
7	70,0	64,0	54,5	48,0	53,0	60,5
6	—	—	72,0	69,5	72,0	—
6	—	—	93,5	—	87,0	—
7	83,5	—	—	—	—	—

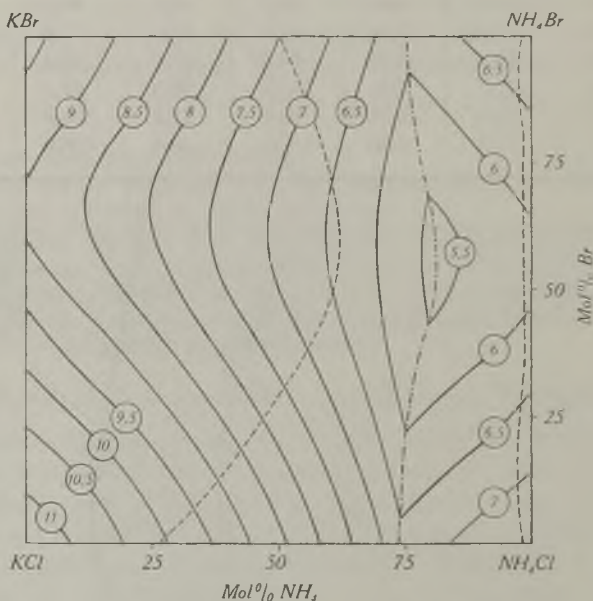


Fig. 3.

### Diskussion des Löslichkeitsdiagramms.

Die Endpunkte der Zweisalzzlinie liegen bei 74,2 Mol-% NH<sub>4</sub>' (im Chlorid-Randsystem, Punkt A in Fig. 2) und bei 75,7 Mol-% NH<sub>4</sub>' (im Bromid-Randsystem, Punkt B). Sie ist im Innern des Systems nach der Seite grösseren NH<sub>4</sub>'-Gehaltes (bis auf 81,0 Mol-% NH<sub>4</sub>') ausgebuchtet. Die Höhenquote ist bei A 6,67 Mol H<sub>2</sub>O; sie sinkt gegen das Innere des Systems ab und geht bei ca. 55 Mol-% Br' und 81 Mol-% NH<sub>4</sub>' durch ein flaches Minimum (5,40 Mol H<sub>2</sub>O).



Dann steigt sie zum Wert 6,20 Mol  $H_2O$  im Punkt B auf. Die Bodenkörper des Typs I (Steinsalztyp), die mit Lösungen der Zweisalzzlinie im Gleichgewicht stehen, enthalten in den Randsystemen 26,6 Mol-%  $NH_4^+$  (im Chloridsystem) und 50,4 Mol-%  $NH_4^+$  (im Bromidsystem). Interessanterweise kann im Innern des Gesamtsystems der Einbau des  $NH_4^+$  den erstaunlich hohen Betrag von 62,1 Mol-% erreichen. Die Kurve CD zeigt diese starke Ausbuchtung nach rechts.

Bezüglich des Anionengehalts in diesen Bodenkörpern ist festzustellen, dass in chloridreichen Lösungen das Chlorid im Bodenkörper angereichert wird (z. B. gibt die Zweisalzlösung mit 90 % Cl' einen Bodenkörper mit 95,8 % Cl'). Dagegen wird in bromidreichen Lösungen das Bromid in erhöhtem Mass in den Bodenkörper eingebaut (z. B. scheidet die Zweisalzlösung mit 90 % Br' einen Bodenkörper mit 94,2 % Br' aus). Die Zweisalzlösung mit 52 % Br' liefert einen Bodenkörper des Steinsalztyps, in dem weder Cl', noch Br' angereichert ist.

Die Bodenkörperlinie des Mischkrystalltyps II (Caesiumchloridtyp) geht von 98,4 Mol-%  $NH_4^+$  (Punkt E) aus und zeigt deutlich eine kleine Ausbuchtung nach links, dann eine solche nach rechts und schliesslich wieder nach links. Sie endet bei 98,6 Mol-%  $NH_4^+$  im Bromidrandsystem.

Die Höhenlinien in Fig. 3 zeigen die Form der beiden Sättigungsfelder. Man erkennt, dass das „Kaliumfeld“ (Bodenkörpertyp I) von den Gipfelpunkten KCl und KBr mit wachsender Steilheit gegen die Zweisalzzlinie abfällt und dass eine Mulde besteht, die vom Minimum des KCl-KBr-Randsystems gegen das Minimum der Zweisalzzlinie absinkt und sich gegen diese verflacht.

Auf der Seite der Ammoniumsalze fällt das Feld ziemlich gleichmässig von den Eckpunkten gegen die Mitte ab.

Ein räumliches Modell des Löslichkeitsdiagramms ist in Fig. 4 abgebildet. Es zeigt die Sättigungslinien der vier Randsysteme, sowie die Zweisalzzlinie. Von dieser sind weisse Fäden zu den zugehörigen Bodenkörpern gespannt. Das grosse weisse Feld umfasst die darstellenden Punkte aller in diesem System auftretenden Bodenkörper des Steinsalztyps. Die Mischkrystalle des Caesiumchloridtyps haben ihre darstellenden Punkte im schmalen weissen Streifen. Das dunkle Feld der Grundfläche stellt die Mischungslücke dar.

### Theoretische Betrachtungen.

#### 1. Beziehungen zwischen den Eigenschaften der Ionen und dem Löslichkeitsdiagramm.

Das nachstehende Löslichkeitsdiagramm gibt Anlass zu interessanten Betrachtungen über charakteristische Eigenschaften der am System beteiligten Ionen.

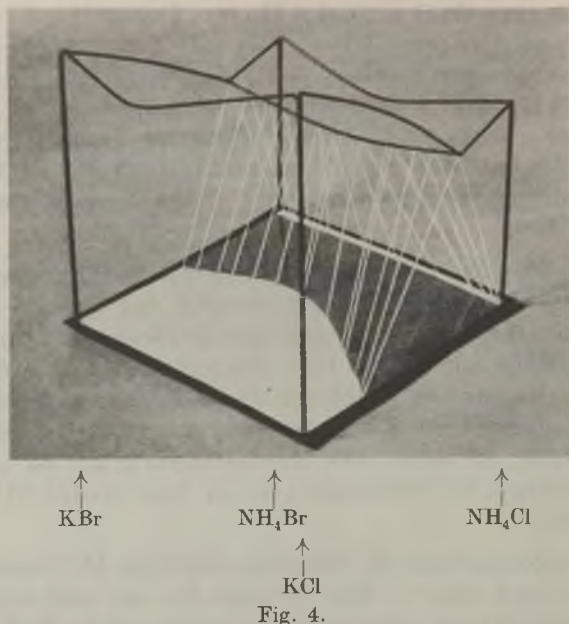


Fig. 4.

Die Ionen  $K^+$ ,  $Cl^-$  und  $Br^-$  besitzen zweifellos Kugelsymmetrie, während das  $NH_4^+$ -Ion diesen hohen Symmetriegrad nicht erreicht. Die Ionenradien betragen nach *Goldschmidt*<sup>1)</sup> 1,33 Å für  $K^+$ , 1,43 Å für  $NH_4^+$ , 1,81 Å für  $Cl^-$  und 1,96 Å für  $Br^-$ . Das dem Kalium sehr ähnliche Rubidium hat als Kation einen Radius von 1,48 Å, ist also etwas grösser als das  $NH_4^+$ . Gleichwohl kristallisieren  $RbCl$  und  $RbBr$  kubisch flächenzentriert wie die beiden entsprechenden Kaliumsalze. Wenn die Ionengrösse allein massgebend für den Gitteraufbau wäre, müssten  $NH_4Cl$  und  $NH_4Br$  ebenfalls im Steinsalztyp kristallisieren. Wie früher erwähnt worden ist, gehören jedoch diese beiden Salze dem Caesiumchloridtyp an, sind also kubisch innenzentriert. Es ist bemerkenswert, dass bei hohen Temperaturen, bei denen die strukturellen Eigenheiten des  $NH_4^+$ -Ions wegen der möglichen Rotationsbewegungen weniger stark in Erscheinung treten können, sowohl  $NH_4Cl$  als auch  $NH_4Br$  im Steinsalztyp kristallisieren. Dieses Gitter tritt für  $NH_4Cl$  oberhalb  $184,3^\circ$ , für  $NH_4Br$  oberhalb  $137,8^\circ$  auf. Bei diesen höheren Temperaturen wirkt also das  $NH_4^+$ -Ion wie ein Alkaliion mit einem Radius, der etwas kleiner ist als derjenige des Rubidiumions.

Wenn es gelänge, das flächenzentrierte  $NH_4Cl$  auf  $25^\circ$  abzukühlen, so müsste man für diese Temperatur eine Gitterenergie erwarten, die zwischen den Gitterenergien von  $KCl$  und  $RbCl$  liegt. Diese Form ist instabil, und es erfolgt daher die Umlagerung zum

<sup>1)</sup> V. M. Goldschmidt, B. 60, 1270 (1927).

CsCl-Typ unter Vergrößerung der Gitterenergie. Hiefür kann der Ionenradius des  $\text{NH}_4^+$  nicht der Grund sein. Man muss diese Umlagerung der besonderen Symmetrieeigenschaft des  $\text{NH}_4^+$ -Ions zuschreiben.

Es ist offenbar so, dass der Bau des  $\text{NH}_4^+$ -Ions für die 6-Koordination des Steinsalztyps zum mindesten nicht von Vorteil ist und dass er besser zur 8-Koordination passt. Wesentlich ist die Feststellung, dass die unvollkommene Symmetrie des  $\text{NH}_4^+$ -Ions zum Aufbau der Krystalle im CsCl-Typ energetisch beiträgt.

Diese Betrachtungen finden eine interessante Stütze in den Bestimmungen der Bodenkörperzusammensetzung. Der Einbau des  $\text{NH}_4^+$  in die Kaliumsalze kann, wie die Versuche gezeigt haben, in den Randsystemen bis 26,6 bzw. 50,4 Mol-%  $\text{NH}_4^+$  erfolgen, im Innern des Diagramms sogar bis zu 62,1%. Das  $\text{NH}_4^+$ -Ion ist zu dieser Mischkrystallbildung befähigt dank seines dem  $\text{K}^+$ -Ion nahe kommenden Radius. Die unvollkommene Symmetrie des  $\text{NH}_4^+$  ist hiefür nicht störend, sondern lediglich belanglos.

Dagegen geht die Aufnahme des  $\text{K}^+$  in das Gitter der  $\text{NH}_4^+$ -Halogenide höchstens bis 3%. Diese Grenze ist deshalb so überraschend niedrig, weil für das  $\text{K}^+$ -Ion die wesentlichste Voraussetzung zum Ersatz des  $\text{NH}_4^+$  nicht erfüllt ist, nämlich die besondere Symmetrieeigenschaft des  $\text{NH}_4^+$ , die, wie oben gezeigt, dafür verantwortlich ist, dass der CsCl-Typ auftritt.

## 2. Einfluss der „Ionenunordnung“ der Lösung auf die Bodenkörperzusammensetzung.

Die Zweisalzzlinie, die vom Zweisalzpunkt des Systems



zum Zweisalzpunkt des Systems



führt, zeigt einen durchaus normalen Verlauf. Dass deren Projektion AB im Löslichkeitsquadrat (Fig. 2) keine Gerade ist, war zu erwarten. Die leichte Ausbuchtung nach der Ammoniumseite hin ist nichts Aussergewöhnliches und erfordert deshalb keine besondere theoretische Erörterung.

Dagegen überrascht der Kurvenverlauf CD der zugehörigen Bodenkörperlinie auf der Seite der Kaliumsalze. Es erscheint in der Tat auf den ersten Blick sonderbar, dass diese Linie von 26,6 Mol-%  $\text{NH}_4^+$  für das Chloridsystem bis zum hohen Wert von 62,1 Mol-%  $\text{NH}_4^+$  ansteigt und dann wiederum zurückgeht bis 50,4 Mol-%  $\text{NH}_4^+$  im Bromidrandsystem.

Beim näheren Zusehen erweist sich dieser weit gegen die  $\text{NH}_4^+$ -Seite ausholende Kurvenverlauf als durchaus normal und ist einer einfachen theoretischen Erklärung zugänglich.

Hiezu sei vorerst das Randsystem  $\text{KCl} + \text{NH}_4\text{Cl} + \text{H}_2\text{O}$  herangezogen.

Es ist festgestellt, dass im Existenzgebiet des Kaliumsalzes eine gegebene Lösung einen Bodenkörper liefert, der zwar nicht reines  $\text{KCl}$  ist, aber doch reicher an  $\text{KCl}$  ist als die Lösung selbst. Bei der Krystallisation besteht also die Tendenz, im Bodenkörper die eine Komponente, nämlich das  $\text{KCl}$ , anzureichern. Diese Anreicherung ist nicht nur absolut, sondern auch relativ umso wirkungsvoller, je reicher an  $\text{KCl}$  die Lösung selbst schon ist. Während beispielsweise eine Lösung mit 25,8 Mol-%  $\text{K}^+$  (also 74,2 Mol-%  $\text{NH}_4^+$ ) einen Bodenkörper von 73,4%  $\text{K}^+$  (also 26,6%  $\text{NH}_4^+$ ) gibt, wobei der „Anreicherungsfaktor“  $74,2 : 26,6 = 2,8$  beträgt, liefert eine Lösung mit 75%  $\text{K}^+$  (25%  $\text{NH}_4^+$ ) einen Bodenkörper von 98%  $\text{K}^+$  (2%  $\text{NH}_4^+$ ), was einem „Anreicherungsfaktor“ von  $25 : 2 = 12,5$  entspricht.

Wenn man in einer gesättigten Lösung von  $\text{KCl}$  einen Teil des  $\text{K}^+$  durch  $\text{NH}_4^+$  ersetzt, so wird sie ungesättigt, und es muss zuerst ein Teil des Lösungsmittels entfernt werden, damit die Möglichkeit des Krystallaufbaus wieder erreicht wird. Das bedeutet, dass bei teilweisem Ersatz des  $\text{K}^+$  durch  $\text{NH}_4^+$  die Krystallisation erschwert wird.

Nimmt man beide Feststellungen zusammen, so erkennt man, dass beim Übergang von einer Lösung mit einheitlichen Kationen (Lösung mit hoher „Ionenordnung“) zu einer Lösung mit Kationen, die zwar vertretbar, aber doch nicht einander gleich sind (Lösung mit geringerer „Ionenordnung“),

1. die Krystallbildung erschwert wird, und
2. die Tendenz zum Aufbau reiner Bodenkörper (d. h. mit möglichst wenig Fremdion) weniger zur Auswirkung kommt, und zwar um so ausgesprochener, je grösser die „Ionenunordnung“ ist.

Was hier für das System der Chloride gesagt wurde, gilt in gleicher Weise für das System  $\text{KBr} + \text{NH}_4\text{Br} + \text{H}_2\text{O}$  und auch für das System  $\text{KCl} + \text{KBr} + \text{H}_2\text{O}$ . In letzterem kann bei sehr grosser „Ionenunordnung“ sogar der Fall eintreten, dass im Bodenkörper überhaupt keine Anreicherung einer Komponente mehr erfolgen kann. Das trifft im Löslichkeitsmaximum, d. h. im Minimum der Kurve des Randsystems  $\text{KCl} + \text{KBr} + \text{H}_2\text{O}$  zu, denn diese Lösung liefert einen Bodenkörper, der gleiches Verhältnis  $\text{Br}' : \text{Cl}'$  aufweist wie die Lösung selbst.

Im Zweisalzpunkt des Systems  $\text{KBr} + \text{NH}_4\text{Br} + \text{H}_2\text{O}$  ist die Tendenz zum Aufbau eines reinen Kaliumsalzes so weit wirksam, dass bei einem Gehalt von 25 Mol-%  $\text{K}^+$  und 75 Mol-%  $\text{NH}_4^+$  in der Lösung der  $\text{K}^+$ -Gehalt des Bodenkörpers bis auf 50% gesteigert werden kann. Ersetzt man in dieser Lösung einen Teil des  $\text{Br}'$  durch  $\text{Cl}'$ , d. h. rückt man vom Randsystem ab gegen das Innere des Systems, so muss man erwarten,

1. dass die Löslichkeit zunimmt, d. h. dass das Sättigungsfeld an dieser Stelle abfällt, was auch wirklich zutrifft (siehe Fig. 3), und

2. dass infolge Erhöhung der „Ionenunordnung“ die Tendenz zum Aufbau eines reinen Kaliumsalzes geschwächt wird, d. h. dass der Bodenkörper das  $K^+$  nicht mehr bis zu 50% anreichern kann, also mehr als 50%  $NH_4^+$  aufnehmen muss, was ebenfalls mit dem experimentellen Befund übereinstimmt.

Die gleiche Überlegung gilt auch für den Zweisalzpunkt des Systems  $KCl + NH_4Cl + H_2O$ . Auch an dieser Stelle sinkt das Löslichkeitsfeld gegen das Innere ab, und der Einbau des  $NH_4^+$  im Kaliumsalz steigt mit zunehmendem Ersatz des  $Cl^-$  durch  $Br^-$ .

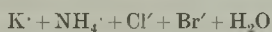
Es ist somit festgestellt, dass die starke Durchbiegung der Bodenkörperlinie CD (Fig. 2) für die Mischkrystalle des Steinsalztyps in voller Übereinstimmung mit dem theoretisch zu erwartenden Kurvenverlauf steht.

Für das Krystallisationsgebiet der Ammoniumsalze gilt folgendes.

Die Bodenkörperlinie EF geht von den Randsystemen aus deutlich nach links, wie dies in Übertragung der Betrachtungen für die Kaliumsalzseite erwartet werden muss. Dann wird jedoch gegen die Mitte des Feldes der Einbau des Kaliums wieder geringer. Dieser zweite Effekt rührt daher, dass die Zweisalzlösung AB nicht unwesentlich gegen die  $NH_4^+$ -Seite ausgebuchtet ist. In den zugehörigen Lösungen wird also gegen die Mitte das Verhältnis  $K^+ : NH_4^+$  zugunsten der  $NH_4^+$ -Seite verschoben, wodurch die Bedingungen zum  $K^+$ -Einbau ungünstiger werden.

#### Zusammenfassung.

1. Das vollständige Löslichkeitsdiagramm des quaternären Systems



wird für 25° aufgestellt. Es zeigt sich, dass in diesem System nur zwei Bodenkörpertypen auftreten und dass daher das Diagramm aus zwei Feldern besteht, die sich in einer Zweisalzlösung schneiden.

2. Die Zusammensetzung der in diesem System als Bodenkörper auftretenden ternären Mischkrystalle wird ermittelt.

3. Es wird darauf hingewiesen, dass die Bodenkörperlinien, die den zweisalzgesättigten Lösungen zugeordnet sind, so verlaufen, wie auf Grund allgemein gültiger theoretischer Überlegungen erwartet werden muss.

Chemisches Institut der Universität Bern,  
Laboratorium für analytische und angewandte Chemie.

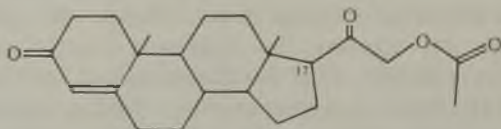
## 192. Zur Kristallstruktur einiger Sterine und verwandter Verbindungen.

### 1. Desoxy-corticosteron-acetat

von W. Nowacki.

(30. IX. 44.)

Desoxy-corticosteron-acetat [vgl. *M. Steiger* und *T. Reichstein*<sup>1)</sup>, *T. Reichstein* und *J. v. Euw*<sup>2)</sup>] kristallisiert aus Hochvakuumsublimation in farblosen feinen Nadeln vom Smp. 157—159°. Unter dem Polarisationsmikroskop zeigt sich eine kleine Licht- und eine mittelstarke Doppelbrechung neben einer sehr starken Dispersion  $\nu < \rho$ ; wie sich zeigen wird, ist der Krystall orthorhombisch, optiv positiv, mit  $n_\alpha \parallel a$ ,  $n_\beta \parallel b = \text{Nadelachse}$ ,  $n_\gamma \parallel c$ , optische Achsenebene also  $\parallel ac$  und  $\perp b$ , gerade Auslöschung, der Beobachtung entsprechend.



Konstitutionsformel von Desoxy-corticosteron-acetat. (Die Formel soll über die absolute Konfiguration, insbesondere an C 17 nichts aussagen.)

Die Flächen ( $//b$ ) einer Nadel von etwa 0,2 mm Querschnittsdimension und 1,5 mm Länge wurden auf dem einkreisigen Reflexionsgoniometer vermessen. Es wurden bei mittelschlechten Reflexen nur die Form  $\{101\}$  mit  $c/a = 0,534 : 1$  beobachtet (optische Achsen  $\sim \perp (101)$ ); die übrigen ergaben allzu schlechte Reflexe, um verwertet werden zu können. Als Nadelendbegrenzung treten manchmal (0kl)-Flächen auf, die ihrer Kleinheit wegen auch nicht genauer bestimmt werden konnten.

Für alle Röntgenaufnahmen wurde ein und derselbe Krystall von obigen Dimensionen verwendet. Die nötige Justierung wurde mittels eines Ein- und Zweikreisgoniometers erreicht. Drehaufnahmen (D-Aufnahmen) und *Schiebold-Sauter*-Röntgengoniometeraufnahmen (S-Aufnahmen) des Äquators um die drei kristallographischen Achsenrichtungen mit Cu- und Fe-Strahlung ergaben die Gitterkonstanten

$a = 22,34 \pm 0,03$ ,  $b = 7,578 \pm 0,003$ ,  $c = 12,056 \pm 0,004$  Å,  $a:b:c = 3,017:1:1,587$ ,  $c/a = 0,5262:1$  (makr. 0,534:1), Volumen der Elementarzelle =  $V = 2083,7 \pm 4,2$  Å<sup>3</sup>; mit  $Z = 4$  Molekeln pro Zelle ergibt sich eine röntgenographisch bestimmte Dichte von  $d = 1,179$  gcm<sup>-3</sup>, in sehr guter Übereinstimmung mit dem nach der Schwebemethode erhaltenen Wert von  $d_{21} = 1,180 \pm 0,063$ .

Die S-Diagramme wurden immer mit der rotierenden Scheibe in „45°-Stellung“ aufgenommen. Auch die höheren Schichtlinien der D-Aufnahmen können ohne weiteres (wie dies in anderen Fällen geschehen ist) aufgenommen und ausgewertet werden, so dass diese Methode im allgemeinen ebenso leistungsfähig wie diejenige des *Weissenberg*-Röntgengoniometers ist. Es ist daher zu bedauern, dass sie in dem neuen Buche von *M. J. Buerger*,

1) *M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 20, 1164 (1937).*

2) *T. Reichstein, J. v. Euw, Helv. 21, 1197 (1938).*

3) Diese Dichtebestimmung wurde in den Laboratorien der „Ciba“ ausgeführt.

X-ray crystallography<sup>1)</sup> nicht ausführlicher zur Sprache kommt. Einzig die Interpretation der Intensitäten ist zeitraubender, da dieselben bei den S-Diagrammen auf gleichen Abstand Krystall-Film umgerechnet werden müssen, was aber mit einer einmal berechneten Tabelle leicht zu machen ist.

An Auslöschungen wurden gefunden: (h00) nur mit h = 2 n vorhanden, (0k0) nur mit k = 2 n vorhanden und (00l) nur mit l = 2 n vorhanden; Raumgruppe =  $D_{2h}^2$ -P 2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub> (mit Z = 4 Molekeln pro Zelle, wie oben angenommen).

Wie J. D. Bernal, D. Crowfoot und I. Fankuchen<sup>2)</sup> aus der Untersuchung an etwa 80 Sterinen gefolgert haben, sind diese Molekeln von lattenförmiger Gestalt mit den ungefähren Dimensionen 20 × 7 × 4 Å (Länge L × Breite B × Dicke D). Je nach der Stellung der Molekeln zu den kristallographischen Achsen ergeben sich verschiedene Typen von Sterin-Krystallstrukturen, die in der Arbeit ausführlich beschrieben sind. Nach Morphologie, Optik, Gitterdimensionen und Röntgenintensitäten (siehe unten) gehört das Desoxy-corticosteron-acetat zum normalen a-Typus, genauer zum a411-Typus, welcher bei den „single layer structures“ auftritt, wie es wegen des Fehlens von OH-Gruppen zu erwarten war (vgl. zu dieser Überlegung aber<sup>2)</sup>, S. 165—169). Die Desoxy-corticosteron-acetat-Molekel hat demnach folgende ungefähre Grösse und Orientierung zu den kristallographischen bzw. optischen Hauptachsen:

D	B	L
a/4	b	c
5,6	7,6	12,1 Å
n <sub>α</sub>	n <sub>β</sub>	n <sub>γ</sub>

Nadelachse

Man darf aber diese Grössen nicht allzu starr interpretieren; insbesondere wird sich zeigen, dass die Molekel-Länge grösser als 12,1 Å, etwa 14—15 Å sein muss, wie es der chemischen Konstitutionsformel entspricht, auf Grund derer man wegen der bekannten Atomradien die Länge berechnen kann.

Zum a411-Typ gehören laut Tab. 5, S. 155 in<sup>2)</sup> bis jetzt vier Verbindungen, denen man das Desoxy-corticosteron-acetat anfügen kann:

Name	RG	Z	D a · sin β	B b	L c	β	a	c · sin β
Pyrocalciferol ? . . .	P2 <sub>1</sub>	4	4 × 4,55	7,15	20,5	92°	18,20	20,4
Lumisterolacetat . . .	P2 <sub>1</sub>	4	4 × 5,27	7,33	17,44	99° 18'	21,40	17,2
Oestron 1 <sup>3)</sup> . . . . .	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>	4	4 × 4,07	7,46	12,15	90°	16,28	12,15
Cholesterylen <sup>4)</sup> . . .	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>	4	4 × 3,97	7,66	19,25	90°	15,85	19,25
Desoxy-corticosteron-acetat . . .	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>	4	4 × 5,59	7,58	12,06	90°	22,34	12,06

<sup>1)</sup> An introduction to the investigation of crystals by their diffraction of monochromatic X-radiation. New York: J. Wiley & Sons, Inc., London: Chapman & Hall, Ltd., 1942, 531 pp., Preis \$ 6.50.

<sup>2)</sup> J. D. Bernal, D. Crowfoot, I. Fankuchen, Philos. Trans. Roy. Soc. London [A] 239, 135 (1940).

<sup>3)</sup> J. D. Bernal, D. Crowfoot, Z. Kr. 93, 464 (1936).

<sup>4)</sup> J. D. Bernal, D. Crowfoot, Soc. 1935, 93.

Zur Bestimmung der Anordnung der Molekeln in der Zelle benötigt man die Kenntnis der Symmetrieelemente, welche die Raumgruppe liefert, und diejenige der Röntgenintensitäten in Verbindung mit den optischen Daten. In  $D_2^4-P2_12_12_1$  sind lediglich drei Scharen von zueinander normal stehenden, windschief verlaufenden zwei-zähligen Schraubungsachsen vorhanden. Der stärkste Reflex ist  $400\text{ sst}^+$ . Die 4 Molekeln sind folglich in 4 Schichten  $\parallel (100)$  angeordnet, was die Molekeldicke  $D = a/4 = 5,6 \text{ \AA}$   $\parallel n_\alpha$  ergibt. Der  $b$ -Wert von  $7,6 \text{ \AA}$  ist bei allen Sterinen für ihre Breite (hier  $\parallel n_\beta$ ) charakteristisch (hier  $\parallel$  Nadelachse) und  $n_\gamma \parallel c$  deutet auf eine Molekellänge ungefähr  $\parallel c$  hin. Die Molekellängsachse kann aber nicht genau  $\parallel c$  liegen, da  $c = 12,06 \text{ \AA}$  für die Desoxy-corticosteron-acetat-Molekel zu klein ist, wie man sich am besten an Hand eines

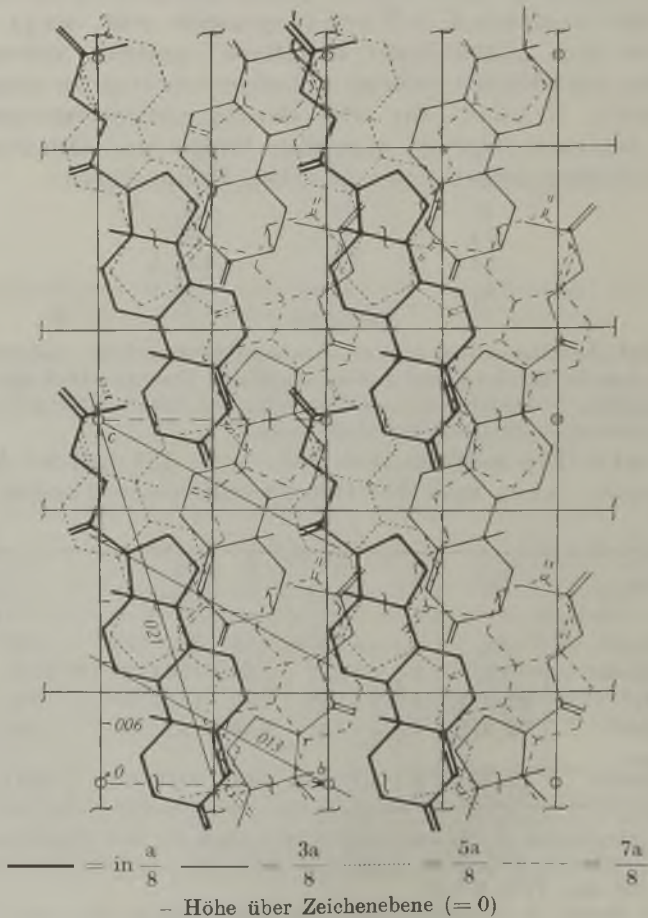


Fig. 1.

Strukturvorschlag für Desoxy-corticosteron-acetat (Aufriss).



Kalottenmodelles überzeugt, vom zwischenmolekularen Abstand (ca. 3,5 Å) ganz abgesehen. Die Längsachse muss daher gegenüber  $c$  so weit geneigt sein, dass die Molekeln im Gitter genügend Platz erhalten. Um dem Reflex 021  $st^+$  zu genügen, wurden daher im Strukturvorschlag (Fig. 1) für Desoxy-corticosteron-acetat die Längsachsen um etwa  $17^\circ$  gegenüber  $c$  gedreht. Die in Fig. 1 dargestellte Molekelanordnung erklärt die relativen Intensitäten der beobachteten sehr starken und starken Reflexe in qualitativer Hinsicht. Die Reflexe, welche ein Krystall einer organischen Verbindung mit einer grossen Molekel erzeugt, sind zweierlei Art: es sind einerseits solche, welche von der Anordnung der ganzen Molekeln im Gitter herrühren, und andererseits solche, welche durch die spezielle Konstitution der Molekel (im periodischen Gitterverband) bedingt sind, wobei die beiden Gruppen nicht immer scharf auseinandergehalten werden können. Zur ersten Gruppe gehören: 002  $m$ , 021  $st^+$ , 020  $m$ , 032  $m$ , 310  $sst$ , 400  $sst^-$ , 600  $m-st$ , 110  $sst$ , 410  $st^-$ , 401  $sst$ , 501  $sst$ , 601  $st$ , 702  $st$ , 201  $st$ , 502  $st$ , 102  $st$ , 203  $st$ , 303  $st$ , 503  $st$ ; zur zweiten u. a.: 006  $sst$ , 013  $sst$  (vgl. Fig. 1). — Eine Diskussion der Intensitäten aller Reflexe auf quantitativer Grundlage würde einen genaueren Einblick in Einzelheiten der Struktur gestatten.

#### Zusammenfassung.

Desoxy-corticosteron-acetat krystallisiert in der Raumgruppe  $D_2^4-P2_12_12_1$  mit den Gitterkonstanten  $a = 22,34 \pm 0,03$ ,  $b = 7,578 \pm 0,003$ ,  $c = 12,056 \pm 0,004$  Å und  $Z = 4$  Molekeln pro Zelle [ $d_{21}$  (Schwebemethode) =  $1,18 \pm 0,06$ ,  $d$  (röntg.) =  $1,179$ ] im normalen,  $a411$ -Typus (Dicke =  $a/4 = 5,6$ , Breite =  $b = 7,6$ , Länge =  $c = 12,1$  Å). Die  $\parallel b$  nadelförmigen Krystalle sind optisch positiv mit  $n_\alpha \parallel a$ ,  $n_\beta \parallel b$ ,  $n_\gamma \parallel c$ . Der Strukturvorschlag ist in der Fig. 1 zur Darstellung gebracht.

Der *Gesellschaft für chemische Industrie* in Basel danken wir für die Bereitstellung der Substanz und deren Dichtebestimmung; Herrn Prof. Dr. *H. Huttenlocher* für die Möglichkeit zur Ausführung dieser Arbeit und das Interesse, das er ihr entgegenbrachte.

Mineralogisches Institut der Universität Bern.

### 193. Etudes sur les matières végétales volatiles XXXII<sup>1)</sup>.

#### Sur l'évaluation des alcools des huiles essentielles, en présence de cinéol, par acétylation,

par Y. R. Naves.

(7 X 44)

L'évaluation des alcools non déshydratables (primaires et secondaires) des huiles essentielles est généralement effectuée par l'acétylation au moyen d'anhydride acétique bouillant en présence d'acétate de sodium (acétylation «classique»), suivie de la détermination de l'indice d'ester. Ce n'est qu'au cours des derniers dix ans que l'acétylation en présence de pyridine a pénétré dans la pratique courante, sous forme de techniques diverses.

Au cours de cette même période ont été adaptées et utilisées des techniques d'acétylation «accélérée» à basse température, dérivées de la méthode d'acétylation de *Franchimont*<sup>2)</sup>, et qui utilisent l'anhydride acétique additionné soit d'acide sulfurique<sup>3)</sup>, soit d'acide phosphorique<sup>4)</sup>. Malgré une certaine vogue, l'intérêt de ces procédés n'est nullement manifeste, car l'acétylation classique est déjà presque complète en l'espace de quinze minutes dans la plupart des cas. Par contre, l'acétylation des alcools est accompagnée de la réaction d'autres constituants qui n'interviennent pas (tel le cinéol) ou qui réagissent moins intensément dans l'acétylation classique. Il en résulte que l'acétylation accélérée doit être utilisée avec une grande prudence et que plusieurs de ses applications (parmi celles qu'on a pu tenir pour les plus importantes) sont erronées.

Le mécanisme de l'action de l'acide sulfurique est mieux connu que celui de l'acide phosphorique. *Franchimont* a supposé que le mélange d'acide sulfurique et d'anhydride acétique engendre un anhydride mixte: l'acide acétylsulfurique<sup>5)</sup>. Selon *Skraup*<sup>6)</sup>, l'acétylation régénère l'acide sulfurique qui joue par conséquent le rôle de catalyseur. Un excès d'acide sulfurique, l'élévation de la température, favorisent la transformation de

<sup>1)</sup> XXXIème communication: *Helv.* **27**, 1103 (1944).

<sup>2)</sup> *Franchimont*, C. r. **89**, 711 (1879); **92**, 1054 (1881); B. **12**, 2059 (1879) pour l'acide sulfurique. *Farbenfabr. Baeyer & Co.*, D. R. P. 107508 (Frdl. **5**, 156 (1901)); *Lederer*, D. R. P. 124408 (Frdl. **6**, 1119 (1904)) pour l'acide phosphorique. Voy. encore la revue par *Schwalbe*, *Z. angew. Ch.* **23**, 233 (1910).

<sup>3)</sup> *Fernandez, de Mingo*, *An. Soc. españ.* **31**, 260 (1933).

<sup>4)</sup> *Sabetay*, C. r. **199**, 1419 (1934); *Delaby, Sabetay*, *Bl. [5]* **2**, 1723 (1935); *Regiljant*, *Pharm. (russ.)* **1940**, n° 5, 9.

<sup>5)</sup> C. r. **92**, 1054 (1881). Par contre, *Bergmann, Radt* (B. **54**, 1655 (1921)) considèrent l'acide acétylsulfurique de *Franchimont* comme un composé d'addition d'acide sulfurique et d'anhydride acétique.

<sup>6)</sup> M. **19**, 458 (1898). Cfr. *Thiele, Winter*, A. **311**, 341 (1900); *Stillich*, B. **38**, 1241 (1905).

l'acide acétylsulfurique en acide sulfoacétique<sup>1</sup>), à côté ou à partir duquel se feraient encore de l'acide acétyl-sulfoacétique (se décomposant en sulfoacétone et anhydride carbonique) et de l'acide disulfo-déshydroacétique<sup>2</sup>).

L'acide sulfoacétique et éventuellement l'acide acétyl-sulfoacétique et l'acide disulfo-déshydroacétique peuvent agir sur l'acétylation à la manière de l'acide sulfurique<sup>3</sup>), mais avec une efficacité limitée<sup>4</sup>). Autrement dit, les transformations liées à l'élévation de température, à la conservation du mélange d'acide sulfurique et d'anhydride acétique réduisent l'activité acétylante.

En outre, divers auteurs, dont *Peski*, ont montré l'action sulfonisante de l'acide sulfoacétique. Elle peut entraîner un défaut de l'évaluation des composés hydroxylés, car les sulfonates sont entraînés dans les liqueurs de lavage des huiles essentielles acétylées<sup>5</sup>).

L'emploi d'un excès d'acide sulfurique lors de la préparation de catalyseurs concentrés et les transformations de l'acide acétylsulfurique peuvent expliquer en partie l'irrégularité des résultats de l'acétylation accélérée<sup>6</sup>). Il est encore possible que l'acide sulfurique, l'acide phosphorique ou leur dérivés aient une action acétolytique au cours de l'hydrolyse de l'excès d'anhydride acétique qui précède l'isolement de l'huile essentielle acétylée. En fait, les indices d'acétylation sont légèrement relevés lorsque l'hydrolyse est conduite en présence d'acétate de sodium.

Les indices d'acétylation sont particulièrement discordants quand on répète l'analyse d'huiles essentielles qui renferment du cinéol, alors que les conditions expérimentales varient tout en demeurant dans les limites prescrites par les auteurs des techniques d'acétylation accélérée.

*Knoevenagel* a montré il y a près de trente ans<sup>7</sup>), que le cinéol et l'anhydride acétique réagissent dès la température du laboratoire, en présence d'acide sulfurique et de divers sels, pour donner un mélange qui contient de l'acétate de terpényle et du diacétate de terpène. Nous avons constaté que ces réactions se produisent dans les conditions d'acétylation accélérée. Par contre, au cours de l'acétylation classique, de l'acétylation pyridinée, de la formylation selon *Béhal-Glichitch*, le cinéol reste apparemment inerte.

Il n'est pas indifférent d'utiliser à l'égard du cinéol des mélanges d'acide sulfurique ou d'acide phosphorique et d'anhydride acétique

<sup>1</sup>) *Franchimont*, Verh. Akad. Amsterdam, **16**, 368 (1881); *Moll, van Charante*, R. **24**, 99 (1905); *Stillich*, B. **36**, 3116 (1903); **38**, 1241 (1905).

<sup>2</sup>) *Peski*, R. **40**, 105 (1921).

<sup>3</sup>) *Voy. Brand, Callischonn*, J. pr. [2] **103**, 333 (1922); *Schneider*, B. **55**, 1895 (1922).

<sup>4</sup>) *Voy. Stillich*, B. **38**, 1246 (1905).

<sup>5</sup>) Cfr. formation d'esters phosphoriques acides par l'acide acétylphosphorique: *Böhme Fettechemie G. m. b. H.*, D. R. P. 619019 (1929). On a depuis longtemps constaté la formation de produits renfermant du soufre (esters sulfoacétiques, dér. sulfonés) dans l'acétylation des celluloses selon *Franchimont* (*Voy. Ost*, Z. angew. Ch. **32**, 66 (1919); *Krüger, Tschirch*, B. **64**, 1874 (1931)).

<sup>6</sup>) L'emploi d'acide perchlorique recommandé par *Krüger, Tschirch*, présenterait moins d'inconvénients que celui de l'acide sulfurique, car il ne paraît pas se former de dérivés perchloriques.

<sup>7</sup>) *Knoevenagel*, A. **402**, 138 (1913); voy. *Paul*, Bl. [5] **6**, 1162 (1939). *Knoevenagel* a obtenu un meilleur rendement en acétate de terpényle et en diacétate de terpène à 20° qu'à 52°. L'acide sulfurique peut agir sur le cinéol pour donner du terpinolène et du terpinène (Cfr. *Wallach*, A. **239**, 22 (1887)); concentré, il donne du cymène et de l'acide cymène-sulfonique-(2) (*Graebe*, B. **5**, 680 (1872); *Faust, Homeyer*, B. **7**, 1427 (1874); *Wallach*, A. **225**, 312 (1884)).

soit récemment préparés, soit anciens, soit portés à 70–80°. Il se forme relativement plus de diacétate de terpine par rapport à l'acétate de terpényle quand on emploie un catalyseur récemment préparé sans échauffement trop accusé. La formation d'hydrocarbures est la plus élevée lorsqu'on utilise un catalyseur porté à 70–80°.

En appliquant parallèlement l'acétylation «classique» et l'acétylation «accélérée» aux essences de myrte, de romarin, de sauge de Dalmatie, pures et additionnées de cinéol, il est possible de connaître approximativement la limite supérieure de la teneur de ces essences en cinéol<sup>1)</sup>. Je dis limite supérieure, car d'autres réactions peuvent intervenir dans l'acétylation accélérée ou s'accomplir plus activement que dans l'acétylation classique (formation d'esters par la réaction de chaînons oléfiniques, notamment aux dépens du camphène présent dans ces essences, formation de diacétates et d'acétates énoliques d'aldéhydes et de cétones<sup>2)</sup>.

### Partie expérimentale.

L'anhydride acétique mis en œuvre est le réactif courant des laboratoires de l'industrie des huiles essentielles, titrant 92 à 94%<sup>3)</sup>.

Le cinéol a été isolé d'essence d'*Eucalyptus globulus* L. par la distillation fractionnée et purifié ensuite par oxydation permanganique<sup>4)</sup>. Il est très hygroscopique, et ses caractères sont les suivants:

p. d'éb. = 176–176,4<sup>0</sup>/760 mm.; 39–39,3<sup>0</sup>/4 mm.; p. de sol. = +1,10<sup>0</sup>; p. de f. = +1,55<sup>0</sup>;  
 $d_4^{20} = 0,9232$ ;  $n_D^{20} = 1,45520$ ;  $n_F^{20} = 1,46317$ ;  $(n_F - n_C) \times 10^4 = 79$ ; disp. spéc. (F–C) = 0,00863;  $RM_D = 45,52$  (Calculée = 45,62);  $\eta^{20} = 2,90$  centipoises; 3,14 centistokes;  
 $\epsilon_{150m}^{23,5^{\circ}} = 4,57$ ;  $\alpha_D = \text{nul}$ .

L'acétylation «classique» a été effectuée selon les prescriptions du *British Essential Oil Sub-Committee to the Standing Committee on Uniformity of Analytical Methods (Society of Public Analysts)*<sup>5)</sup> en variant les durées d'ébullition. L'acétylation pyridinée a été conduite selon *Verley-Bölsing*, en tenant compte des détails opératoires précisés par *Delaby* et ses collaborateurs. La formylation à froid a été réalisée selon *Glichitch*.

<sup>1)</sup> Les teneurs des essences de romarin en cinéol notées jusqu'à présent (17 à 32%, *Pellini, Morani*, Ann. Chim. applic. 7, 97 (1923); *Traetta Moscha, Papocchia*, ibid. 326; *Puxeddu*, ibid. 15, 170 (1925)) semblent être fortement exagérées. Elles sont déduites de l'essai à l'ortho-crésol (méthode au «crésinéol» de *Cocking* (Perfumery Record 12, 339 (1921)) dont le cours est faussé par la présence d'autres constituants (*Reed*, ibid. 23, 340 (1932)). Deux essences de romarin étudiées renferment moins de 10% de cinéol, deux essences de myrte moins de 30%.

<sup>2)</sup> Bibl. dans *Jung*, Zur Kenntnis katalytischer Wirkung bei der Acetylierung organischer Verbindungen, Diss. Heidelberg, 1907; *Rümschön*, ibid. 1910.

<sup>3)</sup> Vov. *Umney*, Perfumery Record 7, 374 (1916); *Sage*, ibid. 388; 13, 172 (1922). Titre 93,4% déterminé par la méthode du *British Expert Committee* (*Radcliffe, Medofski*, ibid. 8, 163 (1917)); Cfr. *Reclaire*, ibid. 16, 148 (1922).

<sup>4)</sup> *Hell, Stürcke*, B. 17, 1970 (1884); Cfr. Ber. von *Schimmel*, Apr. 1913, 56; Apr. 1915, 74.

<sup>5)</sup> Perfumery Record 19, 131 (1928).

*Acétylation « accélérée » du cinéol.*

*Essais par l'acide sulfurique:*

N° 1. 3 gouttes d'acide sulfurique ont été ajoutées au mélange de 4 cm<sup>3</sup> de cinéol et de 8 cm<sup>3</sup> d'anhydride acétique. La température s'est élevée rapidement de 24° à 36,5°. En 10 minutes elle est descendue à 33,5°. L'acétylation a été interrompue.

N° 2. Comme précédemment, mais en refroidissant sous un courant d'eau dès que l'échauffement maximum a été accompli. La température finale a été 13,5°.

N° 3. 3 gouttes d'acide sulfurique ont été ajoutées à 8 cm<sup>3</sup> d'anhydride acétique; la température est montée de 22 à 36,5°. Après 10 minutes, 4 cm<sup>3</sup> de cinéol ont été ajoutés au mélange refroidi à 23°. Le mélange s'est échauffé jusqu'à 37° en 80 secondes, l'acétylation a été interrompue après 10 minutes.

N° 4. Même essai, hormis que le mélange avec le cinéol a été porté à 50° durant 10 minutes. Le produit, noirâtre, développait une forte odeur de terpinènes.

N° 5. Même essai que n° 4, mais en portant le mélange d'anhydride acétique et d'acide sulfurique 30 minutes à 80° et le refroidissant ensuite à 24° avant l'addition de cinéol.

N° de l'essai	1	2	3	4	5
Indice d'ester trouvé . . . . .	133,0	107,2	213,0	103,2	36,3
% alcool C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O préexistant virtuellement, déduit de I. E. . . . .	40,6	32,1	69,7	30,8	10,3

*Essais par l'acide phosphorique.*

Les proportions de réactifs utilisées sont celles prescrites par *Sabeta*.

N° 1. Catalyseur fraîchement préparé. Le mélange s'échauffe de 20 à 26°.

N° 2. Mêmes conditions mais en portant et maintenant 15 minutes à 35°.

N° 3. Mêmes conditions que l'essai n° 1, mais en portant et maintenant 15 minutes à 50°.

N° 4, 5, 6. Ces essais correspondent aux essais n° 1, 2, 3, hormis que le catalyseur a été conservé préalablement 72 heures à 26—28°.

N° 7, 8, 9. Ces essais correspondent également aux essais n° 1, 2, 3, toutefois le catalyseur a été porté auparavant 30 minutes à 80°.

N° de l'essai	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Indice d'ester trouvé . . . . .	69,4	105,5	180,5	92,2	154,0	209,2	106,9	133,0	193,4
% d'alcool C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O préexistant virtuellement, déduit de I. E. . . . .	20,1	31,5	57,4	27,2	47,9	68,2	32,0	40,6	62,2

*Acétylation phosphorique de 100 gr. de cinéol.*

N° 1. Catalyseur fraîchement préparé. La température est montée de 32 à 48°.

N° 2. Catalyseur porté durant 30 minutes à 80°. La température est montée de 34 à 49,8°.

Les produits ont été fractionnés par distillation.

	1	2
Cinéol % . . . . .	48	40
Terpènes % . . . . .	inévaluable	env. 8
Acétate de terpényle % . . . . .	26 à 29	35 à 38
Diacétate de terpine % . . . . .	15 à 18	10 à 13

L'acétate de terpényle et le diacétate de terpine redistillés ont été identifiés par leurs caractères que voici :

Acétate de terpényle : p. d'éb. = 93,5—94°/4 mm.;  $d_4^{20} = 0,9615$ ;  $n_C^{20} = 1,46271$ ;  $n_D^{20} = 1,46540$ ;  $n_F^{20} = 1,47191$ ; dispersion spécifique (F—C) = 0,00956; I. ester trouvé = 284,0 (Calculé = 287).

Diacétate de terpine : p. d'éb. = 129°/4 mm.;  $d_4^{20} = 1,0250$ ;  $n_C^{20} = 1,45083$ ;  $n_D^{20} = 1,45310$ ;  $n_F^{20} = 1,45861$ ; dispersion spécifique (F—C) = 0,00759; I. ester trouvé = 431,0 (Calculé = 438,0).

### *Acétylation d'huiles essentielles cinéoliques.*

Les résultats sont exprimés par les indices d'ester.

*Essais par l'acide sulfurique.* 3 gouttes d'acide sulfurique ont été ajoutées au mélange de 5 cm<sup>3</sup> d'essence et de 7,5 cm<sup>3</sup> d'anhydride acétique. La température est montée rapidement de 25° à 42° (essence I), de 25° à 46° (essence II). Dans une première série d'essais l'acétylation a été interrompue après 10 minutes, à 35—37°, dans une seconde série d'essais sous l'action d'un courant d'eau réfrigérante appliqué dès après l'échauffement initial, à 12—13°.

	sans réfrigération	avec réfrigération
Essence de romarin I . . . . .	61,8	55,2
Essence de romarin II . . . . .	58,9	53,7

*Essais par l'acide phosphorique.* Une première série d'essais ont été effectués sur simple échauffement (entre parenthèses), dans une seconde série, le mélange en acétylation a été porté et maintenu à 50°, toutes autres conditions égales.

	Sans chauffage	Chauffage à 50°	Acétylation «classique» (réf.)
Essence de romarin I . . . . .	51,8 (20—23°)	63,3	44,0
Essence de romarin II . . . . .	57,5 (24—27°)	68,2	42,0
Essence de myrte de Sicile . . . . .	133,6 (23—29°)	163,2	122,2
Essence de myrte du Maroc . . . . .	122,3 (23—28°)	150,0	113,8
Essence de sauge de Dalmatie . . . . .	67,7 (24—26,5°)	96,5	60,3

	chauffage à 50°
Mélange ess. romarin I, contenant 10,5% cinéol additionné . . . . .	85,2
Mélange ess. romarin II, contenant 10,5% cinéol additionné . . . . .	93,7

### Acétylation du camphène.

Le camphène a été obtenu en déshydratant l'isobornéol par le chlorure de zinc en présence de benzène bouillant.

p. d'éb. = 59°/20 mm.; p. de f. = 45,5—46°;  $[\alpha]_D = -77,2^0$  (alcool, c = 10).

Il a été utilisé en solution à 10,2% dans le décahydronaphtalène. La solution n'avait pas d'indice d'ester et ne donnait pas de dégagement gazeux au contact du réactif de Grignard. Les indices de saponification ont été déterminés sur 10 gr. de produit acétylé et rapportés au camphène. Le décahydronaphtalène a été essayé à blanc.

Acétylation «classique» = 21,2; acétylation accélérée (acide sulfurique) = 33,5; (acide phosphorique) = 39,9 (15 minutes à 23—25°); 52,7 (15 minutes à 50°); 95,6 (30 minutes à 50°).

### RÉSUMÉ.

Les méthodes d'acétylation «accélérée» au moyen d'anhydride acétique additionné soit d'acide sulfurique, soit d'acide phosphorique, appliquées à l'analyse des huiles essentielles qui renferment du cinéol, conduisent à des résultats inexacts en raison de la transformation du cinéol en un mélange renfermant de l'acétate de terpényle et du diacétate de terpine. L'imprécision des modes opératoires précédemment publiés est la source d'irrégularités des taux d'acétylation.

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

## 194. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

31. Mitteilung<sup>1)</sup>).

### Lactone aus 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-bisnor-cholansäure.

### Versuch zur Abklärung der räumlichen Lage der Seitenkette in natürlichen Sterinen und Steroiden

von M. Sorkin und T. Reichstein.

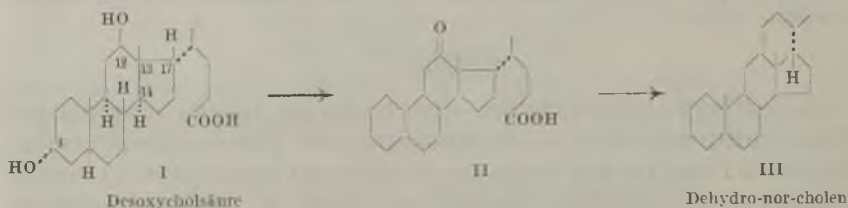
(7. X. 44.)

Für die biologische Wirksamkeit von Sterinen und Steroiden scheint die räumliche Lage von Substituenten in 17-Stellung von grosser Bedeutung zu sein; denn soweit es bisher gelang, auf künstlichem Wege Stoffe zu bereiten, die sich von den Naturprodukten nur durch Raumisomerie an dieser Stelle unterscheiden, erwiesen sie sich entweder als ganz inaktiv oder erheblich schwächer wirksam als

<sup>1)</sup> 30. Mitt. vgl. V. Wenner, T. Reichstein, Helv. 27, 965 (1944).

<sup>2)</sup> Teilweise vorgetragen auf der Versammlung der Schweiz. Chem. Ges. in Bern am 26. II. 1944; vgl. Schw. Ch. Z. 27, 155 (1944).

die natürlichen Isomeren<sup>1-4</sup>). Ferner liess sich zeigen, dass bei allen natürlichen Sterinen und Sterinderivaten, die in 17-Stellung eine längere oder kürzere Kohlenstoffkette tragen, diese „Seitenkette“ höchstwahrscheinlich immer dieselbe räumliche Lage hat<sup>5-10</sup>). Es genügt somit, die Lage dieser Seitenkette bei einem natürlichen Vertreter festzulegen, um die Resultate weitgehend auf die ganze Gruppe übertragen zu können. Geeignete Versuchsobjekte für diesen Zweck stellen die Desoxycholsäure (I) und einige ihrer Abbauprodukte dar.



<sup>1</sup>) 17-*iso*-Progesteron, A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé, H. Paul, B. **72**, 1112 (1939), ist in Dosen bis 0,9 mg unwirksam.

<sup>2</sup>) 17-*iso*-Testosteron (*cis*-Testosteron), L. Ruzicka, H. Kägi, Helv. **19**, 842 (1936), ist etwa 30mal schwächer wirksam als *trans*-Testosteron (Hahnenkammtest).

<sup>3</sup>) 17-*iso*-11-Desoxy-corticosteron-acetat, C. W. Shoppee, Helv. **23**, 925 (1940), erwies sich in Dosen von 1 mg als wirkungslos, ist also zumindest dreimal schwächer wirksam als 11-Desoxy-corticosteron-acetat.

<sup>4</sup>) Auch die biologisch unwirksamen Allo-Formen, die aus herzwirksamen Glykosiden durch Fermentwirkung entstehen, z. B. das Allo-cymarın, W. A. Jacobs, J. Biol. Chem. **88**, 619 (1930), das Allo-emicymarın, W. A. Jacobs, N. M. Bigelow, J. Biol. Chem. **99**, 521 (1933), und andere unterscheiden sich nach *Tschesche* und *Bohle* (B. **71**, 654 (1938)) von den aktiven Formen wahrscheinlich nur durch Isomerie in 17-Stellung. Vgl. dagegen E. Bloch, R. C. Elderfield, J. Org. Chem. **4**, 289 (1939).

<sup>5</sup>) Cholesterin liefert beim Abbau mit CrO<sub>3</sub> 3β-Oxy-chole-(5)-säure, L. Ruzicka, A. Wettstein, Helv. **18**, 986 (1935), und 3β-Oxy-ätiochole-(5)-säure, Gesellschaft f. Chem. Ind. in Basel, F. P. 845 795; C. **1940**, I, 3147.

<sup>6</sup>) Progesteron lässt sich aus Cholestenon durch direkte Oxydation mit CrO<sub>3</sub> gewinnen, also unter Bedingungen, unter denen 17-*iso*-Progesteron<sup>1</sup>) nicht zu Progesteron isomerisiert wird; W. Dirscherl, F. Hanusch, Z. physiol. Ch. **252**, 49 (1938). — C. F. Boehrtnger & Söhne G. m. b. H., D. R. P. 665 549; C. **1939**, I, 2830.

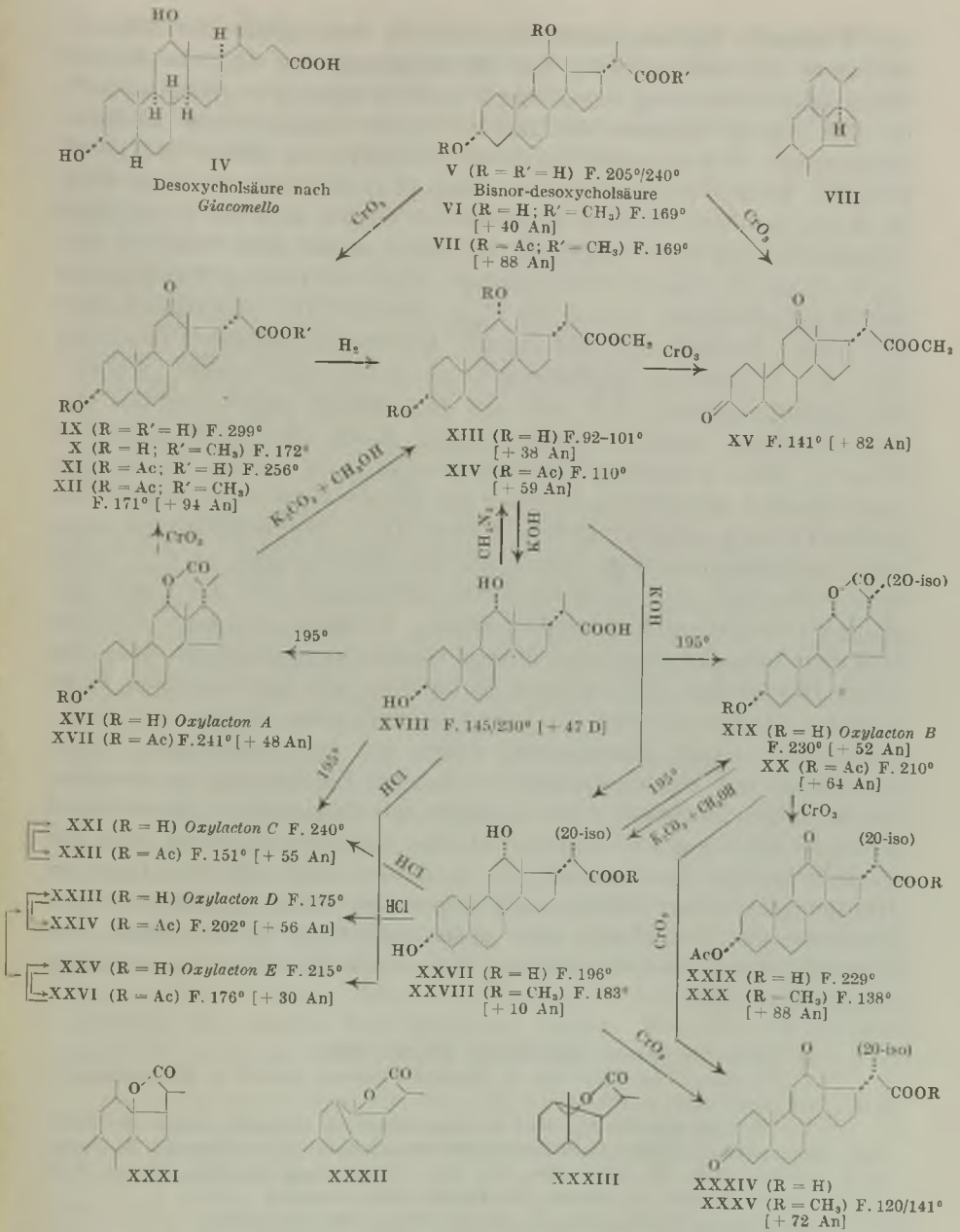
<sup>7</sup>) Desoxy-corticosteron besitzt nach Shoppee<sup>3</sup>) in 17-Stellung „normale“ α-Konfiguration. Dasselbe lässt sich aus den Resultaten von C. W. Shoppee und T. Reichstein, Helv. **23**, 729 (1940) auch für Corticosteron ableiten, da dieser Stoff in 17-Stellung gleich gebaut ist wie die dort erwähnte Substanz N.

<sup>8</sup>) 17-*iso*-3-Keto-ätio-chole-(4)-säure ist von Shoppee<sup>3</sup>) bereitet worden; sie bleibt beim Erhitzen mit Säuren und Alkalien unverändert.

<sup>9</sup>) Digoxigenin liefert beim Abbau (über 3-Keto-ätio-chole-säure) Ätio-chole-säure, die auch aus Cholesterin und Gallensäuren zu gewinnen ist. Die 17-isomere Säure ist beständig gegen Alkali und Säuren (nach unveröffentlichten Versuchen); vgl. auch<sup>8</sup>).

<sup>10</sup>) Diosgenin ist von R. E. Marker und D. L. Turner, Am. Soc. **63**, 767 (1941), in Cholesterin übergeführt worden, wobei allerdings eine Isomerisierung in 17-Stellung nicht ausgeschlossen ist.





Ac = Acetyl. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: An = Aceton; D = Dioxan. Zum besseren Überblick wurde bei den 20-iso-Verbindungen der Valenzstrich der Methylgruppe an C<sub>20</sub> punktiert, wodurch jedoch nichts über die wahre räumliche Lage dieser Gruppe ausgesagt werden soll. Mathematisch wäre es sogar falsch, bei verschiedenen Projektionen derselben Konfiguration (wie z. B. bei XIX und XXIX) diese Punktierung anzuwenden, wenn dadurch die räumliche Lage wirklich fixiert werden soll.

Wieland<sup>1)</sup> hat angenommen, dass die Seitenkette der Desoxycholsäure (I) *trans*-ständig zur Methylgruppe an C<sub>13</sub>, nach dem Nomenklaturvorschlag von Fieser<sup>2)</sup> somit  $\alpha$ -ständig angeordnet ist<sup>3)</sup>, da sich durch Erhitzen der aus (I) leicht zugänglichen 12-Ketocholansäure (II) in guter Ausbeute Dehydro-nor-cholen (III)<sup>4)5)6)</sup> erhalten lässt. Ruzicka<sup>7)</sup> hob demgegenüber hervor, dass diese Reaktion, wie sich aus dem Raummodell ergibt, auch bei  $\beta$ -ständiger Seitenkette (wie in IV) möglich sein sollte, wobei dem Dehydro-nor-cholen dann die Formel (VIII) zukäme. Eine vollständige Raumformel für Desoxycholsäure (ausser für C<sub>20</sub>), nämlich (IV) gibt Giacomello<sup>8)</sup> auf Grund Bernal'scher und eigener Röntgenaufnahmen. Demnach liegt die 12-ständige Hydroxylgruppe annähernd in der „Ebene“ des Vierringsystems. Wie sich aus dem Modell ergibt, ist dies nur bei  $\beta$ -Stellung möglich (Kompensation durch den leicht geneigten Ring C). Eine  $\alpha$ -ständige Hydroxylgruppe in 12 müsste, da sich der Valenzwinkel zur leichten Neigung des Ringes C addieren würde, fast senkrecht nach „unten“ gerichtet sein. Diese Hydroxylgruppe muss somit auf derselben Seite stehen wie die Methylgruppe an C<sub>13</sub>. Nach Giacomello liegt aber auch die lange Seitenkette mit der Carboxylgruppe<sup>9)</sup> weitgehend in derselben Ebene. Er nimmt aus ganz analogen Gründen daher an, dass auch diese  $\beta$ -ständig angeordnet ist, dass sich somit HO-Gruppe, Methyl und Seitenkette alle auf derselben Seite befinden. Ohne uns über die röntgenographischen Befunde ein fachmännisches Urteil anzumassen, sehen wir uns gezwungen, einige Zweifel an der Stichhaltigkeit der letzten Begründung zu äussern, da die folgenden chemischen Befunde mit Giacomello's Raumformel kaum in Einklang zu bringen sind. Wir vermuten nämlich, dass die Carboxylgruppe (und soweit wir verstehen, wird nur ihre Lage im Röntgenbild scharf erfasst) sich wegen der freien Drehbarkeit der Valenzen der Seitenkette sehr wohl auch dann in die Ebene des Vierringsystems einstellen könnte, wenn die Haftstelle an C<sub>17</sub>  $\alpha$ -ständig angeordnet wäre.

<sup>1)</sup> H. Wieland, E. Dane, Z. physiol. Ch. **216**, 91 (1933).

<sup>2)</sup> L. F. Fieser, "The Chemistry of Natural Products related to Phenanthrene", 2. ed., New York 1937, p. 399.

<sup>3)</sup> Die Methylgruppe an C<sub>13</sub> wird im allgemeinen als  $\beta$ -ständig = über der Tafelenebene angenommen, obgleich ein definitiver Beweis aussteht. Vgl. L. Ruzicka, M. Furter, M. W. Goldberg, Helv. **21**, 498 (1938). Die *trans*-Verknüpfung der Ringe C und D ist jedoch von K. Dimroth, H. Jonsson, B. **74**, 520 (1941) bewiesen.

<sup>4)</sup> H. Wieland, O. Schlichting, Z. physiol. Chem. **150**, 273 (1925).

<sup>5)</sup> H. Wieland, V. Wiedersheim, Z. physiol. Chem. **186**, 233 (1930).

<sup>6)</sup> J. W. Cook, G. A. D. Haslewood, Soc. **1934**, 433.

<sup>7)</sup> L. Ruzicka, M. W. Goldberg, H. Wirz, Helv. **18**, 61 (1935).

<sup>8)</sup> G. Giacomello, G. **69**, 790 (1939).

<sup>9)</sup> Soweit wir verstehen, ist dies nur für die Carboxylgruppe selbst bewiesen.

Von *Koechlin* und *Reichstein*<sup>1)</sup> wurde bereits darauf hingewiesen, dass die aus (I) durch Abbau erhältliche Bisnor-desoxycholsäure (V)<sup>2)</sup> als  $\delta$ -Oxysäure ein Lacton bilden sollte, wenn HO-Gruppe und Seitenkette sich wirklich auf derselben Seite befinden würden. Andernfalls erscheint hier aus sterischen Gründen eine Lactonbildung kaum möglich. Die Säure (V) gibt nun auch bei 200° kein Lacton. Entweder ist also die „sterische Hinderung“, etwa durch die Methylgruppe an C<sub>13</sub> zu gross, oder die zwei genannten Gruppen sind entgegen den Befunden von *Giacomello* auf verschiedenen Seiten des Ringsystems angeordnet. Das lässt sich experimentell prüfen, denn nach Umkehrung einer dieser Gruppen müsste Lactonbildung möglich sein, wenn die zweite der genannten Voraussetzungen zutrifft. Zu diesem Zwecke haben wir die Umkehrung (Epimerisierung) der HO-Gruppe gewählt, weil sie sich relativ leicht durchführen lässt, und zunächst die Gewinnung der 3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII)<sup>4)</sup> angestrebt.

Als Ausgangsmaterial zur Bereitung dieser Säure (XVIII) diente 3 $\alpha$ -Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure-methylester (XII)<sup>5)</sup>, der sich durch vorsichtige Verseifung in den Oxyester (X) und weiter in die Oxysäure (IX) überführen lässt. (X) konnte auch direkt aus (VI) durch partielle Oxydation mit CrO<sub>3</sub><sup>6)</sup> gewonnen werden. Hydrierung von (X) oder einfacher von (XII) mit *Raney-Nickel* in methylalkoholischer Natronlauge<sup>7)</sup> lieferte neben wenig (VI) in guter Ausbeute 3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -Dioxy-bisnor-cholansäure-methylester (XIII). Da (VI) und (XIII) isomorph sind, wurde das rohe Hydrierungsprodukt über das scharf schmelzende Diacetat (XIV) gereinigt. Verseifung von (XIV) unter schonenden Bedingungen gab vorwiegend die gesuchte 3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII). Daneben entstand eine raumisomere Säure (XXVII), die sich durch fraktionierte Krystallisation abtrennen liess und die sich von (XVIII) durch Isomerie an C<sub>20</sub> unterscheidet<sup>8)</sup>. Methylierung von (XVIII) mit Diazomethan gab den reinen Methylester (XIII), der bei heisser Acetylierung das Acetat (XIV) lieferte, wodurch bewiesen ist, dass (XIII), (XIV) und (XVIII) die gleiche Konfiguration haben. Aus der 20-*iso*-Säure (XXVII) wird ein Methylester (XXVIII) erhalten, der von (XIII)

1) *B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942).*

2) *W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. 60, 1493 (1938).*

3) *J. Sawlewicz, Roczniki Chemii 18, 755 (1938); C. 1939, II, 2074.*

4) Zur Nomenklatur vgl. <sup>3)</sup>.

5) *A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 713 (1944).*

6) Vgl. die analoge Bereitung der 3 $\alpha$ -Oxy-12-keto-cholansäure, *K. Kaziro, T. Shimada, Z. physiol. Ch. 249, 220 (1937); S. Bergström, G. A. D. Haslewood, Soc. 1939, 540.*

7) Vgl. die analoge Hydrierung von 3 $\alpha$ -Oxy-12-keto-cholansäure-methylester<sup>9)</sup> sowie *M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 26, 2097 (1943).*

8) Der Beweis wird in einer folgenden Arbeit erbracht.

9) *B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942).*

verschieden ist. Die Struktur von (XIII), (XIV) und (XVIII) wurde weiter durch Dehydrierung von (XIII) mit  $\text{CrO}_3$  bewiesen, wobei der bekannte, aus (VI) erhältliche 3,12-Diketo-bisnor-cholansäure-methylester (XV)<sup>1)</sup> entstand. (XXVIII) liefert mit  $\text{CrO}_3$  den 3,12-Diketo-20-*iso*-bisnor-cholansäure-methylester (XXXV), der von (XV) deutlich verschieden ist.

Die 12-*epi*-Bisnor-desoxycholsäure (XVIII) wird nun durch 4–6-stündiges Erhitzen in Toluol auf 195° zu etwa 70% lactonisiert, während (V) unter diesen Bedingungen praktisch unverändert bleibt. Zur Auswertung dieses Resultates war allerdings noch eine Komplikation zu überwinden. Beim Erhitzen von (XVIII) entstand nicht nur ein Lacton, sondern es bildeten sich drei Isomere, die wir als Oxylactone A, B und C bezeichnen. In reinem Zustand konnte aus dem Gemisch mit einiger Mühe nur eine kleine Menge freies Oxylacton B (XIX) isoliert werden. Hingegen gelang die Trennung nach Acetylierung durch Chromatographie und fraktionierte Krystallisation, wobei die reinen Acetoxylactone A (XVII), B (XX) und C (XXII) resultierten. Das Oxylacton B (XIX) wurde in besserer Ausbeute durch Erhitzen der 20-*iso*-Säure (XXVII) mit Toluol erhalten, während sich das Oxylacton C (XXI) neben einem weiteren Oxylacton D (XXIII) durch 2-tägiges Stehen der 20-*iso*-Säure (XXVII) in einem Gemisch von Äther und konz. HCl bei 18° gewinnen liess. Es entstanden dabei ca. 85% des Lactongemisches, das wieder in Form der Acetate (XXII) und (XXIV) getrennt wurde, während ca. 15% der Säure (XXVII) unverändert blieben. In gleicher Weise lieferte die Säure (XVIII) etwa 70% eines fünften Lactons E (XXV), das ebenfalls als Acetat (XXVI) charakterisiert wurde<sup>2)</sup>.

Trotz dieser grossen Anzahl von Lactonen liess sich das Resultat doch zur Abklärung der eingangs gestellten Strukturfrage verwerten, da sich die Struktur des wichtigen Oxylactons A (XVI), das bisher nur als Acetat in reiner Form gefasst wurde, durch die zwei folgenden Aufspaltungsreaktionen eindeutig beweisen liess. Kocht man das Acetoxylacton A (XVII) mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in wässrigem Methanol oder lässt die Mischung 24 Stunden bei 20° stehen, so wird der Lactonring unter gleichzeitiger Verseifung der Acetoxygruppe aufgebrochen, und es entsteht fast quantitativ der Methylester (XIII) sowie eine

<sup>1)</sup> A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 713 (1944).

<sup>2)</sup> Es mag hervorgehoben werden, dass Bisnor-desoxycholsäure (V) auch unter diesen Bedingungen fast völlig unverändert bleibt, was kaum allein dem Umstand zuzuschreiben ist, dass sie in dem genannten Gemisch sehr wenig löslich ist. Zum Vergleich wurden auch Desoxycholsäure (I), sowie 12-*epi*-Desoxycholsäure<sup>3)</sup> der Behandlung mit HCl-Äther unterworfen, wobei die erstere unverändert blieb, während die *epi*-Säure eine amorphe Säure (Gemisch?) lieferte, aus der sich keine krystallisierten Derivate isolieren liessen.

<sup>3)</sup> B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942).

Spur der freien Säure (XVIII). Die Öffnung des Lactonringes gelingt auch durch 1–2-tägiges Stehen mit  $\text{CrO}_3$  in Eisessig bei  $18^\circ$ ; aus dem Acetoxy-lacton A (XVII) entstand dabei die  $3\alpha$ -Acetoxy-12-ketobisnor-cholansäure (XI), die durch Methylierung mit Diazomethan in den bekannten Methylester (XII) überging. Das Oxy-lacton A (XVI) stellt somit bestimmt das normale Lacton der Säure (XVIII) dar, denn die milden Bedingungen, unter denen beide Reaktionen verlaufen, bieten weitgehend Gewähr dafür, dass sie nicht von Umlagerungen begleitet sind. In genau gleicher Weise liess sich die Struktur des Oxy-lactons B (XIX) ermitteln. Beim Stehen seines Acetats (XX) mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in wässrigem Methanol oder mit 1-proz. methanolischer  $\text{HCl}$  entstand fast quantitativ der 20-*iso*-Ester (XXVIII), und mit  $\text{CrO}_3$  wurde die Säure (XXIX) gewonnen, die als Methylester (XXX) charakterisiert wurde. Oxydation des freien Oxy-lactons B (XIX) mit  $\text{CrO}_3$  lieferte neben Ketolacton B (Formel wie (XIX) mit Keto-gruppe statt  $-\text{OR}$ ) die Säure (XXXIV), die mit Diazomethan in den Methylester (XXXV) überging, der sich als identisch mit dem aus (XXVIII) erhaltenen Material erwies. Das Oxy-lacton B (XIX) leitet sich somit von der 20-*iso*-Säure (XXVII) ab und ist aus dem Oxy-lacton A (XVI) durch Isomerisierung in 20-Stellung entstanden. Dementsprechend wird es auch in guter Ausbeute beim Erhitzen der 20-*iso*-Säure (XXVII) erhalten.

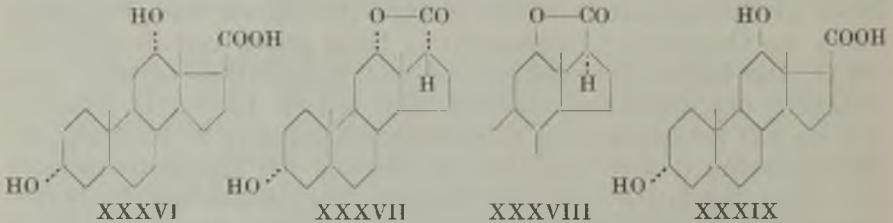
Ganz anders verhalten sich die 3 Acetoxy-lactone C, D und E gegenüber  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in wässrigem Methanol; es wird dabei lediglich die Acetoxy-lacton-Gruppe verseift, sodass die drei freien Oxy-lactone C, D und E in dieser Weise leicht rein erhältlich sind. Mit  $\text{KOH}$  hingegen tritt Aufspaltung des Lactonringes ein. Aus Oxy-lacton C entsteht dabei das Kaliumsalz einer Dioxysäure, die jedoch beim Freisetzen sofort das Oxy-lacton C regeneriert<sup>1)</sup>. Ganz gleich verhält sich Lacton D. Das Lacton E hingegen wird auch durch Alkali verseift; beim Ansäuern der alkalischen Lösung wird jedoch Lacton D erhalten, d. h. es tritt Isomerisierung, höchstwahrscheinlich in 20-Stellung, ein. Acetoxy-lacton C wird von  $\text{CrO}_3$  in Eisessig bei Zimmertemperatur nur wenig angegriffen. Weitere Versuche zur Aufklärung der Struktur der drei Lactone C, D und E wurden nicht unternommen, weil sie zur Abklärung der eingangs diskutierten Strukturfrage kaum beitragen können. Wir vermuten, dass es sich um Produkte einer Retro-pinakolinumlagerung handelt. Einige Möglichkeiten sind durch die Formeln (XXXI), (XXXII) und (XXXIII) angedeutet, wobei jeweils noch Raumisomere denkbar sind. In 20-Stellung dürfte Lacton E normale, die Lactone C und D dagegen *iso*-Konfiguration besitzen.

Als wichtigstes Ergebnis der Untersuchung folgt, dass die 12-*epi*-Bisnor-desoxycholsäure (XVIII) ein Lacton (XVI) zu bilden vermag,

<sup>1)</sup> Auf diesem Wege lassen sich unreine Proben des Lactons C, die noch etwas Oxy-lacton A oder B enthalten, leicht reinigen.

während die normale Säure (V) dazu nicht fähig ist. Dies spricht u. E. eindeutig dafür, dass sich 12-ständige HO-Gruppe und Seitenkette in der *epi*-Säure (XVIII) auf derselben, in den normalen Säuren (V) und (I) somit auf verschiedenen Seiten des Ring-systems befinden, denn im Raummodell ist eine Lactonbildung ohne allzugrosse Spannung nur möglich, wenn ersteres zutrifft<sup>1)</sup>. Durch die Überführbarkeit der 20-*iso*-Säure (XXVII) in ein Lacton (XIX) wird dieses Resultat weiter gestützt. Da wir, wie oben erwähnt, die von *Giacomello* aus den Röntgenspektren abgeleiteten Ergebnisse in bezug auf die räumliche Lage der 12-ständigen HO-Gruppe bei der Desoxycholsäure für besser begründet ansehen als diejenigen für die Seitenkette, so nehmen wir mit ihm an, dass diese HO-Gruppe in (I)  $\beta$ -ständig angeordnet ist. Unter dieser Voraussetzung muss man daher für die Seitenkette in der Desoxycholsäure, im Cholesterin, im Progesteron und wahrscheinlich in allen natürlichen Sterinen und Steroiden  $\alpha$ -Stellung annehmen. Die von uns verwendete Formulierung entspricht diesem Vorschlag.

Es muss jedoch hervorgehoben werden, dass sich diese Formulierung ausschliesslich auf die röntgenologisch festgestellte  $\beta$ -Stellung der Hydroxylgruppe an C<sub>12</sub> bei der Desoxycholsäure stützt und dass die rein chemischen Befunde mindestens ebensogut auch mit der umgekehrten Formulierung (Hydroxylgruppe  $\alpha$ -ständig und Seitenkette  $\beta$ -ständig) vereinbar sind. Die folgenden Resultate wären dadurch sogar noch besser erklärbar. Es zeigte sich nämlich, dass 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-ätiolcholsäure (XXXVI)<sup>2)3)4)</sup> weder durch Erhitzen in Toluol auf 195° noch durch Stehenlassen mit HCl-Äther in ein Lacton übergeführt wird, sondern in beiden Fällen unverändert bleibt, obgleich sich rein formelmässig ein 5-gliedriges Lacton (XXXVII) hätte bilden können. Auch die 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-ätiolcholsäure<sup>5)</sup> blieb bei beiden Behandlungsmethoden unverändert, was jedoch nach dem analogen Verhalten der Bisnor-desoxycholsäure (V) zu erwarten war. Das negative Ergebnis bei (XXXVI) ist jedoch auffallend und wäre leichter verständlich, wenn dieser



Säure in Wirklichkeit die Konfiguration (XXXIX) zukäme, da die Bildung des entsprechenden Lactons (XXXVIII) am Raummodell auf erhebliche Schwierigkeiten stösst. Dies hätte dann zur Folge, dass in der Desoxycholsäure die HO-Gruppe an C<sub>12</sub>  $\alpha$ -ständig und die Seitenkette somit  $\beta$ -ständig anzunehmen wäre. Zu einer solchen Annahme können

<sup>1)</sup> Im Raummodell ist die Lactonbildung am leichtesten möglich, wenn beide Gruppen  $\alpha$ -ständig sind, etwas schwerer, aber noch gut möglich, wenn beide  $\beta$ -ständig sind. Ist die OH-Gruppe  $\alpha$ -ständig und die Seitenkette  $\beta$ -ständig oder umgekehrt, so lässt sich mit den üblichen Tetraedermodellen keine Lactonbildung mehr erzielen.

<sup>2)</sup> M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 21, 828 (1938).

<sup>3)</sup> H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc. 60, 2824 (1938).

<sup>4)</sup> V. Wenner, T. Reichstein, Helv. 27, 965 (1944).

<sup>5)</sup> W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. 60, 1493 (1938).

wir uns jedoch vorläufig nicht entschliessen und glauben eher, dass die geringe Tendenz zur Bildung eines fünfgliedrigen Lactons (XXXVII) bei der relativen Starrheit des Sterinskeletts bereits dadurch bedingt sein kann, dass die Valenzwinkel der beteiligten funktionellen Gruppen in (XXXVI) geringe Abweichungen von der zur Lactonbildung günstigen Lage aufweisen.

Wir danken der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel für die Überlassung einer grösseren Probe Bisnor-desoxycholsäure.

### Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ . Die zur Analyse und Drehung bestimmten Substanzproben wurden, wenn nichts weiter bemerkt ist, 1—2 Stunden im Hochvakuum bei  $80$ — $90^\circ$  getrocknet.)

#### 3 $\alpha$ -Oxy-12-keto-bisnor-cholansäure-methylester (X).

a) Aus (XII). 25 mg 3 $\alpha$ -Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure-methylester (XII)<sup>1)</sup> vom Smp.  $171$ — $173^\circ$  wurden in  $8 \text{ cm}^3$  Methanol gelöst, mit  $0,1 \text{ g K}_2\text{CO}_3$  in  $1 \text{ cm}^3$  Wasser versetzt und zwei Tage bei  $20^\circ$  stehengelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknete Ätherlösung lieferte nach starkem Einengen und Zusatz von Petroläther lange Nadeln vom Smp.  $171$ — $173^\circ$ . Die Mischprobe mit (XII) gab eine Schmelzpunktserniedrigung von ca.  $30^\circ$ .

b) Aus (VI). 100 mg 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-bisnor-cholansäure-methylester (VI)<sup>2)</sup> vom Smp.  $168^\circ$  wurden in  $0,5 \text{ cm}^3$  Eisessig gelöst und mit  $0,4 \text{ cm}^3$  (=  $1,2 \text{ Äquiv.}$ ) 5-proz.  $\text{CrO}_3$ -Eisessig-Lösung versetzt, wobei Selbsterwärmung eintrat. Nach ca. 5 Minuten wurde mit Äther verdünnt und die Lösung mit verd.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Sodalösung und Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Chromatographie über  $\text{Al}_2\text{O}_3$  lieferte aus den mit Benzol-Äther (9:1) eluierbaren Anteilen wenig 3,12-Diketo-ester (XV) vom Smp.  $140^\circ$  und aus den mit Äther abgelösten Fraktionen 60 mg (X) vom Smp.  $165$ — $170^\circ$  (Mischprobe).

#### 3 $\alpha$ -Oxy-12-keto-bisnor-cholansäure (IX).

$0,1 \text{ g}$  3 $\alpha$ -Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure-methylester (XII) vom Smp.  $171$ — $173^\circ$  wurden in der Lösung von  $0,5 \text{ g KOH}$  in  $1,5 \text{ cm}^3$  Methanol gelöst und 3 Stunden bei  $20^\circ$  stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Äther durch Einengen gab farblose Nadeln vom Smp.  $299$ — $300^\circ$ .

#### 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Diacetoxy-bisnor-cholansäure-methylester (XIV).

$6,82 \text{ g}$  3 $\alpha$ -Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure-methylester (XII) wurden in  $50 \text{ cm}^3$  reinstem Methanol heiss gelöst und mit  $22,5 \text{ cm}^3$  4-proz.  $\text{NaOH}$ -Lösung in Methanol versetzt. Nach dem Erkalten wurde die Lösung und das frisch aus  $6,8 \text{ g}$  Nickel-Aluminium-Legierung<sup>4)</sup> bereitete und mit Methanol gewaschene *Raney-Nickel*<sup>5)</sup> mit  $35 \text{ cm}^3$  Methanol in einen Hydrierkolben gespült und in  $\text{H}_2$ -Atmosphäre geschüttelt. Nach 18 Stunden war die berechnete Menge Gas ( $421 \text{ cm}^3$ ) aufgenommen. Es wurde filtriert, über wenig Kohle geklärt, im Vakuum eingedampft und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verd.  $\text{HCl}$ , Sodalösung und Wasser gewaschene und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknete Ätherlösung hinterliess  $6,45 \text{ g}$  rohen Ester (XIII) als farbloses Harz. Aus Äther-Petroläther liessen sich auch nach

<sup>1)</sup> A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 713 (1944).

<sup>2)</sup> J. Sawlewicz, Roczniki Chemii 18, 755 (1938); C. 1939, II, 2074.

<sup>3)</sup> T. Kazuno, T. Shimizu, J. Biochemistry 29, 421 (1939).

<sup>4)</sup> Dieses Material wurde uns von Herrn M. Raney, Chattanooga, USA., freundlichst zur Verfügung gestellt.

<sup>5)</sup> Am. Pat. 1 628 190; C. 1927, II, 653; L. W. Covert, H. Adkins, Am. Soc. 54, 4116 (1932).

Animpfen mit (VI) keine Krystalle erhalten, wohl aber sofort beim Animpfen der Methanol-lösung mit (VI), doch war eine sichere Reinigung der so erhaltenen Krystalle nicht möglich. Das ganze im Vakuum getrocknete Material (6,45 g) wurde daher durch 4-stündiges Erhitzen mit 7 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 7 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid auf dem siedenden Wasserbad acetyliert. Aufnehmen in Äther, Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen gab 7,86 g rohes Diacetat. Fraktionierte Krystallisation aus Äther-Petroläther lieferte 6,0 g reinen 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Ester (XIV) in farblosen Prismen vom Smp. 109—111° und wenig 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Ester (VII) vom Smp. 166—167°. Die spez. Drehung von (XIV) betrug:  $[\alpha]_D^{13} = +58,5^{\circ} \pm 1^{\circ}$  ( $c = 2,26$  in Aceton).

22,6  $\pm$  0,2 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{13} = +1,32^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,880 mg Subst. gaben 9,977 mg CO<sub>2</sub> und 3,175 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>27</sub> H <sub>42</sub> O <sub>6</sub> (462,61)	Ber. C 70,09	H 9,15%
	Gef. „ 70,17	„ 9,16%

### 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII).

6 g 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Diacetoxy-bisnor-cholansäure-methylester (XIV) vom Smp. 109—111° wurden in der Lösung von 12 g KOH in 24 cm<sup>3</sup> Methanol warm gelöst und anschliessend 3 Stunden bei 20° stehen gelassen. Nach Zusatz von Wasser wurde die Lösung mit Äther ausgeschüttelt, der jedoch beim Eindampfen keinen Rückstand hinterliess. Die alkalische Lösung wurde nun mit HCl angesäuert und wieder mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 4,95 g rohe Säure. Nach Aufnehmen in Äther krystallisierten rasch 0,79 g rohe 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-20-iso-bisnor-cholansäure (XXVII) in Tetraedern vom Smp. 186—196° (vgl. weiter unten). Die Mutterlauge (4,16 g) gab nach längerem Stehen in Äther zu Büscheln vereinigte Nadeln, deren Abscheidung durch Zusatz von Petroläther möglichst vervollständigt wurde. Ausbeute total 3,85 g, Smp. 140—142° und nach Wiedererstarren 218—228°. Aus Methanol-Äther-Petroläther wurde eine in Prismen krystallisierende Form erhalten, die sich viel besser reinigen liess und schliesslich bei 145—146° und nach sofortigem Wiedererstarren bei 230—232° schmolz. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{14} = +47,1^{\circ} \pm 1^{\circ}$  ( $c = 1,932$  in Dioxan).

48,3  $\pm$  0,2 mg Subst. zu 2,501 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{14} = +0,91^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Die beiden Formen lassen sich durch Impfen der übersättigten Lösung ineinander überführen. Bei halbstündigem Stehen mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> tritt starke grüne Fluoreszenz ein; bei der 12 $\beta$ -Säure (V) ist diese Reaktion viel schwächer<sup>1)</sup>.

Methylester (XIII). 40 mg reine Säure (XVIII), in wenig Methanol gelöst, wurden mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt und 10 Minuten stehen gelassen. Nach Neutralwaschen, Trocknen und Eindampfen verblieben 41 mg Rohprodukt. Umkrystallisieren aus Methanol gab 32 mg farblose Prismen vom Smp. 92—101°, die Krystallmethanol enthalten.

Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{12} = +38,0^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,396$  in Aceton).

34,9  $\pm$  0,2 mg Subst. zu 2,501 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{12} = +0,53^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-bisnor-cholansäure-methylester (VI) krystallisiert aus Methanol ebenfalls mit Krystallmethanol und schmilzt dann bei 85—92° und nach Wiedererstarren bei 170—171°. Die Mischprobe dieser Form mit (XIII) gab keine eindeutige Schmelzpunktsniedrigung. Die spez. Drehung von (VI) betrug  $[\alpha]_D^{13} = +40,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,316$  in Aceton).

32,9  $\pm$  0,2 mg Subst. zu 2,501 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{13} = +0,53^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Durch heisse Acetylierung wird aus (XIII) wieder (XIV) vom Smp. 109—111° erhalten.

<sup>1)</sup> Analog verhalten sich 12 $\alpha$ - und 12 $\beta$ -Oxy-cholansäure sowie 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ - und 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-cholansäure.



3,12-Diketo-bisnor-cholansäure-methylester (XV) aus (XIII).

20 mg 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-bisnor-cholansäure-methylester (XIII) in 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig wurden mit 0,40 cm<sup>3</sup> 5-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung (Überschuss zur Oxydation des Krystallmethanols) versetzt und drei Stunden bei 20° stehen gelassen. Nach Aufnehmen mit Äther, Waschen mit verd. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen wurden aus Äther-Petroläther 14 mg farblose Blättchen vom Smp. 141—143° erhalten. Die Mischprobe mit (XV) aus (VI)<sup>1)</sup> schmolz ebenso.

3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-20-*iso*-bisnor-cholansäure (XXVII).

Das als Nebenprodukt von (XVIII) erhaltene Material (0,79 g) gab nach nochmaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther typische Tetraeder vom Smp. 196—200°. Die Mischprobe mit der bei 205—207° schmelzenden 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Säure (V) gab eine Schmelzpunktserniedrigung von ca. 50°.

Methylester (XXVIII). Aus (XXVII) mit Diazomethan wie bei (XIII). Farblose Blättchen aus Äther-Petroläther, Smp. 183—184°; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup> = +9,9° ± 1° (c = 1,097 in Aceton).

10,964 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha$ <sub>D</sub><sup>21</sup> = +0,10° ± 0,01°

Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum bei 100° nachgetrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,730 mg Subst. gaben 9,967 mg CO<sub>2</sub> und 3,391 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>23</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub> (378,54) Ber. C 72,97 H 10,12%  
 Gef. „ 72,92 „ 10,17%

3,12-Diketo-20-*iso*-bisnor-cholansäure-methylester (XXXV) aus (XXVIII).

Aus 20 mg 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-20-*iso*-bisnor-cholansäure-methylester (XXVIII) vom Smp. 183—184° in 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig mit 0,2 cm<sup>3</sup> 5-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung durch 8stündiges Stehen bei 17° und Aufarbeitung wie bei (XV) wurden farblose, rhombisch begrenzte Krystalle aus Äther-Petroläther erhalten, die ein erstes Mal bei 118—119° schmelzen und zu hexagonal und quadratisch begrenzten Platten erstarren, worauf bei 141—142° definitive Verflüssigung eintritt. Das Produkt erwies sich nach Mischprobe identisch mit dem schon früher beschriebenen Material<sup>1)</sup> (Analyse siehe bei (XXXV) aus (XIX)). Die spez. Drehung betrug [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>16</sup> = +72,1° ± 1° (c = 1,318 in Aceton).

13,169 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha$ <sub>D</sub><sup>16</sup> = +0,95° ± 0,01°

Lactonisierung der 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII) durch Erhitzen.

Vorproben. Kleine Proben der Säure (XVIII) wurden in neutralen Lösungsmitteln auf verschiedene Temperaturen erhitzt. Die Menge des Lösungsmittels wurde so bemessen, dass die Säure beim Siedepunkt völlig gelöst war. Zur Aufarbeitung wurde mit Äther verdünnt, mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, eingedampft und der so erhaltene Neutralteil im Vakuum getrocknet. Über das Resultat orientiert folgende Tabelle:

Dauer des Erhitzens	Temperatur	Lösungsmittel	Rohes Lacton	
			Ausbeute	Smp.
4 Std.	108°	Toluol	10%	213—223°
3 „	166°	Phenetol	35%	200—218°
2,5 „	195°	Toluol <sup>2)</sup>	50%	—
6 „	192°	„ <sup>2)</sup>	70%	200—214°
8 „	194°	„ <sup>2)</sup>	80%	200—214°
2 „	207°	Tetralin	90%	teilw. ölig

1) A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 713 (1944).

2) Im Einschlussrohr.

Präparativer Versuch. 1,65 g  $3\alpha,12\alpha$ -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII) und  $100\text{ cm}^3$  abs. Toluol wurden im Drehautoklaven 6 Stunden auf  $190^\circ$  erhitzt. Die Trennung gab 0,7 g unveränderte Säure (XVIII) sowie 0,93 g Lactongemisch, das fast völlig aus feinen Nadeln bestand und roh bei  $200\text{--}218^\circ$  schmolz.

Oxylacton B (XIX) aus (XVIII).

Eine Probe des Lactongemisches gab nach mühsamer Reinigung durch Chromatographie über alkalifreiem  $\text{Al}_2\text{O}_3$ <sup>1)</sup>, Hochvakuumsublimation und fraktionierte Krystallisation aus Benzol-Äther-Petroläther, wobei leicht Gallerten entstehen, eine kleine Menge reines Oxylacton B als farblose Nadeln vom Smp.  $230\text{--}232^\circ$  (Drehung und Analyse siehe weiter unten). Acetylierung mit Pyridin-Acetanhydrid gab daraus Acetoxylacton B (XX) in Nadeln vom Smp.  $209\text{--}212^\circ$  (Mischprobe).

Trennung des Oxylactongemisches aus (XVIII) in Form der Acetate.

1,4 g des obigen Lactongemisches vom Smp.  $200\text{--}218^\circ$  wurden mit  $2\text{ cm}^3$  Acetanhydrid und  $3\text{ cm}^3$  abs. Pyridin 16 Stunden bei  $20^\circ$  stehengelassen. Nach Aufnehmen mit Äther wurde mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (1,69 g) wurde über 50 g alkalifreiem  $\text{Al}_2\text{O}_3$ <sup>1)</sup> chromatographisch getrennt. Die mit abs. Benzol eluierbaren Anteile (0,63 g) lieferten beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 190 mg Acetoxylacton B in farblosen, verfilzten Nadeln vom Smp.  $209\text{--}212^\circ$ . Die Mutterlaugen wurden für sich nochmals chromatographiert, wobei aus den leichter eluierbaren Anteilen durch Umkrystallisieren aus Petroläther 140 mg reines Acetoxylacton C in farblosen, rechtwinklig begrenzten Säulen vom Smp.  $150\text{--}152^\circ$  erhalten wurden; die etwas schwerer eluierbaren Fraktionen gaben noch wenig Acetoxylacton B. Die mit Benzol-Äther abgelösten Fraktionen des ersten Chromatogramms (0,48 g) gaben nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther und Methanol 0,1 g reines Acetoxylacton A in quadratischen Blättchen vom Smp.  $241\text{--}242^\circ$ , das bei der Mischprobe mit dem Acetoxylacton B keine eindeutige Schmelzpunktserniedrigung zeigte.

Acetoxylacton A (XVII).

Smp.  $241\text{--}242^\circ$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +48,2^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,705$  in Aceton)

7,046 mg Subst. zu  $0,9994\text{ cm}^3$ ;  $l = 1\text{ dm}$ ;  $\alpha_{\text{D}}^{17} = +0,34^\circ \pm 0,02^\circ$

3,720 mg Subst. gaben  $10,059\text{ mg CO}_2$  und  $3,069\text{ mg H}_2\text{O}$

12,590 mg Subst. verbr.  $0,621\text{ cm}^3$  0,1-n. KOH (12-stündige heisse Verseifung<sup>2)</sup>)

$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_4$ (388,53)	Ber. C 74,19	H 9,34%	Äquiv.-Gew. 194,26
	Gef. „ 73,79	„ 9,23%	„ „ 202,73

Acetoxylacton B (XX).

Smp.  $209\text{--}212^\circ$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{16} = +64,2^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,889$  in Aceton)

8,880 mg Subst. zu  $0,9994\text{ cm}^3$ ;  $l = 1\text{ dm}$ ;  $\alpha_{\text{D}}^{16} = +0,74^\circ \pm 0,02^\circ$

3,749 mg Subst. gaben  $10,170\text{ mg CO}_2$  und  $3,091\text{ mg H}_2\text{O}$

14,572 mg Subst. verbr.  $0,747\text{ cm}^3$  0,1-n. KOH (12-stündige heisse Verseifung)

$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_4$ (388,53)	Ber. C 74,19	H 9,34%	Äquiv.-Gew. 194,26
	Gef. „ 74,03	„ 9,23%	„ „ 195,07

Acetoxylacton C (XXII).

Smp.  $150\text{--}152^\circ$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +54,8^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 2,067$  in Aceton)

<sup>1)</sup> Vgl. A. Lardon, J. v. Euw, T. Reichstein, Helv. **27**, 1287 (1944), und zwar S. 1292, Fussnote <sup>2)</sup>.

<sup>2)</sup> Bei den Lactontitrationen wurde mit ca. 0,5-n. KOH in Methanol gekocht und mit 0,1-n. Säure zurücktitriert.

20,66 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +1,13^\circ \pm 0,03^\circ$   
 3,680 mg Subst. gaben 9,998 mg CO<sub>2</sub> und 3,088 mg H<sub>2</sub>O  
 17,928 mg Subst. verbr. 0,923 cm<sup>3</sup> 0,1-n. KOH (12-stündige heisse Verseifung)  
 C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub> (388,53) Ber. C 74,19 H 9,34% Äquiv.-Gew. 194,26  
 Gef. „ 74,14 „ 9,38% „ „ 194,24

Oxylacton B (XIX) aus (XXVII).

100 mg 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-20-*iso*-bisnor-cholansäure (XXVII) vom Smp. 196—200° wurden in 5 cm<sup>3</sup> abs. Toluol im evakuierten Bombenrohr 4 Stunden auf 190° erhitzt. Die Aufarbeitung lieferte 80 mg rohes Lacton vom Smp. 228—232°. Umkrystallisieren aus Aceton-Äther gab Nadelchen vom Smp. 230—232°, Mischprobe ebenso. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{14} = +51,8^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,753$  in Aceton).

7,528 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{14} = +0,39^\circ \pm 0,02^\circ$ .

3,761 mg Subst. gaben 10,494 mg CO<sub>2</sub> und 3,291 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub> (346,49) Ber. C 76,26 H 9,89%

Gef. „ 76,14 „ 9,79%

Acetylierung von 80 mg Rohprodukt mit Pyridin-Acetanhydrid bei Zimmer-temperatur gab 80 mg rohes Acetat und hieraus nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Petroläther und Methanol 25 mg reines Acetoxylacton B in Nadeln vom Smp. 209—212°; Mischprobe ebenso.

Bei 9-stündigem Kochen von 100 mg Säure (XXVII) in 3 cm<sup>3</sup> abs. Toluol wurden nur 5 mg Lacton erhalten.

Versuch zur Lactonisierung von 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-bisnor-cholansäure (V), 3 $\alpha$ -Oxy-12-keto-bisnor-cholansäure (IX) und 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ - und 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-ätio-cholansäure durch Erhitzen.

100 mg 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-bisnor-cholansäure (V) wurden mit 4 cm<sup>3</sup> abs. Toluol im evakuierten Bombenrohr 6 Stunden auf 191° erhitzt. Die Aufarbeitung gab nur 2 mg ölige neutrale Anteile. Die aus dem sodalöslichen Anteil gewonnene Säure krystallisierte aus Chloroform-Äther in groben Nadeln vom Smp. 205—207°. Die Mischprobe mit dem genau gleich schmelzenden Ausgangsmaterial schmolz ebenso. Dies steht in Übereinstimmung mit früheren Resultaten<sup>1)</sup>.

Auch 3 $\alpha$ -Oxy-12-keto-bisnor-cholansäure (IX) wurde unter denselben Bedingungen unverändert zurückgewonnen, ebenso 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-ätio-cholansäure<sup>2)</sup>, sowie die 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-ätio-cholansäure<sup>3)</sup>.

Acetoxylactone C (XXII) und D (XXIV) aus (XXVII) mit HCl.

100 mg 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-20-*iso*-bisnor-cholansäure vom Smp. 196—200° wurden in der Mischung von 2 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure und 2 cm<sup>3</sup> Äther gelöst und 2 Tage bei 18° stehen gelassen. Die Trennung mit Sodalösung und Äther gab 15 mg unveränderte Säure und 81 mg neutrale Anteile. Letztere wurden durch einstündiges Erwärmen mit 0,3 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 0,2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid acetyliert und das wie üblich isolierte Acetatgemisch (85 mg) über 5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die zwei ersten mit Benzol-Äther (9 : 1) eluierten Fraktionen (35 mg) gaben beim Umkrystallisieren aus Aceton-Petroläther Acetoxylacton D (XXIV) in farblosen, quadratischen Blättchen vom Smp. 202—203° und aus Chloro-

<sup>1)</sup> B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942).

<sup>2)</sup> Die Säure <sup>4)</sup> <sup>5)</sup> wurde von uns durch alkalische Verseifung des Methylesters<sup>6)</sup> gewonnen; sie schmolz bei 282—286°.

<sup>3)</sup> W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. 60, 1493 (1938).

<sup>4)</sup> M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 21, 828 (1938).

<sup>5)</sup> H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc. 60, 2824 (1938).

<sup>6)</sup> V. Wenner, T. Reichstein, Helv. 27, 965 (1944).

form-Äther-Petroläther Büschel langer Nadeln vom gleichen Smp. Die Mischprobe mit Acetoxylacton B (XX) vom Smp. 209—212° gab eine Schmelzpunkterniedrigung von 25°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{21} = +56,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 0,957$  in Aceton).

9,569 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{21} = +0,54^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$   
 3,544 mg Subst. gaben 9,658 mg CO<sub>2</sub> und 2,997 mg H<sub>2</sub>O  
 14,368 mg Subst. verbr. 0,743 cm<sup>3</sup> 0,1-n. KOH (12-stündige heisse Verseifung)  
 C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub> (388,53) Ber. C 74,19 H 9,34% Äquiv.-Gew. 194,26  
 Gef. „ 74,36 „ 9,46% „ „ 193,78

Weitere vier mit Benzol-Äther eluierte Fraktionen (40 mg) gaben beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther reines Acetoxylacton C (XXII) vom Smp. 150—152° (Mischprobe ebenso).

#### Oxylacton E (XXV) aus (XVIII) mit HCl.

1 g 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII) vom Smp. 145°/230° wurde in der Mischung von je 12,5 cm<sup>3</sup> konz. HCl und Äther gelöst und 4 Tage bei 17° stehen gelassen. Die Trennung mit Sodalösung lieferte 0,3 g unveränderte Säure (XVIII) und 0,68 g rohes Lacton als Neutralteil. Umkrystallisieren des letzteren aus Äther-Petroläther gab 0,64 g reines Oxylacton E in farblosen, zu Drusen verwachsenen Säulen vom Smp. 215—216°.

3,732 mg Subst. gaben 10,339 mg CO<sub>2</sub> und 3,245 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub> (346,49) Ber. C 76,26 H 9,89%  
 Gef. „ 75,60 „ 9,73%

#### Acetoxylacton E (XXVI).

260 mg Oxylacton E (XXV) vom Smp. 215—216° wurden mit 0,7 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 0,5 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 24 Stunden bei 16° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 280 mg rohes Acetat. Umkrystallisieren aus Chloroform-Petroläther lieferte 250 mg farblose Blöcke vom Smp. 176—177°;  $[\alpha]_D^{24} = +30,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,050$  in Aceton).

10,496 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{24} = +0,32^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$   
 3,584 mg Subst. gaben 9,763 mg CO<sub>2</sub> und 2,976 mg H<sub>2</sub>O  
 15,717 mg Subst. verbr. 0,818 cm<sup>3</sup> 0,1-n. KOH (12-stündige heisse Verseifung)  
 C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub> (388,53) Ber. C 74,19 H 9,34% Äquiv.-Gew. 194,26  
 Gef. „ 74,34 „ 9,29% „ „ 192,14

Versuch zur Lactonisierung von 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-bisnor-cholansäure (V), Desoxycholsäure (I), 12-*epi*-Desoxycholsäure<sup>1)</sup>, 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-ätiolansäure<sup>2)3)</sup> und 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-ätiolansäure<sup>4)</sup> mit HCl.

70 mg 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-bisnor-cholansäure (V) vom Smp. 205°/240° wurden in der Mischung von je 1,5 cm<sup>3</sup> konz. HCl und Äther suspendiert und 60 Stunden bei 20° stehen gelassen. Zum Unterschied von (XVIII) und (XXVII) trat keine Lösung ein. Die Aufarbeitung lieferte nur ca. 0,5 mg ölige Neutralteile und 70 mg sodalösliches Material. Dieses gab beim Umkrystallisieren aus Benzol 50 mg rechtwinklige Platten, die sich als unveränderte Säure (V) erwiesen. Unverändert blieben bei analoger Behandlung auch Desoxycholsäure (I), 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-ätiolansäure<sup>5)</sup> und 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-ätiolansäure<sup>4)</sup>, wobei nur die erst- und letztgenannte Substanz in Lösung gingen. Etwas abweichend verhielt sich 12-*epi*-Desoxycholsäure<sup>1)</sup>. Aus 0,5 g davon, die sich in 20 cm<sup>3</sup>

<sup>1)</sup> B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942).

<sup>2)</sup> M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 21, 828 (1938).

<sup>3)</sup> H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc. 60, 2824 (1938).

<sup>4)</sup> W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. 60, 1493 (1938).

<sup>5)</sup> Die Säure <sup>2)3)</sup> wurde von uns durch alkalische Verseifung des Methylresters <sup>6)</sup> gewonnen; sie schmolz bei 282—286°.

<sup>6)</sup> V. Wenner, T. Reichstein, Helv. 27, 965 (1944).

HCl-Äther (1:1) gut lösten, wurden nach 4-tägigem Stehen bei 20° nur 35 mg amorphe Neutralteile erhalten. Die Hauptmenge (445 mg) war ein sodalösliches Harz, aus dem sich keine Ausgangssubstanz mehr gewinnen liess. Auch nach Methylierung und Chromatographie waren keine Krystalle erhältlich, ebenso nicht nach Acetylierung und Oxydation des Methylresters.

#### Oxylacton C (XXI).

50 mg Acetoxylacton C (XXII) vom Smp. 150—152° wurden in 2 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit der Lösung von 30 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 0,3 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 20 Stunden stehengelassen. Nach Zugabe von Äther wurde mit Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (45 mg) gab aus Aceton-Äther 37 mg zu Drusen verwachsene, hexagonale Säulen vom Smp. 240—241°.

Reinigung von rohem Acetoxylacton C (XXII) durch Verseifung.

235 mg unreines Acetoxylacton C (XXII) vom Smp. 135—150° (aus (XVIII) durch Erhitzen in Toluol gewonnen) wurden in der Lösung von 0,5 g KOH in 1 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und 3 Stunden bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit Wasser versetzt und durch Ausschütteln mit Äther vom Unverseiften (5 mg) befreit. Die alkalische Lösung wurde mit HCl angesäuert und nach kurzem Stehen mit Äther ausgeschüttelt. Die mehrmals mit verd. Sodalösung und Wasser gewaschene und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 152 mg neutralen Rückstand. Umkrystallisieren aus Aceton-Äther gab 140 mg reines Oxylacton C (XXI) vom Smp. 240—241°. Durch Acetylierung wurde daraus 161 mg rohes und 120 mg umkrystallisiertes Acetoxylacton C (XXII) vom Smp. 150—152° gewonnen.

#### Oxylacton D (XXIII).

50 mg Acetoxylacton D (XXIV) vom Smp. 202—203° wurden wie bei (XXI) beschrieben mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in wässrigem Methanol verseift. Das Rohprodukt (45 mg) gab aus Chloroform-Petroläther 36 mg zu Drusen vereinigte Spiesse vom Smp. 175—176°. Reacetylierung gab wieder das Acetat vom Smp. 202—203°. Auch das Oxylacton D (XXIII) und sein Acetat (XXIV) geben bei der Verseifung mit KOH in Methanol das K-Salz einer Säure, die beim Freisetzen mit HCl das Lacton (XXIII) sofort regeneriert.

#### Oxylacton E (XXV) aus (XXVI).

40 mg Acetoxylacton E (XXVI) vom Smp. 176—177° in 7 cm<sup>3</sup> Methanol wurden mit der Lösung von 30 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 0,6 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Aufarbeitung wie bei (XXI) und (XXIII) gab 34 mg Neutralprodukt. Aus Äther-Petroläther farblose Prismen vom Smp. 215—216° (Mischprobe ebenso). Acetylierung gibt wieder (XXVI).

#### Oxylacton D (XXIII) aus Oxylacton E (XXV).

100 mg Oxylacton E (XXV) vom Smp. 215—216° wurden in der Lösung von 0,2 g KOH in 0,5 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und 3 Stunden bei 18° stehengelassen. Nach Zusatz von Wasser liessen sich mit Äther 5 mg unverseifte Anteile ausschütteln. Die alkalische Lösung wurde mit HCl angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verd. NaOH und Wasser gewaschene und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Ätherlösung hinterliess 95 mg neutralen Rückstand. Umkrystallisieren aus Chloroform-Petroläther lieferte 80 mg Oxylacton D (XXIII) vom Smp. 175—176°. Einstündige Acetylierung mit 0,3 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 0,2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid bei 100° gab 91 mg rohes und 70 mg umkrystallisiertes Acetoxylacton D (XXIV) vom Smp. 202—203° (Mischprobe ebenso).

3α,12α-Dioxy-bisnor-cholansäure-methylester (XIII) aus Acetoxylacton A (XVII).

40 mg Acetoxylacton A (XVII) vom Smp. 240—242° wurden in 10 cm<sup>3</sup> Methanol heiss gelöst, mit der Lösung von 30 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 0,6 cm<sup>3</sup> Wasser und 2 cm<sup>3</sup> Methanol

versetzt und 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 35 mg neutralen Rückstand. Aus der  $\text{K}_2\text{CO}_3$ -Lösung liessen sich mit  $\text{HCl}$  4 mg rohe Säure abscheiden, die aus Äther 3 mg Krystallnadeln vom Doppelschmelzpunkt  $132\text{--}137^\circ/226\text{--}230^\circ$  ergaben. Die Mischprobe mit (XVIII) gab keine Schmelzpunkterniedrigung. Der Neutralteil krystallisierte aus wenig Methanol nach Animpfen mit (XIII) sofort in Säulen vom Smp.  $85\text{--}93^\circ$ . Zur Charakterisierung wurde die ganze Menge (35 mg) durch 3-stündiges Erhitzen mit  $0,1\text{ cm}^3$  Acetanhydrid und  $0,15\text{ cm}^3$  abs. Pyridin auf  $100^\circ$  acetyliert. Das rohe Acetat (41 mg) gab aus Pentan 34 mg reines Diacetat (XIV) vom Smp.  $109\text{--}111^\circ$  (Mischprobe ebenso). (Die Spaltung von (XVII) gelingt auch bei  $20^\circ$  wie bei (XX), doch ist dieses Verfahren wegen der geringen Löslichkeit von (XVII) in Methanol ungünstig).

**3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-20-*iso*-bisnor-cholansäure-methylester (XXVIII) aus Acetoxy lacton B (XX).**

a) Mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$ .

40 mg Acetoxy lacton B (XX) vom Smp.  $209\text{--}212^\circ$  wurden in  $2\text{ cm}^3$  Methanol gelöst, mit der Lösung von 30 mg  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in  $0,3\text{ cm}^3$  Wasser versetzt und 26 Stunden bei  $20^\circ$  stehengelassen. Die Aufarbeitung wie oben gab 2,5 mg rohe Säure, die in Tetraedern vom Smp.  $189\text{--}196^\circ$  krystallisierte; bei der Mischprobe mit (XXVII) keine Schmelzpunkterniedrigung. Der Neutralteil (35 mg) lieferte aus Aceton-Äther 30 mg quadratische Blättchen vom Smp.  $183\text{--}184^\circ$ . Die Mischprobe mit (XXVIII) schmolz ebenso.

b) Mit  $\text{HCl}$  in Methanol.

39 mg Acetoxy lacton B (XX) vom Smp.  $209\text{--}212^\circ$  wurden in  $1,33\text{ cm}^3$  Methanol heiss gelöst, bei  $20^\circ$  mit  $0,66\text{ cm}^3$  3-proz.  $\text{HCl}$  in Methanol versetzt und 15 Stunden bei  $20^\circ$  stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab nur Neutralprodukt. Aus Äther 32 mg quadratische Blättchen vom Smp.  $183\text{--}184^\circ$ ; Mischprobe ebenso.

**3 $\alpha$ -Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure (XI) aus Acetoxy lacton A (XVII).**

16 mg Acetoxy lacton A (XVII) vom Smp.  $240\text{--}242^\circ$  wurden in  $0,4\text{ cm}^3$  Eisessig gelöst, mit  $0,2\text{ cm}^3$  5-proz.  $\text{CrO}_3$ -Eisessig-Lösung versetzt und 24 Stunden bei  $20^\circ$  stehen gelassen. Dann wurde mit Wasser versetzt, mit Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösung mit verd.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  Sodalösung und Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Es verblieben 8 mg unreines Ausgangsmaterial. Die Sodauszüge gaben nach Ansäuern mit  $\text{HCl}$  und Ausschütteln mit Äther 8 mg rohe Säure (XI), die aus Aceton-Petroläther in Blättchen vom Smp.  $256\text{--}258^\circ$  krystallisierte. Zur Charakterisierung wurden alle sauren Anteile (8 mg) mit Diazomethan methyliert und der rohe Methylester mit Pyridin-Acetanhydrid nachacetyliert. Krystallisation aus Äther-Petroläther gab  $5,5\text{ mg}$  hexagonale Blättchen vom Smp.  $168\text{--}171^\circ$ . Die Mischprobe mit reinem (XII) schmolz bei  $170\text{--}172^\circ$ .

**3 $\alpha$ -Acetoxy-12-keto-20-*iso*-bisnor-cholansäure (XXIX) aus Acetoxy lacton B (XX).**

120 mg Acetoxy lacton B (XX) vom Smp.  $209\text{--}212^\circ$  in  $2\text{ cm}^3$  Eisessig wurden mit  $1\text{ cm}^3$  5-proz.  $\text{CrO}_3$ -Eisessig-Lösung vermischt und 50 Stunden bei  $16^\circ$  stehen gelassen. Die Aufarbeitung wie oben gab 10 mg Neutralprodukt (Ausgangsmaterial) sowie 107 mg rohe Säure. Zweimaliges Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther lieferte 36 mg lange Nadeln vom Smp.  $229\text{--}230^\circ$  und aus der Mutterlauge noch 50 mg vom Smp.  $225\text{--}227^\circ$ . Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum bei  $100^\circ$  nachgetrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,654 mg Subst. gaben 9,463 mg  $\text{CO}_2$  und 2,856 mg  $\text{H}_2\text{O}$

$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_5$  (404,53) Ber. C 71,25 H 8,97%

Gef. „ 70,67 „ 8,75%

Methylester (XXX). 10 mg Säure (XXIX) vom Smp. 229—230° wurden mit ätherischer Diazomethanlösung 10 Minuten stehen gelassen. Aus Petroläther krystallisierten lange Nadeln (7 mg) vom Smp. 138—139° und  $[\alpha]_D^{21} = +87,6^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,096$  in Aceton).

10,958 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{21} = +0,96^\circ \pm 0,02^\circ$

3,573 mg Subst. gaben 9,356 mg CO<sub>2</sub> und 2,863 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>25</sub> H <sub>38</sub> O <sub>5</sub> (418,56)	Ber. C 71,73	H 9,15%
	Gef. „ 71,46	„ 8,97%

Ketolacton B und 3,12-Diketo-20-*iso*-bisnor-cholansäure (XXXIV) aus Oxylacton B (XIX).

50 mg fast reines Oxylacton B (XIX) vom Smp. 225—232° in 1,5 cm<sup>3</sup> Eisessig wurden mit 0,3 cm<sup>3</sup> 5-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung vermischt und 15 Stunden bei 17° stehen gelassen, worauf sich noch freies CrO<sub>3</sub> nachweisen liess. Die wie oben durchgeführte Aufarbeitung gab 20 mg Neutrales (Ketolacton) und 25 mg rohe Säure (XXXIV).

Ketolacton B. Der Neutraltteil gab aus Benzol-Petroläther lange Nadeln vom Smp. 229—235°, die zur Analyse im Hochvakuum sublimiert wurden. Das Sublimat schmolz bei 214—216°.

3,604 mg Subst. gaben 10,130 mg CO<sub>2</sub> und 3,024 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub> (344,48)	Ber. C 76,70	H 9,36%
	Gef. „ 76,71	„ 9,39%

Säure (XXXIV). Die rohe Säure wurde direkt mit ätherischem Diazomethan methyliert. Der aus Methanol und Äther-Petroläther umkrystallisierte Methylester (Rhomben) schmolz bei 119—121° und nach Rekrystallisation definitiv bei 142—143°. Mischprobe mit (XXXV) aus (XXVIII) ebenso.

3,714 mg Subst. gaben 10,085 mg CO<sub>2</sub> und 3,086 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub> (374,51)	Ber. C 73,76	H 9,15%
	Gef. „ 74,10	„ 9,30%

Einwirkung von CrO<sub>3</sub> auf Acetoxylacton C (XXII).

80 mg fast reines Acetoxylacton C (XXII) vom Smp. 148—150° wurden in 1 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 1 cm<sup>3</sup> 5-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 20 Stunden bei 20° stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab 72 mg neutrale Anteile, die beim Umkrystallisieren wieder Acetoxylacton C gaben, das aber weniger scharf schmolz als das Ausgangsmaterial.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

## 195. Untersuchungen über den optischen Reinheitsgrad von Aminosäuren in natürlichen Eiweissstoffen

von K. Weil und Werner Kuhn.

(17. X. 44.)

### *1. Optisch aktive Stoffe als Aufbaustoffe der Organismen; stereo-autonome und stereostabilisierte Substanzen.*

Die optische Aktivität ist ein Gebiet, welche unter verschiedenen Gesichtspunkten Interesse bietet. Wir haben auf der einen Seite die theoretisch-physikalische Fragestellung nach den Grössen, welche innerhalb der optisch aktiven Molekel für Grösse und Vorzeichen der auftretenden Drehung den Ausschlag geben, also die Frage nach der modellmässigen Deutung des Drehungsvermögens. In den letzten Jahrzehnten ist es möglich geworden, hier einen klaren Überblick zu bekommen<sup>1)</sup>.

Von eben so grossem Interesse war und ist die Frage nach der Entstehung der aktiven Verbindungen. Da optisch aktive Stoffe zuerst als Baustoffe lebender Organismen gefunden wurden, galt ihre Darstellung und Verwendung eine Zeitlang als besondere Leistung der Lebenskraft. Die Vermutung wurde aufgegeben, sobald es gelang, Racemate mit Hilfe bereits vorhandener optisch aktiver Stoffe in die Komponenten zu zerlegen, und erst recht, als gezeigt wurde, dass aktive Substanzen aus inaktivem Ausgangsmaterial unter Benützung optisch aktiver Katalysatoren erzeugt werden können<sup>2)</sup>. Ein weiterer Schritt war die Erzeugung aktiver Substanzen aus inaktivem Ausgangsmaterial ohne Benützung aktiver Hilfsstoffe durch Anwendung von zirkularpolarisiertem Lichte<sup>3)</sup>.

Wenn nun auch durch solche Versuche, insbesondere durch die Synthese mit Katalysatoren gezeigt ist, dass die fortlaufende Erzeugung optisch aktiver Aufbaustoffe durch einen Organismus, welcher bei seiner Entstehung mit einer kleinen Menge aktiver Stoffe ausgestattet wurde, keine unbekanntes Kräfte erfordert, so bleibt die Synthese und ausschliessliche Verwendung dieser Stoffe an den lebenswichtigen Punkten der Organismen doch eine merkwürdige Tatsache. Wenn wir alle Hilfsmittel beiziehen, bleibt ja die Reindarstellung eines optischen Antipoden und noch mehr die ausschliessliche Darstellung eines Antipoden (ohne den Umweg über das Race-

<sup>1)</sup> Vgl. z. B. W. Kuhn, Naturwiss. 26, 289, 305 (1938); W. Kuhn und K. Freudenberg, Hand- und Jahrbuch d. chem. Physik, Bd. 8, III (1932).

<sup>2)</sup> G. Bredig und K. Fajans, B. 41, 752 (1908); Z. physikal. Ch. 73, 25 (1910); 75, 232 (1911).

<sup>3)</sup> W. Kuhn und E. Knopf, Z. physikal. Ch. [B] 7, 299 (1930).



mat und die nachfolgende Trennung desselben), eine mühsame Aufgabe. Die Verwendung optisch aktiver Stoffe ist, chemisch gesehen, eine Belastung.

Die Gründe, derentwegen der Organismus diese Komplikation auf sich nimmt, sind aber nicht klar. Wir müssen uns im Augenblick mit der Feststellung der Tatsache begnügen und mit dem Hinweis, dass die Reaktionsgeschwindigkeiten, die Lage der Gleichgewichte und die Löslichkeit von Verbindungen bei Verwendung optisch aktiver Stoffe anders, mitunter ganz anders liegen als bei Verwendung von Racematen<sup>1</sup>).

Ein Beispiel hierfür, eines der ausgeprägtesten dieser Art, welches uns bisher bekannt geworden ist, wird uns weiter unten begegnen: das Salz des Leucin-methyl-esters mit Dioxo-dinaphtyl-dicarbonsäure. Es wird sich zeigen, dass der linksdrehende Ester mit der linksdrehenden Säure ein ausgezeichnet krystallisierendes und in Methylalkohol schwerlösliches Salz liefert, während der linksdrehende Leucinester mit der rechtsdrehenden Säure ein praktisch genommen unendlich lösliches, nicht zur Krystallisation bringendes Salz gibt.

Wenn somit die Frage nach den Gründen, warum der Organismus aktive Substanzen von hohem Reinheitsgrad als Aufbaustoffe verwendet, eine schwierige, vielleicht aber auch unnütze Frage ist, so ist über die Mittel, mit deren Hilfe der Reinheitsgrad erzeugt und aufrecht erhalten wird, etliches auszusagen.

Einmal zeigt es sich, dass die in einem Organismus vorkommenden aktiven Substanzen eingeteilt werden können in stereoautonome aktive Pfeilersubstanzen und stereostabilisierte aktive Substanzen<sup>2</sup>).

Stereostabilisierte Substanzen sind solche, bei denen der optische Reinheitsgrad, mit dem die Substanz im Organismus auftritt, grösser ist als der Reinheitsgrad, den man auf Grund der Racemisierungsgeschwindigkeit der Substanz und auf Grund der Selektivität, die bei der asymmetrischen Synthese der Substanz vorherrscht, erwarten würde; der optische Reinheitsgrad stereostabiler Substanzen ist vielmehr dadurch bedingt, dass sie im Organismus an andere, optisch sehr reine stereoautonome Substanzen gebunden und in diesem gebundenen Zustande gespeichert werden. Ein Beispiel für eine stereostabilisierte Substanz ist das *d*-Mandelsäurenitril, welches als schwerlösliches Glucosid der Gentiobiose gespeichert wird in solcher Weise, dass der optische Reinheitsgrad des Nitrils durch den optischen Reinheitsgrad der Gentiobiose erzwungen und aufrecht erhalten wird<sup>3</sup>).

Bei den stereoautonomen Substanzen wird der optische Reinheitsgrad nicht durch Bindung an andere optisch stabilere und reinere Substanzen erzwungen. Hier ist der Reinheitsgrad vielmehr ausschliesslich gegeben durch den Grad der Selektivität, welcher bei der Synthese der Substanz vorherrscht. Es ist wahrscheinlich, dass die im Organismus

<sup>1</sup>) Für eine Zusammenstellung solcher Unterschiede vgl. z. B. *W. Kuhn*, Ergebnisse der Enzymforschung **5**, 1 (1936), insbes. S. 5ff.; im folgenden wird diese Arbeit als l. c. I bezeichnet. Siehe ausserdem *W. Kuhn*, Optische Spezifität von Enzymen in Handbuch d. Enzymologie, Hrsg. von *F. F. Nord* und *R. Weidenhagen*, S. 188 (1940); im folgenden als l. c. III bezeichnet, insbes. S. 1944ff.

<sup>2</sup>) *W. Kuhn*, l. c. I, insbes. S. 43 ff.; sowie *Z. angew. Ch.* **49**, 215 (1936), im folgenden als l. c. II bezeichnet.

<sup>3</sup>) l. c. I, insbes. S. 44; l. c. II S. 217.

vorkommenden Zucker und die Aminosäuren zu den stereoautonomen Substanzen gehören. Sie sind als der Pfeiler zu betrachten, mit dem das ganze Gebäude der optischen Selektivität des Organismus steht und fällt.

## 2. Grenzen bei der Erzeugung und Erhaltung des Reinheitsgrades aktiver Substanzen; Haltbarkeitsgleichung.

Eine genauere kinetische und thermodynamische Analyse der Bedingungen, unter denen stereoautonome Substanzen vom Organismus aufgebaut werden, zeigt nun, dass der bei einer Synthese erzielbare optische Reinheitsgrade auch unter günstigsten Bedingungen endlich ist und dass er zudem nicht unbeschränkt haltbar ist<sup>1</sup>).

Die Überlegungen wurden am Beispiel der Synthese des Mandelsäurenitrils aus Benzaldehyd und Blausäure mit Emulsin als Katalysator genau durchgeführt und durch Vergleich mit der Erfahrung, wie sie in der Literatur beschrieben war, bestätigt. Der charakteristische Verlauf ist folgender: An dem optisch selektiven Katalysator (Emulsin) wird zunächst der eine der möglichen Antipoden des Endproduktes (Mandelsäurenitril) in grossem Überschuss erzeugt, sodass in einem bestimmten Zeitpunkt praktisch genommen die gesamte Ausgangssubstanz in den bevorzugten Antipoden des Endproduktes umgewandelt ist. Dann aber zeigt sich, dass die so erhaltene optische Aktivität nur eine vorübergehende Erscheinung ist. Wenn die mit Hilfe des Katalysators erzeugte aktive Verbindung nicht sofort vom Katalysator entfernt und weiterverarbeitet wird, so tritt unweigerlich, und zwar unter Mithilfe desselben Katalysators, der zunächst die fast 100-proz. selektive Synthese bewirkt hatte, eine Racemisierung der erzeugten aktiven Substanz ein.

Die Verhältnisse werden in diesen und ähnlichen Fällen durch die sogenannte Haltbarkeitsgleichung<sup>2</sup>) wiedergeben. Unter der Haltbarkeit  $H$  der am Katalysator erzeugten Substanz verstehen wir dabei das Verhältnis

$$H = \frac{\tau_{\text{rac}}}{\tau_{\text{akt}}}$$

wo  $\tau_{\text{akt}}$  die Zeit ist, während welcher der Katalysator mit dem Substrat in Berührung sein muss, damit sich  $\frac{2}{3}$  der Ausgangssubstanz in das (optisch fast reine) Endprodukt umsetzen, und  $\tau_{\text{rac}}$  die Zeit, während welcher das Substrat nach Erreichung des Höchstwertes der optischen Aktivität mit dem Katalysator in Berührung bleiben muss, damit die optische Aktivität von ihrem Höchstwert auf  $\frac{1}{3}$  dieses Betrages absinkt.

<sup>1</sup>) W. Kuhn, l. c. I und II, sowie Forschungen und Fortschritte 14, 91 (1938); Z. Altersf. 1, 325 (1939), im folgenden als l. c. IV bezeichnet; Handb. d. Enzymologie (l. c. III), insbes. S. 211 ff.

<sup>2</sup>) l. c. I., S. 35; l. c. II, S. 217; l. c. III, S. 213.

Diese Haltbarkeit  $H$  ist, wie in den zitierten Arbeiten gezeigt wurde, proportional der Gleichgewichtskonstanten  $K$ , welche chemisch-thermodynamisch die Umsetzung der Ausgangsstoffe in die Endprodukte beherrscht und welche umso grösser ist, je vollständiger, chemisch gesehen, der Umsatz der Ausgangsstoffe in die Endprodukte stattfindet; ausserdem ist  $H$  proportional der Selektivität des Katalysators, welche letztere gemessen wird durch  $k_d/k_l$ , wenn  $k_d$  die Geschwindigkeitskonstante ist, mit welcher am Katalysator die Bildung des  $d$ -Antipoden,  $k_l$  die Geschwindigkeitskonstante, mit welcher am selben Katalysator die Bildung des  $l$ -Antipoden erfolgt. Die Haltbarkeitsgleichung lautet für das angegebene Beispiel bei Benützung der eben gegebenen Definitionen:

$$H = \frac{\tau_{\text{rac}}}{\tau_{\text{akt}}} = \frac{1}{2} \frac{k_d}{k_l} K \quad (1)$$

Wäre  $H$  gleich unendlich, so könnten wir in einer endlichen Zeit  $\tau_{\text{akt}}$ , die aktive Substanz am Katalysator erzeugen und nachher unendlich lange in reinem aktivem Zustande behalten. Nach (1) wäre aber hierzu notwendig, dass entweder  $k_d/k_l$ , d. h. die Selektivität des Katalysators oder aber  $K$ , die bei der Synthese obwaltende chemische Gleichgewichtskonstante, unendlich gross wäre. In Wirklichkeit ist bei allen chemischen Reaktionen die Gleichgewichtskonstante  $K$  endlich, weil einem unendlich grossen  $K$  eine unendlich grosse Bildungsaffinität entsprechen würde; aber auch die Selektivität  $k_d/k_l$  ist bei allen in vitro bekannten Reaktionen endlich. Dies heisst, es wird wohl  $H$  recht gross, aber nicht unendlich gross werden, auch nicht bei den aktiven Synthesen im Organismus.

Es wurde in den zitierten Arbeiten weiter darauf hingewiesen, dass die in Gleichung (1) zutage tretenden Möglichkeiten,  $H$  gross zu machen, bei den im Organismus getätigten aktiven Synthesen weitgehend ausgenützt werden, indem die Gleichgewichtskonstante  $K$  extrem gross gewählt wird, ebenso die Selektivität  $k_d/k_l$ . Es wurde ferner darauf hingewiesen, dass der Gleichung (1) auch insofern Rechnung getragen wird, als Substrat und Katalysator bei den biochemischen aktiven Synthesen nicht lange miteinander in Berührung gelassen werden, indem die synthetisierten Substanzen rasch von den Katalysatoren entfernt und anderweitig verwendet werden. Es wurde aber gezeigt, dass auch die beste Ausnützung dieser Möglichkeiten das Auftreten unerwünschter Antipoden in zunächst kleinen Mengen nicht verhindern kann.

Man kann weiter sehen, dass die Bildung kleiner Mengen der unerwünschten Antipoden noch nicht gleichbedeutend ist mit deren Auftreten an den entscheidend wichtigen Stellen im Organismus, indem beispielsweise der Auf-

bau von Eiweisstoffen aus Aminosäuren selbst wieder ein Vorgang ist, bei welchem die erwünschten *l*-Aminosäuren vor den *d*-Aminosäuren bevorzugt werden. Man sieht weiter, dass die trotz allem entstandenen unerwünschten Antipoden durch besondere Mechanismen ausgegilt werden können, im Falle der Aminosäuren durch die *d*-Aminosäure-Oxydasen<sup>1)</sup>. Man bemerkt aber dabei, dass solche Abwehrmechanismen erst wirksam sein können, nachdem die unerwünschten Antipoden eine gewisse endliche Konzentration erreicht haben und dass sie dementsprechend eine 100-proz. Entfernung der unerwünschten Antipoden nicht bewerkstelligen können. D. h.: die Einschaltung der Abwehrmechanismen kann nur bewirken, dass die unerwünschten Antipoden nicht sofort in die im Organismus lebenswichtigen Organstellen vordringen, oder: es brauchen nicht alle Organstellen gleichzeitig und in gleichem Masse von den unerwünschten Antipoden befallen zu werden. Dies ist alles, was durch die Abwehrmechanismen und durch die Zwischenschaltung einer Mehrzahl von selektiven Reaktionen beim Aufbau der wichtigsten Verbindungen erzielt werden kann.

Überlegungen dieser Art führen<sup>2)</sup> zu der Vermutung, dass im Laufe des Alterns eines Individuums eine Abnahme des optischen Reinheitsgrades eintreten wird und dass die Begrenztheit der Lebensdauer der Individuen mit dieser Abnahme des Reinheitsgrades zusammenhängen könnte.

Unabhängig von der Richtigkeit solcher Vermutungen stellt sich die Frage nach dem genauen Grade der optischen Reinheit, mit welchem die aktiven Stoffe in einem Organismus oder in verschiedenen Organen desselben zu treffen sind. Es war zu vermuten, dass der Reinheitsgrad mitunter sehr gross und damit die Feststellung einer Abweichung von 100% schwierig sein wird.

### 3. Schwierigkeiten der Methoden zum Nachweis kleiner Mengen seltener optischer Antipoden neben grossen Mengen der natürlichen Antipoden.

Nach der Auseinandersetzung und Hervorhebung dieser Gesichtspunkte<sup>3)</sup> sind Versuche von *F. Kögl* und Mitarbeitern durchgeführt<sup>4)</sup> worden, welche die Feststellung der Begrenztheit des optischen Reinheitsgrades von Aminosäuren in verschiedenen Eiweisstoffen zum Gegenstand haben. Über die Richtigkeit der von *Kögl*

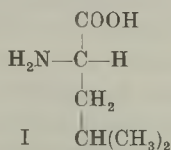
<sup>1)</sup> *H. A. Krebs*, *Z. physiol. Ch.* **217**, 191 (1933); *Biochem. J.* **29**, 1620 (1935).

<sup>2)</sup> *l. c.* I bis IV.      <sup>3)</sup> *l. c.* I (1936).

<sup>4)</sup> *F. Kögl* und *H. Erxleben*, *Z. physiol. Ch.* **258**, 57 (1939); **261**, 154 (1939); **264**, 108, 198 (1940); *Naturwiss.* **27**, 486 (1939); *F. Kögl*, *H. Erxleben* und *A. M. Akkermann*, *Z. physiol. Ch.* **261**, 141 (1939); *F. Kögl*, *H. Erxleben* und *H. Herken*, *Z. physiol. Ch.* **263**, 107 (1940); **264**, 219 (1940); *F. Kögl*, *H. Erxleben* und *G. J. van Veersen*, *Z. physiol. Ch.* **277**, 251 (1943).

veröffentlichten Ergebnisse, insbesondere über das Vorkommen von racemischer Glutaminsäure in malignen Tumoren ist eine restlose Einigkeit bisher nicht erzielt worden<sup>1)</sup>.

Es hängt dies weitgehend mit der Schwierigkeit eines einwandfreien Nachweises kleiner Mengen von optischen Antipoden neben grossen Mengen des normalen Antipoden zusammen. In Erkenntnis dieser Schwierigkeit haben wir uns in einer Untersuchung, welche sich über mehrere Jahre erstreckte, bemüht, eine Methode zu finden, um ganz kleine Mengen von *d*(-)-Leucin neben grossen Mengen des normalen *l*(+)-Leucins in Substanz nachzuweisen.



Die Schwierigkeit besteht hier wie in andern Fällen z. T. darin, dass das Leucin (Formel I) in den natürlichen Eiweisstoffen gemeinsam mit andern Aminosäuren vorkommt, sodass bei der Hydrolyse ein kompliziertes Gemisch erhalten wird. Die nächste Aufgabe nach der Hydrolyse besteht also darin, aus dem Hydrolysegemisch die interessierende Aminosäure herauszuholen, um anschliessend den seltenen, nicht normalen Antipoden nachzuweisen. Bei keiner der Operationen darf der experimentelle Eingriff eine Spur einer Racemisierung verursachen; ebensowenig aber darf er zu einem Verlust des seltenen Antipoden führen.

Wir werden weiter unten zeigen, dass bei der Hydrolyse der Peptidbindungen, sowie bei der Behandlung von *l*-Leucin mit Salzsäure bei den bei der Eiweisshydrolyse angewendeten Temperaturen und Konzentrationen innerhalb der Fehlergrenze unserer Versuche keine Racemisierung des Leucins stattfindet. (Abschnitt 7.)

Bei der anschliessend zu bewirkenden chemischen Trennung der Aminosäuren voneinander muss man sich klar darüber sein, dass jede Methode, bei welcher eine fraktionierte Krystallisation vorkommt, auszuschliessen ist. Es ist nämlich bekannt, dass wir beispielsweise aus optisch nicht reiner Mandelsäure durch fraktionierte Krystallisation eine kleine Menge des im Überschuss vorhandenen Antipoden in optisch reiner Form herausarbeiten können, d. h.: der seltene Antipode bleibt, wenn die Löslichkeit des häufigen Antipoden bereits überschritten ist, zunächst noch in Lösung und wird mit der Mutterlauge, gegebenenfalls zusammen mit andern Verunreinigungen, entfernt.

<sup>1)</sup> E. Abderhalden, Z. physiol. Ch. **275**, 1335 (1942); Th. Wieland, B. **75**, 1001 (1942); E. Waldschmidt-Leitz, Ergebn. Enzymf. **9**, 193 (1943).

Wir haben zur Trennung der Aminosäuren die Estermethode von *E. Fischer* angewendet. Die Aminosäuren werden quantitativ in die Methyl ester übergeführt und diese werden anschliessend durch fraktionierte Destillation voneinander getrennt. Es wird noch zu zeigen sein, dass bei der Esterbildung, bei der Freisetzung des Esters und bei der Destillation innerhalb der Grenzen unseres Nachweises keine Racemisierung eintritt. Ein Verlust an seltenen Antipoden ist auch nicht zu erwarten, da die Veresterung in flüssiger Phase und quantitativ erfolgt. Ebenso ist kein Fall bekannt, in welchem bei der fraktionierten Destillation eine auch nur teilweise Racemattrennung bewirkt worden wäre. Die quantitative Trennung von Aminosäureestern voneinander durch fraktionierte Destillation ist andererseits eine anspruchsvolle Aufgabe, welche aber mit Hilfe eines von *W. Kuhn* und *K. Ryffel* beschriebenen Apparates<sup>1)</sup> gelöst werden konnte.

Es sei darauf hingewiesen, dass während der Destillation ein Verlust am einen oder andern Antipoden des Leucins durch Reaktion mit einem Aminosäure-ester unter Bildung eines Diketo-piperazins denkbar ist. Wir haben, um dies nach Möglichkeit zu vermeiden, die Destillation bei möglichst niedriger Temperatur (47° C) vorgenommen.

Eine Bildung von Diketo-piperazin in grösserer Menge haben wir bei der Dauer und bei der Temperatur unserer Destillation weder beim racemischen noch beim aktiven Leucin-methylester festgestellt. Wir haben daher keinen Grund, hier eine wesentliche Fehlerquelle zu vermuten, wenn auch die Bildung gemischter Diketo-piperazine durch das Gesagte nicht ausgeschlossen ist. Jedenfalls aber können wir feststellen, dass die Bildung von Diketo-piperazin höchstens einen mengenmässigen Verlust am einen oder andern Antipoden, aber niemals die Entstehung des seltenen Antipoden zur Folge haben kann.

Grundsätzlich sollte es möglich sein, eine Trennung der Aminosäuren voneinander ohne Verschiebung des Konzentrationsverhältnisses, in welchem die Antipoden vertreten sind, auch durch Ausschüteln der wässrigen Lösung mit verschiedenen Lösungsmitteln zu verwirklichen (Methode von *Dakin*)<sup>2)</sup>, sowie mit Hilfe des elektrischen Transportes in wässriger Lösung (Trennung auf Grund der verschiedenen Basizität)<sup>3)</sup> als auch durch Adsorption an Kohle<sup>4)</sup> oder allgemeiner durch die chromatographische Analyse<sup>5)</sup>. Bei einer allfälligen Anwendung dieser Methoden wäre zu bedenken, dass die aus dem Hydrolysen-gemisch herauszuholende Substanz (in unserem Falle das Leucin) unter Umständen zunächst in grosser Verdünnung erhalten wird. Sie müsste also anschliessend an die chemische Trennung und unter Vermeidung von Krystallisationen zwecks Nachweis des seltenen Antipoden wieder konzentriert werden. Dabei muss das Präparat (z. B. das Leucin) zum mindesten grammweise gewonnen werden, wenn der seltene Antipode erst darin gesucht werden muss.

Um den seltenen Antipoden (*d*(-)-Leucin) in dem durch Destillation des Estergemisches gewonnenen Leucin-methylester nachzuweisen, wurde der Ester in methyllalkoholischer Lösung mit dem im

<sup>1)</sup> *W. Kuhn* und *K. Ryffel*, *Helv.* **26**, 1693 (1943).

<sup>2)</sup> *H. D. Dakin*, *Biochem. J.* **12**, 290 (1918), *J. Biol. Chem.* **44**, 499 (1920); *Z. physiol. Ch.* **130**, 159 (1923).

<sup>3)</sup> *G. L. Forster* und *C. L. A. Schmidt*, *J. Biol. Chem.* **56**, 545 (1923); *Am. Soc.* **48**, 1709 (1926). Weitere Literatur siehe: *C. L. A. Schmidt*, *The Chemistry of Aminoacids and Proteins* S. 147 (1938).

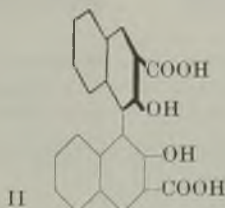
<sup>4)</sup> *A. Tiselius*, *Koll. Z.* **105**, 101, 105 (1943).

<sup>5)</sup> Siehe z. B. *Th. Wieland*, *B.* **75**, 1001 (1942).

Sichtbaren links drehenden Antipoden der 1,1'-Dinaphtyl-2,2'-dioxy-3,3'-dicarbonsäure neutralisiert. Diese Säure bildet mit dem seltenen Antipoden, also mit dem *d*(-)Leucin-methylester ein schwer lösliches krystallisiertes Salz, während das Salz dieser Säure mit dem Ester des natürlichen *l*(+)Leucins praktisch genommen unendlich löslich ist. Die Genauigkeit des Nachweises kann noch dadurch verschärft werden, dass die Hauptmenge des *l*(+)Leucinesters vor dem Zusatz der Dioxy-dinaphtyl-dicarbonsäure als Pikrat oder Oxalat entfernt wird. Der Nachweis des seltenen Antipoden beruht also darauf, dass die Löslichkeitseigenschaften der diastereomeren Salze

*l*(+)Leucinester — linksdrehende Säure; Abkürzung: [*l*(+)L; (-)D]; und  
*d*(-)Leucinester — linksdrehende Säure; Abkürzung: [*d*(-)L; (-)D]

extrem verschieden sind.



Anstatt der Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure (Formel II) könnte grundsätzlich jede andere optisch aktive Säure verwendet werden, wenn sie nur mit den beiden Antipoden des Leucinesters diastereomere Salze von genügend verschiedener Löslichkeit liefert. Tatsächlich haben wir ausser der Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure auch die Salzbildung weiterer aktiver Säuren mit Leucinester untersucht. Über die Ergebnisse wird in einer andern Arbeit berichtet werden. Die Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure war diejenige Verbindung, bei welcher die mit den Leucinestern gebildeten beiden diastereomeren Salze am ausgeprägtesten unterschieden waren. Die Unterschiede scheinen grösser zu sein als bei irgendeinem andern bisher in der Literatur beschriebenen Paar von diastereomeren Verbindungen. Da die Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure für unseren Nachweis eine entscheidende Rolle spielt, sei über die Eigenschaften ihrer Verbindungen mit *d*(-)- und *l*(+)-Leucinmethylester das Wichtigste zusammengestellt.

#### 4. Die diastereomeren Salze von 1,1'-Dinaphtyl-2,2'-dioxy-3,3'-dicarbonsäure mit *d*- und *l*-Leucin-methylester.

##### a. Das Salz *l*(+)-Leucin-methylester mit (+)-Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure.

Abkürzung: [*l*(+)L; (+)D].

Dieses Salz fällt als blassgelbes Pulver krystallin aus, wenn die Komponenten (*l*(+)-Leucin und (+)-Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure) in methylalkoholischer Lösung zusammengegeben werden. Entsprechendes gilt für das Spiegelbild dieses Salzes, das [*d*(-)L; (-)D]. Das Aussehen der Krystalle ist aus den Mikrophotographien 1 und 2 ersichtlich. Smp. 217,5—218° C korr.

Elementaranalyse von [*l*(+)L; (+)D]; Krystalle Fig. 1; Bruttoformel: C<sub>36</sub>H<sub>44</sub>O<sub>10</sub>N<sub>2</sub>; entsprechend einer Zusammensetzung des neutralen Salzes aus 1 Mol 1,1'-Dinaphtyl-2,2'-dioxy-3,3'-dicarbonsäure und 2 Mol Leucin-methylester<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Die Analysen wurden im organ. analyt. Laboratorium der E. T. H. ausgeführt.

	$C_{26}H_{44}O_{10}N_2$	Ber. C 65,04	H 6,67%
		Gef. „ 64,99	„ 6,66%
Elementaranalyse von	$[d(-)L; (-)D]$ ; Krystalle	Fig. 2;	
	$C_{36}H_{44}O_{10}N_2$	Ber. C 65,04	H 6,67%
		Gef. „ 65,04	„ 6,68%

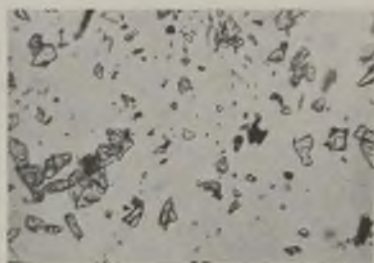


Fig. 1.

Salz von *l*(+)-Leucin-methylester mit (+)-Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure. Smp. 218° C. Vergrößerung 360 mal.

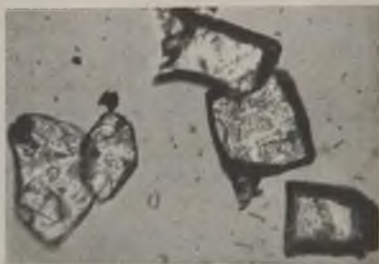


Fig. 2.

Salz von *d*(-)-Leucin-methylester mit (-)-Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure. Smp. 218° C. Vergrößerung 360 mal.

Die Zusammensetzung des Salzes wurde auch durch das Ergebnis einer Stickstoffbestimmung (nach *Kjeldahl*) bestätigt.

Spezifische Drehung in  $CH_3OH$ :

$$l(+)\text{L}; (+)\text{D}]: [\alpha]_D^{18} = +113,33^\circ \text{ in } 0,474\text{-proz. Lösung}$$

$$d(-)\text{L}; (-)\text{D}]: [\alpha]_D^{18} = -113,56^\circ \text{ in } 0,411\text{-proz. Lösung}$$

Der Mittelwert dieser beiden spez. Drehungen ist:  $[\alpha]_D^{18} = 113,45^\circ$ . Dem entspricht eine molekulare Drehung für  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  von  $[M]_D^{18} = 754,3^\circ$ .

Dabei betragen die molekularen Drehungen in Methylalkohol vom Natriumsalz der  $[+\text{D}]: [M]_D^{18} = 671^\circ$  und vom sauren Oxalat des  $[l(+)\text{L}]: [M]_D^{18} = 51,76^\circ$ ; die Summe der Drehungen von einer Molekel  $[+\text{D}]$ -Salz und 2 Molekeln  $[l(+)\text{L}]$ -Salz wäre also zusammen  $[M]_{\text{Komponenten des Salzes}} = 774,52^\circ$ .

Der Vergleich der Zahlen 754,3 und 774,5 zeigt, dass die molekulare Drehung von  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  mit ziemlich guter Näherung additiv zusammengesetzt ist aus der Drehung des aktiven Säureions und der des aktiven Basenions.

Wir können vorwegnehmen, dass eine ähnliche Superposition der Drehungen auch für das Salz  $[l(+)\text{L}; (-)\text{D}]$  festzustellen ist. Die beobachtete molekulare Drehung ist hier gleich  $-570,0^\circ$ , während sich additiv aus den angegebenen Werten für das Natriumsalz der Säure und das saure Oxalat der Base ein Wert  $-567,5^\circ$  berechnen würde.

Die Löslichkeit des Salzes  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  in Methylalkohol beträgt bei 28,5° C  $0,44 \pm 0,4$  g Salz in 100 g  $CH_3OH$ .

### b. Das Salz von *l*(+)-Leucin-methylester mit (-)-Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure.

Abkürzung  $[l(+)\text{L}; (-)\text{D}]$ .

Es fällt amorph aus, wenn die Komponenten in ätherischer Lösung zusammengegeben werden. Ebenso wird es erhalten durch Zusammengeben der Komponenten in methylalkoholischer Lösung und Abdunsten des Lösungsmittels. Mit Methylalkohol ist die Substanz in jedem Verhältnis mischbar; es tritt Auflösung ein, sobald der Methylalkohol ausreicht, um alle Substanz zu benetzen. In krystalliner Form konnte das Salz bisher nicht erhalten werden.



Genau entsprechend verhält sich das zu  $[l(+)\text{L}; (-)\text{D}]$  spiegelbildliche Salz  $[d(-)\text{L}; (+)\text{D}]$ . Smp. unscharf 170—174° C korr.

Elementaranalyse von  $[l(+)\text{L}; (-)\text{D}]$ ; amorphes Pulver, Bruttoformel  $\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{O}_{10}\text{N}_2$ , entsprechend einer Zusammensetzung des neutralen Salzes aus 1 Mol 1,1'-Dinaphthyl-2,2'-dioxy-3,3'-dicarbonsäure und 2 Mol Leucin-methylester.

$\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{O}_{10}\text{N}_2$  Ber. C 65,04 H 6,67%  
Gef. „ 64,89 „ 6,55%

Spez. Drehung in  $\text{CH}_3\text{OH}$  von  $[l(+)\text{L}; (-)\text{D}]$ :  $(\alpha)_D^{17} = -85,8^\circ$  in 0,711-proz. Lösung. Die daraus folgende molekulare Drehung, sowie die Gültigkeit der Superposition siehe oben.

Löslichkeitsverhältnisse: Das Salz ist sehr gut löslich in  $\text{CH}_3\text{OH}$ , praktisch genommen unlöslich dagegen in Äther.

### c. Halbracemische Salze von Leucin-methylester und Dinaphthyl-dioxy-dicarbonsäure.

$\alpha$ ) Racemischer Leucin-methylester und aktive Säure. Beim Zusammengeben von racemischem Leucin-methylester und  $[(+)\text{D}]$  in Methylalkohol fällt sofort das schwerlösliche  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  aus, während das leichtlösliche Diastereomere  $[d(-)\text{L}; (+)\text{D}]$  in Lösung bleibt. Es tritt also Racemattrennung ein. Sie kann für die präparative Durchführung der Spaltung von racemischem Leucin-methylester benützt werden.

Gibt man die gleichen Substanzen in einem Lösungsmittel wie Äther zusammen, in welchem die beiden diastereomeren Salze unlöslich sind, so erhält man ein Gemenge von kristallinischem  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  und amorphem  $[d(-)\text{L}; (+)\text{D}]$ . Entsprechendes gilt beim Zusammengeben von racemischem Leucin-methylester mit  $[(-)\text{D}]$ .

$\beta$ ) Aktiver Leucin-methylester und racemische Dinaphthyl-dioxy-dicarbonsäure. Beim Zusammengeben von  $[l(+)\text{L}]$  mit racemischer Säure fällt aus Methylalkohol das schwerlösliche  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  aus, während das leichtlösliche Diastereomere  $[l(+)\text{L}; (-)\text{D}]$  in Lösung bleibt. Auch hier tritt also Racemattrennung ein; sie ist für die präparative Reindarstellung von  $[(+)\text{D}]$  und  $[(-)\text{D}]$  benützt worden. Aus Äther fällt analog wie unter a) beschrieben, ein Gemisch von kristallinem  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  und amorphem  $[l(+)\text{L}; (-)\text{D}]$  aus. Sinngemäss Entsprechendes gilt beim Zusammengeben von racemischem Leucinester mit  $[(-)\text{D}]$ .

Es ergibt sich hieraus, dass halbracemische Salze wie etwa  $[d,\text{L}; (+)\text{D}]$  von Zimmertemperatur an bis 0° C nicht existieren.

### d. Total-racemische Salze von Leucin-methylester und Dinaphthyl-dioxy-dicarbonsäure.

Beim Zusammengeben von racemischem Leucin-methylester mit racemischer Dinaphthyl-dioxy-dicarbonsäure in methylalkoholischer Lösung wurden, infolge starker Krystallisationsverzögerungen, verschiedene Ergebnisse erhalten:

$\alpha$ ) Amorphes Racemat: In den meisten Fällen tritt eine Ausscheidung kristallisierter Salze nicht ein. Beim Abdunsten des Lösungsmittels wird das Totalracemat als braungelber amorpher Körper erhalten; Schmelzpunkt: allmähliches Sintern und Schmelzen zwischen 99 und 157° C. Als amorphe Fällung wird das Totalracemat auch beim Zusammengeben der Komponenten in ätherischer Lösung erhalten.

$\beta$ ) Krystallinische Ausscheidungen aus dem Totalracemat. Bei längerem Stehen scheiden sich aus der methylalkoholischen Lösung des Totalracemates hellgelbe Krystalle aus. Eine solche Ausscheidung ist zu erwarten, weil in der Lösung des Totalracemates die Voraussetzungen für die Ausscheidung der schwerlöslichen, gutkrystallisierenden Verbindungen  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  und  $[d(-)\text{L}; (-)\text{D}]$  gegeben sind. Ausser einem Konglomerat dieser beiden Verbindungen könnte auch die Ausscheidung von wahren Racematkrystallen in Frage kommen, nämlich dann, wenn die Löslichkeit des Racemates ausserordentlich klein, viel kleiner als die Löslichkeit der eben genannten diastereomeren Salze sein sollte.

Die erwähnten, aus der totalracemischen Lösung erhaltenen Krystalle geben bei der Schmelzpunktsbestimmung folgendes Bild: 1. Das Krystallgemisch schmilzt unscharf bei etwa 190° C. Ein künstlich durch Zusammenreiben hergestelltes Gemisch aus  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  und  $[d(-)\text{L}; (-)\text{D}]$  ergibt dasselbe. 2. Bestimmt man den Schmelzpunkt unter dem Schmelzpunktsmikroskop, so zeigt sich, dass einzelne isoliert liegende Krystalle bei etwa 215—217° schmelzen. Es folgt daraus<sup>1)</sup> mit grosser Wahrscheinlichkeit, dass die aus der totalracemischen Lösung erhaltenen Krystalle tatsächlich ein Gemisch aus den zueinander spiegelbildlichen Verbindungen  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  und  $[d(-)\text{L}; (-)\text{D}]$  sind. Totalracemische Krystalle existieren also nicht; würden solche vorliegen, so müsste sich das Schmelzen eines einzelnen Krystallindividuums vom Schmelzen mehrerer nebeneinanderliegender Individuen, also vom Schmelzen des Krystallgemisches nicht unterscheiden.

Löslichkeit des Totalracemates in Methylalkohol. Beim Totalracemat tritt nicht nur wie erwähnt die Ausscheidung von Krystallen schwer und mit Verzögerungen auf, sondern es ist auch nach eingetretener Keimbildung die Krystallisationsgeschwindigkeit und damit die Geschwindigkeit der Einstellung des Lösungsgleichgewichtes klein. Über die Löslichkeit des Totalracemates sind daher nur orientierende Angaben möglich, wobei wir versucht haben, das Lösungsgleichgewicht von beiden Seiten her zu bestimmen.

Es wurde in einem Falle racemischer Leucin-methylester mit in Methylalkohol gelöster racemischer Dinaphthyl-dioxy-dicarbonensäure zusammengegeben. In diesem Falle mussten sich die Krystalle (Gemisch von  $[d(-)\text{L}; (-)\text{D}]$  und  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$ ) in der Lösung erst bilden; hier wird das Lösungsgleichgewicht von der Seite einer übersättigten Lösung her eingestellt. Der Gehalt der Lösung betrug nach einer Dauer von 50 Tagen bei 21° C etwa 6,1 g auf 100 g Methylalkohol.

Im zweiten Falle wurden je 0,1 g krystallisiertes  $[d(-)\text{L}; (-)\text{D}]$  und  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$ , je vom Smp. 218° C miteinander gemischt, mit 6 cm<sup>3</sup> Methylalkohol übergossen und stehen gelassen. Hier betrug der Gehalt der Lösung nach einer Dauer von 50 Tagen bei 21° C etwa 2,2 g auf 100 g Methylalkohol. Es folgt daraus, dass das Gleichgewicht in keinem der beiden Fälle ganz hergestellt war und dass die wahre Löslichkeit bei 21° C zwischen 2,2 und 6,1 g auf 100 g Methylalkohol liegen muss.

Da nach weiter oben gemachten Angaben die Löslichkeit von  $[d(-)\text{L}; (-)\text{D}]$  für sich und die von  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  für sich bei 28,5° C nur 0,44 g auf 100 g Methylalkohol beträgt, ist es zunächst erstaunlich, dass bei gleichzeitiger Gegenwart dieser beiden Salze eine Löslichkeit herauskommt, welche sicher grösser als 2,2 und damit grösser als 0,88 (Summe der beiden Einzellösungen) ist. Man versteht aber die grössere Löslichkeit des Totalracemates, wenn man sich vergegenwärtigt, dass auf 100 g Methylalkohol, welcher mit beiden genannten Krystallsorten als Bodenkörper in Berührung steht, nicht nur

$$0,44 \text{ g } \left[ \begin{array}{l} d(-)\text{L} \\ d(-)\text{L} - \text{D} \end{array} \right] \text{ und } 0,44 \text{ g } \left[ \begin{array}{l} l(+)\text{L} \\ l(+)\text{L} + \text{D} \end{array} \right]$$

enthalten sein wird, sondern dass sich durch Umsetzung dieser Salze mit  $[l(+)\text{L}]$  bzw.  $[d(-)\text{L}]$  in Lösung gemischte Salz-molekeln bilden müssen, welche als Bodenkörper nicht vorkommen, trotzdem aber zum Trockengehalt der Lösung beitragen. Falls die Affinitätskonstanten, was ungefähr zutreffen dürfte, bei der Bildung dieser gemischten Salz-molekeln in Lösung alle gleich gross sind, haben wir neben den bereits erwähnten Molekel-sorten in Lösung zu erwarten

$$0,44 \text{ g } \left[ \begin{array}{l} l(+)\text{L} \\ l(+)\text{L} - \text{D} \end{array} \right]; 0,44 \text{ g } \left[ \begin{array}{l} d(-)\text{L} \\ d(-)\text{L} + \text{D} \end{array} \right]; 0,88 \text{ g } \left[ \begin{array}{l} d(-)\text{L} - \text{D} \\ l(+)\text{L} \end{array} \right]; \\ (2 \times 0,44 \text{ g aus statistischen Gründen}); 0,88 \text{ g } \left[ \begin{array}{l} d(-)\text{L} \\ l(+)\text{L} + \text{D} \end{array} \right];$$

also insgesamt  $8 \times 0,44 = 3,5$  g Salz auf 100 g Methylalkohol. Das ist eine Zahl, welche jedenfalls zwischen den beiden experimentell bestimmten Grenzen von 2,2 und 6,1 g liegt.

<sup>1)</sup> Der Schmelzpunkt von  $[l(+)\text{L}; (+)\text{D}]$  und von  $[d(-)\text{L}; (-)\text{D}]$  liegt bei 217,5° C.

Auf Grund dieser Überlegung ist auch die unten zu erwähnende Feststellung zu verstehen, dass die Löslichkeit von  $[d(-)L; (-)D]$  in einer methylalkoholischen Lösung, welche einen grossen Überschuss von dem leicht löslichen  $[l(+ )L; (-)D]$  enthält, grösser ist als in reinem Methylalkohol.

Es sei weiter erwähnt, dass sowohl von racemischem Leucin-methylester als auch von racemischer Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure das Molekulargewicht durch Bestimmung der Siedepunktserhöhung in Methylalkohol bestimmt wurde. Dabei zeigte sich, dass beide Stoffe monomolekular gelöst werden, d. h. dass die racemische Lösung ein äquimolekulares Gemisch monomer gelöster Antipoden ist. Auf Grund dieses Befundes ist es wahrscheinlich, dass auch die Lösung des Salzes in allen Fällen monomere Salzmolekeln enthält und dass damit die vorhin gegebene Deutung der Löslichkeit des Totalracemates qualitativ und quantitativ richtig ist.

Da in unsern Versuchen immer nur die Fälle a, b und c verwirklicht sind, sind die Eigenschaften des Totalracemates, obwohl an sich interessant, für das Nachfolgende ohne besondere Bedeutung. Insbesondere folgt aus den unter a, b und c gemachten Angaben für die praktische Feststellung von kleinen Mengen an  $d(-)$ -Leucin neben  $l(+)$ -Leucin: Wenn wir den Leucinester in methylalkoholischer Lösung mit  $[(-)D]$  versetzen, so ist das einzige Salz, das sich aus der Lösung in krystallinischer Form ausscheiden kann, das schwerlösliche  $[d(-)L; (-)D]$ . Die Grenze des Nachweises ist gegeben durch die allerdings geringe Löslichkeit von  $[d(-)L; (-)D]$ , wobei zu bemerken ist, dass die Löslichkeit dieses Salzes in sehr konzentrierten und sehr hochviskosen methylalkoholischen Lösungen von überschüssigem  $[l(+ )L; (-)D]$  etwas grösser als in reinem Methylalkohol ist.

e) Nachweis kleiner Mengen von  $d(-)$ -Leucin-methylester in fast reinem  $l(+)$ -Leucin-methylester mit Hilfe von Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure.

Die Möglichkeit und Empfindlichkeit dieses Nachweises wird durch die nachstehenden beiden Versuche deutlich gemacht.

1. 2,3230 g des Salzes  $[l(+ )L; (-)D]$  und 0,0210 g des Salzes  $[d(-)L; (-)D]$  werden in 4 g  $CH_3OH$  durch leichtes Erwärmen völlig gelöst. Das in Lösung vorhandene Leucin ist dann zu 99,10% die Form  $[l(+ )L]$ , zu 0,89% die Form  $[d(-)L]$ . Die Lösung wird darauf vorsichtig im Vakuum eingedampft bis zu einem Gewicht von 4,58 g. In diesem Zustande besteht die Lösung aus 2,34 g Salz und 2,24 g Methylalkohol; Salzgehalt demnach 51%. Die Lösung wird während einiger Tage bei 0° C stehen gelassen, wobei sich ein fester Bodenkörper ausscheidet; die überstehende Mutterlauge wird dekantiert, der Bodenkörper wiederum in etwa 10 cm<sup>3</sup> Methylalkohol gelöst. Die so gewonnene Lösung wird wiederum durch Abdunsten des Methylalkohols auf etwa 1 g Gesamtgewicht eingengt und sodann während zwei Tagen bei 0° C stehen gelassen. Der entstandene Bodenkörper wird abfiltriert, mit kaltem Methylalkohol gewaschen und bei 80° C getrocknet. Man erhält 0,028 g Salz vom Smp. 203° (anstatt 217,5—218°). Durch nochmaliges Umkrystallisieren aus Methylalkohol erhält man 0,010 g eines Salzes vom Smp. 217,5—218° korr., welches sich durch Mischschmelzpunkt als reines  $[d(-)L; (-)D]$  identifizieren lässt.

Wie der nachstehende 2. Versuch zeigt, ist es für die Durchführung des Nachweises nicht unbedingt nötig, den gesamten auf Gehalt an  $[d(-)L]$  zu prüfenden Leucin-methylester mit  $[(-)D]$  zu neutralisieren.

2. Zu einem Gemisch von

1,1046 g [*l*(+)*L*] und 0,0145 g [*d*(-)*L*]

entsprechend 98,71% [*l*(+)*L*] und 1,29% [*d*(-)*L*] werden 0,516 g [(-)*D*], sowie 1,5 cm<sup>3</sup> CH<sub>3</sub>OH zugesetzt. (Zur vollständigen Neutralisierung des vorhandenen Leucin-methylesters wären 1,45 g [(-)*D*] notwendig.) Aus dem Gemisch von Estersalz und freiem Ester krystallisieren wir bei 18° C 0,020 g Salz vom Smp. 211—213° korr. aus. Aus 0,0145 g [*d*(-)*L*] hätten sich 0,033 g [*d*(-)*L*; (-)*D*] bilden können. Das noch unreine Salz wurde durch Umkrystallisieren aus CH<sub>3</sub>OH gereinigt; es wurde dabei 0,004 g reines [*d*(-)*L*; (-)*D*] vom Smp. 217—218° C erhalten.

Beide Versuche zeigen, dass wir in Leucin-methylester, welcher zu 99% aus [*l*(-)*L*] und zu 1% aus [*d*(-)*L*] besteht, den seltenen Antipoden durch (-)-Dioxy-dinaphtyl-dicarbonsäure mit völliger Sicherheit in Substanz als [*d*(-)*L*; (-)*D*] vom Schmelzpunkt 217,5° nachweisen können.

Die Grenze des unmittelbaren Nachweises liegt vermutlich bei etwa 0,8% des seltenen Antipoden. Sie könnte durch vorherige Eliminierung der Hauptmenge des normalen Antipoden um 1 oder 2 Zehnerpotenzen weiter getrieben werden. Nur wäre es dann erforderlich, dass gleichzeitig damit der Nachweis geführt wird, dass die Operationen, welche zur Darstellung und Isolierung des Leucin-methylesters angewendet werden, innerhalb derselben Fehlergrenzen keine Racemisierung bewirken.

f) Verhalten der Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure gegenüber anderen optisch aktiven Aminosäure-estern.

Da sich nach dem Vorstehenden und dem weiter Mitzuteilenden die (-)-Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure ausgezeichnet für den Nachweis des seltenen Antipoden von Leucin eignet, haben wir einige orientierende Versuche unternommen, um abzuklären, ob dieselbe Substanz sich auch für den Nachweis der seltenen Antipoden bei andern Aminosäuren bzw. deren Methylestern eignen würde. Dies ist merkwürdigerweise, soweit unsere bisherigen Feststellungen reichen, nicht der Fall.

Salze mit *l*(+)Glutaminsäure-dimethylester. Hergestellt wurden die neutralen Salze des Dimethylesters der *l*(+)Glutaminsäure (Sdp. 102,5—103° bei 2 mm Hg;  $\alpha_D^{16} = 11,19^\circ$  (*l* = 1 dm)) sowohl mit [(+)*D*] als auch mit [(-)*D*]. Sowohl in Methylalkohol als auch in Aceton als Lösungsmittel konnten diese Salze, selbst nach stärkstem Eindampfen, niemals krystallisiert erhalten werden.

Salze mit *l*(+)Alanin-methylester. Hergestellt wurden die neutralen Salze von *l*(+)Alanin-methylester {Abkürzung: [*l*(+)*A*]; Sdp. 38° C bei 14 mm Hg;  $\alpha_D^{20} = +1,70^\circ$  (*l* = 1 dm)} mit [(+)*D*], [(-)*D*] und [(±)*D*].

Das neutrale Salz [*l*(+)*A*, rac *D*] krystallisiert beim Zusammengeben der Komponenten in Methylalkohol aus. Der Schmelzpunkt der Krystalle liegt bei 120° C unkorrr.; die durch Zersetzung des Salzes erhaltene Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure erweist sich als racemisch; die entstandenen Krystalle sind also ein Halbracemat, gebildet aus *l*(+)*A*Alanin-methylester und racemischer Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure.

Bei Bildung der Salze  $[l(+)\text{A}; (+)\text{D}]$  und  $[l(+)\text{A}; (-)\text{D}]$  durch Zusammengeben der Komponenten in methylalkoholischer Lösung konnte keinerlei Krystallisation beobachtet werden.

Salze mit  $l(-)$ Prolin-methylester. Hergestellt wurden die sauren und neutralen Salze von  $l(-)$ Prolin-methylester [Sdp.  $43^{\circ}\text{C}$  bei 3 mm Hg;  $\alpha_{\text{D}}^{20} = -28,15^{\circ}$  ( $l = 1$  dm)] mit  $[+\text{D}]$ ,  $[-\text{D}]$  und  $[+\text{D}]$ . Es konnten aus methylalkoholischer Lösung bei allen diesen Komponenten, auch bei Konzentrierung bis zur völligen Entfernung des Lösungsmittels niemals krystallisierte Verbindungen erhalten werden.

Es ergibt sich daraus, dass die Bildung einer gut krystallisierenden schwer löslichen Verbindung von  $[-\text{D}]$  mit  $d(-)$ -Leucin-methylester eine weitgehend spezifische Reaktion ist.

### 5. Gang des Versuchs.

Als ersten natürlichen Eiweisstoff, in welchem eine Prüfung des darin vorhandenen Leucins auf  $d(-)$ -Leucin durchgeführt wurde, wählten wir Rosshaar. Dies geschah in der Überlegung, dass es sich hier gewissermassen um ein Abfallprodukt des Organismus handelt, mit dessen Hilfe gegebenenfalls die unerwünschten Antipoden aus dem Organismus entfernt werden.

Die beim Versuch eingehaltenen Bedingungen werden nachstehend genau angegeben, da auch die Kontrollversuche nur bei genauer Einhaltung der selben Bedingungen einen Sinn haben.

Zur Freisetzung der Aminosäuren werden 300 g gereinigtes und bei  $100^{\circ}$  getrocknetes Schweifhaar des Pferdes mit 900 g konz. HCl ( $d = 1,19$ ) versetzt und während  $1\frac{1}{2}$  Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Dabei tritt vollständige Auflösung ein. Die Lösung wird darauf während 6 Stunden auf dem *Babo*-Blech im Luftbad bei  $100$ — $110^{\circ}\text{C}$  vorsichtig am Rückfluss gekocht.

Kontrollversuche durch Formoltitration<sup>1)</sup> zeigen, dass hierbei eine völlige Hydrolyse eintritt, indem der freie Aminostickstoff einen bei weiterer Behandlung unveränderlich festen Grenzwert erreicht. Nach der selben Methode wurde auch festgestellt, dass die Hydrolyse während 25 Stunden bei  $90^{\circ}\text{C}$ , während 23 Stunden bei  $108^{\circ}\text{C}$  und während 6 oder 10 Stunden bei  $113^{\circ}\text{C}$  je zum selben Ergebnis führt.

Es wird darauf unter vermindertem Druck bei einer Badtemperatur von  $40$ — $50^{\circ}\text{C}$  das Wasser-Salzsäuregemisch abdestilliert; der Rückstand wird mit 1 Liter  $\text{CH}_3\text{OH}$  übergossen, worauf getrocknetes Salzsäuregas bis zur Sättigung eingeleitet wird; anschliessend wird zur völligen Lösung  $\frac{1}{2}$  Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. Der Alkohol wird wiederum bei  $35^{\circ}\text{C}$  unter vermindertem Druck abdestilliert. Die Operation wird noch zweimal wiederholt.

Anschliessend werden die entstandenen Aminosäure-methylester mit NaOH bzw. mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in Freiheit gesetzt und in Äther aufgenommen. Zu diesem Zwecke wird das erhaltene Gemisch von Hydrochloriden der Aminosäure-ester in drei Teile geteilt; jeder Teil wird zu etwa  $\frac{1}{3}$  seines Volumens mit Wasser versetzt und die Lösung mit dem Doppelten ihres Volumens an Äther überschichtet. Unter energischer Kühlung ( $0^{\circ}\text{C}$  in der wässrigen Lösung der Esterhydrochloride) und unter kräftigem Schütteln wird 33-proz. NaOH-Lösung in kleinen Portionen so lange zugegeben, bis die überschüssig vorhandene Salzsäure neutralisiert ist. Zur so neutralisierten Lösung wird, weiterhin unter Kühlung und in kleinen Portionen,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  zugegeben. Die im Kolben vorhandenen Salze erstarren dabei zu einer krümeligen Masse, welche gründlich mit Äther ausgeschüttelt wird. Die

<sup>1)</sup> J. H. Northrop, J. gen. Physiol. 9, 767 (1926).

ätherische Lösung wird mit  $K_2CO_3$  getrocknet; von diesem wird abfiltriert und die Lösung anschliessend über wasserfreiem  $Na_2SO_4$  aufgehoben.

Die im Kolben verbliebene Masse von Kalium- und Natriumchlorid und -carbonat umhüllt noch einen Teil der entstandenen Aminosäure-ester. Eine Gewinnung derselben wäre durch Versetzen des Rückstandes mit Säuren und Laugen und wiederholtes Ausäthern möglich, allerdings unter Gefahr der Racemisierung. Wir haben auf die Gewinnung verzichtet, da es auf eine Bestimmung des Verhältnisses von  $d(-)$  und  $l(+)$  Leucin und nicht auf eine Erfassung des gesamten Leucins ankommt.

Der Äther wird aus der ätherischen Lösung durch vorsichtiges Abdestillieren auf einem Wasserbad entfernt und das verbleibende Estergemisch einer Rohdestillation im Vakuum mittels einer ausschliesslich aus Glas bestehenden Apparatur unterworfen. Die unter verschiedenen Bedingungen übergehenden Ester werden durch Kühlen mit flüssiger Luft aufgefangen.

Eine erste Fraktion, die bei einem Druck von 12 mm unterhalb  $25^\circ C$  übergeht, kann praktisch genommen keinen Leucinester enthalten; sie wird verworfen. Ebenso wird eine zweite Fraktion von etwa 13 g, die bei 12 mm Druck zwischen  $25$  und  $60^\circ$  übergeht, nicht weiter untersucht. Sie dürfte im wesentlichen die Ester von Glykokoll und Alanin enthalten.

Der Siedepunkt von Alanin-methylester bei einem Druck von 14 mm Hg wird beispielsweise zu  $38^\circ C$ , der von Leucin-methylester bei 12 mm Hg zu  $80^\circ C$  angegeben.

Weitere Fraktionen der Rohdestillation werden erhalten, indem der Druck auf 0,5 mm erniedrigt und die Temperatur gleichzeitig gesenkt wird. Man erhält als dritte Fraktion etwa 30 g, die bei 0,5 mm zwischen  $35-40^\circ C$  übergehen und als vierte Fraktion etwa 8,4 g, welche zwischen  $40$  und  $100^\circ C$  übergehen. Diese beiden Fraktionen (die dritte und vierte) werden vereinigt und einer sorgfältigen fraktionierten Destillation unterworfen. Die Fraktionierung erfolgt in der Weise, dass bei konstant gehaltener Temperatur von  $30^\circ C$  zunächst der Druck allmählich auf 3 mm Hg erniedrigt wird und dass der Rest bei konstantem Druck von 3 mm Hg durch sukzessive Steigerung der Temperatur überdestilliert wird.

Die Apparatur ist eine Kolonne von 140 cm Länge und kreisringförmigem Querschnitt, wie sie von *W. Kuhn* und *K. Ryffel* (l. c.) vor einiger Zeit beschrieben wurde. Weitere Einzelheiten siehe in einer späteren Arbeit. Ausgehend von 50 g Rohdestillat wurden beispielsweise folgende Fraktionen erhalten<sup>1)</sup>:

1. 17 g bei  $30^\circ$ , Druck abnehmend von 50 auf 10 mm Hg;  $n_D^{27^\circ} = 1,3829$
2. 2 g bei  $30^\circ$ , Druck abnehmend von 10 auf 6 mm Hg
3. 0,4 g bei  $30-43^\circ$ , Druck abnehmend auf 3 mm Hg
4. 2,4 g bei  $43-45^\circ$ , Druck konstant auf 3 mm Hg
5. 3,2 g bei  $45-46^\circ$ , Druck konstant auf 3 mm Hg
6. 5 g bei  $46-47^\circ$ , Druck konstant auf 3 mm Hg
7. 3 g bei  $47^\circ$ , Druck konstant auf 3 mm Hg

Die physikalischen Konstanten der 4.—7. Fraktion waren:

- |             |                           |  |
|-------------|---------------------------|--|
| 4. Fraktion | $n_D^{27^\circ} = 1,4152$ | $\alpha_D^{27^\circ} = +20,98^\circ$ ( $l = 1$ dm)                           |
| 5. Fraktion | $\rho_{27^\circ} = 0,983$ | $n_D^{27^\circ} = 1,4291$ $\alpha_D^{27^\circ} = +16,07^\circ$ ( $l = 1$ dm) |
| 6. Fraktion | $\rho_{27^\circ} = 0,957$ | $n_D^{27^\circ} = 1,4261$ $\alpha_D^{27^\circ} = +13,07^\circ$ ( $l = 1$ dm) |
| 7. Fraktion | $\rho_{27^\circ} = 0,931$ | $n_D^{27^\circ} = 1,4176$ $\alpha_D^{27^\circ} = +16,21^\circ$ ( $l = 1$ dm) |

Zum Vergleich seien die physikalischen Konstanten für reinen Leucin-methylester angegeben:

$$\text{Sdp.}_{3 \text{ mm}} = 47^\circ C; n_D^{27^\circ} = 1,4271; \alpha_D^{27^\circ} = +14,10^\circ; \rho_{27^\circ} = 0,942.$$

<sup>1)</sup> Mit gleich gutem Trennungsergebnis kann auch die Rohdestillation unterlassen und die Feindestillation mit dem nach Abdunsten des Äthers verbleibenden Estergemisch unmittelbar vorgenommen werden.

Der Vergleich mit den an den Fraktionen der Feindestillation beobachteten Daten zeigt, dass der im Rosshaar vorhandene Leucin-methylester in den Fraktionen 5, 6 und 7 enthalten ist und dass insbesondere die 6. Fraktion aus praktisch reinem Leucin-methylester besteht.

Als Verunreinigung kommt insbesondere der Prolin-methylester in Frage, welcher unter 3 mm Hg bei 43° C siedet, also gegenüber dem Leucin-methylester nur 4° Siedepunktsdifferenz aufweist. Durch den Versuch, sowie theoretisch aus den bei der Destillation angewandten Bedingungen wurde gezeigt, dass die Trennung von Prolin-methylester und Leucin bei unsern Versuchsbedingungen praktisch vollständig war. Die beim Vergleich interessierenden weiteren Daten für *l*-Prolin-methylester sind  $n_D^{21} = 1,45197$ ;  $\alpha_D^{21} = -27,06^\circ$  ( $l = 10$  cm);  $\rho^{21} = 1,076$ ;  $[\alpha]_D^{21} = -25,2^\circ$ .

Zur Prüfung der gewonnenen, das Leucin enthaltenden Esterfraktionen auf einen Gehalt an *d*(-)-Leucin wurden beispielsweise 0,8060 g Leucinester sowie 1,0410 g der linksdrehenden Dioxy-dinaphtyl-dicarbonsäure in 4,14 cm<sup>3</sup> Methylalkohol gelöst und einige Tage bei 0° C stehen gelassen. Bei Anwesenheit von *d*-Leucin krystallisiert das schwerlösliche [*d*(-)-L; (-)-D] aus; es kann gewogen, nötigenfalls umkrystallisiert und durch den Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt identifiziert werden.

### 6. Ergebnisse mit Eiweisstoffen verschiedener Herkunft.

a) Rosshaar I. Eine erste Probe von Rosshaar (Schweifhaar eines alten, nicht näher gekennzeichneten Pferdes) wurde in vorstehend beschriebener Weise hydrolysiert und auf Leucin-methylester verarbeitet. Die durch Rohdestillation und anschließende Feindestillation des Estergemisches gewonnene, aus praktisch reinem Leucinester bestehende Fraktion hatte:

$$n_D^{27} = 1,4227, \alpha_D^{27} = +16,70^\circ \quad (l = 1 \text{ dm})$$

Nach Vermischung von 0,775 g dieses Esters mit 1,00 g (-)-Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure und 4 cm<sup>3</sup> Methylalkohol schieden sich 0,042 g zunächst unreines [*d*(-)-L; (-)-D] vom Smp. 210° korr. (anstatt 217,5—218°) aus. Durch einmaliges Umkrystallisieren aus wenig Methylalkohol steigt der Schmelzpunkt auf 217,5—218°. Ein Mischschmelzpunkt bestätigt das Vorliegen von reinem [*d*(-)-L; (-)-D]. Diese Identifizierung der Krystalle wurde auch durch Beobachtung des Verhaltens im Polarisationsmikroskop sowie durch Messung des Drehungsvermögens in Methylalkohol bestätigt.

Das Auftreten des nicht natürlichen Antipoden *d*(-)-Leucin in dieser Rosshaarprobe ist damit eindeutig festgestellt, und zwar beträgt der relative Gehalt an *d*(-)-Leucin neben dem natürlichen *l*(+)-Leucin mindestens  $100 \times \frac{0,042}{1,775} = 2,4\%$ , indem ja auf 1,775 g Salz 0,042 g [*d*(-)-L; (-)-D] isoliert wurden. Auf Grund von Versuchen über die Löslichkeit von [*d*(-)-L; (-)-D] ist anzunehmen, dass in der Lösung, welche 4 cm<sup>3</sup> CH<sub>3</sub>OH enthält, weitere 0,016 g des Salzes gelöst bleiben; der Gesamtgehalt von 1,775 g Estersalz an [*d*(-)-L; (-)-D] würde demgemäss gleich 0,042 + 0,016 g = 0,058 g sein. D. h. der Gehalt an *d*(-)-Leucin neben dem natürlichen *l*(+)-Leucin in Rosshaar I beträgt dann  $100 \times \frac{0,058}{1,775} = 3,3 \pm 0,5\%$ .

b) Rosshaar II. Eine zweite Probe von Pferdeschweifhaar stammte von einem siebenjährigen Pferde. Die physikalischen Daten der bei der fraktionierten Destillation erhaltenen Aminosäure-methylester wurden bei der Besprechung des im vorigen Kapitel beschriebenen Beispiels angegebe. 0,8060 g Substanz aus der 6. Fraktion ( $n_D^{27} = 1,4261$ ) wurden zusammen mit 1,0410 g [(-)-D] in 4,14 cm<sup>3</sup> Methylalkohol gelöst. Trotzdem die Lösung mit [*d*(-)-L; (-)-D] angeimpft wurde und trotzdem die Lösung während drei Monaten bei 0° aufgestellt wurde, erfolgte keine Ausscheidung des schwerlöslichen [*d*(-)-L; (-)-D]. Die Lösung wurde anschliessend durch Abdunsten von Methylalkohol auf eine Konzentration von 50 Gew.-% Estersalz in Methylalkohol eingengt und wiederum geimpft; es trat dabei wiederum keine Krystallausscheidung ein. Es musste der Schluss

gezogen werden, dass der Gehalt dieser Rosshaarprobe wesentlich kleiner ist als bei Probe I; der Gehalt an  $[d(-)L]$  ist offenbar so klein, dass die Löslichkeitsgrenze von  $[d(-)L; (-)D]$  bei diesen Versuchsbedingungen nicht unterschritten wird.

Auch die Fraktionen 5 und 7 wurden in derselben Weise auf  $d(-)$ -Leucinester geprüft mit dem Ergebnis, dass dieser Antipode nicht nachzuweisen war. Um sicher zu gehen, dass für das negative Ergebnis nicht eine Krystallisationsverzögerung entscheidend war, wurden zu 0,775 g Ester der Fraktion 6 4 cm<sup>3</sup> Methylalkohol und 1 g  $[(-)D]$ , ausserdem aber noch 0,044 g  $[d(-)L]$  und die dazu äquivalente Menge von  $[(-)D]$  zugegeben. Eine Ausscheidung von  $[d(-)L; (-)D]$  trat daraufhin ein und es konnten nach 12 Tagen bei 0° C 0,057 g dieses Salzes vom richtigen Smp. (217—218°) erhalten werden.

Die Versuche zeigen zusammen, dass in Rosshaar II innerhalb der Fehlergrenzen der Methode kein  $d(-)$ -Leucin enthalten ist; d. h.: die Verunreinigung des in dieser Substanz enthaltenen normalen  $l(+)$ -Leucins mit  $d(-)$ -Leucin ist kleiner als etwa 0,5%.

c) Rosshaar III. Es war durch diese Versuche erwiesen, dass  $d(-)$ -Leucin im natürlichen Eiweiss des Rosshaares (gelegentlich) vorkommt, dass aber quantitative Unterschiede zwischen einzelnen Individuen bestehen. Bei der nächstfolgenden Probe wurde darauf Wert gelegt, Schweifhaar von einem älteren Individuum zu erhalten. Untersucht wurde als Probe III das Schweifhaar von einem 24jährigen Pferde.

Zur Prüfung auf  $d(-)$ -Leucin gelangte eine Esterfraktion, welche durch Feindestillation ohne vorangehende Rohdestillation gewonnen war und welche folgende Konstanten aufwies:  $n_D^{21^\circ} = 1,4235$ ;  $\alpha_D^{21^\circ} = +14,45^\circ$  ( $l = 1$  dm);  $\rho^{21^\circ} = 0,954$ ; Sdp.<sub>3 mm</sub> = 47° C. Die Vergleichsdaten für reinen Leucinester sind:  $n_D^{21^\circ} = 1,4295$ ;  $\alpha_D^{21^\circ} = +14,3^\circ$  ( $l = 1$  dm);  $\rho^{21^\circ} = 0,949$ . 0,775 g von diesem Ester wurden mit 4 cm<sup>3</sup> Methylalkohol und 1 g  $[(-)D]$  versetzt und während 30 Tagen der Krystallisation bei 0° C überlassen. Es gelangten dabei Krystalle von  $[d(-)L; (-)D]$  zur Ausscheidung; sie wiesen nach einmaligem gutem Waschen mit Methylalkohol einen Schmelzpunkt von 217,5—218° C auf. Durch den Schmelzpunkt mit der Vergleichssubstanz, durch Vergleich der Krystalle unter dem Mikroskop mit denen von Fig. 1 und 2, sowie durch Messung der optischen Drehung in Methylalkohol wurden sie als das Salz des „unnatürlichen“ Leucins identifiziert. Die bei Anwendung von 0,775 g  $[L]$  in Substanz erhaltene Menge an  $[d(-)L; (-)D]$  betrug 0,007 g. Es entspricht dies einem Gehalt des in Rosshaar III enthaltenen  $(+)$ -Leucins an dem unnatürlichen Antipoden  $[d(-)$ -Leucin] von 0,4%.

Unter Berücksichtigung der Löslichkeit von  $[d(-)L; (-)D]$  erhöht sich die Zahl auf  $1,6 \pm 0,5\%$ .

d) Casein. Zur Orientierung wurden entsprechende Versuche mit Casein vorgenommen [Präparat der Fa. *Wander A.-G.* Bern; aus Milch hergestellt]. Die Hydrolyse, Veresterung und Feindestillation wurden genau wie bei den Versuchen mit Rosshaar beschrieben durchgeführt. Zur Prüfung auf  $d(-)$ -Leucin gelangte eine Esterfraktion mit folgenden Konstanten:  $n_D^{21^\circ} = 1,4177$ , Sdp.<sub>3 mm</sub> = 45°. 0,775 g dieser Fraktion wurden mit 4 cm<sup>3</sup> Methylalkohol und 1 g  $[(-)D]$  versetzt und während 25 Tagen der Krystallisation bei 0° C überlassen. Eine Ausscheidung von  $[d(-)L; (-)D]$  konnte dabei nicht beobachtet werden. Die Menge des zur Untersuchung gelangenden Caseinpräparates (insgesamt 150 g) war allerdings zur Erlangung von ca. 20 g bei 3 mm Hg destillierenden Estergemisches nicht ausreichend, so dass die Feinfraktionierung in der grossen Fraktionierkolonne Schwierigkeiten verursachte. Wir können aus dem Ausbleiben einer  $[d(-)L; (-)D]$ -Fällung den Schluss ziehen, dass der Gehalt des Leucins an  $d(-)L$  im Falle von Casein höchstens etwa 0,5—1% beträgt.

Die beschriebenen Versuche zeigen, dass offenbar die Empfindlichkeit, welche zum Nachweis der natürlichen Antipoden optisch aktiver Stoffe im natürlichen Eiweiss notwendig ist, im Falle des Leucins erreicht ist. Es zeigt sich, dass unnatürliche Antipoden neben den natürlichen in wechselnden Mengen vorkommen.



Die Feststellung, dass im Schweifhaar von zwei alten Pferden der unnatürliche Antipode gefunden wurde, im Schweifhaar eines jungen (7-jährigen) Pferdes dagegen nicht, lässt die Deutung zu, dass der optische Reinheitsgrad der im Organismus erhaltenen Aminosäuren mit zunehmendem Alter abnimmt. Um diese Aussage als sicher ansehen zu können, sind weitere Versuche, welche auch in Angriff genommen sind, notwendig; ebenso sei nochmals darauf hingewiesen, dass der optische Reinheitsgrad nicht in allen Organen eines Organismus der gleiche zu sein braucht.

Die Versuche, durch welche das Auftreten von  $d(-)$ -Leucin nachgewiesen wurde, wären indessen unvollständig, wenn nicht gleichzeitig durch sorgfältige Versuche gezeigt werden könnte, dass die vom Eiweiss zum  $[d(-)L; (-)D]$  vom Smp. 217,5° führenden Schritte innerhalb der Nachweisgrenze keine Erzeugung des nachzuweisenden  $d(-)$ -Leucins mit sich bringen. Um dies zu zeigen, sind nachstehend eine Anzahl Testversuche beschrieben.

### 7. Ergänzungen, Testversuche.

a) Versuche über die eventuelle Racemisierung des Leucins beim Kochen mit konz. Salzsäure.

Solche Versuche sind notwendig, weil das Eiweiss zur Durchführung der Hydrolyse, wie in Abschnitt 5 ausgeführt wurde, während insgesamt 8 Std. mit konz. Salzsäure bei 100—110° behandelt wird.

In einem Testversuch wurden daher 5 g  $l(+)$ -Leucin vom Drehungsvermögen  $[\alpha]_D = -10,14^\circ$  in konz. Salzsäure gelöst und in einer ausschliesslich aus Glas bestehenden Apparatur während 29½ Stunden bei 115—120° am Rückfluss auf dem Oelbad erhitzt; Wasser und Salzsäure werden darauf bei einer Badtemperatur von 40° C im Vakuum entfernt, und das Leucin mit Methylalkohol unter Einwirkung von Salzsäure, ähnlich wie in Abschnitt 5 beschrieben, verestert. Der Ester wird bei 76° C und einem Druck von 12 mm destilliert. Der erhaltene Ester besitzt eine Drehung  $\alpha_D^{25} = +12,95^\circ$  ( $l = 1$  dm). 0,85 g dieses Esters werden mit 1,1 g  $[(-)D]$  und 10 cm<sup>3</sup> Methylalkohol versetzt; der Methylalkohol wird durch Abdunsten entfernt, so dass eine Lösung entsteht, welche auf 2 g Estersalz 2 g Methylalkohol enthält. Trotz Impfen mit dem schwerlöslichen  $[d(-)L; (-)D]$ , findet auch bei monatelangem Stehen bei 0° C keine Krystallausscheidung statt. Durch Eindampfen kann der Methylalkohol noch weiter entfernt werden, ohne dass irgendeine Krystallausscheidung beobachtet worden wäre.

Der Versuch wurde mit kleinen Abänderungen beim Erhitzen des Leucins in Salzsäure, beim Verestern, sowie bei der Prüfung mit Hilfe von Dinaphtyl-dioxy-dicarbon-säure mehrmals mit demselben negativen Ergebnis wiederholt. Erst bei einem Versuch, in welchem das Kochen von  $l(+)$ -Leucin mit konz. Salzsäure während 88 Stunden (anstatt 8 Stunden beim Hydrolyseversuch) fortgesetzt wurde, konnten in 2,05 g Leucin-methylester 0,014 g  $d(-)$ -Leucin-methylester in Form von  $[d(-)L; (-)D]$  vom Smp. 210° (nach dem Umkrystallisieren 217,5°) nachgewiesen werden. Es entspricht dies einer Bildung von 0,7%  $d(-)$ -Leucin bei 88-stündigem Erhitzen mit konz. Salzsäure. Es ist damit klar, dass das Auftreten von 2 und mehr %  $d(-)$ -Leucin nach nur 8-stündigem Erhitzen nicht die Folge einer Racemisierung durch Säureeinwirkung sein kann.

In Ergänzung hierzu wurde auch die Frage einer Racemisierung des Leucins beim Kochen mit methylalkoholischer Salzsäure experimentell geprüft. Zu diesem Zwecke wurden 5 g  $l(+)$ -Leucin mit 50 cm<sup>3</sup> 95-proz. Methylalkohol, welcher mit HCl-Gas gesättigt wurde, während 26 Stunden auf dem Wasserbad am Rückfluss zum Sieden erhitzt.

In dem in üblicher Weise aus diesem Leucin hergestellten Methylester konnte mit Hilfe von Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure keine Spur von *d*(-)-Leucinester nachgewiesen werden. Es könnte also auch eine alkoholische an die Stelle einer wässerigen Eiweiss-hydrolyse gesetzt werden, ohne dass bei den jetzigen Nachweisgrenzen eine Racemisierung zu befürchten ist. Der Versuch ist auch ein guter Beweis dafür, dass bei der Veresterung des Hydrolysegemischs mit methylalkoholischer Salzsäure keine Racemisierung eintritt

b) Ausschliessung einer Racemisierung bei der Hydrolyse von Peptidbindungen.

Wenn auch durch die vorigen Versuche eine Racemisierung des Leucins durch Einwirkung der Salzsäure des Hydrolysegemischs auf das durch Hydrolyse freigesetzte Leucin ausgeschlossen wird, so besteht zunächst noch die Möglichkeit der Erzeugung von *d*(-)-Leucin aus *l*(+)-Leucin bei der Lösung der Peptidbindungen im Verlaufe des hydrolytischen Abbaus selbst. Die Lösung der Peptidbindungen dürfte über Zwischenzustände führen, in welchen eine normalerweise nicht erfolgende Umlagerung statthaben könnte. Um dies zu prüfen, wurde die Spaltung der Peptidbindungen im 3,6-Diaci-2,5-diisobutyl-piperazin untersucht. Dieser Stoff wurde aus reinem optisch aktivem Leucinmethylester durch längeres Erwärmen auf 40° C erhalten und durch Umkrystallisieren aus Alkohol weiter gereinigt. Smp. 263° korr.; spezif. Drehung in 0,582-proz. methylalkoholischer Lösung:  $[\alpha]_D^{16} = -39,2^\circ$ .

Die Hydrolyse wurde in der Weise durchgeführt, dass 3,1 g dieses Piperazins mit 31 cm<sup>3</sup> konz. HCl (*d* = 1,19) während 7 Stunden bei 101—104° C erwärmt wurden. Dass die hierbei eintretende Hydrolyse vollständig ist, indem beide Peptidbindungen des Piperazins gelöst werden, wurde dadurch nachgewiesen, dass Übereinstimmung von Gesamtstickstoff (nach *Kjeldahl*<sup>1)</sup>) und freiem Aminostickstoff (durch Formoltitration<sup>2)</sup>) festgestellt wurde. Aus dem so gewonnenen Leucin wurde in der mehrfach erwähnten Weise der Methylester dargestellt und der letztere mit Hilfe von Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure auf *d*(-)-Leucinester geprüft. Es erweist sich dabei als unmöglich, auch nur die geringste Menge [*d*(-)-L; (-)-D] zu erhalten. Es folgt daher, dass auch bei der sauren Hydrolyse der Peptidbindungen im 3,6-Diaci-2,5-diisobutyl-piperazin und auch bei der Hydrolyse des daraus bei Lösung der einen Bindung entstehenden *l*(+)-Leucyl-leucins keine Racemisierung des Leucins stattfindet. Selbstverständlich liegen in den natürlichen Eiweißstoffen ausser Peptidbindungen zwischen Leucin und Leucin auch Peptidbindungen zwischen Leucin und andern Eiweisskomponenten vor. Für die letzteren ist das Ausbleiben einer Racemisierung im Leucin bei der Lösung der Peptidbindungen durch die vorstehend beschriebenen Versuche nicht bewiesen, sondern nur wahrscheinlich gemacht.

### 8. Darstellung und optische Spaltung von 2,2'-Dioxy-3,3'-dicarboxy-1,1'-dinaphtyl.

Die Darstellung der Verbindung und deren Trennung in die Antipoden mit Hilfe von Brucin ist von *W. M. Stanley* und *R. Adams*<sup>3)</sup> beschrieben worden. Da wir die dort gemachten Angaben nur teilweise bestätigen können, geben wir nachstehend die von uns benutzten Versuchsdaten.

a) Darstellung des Racemates. 60 g 3-Oxy-naphtalin-2-carbonsäure werden mit 12 g NaOH und 900 cm<sup>3</sup> Wasser in einem 10 Liter fassenden Rundkolben unter lebhaftem Rühren zum Sieden erhitzt. Zu dieser Flüssigkeit werden 90 g Eisen(III)-chlorid (FeCl<sub>3</sub>·6 H<sub>2</sub>O), welche in 180 cm<sup>3</sup> heissem Wasser gelöst sind, zugetropft, wobei ein

<sup>1)</sup> Vgl. *J. K. Parnas*, Z. anal. Ch. **114**, 261 (1938).

<sup>2)</sup> *J. H. Northrop*, J. gen. Physiol. (New York) **9**, 767 (1926).

<sup>3)</sup> *W. M. Stanley* und *R. Adams*, R. **48**, 1035 (1929).

grünblauer Niederschlag entsteht. Die Reaktionsmischung wird während 40—50 Minuten weiter zum Sieden erhitzt; nach dem Abkühlen wird sie mit 2-n. NaOH alkalisch gemacht; durch Filtrieren durch eine grosse Nutsche wird sie vom ausgeschiedenen Eisen(III)-hydroxyd getrennt. Die rotbraune Lösung enthält die rohe Dinaphtyl-dioxy-dicarbon-säure, welche durch Zugeben von konz. Salzsäure ausgefällt wird. Sie wird abgenutscht, mit Wasser gewaschen und darauf 3 bis 4mal mit 80-proz. Essigsäure digeriert, wobei unverändert gebliebenes Ausgangsmaterial in Lösung geht und wieder gewonnen werden kann. Das ungelöst bleibende Produkt ist 2,2'-Dioxy-3,3'-dicarboxy-1,1'-dinaphtyl. Zersetzungspunkt 328—31° korr. Ausbeute etwa 40% der Theorie.

b) Spaltung des Racemates mit Hilfe von Brucin. 8 g *d, l*-Dinaphtyl-dioxy-dicarbon-säure werden in 350 cm<sup>3</sup> siedendem absolutem Äthylalkohol gelöst. Zu dieser Lösung werden 20 g Brucin zugegeben. Man erhält als Niederschlag 21 g Salz vom Smp. 236,5—237° uncorr. 20 g dieses Salzes werden in 200 cm<sup>3</sup> heissem Pyridin gelöst. Nach mehrwöchigem Stehen bei 0° C krystallisieren etwa 14 g Salz aus; sie werden ein zweites Mal aus 150 cm<sup>3</sup> Pyridin umkrystallisiert, wobei etwa 8 g Salz erhalten werden, welche ihrerseits ein drittes Mal aus 70 cm<sup>3</sup> Pyridin umkrystallisiert werden. Man erhält so etwa 7 g Salz vom Drehungsvermögen  $[\alpha]_{\text{D}}^{10} = -85,4^{\circ}$  in 0,43-proz. Lösung in Pyridin; in Übereinstimmung mit den Angaben von *Stanley* und *Adams* l. c.

Zur Freisetzung der Dinaphtyl-dioxy-dicarbon-säure wird das Brucinsalz mit der berechneten Menge NaOH versetzt und das sich ausscheidende Brucin mit Chloroform extrahiert, worauf die linksdrehende Dinaphtyl-dioxy-dicarbon-säure durch Zufügung von konz. HCl ausgeschieden werden kann. Das Drehungsvermögen der so gewonnenen Säure in absolutem Äthylalkohol war  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -134,5^{\circ}$ , während die weiter unten zu beschreibende Trennung mit Hilfe von *d*(-)-Leucin eine Säure mit dem Drehungsvermögen  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -166^{\circ}$  liefert.

Eine Literaturangabe (l. c.), wonach der Reinheitsgrad der aktiven Säure durch Umkrystallisieren aus Eisessig verbessert werden kann, konnte von uns nicht bestätigt werden; im Gegenteil: es wurde beim Umkrystallisieren aus Eisessig je nach der Dauer der Operation eine fast vollständige Racemisierung beobachtet.

c) Spaltung des Racemates mit Hilfe von *l*(+)-Leucin-methylester und *d, l*-Leucin-methylester. Sie erfolgt über das neutrale Salz (1 Mol Dinaphtyl-dioxy-dicarbon-säure mit 2 Mol Leucin-methylester); eine Trennung mit Hilfe der sauren Salze gelingt nicht.

Zunächst wird der positiv drehende Antipode der Dinaphtyl-dioxy-dicarbon-säure mit Hilfe von *l*(+)-Leucin-methylester aus dem Racemat herausgenommen. Zu diesem Zwecke werden 37,4 g der racemischen Säure in ca. 450 cm<sup>3</sup> reinem Methylalkohol suspendiert und durch Kochen am Rückfluss teilweise gelöst. Zur siedenden Lösung werden 29 g *l*(+)-Leucin-methylester, [*l*(+)L] zugegeben, wobei eine klare, dunkelgelb gefärbte Lösung entsteht. Beim Abkühlen auf Zimmertemperatur und anschliessendem Stehen bei 20° C krystallisiert 85% der Theorie an reinem [*l*(+)L; (+)D] vom Smp. 217,5° aus. Durch Abdunsten des Methylalkohols und Stehenlassen bei 0° C können weitere Mengen dieses Salzes, insgesamt etwa 98—99% der Theorie gewonnen werden. Durch Auswaschen mit kaltem Methylalkohol oder durch nochmaliges Umkrystallisieren kann das Salz von der anhaftenden Mutterlauge befreit werden. Es kann zur Gewinnung von reiner (+)Dinaphtyl-dioxy-dicarbon-säure verwendet werden. Zu letzterem Zweck wird das Salz [*l*(+)L; (+)D] mit der berechneten Menge verd. NaOH versetzt und der freigesetzte *l*(+)-Leucinester mit Äther aufgenommen; aus der wässrigen Lösung wird dann die optisch reine (+)-Dinaphtyl-dioxy-dicarbon-säure durch Zusatz von konz. HCl ausgefällt.

Drehungsvermögen in Äthylalkohol:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25^{\circ}} = +166,5^{\circ}$  in 0,574-proz. Lösung;

Drehungsvermögen in Pyridin:  $[\alpha]_{\text{D}}^{15^{\circ}} = +178,8^{\circ}$  in 0,97-proz. Lösung.

Der von *Stanley* und *Adams* für die Pyridinlösung angegebene Wert ist  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 171^{\circ}$  in 0,781-proz. Lösung.

Die für den Nachweis des *d*-Leucins benötigte (-)Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure befindet sich als leichtlösliches Salz [*l*(+)L; (-)D] in den Mutterlaugen, aus denen sich die Krystalle [*l*(-)L; (+)D] ausgeschieden hatten. Wegen der Schwerlöslichkeit der letzteren Verbindung muss sich nach Erreichung des Löslichkeitsgleichgewichts optisch fast reine, negativ drehende Säure in der Lösung befinden. — Wenn man bei der Krystallisation des schwerlöslichen Diastereomeren den Methylalkohol soweit entfernt, dass die verbleibende Lösung zu 50% aus Estersalz besteht, so erhält man tatsächlich durch etwa 4-wöchiges Stehen bei 0° C eine Mutterlauge, aus welcher [(-)D] unmittelbar mit einem optischen Reinheitsgrade von 98–99% gewonnen werden kann.

Um absolut reine [(-)D] zu erhalten, wird die das Salz [*l*(+)L; (-)D] enthaltende Mutterlauge durch Eindampfen vom grössten Teil des Methylalkohols befreit, die kalte Lösung sodann mit einem gleich grossen Volumen Wasser verdünnt, worauf die optisch nicht ganz reine [(-)D] mit konz. HCl ausgefällt, mit Wasser gewaschen und bei 120° getrocknet wird. 37,4 g (1/10 Mol) der nahezu reinen [(-)D] werden darauf in etwa 400 cm<sup>3</sup> reinem CH<sub>3</sub>OH suspendiert und erwärmt. Zur siedenden Lösung werden 58 g (0,4 Mol) von racemischem Leucin-methylester gegeben. (Besser wäre der Zusatz von 0,2 Mol *d*(-)-Leucinester, was aber auf Grund des hohen Preises dieser Substanz nicht durchführbar war.) Beim Abkühlen der Lösung krystallisiert das Salz [*d*(-)L; (-)D] vom Smp. 217,5°, welches in ausgezeichneter Ausbeute erhalten wird. Die Gewinnung der freien Säure aus dem Salz ist bereits bei der Darstellung der positiv drehenden Säure beschrieben worden. Das Drehungsvermögen wurde in Alkohol gemessen; es war  $[\alpha]_D^{20} = -166,0^{\circ}$  in 0,57-proz. Lösung.

Sowohl die optisch aktiven Antipoden als auch das Racemat der Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure sind amorph. Beim Erhitzen tritt zwischen 328–31° korr. allmähliches Zersetzen ein.

Ausser der freien Säure ist zwecks Untersuchung weiterer optischer Eigenschaften der Diäthylester der Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure dargestellt worden. Es geschah dies deswegen, weil erfahrungsgemäss die Tendenz zur Bildung von Assoziaten zwischen Lösungsmittel und gelöster Molekel bei den Estern kleiner ist als bei freien Säuren, sodass die Untersuchung der Ester zweckmässig ist, wenn man die Eigenschaften der Molekel selbst in möglichster Unabhängigkeit von der Wahl des verwendeten Lösungsmittels finden will. Die spezifische Drehung des krystallisierten Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure-diäthylesters in Äthylacetat bei 16° beträgt  $[\alpha]_D = 172^{\circ}$ . Die optische Absorption und insbesondere die Rotationsdispersion, welche bei dieser Verbindung besonderes Interesse bietet, sind in Essigester als Lösungsmittel im Sichtbaren und im Ultravioletten gemessen worden. Die Ergebnisse finden sich in einer kürzlich erschienenen Arbeit<sup>1)</sup>, auf welche auch wegen der theoretischen Bedeutung der Messungen verwiesen wird.

### Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, dass es mit Hilfe des negativ drehenden Antipoden von 1,1'-Dinaphtyl-2,2'-dioxy-3,3'-dicarbonsäure möglich ist, den nicht natürlichen Antipoden von Leucin [das *d*(-)-Leucin] neben grossen Mengen des natürlichen Antipoden [*l*(+)-Leucin] in Substanz nachzuweisen. Die Methode beruht darauf, dass die negativ drehende Säure mit *d*(-)-Leucin-methylester ein gut krystallisierendes, schwer lösliches Salz bildet, während das Salz mit *l*(+)-Leucin-methylester leicht löslich ist und nicht krystallisiert. Die Empfindlichkeit des direkten Nachweises liegt, bezogen auf das insgesamt anwesende Leucin, zwischen 0,5 und 0,8%.

<sup>1)</sup> W. Kuhn und R. Rometsch, Helv. 27, 1080 (1944), insbesondere Fig. 7, Seite 1097.

Unter Benützung dieser Methode wird das in einigen natürlichen Eiweisstoffen vorkommende Leucin auf seinen Gehalt am „unerwünschten“ Antipoden ( $d(-)$ -Leucin) geprüft.

Rosshaarproben von zwei alten Pferden ergaben einen Gehalt an  $d(-)$ -Leucin von 3,3 und 1,6%, die Probe von einem jungen (7-jährigen) Pferde 0%  $d(-)$ -Leucin. Es ist also möglich, dass mit fortschreitendem Alter eine Abnahme des optischen Reinheitsgrades eintritt.

In einer Probe von Casein (aus Milch) wurde kein  $d(-)$ -Leucin gefunden.

Durch Kontrollversuche wurde festgestellt, dass weder bei der Hydrolyse der Eiweisstoffe noch bei der nachfolgenden Veresterung und Reingewinnung des Esters durch Destillation eine innerhalb der Nachweisgrenzen liegende Racemisierung stattfindet.

Der *Ciba-Stiftung* und der *Jacques Brodbeck-Sandreuter-Stiftung* sprechen wir für die Mittel, die uns zur Durchführung dieser Arbeit gewährt wurden, unsern Dank aus.

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel.

## 196. Sur la mobilité des molécules étrangères dissoutes dans le caoutchouc

par Jean Haegel.

(11 X 44)

Les théories actuelles de l'élasticité du caoutchouc voient l'origine de ce phénomène dans l'agitation thermique des molécules qui le composent<sup>1)2)3)</sup>. Un point capital en est la liberté de cette agitation tant qu'elle n'intéresse que des parties de ces très longues molécules, et en même temps l'impossibilité des grands déplacements browniens qui en modifieraient profondément la constellation. Ces propriétés doivent se trouver vérifiées même dans le caoutchouc ne contenant aucun solvant qui le gonflerait.

Un moyen commode d'étudier cette agitation thermique est fournie par l'étude de la mobilité des molécules étrangères ou des parties de ces molécules à l'état dissous dans le caoutchouc. Il est pratique d'utiliser, à cet effet, des corps colorés.

Les recherches qui ont déjà été faites dans le même laboratoire n'ayant pas épuisé la question et ayant fourni des résultats assez inattendus, il nous a paru justifié d'en continuer l'étude.

1) E. Wöhlisch, Verh. physik.-med. Ges. Würzburg [N. F.] 51, 53 (1926).

2) K. H. Meyer, v. Susich et Valko, Koll. Z. 59, 208 (1932).

3) W. Kuhn, Koll. Z. 68, 2 (1934); Z. angew. Ch. 51, 640 (1933).

### A. Travaux antérieurs.

*H. Suhr*<sup>1)</sup> a conduit les premières expériences tendant à mettre en évidence la diffusion de molécules étrangères dans le caoutchouc. Dans la partie de son travail qui nous intéresse, nous trouvons trois séries d'essais sur la diffusion dans le caoutchouc vulcanisé gonflé par du benzène, dans du caoutchouc vulcanisé tel quel sans solvant, et enfin des essais ayant pour but de mettre en évidence une orientation du colorant après une extension rapide, en se servant du dichroïsme que devrait, dans ces conditions, présenter une lamelle de caoutchouc colorée.

Les corps mis en œuvre ont été les suivants: Carotène (P. M. 536), distéarate du p, p'-azophénol (P. M. 746), et 4 autres colorants à très longues molécules, de P. M. échelonnés entre 1086 et 1250.

L'auteur constate que dans du caoutchouc gonflé de benzène, la coloration homogène de la lamelle de 1 à 2 mm. d'épaisseur demande avec du carotène quelques minutes, avec le distéarate de l'azophénol une heure, et avec les deux colorants de poids moléculaire le plus élevé 25 à 30 heures.

Dans le caoutchouc libre de tout solvant, l'auteur n'arrive à mettre en évidence aucune diffusion des 4 derniers colorants, même après des mois. (L'auteur n'indique cependant pas si pendant ces essais de longue durée, les lamelles étaient protégées de l'oxydation, car pour leur coloration elles ont été plongées dans du benzène, ce qui enlève les antioxydants incorporés normalement au caoutchouc).

Dans la troisième série d'essais, la lamelle est montée dans un appareil où elle peut être étendue brusquement. Un dispositif optique permet de mettre en évidence un dichroïsme éventuel au moment même où l'extension est terminée. Le colorant utilisé est le carotène. Aucun effet de ce genre n'a été constaté par l'auteur.

Le temps, mesuré par nous, mis par cet appareil pour étendre à 100% la lamelle de caoutchouc est d'environ 7/1000 de seconde, donc supérieur à celui estimé par l'auteur. Dans ces conditions, il faut revoir ses conclusions.

*W. Kuhn, H. Suhr et K. Ryffel*<sup>2)</sup> ont complété le travail précédent, et observent les faits suivants: Dans le caoutchouc vulcanisé gonflé par du benzène, une augmentation du poids moléculaire des substances dissoutes de 500 à 1200 fait baisser la constante de diffusion d'un facteur 200 au lieu du facteur 1,5 que l'on attendrait. La constante de diffusion du phénol dans le caoutchouc non gonflé est indiquée comme étant égale à  $10^{-11}$ , mais une erreur s'est glissée dans ce travail, et la vraie valeur de  $10^{-8}$  est donnée dans une publication postérieure<sup>3)</sup>. Les essais tendant à mettre en évidence une orientation du colorant par une extension rapide de la lamelle de caoutchouc ont été repris avec le même dispositif et un colorant de P. M. 1250 (le même que celui dont nous sommes servis, voir plus bas). Dans ces conditions, ces auteurs ont constaté une orientation durable du colorant dans le caoutchouc étendu. Ceci aurait indiqué une constante de diffusion égale pratiquement à zéro, et aurait confirmé, à l'aide d'une méthode bien plus sensible, les résultats déjà indiqués par *Suhr* et retrouvés dans cette publication, sur la diffusion de ces colorants de poids moléculaire élevé, dans le caoutchouc non gonflé. Ces auteurs ont toutefois cru bon d'être prudents dans leurs conclusions.

Cependant, des essais actuellement en cours et faits dans ce même laboratoire par *F. Grün* tendent à montrer que la constante de diffusion de ce colorant dans le caoutchouc vulcanisé est loin d'être infiniment petite, ce qui l'a conduit à penser que cette orientation durable avait une autre origine. Il était donc intéressant d'en entreprendre une étude détaillée.

Il reste de tout cela que la diffusion des molécules étrangères dissoutes dans le caoutchouc se fait dans des conditions très anormales, et que les règles simples, posant

1) *H. Suhr*, thèse Kiel 1939.

2) *W. Kuhn, H. Suhr et K. Ryffel*, *Helv. phys. acta* **16**, 497 (1941).

3) *W. Kuhn et K. Ryffel*, *Z. physiol. Ch.* **276**, 160 (1942).

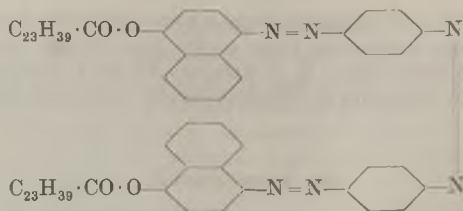
des rapports entre poids moléculaire du corps dissous, viscosité du solvant et constante de diffusion ne sont pas applicables telles quelles pour décrire les phénomènes qui se passent pour les corps dissous dans le caoutchouc. En effet, dans un certain intervalle de poids moléculaire la constante de diffusion décroît infiniment plus vite que dans un liquide ordinaire.

### B. Notre travail.

Le but principal de notre travail a été de reprendre à l'aide d'un appareil plus perfectionné, les essais déjà conduits par *Suhr* et par *Kuhn*, *Suhr* et *Ryffel*, ayant pour but de déceler une orientation éventuelle des longues molécules d'un colorant par l'extension rapide de la lamelle de caoutchouc où elles sont dissoutes, en profitant du dichroïsme que doit présenter le colorant orienté. Ces essais ont en effet l'intérêt suivant: On a vu dans le paragraphe précédant que la diffusion dans le caoutchouc des corps à poids moléculaire élevé est très anormale par rapport à celle des petites molécules, la mesure de la constante de diffusion étant faite de la façon habituelle, c.à.d. en analysant la libre diffusion sur un parcours d'au moins disons 1/10 de millimètre. Il était intéressant de savoir si cette anomalie se fait également sentir pour des parcours de l'ordre de grandeur des dimensions moléculaires elles-mêmes.

A cet effet, soit une lamelle de caoutchouc colorée par un corps à longue chaîne moléculaire. Supposons qu'un dispositif quelconque l'étende instantanément à un moment donné, jusqu'à plusieurs fois sa longueur initiale. Il en résultera que les molécules colorantes se verront partiellement orientées parallèlement à la direction de l'extension. L'examen optique indiquera alors un dichroïsme de la lame de caoutchouc. Mais ce dichroïsme aura tendance à disparaître par suite de la diffusion des molécules colorantes, en suivant une fonction exponentielle décroissante, et l'on pourra admettre en première approximation que le temps de relaxation de ce phénomène sera égal au temps mis par les molécules pour diffuser sur une distance égale à leur demi-longueur. Ceci permettra d'estimer la constante de diffusion sur des parcours de quelques dizaines d'*Ångström*. Il s'agit en somme, puisque nous avons affaire à une molécule longue et flexible, de mesurer le temps mis par la micro-diffusion des différentes parties de la molécule pour détruire l'orientation qui existait au début.

Or, le résultat négatif des essais faits par *Suhr* était dû à la diffusion relativement rapide du carotène et à la sous-estimation du temps mis par son appareil à faire l'extension. Nous avons repris ces essais avec un dispositif plus perfectionné, et en colorant la lamelle de caoutchouc à l'aide d'un colorant à très longue chaîne, de P.M. 1250 déjà utilisé par *Suhr* pour des mesures de diffusion et par *Kuhn*, *Suhr* et *Ryffel* pour des expériences d'orientation:



$C_{23}H_{39} \cdot CO$  est un mélange des restes d'acides 9- et 10-phénylstéariques. La longueur totale de cette molécule peut être estimée à env. 80Å. Sa constante de diffusion pour de longs parcours est env.  $10^{-11}$  à  $10^{-12}$  (d'après des mesures non encore publiées de *F. Grün*).

Si la même constante est valable pour la diffusion sur de très petits parcours, le temps de relaxation du dichroïsme devrait être:

$$\lambda = \frac{x^2}{2D}$$

$$\frac{(40 \times 10^{-8})^2}{2 \times 10^{-12}} > \lambda > \frac{(40 \times 10^{-8})^2}{2 \times 10^{-11}}$$

$$10^{-1} \text{ sec.} > \lambda > 10^{-2} \text{ sec.}$$

$\lambda$  = temps de relaxation,  $x$  = parcours,  
 $D$  = constante de diffusion.

Or, nous avons vu que *Kuhn*, *Suhr* et *Ryffel* avaient constaté avec ce colorant un dichroïsme durable. Ceci nous a conduit à faire une étude plus complète des phénomènes optiques qui accompagnent l'extension du caoutchouc coloré avant d'aborder l'objet principal de notre travail, afin d'éliminer si possible ce qui, selon toute probabilité, était un phénomène parasite.

a) *Etude du dichroïsme durable dû à l'extension du caoutchouc coloré ou non.*

Déjà *Kundt* en 1874<sup>1)</sup> avait observé que le caoutchouc fortement étendu était dichroïtique. Le phénomène est très facile à observer même au moyen de dispositifs de fortune.

Pour en faire l'étude spectrographique, nous avons placé la lamelle de caoutchouc étendue entre deux plaques de verre, avec interposition d'un liquide d'immersion convenable<sup>2)</sup>, car sa surface est toujours rugueuse. A travers la lamelle ainsi rendue transparente, et placée à la pupille d'un système optique, nous avons projeté sur la fente d'un spectrographe l'image d'un prisme double de *Rochon*, composé de deux moitiés accolées, polarisant la lumière l'une parallèlement et l'autre perpendiculairement à l'extension du caoutchouc. La source de lumière était un arc au fer. Cette image, en l'absence de caoutchouc, est un petit rectangle lumineux, composé de deux moitiés également éclairées, et correspondant aux deux moitiés du prisme. Si on intercale alors dans le trajet de la

<sup>1)</sup> *Kundt*, Pogg. Ann. **151**, 125 (1874), cité d'après *C. Pulfrich*, Thèse Bonn (1881) et Ann. Phys. **14**, 177 (1881) et *Scherrer-Toss*, Ann. Phys. **6**, 278 (1879).

<sup>2)</sup> Solution de LiBr dans le glycérol (*Suhr*, loc. cit.) ou de HgI<sub>2</sub>, 2 KI ou de CdI<sub>2</sub>, 2 KI dans l'eau, amenées à l'indice de réfraction  $n_0 = 1,52$  (presques saturées).



lumière un objet dichroïtique, l'intensité lumineuse sera différente dans les deux moitiés de l'image.

La lamelle de caoutchouc<sup>1)</sup> étendue étant mise en place, on s'aperçoit que l'image du prisme de *Rochon* revêt l'aspect de la fig. 1 (planche I, p. 1680).

La partie correspondant au rayon dont le vecteur électrique est perpendiculaire à la direction de l'extension est nette. Par contre le rayon parallèle paraît très affaibli; il est fortement diffusé, mais seulement dans le plan perpendiculaire à la direction de l'extension<sup>2)</sup>. Ceci nous interdit évidemment de conclure sur l'existence d'un dichroïsme vrai du caoutchouc, car nous ignorons la quantité de lumière polarisée parallèlement à l'extension, perdue par diffusion. (*Scherrer-Toss* (loc. cit.) avait déjà soupçonné en 1879 le rôle de la diffusion dans le dichroïsme du caoutchouc).

Nous avons alors, à l'aide d'un miroir oscillant, fait se déplacer de gauche à droite et de droite à gauche, l'image de la fig. 1 sur la fente du spectrographe, de façon à faire l'intégration automatique de la lumière diffusée. Nous avons alors constaté la présence effective d'un dichroïsme vrai, s'étendant sur toute la bande d'absorption dans le visible et le proche ultra-violet du caoutchouc utilisé (jaune clair). Le rayon polarisé parallèlement à l'extension était plus affaibli que celui polarisé perpendiculairement. La fig. 2 est identique à la fig. 1, mais on a intégré la lumière diffusée. Ceci fait apparaître le dichroïsme vrai du caoutchouc étendu. (Il reste naturellement la possibilité d'une assez forte perte par diffusion dans la direction d'entrée de la lumière.)

Mais nous avons vite été intrigué par la grande irrégularité de ce phénomène de double diffusion (ou dityndallisme), tantôt très intense, tantôt à peine visible ou inexistant. Ceci ne rendait que plus intéressante la question de savoir quelle hétérogénéité optique était responsable de cette diffusion de la lumière.

Au point de vue optique cette apparition s'explique bien si on admet que les particules qui la produisent sont allongées, orientées parallèlement à la direction d'extension, et de dimensions transversales du même ordre de grandeur que la longueur d'onde de la lumière employée, ou un peu plus grandes.

En effet, avec une suspension de particules sphériques petites par rapport à la longueur d'onde de la lumière incidente, l'effet *Tyndall* a son maximum dans la direction qui est à la fois perpendiculaire à la direction du faisceau incident et au plan de polarisation de ce faisceau.

Si les particules sont allongées et orientées parallèlement, seul le rayon polarisé parallèlement à la direction d'orientation des particules donne un effet *Tyndall*. Si les particules deviennent grandes par rapport à la longueur d'onde de la lumière employée, le maximum se déplace vers la direction de sortie du rayon incident.

C'est bien ce que la fig. 1 nous montre. L'angle d'ouverture des rayons diffusés est env. de 10°.

Remarquons d'ailleurs que l'exploitation quantitative de ce phénomène à l'aide de la théorie de *Rayleigh* étendue par *Mie*, *Mög-*

<sup>1)</sup> Dans tous nos essais nous nous sommes servis de caoutchouc pur faiblement vulcanisé à chaud, sans addition de corps étrangers. Il était transparent et jaune clair.

<sup>2)</sup> *Schwarzenbach*, *Helv. phys. acta* 12, 270 (1939), fait une observation analogue mais non identique.

lich, Blumer etc., pour en tirer des conclusions sur la forme des particules et leur grandeur, est très délicate sinon impossible. En effet, non seulement pour cet ordre de grandeur des particules les phénomènes deviennent très complexes, mais encore, si l'on connaît les indices de réfraction du caoutchouc selon les deux directions principales, on ignore ceux des particules responsables de la diffusion.

Il reste à se demander quelles sont ces particules, qui pourraient très bien être des impuretés du caoutchouc.

On est vite frappé de l'irrégularité de l'apparition du phénomène. Certaines lamelles le donnent facilement pour des extensions faibles, d'autres ne semblent rien donner même pour de fortes extensions. Mais on s'aperçoit que si l'on attend assez longtemps (qqf. 8 jours) toutes les lamelles le donnent. L'effet augmente beaucoup si on refroidit vers 0°. Il disparaît totalement à une température comprise entre 30° et 70°, qui croît avec le degré d'extension et le temps depuis lequel la lamelle est étendue. Au-dessus de cette température on n'observe plus ni dityndallisme ni dichroïsme (fig. 3).

Ceci suggère immédiatement que les particules responsables ne sont autres que les cristallites de caoutchouc, qui sont d'ailleurs beaucoup mieux orientés pour une extension donnée que les molécules elles-mêmes. On sait que le point de fusion des cristallites croît avec l'extension et le temps<sup>1</sup>). On sait d'autre part que pour les mêmes extensions pour lesquelles nous avons aperçu cet effet, la double réfraction croît avec le temps<sup>2</sup>), indice de cristallisation. Les irrégularités d'apparition seraient alors dues à la présence ou à l'absence de germes cristallins. Un caoutchouc longtemps stocké donne très rapidement (30 sec.) un effet déjà net pour 150% d'extension, tandis que si le caoutchouc a été préalablement chauffé à 40–50°, ou gonflé dans le benzène pour couper les lamelles sur un microtome à congélation, ce qui fait fondre les germes, il faut souvent attendre plusieurs jours. Il s'agit d'une surfusion. On observe d'ailleurs facilement et sans appareil que la cristallisation du caoutchouc étendu ou non (dans ce cas non vulcanisé), se traduit par une opacification qui disparaît si on détruit la cristallisation par échauffement ou déformation mécanique.

Mais même dans les cas les plus défavorables, à la température ordinaire, ce phénomène met plusieurs secondes à se produire et ne peut gêner les observations faites dans les premières fractions de seconde qui suivent une extension pratiquement instantanée.

Les lamelles de caoutchouc utilisées dans les essais précédents avaient une épaisseur de 2–3 mm non étendues. Si on étend une lamelle de seulement 0,1 à 0,2 mm d'épaisseur, ces effets sont trop

---

<sup>1</sup>) *Susich*, Naturwiss. **18**, 915 (1930); *K. H. Meyer*, Naturwiss. **26**, 199 (1938); *Van Rossem et Lotichius*, Kautschuk **5**, 2 (1929), cité d'après *K. H. Meyer et H. Mark*, Hochpolymere Chemie, II, p. 154, Leipzig 1940.

<sup>2</sup>) *Thiessen et Wittstadt*, Z. physikal. Ch. [B] **41**, 33 (1938).

faibles pour être visibles. Mais colorons<sup>1)</sup> cette lamelle à l'aide d'un colorant convenable, à très longue chaîne, par exemple celui dont nous avons donné la formule plus haut. Si on étend la lamelle ainsi colorée on constate après un temps analogue à celui qui était nécessaire à la cristallisation du caoutchouc non traité, l'apparition d'un fort dichroïsme évidemment dû au colorant, du fait de la faible épaisseur du caoutchouc. Ce dichroïsme n'a rien à voir avec une orientation des molécules colorantes due à l'extension même du caoutchouc. Il n'apparaît en effet que bien après la fin de cette extension, alors que la diffusion naturelle du colorant aurait dû avoir détruit depuis longtemps son orientation. De plus il croît avec le temps. Ceci suggère de rattacher cet effet à ceux dont nous parlions plus haut, qui se ramènent à une cristallisation du caoutchouc. Ce rapport s'impose encore plus quand on essaie de chauffer la lamelle étendue et dichroïtique: on constate pour la même température où la cristallisation disparaissait, la disparition du dichroïsme. Par contre le refroidissement l'augmente beaucoup. Les circonstances nous ont empêché de faire des essais sérieux avec d'autres substances, mais on constate facilement que cet effet dépend fortement de la nature du colorant utilisé.

L'hypothèse la plus simple serait d'admettre que les cristallites qui se forment dans le caoutchouc adsorbent ou dissolvent le colorant à longue chaîne, en l'orientant dans une direction privilégiée par rapport au cristallite. Or, les cristallites eux-mêmes sont très bien orientés dans une lamelle étendue. Le colorant se trouve lui-même orienté, de sorte qu'il n'absorbe plus de la même façon la lumière polarisée parallèlement ou perpendiculairement à la direction de ses groupes chromophores.

De l'intensité des noircissements de la plaque photographique pour les rayons polarisés parallèlement et perpendiculairement à la direction de l'extension, on peut, en admettant que le colorant soit totalement dichroïtique, calculer la proportion du colorant orientée. L'affaiblissement des faisceaux lumineux est de  $\sim 1000$  après passage dans la lamelle. Le rapport des deux noircissements pour une extension de 200 % est de  $\sim \frac{1}{2}$  à  $\frac{1}{4}$ . Il vient que dans ces conditions 10 à 20 % du colorant est orienté par les cristallites. Ceci est également une limite supérieure du quantum de caoutchouc cristallisé dans ces conditions, si on admet que le colorant orienté était à l'endroit même où la cristallisation s'est faite. Or, il est bien évident que les molécules peuvent se déplacer par diffusion pour gagner un cristallite, ce qui empêche toute évaluation précise.

<sup>1)</sup> Toutes les colorations ont été faites de la façon suivante: la lamelle était immergée dans une solution benzénique de colorant, ou elle se gonfle, après quoi le colorant y diffuse assez rapidement. Puis le benzène est évaporé sous vide vers 50° (*Suhr*, loc. cit.).

Remarquons en passant que cette explication du dichroïsme du caoutchouc coloré étendu s'applique aussi au dichroïsme du caoutchouc naturel, car si celui-ci est purifié, il ne présente pas de bande d'absorption dans le visible, et son dichroïsme provient donc des colorants étrangers qu'il renferme et qui lui donnent sa couleur jaune.

On a vu que ces effets que nous avons passés en revue ne peuvent pas nous gêner dans la mesure du dichroïsme du caoutchouc coloré très rapidement, si cette mesure est faite immédiatement après l'extension. La cristallisation n'aura pas encore eu le temps d'intervenir.

## b) Recherche d'un dichroïsme temporaire dû à l'extension rapide du caoutchouc coloré.

### 1. Appareil.

Nous avons utilisé dans ces recherches un appareil d'extension que nous avons conçu dans un autre but, pour lequel il était important que l'extension se fasse non seulement très rapidement, mais encore de façon linéaire. Nous ne pourrions donc pas nous servir comme *Suhr* d'un ressort déclenché brusquement pour étendre le caoutchouc, car l'extension aurait alors une allure parabolique.

L'appareil se compose de 3 parties principales, la partie mobile A, la pince fixe B et la cuvette C. La lamelle de caoutchouc est visible en L sur la fig. 4, montée entre la pince fixe et la partie mobile. La fig. 4 montre la partie mobile posée sur la table, et la pince fixe posée sur la partie mobile, dans les positions respectives que ces deux pièces ont, l'appareil étant monté. Le caoutchouc est fixé sur B par une pince analogue à celle que l'on voit sur A, placée sur la face non visible de B, et serrée par les deux vis que l'on voit sur la photographie.

La cuvette (fig. 5), porte en haut une rainure horizontale  $\alpha$  où s'engage la pince fixe, qui peut y être fixée par deux vis à tête molletée. La partie mobile glisse dans les deux rainures verticales  $\beta$  placées en regard l'une de l'autre sur les parois intérieures de la cuvette. Quand la partie mobile est en haut de sa course, la lamelle est au repos. Si on fait glisser cette partie vers le bas, on étend la lamelle. L'observation optique peut se faire par une fente de la partie mobile, dont le haut est encore juste visible sur la fig. 4, au-dessus de la pince fixe.

La fig. 6 montre l'appareil monté. On y distingue encore en haut devant un frein (F sur la fig. 4) qui s'appuie sur la face antérieure de la partie mobile.

La force motrice nécessaire à l'extension est fournie par le marteau M qui peut glisser sur les guides G. La hauteur totale de ces guides est de 6 mètres et en chute libre le marteau arrive en bas avec une vitesse de 10 m/s. Il frappe sur la partie mobile et l'enfonce brusquement jusqu'au bas de sa course. Une pastille de plomb P, placée sur la partie mobile, dont la forme a été déterminée par tâtonnements, a pour but de transmettre l'effort du marteau, puis lorsque la lamelle est étendue et que A touche le fond de la cuvette, d'absorber l'énergie superflue en s'écrasant. Son aspect est alors P' (fig. 4).

En dosant judicieusement l'action du frein et de la pastille de plomb, on arrive à obtenir un arrêt absolument net de l'extension, sans le moindre rebondissement sur le fond de la cuvette, placée sur une enclume ordinaire de forgeron, qui assure la stabilité de l'ensemble.

D est un diaphragme qui arrête certains rayons parasites et qui peut se placer à l'intérieur même de la cuvette. La cuvette peut être fermée par deux vitres, ce qui rend plus précis le réglage de température, qui est réalisé par une circulation d'eau (contenant de l'alcool pour les températures inférieures à zéro), venant d'un thermostat.

L'appareil étant monté, la lamelle non étendue et le marteau M en haut de sa course, une traction sur la ficelle fixée aux bras du crochet auquel le marteau est suspendu, le libère. Il tombe. En arrivant à environ 30 cm du bas de sa course, il actionne un petit levier qui ouvre un obturateur photographique, puis il étend le caoutchouc et écrase la pastille de plomb.

La lamelle a 3 mm de long au repos, 12 mm étendue. Le marteau pèse 350 gr. et arrive avec une vitesse de 10 m/s au bas de sa course. L'ensemble des pièces mobiles pèse 35 gr. et se trouve donc entraîné presque instantanément avec une vitesse de 9 m/s. L'arrêt, qui se fait sans rebondissement sur le fond en acier de la cuvette est également instantané. La fig. 7 est l'enregistrement photographique du déplacement de la pince mobile. L'extension est pratiquement linéaire, elle est de 300% et se fait en 1/1000 de seconde, donc avec une vitesse linéaire 21 fois plus grande que pour l'appareil décrit par Suhr (loc. cit.). Le calcul et l'expérience montrent que les frottements dûs au frein principalement sont négligeables vis-à-vis de l'énergie cinétique du marteau.

*Dispositif optique.*

Il est monté sur deux bancs d'optique placés de part et d'autre de la cuvette d'extension. La partie antérieure comporte un condensateur C (fig. 8) qui projette l'image d'une lampe à arc S sur la lamelle. Un filtre F de 5 cm d'épaisseur rempli d'une solution de sulfate de cuivre est intercalé dans le trajet lumineux et a pour but d'éviter l'échauffement de la lamelle pendant la courte période d'illumination, et d'absorber la majeure partie des rayons en dehors du domaine d'absorption du colorant utilisé, qui présente une seule bande très large allant de 500 à 300  $m\mu$  et de hauteur à peu près constante (log.  $\epsilon = 4,5$ ) (Suhr, loc. cit.). La lamelle sert ainsi de source secondaire de lumière et c'est la lumière de cette source que la partie postérieure du dispositif optique va analyser.

L'ouverture numérique de la partie antérieure a été choisie très grande ( $f/1,5$ ), tandis que le matériel que nous possédions nous imposait pour la partie postérieure une ouverture très petite ( $f/30$ ). Cette combinaison, qui est équivalente à la combinaison inverse (faisceau incident très étroit — grande ouverture de la partie postérieure), nous dispense de liquide d'immersion qui causerait des troubles dûs aux accélérations énormes des pièces mobiles.

La partie postérieure comporte essentiellement un prisme de Rochon R composé de deux moitiés superposées, et donnant ainsi deux rayons polarisés l'un parallèlement et l'autre perpendiculairement à la direction de l'extension du caoutchouc. Une lentille  $L_1$  placée contre le prisme, projette à la pupille de  $L_2$  l'image de la lamelle de caoutchouc, source de lumière.  $L_2$  est un objectif photographique muni d'un obturateur déclenché

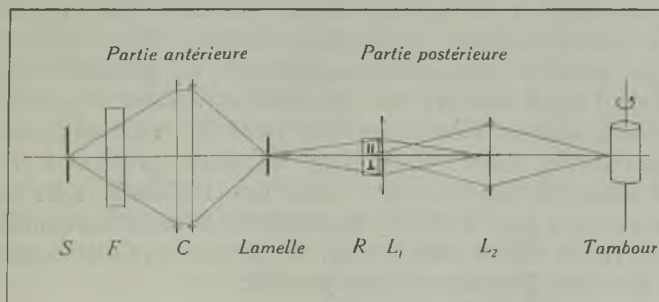


Fig. 8.

Schéma du dispositif optique. Les diaphragmes, écrans et obturateurs ont été omis.

par la chute du marteau. Il projette l'image de R sur le tambour portant le film sensible. Cette image est un petit rectangle lumineux, divisé en deux moitiés, dont l'une est polarisée parallèlement et l'autre perpendiculairement à l'extension. Le tambour tourne

de façon que ces deux parties donnent sur le film deux traînées impressionnées, superposées, et d'intensité égale tant que la lamelle ne présente pas de dichroïsme. Des essais à blanc permettent de contrôler le réglage de l'appareil.

Le tambour est mû par un moteur à vitesse réglable et relié en permanence à un tachymètre, la vitesse étant telle que 1/1000 de seconde s'enregistre sur 1 cm. L'image du prisme de *Rochon* sur le film ayant une largeur de 1 mm., on peut apprécier les variations d'intensité relative d'une plage par rapport à l'autre, ayant une durée de l'ordre de  $10^{-4}$  seconde. Le calcul déjà effectué plus haut permet de se rendre compte que ce dispositif permet d'apprécier une constante de diffusion du colorant inférieure à  $10^{-9}$ .

## 2. Résultats.

Dans les conditions expérimentales qui viennent d'être décrites, il nous a été impossible de mettre en évidence le moindre dichroïsme temporaire, dû à l'orientation du colorant causé par l'extension rapide du caoutchouc, et cela même en refroidissant la lamelle jusqu'à  $-5^{\circ}$ , ce qui devrait avoir pour effet de diminuer la constante de diffusion du colorant dans le caoutchouc.

Alors que pour un parcours de quelques dixièmes de mm., ce colorant a dans le caoutchouc une constante de diffusion de l'ordre de  $10^{-11}$  à  $10^{-12}$ , la micro-diffusion sur un parcours de  $\sim 40 \text{ \AA}$ , s'effectue avec une constante sûrement supérieure à  $10^{-9} \text{ cm}^2/\text{sec}$ .

### c) Conséquences.

Si nous nous cantonnons à la diffusion dans le caoutchouc vulcanisé libre de solvants, nous voyons que si la macrodiffusion d'une grosse molécule est très anormale par rapport à celle du phénol par exemple, la micro-diffusion de cette même molécule se rapproche de plusieurs ordres de grandeur de cette normale. Nous pouvons nous servir de la formule d'*Einstein-Smoluchowski* pour décrire ces phénomènes. Cette formule donne la constante de diffusion  $D$  d'une molécule de rayon  $r$  dans un liquide de viscosité  $\eta$ :

$$D = k \cdot T \cdot \frac{1}{6 \pi \eta r}$$

$k$  étant la constante de *Boltzmann* et  $T$  la température absolue. Il s'agit évidemment d'une extrapolation puisque cette formule, établie sur des considérations hydrodynamiques, n'est rigoureusement valable que pour les suspensions colloïdales de particules sphériques (*J. Perrin*). Cependant on peut facilement constater qu'elle fournit un ordre de grandeur très acceptable pour les solutions moléculaires (p. ex. saccharose dans l'eau), étant entendu qu'il reste un certain arbitraire dans la fixation de  $r$  pour une molécule non sphérique. Mais étant donné que de toutes façons nous serons dans la suite obligés de restreindre le calcul aux ordres de grandeur, nous considérerons l'emploi de cette formule comme justifié.

La relation d'*Einstein-Smoluchowski* nous permet d'interpréter les anomalies de diffusion qui ont été mises en évidence dans la partie expérimentale de ce travail comme des anomalies de viscosité du solvant, le caoutchouc, vis-à-vis de certaines molécules dans certaines conditions. Il peut sembler audacieux d'extrapoler à tel

point la notion de viscosité, dont la définition ordinaire est purement mécanique et macroscopique, pour décrire la diffusion de simples molécules, surtout quand nous parlerons de viscosités qu'on ne peut plus mettre macroscopiquement en évidence. Nous le ferons cependant, puisque dans un liquide ordinaire la viscosité macroscopique permet de décrire les conditions de diffusion, et que la grandeur que nous introduirons sous ce nom, même si elle ne se manifeste plus macroscopiquement, aura toujours la dimension d'une viscosité.

Selon cette conception et d'après la relation d'*Einstein-Smoluchowski*, le caoutchouc ne présente pas la même viscosité vis-à-vis d'une molécule de phénol et d'une molécule de P.M.  $\sim 1000$ , ni vis-à-vis des macro- ou microdéplacements de cette molécule.

Ou encore, la viscosité n'est pas la même dans le domaine nécessité par la diffusion du phénol, ou dans celui employé pour la diffusion d'une grande molécule. Nous entendons sous le terme de domaine nécessité par la diffusion d'une molécule donnée, le volume balayé par un déplacement élémentaire de cette molécule, et puisqu'il s'agit toujours d'ordres de grandeur et que nous ne voulons pas pousser l'analyse trop loin, nous dirons simplement qu'une molécule dont les dimensions linéaires sont de  $x \text{ \AA}$  nécessite pour sa (macro)-diffusion un domaine de l'ordre de grandeur (linéaire) de  $x \text{ \AA}$ .

Ces définitions que nous venons de poser nous permettent de formuler la proposition suivante qui englobe qualitativement les résultats expérimentaux de ce travail et des travaux précédents: *La viscosité du caoutchouc varie suivant la grandeur du domaine envisagé.*

Nous allons maintenant essayer de voir si les théories actuellement en vigueur sur l'élasticité du caoutchouc sont compatibles avec cette proposition.

Un morceau de caoutchouc vulcanisé de dimensions ordinaires a une viscosité infinie puisque si on le déforme, les forces résultant de cette déformation ne s'annulent jamais. Il ne coule pas. D'autre part la liberté du micro-mouvement des molécules qui le composent, qui est un point capital des théories cinétiques de l'élasticité du caoutchouc, suppose que la viscosité dans un très petit domaine soit faible, ou du moins finie. C'est cette notion que nous allons essayer de préciser par des considérations quantitatives.

On sait que pour décrire les propriétés d'un caoutchouc réel, on est obligé de faire intervenir plusieurs mécanismes élastiques, qui se distinguent par leurs modules partiels d'élasticité, qui est leur contribution au module d'élasticité total du caoutchouc après une extension instantanée, et par leurs temps de relaxation<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> W. Kuhn, Z. physikal. Ch. [B] **42**, 1 (1939), et Z. angew. Ch. **52**, 289 (1939); W. Brenschede, Koll. Z. **104**, 1 (1943).

On admet aujourd'hui généralement que ces temps de relaxation ne sont pas groupés par valeurs discrètes, mais plutôt répartis dans plusieurs régions plus ou moins étendues, ou même qu'ils forment un continuum s'étendant de l'infini à des valeurs extrêmement faibles.

Pour les besoins de notre cause, nous allons cependant grouper ces mécanismes en 4 catégories, ce qui nous suffira pour le moment.

α) Module d'élasticité  $E_\alpha = 10^6 - 10^7$ , temps de relaxation  $\lambda_\alpha = \infty$ . C'est le mécanisme le plus important du caoutchouc vulcanisé. Grâce à lui, si on déforme un morceau de caoutchouc, les forces qui prennent naissance ne s'annulent pas. Faisons appel à la théorie cinétique de l'élasticité du caoutchouc. Cette élasticité est fondée sur la liberté des segments de molécule compris entre deux points de fixation. Le temps de relaxation est lié à la vie moyenne des ponts de fixation. Le module d'élasticité est déterminé par le poids moléculaire des segments libres.

Une relation établie par *W. Kuhn*<sup>1)</sup> permet de calculer ce poids *M* connaissant le module d'élasticité *E* et la densité  $\delta$  du haut polymère élastique étudié, *R* étant la constante des gaz parfaits et *T* la température absolue

$$M = 7 R \cdot T \cdot \frac{\delta}{E}$$

Cette relation suppose évidemment que toutes les molécules du corps étudié participent en moyenne également au mécanisme en question. On arrive à l'aide de cette relation, pour les caoutchoucs vulcanisés courants, à des valeurs de *M* de l'ordre de 20 000 et 200 000. D'après ce que l'on sait de la constitution du caoutchouc<sup>2)</sup>, ces poids moléculaires correspondent à des longueurs moyennes libres de 1000 à 10 000 Å.

La distance moyenne *h* entre les extrémités d'une chaîne de cette longueur a été calculée par *W. Kuhn*<sup>3)</sup>. Si *A* est la longueur de l'élément statistique de la chaîne, et *N* le nombre d'éléments dans la longueur de chaîne envisagée :

$$h = A \sqrt{N}$$

Nous pouvons prendre *A* = 20 Å, donc *N* = 50 à 500

$$140 \text{ Å} < h < 440 \text{ Å}$$

Il est évident qu'une molécule dont l'ordre de grandeur serait supérieur à ces dimensions ne pourrait pas traverser les mailles de cette grandeur. Vis-à-vis d'elle, le caoutchouc aurait une viscosité infinie. Par contre une molécule de phénol par exemple pourrait

<sup>1)</sup> *W. Kuhn*, Koll. Z. **76**, 258 (1936).

<sup>2)</sup> Voir *K. H. Meyer* et *H. Mark*, loc. cit. p. 116 ff.

<sup>3)</sup> *W. Kuhn*, Koll. Z. **68**, 2 (1934).





Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.

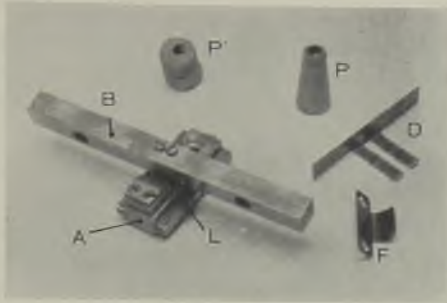


Fig. 4.

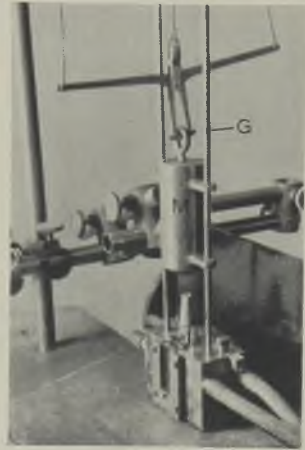


Fig. 6.



Fig. 5.

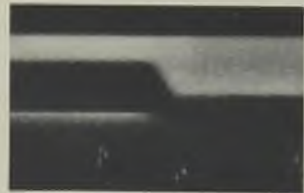


Fig. 7.

Fig. 1. Double diffusion de la lumière dans le caoutchouc étendu à 300%. La  $\updownarrow$  indique la direction de l'extension.

Fig. 2. Dichroïsme du caoutchouc étendu (300%). (Intégration de la lumière diffusée.)

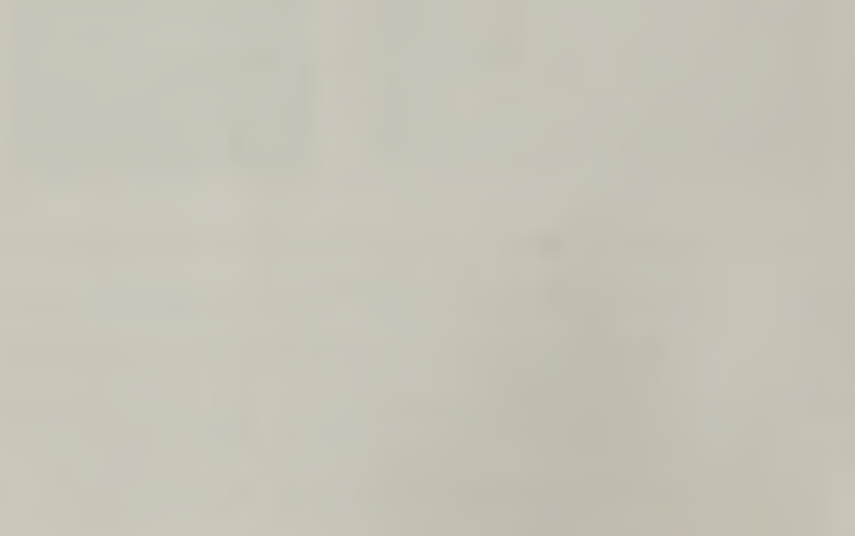
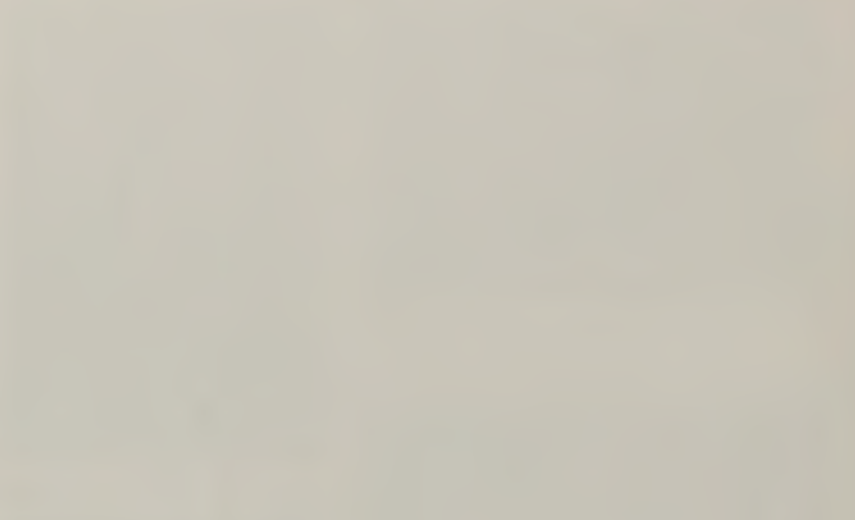
Fig. 3. Le caoutchouc étendu à 300% ne présente à la température de 60° ni dichroïsme ni double diffusion.

Fig. 4. Appareil d'extension démonté: les parties internes.

Fig. 5. Appareil d'extension démonté: la cuvette.

Fig. 6. Appareil d'extension monté.

Fig. 7. Déplacement en fonction du temps de la partie mobile de l'appareil d'extension. En abscisse, le temps, de gauche à droite (7 mm = 1/1000 sec.). En ordonnée, le déplacement (grandeur naturelle).



P  
C

P  
é  
ch  
q  
m

V  
la  
ce  
so  
tan  
ten

o

p é  
i 0,  
mili  
m  
rue  
dis

80  
8

r  
-

diffuser à l'intérieur d'un tel réseau pratiquement comme s'il n'existait pas. La viscosité du caoutchouc pour elle serait faible.

$\beta$ )  $E_{\beta_0} = 10^2$  à  $10^6$ ;  $\lambda_{\beta} = 10$  à  $10^4$  sec.

Ces mécanismes<sup>1)</sup> sont responsables de la plasticité du caoutchouc, qui est en général un défaut, qui se fait sentir même dans ses applications technologiques, du fait de la valeur relativement grande de  $\lambda$ . Le module partiel  $E_{\beta_0}$  est, pour les caoutchoucs vulcanisés, inférieur à  $E_{\alpha}$ . C'est, si l'on veut, un résidu de l'état non vulcanisé du caoutchouc, la vulcanisation ayant superposé au système  $\beta$ , prépondérant dans le caoutchouc non vulcanisé, un système de ponts de soufre, créant le système  $\alpha$  qui devient alors le principal.

Les modules  $E_{\beta_0}$  étant plus faibles que  $E_{\alpha}$ , ces mécanismes ne peuvent rien changer aux conditions de diffusion des molécules étrangères déterminées par les systèmes  $\alpha$ . Des valeurs de  $E_{\beta_0}$  on conclut en effet soit que les éléments libres de chaîne sont plus longs que pour les mécanismes  $\alpha$ , soit que seulement une petite partie des molécules participent aux mécanismes  $\beta$ .

C'est à ces mécanismes que l'on doit la haute viscosité que *Van der Wyk*<sup>2)</sup> a mesurée en étudiant l'amortissement des oscillations de torsion d'un fil de caoutchouc. Une relation due à *Maxwell* permet en effet de déterminer la viscosité d'un milieu connaissant son module de torsion  $G_0$ , mesuré après une déformation instantanée, et son temps de relaxation  $\lambda$ , à la condition qu'il n'y ait qu'un temps de relaxation dans ce milieu

$$\eta = G_0 \cdot \lambda$$

ou bien si on veut introduire le module d'élasticité  $E_0$ :

$$\eta = \frac{1}{1+\mu} \cdot E_0 \cdot \lambda$$

$\mu$  étant le coefficient de *Poisson*, qui, pour le caoutchouc, est égal à 0,5<sup>3)</sup>. Cette relation ne peut être appliquée telle quelle dans un milieu où plusieurs temps de relaxation existent. *W. Kuhn*<sup>4)</sup> a montré que dans ce cas il fallait faire la somme des différentes viscosités partielles, calculées séparément pour chaque mécanisme distinct:

$$\eta = \sum \eta_i = \sum G_{i0} \cdot \lambda_i = \frac{1}{1+\mu} \sum E_{i0} \cdot \lambda_i$$

Les valeurs de  $E_{\beta_0}$  et  $\lambda_{\beta}$  sont telles que la viscosité partielle  $\eta_{\beta}$  soit de l'ordre de  $10^6$  poises, valeur qui correspond à celle mesurée par *Van der Wyk*. Or, nous verrons que le facteur  $\eta_{\beta}$  est

<sup>1)</sup> Nombreuses publications techniques et p. ex. *V. Hauk et W. Neumann*, *Naturwiss.* **26**, 365 (1938).

<sup>2)</sup> *van der Wyk*, *Rubber techn. conf.* London 1938, cité d'après *K. H. Meyer et H. Mark*, loc. cit., p. 156.

<sup>3)</sup> *Memmler*, *Handbuch der Kautschukwissenschaft*, 1. vol., Leipzig 1930, p. 439.

<sup>4)</sup> loc. cit.

de loin la plus importante de toutes les viscosités partielles (si on néglige  $\eta_\alpha = \infty$ , mais p. ex. dans les mesures d'amortissement les mécanismes  $\alpha$  jouent seulement le rôle de mécanismes élastiques). Bien qu'incapables de modifier la viscosité dans de petits domaines du caoutchouc, les mécanismes  $\beta$  sont responsables de la forte viscosité qui amortit ses oscillations mécaniques macroscopiques.

$$\gamma) E\gamma_0 = 10^7 \text{ à } 10^8, \lambda_\gamma = 10^{-3} \text{ à } 10^{-4}.$$

Nous réunissons dans ce groupe des mécanismes qui ont été souvent étudiés ces dernières années<sup>1)</sup>, qui relaxent relativement vite mais dont les modules partiels sont  $\sim 10$  fois plus élevés que  $E_\alpha$ . Nous pouvons conduire les mêmes calculs que pour  $\alpha$ . La longueur des éléments libres de chaîne est comprise entre 150 et 1500 Å — la distance moyenne entre les extrémités,  $h$  sera encore plus faible, environ 50 à 150 Å<sup>2)</sup>. Les domaines de cette dimension sont de l'ordre de grandeur de ceux nécessités par la macro-diffusion du colorant dont nous nous sommes servi dans nos essais, et c'est la viscosité partielle  $\eta_\gamma$  qui sera la première à déterminer les conditions de diffusion des molécules de cet ordre de grandeur. La relation de *Maxwell* nous donne

$$\eta_\gamma \sim 10^4 \text{ poises}$$

Le paragraphe suivant nous montrera que l'on est obligé d'admettre que cette viscosité  $\eta_\gamma$  est même la seule qui joue pour ces molécules un rôle important — tout se passe donc comme si la macro-diffusion de notre colorant s'effectuait dans un liquide simple de viscosité  $\eta = 10^4$  poises. Et la relation d'*Einstein-Smoluchowski* donne pour une telle molécule et une telle viscosité une constante de diffusion de l'ordre de  $10^{-12}$ , en très bon accord avec ce qui a été observé.

$\delta)$  Dans ce groupe nous englobons tous les mécanismes à temps de relaxation plus courts que  $10^{-4}$  sec., sur lesquels les données expérimentales directes manquent presque absolument. Il doit y exister des modules partiels très grands, comme dans tous les corps, même liquides, de l'ordre de  $10^{11}$  <sup>3)</sup>, mais les temps de relaxation sont assez courts pour que la viscosité soit de l'ordre de  $\sim 10$  poises.

Cette valeur nous est fournie par la grandeur  $10^{-8}$  cm<sup>2</sup>/sec de la constante de diffusion des petites molécules comme le phénol ou les solvants organiques à l'intérieur du caoutchouc. D'autre part elle est du même ordre de grandeur que la viscosité de hauts poly-

<sup>1)</sup> W. Brenschede, loc. cit. et Alexandrow et Lazurkin, Acta physicoch. URSS. 12, 647, 669 (1940).

<sup>2)</sup> Dans notre manière de concevoir la structure du caoutchouc ces mécanismes seraient dûs à un grand nombre de liaisons intermoléculaires de caractère instable, qui se superposent au système stable des ponts de soufre dûs à la vulcanisation, et plus rares.

<sup>3)</sup> Voir à ce sujet W. Kühn, Z. angew. Ch., 52, 289 (1939).

mères liquides où les ponts intermoléculaires, responsables de l'élasticité du caoutchouc, n'existent pas.

Et c'est également dans des domaines dont l'ordre de grandeur est supérieur à celui des mécanismes  $\delta$  mais inférieur à celui des mécanismes  $\gamma$  que s'effectue la micro-diffusion de notre colorant. C'est pourquoi nous n'avons pas pu mettre en évidence une orientation de la molécule par une extension rapide. Il serait intéressant de trouver un dispositif qui permettrait d'étendre la lamelle 10 à 100 fois plus vite.

D'après cette conception de l'état intérieur du caoutchouc, une molécule dissoute de quelques centaines d'Å n'y diffuse pas du tout — une molécule de quelques dizaines d'Å comme dans un milieu de viscosité  $\sim 10^4$  poises; une molécule de quelques Å comme dans un liquide de viscosité égale à 10 poises. C'est une conséquence de la liberté croissante des micromouvements browniens dans le caoutchouc.

Nous avons trouvé une confirmation intéressante de cette manière de voir dans la façon dont notre colorant diffuse dans le caoutchouc non vulcanisé. Alors que dans le caoutchouc vulcanisé sa constante de diffusion est de  $10^{-11}$  à  $10^{-12}$  cm<sup>2</sup>/sec, elle est de  $10^{-9}$  à  $10^{-10}$  dans le caoutchouc non vulcanisé. Ceci traduit le fait que, comme la vulcanisation introduit dans le caoutchouc des liaisons intermoléculaires stables, elle élève la viscosité dans un domaine donné en augmentant les modules d'élasticité et les temps de relaxation.

Nous tenons à faire remarquer ici que la répartition des différents mécanismes en 4 groupes distincts est purement arbitraire et n'a été introduite que dans un but de simplification. On sait en effet que l'ensemble des temps de relaxation du caoutchouc forme un continuum s'étendant de valeurs très faibles jusqu'à l'infini, point sur lequel *Brenschede* (loc. cit.) a particulièrement insisté, mais sur lequel *W. Kuhn* avait déjà attiré l'attention<sup>1)</sup>. Dans ce cas il est clair que la viscosité varie d'une façon continue avec la grandeur du domaine envisagé au lieu de la décroissance par valeurs discrètes que nous avons décrite. Si nous avions cherché à faire un calcul plus rigoureux que nous ne l'avons fait, notre simplification n'aurait évidemment plus été possible, mais dans ce cas nous nous serions heurtés à de nombreuses difficultés tenant d'une part au manque de résultats expérimentaux et d'autre part à la complexité des phénomènes étudiés.

#### RÉSUMÉ.

L'étude de la mobilité des molécules étrangères dissoutes dans le caoutchouc fournit un moyen commode d'étudier l'agitation thermique à petite ou à grande échelle qui existe dans le sein de ce corps.

<sup>1)</sup> *W. Kuhn*, Z. angew. Ch. 52, 292—293 (1939).

Les théories actuelles de l'élasticité du caoutchouc montrent l'importance de cette étude.

Après avoir mis de côté deux effets dûs à la cristallisation du caoutchouc qui peuvent gêner l'expérimentateur, nous avons montré en étudiant optiquement l'orientation temporaire d'un colorant de poids moléculaire élevé dissous dans une lamelle de caoutchouc que l'on étend brusquement, que la constante de diffusion de ce corps au sein du caoutchouc dépend fortement du parcours sur lequel la molécule diffuse.

En combinant ce fait et les résultats antérieurement acquis sur la diffusion des substances étrangères dissoutes dans le caoutchouc, nous sommes arrivés à la conclusion que la viscosité du caoutchouc doit varier selon la grandeur du domaine que l'on y envisage.

Nous avons rattaché ce fait aux théories actuelles de l'élasticité du caoutchouc.

Ce travail a été fait en 1943—44 à l'Institut de Chimie-Physique de l'Université de Bâle. Je tiens à remercier ici M. le Prof. *W. Kuhn* de l'hospitalité qu'il m'a accordée, des conseils qu'il m'a prodigués et de l'intérêt constant qu'il a porté à mon travail, ainsi que M. le Dr. *F. Grün*, avec qui les différents points expérimentaux et théoriques ont été longuement discutés, et à qui je suis redevable de nombreuses suggestions.

Institut de chimie physique de l'Université de Bâle.

### 197. Über Violaxanthin, Auroxanthin und andere Pigmente der Blüten von *Viola tricolor*

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

(20. X. 44.)

In den Blüten des gelben Stiefmütterchens (*Viola tricolor*) hatten wir neben dem von *R. Kuhn* und *A. Winterstein*<sup>1)</sup> darin entdeckten Violaxanthin noch zwei weitere Carotinoide aufgefunden<sup>2)</sup>: Auroxanthin  $C_{40}H_{56}O_4$  und Flavoxanthin  $C_{40}H_{56}O_3$ . Nunmehr konnte ein viertes Pigment daraus isoliert werden, das nach Analyse, Schmelzpunkt, Löslichkeit, Krystallform und Absorptionsspektrum (in Alkohol) mit Blattzanthophyll  $C_{40}H_{56}O_2$  identisch ist. Wahrscheinlich kommt auch Zeaxanthin in kleiner Menge in den Blüten vor (vgl. weiter unten).

Der eine von uns hatte früher mit *U. Solmssen*<sup>3)</sup> durch Hydrierungsversuche wahrscheinlich gemacht, dass Violaxanthin 10 Mol

<sup>1)</sup> B. **64**, 326 (1931).      <sup>2)</sup> Helv. **25**, 1624 (1942).

<sup>3)</sup> *P. Karrer* und *U. Solmssen*, Helv. **19**, 1024 (1936).

Wasserstoff aufnimmt. Diese Hydrierungszahl-Bestimmungen wurden jetzt nachgeprüft. Die neuen Versuchsergebnisse decken sich mit den früheren. Ebenfalls neu bestätigt haben wir die frühere<sup>1)</sup> Angabe, dass Perhydro-violaxanthin von Bleitetra-acetat in Eisessig nicht oxydiert wird, somit keine vicinalen Hydroxylgruppen enthält. Zum Vergleich führten wir eine Oxydation von Perhydro-azafrin mit Bleitetra-acetat aus, das nach *R. Kuhn* und *Deutsch*<sup>2)</sup> durch dieses Reagens oxydativ aufgespalten wird. In Übereinstimmung damit fanden wir einen Verbrauch von 0,92 Atomen aktivem Sauerstoff pro Mol Perhydro-azafrin.

Violaxanthin besitzt 4 Sauerstoffatome<sup>3)</sup>, von denen sich höchstens 2—3 bei der *Zerewitinoff*-Bestimmung als Hydroxylgruppen angehörend zu erkennen gaben<sup>4)</sup>. Um näheren Einblick in die Natur dieser OH-Gruppen zu erhalten, veresterten wir den Farbstoff mit Benzoylchlorid und p-Nitrobenzoylchlorid und erhielten ein schön krystallisiertes Dibenzooat und ein ebenso gut krystallisiertes Di-p-nitrobenzooat des Violaxanthins. (Die Acetylierung des Farbstoffs verläuft wenig einheitlich.) Die beiden Violaxanthin-Ester besitzen im sichtbaren Gebiet die gleichen Absorptionsbanden wie Violaxanthin selbst. Bei der Verteilung zwischen Petroläther und Methanol verhalten sie sich vorwiegend epiphasisch und geben mit konz. wässriger Salzsäure keine Blaufärbung. *R. Kuhn* und *A. Winterstein* hatten angegeben, dass auch die in den Stiefmütterchenblüten vorhandenen Ester des Violaxanthins, im Gegensatz zum Violaxanthin selbst, die blaue Farbreaktion mit konz. wässriger Salzsäure nicht zeigen.

Im Violaxanthin-dibenzooat haben wir die noch vorhandenen aktiven H-Atome nach *Zerewitinoff* nachzuweisen versucht. Hierbei konnte kein aktiver Wasserstoff festgestellt werden. Zum Vergleich wurden entsprechende Messungen mit Azafrin-methylester  $C_{23}H_{40}O_4$  vorgenommen, der bekanntlich zwei tertiäre OH-Gruppen enthält. Gefunden: 0,59% aktiver Wasserstoff (bei Zimmertemperatur). Für 2 aktive H-Atome berechnet: 0,45%.

Violaxanthin-dibenzooat enthält somit keine mittels der Methode von *Zerewitinoff* nachweisbaren Hydroxylgruppen. Eine Nachprüfung der mit derselben Methode im Violaxanthin selbst erkennbaren OH-Gruppen ergab zu wiederholten Malen etwa 2,5—2,6.

Aus diesen Ergebnissen müssen wir folgern, dass im Violaxanthin eines, wahrscheinlich aber beide in ihrer Funktion noch nicht erkannten Sauerstoffatome nicht Hydroxylgruppen angehören. Der vorwiegend epiphasische Charakter des Dibenzooats bei der Verteilungsprobe schliesst 2 freie OH-Gruppen sicher aus.

1) *P. Karrer, A. Zubrys, R. Morf, Helv. 16, 977 (1933).*

2) *B. 66, 883 (1933).*      3) *B. 64, 326 (1931).*

4) *P. Karrer, R. Morf, Helv. 14, 1044 (1931).*

Die Beurteilung der Funktion der Sauerstoffatome ist um so schwieriger, als Violaxanthin eine auch für einen Carotinoidfarbstoff ungewöhnliche Labilität und Zersetzlichkeit zeigt. Schon durch chromatographische Adsorption wird stets ein Teil der Verbindung zerstört; die weitgehende Zersetzung bei der Acetylierung in Pyridin mit Essigsäure-anhydrid wurde oben erwähnt. Als man Hydroxylamin bei Zimmertemperatur auf Violaxanthin einwirken liess, um eine allenfalls vorhandene Carbonylgruppe nachzuweisen, musste man auch bei dieser Reaktion eine weitgehende Veränderung feststellen; eine geringe Menge Violaxanthin konnte zurückgewonnen werden, der Hauptteil des Umsetzungsproduktes war eine nicht zur Krystallisation zu bringende Substanz mit 0,7% Stickstoffgehalt. (Für ein Monoxim des Violaxanthins berechnen sich 2,3% N.) Der Versuch gibt daher keinen sicheren Aufschluss über An- oder Abwesenheit einer Carbonylgruppe. Ein Oximierungsversuch in der Hitze hatte ein ähnliches Ergebnis, nur war hier das gesamte Violaxanthin in das amorphe, ca. 0,7% Stickstoff enthaltende Umwandlungsprodukt übergegangen.

Sehr eigentümlich und bemerkenswert ist das Verhalten des Violaxanthins gegen verdünnte Mineralsäuren. Wenn man zur Lösung des Farbstoffs in Methanol so viel wässrige Salzsäure setzt, dass die Flüssigkeit ca. 0,2% HCl enthält, tritt momentan Farbumschlag nach Grün ein; giesst man dann nach einer Minute in überschüssige Natronlauge, so wird die Farbe der Lösung wieder gelb. Diese Lösung enthält indessen kein Violaxanthin mehr, sondern drei verschiedene andere Pigmente, die sich chromatographisch trennen und durch Krystallisation rein gewinnen lassen. Das in der Adsorptionssäule zuoberst liegende Pigment ist Auroxanthin  $C_{40}H_{56}O_4$ , dann folgt ein bisher unbekanntes Carotinoid  $C_{40}H_{56}O_3$ , dem wir den Namen Mutatoxanthin<sup>1)</sup> geben, und schliesslich beobachteten wir regelmässig in der dritten Farbzone etwas (sehr wenig) Zeaxanthin.

Es ist selbstverständlich, dass wir für diese Versuche, die etwa ein Dutzend mal mit dem gleichen Resultat wiederholt wurden, nur chromatographisch gut gereinigtes Violaxanthin verwendeten, welches ein sehr scharfes Absorptionsspektrum besass und aus dem sich beim Chromatographieren keine Begleitpigmente mehr abtrennen liessen. Wir glauben daher, dass der mögliche Einwand, die nach der Säureeinwirkung auf Violaxanthin erhaltenen Farbstoffe könnten im Violaxanthinpräparat vorher enthalten gewesen sein, wenig Wahrscheinlichkeit für sich hat. Dagegen sprechen auch die relativ grossen Ausbeuten an den beiden Pigmenten: aus 100 mg chromatographiertem Violaxanthin isolierten wir nach der Säureeinwirkung jeweilen ca. 5–10 mg

<sup>1)</sup> Von mutare abgeleitet, im Hinblick darauf, dass es anscheinend Umwandlungsprodukt des Violaxanthins ist.



krystallisiertes Auroxanthin und ca. 10 mg krystallisiertes Mutatoxanthin; da durch die chromatographische Reinigung und durch das Umkrystallisieren mindestens 50% Verluste eintreten, kann man die tatsächlich entstandenen Mengen von Auroxanthin und Mutatoxanthin mindestens auf das Doppelte der angegebenen Ausbeuten veranschlagen. Etwas anders liegen die Verhältnisse bezüglich des ebenfalls, aber nur in sehr kleinen Mengen auftretenden Zeaxanthins; hier können wir die Möglichkeit nicht ausschliessen, dass es sich in diesen geringen Quantitäten im chromatographierten Violaxanthin erhalten hatte und aus irgendwelchen Gründen von diesem nicht hatte trennen lassen. Wir konnten Zeaxanthin bei der chromatographischen Reinigung des Violaxanthins aus *Viola tricolor* bisher nie nachweisen.

Die Entstehung von Auroxanthin, Mutatoxanthin und vielleicht Zeaxanthin bei der Einwirkung sehr verdünnter Mineralsäure (statt Salzsäure kann mit demselben Erfolg z. B. auch Perchlorsäure benützt werden) ist eine so eigenartige Reaktion, dass wir auch die Möglichkeit noch ins Auge fassen, dass im Violaxanthin irgend eine Verbindung der zwei oder evtl. drei nach der Säureeinwirkung auftretenden Pigmente vorliegt, die erst durch die Säure aufgespalten wird; wahrscheinlich erscheint uns diese Hypothese allerdings nicht.

Mit Bestimmtheit können wir sagen, dass krystallisiertes Violaxanthin aus *Viola tricolor*, aus dem wir beim Chromatographieren keine anderen Farbstoffe mehr abtrennen konnten und welches alle in der Literatur für dieses Pigment beschriebenen Eigenschaften besass, bei der Einwirkung 0,2-proz. methanolischer wässriger Salzsäure oder anderer Mineralsäuren zerstört wird und dass sich hierauf drei neue Carotinoide isolieren lassen: Auroxanthin, Mutatoxanthin und (sehr wenig) Zeaxanthin.

Da weder die Konstitution des Violaxanthins noch diejenige des Auroxanthins oder Mutatoxanthins heute bekannt ist, fehlt z. Z. die Möglichkeit, den Übergang des Violaxanthins in die anderen Farbstoffe konstitutionschemisch zu diskutieren und zu verstehen. Wir haben aber versucht, zur Konstitutionsaufklärung des Auroxanthins und Mutatoxanthins, soweit es die kleinen zur Verfügung stehenden Mengen erlaubten, weitere experimentelle Befunde beizubringen.

Im Auroxanthin  $C_{40}H_{56}O_4$  lassen sich nur 2 Sauerstoffatome mit der Methode von *Zerewitinoff* als Hydroxylgruppen nachweisen. Veresterungen des Farbstoffs verlaufen wenig glatt. Über die Natur der restlichen zwei Sauerstoffatome des Auroxanthins kann man noch nichts aussagen.

Wir haben früher<sup>1)</sup> mitgeteilt, dass Auroxanthin bei der katalytischen Reduktion 9 Mol  $H_2$  aufnimmt. Ob daraus die Schlussfol-

<sup>1)</sup> Helv. 27, 320 (1944).

gerung gezogen werden darf, dass Auroxanthin 9 Äthylendoppelbindungen enthält, ist indessen nicht sicher, denn der eine von uns hat zusammen mit *E. Jucker* neuerdings festgestellt, dass auch äthylenoxydische Gruppen in Carotinoiden unter Aufnahme von 1 Mol  $H_2$  hydriert werden. Falls Auroxanthin — worüber nichts bekannt ist — eine solche äthylenoxydische Gruppe enthalten sollte, würde durch diese 1 Mol  $H_2$  bei der Hydrierung verbraucht.

Das neue Carotinoid Mutatoxanthin  $C_{40}H_{56}O_3$  hat dieselbe Bruttoformel wie Flavoxanthin, dem es auch im Aussehen und in den Löslichkeitsverhältnissen sehr ähnlich ist. Zwischen beiden Pigmenten besteht aber ein nicht unbeträchtlicher Unterschied im Absorptionsspektrum; Mutatoxanthin absorbiert längerwellig.

	Mutatoxanthin			Flavoxanthin		
Absorpt.-max. in Schwefelkohlenstoff . . . . .	488	459	431 $m\mu$	478	447,5	420 $m\mu$
„ „ „ Äthylalkohol . . . . .	457	427	$m\mu$	450	421	$m\mu$
„ „ „ Benzol . . . . .	468	439	$m\mu$	458,5	430	$m\mu$
„ „ „ Petroläther . . . . .	456	426	$m\mu$	450	421	$m\mu$
„ „ „ Chloroform . . . . .	468	437	$m\mu$	458	429,5	$m\mu$
„ „ „ Pyridin . . . . .	473	443	$m\mu$	—	—	

Mutatoxanthin schmilzt bei  $177^\circ$ . Es krystallisiert in zu Drusen vereinigten kleinen Nadeln. Die Verbindung enthält mindestens 2 Sauerstoffatome als Hydroxylgruppen, die sich nach *Zerewitinoff* nachweisen lassen; gefunden wurden 2,3 aktive H-Atome. Bei der Mikrohydrierung nimmt Mutatoxanthin 10 Mol  $H_2$  auf.

Die Ergebnisse der Einwirkung sehr verdünnter Säure auf Violaxanthin scheinen uns auch in anderer Hinsicht von Interesse. In einer grösseren Abhandlung „Cis-trans Isomerization and Stereochemistry of Carotenoids and Diphenylpolyens“ gibt *L. Zechmeister*<sup>1)</sup> eine Zusammenfassung über Untersuchungen, welche die Darstellung cis-trans-isomerer Carotinoide betreffen. Durch Erhitzen oder Belichten oder Einwirkung von Jod oder Einwirkung von Säuren soll die Mehrzahl der bekannten, natürlichen, stabilen Carotinoidfarbstoffe in zahlreiche labile cis-trans-isomere Formen verwandelt werden können. Diese weitgehenden Schlussfolgerungen werden gezogen, obwohl die zahlreichen neuen Isomeren in den seltensten Fällen isoliert, und bezüglich ihrer Konstitution nicht untersucht worden sind. Was sich bei einem Carotinoid unter der Wirkung von Säuren in Wirklichkeit abspielen kann, lehrt das Beispiel des Violaxanthins. Unseres Erachtens kann die Existenz der zahlreichen „neuen Stereoisomeren“ der Carotinoide erst anerkannt werden, wenn jede einzelne

<sup>1)</sup> Chem. Reviews 34, 267 (1944).

dieser Verbindungen rein, krystallisiert, analysiert und bezüglich der Konstitution untersucht vorliegt.

Der *Stiftung für wissenschaftliche Forschung* an der Universität Zürich danken wir verbindlichst für die Unterstützung dieser Untersuchung.

### Experimenteller Teil.

#### Violaxanthin-di-p-nitrobenzoat.

50 mg Violaxanthin werden in 5 cm<sup>3</sup> trockenem Pyridin mit 50 mg p-Nitrobenzoylchlorid 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Zersetzung durch wässrige Natriumbicarbonatlösung und Krystallisation des ausgefallenen Esters aus Benzol. Smp. 208° unter Zersetzung (unkorr., im evakuierten Röhrchen).

$C_{54}H_{62}O_{11}N_2$	Ber. C	72,12	H	6,95	N	3,12%
$C_{54}H_{64}O_{11}N_2$	Ber. „	71,96	„	7,16	„	3,11%
	Gef. „	72,35	„	7,21	„	3,13%

#### Violaxanthin-di-benzoat.

Darstellung analog der vorherbeschriebenen Verbindung. Krystallisation aus Benzol-Methanol-Gemisch. Smp. 217° (unkorr., im evakuierten Röhrchen).

$C_{34}H_{64}O_6$	Ber. C	80,14	H	7,91%
$C_{34}H_{66}O_6$	Ber. „	79,94	„	8,20%
	Gef. „	79,73	„	8,05%

Nach der Methode von *Zerewitinoff* liess sich kein aktiver Wasserstoff nachweisen.

#### Einwirkung von Säure auf Violaxanthin.

Wenn man eine Lösung von etwas Violaxanthin in Methanol mit einer kleinen Menge starker Salzsäure versetzt, schlägt die Farbe sofort von Orange nach Blaugrün um. Die entstandene Verbindung, wahrscheinlich ein Carbeniumsalz, lässt sich durch Zusatz von Lauge nicht mehr in Violaxanthin zurückverwandeln. Die Lösung, jetzt hellgelb gefärbt, zeigt ein ziemlich scharfes Spektrum mit Absorptionsmaxima bei 453 und 424 m $\mu$  (Schwefelkohlenstoff). Sowohl die Bildung des Säureadduktes als auch die Hydrolyse, bzw. die entsprechenden Farbumschläge, erfolgen momentan. Die Einwirkungszeit der Säure kann von 1 Sekunde bis zu 24 Stunden variiert werden, ohne dass sich im Spektrum der erhaltenen Lösung wesentliche Unterschiede feststellen lassen. Verwendet man statt Salzsäure 70-proz. Perchlorsäure, so ergibt sich ein längerwelliges, weniger scharfes Spektrum mit Absorptionsmaxima bei 487 und 458 m $\mu$  (Schwefelkohlenstoff).

Auf Grund dieser Vorversuche haben wir zahlreiche Ansätze von je 100 mg Violaxanthin mit Salzsäure und weitere 100 mg mit Perchlorsäure behandelt und die Reaktionsprodukte nach der Alkalibehandlung chromatographisch getrennt. Das verwendete Violaxanthin war durch Adsorption an Zinkcarbonat aus Benzollösung gereinigt. Es zeigte sich, dass sich nach der Behandlung mit beiden Säuren 3 Farbstoffe gewinnen liessen, von denen der eine mit Auroxanthin und der zweite mit Zeaxanthin identisch war, während im dritten ein bisher unbekannter Körper der Bruttoformel  $C_{40}H_{56}O_3$  und den Absorptionsmaxima 488, 459 m $\mu$  (in Schwefelkohlenstoff) vorlag (Mutatoxanthin).

#### Ausführung der Versuche:

100 mg Violaxanthin wurden in 70 cm<sup>3</sup> reinem Methanol gelöst und bei Zimmertemperatur mit 1 cm<sup>3</sup> 20-proz. wässriger Salzsäure versetzt. Die Lösung färbte sich sofort tiefgrün und wurde nach 1 Minute mit überschüssiger methanolischer Kalilauge unter starkem Umschwenken alkalisch gemacht, und zwar so, dass der Farbumschlag nach Gelb in der ganzen Lösung möglichst gleichzeitig erfolgte. Hierauf hat man mit Äther verdünnt und wiederholt mit Wasser gewaschen. Die Ätherlösung wurde im Vakuum

zur Trockene verdampft, der harzige Rückstand in Benzol aufgenommen und unter Stickstoff an einer Säule von Zinkcarbonat ( $3 \times 15$  cm) adsorbiert. Nach längerem Entwickeln mit Benzol erhielt man folgende gut getrennte Zonen:

1. 2—3 cm, hellgelb, nach unten scharf durch einen bräunlichen Rand begrenzt, ohne scharfe Absorptionsbanden
2. 3—4 cm, hellgelb, Absorptionsmaxima in  $\text{CS}_2$  453, 423  $\mu\mu$ ;
3. 1—2 cm, orange, Absorptionsmaxima in  $\text{CS}_2$  488, 559  $\mu\mu$ ;
4. 1 cm, hellrot, Absorptionsmaxima in  $\text{CS}_2$  518, 488  $\mu\mu$ ;

Eine hellgelbe und eine hellrote Zone, beide sehr schwach und ohne scharfes Absorptionsspektrum, wurden durchgewaschen.

Die Schichten 2, 3 und 4 haben wir einzeln mit Methanol-Äther 1:10 eluiert, den Äther mit Wasser wiederholt gewaschen und im Vakuum zur Trockene verdampft.

Der Eindampfungsrückstand von Schicht 2 wurde in wenig 90-proz. Methanol gelöst und die Lösung auf wenige  $\text{cm}^3$  eingengt. Den beim Stehen im Eisschrank auskristallisierten Farbstoff haben wir abgenutscht und aus Methanol umkristallisiert. Ausbeute 5—10 mg pro Ansatz. Das Produkt schmilzt bei  $191\text{—}192^\circ$  (unkorr., i. V.) und lässt sich im Mischchromatogramm nicht von Auroxanthin trennen. Es kristallisiert wie dieses aus Methanol in feinen gelben Nadeln und verhält sich gegen verdünnte Salzsäure gleich.

$\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_4$	Ber. C 79,94	H 9,41%
$\text{C}_{40}\text{H}_{58}\text{O}_4$	Ber. „ 79,70	„ 9,72%
	Gef. „ 79,49	„ 9,37%

Schicht 3 wurde wie oben aufgearbeitet und lieferte das gut kristallisierende Mutoxanthin vom Smp.  $177^\circ$ . Ausbeute: ca. 10 mg.

$\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_3$	Ber. C 82,05	H 9,65%
	Gef. „ 82,22; 81,98	„ 9,88; 9,79%

Die Bestimmung des aktiven Wasserstoffs nach *Zerewitoff* ergab 2,3 akt. Wasserstoff-Atome (0,39%).

Bei der Mikrohydrierung nahmen 3,87 mg bei  $16^\circ$  und 725 mm  $1,63$   $\text{cm}^3$  Wasserstoff auf, was 10,0 Doppelbindungen entspricht.

Eine Lösung des Farbstoffes in Äther gibt mit 25-proz. Salzsäure nach einigen Minuten eine schwache Blaufärbung.

Schicht 4 lieferte 2 bis 3 mg Zeaxanthin, Smp.  $206^\circ$ .

$\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2$	Ber. C 84,43	H 9,95%
	Gef. „ 83,95	„ 9,86%

Die hier angegebenen Ausbeuten an reinen Farbstoffen sind viel kleiner als die wirklich entstehenden Mengen, da besonders beim Auroxanthin die Verluste beim Chromatographieren und Krystallisieren sehr gross werden. Insgesamt dürften etwa 50% des Violaxanthins in Auroxanthin und den neuen Farbstoff umgewandelt werden. Der Rest, der grösstenteils in der Schicht 1 des Chromatogramms festgehalten wird, konnte nicht in identifizierbarer Form isoliert werden.

Chemisches Institut der Universität Zürich.

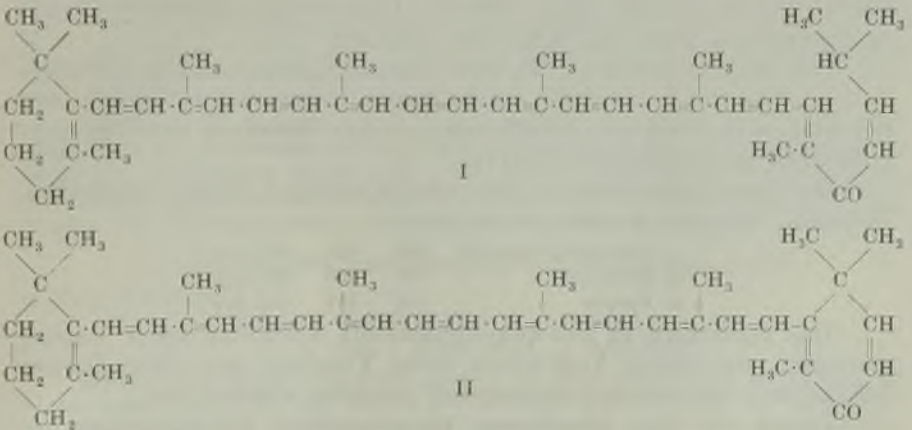
198. Beitrag zur Kenntnis der Carotinoide aus *Oscillatoria rubescens*

von P. Karrer und J. Rutschmann.

(20. X. 44.)

Aus der Alge *Oscillatoria rubescens* haben *J. Heilbron* und *Lythgoe*<sup>1)</sup> zwei Carotinoidfarbstoffe, Myxoxanthin und Myxoxanthophyll isoliert. Für ersteres fanden sie die Zusammensetzung  $C_{40}H_{54}O$  und stellten die Konstitutionsformel I auf, die sich auf verschiedene Untersuchungsergebnisse stützt. Myxoxanthophyll entspricht nach der Arbeit der genannten Forscher der Zusammensetzung  $C_{40}H_{56}O_7$ ; weiter reicht die Kenntnis dieses Pigments zur Zeit nicht.

Wir haben die Farbstoffe von *Oscillatoria rubescens* ebenfalls einer Untersuchung unterworfen und können bezüglich Myxoxanthin und Myxoxanthophyll die Befunde von *Heilbron* und *Lythgoe* bestätigen. Das schön krystallisierte Myxoxanthin gab Analysenwerte, die am besten mit der vorgeschlagenen Formel  $C_{40}H_{54}O$  übereinstimmen. Beim Abbau mit Ozon fanden wir kein Aceton, was mit der angenommenen Konstitution I harmoniert. Bei diesem Abbau mit Ozon liessen sich indessen auch kein Isobuttersäure-aldehyd und keine Isobuttersäure nachweisen, wodurch die Struktur I wieder in Frage gestellt wird. Wir haben daher auch an die bicyclische Formel II für Myxoxanthin gedacht, die 2 Wasserstoffatome weniger aufweist; die Analysen der Verbindung stimmen allerdings etwas besser auf die wasserstoffreichere Bruttoformel, wenn auch die Differenzen nicht gross sind.



<sup>1)</sup> Soc. 1936, 1376.

Die Analysen des Myxoxanthophylls stimmen auf die Formel  $C_{40}H_{56}O_7$  oder  $C_{40}H_{58}O_7$ , zwischen welchen eine sichere Entscheidung nicht möglich ist. Der Schmelzpunkt dieses Pigments liess sich auf  $182^\circ$  (unkorr.) erhöhen. Bei der Mikrohydrierung nahm Myxoxanthophyll 11 Mole  $H_2$  auf. Es enthält 4 durch Essigsäure-anhydrid veresterbare Hydroxylgruppen, die somit sekundären oder primären Charakter haben werden. Das Tetra-acetat besitzt noch 2 nach *Zerewitinoff* nachweisbare OH-Gruppen, die wahrscheinlich, da sie der Veresterung widerstanden, tertiären Charakter haben. Über das siebente Sauerstoffatom des Myxoxanthophylls besteht noch keine Klarheit. Nach dem langwelligen Spektrum des Farbstoffs zu schliessen, könnte dieser eine mit den Kohlenstoffdoppelbindungen in Konjugation stehende Carbonylgruppe enthalten. Durch Aluminiumisopropylat-Isopropylalkohol liess er sich indessen nicht reduzieren und die Frage, ob sich ein Oxim darstellen lässt, konnte infolge Materialmangel noch nicht eindeutig entschieden werden.

Neben Myxoxanthophyll und Myxoxanthin enthält das von uns bearbeitete *Oscillatoria rubescens*-Material Zeaxanthin (*Heilbron* und *Lythgoe* hatten Xanthophyll gefunden), ferner  $\beta$ -Carotin und schliesslich einen sauren Carotinfarbstoff, welcher der Beobachtung bisher entging und dem wir die Bezeichnung *Oscillaxanthin* geben wollen. Diese Verbindung ist in so geringen Mengen in den Algen enthalten und so schwer von den Begleitstoffen zu trennen, dass es uns bisher nicht gelang, sie rein darzustellen. Trotzdem kann man zu ihrer Charakterisierung heute schon einige Eigenschaften angeben.

Oscillaxanthin ist in Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff und Petroläther praktisch unlöslich, leicht löslich dagegen in Alkoholen, Pyridin und Aceton. In dem vorliegenden Reinheitsgrad löst es sich in Essigester relativ schwer, in Chloroform noch schwerer. Ester des Farbstoffs werden von Äther, Benzol, Pyridin und Chloroform leicht aufgenommen, kaum dagegen von Alkohol.

Wie bereits erwähnt, ist der Farbstoff sauer und in Alkalien löslich. Die  $SbCl_3$ -Reaktion ist blaugrün, konz. Schwefelsäure und Perchlorsäure bewirken Blaufärbung, konz. Salzsäure ruft eine sehr unbeständige Blaufärbung hervor.

Die Absorptionsbanden des Oscillaxanthins liegen langwellig. Folgende Maxima wurden beobachtet:

in Schwefelkohlenstoff	568	528	494 $m\mu$
in Methanol . . . . .	531	496	464 $m\mu$
in Pyridin . . . . .	552	514	483 $m\mu$

Das Spektrum in Schwefelkohlenstoff wurde an einer Lösung gemessen, die durch Verdünnen eines Tropfens der alkoholischen Lösung mit viel Schwefelkohlenstoff erhalten worden war.

Durch die hier genannten Eigenschaften unterscheidet sich Oscillaxanthin von allen bisher bekannten Carotinoiden.

Der *Stiftung für wissenschaftliche Forschung* an der Universität Zürich danken wir verbindlichst für die Unterstützung dieser Untersuchung.

Ferner danken wir den Beamten und Angestellten des Wasserwerkes der Stadt Zürich für die Hilfe bei der Beschaffung des Algenmaterials.

### Experimenteller Teil.

#### Extraktion des Myxoxanthins und Myxoxanthophylls.

Als Ausgangsmaterial diente im März gesammelter Klärschlamm aus den Filteranlagen der Stadt Zürich, der sehr reich an *Oscillatoria rubescens* war. Durch Zentrifugieren befreite man die Algen vom Hauptteil des Wassers, legte sie hierauf in Alkohol, zentrifugierte neuerdings ab und trocknete das Material im Vakuum bei 60°. 900 g dieser Trockensubstanz wurden hierauf mit 4 l Methanol und anschliessend dreimal mit je 4 l Äther kurz aufgekocht, die vereinigten Extrakte auf 1 l eingengt und mit wässriger Kalilauge während 4 Stunden auf dem Wasserbad verseift. Dann zog man die alkalische Lösung mit viel Äther aus und verdunstete die Ätherlösung im Vakuum zur Trockene.

Dieses Rohprodukt haben wir nun zwischen 1 l Petroläther und 1 l 95-proz. Methanol verteilt und so die epiphasischen von den hypophasischen Farbstoffen getrennt.

Die Petrolätherschicht wurde auf 200 cm<sup>3</sup> eingengt. Nach mehrstündigem Stehen kristallisierte eine beträchtliche Menge Carotin aus. Die von diesen Kristallen abgetrennte Lösung wurde jetzt an einer Aluminiumoxydsäule (Ø 3 cm, Höhe 40 cm) adsorbiert und das Chromatogramm mit Petroläther entwickelt. Das Nachwaschen wurde so lange fortgesetzt, bis die Carotin-Zone durch die Adsorptionssäule hindurchgespült war. Aus diesem Durchlauf wurden 150 mg  $\beta$ -Carotin isoliert. Die in der Säule zurückgebliebene violettbraune Myxoxanthinschicht wurde mit einer Mischung von Benzol-Methanol eluiert und nach dem Verdampfen des Lösungsmittels der Rückstand aus einer Mischung von Pyridin und Methanol kristallisiert. So erhielt man 30 mg Myxoxanthin vom Smp. 168—169°.

Die hypophasische Methanolschicht haben wir stark eingengt, mit Wasser versetzt und ausgeäthert. Ein Teil des dabei auftretenden hellroten Niederschlags ging nicht in Lösung und wurde abgenutscht. Es gelang jedoch nicht, das spektroskopisch darin nachgewiesene Myxoxanthophyll direkt zu kristallisieren. Deshalb haben wir den Niederschlag und den Eindampfungsrückstand der Ätherlösung in Chloroform aufgenommen und auf Zinkcarbonat chromatographiert (Säule Ø 3 cm, Höhe 20 cm). Myxoxanthophyll fand sich in der violettroten Zone; ein weiterer Farbstoff (Zeaxanthin) wurde durch die Säule hindurchgewaschen. Das in der Absorptionssäule festgehaltene Myxoxanthophyll liess sich durch Methanol eluieren und wurde hierauf aus Pyridin durch Zusatz von Benzin und Benzol ausgefällt. Nach mehrmaligem Krystallisieren aus Aceton mit Ligroinzusatz und schliesslich aus Aceton allein haben wir die Verbindung in roten Nadeln erhalten, die den Smp. von 182° (unkorr.) besaßen.

Die durch die Absorptionssäule durchgewaschene Chloroformlösung wurde eingedampft und der Rückstand mehrmals mit Benzol ausgekocht. Aus den Benzollösungen schied sich beim Erkalten der Farbstoff in glitzernden Drusen aus; aus Methanol wurde er in hellen, gelben Blättchen erhalten. Nach Aussehen, Absorptionsspektrum (in CS<sub>2</sub> Absorpt.-max. bei 518 und 487 m $\mu$ ) und nach dem Smp. (204°, uncorr.) lag Zeaxanthin vor.

#### Untersuchung des Myxoxanthins und Myxoxanthophylls.

##### a) Myxoxanthin.

C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> O	Ber. C 87,19	H 9,88%
	Gef. „ 86,68; 86,94	„ 9,85; 9,91%

Bei der Acetonbestimmung durch Abbau<sup>1)</sup> mit Ozon bildeten sich nur Spuren von Aceton bezw. eine Verbindung, die mit Jod Jodoform liefert (weniger als  $\frac{1}{10}$  Mol pro Mol Myxoxanthin). Die Prüfung auf Aceton muss daher als negativ bezeichnet werden.

<sup>1)</sup> Vgl. z. B. *Pregl-Roth*: Die quantitative organische Mikroanalyse.

Es ist auch nicht gelungen, Isobuttersäure oder Isobutyraldehyd oder eine andere mittlere Fettsäure beim Abbau mit Ozon nachzuweisen.

b) Myxoxanthophyll.

$C_{40}H_{56}O_7$	Ber. C 74,01	H 8,71%
$C_{40}H_{58}O_7$	„ 73,78	„ 8,98%
	Gef. „ 73,76	„ 8,93%

Mikrohydrierung: 3,25 mg Myxoxanthophyll nahmen bei 27° und 724 mm 1,415 cm<sup>3</sup> Wasserstoff auf, was einem Verbrauch von 10,9 Molen entspricht. Die ersten 10 Mole wurden innerhalb 8 Minuten, das 11. innerhalb 30 Minuten aufgenommen.

Myxoxanthophyll-acetat: 25 mg Myxoxanthophyll wurden in 5 cm<sup>3</sup> Pyridin mit 200 mg Essigsäure-anhydrid 24 Stunden stehen gelassen. Nach dem Verdünnen mit Wasser zog man mit Äther aus und krystallisierte nach dem Verdampfen des Äthers den Rückstand aus Methanol. Das so erhaltene Myxoxanthophyll-acetat bildet glänzende violette Blättchen. Smp. 131—132°.

$C_{40}H_{52}O_7(COCH_3)_4$	Ber. C 70,53	H 7,90%
$C_{40}H_{54}O_7(COCH_3)_4$	„ 70,37	„ 8,12%
	Gef. „ 70,55; 70,76	„ 8,42; 8,52%

Die Zerewitinoff-Bestimmung ergab 0,225% akt. H entsprechend 1,8 akt. H-Atomen. Myxoxanthophyll besitzt demnach 4 durch Essigsäure-anhydrid veresterbare und 2 mit Essigsäure-anhydrid nicht reagierende, offenbar tertiäre, Hydroxylgruppen.

Das Acetat ist bei der Verteilung zwischen Benzin und Methanol hypophasisch und besitzt in Schwefelkohlenstoff die Absorpt.-max. 544, 508, 479 m $\mu$ .

Myxoxanthophyll-benzoat (dargestellt durch Einwirkung von Benzoylchlorid auf den in Pyridin gelösten Farbstoff) haben wir nicht krystallisiert und daher nicht ganz rein erhalten. Die Bestimmung des akt. H in dem Benzoat ergab 1,8 akt. H-Atome pro Mol. Auch das Benzoat scheint demnach 4 Estergruppen und 2 unveresterte Hydroxyle zu enthalten.

Ein Versuch, Myxoxanthophyll durch 10-stündiges Kochen mit Isopropylalkohol und Aluminiumisopropylat zu reduzieren, ergab keine Änderung des Spektrums.

#### Der saure Farbstoff aus *Oscillatoria rubescens*.

Bei der vorstehend beschriebenen Isolierung der Carotinoide aus *Oscillatoria rubescens* ist die evtl. Anwesenheit von sauer reagierenden Pigmenten nicht berücksichtigt. Es hat sich gezeigt, dass in der alkalischen, wässrig-methanolischen, verseiften Lösung der Algenextrakte noch mindestens ein saures Carotinoid vorhanden ist. Versuche, dieses zu isolieren, haben wir in mannigfacher Abänderung ausgeführt. Im folgenden wird nur ein Weg beschrieben, der sich am besten bewährte. Da die Menge des vorhandenen sauren Farbstoffs sehr gering ist, ist eine Reindarstellung bisher nicht geglückt.

Die Algen wurden durch Zentrifugieren von Hauptteil des Wassers abgetrennt und mit Alkohol zu einem dünnen Brei verrührt. Nach dem Abzentrifugieren des Alkohols hat man das Pflanzenmaterial in frischen Alkohol eingelegt, 4—5 Tage darin liegen lassen und dann abgenutscht. Der gut abgepresste Kuchen wurde durch Zerreiben mit den Händen möglichst fein verteilt, bei 50° getrocknet und gemahlen. Hierauf haben wir das Algenpulver (1750 g) zweimal durch einstündiges Kochen mit der doppelten Menge Methanol extrahiert, diese Extrakte und den Alkohol, der zum Entwässern der Algen diente, stark eingengt und durch vierstündiges Kochen mit wässriger Kalilauge verseift. Die verseifte Lösung wurde nach dem Verdünnen mit Wasser mehrmals mit viel Äther ausgezogen, die wässrige Phase durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure fast auf den Neutralpunkt gebracht und hierauf im Vakuum so lange eingengt, bis die Flüssigkeit frei von Methanol war. (Die Entfernung des Methanols darf erst nach dem alkalischen Ausäthern erfolgen, da Myxoxanthophyll nur bei Gegenwart von Methanol durch Äther extrahiert wird.) Die auf diese Weise erhaltenen wässrigen Lösungen, die grössere Mengen



eines schwarzen, harzigen Niederschlags enthielten, wurden mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuert ( $p_H = 4-5$ ) und erneut mit Äther ausgezogen. So liess sich ein grosser Teil der Verseifungsprodukte des Chlorophylls abtrennen. Schliesslich haben wir den sauren Carotinoidfarbstoff, noch mit Chlorophyll verunreinigt, mit Essigester extrahiert. Die Essigesterlösungen sahen braun, in dünner Schicht orange aus. Sie wurden eingedampft, der Rückstand getrocknet, 5mal mit je  $100\text{ cm}^3$  Aceton ausgekocht, und diese Lösungen, die den Farbstoff enthielten, auf  $100\text{ cm}^3$  eingengt. Diese Lösung haben wir in einer Zinkcarbonatsäule chromatographiert und das Chromatogramm durch Nachspülen mit einer Aceton-Methanol-Mischung (20:1) entwickelt. Es zeigten sich folgende, durch farblose Schichten getrennte Zonen:

1. 5 cm grünlich-braun
2. 10 cm rot-violett
3. 1 cm orange (Myxoxanthophyll).

Die Zone 2 enthält den sauren Carotinoidfarbstoff. Sie wurde mit Methanol-Eisessig (100:1) eluiert, die Lösung auf ein Viertel eingengt, mit Essigester verdünnt und mit Wasser säurefrei gewaschen. Hierauf engten wir die Essigesterlösung auf wenige  $\text{cm}^3$  ein und setzten Äther hinzu. Dabei schied sich ein dunkelrotes, schnell erstarrendes Harz ab, das von der Gefässwandung abgekratzt und abgenutscht werden konnte.

In diesem Präparat ist der saure Carotinoidfarbstoff in angereicherter Form erhalten. Versuche zur weiteren Reinigung über das Natriumsalz, durch Benzoylierung, durch Herstellung eines Nitrobenzoats u. s. w. führten nicht zum Erfolg. Wenn man zur Essigesterlösung des rohen Farbstoffs Jod hinzusetzt, fällt ein schwarzes Perjodid der Verbindung aus. Dessen Menge ist aber sehr gering. Daraus geht hervor, dass unsere rohen Farbstoff-Präparate noch sehr viele Begleitsubstanzen enthalten und dass der neue saure Carotinoidfarbstoff nicht mehr als etwa 10—20% des Gesamtpräparates ausmacht.

Über die Löslichkeiten des Farbstoffs finden sich Angaben in der Einleitung zu dieser Abhandlung.

Kürzeres Kochen mit Eisessig zerstört den Farbstoff nicht. Zinkstaub in Pyridin-Eisessigsäure bewirkt keine Veränderung des Spektrums, bei längerer Einwirkung des Reduktionsmittels wird der Farbstoff zerstört. Er scheint in der Alge in der beschriebenen Form vorzukommen, da ein aus unverseiftem Algenextrakt gewonnenes Präparat die gleichen Eigenschaften wie die aus Verseifungslösungen erhaltenen Produkte zeigte.

Chemisches Institut der Universität Zürich.

## 199. Vorläufige Mitteilung über ein neues Carotinoid aus Orangenschalen: Citroxanthin

von P. Karrer und E. Jucker.

(20. X. 44.)

Bei der Isolierung des Kryptoxanthins aus Orangenschalen<sup>1)</sup> fanden wir in den Mutterlaugen der Umkrystallisation des Kryptoxanthins in kleiner Menge ein Carotinoid, das eine ähnliche oder um 2 Wasserstoff-Atome reichere empirische Formel als Kryptoxanthin besitzt, aber bedeutend kurzwelliger absorbiert (vgl. das Absorptionsspektrum Fig. 1).

<sup>1)</sup> L. Zechmeister und P. Tuzson, B. 69, 1878 (1936).

Kryptoxanthin				Neues Pigment (Citroxanthin)			
$C_{40}H_{56}O$				$C_{40}H_{56}O$ oder $C_{40}H_{58}O$			
Absorpt.-Max.				Absorpt.-Max.			
in $CS_2$		519	483	452 $m\mu$	in $CS_2$		488 456 $m\mu$
in $C_2H_5OH$		486	452	424 $m\mu$	in $C_2H_5OH$		452 423 $m\mu$
Smp. $169^\circ$ (korr.)				Smp. $167^\circ$ (korr.)			

Auch bei der Verteilungsprobe zwischen Petroläther-Methanol verhalten sich beide Farbstoffe ungefähr gleich. Es ist daher wahrscheinlich, dass zwischen ihnen in struktureller Hinsicht nahe Verwandtschaft, vielleicht Isomerie, besteht, was nach Beschaffung von genügenden Mengen Material abzuklären sein wird. Trifft Formel  $C_{40}H_{58}O$  zu, so wird möglicherweise an ein Dihydro-kryptoxanthin zu denken sein. Eine Carbonylgruppe liess sich nicht nachweisen.

Dem neuen Carotinoid geben wir den Namen Citroxanthin.

Der *Stiftung für wissenschaftliche Forschung* an der Universität Zürich danken wir verbindlichst für die Unterstützung dieser Untersuchung.

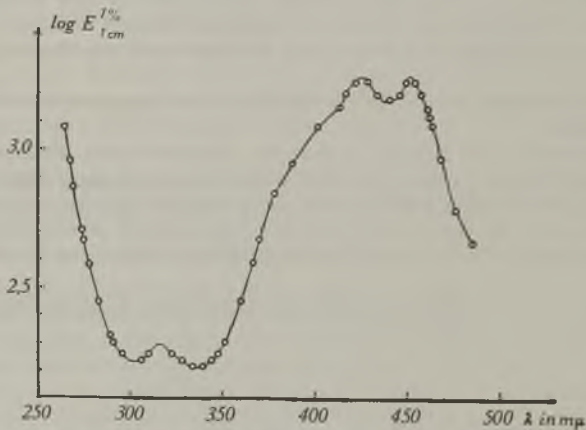


Fig. 1.

Analysen:	$C_{40}H_{56}O$	Ber. C	86,89	H	10,21%
	$C_{40}H_{58}O$	Ber. „	86,54	„	10,54%
		Gef. „	86,08	„	10,30%

Chemisches Institut der Universität Zürich.

**200. Hexahydro-p-aminobenzoensäure als Antagonist der Sulfanilsäure**

von **H. v. Euler** und **P. Karrer**.

(20. X. 44.)

Vor kurzem<sup>1)</sup> haben wir zeigen können, dass Guvacin (Tetrahydro-nicotinsäure) und Hexahydro-nicotinsäure für verschiedene Mikroorganismen, die Nicotinsäure benötigen, ebenso gute Wachstumsfaktoren sind wie letztere. Diese Mikroorganismen (*Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*) besitzen demnach die Fähigkeit, die beiden genannten hydrierten Pyridinderivate mit grosser Leichtigkeit zur Nicotinsäure zu dehydrieren.

Es schien uns von Interesse, in diesem Zusammenhang auch die Dehydrierbarkeit der Hexahydro-p-aminobenzoensäure durch Mikroorganismen zu prüfen. p-Aminobenzoensäure ist bekanntlich ein Antagonist der meisten Sulfanilamid-Derivate und hebt in genügenden Mengen die bakteriziden Eigenschaften dieser Verbindungen auf. Falls Hexahydro-p-aminobenzoensäure dieselbe Funktion erfüllen kann, darf man folgern, dass auch sie durch den Kokken- oder Bakterienstamm dehydriert wird.

Der Versuch an Kulturen von *Staphylococcus aureus* hat gezeigt, dass Hexahydro-p-aminobenzoensäure die bakteriostatische Wirkung der Sulfanilsäure in analoger Weise aufhebt wie p-Aminobenzoensäure, man braucht nur etwas grössere Dosen. An der Dehydrierung der Verbindung durch *Staphylococcus aureus* ist daher nicht zu zweifeln.

Versuche mit *Staphylococcus aureus*.

Substrat und Methodik wie bei den früheren Versuchen mit *Staphylococcus aureus*<sup>1)</sup>. — Für jeden Versuch Aneurin in der Konzentration  $M \times 10^{-7}$  und Nicotinsäureamid in der Konzentration  $M \times 10^{-5}$ .

Sulfanilsäure $x \times 10^{-3}$ g/ml	p-Aminobenzoensäure $x \times 10^{-9}$ g/ml	Hexahydro-p-aminobenzoensäure $x \times 10^{-9}$ g/ml	Zuwachs nach 48 Stunden
0	0	0	85
0	100	0	86
0	0	100	81
1	1	0	0
1	10	0	11
1	50	0	27
1	100	0	56
1	150	0	71
1	1000	0	82
1	0	1	0
1	10	10	trübe
1	0	50	16
1	0	150	61
1	0	1000	80

<sup>1)</sup> Helv. 27, 382 (1944).

Hexahydro-p-aminobenzoesäure ist somit ein fast ebenso wirksamer Antagonist der Sulfanilsäure wie p-Aminobenzoesäure.

Unsere Versuche mit Guvacin, Hexahydro-nicotinsäure und Hexahydro-p-aminobenzoesäure zwingen zur Schlussfolgerung, dass Vitaminbestimmungsmethoden, die auf dem Wachstumstest mit Mikroorganismen beruhen, nicht in jedem Fall richtige Resultate verbürgen, indem der Mikroorganismus bisweilen aus Stoffen, die für das Tier keine Vitaminwirkung zeigen, solche Vitamine herzustellen in der Lage ist. In solchen Fällen können die auf dem mikrobiologischen Test beruhenden Vitaminbestimmungsmethoden u. U. zu hohen Vitamingehalt vortäuschen.

Biochemisches Institut der Universität Stockholm  
und Chemisches Institut der Universität Zürich.

## 201. Umsetzungsprodukte des Arecolins (N-Methyl-tetrahydro-nicotinsäure-methylester) mit Ammoniak

von P. Karrer und H. Ruckstuhl.

(20. X. 44.)

Im Anschluss an einige frühere Versuche mit Guvacin<sup>1)</sup> prüften wir das Verhalten des Arecolins gegenüber Ammoniak. Während sich flüssiges und alkoholisches Ammoniak in der Kälte mit Arecolin, auch nach längerer Zeit, nicht umsetzen, erfolgt durch Erhitzen mit alkoholischem Ammoniak eine Anlagerung an die Doppelbindung und zugleich eine Amidierung der Estergruppe. Bei längerem Erhitzen wird die Ammoniak-anlagerung zur Nebenreaktion.

Es konnten dabei folgende Verbindungen isoliert werden:

N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure-amid,

N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure,

N-Methyl-tetrahydro-nicotinsäure-amid (Arecaidinamid).

Die beiden erstgenannten Substanzen könnten in zwei diastereomeren Formen auftreten. Wir haben aber nur je eine Form isolieren können. Aus dem N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure-amid liess sich durch salpetrige Säure in chlorwasserstoffsaurer Lösung das Amid der N-Methyl-4-oxy-piperidin-3-carbonsäure<sup>2)</sup> darstellen; die Amidgruppe blieb dabei unangegriffen. 15-proz. wässrige Salzsäure verseifte das N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäureamid zur entsprechenden Säure.

### Experimenteller Teil.

Erhitzt man das Reaktionsgemisch von Arecolin und alkoholischem Ammoniak 18—20 Std. auf 115—120°, so erhält man aus 9 g Arecolin: 1,5 g reines N-Methyl-4-

<sup>1)</sup> Helv. **27**, 382 (1944).

<sup>2)</sup> Über eine Synthese des N-Methyl-4-oxy-piperidin-3-carbonsäure-esters vgl. Am. Soc. **46**, 1721 (1924); B. **68**, 506 (1935).

amino-piperidin-3-carbonsäure-amid, ca. 0,2 g Arecaidinamid und in wechselnden Mengen (maximal 0,3 g) N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure. Der nach dem Verdampfen des Lösungsmittels erhaltene Rückstand stellt ein Gemisch dieser Verbindungen dar, zusammen mit etwas unverändertem Arecolin und möglicherweise weiteren Substanzen.

Erhitzt man 30 Std. auf 120°, so erhält man ca. 4 g stark verunreinigtes, kristallisiertes Rohprodukt, aus dem nach vielfachem Umkrystallisieren nur Arecaidinamid rein erhalten wurde.

### Isolierung der drei Verbindungen.

3 g Arecolin werden im Bombenrohr mit 10 cm<sup>3</sup> abs. Äthanol, gesättigt mit trockenem Ammoniak bei -18°, 18—20 Std. auf 115—120° erhitzt. Die Isolierung der drei Verbindungen aus drei solchen Ansätzen haben wir folgendermassen durchgeführt: Nach dem Verdunsten des Ammoniaks wurde der Alkohol im Vakuum vollständig entfernt. Der Rückstand bestand aus kristallisiertem N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure-amid und einem dickflüssigen schmierigen Öl. Man kochte diesen Rückstand mit Chloroform aus, wobei N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure-amid und Arecaidinamid in Lösung gingen. Der ungelöste Rückstand wurde in wenig heissem Alkohol gelöst. Aus dieser alkoholischen Lösung kristallisierte die N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure aus. Der Chloroformextrakt lieferte als erste Krystallisationsfraktionen das Amino-amid, das in weissen Nadelchen, die im Chloroform obenauf schwimmen, auskristallisierte. Schied sich aus der Chloroformmutterlauge nach dem Einengen im Vakuum kein Amino-amid mehr ab, so wurde das Chloroform vollständig abgedampft und der Rückstand mit Essigester aufgeköcht. Aus der Essigesterlösung kristallisierte das Arecaidinamid nach dem Einengen im Vakuum aus.

#### I. N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure-amid.

Die besten Ausbeuten (1,5 g reine Verbindung aus 9 g Arecolin) wurden durch 18—20-stündiges Erhitzen auf 115—120° erhalten. Nach dem Verdunsten des Ammoniaks und Eindampfen des Alkohols im Vakuum kristallisierte das Amino-amid schon fast weiss aus und wurde zweimal aus Chloroform umkrystallisiert. Kleine, weisse Nadelchen, die bei 180° (unkorr.) scharf schmelzen. In Alkohol und Wasser ist es sehr leicht löslich, in Chloroform leicht, in Äther, Benzol, Aceton, Essigester unlöslich. Die wässrige Lösung reagiert stark alkalisch. 2 Std. im Vakuum bei 90° getrocknet.

$C_7H_{15}ON_3$	Ber. C 53,49	H 9,60	N 26,70%
	Gef. „ 53,50	„ 9,33	„ 26,46%

#### II. Arecaidinamid.

Diese Verbindung entsteht bei 30-stündigem Erhitzen der Reaktionsmischung auf 120° als Hauptprodukt. Bei der Aufarbeitung der alkoholischen Lösung von 9 g umgesetztem Arecolin erhält man ca. 4 g krystallisiertes Rohprodukt, das bei ca. 115° schmilzt. Nach vielfachem Umkrystallisieren, erst aus abs. Alkohol mit Ätherzusatz, dann aus Essigsäure-äthylester, liess sich eine bei 148° noch etwas unscharf schmelzende Substanz gewinnen. Die Analyse zeigte, dass Arecaidinamid vorlag:

$C_7H_{12}ON_2$	Ber. C 60,0	H 8,62	N 20,0 %
	Gef. „ 60,26	„ 9,44	„ 20,74%

Das Arecaidinamid ist in Wasser, Alkohol und Chloroform sehr leicht, in Essigester leicht löslich; in Äther, Aceton und Benzol unlöslich. Aus Essigester lässt es sich gut umkrystallisieren und wird daraus in blättchenförmigen Nadeln erhalten, die bei 148° schmelzen. Die wässrige Lösung reagiert stark alkalisch.

#### III. N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure.

Die Aminosäure haben wir nicht jedesmal erhalten, da ihre Bildung davon abhängt, dass der Alkohol noch geringe Spuren Wasser enthält. In der Regel bildeten

sich aus 9 g Arecolin ca. 0,2 g der Aminosäure. Diese besitzt Löslichkeitseigenschaften, die denen des Arecaidins ähnlich sind. In heissem abs. Alkohol löst sie sich sehr schwer, in Wasser leicht. Die wässrige Lösung reagiert alkalisch. Umkrystallisation aus ca. 90-proz. Alkohol. Die Verbindung bildet feine weisse Nadelchen, die bei 241° unter Zersetzung schmelzen (unkorr.)

$C_7H_{14}O_2N_2$  Ber. C 53,14 H 8,92 N 17,70%  
Gef. „ 52,55 „ 8,85 „ 17,67%

Überführung des N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure-amids in das N-Methyl-4-oxy-piperidin-3-carbonsäure-amid.

0,2 g N-Methyl-4-amino-3-carbonsäure-amid wurden in wenig Wasser gelöst, mit 0,4 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure versetzt und auf 0° abgekühlt. Dann gab man zu dieser Lösung 0,12 g in wenig Wasser gelöstes Natriumnitrit. Die Stickstoffentwicklung begann schon bei Raumtemperatur. Zur Vollendung der Reaktion wurde auf dem Wasserbad 30 Minuten erwärmt. Hierauf haben wir das Wasser im Vakuum so weit eingedampft, dass sich das Kochsalz auszuschcheiden begann, versetzten nun mit Alkohol und erhitzen zum Sieden. Dann wurde das Kochsalz abfiltriert, die alkoholische Lösung im Vakuum bis zur Trübung eingedampft und durch Reiben mit einem Glasstab das Hydrochlorid der Oxyverbindung zur Krystallisation gebracht. Umkrystallisation aus 70—80-proz. Alkohol.

$C_7H_{14}O_2N_2 \cdot HCl$  Ber. N 14,4 Gef. N 14,4%

Das N-Methyl-4-oxy-piperidin-carbonsäure-amid-hydrochlorid beginnt sich bei 240° zu bräunen, sintert bei 248° und schmilzt dann bei 249°.

Versuche unter Anwendung von überschüssigem Nitrit und mit konz. Salzsäure führten zu Verbindungen, deren Stickstoffgehalt immer noch weit über dem der 4-Oxy-N-methyl-piperidin-carbonsäure-3 lagen. Wahrscheinlich trat eine Wasserabspaltung ein, so dass Arecaidin entstand. Hingegen gelang es, das N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure-amid mit 15-proz. Salzsäure durch zweistündiges Erwärmen auf dem Wasserbad zur N-Methyl-4-amino-piperidin-3-carbonsäure zu verseifen. Ein Umsatz letzterer Verbindung mit Natriumnitrit, wobei auf die gleiche Art vorgegangen wurde wie bei der Darstellung des N-Methyl-4-oxy-piperidin-carbonsäure-amids, führte zu Arecaidin.

Ammoniak-anlagerungsversuche an Arecaidin waren erfolglos; hingegen gelang es, Bromwasserstoff in guter Ausbeute zu addieren. 4,5 g Arecaidin in 50 g Bromwasserstoff-Eisessiglösung (Eisessig bei 0° mit HBr gesättigt) wurden im Bombenrohr 6 Stunden auf 90° erhitzt. Nach dem Abdampfen des Eisessigs im Vakuum krystallisierte das Hydrobromid der N-Methyl-4-brom-piperidin-3-carbonsäure aus. Umkrystallisation aus 30 cm<sup>3</sup> 95-proz. Alkohol. Ausbeute: 4 g. Die Verbindung spaltet bei 185—188° unter leichtem Sintern Bromwasserstoff ab und schmilzt dann bei 244—245° (unkorr.).

$C_7H_{12}O_2NBr \cdot HBr$  Ber. C 27,70 H 4,32 Br 52,70%  
Gef. „ 27,81 „ 4,36 „ 52,37%

Wir versuchten, das Bromhydro-arecaidin mit Silberoxyd in die Oxyverbindung überzuführen. Es entstand aber bei allen Versuchen Arecaidin.

Chemisches Institut der Universität Zürich.

## 202. Acidität und Enolisierungstendenz

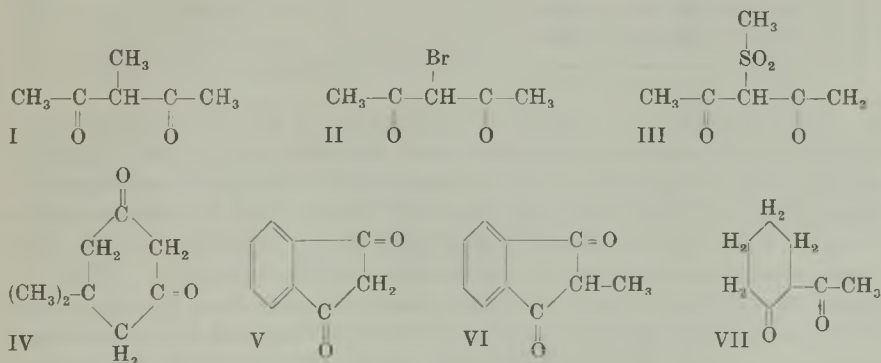
von G. Schwarzenbach und E. Felder.

(24. X. 44.)

1. Die saure Natur von Enolformen ist genau so zu erklären wie diejenige der Carboxylgruppe. Sowohl im Enolat- als auch im Carboxylation haben wir symmetrische Partikel<sup>1)</sup> vor uns, in welchen ein Valenzausgleich, ähnlich demjenigen im Benzol, anzunehmen ist. Solche mesomeren Zustände sind aber stets durch eine Resonanzenergie stabilisiert, welche ja auch für die besondere Stabilität aromatischer Strukturen und viele andere Erscheinungen verantwortlich ist. Wir haben den Einfluss solcher Resonanzenergien auf die Acidität zuerst bei Farbstoffen untersucht<sup>2)</sup>. Wenn wir nun dasselbe bei den Enolen tun wollen, so benötigen wir neben der Aciditätskonstanten  $K$ , die uns über die Bruttoacidität unterrichtet, noch die Tautomerisierungskonstante  $K_T$ . Eine einfache Rechnung liefert uns dann die Aciditätskonstante  $K_E$  der Enolform:

$$\frac{(\text{Enol})}{(\text{Keton})} = K_T \quad \frac{(\text{H}^+) (\text{Enolat}')}{(\text{Enol} + \text{Keton})} = K \quad \frac{(\text{H}^+) (\text{Enolat}')}{(\text{Enol})} = K_E = K + \frac{K}{K_T}$$

In der vorangegangenen Arbeit<sup>3)</sup> haben wir zuverlässige Werte von Tautomerisierungskonstanten  $K_T$  für Wasser als Lösungsmittel mitgeteilt. Diese sind nun in der Tabelle 1 im Verein mit den Aciditätskonstanten  $K$  und  $K_T$  zusammengestellt. Über die Ermittlung von  $K$  berichtet der experimentelle Teil dieser Veröffentlichung, sofern die Werte nicht der Arbeit mit  $K$ . Lutz<sup>4)</sup> entnommen werden konnten.



1) G. Schwarzenbach, Z. El. Ch. **47**, 40 (1941).

2) G. Schwarzenbach und Mitarbeiter, Helv. **20**, 490, 498, 627 (1937).

3) G. Schwarzenbach und E. Felder, Helv. **27**, 1044 (1944).

4) G. Schwarzenbach und K. Lutz, Helv. **23**, 1162 (1940).

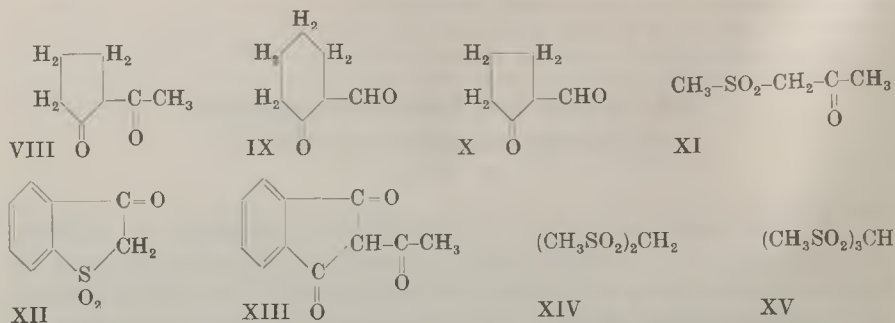


Tabelle 1.  
 (gültig für 20°)

Substanz	Formel	% Enol	$K_T$	$p_K$	$p_{K_E}$
1. Acetessigester . . . . .		0,39	0,0039	10,49	8,09
2. Acetylacetone . . . . .		15,5	0,184	8,94*	8,13*
3. Methyl-acetylacetone . . . . .	I	2,8	0,029	11,06	9,50
4. Brom-acetylacetone . . . . .	II	7,5	0,081	ca. 7	ca. 5,9
5. Methylsulfonyl-acetylacetone	III	1,1	0,011	ca. 4,7	ca. 2,7
6. Dimedon . . . . .	IV	95,3	20,3	5,25*	5,23*
7. Indandion . . . . .	V	1,6	0,015	—	—
8. Methyl-indandion . . . . .	VI	1,0	0,011	6,15	4,19
9. Acetyl-cyclohexanon . . . . .	VII	29,1	0,413	10,09	9,57
10. Acetyl-cyclopentanone . . . . .	VIII	15,1	0,178	7,82	7,00
11. Oxymethylen-cyclohexanon	IX	48,4	0,94	6,35	6,03
12. Oxymethylen-cyclopentanone	X	40,6	0,68	5,83	5,44
13. Methylsulfonyl-aceton . . . . .	XI	s. klein	—	10,03	—
14. Oxythionaphthen-sulfone . . . . .	XII	s. klein	—	7,65	—
15. Acetyl-indandion . . . . .	XIII	—	—	2,88	—
16. Bis-methylsulfonyl-methan	XIV	—	—	ca. 14	—
17. Tris-methylsulfonyl-methan	XV	—	—	ca. 0	—

\*) Diese Werte gelten für 25° C.

2. Nachdem es anfänglich naheliegend war, eine einfache Proportionalität zwischen Enolgehalt und Acidität anzunehmen<sup>1)</sup>, zeigte sich, dass diese durchaus nicht immer besteht. Das vollkommen enolisierte Phenol ist nur eine sehr schwache Säure, und *Dieckmann* zeigte dann<sup>2)</sup>, dass Cyclohexanon-carbonsäure-ester schwächer sauer, aber stärker enolisiert ist als Cyclopentanone-carbonsäure-ester. Eine Behandlung, die auf unsern heutigen Anschauungen über die chemische Bindung beruht, hat die Frage nach den Beziehungen zwischen Enolisierungstendenz und Acidität durch *Arndt* erfahren<sup>3)</sup>. Er macht dar-

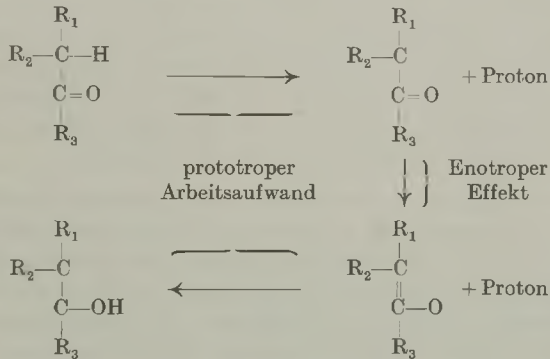
<sup>1)</sup> Dies ist die sog. *Claisen'sche* Regel, s. *L. Claisen*, A. 277, 296 (1893).

<sup>2)</sup> *W. Dieckmann*, B. 55, 2470 (1921).

<sup>3)</sup> *Arndt* und *Martius*, A. 499, 228 (1932). Siehe auch *W. Hüchel*, „Theoretische Grundlagen der Organischen Chemie“, 3. Auflage, Bd. I.



auf aufmerksam, dass beim Übergang eines Ketons in die Enolform ein Proton von einer Stelle, an welcher es fester sitzt (am C-Atom), an eine solche wandert, wo es lockerer haftet (etwa an ein O-Atom). Die Enolisierung ist deshalb gerade die Umkehr einer Neutralisation. Es ist eine Protonenwanderung mit negativer freier Energie, welche letztere *Arndt* den prototropen Arbeitsaufwand nennt. Damit diese Reaktion zustande kommt, muss in allen Fällen freiwilliger Enolisierung der prototrope Arbeitsaufwand mit einer positiven freien Energie gekoppelt sein, welche offenbar beim Bindungswechsel entsteht. Diese letztere, positive, freie Energie des Bindungswechsels ist ihrem Wesen nach eine Resonanzenergie. *Arndt* spricht von ihr als vom „entropen Effekt“.



Diese Zweiteilung der freien Energie der Enolisierung macht es verständlich, dass Acidität und Enolisierungstendenz nicht parallel zu gehen brauchen. Zwar steigert die Enolisierung die Acidität der Verbindung gewaltig, indem ja das Proton von einer stark basischen Stelle an eine solche wandert, an welcher es lockerer sitzt. Aber über den endgültigen Verlust des Protons durch die Molekel ist damit noch nichts ausgesagt. An der neuen Stelle kann das Proton immer noch mehr oder weniger fest haften.

a) Weitgehende Enolisierung einer Verbindung kann zustande kommen durch einen kleinen prototropen Arbeitsaufwand. Das wird dann der Fall sein, wenn  $R_1$  und  $R_2$  stark acidifizierende Substituenten sind, so dass das Proton den Sitz am C leichter verlassen kann. Weitgehende Enolisierung kann aber auch durch einen starken entropen Effekt bedingt sein. Einen solchen sollen wir nach *Arndt* nur dadurch erreichen können, dass durch die Wanderung der Doppelbindung diese mit einer zweiten der Molekel in Konjugation tritt. (*Thiele'sches* Konjugationsbestreben).

b) Die Acidität ist offenbar andern Gesetzen unterworfen, indem enolische Hydroxylgruppen ausserordentlich verschieden sein können in ihrer Acidität. Als Beispiele seien Phenol und die Tetrone Säuren erwähnt, deren Aciditäten sich um den Faktor  $10^6$  unterscheiden. Zudem gibt es Fälle, bei denen an Kohlenstoff gebundener Wasserstoff zur Salzbildung in wässriger Lösung befähigt ist, ohne dass eine Enolform auftritt. Das ist z. B. beim Bis-methylsulfonyl-methan (Tabelle, Nr. 16) und Tris-methylsulfonyl-methan (Nr. 17) der Fall, wo zwei und drei sehr stark acidifizierende Sulfongruppen direkt am C sitzen. Diese Verbindungen lösen sich in wässrigem Alkali. Dass sie sich

nicht enolisieren, wird von der einfachen Oktettregel verlangt und durch die Reaktion mit Diazomethan bestätigt, die keinen Enoläther, sondern in hoher Ausbeute ein C-Methylderivat liefert<sup>1)</sup>.

Die Zerlegung der freien Energie der Enolisierung in den prototropen Arbeitsaufwand und den entropen Effekt gestattet also zweifellos einen tieferen Einblick in das Wesen der Enolisierungsreaktion. Leider müssen wir nun aber widersprechen, wenn von diesen Teilen als von zwei voneinander unabhängigen Grössen geredet wird. *Arndt* legt den verschiedenen denkbaren Gruppen, die wir in unsere allgemeine Formel als  $R_1$ ,  $R_2$  und  $R_3$  einführen können, bestimmte, im wesentlichen unveränderliche Eigenschaften bei, von denen die eine die Acidität beeinflusst und die andere auf den entropen Effekt wirkt. So kommt er zu zwei verschiedenen Reihen solcher Gruppen. In der einen sind sie nach steigender acidifizierender Wirkung geordnet und in der andern nach steigendem entropen Effekt. An Hand dieser Reihen soll sich die Enolisierungstendenz irgendeiner Verbindung qualitativ vorhersagen lassen. Eine derart abgeleitete Schlussfolgerung ist etwa die folgende:

Halten wir  $R_1$  und  $R_3$  konstant und setzen als  $R_2$  immer stärker acidifizierende Gruppen ein, so müssen wir zu einer Reihe von Verbindungen kommen, welche steigende Enolisierungstendenz aufweisen, da der prototrope Arbeitsaufwand in dieser Reihe von Glied zu Glied kleiner wird. Betrachten wir Acetylaceton-Derivate ( $R_3 = \text{CH}_3$ ,  $R_1 = \text{CO}-\text{CH}_3$ ), die wir am mittelständigen C-Atom verschiedenartig substituieren wollen ( $R_2 = \text{variabel}$ ). Wenn  $R_2$  selbst keine Doppelbindung enthält, so muss nach *Arndt* und *Eistert* der entropen Effekt all' dieser Verbindungen mit verschiedenen  $R_2$ -Gruppen identisch sein. Je acidifizierender die Gruppe  $R_2$  deshalb ist, um so kleiner muss der prototrope Arbeitsaufwand werden, und um so stärker muss sich die Verbindung enolisieren.

Diese theoretische Voraussage ist bisher noch nicht an Hand quantitativer Zahlen nachgeprüft worden<sup>2)</sup>; aber ihre Richtigkeit erschien so überzeugend, dass man die weitgehendsten Schlussfolgerungen aus ihr zog. So sollte die Bromierung von Aceton nicht über das Enol verlaufen können, wie man seit *Lapworth*<sup>3)</sup> zur Interpretation der kinetischen Messungen stets annahm, da *Arndt* beim

<sup>1)</sup> *Arndt* und *Martius*, A. **499**, 228 (1932). Siehe auch *W. Hückel*, „Theoretische Grundlagen der Organischen Chemie“, 3. Auflage, Bd. I.

<sup>2)</sup> *F. Arndt* und *B. Eistert*, B. **74**, 437 (1941), geben folgende Beispiele an: 1. Tosyl-malonester ist merklich enolisiert gegenüber unsubstituiertem Malonester, bei welchem kein Enol nachzuweisen ist. 2. Acetaldehyd ist nicht enolisiert, wohl aber Formylmethionid.

<sup>3)</sup> *A. Lapworth*, Soc. **85**, 30 (1904); s. die Besprechung der säurekatalysierten Bromierungsreaktionen bei *R. P. Bell*, „General acid catalysis“, im Handbuch der Katalyse von *G. M. Schwab*, Bd. II, Springer, Wien 1940.

Ditosyl-aceton<sup>1)</sup> kein Enol nachweisen konnte und infolgedessen das Aceton selbst auch nicht spurenweise enolisiert sein könne.

Unsere Zahlen zeigen nun aber, dass von einem Zutreffen der obigen theoretischen Voraussage auch nicht im entferntesten die Rede sein kann. Die stark acidifizierenden Substituenten Brom und Methylsulfonyl setzen den Enolgehalt genau so herab wie eine Methylgruppe, während sie auf die Acidität der Verbindung in gewohnter Weise verstärkend wirken. Die fehlerhafte Voraussage ist offenbar dadurch zustande gekommen, dass angenommen wurde, die beiden Teile, „prototroper Arbeitsaufwand“ und „entotroper Effekt“, seien unabhängig voneinander durch Substituenten beeinflussbar. Diese Annahme ist aber nicht nur unbegründet, sondern ihre Richtigkeit auch sehr unwahrscheinlich. Genau so, wie der acidifizierende Substituent die Bindung des C-Atoms zum Proton schwächt, so wird er auch die C=C-Doppelbindung der Enolform schwächen. Ein acidifizierender Substituent wird deshalb nicht nur den prototropen Arbeitsaufwand, sondern auch den entotropen Effekt verringern. Unsere Zahlen deuten an, dass das etwa in demselben Ausmass geschieht.

3. Offenbar kann man nicht vom entotropen Effekt als von einer eigentümlichen Grösse einer Gruppe reden. Der S. 1703 als freie Energie des Überganges: Ketonation  $\rightarrow$  Enolation, definierte entotrope Effekt ist eine Eigentümlichkeit der ganzen Ketonmolekel und lässt sich nicht einfach aus Gruppenanteilen zusammensetzen. Unsere Auffassung geht dahin, dass selbst bei den einfachen Ketonen der entotrope Effekt nicht sehr viel kleiner sein wird als der prototrope Arbeitsaufwand. Die freie Energie des Überganges des Ketonations in das Enolation muss auch dann beträchtlich sein, wenn durch die Wanderung der Doppelbindung keine Konjugation erreicht wird. Deshalb wird das Keton-Enol-Gleichgewicht im allgemeinen nicht sehr extrem liegen, wenn nicht das eine der Desmotropen aus irgendeinem Grunde zusätzlich stabilisiert ist, wie etwa das Phenol durch die Benzolresonanz.

Betrachten wir die Wärmetönung der Enolisierungsreaktion. Diese lässt sich bei einfachen Ketonen, bei welchen weder in der Keto- noch in der Enolform konjugierte Doppelbindungen oder gespannte Ringe auftreten, aus den Bindungsenergien angenähert berechnen. Man erhält dabei für die Wärmetönung der Enolisierungsreaktion  $-10$  bis  $-15$  Cal.<sup>2)</sup>, je nachdem man die Bindungsenergien der einen oder der anderen Autoren benützt<sup>3)</sup>. Die Enolisierung ein-

<sup>1)</sup> Ditosyl-aceton:  $\text{CH}_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{SO}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_3$ .

<sup>2)</sup> Vgl. hierzu *Wheland*, *J. chem. Physics* **1**, 731 (1933).

<sup>3)</sup> Zum Beispiel *R. Kremann*, „Physikal. Eigenschaften und chem. Konstitution“, Th. Steinkopff, Dresden, 1937, S. 45, oder *L. Pauling*, „The nature of the chemical bond“, *Cornell University Press* 1939, S. 52.

facher Ketone ist somit nur eine schwach endotherme Reaktion, und es ist naheliegend, dass sie auch schwach endergonisch ist (dass die freie Energie schwach negativ ist), wie wir es schon oben dargelegt haben.

Ebenfalls mit Hilfe der über die Verbrennungswärmen erhaltenen Bindungsenergien erfahren wir nun weiter<sup>1)</sup>, dass eine Konjugation zweier Doppelbindungen eine Stabilisierung der Molekel um etwa 10–15 Cal. bedingt. Kann sich bei der Enolisierung eine derartige Konjugation ausbilden, so wird also die Wärmetönung der Enolisierungsreaktion in die Gegend von 0 zu liegen kommen. Auch die freie Energie der Reaktion ist von dieser Grössenordnung, was durch die experimentellen Daten gezeigt wird, indem der Enolgehalt von  $\beta$ -Diketonen meistens zwischen 1 und 99% liegt, und die freie Energie somit zwischen –3 und +3 Cal. beträgt. Diese energetische Überschlagsrechnung zeigt, dass also wirklich das *Thiele'sche* Konjugationsbestreben die Ursache der freiwilligen Enolisierung ist, indem es die schwach endotherme und endergonische Reaktion zu einer schwach exothermen und oft auch exergonischen macht.

Zum Verständnis unserer Messergebnisse wollen wir auf zwei Fragen eintreten, nämlich a) den Einfluss von Substituenten auf Enolisierung und Acidität bei offenen 1,3-Diketonen, und b) den Verhältnissen bei den ringgeschlossenen Verbindungen.

a) Wenn wir uns daran erinnern, dass der Malondialdehyd stark sauer ( $p_K$  etwa 5) und offenbar weitgehend enolisiert ist, so stellen wir fest, dass die Einführung zweier Methylgruppen beim Übergang zum Acetylaceton den Enolgehalt und besonders die Acidität gewaltig verringert<sup>2)</sup>. Da wir nicht glauben, dass die unpolare Alkylgruppe die Wärmetönung irgendeiner Reaktion wesentlich verändern wird, müssen wir annehmen, dass beim Übergang zum Acetylaceton lediglich die freie Energie der Enolisierung und der Salzbildung betroffen worden sind. Auch beim Acetylaceton ist die Enolisierungsreaktion exotherm, was mit ziemlicher Sicherheit aus den bis heute bekannt gewordenen Daten über die Temperaturabhängigkeit des desmotropen Gleichgewichtes<sup>3)</sup> hervorgeht. Dass trotzdem das Gleichgewicht in Wasser auf Seiten der Ketoform liegt, muss seinen Grund in einem grossen Entropieglied der Enolisierungsreaktion haben. Der Übergang Keton  $\rightarrow$  Enol ist also aus andern als energetischen Gründen unwahrscheinlich. Das wird begreiflich, wenn wir bedenken, dass die Wanderung der Doppelbindung zwischen die beiden Kohlenstoffatome die freie Drehbarkeit in der Molekelmitte

<sup>1)</sup> *Roth*, Z. El. Ch. **16**, 655 (1910); **17**, 791 (1911).

<sup>2)</sup> Dieselbe starke Aciditätsverminderung findet bei der Einführung von Methylgruppen in die stark saure Enolform des Glutacon-dialdehydes statt. *G. Schwarzenbach* und *K. Lutz*, Helv. **23**, 1166 (1940).

<sup>3)</sup> *K. H. Meyer*, B. **47**, 832 (1914); *P. Grossmann*, Z. physikal. Ch. **109**, 305 (1924).

unterbindet. Grosse Teile der Molekel werden dadurch bei der Enolisierung in einer bestimmten Stellung gegeneinander fixiert. Von den vielen verschiedenen Formen, welche die Diketonmolekel infolge der freien Drehbarkeit der C—C-Bindungen annehmen kann, ist nur eine kleine Anzahl befähigt, ohne vorhergehende Verstellung der Gruppen zueinander in die Enolform überzugehen. Dieser Umstand macht die Enolisierung zu einem Vorgang, der weniger oft stattfindet als die Ketisierung und bevorzugt somit im Gleichgewicht die Ketoform gegenüber dem Enol.

Ein weiteres Erstarren erlebt die Enolmolekel bei der Salzbildung. Im Enolation bilden die beiden Sauerstoffatome die Enden einer Kette von vier gleichartigen  $1\frac{1}{2}$ -Bindungen, die ebenfalls keine freie Drehbarkeit besitzen und starre Winkel einschliessen. Auch die Salzbildung des Enoles ist somit, abgesehen von den energetischen Verhältnissen, ein unwahrscheinlicher Vorgang.

Das Starrwerden der Diketonmolekel beim Übergang in die Enolform und noch einmal beim Übergang in das Enolation, wird sich um so nachteiliger auf die freie Energie dieser Reaktionen auswirken, je grösser die Gruppen sind, welche gegeneinander blockiert werden. So wird der Einfluss der Methylgruppen verständlich, welchen wir beim Vergleich von Malondialdehyd und Acetylaceton beobachten können. Genau einen entsprechenden Einfluss übt eine dritte Methylgruppe des Methyl-acetylacetons (Nr. 3) aus, indem sie sowohl den Enolgehalt als auch die Acidität weiter erniedrigt.

Auch andere Substituenten müssen den eben beschriebenen „sterischen“ Effekt ausüben. So erklären wir den Rückgang des Enolgehaltes bei Brom- und Methylsulfonyl-acetylaceton (Nr. 4, 5) gegenüber dem Acetylaceton. Warum die bekannte acidifizierende Wirkung dieser Substituenten keinen Einfluss auf die Enolisierungstendenz ausübt, ist oben (S. 1705, Zeile 15—18) erklärt worden. Bei der Salzbildung aus diesen substituierten Verbindungen wird der kleine sterische Effekt aber durch die gewaltige acidifizierende Wirkung überkompensiert. Die Enolformen von Brom- und Methylsulfonyl-acetylaceton sind sehr starke Säuren. Die Substituenten üben dabei eine stärkere Wirkung aus als bei der Einführung in die Essigsäure, weil offenbar der Substituent der sauren Gruppe, zu welcher hier auch das mittelständige C-Atom gehört, näher liegt.

b) Beim Dimedon (Nr. 6), wo die beiden Carbonylkohlenstoffatome einem 6-Ring angehören, finden wir weitgehende Enolisierung und hohe Acidität, weil der sterische Einfluss hier nicht wirksam werden kann, denn die Ketoform selbst ist ja schon eine starre Partikel. Wahrscheinlich hat hier die Wärmetönung dieselbe Grösse wie die freie Energie der Enolisierung.

Gehören die Carbonylkohlenstoffatome des 1,3-Diketons hingegen einem 5-Ring an (Indandion und Methyl-indandion, Nr. 7 und 8), so fällt wohl der sterische Faktor weg, aber es tritt bei der Verlagerung der Doppelbindung in den Ring eine Ringspannung auf. Der geringe Enolgehalt ist hier auf eine negative Wärmetönung der Enolisierungsreaktion zurückzuführen. Man beachte den geringen Einfluss, den hier die Methylierung am mittelständigen C-Atom ausübt. Während der Einführung einer Doppelbindung in den 5-Ring Widerstand entgegengesetzt wird, steht einer Verteilung dieser Bindung in zwei  $1\frac{1}{2}$ -Bindungen nichts im Wege. Das Indandion ist deshalb wohl wenig enolisiert, aber trotzdem stark sauer.

Diesen Unterschied zwischen 5-Ring und 6-Ring treffen wir auch wieder beim Vergleich von Acetyl-cyclohexanon (Nr. 9) und -pentanon (Nr. 10), nur dass die Diskrepanz kleiner ist, da ein Teil des Resonanzsystems ausserhalb des Ringes liegt. Zum dritten Male finden wir die Erscheinung, dass das Pentanon weniger enolisiert, aber stärker sauer ist als Hexanon, beim Oxymethylen-cyclohexanon (Nr. 11) und -pentanon (Nr. 12). Der Unterschied ist hier natürlich am geringsten, weil die Enolisierung vorzugsweise bei der Aldehydgruppe stattfindet, welche bei beiden Verbindungen ausserhalb des Ringes liegt.

Methylsulfonyl-aceton (Nr. 13) und Oxythionaphthen-sulfon (Nr. 14) sind nicht nachweisbar enolisiert. Ihre ziemlich hohe Acidität ist aber sicher auf einen geringen (in der Gegend von etwa 0,01% liegenden) Enolgehalt zurückzuführen. Dass keine C-H-Acidität die Salzbildung bedingt<sup>1)</sup>, geht aus unserer Aciditätsmessung an Bis-methylsulfonyl-methan (Nr. 16) hervor, welches, obschon Löslichkeit in wässrigem Alkali vorhanden ist, erst eine äusserst schwache Säure darstellt. Verblüffend ist die gewaltige Aciditätssteigerung, welche die Verbindung bei der Einführung der dritten Methylsulfonylgruppe erfährt (Nr. 17). Tris-methylsulfonyl-methan gehört zu den starken Säuren, so dass ihr  $p_K$ -Wert nicht genau gemessen werden kann.

### Experimenteller Teil.

Bei den Substanzen 8, 9, 12, 13, 14 und 15 geschah die Aciditätsmessung durch Aufnahme von Titrationskurven, genau in der Weise, wie es in der Arbeit mit *K. Lutz* beschrieben worden ist<sup>2)</sup>. Die Messtemperatur betrug aber diesmal 20°. Der Neutralisationsgrad  $\alpha$ , der aus der Potentialmessung erhaltene  $p_H$ -Wert und  $p_K$  der folgenden Tabellen, haben die Bedeutung, die dort angegeben ist.

#### Substanz 8. Methyl-indandion

Da sich das Natriumsalz des Methyl-indandions leicht rein erhalten lässt, wurde dieses zur Titration eingewogen.

<sup>1)</sup> Dieses ist die Ansicht von *Eistert* in „Tautomerie und Mesomerie“, S. 51. Verl. Ferd. Enke, Stuttgart 1938.

<sup>2)</sup> *G. Schwarzenbach* und *K. Lutz*, *Helv.* **23**, 1183 (1940).

Titration: 0,0795 g Natriumsalz in 100 cm<sup>3</sup> Wasser, Masslösungen 0,104-n. HCl und 0,139-n. NaOH.

	Titration mit HCl			Titration mit NaOH			
a	0,750	0,500	0,250	0,250	0,500	0,750	
P <sub>H</sub>	6,625	6,122	5,610	5,611	6,112	6,609	
P <sub>K</sub>	6,178	6,152	6,117	6,112	6,150	6,174	Mittel: 6,15

Substanz 9. Acetyl-cyclohexanon

Titration: 0,0576 g Diketon in 100 cm<sup>3</sup> Wasser mit 0,0908-n. NaOH und 0,0808-n. HCl.

	Titration mit NaOH			Titration mit HCl			
a	0,250	0,500	0,750	0,750	0,500	0,250	
P <sub>H</sub>	9,509	10,001	10,439	10,456	10,002	9,523	
P <sub>K</sub>	10,03	10,07	10,13	10,16	10,08	10,06	Mittel: 10,09

Substanz 12. Oxymethylen-cyclopentanon

Titration: 0,1211 g Aldehydketon in 100 cm<sup>3</sup> Wasser mit 0,1395-n. NaOH und 0,104-n. HCl.

	Titration mit NaOH			Titration mit HCl			
a	0,250	0,500	0,750	0,750	0,500	0,250	
P <sub>H</sub>	5,296	5,797	6,301	6,280	5,783	5,286	
P <sub>K</sub>	5,799	5,833	5,869	5,855	5,835	5,815	Mittel: 5,83

Substanz 13. Methylsulfonyl-aceton.

Titration: 0,0502 g in 100 cm<sup>3</sup> Wasser mit 0,0947-n. NaOH und 0,104-n. HCl.

	Titration mit NaOH			Titration mit HCl			
a	0,250	0,500	0,750	0,750	0,500	0,250	
P <sub>H</sub>	9,549	9,960	10,299	10,294	9,945	9,525	
P <sub>K</sub>	10,069	10,033	9,981	9,996	10,045	10,081	Mittel: 10,03

Substanz 14. Oxythionaphten-sulfon.

Titration: 0,0949 g in 100 cm<sup>3</sup> Wasser mit 0,101-n. NaOH und 0,104-n. HCl.

	Titration mit NaOH			Titration mit HCl			
a	0,250	0,500	0,750	0,750	0,500	0,250	
P <sub>H</sub>	7,121	7,604	8,091	8,098	7,609	7,127	
P <sub>K</sub>	7,624	7,641	7,658	7,665	7,659	7,654	Mittel: 7,65

Substanz 15. Acetyl-indandion.

Diese Substanz ist in Wasser recht schwer löslich. Deshalb wurde sie in Natronlauge gelöst und dann mit Säure zurücktitriert. Es gelingt so, ein erhebliches Stück der Neutralisationskurve aufzunehmen, bevor die Säure wieder auszuflocken beginnt.

a	0,500	0,250	
P <sub>H</sub>	3,353	3,155	
P <sub>K</sub>	2,879	2,875	Mittel: 2,88

Bei Durchsicht der obigen Tabellen fällt es auf, dass die  $p_K$ -Werte bei demselben Neutralisationsgrad immer besser übereinstimmen als diejenigen, welche von verschiedenen Neutralisationsgraden hergeleitet sind. Dies besagt, dass die Neutralisationskurven stets etwas zu steil verlaufen. Wir haben viele dieser Kurven oftmals und mit verschiedenartig vorbehandelten Wasserstoffelektroden aufgenommen und sind immer wieder zu demselben Befund gelangt, so dass wir heute zu der Ansicht neigen, die Differenzen zwischen den  $p_K$ -Werten, hergeleitet von Punkten verschiedenen Neutralisationsgrades, seien nicht durch Versuchsfehler vergetäuscht, sondern durch die Bildung saurer Salze bedingt, d. h. eines Additionsproduktes eines Anions und einer Säurepartikel.

Bei den Substanzen 1, 3, 10 und 11 gab es bei der Titration gewisse Schwierigkeiten, weil hier die Substanzen sich in alkalischer Lösung besonders leicht aufspalten. Um die Zeit zwischen dem Einbringen der Substanz ins alkalische Medium und der Potentialablesung möglichst zu verkürzen, wurde das Puffergemisch deshalb hier so erzeugt, dass die eingewogene Substanzmenge in die vorbereitete (NaOH)-Lösung geworfen wurde, in welcher sich bereits eine Wasserstoffelektrode im Gleichgewicht befand. Darauf wurde der Abfall des negativen Potentials beobachtet und dieses nach Erreichen der Konstanz abgelesen.

Substanz 1. Acetessigester.

Den unter a verzeichneten Neutralisationsgraden entsprechen Einwaagen von 0,2757 g, 0,1906 g und 0,2590 g Substanz in 105 cm<sup>3</sup> NaOH 0,00481-n.

a	0,238	0,346	0,254	
$p_H$	9,816	10,286	9,946	
$p_K$	10,37	10,64	10,47	Mittel: 10,49

Substanz 3. Methyl-acetylaceton.

Den angegebenen Neutralisationsgraden entsprechen Einwaagen von 0,0960 g, 0,1360 g und 0,2771 g Substanz in je 105 cm<sup>3</sup> NaOH 0,00452-n.

a	0,562	0,379	0,195	
$p_H$	10,964	10,759	10,308	
$p_K$	11,098	11,082	10,995	Mittel: 11,06

Substanz 10. Acetyl-cyclopentanon.

Den angegebenen Neutralisationsgraden entsprechen Einwaagen von 0,0880, 0,106, 0,1504, 0,1813, 0,2156 und 0,1192 g Substanz in je 105 cm<sup>3</sup> NaOH 0,00433-n.

a	0,6501	0,5391	0,3803	0,3155	0,2653	0,4799	
$p_H$	8,053	7,837	7,552	7,410	7,336	7,750	
$p_K$	7,831	7,816	7,811	7,794	7,825	7,832	Mittel: 7,82

Substanz 11. Oxymethylen-cyclohexanon.

Den angegebenen a-Werten entsprechen die folgenden Einwaagen an Substanz: 0,0971, 0,0801, 0,0858, 0,0839 und 0,0849 g. Sie wurden jeweils in 102 cm<sup>3</sup> NaOH 0,00198-n. gelöst.

a	0,262	0,317	0,371	0,455	0,526	
$p_H$	5,852	5,962	6,106	6,243	6,329	
$p_K$	6,334	6,327	6,371	6,370	6,326	Mittel: 6,35

Die Substanz 16 wurde in {NaOH} gelöst und die Lösung dann mit HCl titriert, wobei sich eine Neutralisationskurve ergab, welche identisch war mit einer solchen von reiner Natronlauge. Bis-methylsulfonyl-methan muss somit eine sehr schwache Säure



sein. Ihr  $p_K$ -Wert liegt sicher unter 13. Da sich aber die Substanz in Natronlauge löst, kann der  $p_K$ -Wert auch wiederum nicht viel über 14 liegen.

Auch die Substanz 17 wurde in Natronlauge gelöst und die Lösung dann mit HCl titriert, wobei der grosse Potentialabfall an derjenigen Stelle auftrat, welcher der überschüssig zugegebenen Menge  $\{NaOH\}$  entspricht. Tris-methylsulfonyl-methan verhält sich dabei wie eine starke Säure, so dass auch hier kein  $p_K$ -Wert gemessen werden kann. Dieser liegt sicher unter 1, aber wohl kaum viel unterhalb 0, da man ja die Substanz mit Säure ausfällen kann.

Substanz 4, Brom-acetylaceton, wird an der Wasserstoffelektrode rasch reduziert. Wegen der leicht eintretenden Hydrolyse würde auch die Titration mit einer andern Elektrode kaum zum Ziel führen, genaue  $p_K$ -Werte zu erhalten. Mit Hilfe eines Indikators kann aber gezeigt werden, dass die Substanz in der Gegend von  $p_H = 7$  stark puffert, so dass der  $p_K$ -Wert in der Nähe von 7 liegen muss.

Methylsulfonyl-acetylaceton (Substanz 5) zeigt bei der Titration ein Puffergebiet genau an der Stelle, an welcher auch Essigsäure puffert. Wir waren aber erstaunt, bei langsamer Titration noch ein zweites Puffergebiet bei  $p_H = 10$  zu finden, bei welchem um so weniger Lauge verbraucht wird, je rascher die Neutralisation der ersten Stufe vollzogen wird. Offenbar wird die Substanz leicht in Essigsäure und Methylsulfonyl-aceton hydrolysiert. Das Puffergebiet dieser letzteren Substanz liegt ja eben bei  $p_H = 10$ . Da sich die Lage und das Aussehen des ersten Puffergebietes während der Hydrolyse nicht verändern, muss angenommen werden, dass Methylsulfonyl-acetylaceton dieselbe Acidität besitzt wie Essigsäure. Auf eine genauere Auswertung der Kurven wurde jedoch vorläufig verzichtet.

Herrn Dr. H. Fritzsche danken wir auch hier bestens für seine Mitarbeit bei der Darstellung einiger Sulfone.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

## 203. Über die Hydrazo-Verbindungen aus p-Disazo-benzol

(27. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte<sup>1)</sup>)

von Paul Ruggli und Ernst Iselin.

(20. X. 44.)

Im Laufe unserer Studien über auxochromlose Poly-azoverbindungen<sup>2)</sup> war es u. a. gelungen, das o-Disazo-benzol darzustellen und durch seine Reduktion einen Hydrazo-azokörper sowie den Dishydrazokörper<sup>3)</sup> darzustellen. In der vorliegenden Arbeit haben wir uns die Aufgabe gestellt, das schon länger bekannte p-Disazo-benzol (I) zu hydrieren bzw. anderweitig zu reduzieren, um festzustellen,

<sup>1)</sup> Letzte Mitteilung Helv. **27**, 1371 (1944).

<sup>2)</sup> P. Ruggli und M. Hinovker, Helv. **17**, 982 (1934); P. Ruggli und Ch. Petitjean, Helv. **21**, 711 (1938); P. Ruggli und M. Stäubli, Helv. **24**, 1080 (1941); P. Ruggli und J. Rohner, Helv. **25**, 1533 (1942); P. Ruggli und K. Hölzle, Helv. **26**, 814 (1943); P. Ruggli und G. Bartusch, Helv. **27**, 1371 (1944).

<sup>3)</sup> P. Ruggli und J. Rohner, Helv. **25**, 1533 (1942).

welche Stufen sich hierbei isolieren lassen. Obwohl das p-Disazobenzol in Anbetracht seiner leichten Darstellung aus p-Amino-azobenzol und Nitroso-benzol in reichlicher Menge zur Verfügung stand, war die Aufgabe hier schwieriger als in der o-Reihe, weil die p-Verbindung (I) recht schwer löslich ist und beim Arbeiten mit Suspensionen die Gefahr einer totalen reduktiven Spaltung grösser ist als beim leichtlöslichen o-Disazobenzol.

Schon in einer früheren Arbeit von *P. Ruggli* und *Ch. Petitjean*<sup>1)</sup> wurde die katalytische Hydrierung des p-Disazobenzols (I) unter Anwendung von 2 bis 4 Wasserstoffatomen ausgeführt. Bei acetylierender Aufarbeitung wurde Acetyl-hydrazo-azobenzol (III, IV) neben reduktiven Spaltstücken und unverändertem Disazobenzol isoliert. Aus manchen Erfahrungen, die wir inzwischen gemacht haben, müssen wir aber den Schluss ziehen, dass die vermeintlich rettende Acetylierung mit Essigsäure-anhydrid mehr schädlich als nützlich sein kann, da auch schwache Säuren wie Essigsäure und gelegentlich sogar Kohlendioxyd in einzelnen Fällen eine Disproportionierung von Hydrazokörpern bewirken. Viele Hydrazokörper sind wesentlich besser ohne diese „Vorsichtsmassregel“ darzustellen.

Wir haben die Reduktion des orange-braunen p-Disazobenzols (I) in warmer Pyridinlösung mit Zinkstab unter Zusatz von wenig Eisessig vorgenommen und das freie p-Hydrazo-azobenzol (II) in kupferrot glänzenden braunen Blättchen erhalten, die sich durch ihre bessere Löslichkeit leicht von unverändertem Disazobenzol abtrennen lassen. Die Darstellung und Aufarbeitung wird unter Kohlendioxyd vorgenommen, da die Substanz namentlich in Gegenwart von Pyridin leicht zu Disazobenzol dehydriert wird. In reinem, trockenem Zustande ist sie im Vakuum einige Wochen haltbar, an der Luft geht sie in etwa vier Tagen fast vollständig in Disazobenzol über. In neutralen Medien wie Alkohol ist sie gegenüber Luft beständiger als in Pyridin.

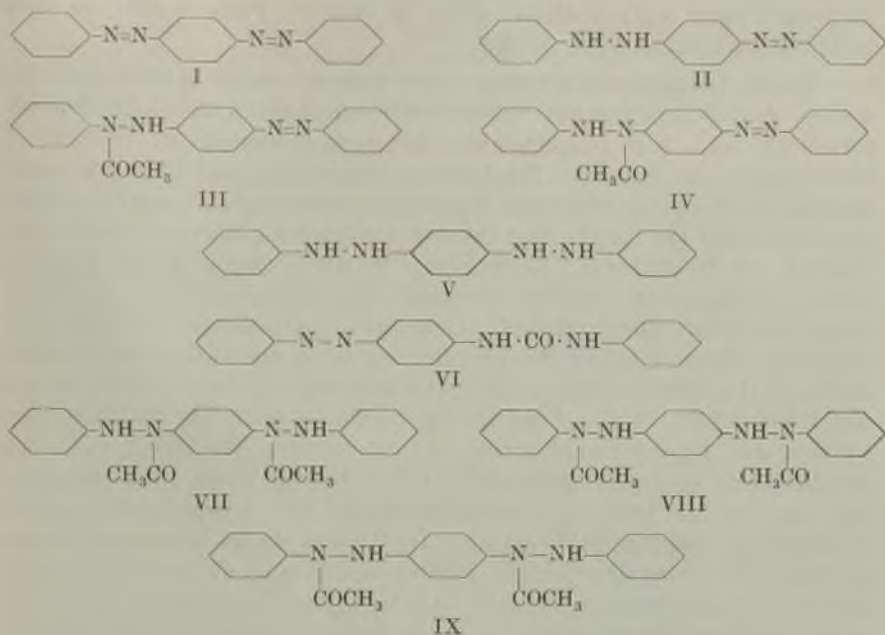
Die Einwirkung von Säuren bewirkt beim p-Hydrazo-azobenzol keine Diphenylin- oder Semidinumlagerung, sondern – ähnlich wie in andern in unserem Laboratorium beobachteten Fällen<sup>2)</sup> – eine Disproportionierung. Die Hälfte wird beispielsweise beim Behandeln mit alkoholischer Salzsäure zu Disazobenzol dehydriert, der Rest zu Amino-azobenzol und Anilin hydriert.

Wohl aber gelang es, durch Übergiessen des Hydrazo-azobenzols (II) mit heissem Essigsäure-anhydrid das Mono-acetyl-hydrazo-azobenzol zu isolieren. Dieses stimmt nach seinem Smp. 183–185° mit dem früher von *P. Ruggli* und *Ch. Petitjean* dargestellten Produkt (Smp. 185°) überein und besteht wie jenes aus den beiden mög-

<sup>1)</sup> Helv. 21, 711 (1938).

<sup>2)</sup> Vgl. Helv. 25, 1535 (1942); 26, 816, 817, 820 (1943).

lichen Isomeren III und IV, was durch die hydrierende Spaltung bestätigt wird.



Unterwirft man Dis-azobenzol (I) einer stärkeren Reduktion mit viel Zinkstaub in warmem Pyridin, so wird die dunkelbraune Lösung bei allmählicher Zugabe von Ammoniak schliesslich farblos. Das gebildete p-Dis-hydrazobenzol (V) kann wegen seiner Empfindlichkeit nur durch Arbeiten in Stickstoffatmosphäre unter Anwendung einiger Kunstgriffe in krystallisierter Form isoliert werden, doch erhält man bei richtiger Ausführung farblose silberglänzende Blättchen mit 60% Ausbeute. Der Dis-hydrazokörper<sup>1)</sup> konnte analysiert werden und ist im Vakuum einige Tage, im Hochvakuum eingeschmolzen einige Wochen haltbar. An der Luft wird die Substanz bald rot; die Lösung in Pyridin wird ebenfalls rasch dehydriert, während die Lösungen in neutralen Medien wie Aceton etwas beständiger sind.

Die Empfindlichkeit äussert sich — ähnlich wie in den früher beschriebenen Fällen — namentlich in der leichten Disproportionierung. Verläuft diese extramolekular<sup>2)</sup>, d. h. zwischen zwei Molekeln, so entsteht Dis-azobenzol (I) neben Spaltungsprodukten.

<sup>1)</sup> Bisher wurden in unserem Laboratorium zwei Dis-hydrazokörper dargestellt, das o-Dis-hydrazobenzol und das 4,4'-Dis-(benzol-hydrazo)-diphenyl, *Helv.* **25**, 1535, 1541 (1942); **26**, 816, 822 (1943).

<sup>2)</sup> Über extra- und intramolekulare Disproportionierung vgl. *P. Ruggli* und *K. Hölzle*, *Helv.* **26**, 816, 817 (1943).

Verläuft sie intramolekular, so wird die eine Hydrazogruppe zur Azogruppe dehydriert, während die andere Hydrazogruppe zu zwei Aminogruppen aufgespalten wird; in diesem Falle entstehen also p-Amino-azobenzol und Anilin.

Diese Disproportionierung tritt bereits beim Erhitzen ein, sodass der Schmelzpunkt ( $125-130^{\circ}$ ) unscharf und nicht charakteristisch ist. Ein präparativer Erhitzungsversuch in Stickstoffatmosphäre, bei dem die Temperatur schliesslich auf  $180^{\circ}$  gesteigert wurde, ergab beide Arten der Disproportionierung; es wurden neben Dis-azobenzol (I) Anilin und Amino-azobenzol erhalten. Sehr empfindlich ist die Substanz auch gegen Säuren, sogar gegen Kohlendioxyd. Präparativ wurden Versuche mit Salzsäure und mit Essigsäure-anhydrid durchgeführt. Gekühlte Salzsäure bewirkt vorwiegend intramolekulare Disproportionierung zu Anilin und Amino-azobenzol; daneben wurden 13% Dis-azobenzol gefasst. Der Versuch mit Essigsäure-anhydrid wurde vorgenommen, um die Acetylierbarkeit des Dis-hydrazobenzols (V) zu prüfen. Während das oben beschriebene Hydrazo-azobenzol (II) auf diesem Wege noch acetylierbar ist, erfolgt beim Dis-hydrazobenzol (V) ausschliesslich intramolekulare Disproportionierung. In diesem Falle konnten nahezu quantitativ die Spaltprodukte Amino-azobenzol und Anilin in acetylierter Form gewonnen werden. Auch Phenylisocyanat, das mit gewöhnlichem Hydrazobenzol in normaler Reaktion ein Phenylharnstoffderivat gibt, wirkte beim Dis-hydrazobenzol (V) disproportionierend. Gefasst wurde das Phenylharnstoffderivat des Amino-azobenzols, der 4-Benzol-azo-N,N'-diphenylharnstoff (VI).

Eine Möglichkeit zur Acetylierung des Dis-hydrazobenzols (V) ergab sich schliesslich durch die Verwendung von Keten. Leitet man dieses in eine benzolische Suspension des Dis-hydrazokörpers (V), so bildet sich fast quantitativ ein krystallisiertes Di-acetylderivat, dessen unscharfer Smp.  $165-175^{\circ}$  auf ein Gemisch hindeutet. Die fraktionierte Krystallisation ergibt zunächst etwa 25% einer schwerer löslichen Form vom Smp.  $206^{\circ}$ , dann etwa 75% einer leichter löslichen Form vom Smp.  $200-201^{\circ}$ .

Die Substanz vom Smp.  $206^{\circ}$  erwies sich als das Di-acetyl-p-dis-hydrazobenzol mit reiner „Innenstellung“ der Acetylgruppen (VII), da die hydrierende Spaltung nahezu quantitativ Di-acetyl-p-phenylen-diamin neben (nicht quantitativ isoliertem) Anilin ergab.

Die Substanz vom Smp.  $200-201^{\circ}$  wurde ebenfalls hydriert, am besten unter Hochdruck bei Zimmertemperatur. Die Spaltungsprodukte weisen darauf hin, dass sie ein Gemisch von zwei Isomeren ist, wobei teils die Aussenstellungen acetyliert sind (VIII), teils eine Aussen- und eine Innenstellung (IX). Erstere Form ist in grösserer Menge vorhanden.

## Experimenteller Teil.

### p-Disazo-benzol (I).

Die Substanz wurde nach den Angaben von *P. Ruggli* und *Ch. Petitjean*<sup>1)</sup> aus p-Amino-azobenzol und Nitroso-benzol dargestellt und ergab die dort genannte Ausbeute von 87% d. Th. Zur Ersparnis verwendeten wir beim Umkrystallisieren die 20-fache Menge Benzol an Stelle des früher benutzten Dioxans; Smp. 167°.

### p-Hydrazo-azobenzol (II).

In einem Dreihalskolben von 250 cm<sup>3</sup> Inhalt, der mit Rührer, Tropftrichter sowie Gaszuleitung und -ableitung versehen ist, werden 2 g p-Disazo-benzol in 40 cm<sup>3</sup> Pyridin im Wasserbad von 50° gelöst. Nach Verdrängung der Luft durch Kohlendioxyd setzt man 1 g Zinkstaub zu und tropft unter kräftigem Rühren innert 5 Min. eine Mischung von 0,8 cm<sup>3</sup> Eisessig und 3 cm<sup>3</sup> Pyridin hinzu. Nach weiteren 2 Min. kann man das Rühren unterbrechen und vom Zinkstaub in 150 cm<sup>3</sup> frisch ausgekochtes kaltes Wasser abdekantieren. Dabei fällt das rohe Hydrazo-azobenzol (II) als körniger Niederschlag aus. Beim Stehen im Kühlschrank scheidet sich eine weitere Menge in Form von braunen krystallinen Blättchen ab. Nach drei Stunden wird unter Kohlendioxyd abgesaugt, der Niederschlag auf Ton gepresst und im Vakuumexsikkator über konz. Schwefelsäure getrocknet, Rohausbeute 1,65 g.

Der Niederschlag wird nun in Kohlendioxydatmosphäre mit 15 cm<sup>3</sup> heissem Methylalkohol übergossen, nochmals aufgekocht und unter Kohlendioxyd rasch durch ein Faltenfilter filtriert, wobei 0,45 g Disazo-benzol ungelöst zurückbleiben. Aus dem Filtrat krystallisieren 1,2 g fast reines p-Hydrazo-azobenzol (II) in kupferrot glänzenden braunen Blättchen; Ausbeute 60% d. Th. unter Berücksichtigung des zurückerhaltenen Disazo-benzols. Zur völligen Reinigung wird das Präparat nochmals aus der 25-fachen Menge Methylalkohol umkrystallisiert, Smp. 138°. Der Hydrazo-azokörper ist bedeutend leichter löslich als Disazo-benzol; im Vakuum ist er einige Wochen haltbar.

4,885 mg Subst. gaben 13,451 mg CO<sub>2</sub> und 2,513 mg H<sub>2</sub>O

2,668 mg Subst. gaben 0,451 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (14,5°, 747 mm)

C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 75,00 H 5,55 N 19,44%

Gef. „ 75,10 „ 5,75 „ 19,73%

Dehydrierung. Trockene Präparate oxydieren sich an der Luft in vier Tagen fast vollständig. 0,2 g wurden in 10 cm<sup>3</sup> kaltem Pyridin an der Luft stehen gelassen. Nach zwei Tagen wurde mit Wasser ausgespritzt und der abgesaugte Niederschlag mit 3 cm<sup>3</sup> warmem Methanol behandelt. Es blieben 0,15 g Disazokörper (75%) ungelöst. Ein analoger Versuch in kaltem Alkohol ergab nach drei Tagen nur 20% Disazo-benzol.

Disproportionierung. In eine Lösung von 0,5 g p-Hydrazo-azobenzol (II) in 70 cm<sup>3</sup> Alkohol von 40° wurde eine Stunde Chlorwasserstoff eingeleitet. Die Lösung färbte sich sofort blutrot und schied nach 10 Min. 0,15 g rotgelbes Disazo-benzol (I) ab. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und mit Natriumcarbonatlösung alkalisch gemacht, wobei die Farbe nach Grüngelb umschlug und ein Niederschlag ausfiel. Dieser hinterliess beim Anreiben mit wenig Alkohol nochmals 0,1 g ungelöstes Disazo-benzol. Aus dem Filtrat wurde beim Kühlen ein zunächst noch unreiner Niederschlag gewonnen, der nach Zusatz von Essigsäure-anhydrid 0,2 g gelbe Krystalle von p-Acetamino-azobenzol ergab.

Acetylierung. 1 g Hydrazo-azobenzol (II) wurde mit 10 cm<sup>3</sup> siedendem Essigsäure-anhydrid übergossen, wobei es sich vollständig löste. Nach halbstündigem Erwärmen fielen beim Erkalten gelbe Nadeln vom Rohsmp. 168—173° aus, die sich nach Zerlegung des Essigsäure-anhydrids weiter vermehrten, Ausbeute insgesamt 0,95 g. Nach Kochen des abgesaugten Niederschlags mit 30 cm<sup>3</sup> Alkohol liessen sich 0,05 g ungelöstes Disazo-benzol abfiltrieren. Aus der Lösung krystallisierten beim Erkalten weitere 0,15 g

<sup>1)</sup> Helv. 21, 720 (1938); dort ist auch die frühere Literatur referiert.

derselben Substanz. Das Filtrat gab beim Ausspritzen mit kaltem Wasser und anschließender starker Kühlung 0,75 g Monoacetyl-p-hydrazo-azobenzol (III und IV), dessen Rohsmp. 170—175° nach zweimaligem Umlösen aus Alkohol auf 183—185° stieg.

4,137 mg Subst. gaben 11,065 mg CO<sub>2</sub> und 2,162 mg H<sub>2</sub>O  
 2,748 mg Subst. gaben 0,395 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (14,3°, 747 mm)  
 C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>ON<sub>4</sub> Ber. C 72,72 H 5,45 N 16,96%  
 Gef. „ 72,88 „ 5,84 „ 16,78%

Hydrierende Spaltung des Acetylderivates. 1 g Acetyl-hydrazo-azobenzol wurde in 100 cm<sup>3</sup> Alkohol suspendiert und bei 50° mit Raney-Nickel hydriert. Die bei Acetyl-hydrasokörpern ziemlich langsam verlaufende hydrierende Spaltung kam nach sechs Stunden und einer Aufnahme von 215 cm<sup>3</sup> Wasserstoff zum Stillstand; für 6 H-Atome berechnen sich 204 cm<sup>3</sup>. Nach Absaugen des Katalysators wurden Anilin und Alkohol durch Destillation mit Wasserdampf übergetrieben und das Destillat nach Zusatz von Salzsäure eingedampft. Es hinterblieben 0,5 g Anilin-hydrochlorid entsprechend 0,36 g Anilin. Die im Destillationskolben verbliebene wässrige Lösung wurde bis zur Ausscheidung einer festen Substanz eingengt und mit 50 cm<sup>3</sup> Alkohol und 1,5 cm<sup>3</sup> Benzaldehyd eine halbe Stunde gekocht. Nach Ausspritzen mit Wasser und Erkalten fielen 0,6 g Dibenzal-p-phenyldiamin vom Smp. 135—138° aus, entsprechend 0,24 g p-Phenylendiamin oder 74% der Menge, die bei totaler „Ausstellung“ der Acetylgruppe (III) zu erwarten wäre. Von der gefundenen Anilinmenge (0,36 g) stammen 0,28 g von der reduktiven Spaltung der Azo-Seite, der Rest von 0,08 g rührt von der Hydrazo-Seite her und zeigt, dass ein Teil des Acetyls am „inneren“ Stickstoffatom (IV) stand.

#### p-Dis-hydrazobenzol (V).

2 g p-Disazo-benzol (I) werden in einem weiten Reagensglas, das mit einem schnell laufenden Rührer versehen ist, in einer Mischung von 40 cm<sup>3</sup> Pyridin und 10 cm<sup>3</sup> Alkohol gelinde erwärmt, bis bei etwa 50° alles gelöst ist. Man trägt 15 g Zinkstaub auf einmal oder in Portionen ein und setzt das Rührwerk in Gang. Darauf gibt man mit der Pipette 3 cm<sup>3</sup> 30-proz. wässriges Ammoniak zu, steigert die Temperatur innert 15 Min. auf 70° und setzt nochmals 2 cm<sup>3</sup> Ammoniak zu. In Abständen von 5 Min. versetzt man noch fünfmal mit je 1 cm<sup>3</sup> Ammoniak, worauf die anfänglich dunkelbraune Lösung rasch farblos wird.

Wenn dieser Punkt erreicht ist, wird mit Eis-Kochsalz rasch auf 0° gekühlt und unter weiterem Rühren 50 cm<sup>3</sup> frisch ausgekochtes, mit Eis gekühltes Wasser zugegeben. Das Dis-hydrazobenzol (V) fällt dabei als farbloser Niederschlag aus und wird durch Rühren gut mit dem Zinkstaub vermischt. Nach zweistündigem Kühlen auf -15° wird die Mischung von Substanz und Zinkstaub abgesaugt und mit 10 cm<sup>3</sup> gekühltem Alkohol gewaschen, in dem der Hydrasokörper wenig löslich ist. Nach Trocknen im evakuierten Exsikkator wird das Gemisch mit 50 cm<sup>3</sup> Aceton ausgekocht, wobei sich die Lösung an der Luft durch Dehydrierung meist dunkel färbt. Sie wird durch Zugabe von 1 cm<sup>3</sup> Ammoniak und Kochen wieder farblos. Nun wird in Stickstoffatmosphäre heiss vom Zinkstaub abgesaugt und das Filtrat mit ausgekochtem Wasser bis zum Beginn der Krystallisation ausgespritzt, wobei man — immer unter Stickstoff — auf -15° kühlt.

Das p-Dis-hydrazobenzol (V) fällt in farblosen silberglänzenden quadratischen Tafeln aus; eine Dunkelfärbung der überstehenden Lösung ist nicht zu vermeiden. Der rasch abgesaugte Niederschlag wird mit einigen Tropfen Benzol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Ausbeute beträgt 1,2 g oder 60% d. Th. Die Substanz färbt sich bei 110° allmählich rot und schmilzt unscharf bei etwa 125°.

3,930 mg Subst. gaben 10,756 mg CO<sub>2</sub> und 2,290 mg H<sub>2</sub>O  
 2,210 mg Subst. gaben 0,389 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (18,3°, 737 mm)  
 C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 74,48 H 6,22 N 19,32%  
 Gef. „ 74,64 „ 6,52 „ 19,53%

Über die Haltbarkeit des reinen p-Dis-hydrazobenzols (V) siehe im theoretischen Teil.

Die Lösung wird schon durch Kohlendioxyd disproportioniert; deshalb darf nur in Stickstoffatmosphäre gearbeitet werden.

Disproportionierung des p-Dis-hydrazobenzols (V).

a) Durch Erhitzen. 1 g Dis-hydrazobenzol (V) wurde unter Stickstoff im Ölbad allmählich erwärmt. Bei einer Badtemperatur von 110° zeigte sich die erste Rotfärbung, bei 125° trat Schmelzen ein und bei 135° war die Substanz vollständig geschmolzen. Nachdem noch eine Stunde auf 180° Badtemperatur gehalten worden war, liess man erkalten. Beim Aufkochen mit 50 cm<sup>3</sup> Alkohol blieben 0,30 g p-Disazobenzol (I) ungelöst. Aus der alkoholischen Lösung wurde mit Wasserdampf das Anilin überdestilliert; das mit Salzsäure angesäuerte Destillat hinterliess nach Eindampfung 0,29 g Anilin-hydrochlorid, entsprechend 0,22 g Anilin. Aus dem Destillationskolben liessen sich durch Aufnehmen der festen Substanz mit 10 cm<sup>3</sup> Methylalkohol und Eindunsten 0,35 g einer braunen schmierigen Substanz erhalten, aus der sich einige Krystalle vom Smp. 110—115° isolieren und als p-Amino-azobenzol nachweisen liessen. Daraus geht hervor, dass die Disproportionierung sowohl intramolekular (unter Bildung von Amino-azobenzol und Anilin) wie auch extramolekular (Entstehung von Dis-azobenzol) vor sich geht.

b) Durch Salzsäure. 1,2 g Dis-hydrazobenzol (V) wurden in 40 cm<sup>3</sup> Aceton bei 40° gelöst und innert 10 Min. in 40 cm<sup>3</sup> 7-n. Salzsäure von 0° eingetropft, wobei die Temperatur nicht über 5° stieg. Beim Eintropfen entstand eine blutrote Färbung und allmählich schied sich ein rotbrauner Niederschlag ab, der nach Absaugen und Trocknen auf dem Wasserbad 1,0 g wog. Dieses Hydrochlorid wurde mit 30-proz. Ammoniak verrieben, worauf der Stoff gelbbraun wurde und trocken 0,85 g wog. Beim Aufkochen mit 10 cm<sup>3</sup> Alkohol hinterblieben 0,15 g ungelöstes Dis-azobenzol (I), während die alkoholische Lösung beim Eindunsten 0,70 g kryst. Amino-azobenzol ergab. — Das salzsauer-acetonische Filtrat der ursprünglichen Reaktionslösung wurde mit Sodalösung alkalisch gemacht und ausgeäthert. Der ölige Ätherrückstand roch nach Anilin und wurde durch Destillation mit Wasserdampf und saures Eindampfen als Anilin-hydrochlorid isoliert; Ausbeute 0,32 g, entsprechend 0,23 g Anilin. Aus der Gesamtausbeute von 0,70 g Amino-azobenzol, 0,28 g Anilin und 0,15 g Dis-azobenzol geht hervor, dass hier die intramolekulare Disproportionierung überwiegt.

c) Durch Essigsäure-anhydrid. Beim Übergiessen von 1,8 g Dis-hydrazobenzol (V) mit 10 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid stieg die Temperatur auf 35°. Aus der rotgelben Lösung schieden sich nach 4 Stunden 0,50 g rotgelbe Nadeln vom Smp. 135—140° ab; durch Zerlegung des Anhydrids mit Wasser erhielt man weitere 0,85 g derselben Substanz. Beim Umlösen der Niederschläge aus 20 cm<sup>3</sup> Methanol krystallisierten 1,25 g Substanz vom Smp. 147—149°, die durch die Mischprobe als p-Acetamino-azobenzol erkannt wurden. Aus dem essigsäuren Filtrat konnten durch Eindunsten im Vakuum und Aufkochen mit 20 cm<sup>3</sup> Wasser und etwas Tierkohle 0,50 g Acetanilid vom Smp. 112—114° krystallisiert erhalten werden. Es war also vollständige intramolekulare Disproportionierung zu Amino-azobenzol und Anilin eingetreten.

d) Durch Phenyl-isocyanat. Anschliessend an die bekannte Vorschrift zur Darstellung eines Phenyl-harnstoffderivates aus Hydrazobenzol haben wir 1 g p-Dis-hydrazobenzol (V) mit einer Lösung von 1,5 g Phenyl-isocyanat in 40 cm<sup>3</sup> Benzol im Einschmelzrohr 10 Stunden auf 100° und weitere 2 Stunden auf 170° erhitzt. Beim Erkalten schieden sich 0,55 g und beim Einengen weitere 0,40 g eines körnigen gelb-orangen Niederschlags ab. Nach Umkrystallisieren aus Alkohol lag der Smp. bei 212—215°. Die Substanz bestand aus 4-Benzol-azo-N,N'-diphenyl-harnstoff (VI), der durch die Einwirkung des Phenyl-isocyanats auf das bei der Spaltung entstandene Amino-azobenzol entstanden war.

Acetylierung des p-Dis-hydrazobenzols (V) mit Keten.

Durch thermische Zersetzung von Aceton in einer Ketenlampe dargestelltes Keten wurde während einer Stunde in eine Suspension von 1,35 g Dis-hydrazobenzol in 40 cm<sup>3</sup>

Benzol eingeleitet, wobei die Temperatur um 6° stieg. Die suspendierten Krystalle verwandelten sich dabei langsam in einen voluminösen Niederschlag von äusserst feinen Nadelchen. Als die Temperatur nach einer Stunde zu sinken begann, wurde die Aufschlammung mit 20 cm<sup>3</sup> Petroläther versetzt und zwei Stunden bei -15° aufbewahrt. Der abgesaugte und getrocknete Niederschlag zeigte den Smp. 165—175° und wog 1,45 g. Man löste ihn in 50 cm<sup>3</sup> heissem Methanol und erhielt bei langsamem Erkalten farblose Prismen, die nach nochmaligem Umlösen aus 30 cm<sup>3</sup> Methanol den Smp. 206° zeigten; Ausbeute 0,35 g der Formel VII.

3,717 mg Subst. gaben	9,598 mg CO <sub>2</sub>	und 1,985 mg H <sub>2</sub> O
3,096 mg Subst. gaben	0,418 cm <sup>3</sup> N <sub>2</sub>	(24,8°, 743 mm)
C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub> N <sub>4</sub>	Ber. C 70,55	H 5,93    N 14,97%
	Gef. „ 70,42	„ 5,97    „ 15,12%

Die ursprüngliche Mutterlauge (Benzol-Petroläther) wurde 12 Stunden im Kühlschrank belassen. Dabei schieden sich äusserst feine verfilzte Nadelchen aus, die nach nochmaligem Umlösen aus 50 cm<sup>3</sup> Methanol 1,0 g eines krystallinen Niederschlags gaben; Smp. 200—201° unter Braunfärbung (Formel VIII und IX).

3,274 mg Subst. gaben	1,739 mg H <sub>2</sub> O	und 8,480 mg CO <sub>2</sub>
2,000 mg Subst. gaben	0,268 cm <sup>3</sup> N <sub>2</sub>	(23,8°, 738 mm)
C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub> N <sub>4</sub>	Ber. C 70,55	H 5,93    N 14,97%
	Gef. „ 70,64	„ 5,95    „ 14,96%

#### Hydrierung des Diacetylderivats vom Smp. 206° (VII).

0,2 g Substanz wurden in 20 cm<sup>3</sup> warmem Alkohol gelöst und dann bei Zimmertemperatur in Gegenwart von Raney-Nickel hydriert. In 8 Stunden wurden 26 cm<sup>3</sup> Wasserstoff aufgenommen, während sich für 4 H-Atome 24 cm<sup>3</sup> berechnen. Die eingengte Lösung schied weisse Krystalle ab, die nach Kühlung auf -15° abgesaugt wurden. Sie schmolzen bei 300—304° und wurden durch die Mischprobe als Di-acetyl-p-phenylen-diamin identifiziert (Lit. Smp. 304° bzw. 306°). Die Ausbeute betrug 95 mg, während sich für eine quantitative Aufspaltung der Formel VII 103 mg Diacetyl-p-phenylen-diamin berechnen.

#### Hydrierung des Diacetylderivats vom Smp. 200—201° (VIII und IX).

1 g Substanz wurde in 60 cm<sup>3</sup> warmem Alkohol gelöst und bei Zimmertemperatur unter 100 Atm. Druck hydriert, da die Reaktion bei gewöhnlichem Druck sehr langsam verläuft. Nach 5 Stunden wurde das Filtrat auf 5 cm<sup>3</sup> eingengt und zunächst das Anilin mit Wasserdampf abdestilliert und nach Ansäuern und Eindampfen des Destillats in Form von 0,15 g Anilin-hydrochlorid gewogen.

Im Destillationskolben befand sich ein fester Rückstand, der vom Wasser getrennt wurde. Aus letzterem wurden durch Ausäthern 0,23 g Acetanilid erhalten. Der feste Rückstand wurde in 20 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und mit 1 g Benzaldehyd eine Stunde gekocht. Beim Kühlen auf -15° schieden sich 0,65 g Niederschlag aus, die nach Umlösen aus wenig Methanol den Smp. 137—138° zeigten und durch die Mischprobe als Dibenzal-phenylen-diamin erwiesen wurden.

Universität Basel, Anstalt für Organische Chemie.



## 204. Über die genaue Ermittlung der Dissoziationskonstanten mittelstarker Säuren mit Hilfe von Indikatoren

von H. v. Halban und J. Brüll.

(23. X. 44.)

Wie bereits früher dargelegt<sup>1)</sup> zeichnet sich die Bestimmung des Dissoziationsgrades mittelstarker Elektrolyte durch Messung der Lichtabsorption vor allen andern Methoden dadurch aus, dass sie an keinerlei Voraussetzungen über das Verhalten und die gegenseitige Beeinflussung der Ionen und Molekeln gebunden ist. Der molekulare Extinktionskoeffizient  $\epsilon$  eines absorbierenden Ions ist bei den meisten Elektrolyten bereits von einer ionalen Konzentration von 0,01-n. abwärts konstant<sup>2)</sup>, während dies z. B. für die molekulare Leitfähigkeit erst bei Konzentrationen eintritt, die der direkten Messung überhaupt nicht zugänglich sind. Deshalb ist bei der Bestimmung des Dissoziationsgrades mit Hilfe der Leitfähigkeit eine Extrapolation notwendig, die nie ganz ohne Unsicherheit und ohne die Einführung hypothetischer Elemente möglich ist. Überdies muss, um diese Extrapolation möglich zu machen, bis zu so niedrigen Konzentrationen gemessen werden, dass an die Reinheit des Wassers und die Methodik der Messung sehr hohe Anforderungen gestellt werden. Dagegen ist die optische Bestimmung des Dissoziationsgrades ohne besondere Schwierigkeit bei Konzentrationen möglich, die bereits innerhalb des Bereiches der *Debye-Hückel'schen* Grenzgeraden liegen: Im Gegensatz zur Bestimmung der molekularen Leitfähigkeit wird die Genauigkeit der optischen Bestimmung der Konzentration eines absorbierenden Ions mit abnehmender Konzentration nicht kleiner, solange der Wert des Extinktionskoeffizienten die Erreichung einer genügend grossen Extinktion gestattet.

In früheren Veröffentlichungen<sup>3)</sup> wurde über die Bestimmung der Dissoziationskonstanten von Säuren berichtet, deren Anionen in einem der Messung gut zugänglichen Spektralbereich eine grössenordnungsmässig stärkere Lichtabsorption aufweist als die nicht-dissoziierte Molekel. Auch konnte an dem Beispiel der Pikrinsäure<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> v. Halban, H. und Ebert, L., Z. physikal. Ch. **112**, 359 (1924); v. Halban, H. und Kortüm, G., Z. physikal. Ch. [A] **170**, 351 (1934).

<sup>2)</sup> Bjerrum, N., Danske Vid. Selsk. Skr. [7] **4**, 1 (1906); Z. El. Ch. **24**, 321 (1918); Hantzsch, A., Z. physikal. Ch. **72**, 366 (1910); v. Halban, H. und Ebert, L., Z. physikal. Ch. **112**, 321 (1924); Kortüm, G., Z. physikal. Ch. [B] **33**, 243 (1936).

<sup>3)</sup> v. Halban, H. und Ebert, L., Z. physikal. Ch. **112**, 359 (1924); v. Halban, H. und Kortüm, G., Z. physikal. Ch. [A] **170**, 351 (1934); v. Halban, H., Kortüm, G. und Seiler, M., Z. physikal. Ch. [A] **173**, 449 (1935).

<sup>4)</sup> v. Halban, H. und Ebert, L., Z. physikal. Ch. **112**, 359 (1924); v. Halban, H. und Seiler, M., Helv. **21**, 385 (1938).

gezeigt werden, dass die optische Methode noch bei der stärksten mittelstarken Säure befriedigende Resultate liefert.

Grundsätzlich ist die Anwendung der optischen Methode nicht auf Säuren beschränkt<sup>1)</sup>, die in Bezug auf die Lichtabsorption der oben genannten Bedingung genügen<sup>2)</sup>. Vielmehr lässt sich auch der Dissoziationsgrad farbloser Säuren mit Hilfe geeigneter Indikatoren bestimmen. Auf schwächere Säuren wurde die Indikator-Methode schon lange angewendet, aber sie konnte erst zu einer Präzisionsmethode ausgebildet und auf stärkere Säuren angewendet werden, nachdem durch die Entwicklung der photoelektrischen Messtechnik die Genauigkeit relativer Extinktionsmessungen sehr weit gesteigert worden war<sup>3)</sup>. Auf diese Weise konnte für die Stärke der Salpetersäure eine untere Grenze angegeben werden, was wohl mittels keiner der bisherigen Methoden möglich wäre<sup>4)</sup>.

Die exakte Bestimmung des Dissoziationsgrades und damit der Dissoziationskonstante farbloser Säuren mittels der photoelektrischen Methode kann auf zwei Arten durchgeführt werden. Die erste Art besteht darin, dass man der Lösung der zu untersuchenden Säure einen geeigneten Indikator in bekannter Konzentration zusetzt und durch photoelektrische Vergleichsmessung feststellt, welche Konzentration eine alkalische Lösung des Indikators von gleicher Extinktion haben muss. Es ist dann, wenn wir als Beispiel den von uns verwendeten Indikator  $\alpha$ -Dinitrophenol nehmen:

$$c_{\text{H}} = K_{\text{Din}} \cdot \frac{c_{\text{Din}} - c_{\text{Din}'}}{c_{\text{Din}'}} \quad c_{\text{A}'} = c_{\text{H}} - c_{\text{Din}'}$$

$$K_{c_{\text{HA}}} = \frac{c_{\text{H}} \times c_{\text{A}'}}{c_{\text{HA}} - c_{\text{A}'}} \quad 5)$$

Die Genauigkeit der so errechneten Konstanten ist allerdings nicht mehr so gross, wie diejenige beim Dinitrophenol selbst, wovon man sich durch Berechnung einiger Beispiele überzeugen kann. Nach den Gleichungen liegen die Verhältnisse dann am günstigsten, wenn die Dissoziation des Dinitrophenols möglichst stark zurückgedrängt

<sup>1)</sup> Es wird hier der Kürze halber immer nur von Säuren gesprochen. Natürlich gilt das hier Gesagte auch für Basen, soweit sich dafür geeignete Beispiele finden.

<sup>2)</sup> Wenn diese Bedingung nur ungenügend erfüllt ist, kann man mittels eines Näherungsverfahrens zum Ziel gelangen. Vgl. *Kortüm, G.*, Elektrolytlösungen, Leipzig 1941, S. 90.

<sup>3)</sup> *Kortüm, G.* und *v. Halban, H.*, Z. physikal. Ch. [A] **170**, 212 (1934) und die dort angeführten früheren Veröffentlichungen sowie *Keller, H.* und *v. Halban, H.*, Helv. **27**, 702 (1944).

<sup>4)</sup> *v. Halban, H.* und *Seiler, M.*, Z. physikal. Ch. [A] **181**, 70 (1937).

<sup>5)</sup> Hier bedeutet  $K_{c_{\text{Din}}}$  die Dissoziationskonstante des Indikators;  $c_{\text{Din}}$  die totale Konzentration des Indikators;  $c_{\text{Din}'}$  die Konzentration des Indikator-Anions;  $K_{c_{\text{HA}}}$  die Dissoziationskonstante der untersuchten Säure;  $c_{\text{HA}}$  deren totale Konzentration;  $c_{\text{A}'}$  die Konzentration ihres Anions.

ist, d. h. wenn die zu untersuchende Säure im Überschuss vorhanden ist; allerdings darf die Konzentration ihres Anions nicht so gross sein, dass schon ein Einfluss auf den Extinktionskoeffizienten des Dinitrophenolations auftreten kann.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass zur genauen Ermittlung des Dissoziationsgrades bzw. der Dissoziationskonstante der untersuchten Säure nach dieser Methode die Dissoziationskonstante der Indikatorsäure sehr genau bekannt sein muss, und zwar für die in den Lösungen herrschenden ionalen Konzentrationen.

Das zweite Verfahren besteht darin, dass die zu untersuchende Lösung mit einer Lösung verglichen wird, die den Indikator in gleicher Konzentration und ausserdem soviel einer starken Mineralsäure, z. B. HCl, enthält, dass die Extinktionen gleich werden. Dann ist

$$c_{\text{H}^+} = c_{\text{HCl}} + c_{\text{Din}^+} \quad c_{\text{A}^-} = c_{\text{HCl}}$$

$$K_c = \frac{c_{\text{HCl}} \cdot [c_{\text{HCl}} + c_{\text{Din}^+}]}{c_{\text{HA}} - c_{\text{HCl}}}$$

$c_{\text{Din}^+}$  wird wieder durch Vergleich mit einer alkalischen Lösung bestimmt. Hier ist grundsätzlich die Kenntnis der Dissoziationskonstante der Indikatorsäure nicht notwendig, auch ist für die Bestimmung der Konzentration des Indikator-Anions eine umso geringere Genauigkeit notwendig, je stärker die zu untersuchende Säure im Vergleich zu der Indikatorsäure ist. Im extremen Fall ist die Konzentration des Indikator-Anions nur eine kleine Korrekturgrösse. Dann kann man, wenn die Dissoziationskonstante des Indikators auch nur mit geringer Genauigkeit bekannt ist, auf den Vergleich mit einer alkalischen Lösung verzichten und die Konzentration des Indikator-Anions aus der Dissoziationskonstante oder aus der absoluten Grösse der Extinktion berechnen<sup>1)</sup>.

Nach dem ersten Verfahren hat *M. Seiler*<sup>2)</sup> die Stärke der Benzoesäure bestimmt. Dabei ergaben sich bei der Temperatur von 25° C folgende Werte (Tabelle I, S. 1722).

Die Konzentration der Benzoesäure in diesen Versuchen liegt bereits im Bereich der Gültigkeit des *Debye-Hückel'schen* Grenzgesetzes. Die Extrapolation auf die Konzentration 0 ergibt für  $K_a$  den Wert  $6,095 \times 10^{-5}$ <sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> Die Berechnung der Konzentration des Indikator-Anions aus der absoluten Grösse der Extinktion ist mit einer Ungenauigkeit von einigen Prozenten behaftet (vgl. *Kortüm, G. und v. Halban, H., Z. physikal. Ch. [A] 170, 212 (1934)*), und daher nur dann zulässig, wenn diese Konzentration nur eine Korrekturgrösse darstellt.

<sup>2)</sup> *Seiler, Maria, Diss. Zürich 1936.*

<sup>3)</sup> Die Extrapolation erfolgt auf Grund der Gleichung

$$\log K_a = \log K_c - 2A \times \sqrt{\mu}$$

Der Wert von A ist bei 25° 0,506, bei 20° 0,502.  $\mu$  ist die ionale Konzentration.

Tabelle I.

$C_{\text{Benzoesäure}}$	$C_{\alpha\text{-Dinitrophenol}}$	$\log K_c + 5$ Dinitrophenol	$\sqrt{\mu}$	$\alpha$ Dinitrophenol	$\alpha$ Benzoesäure	$\log K_c + 5$ Benzoesäure
$6,0194 \times 10^{-4}$	$1,3571 \times 10^{-4}$	0,9245	$1,383 \times 10^{-2}$	0,3060	0,2484	0,8002
$7,0463 \times 10^{-4}$	$1,5870 \times 10^{-4}$	0,9252	$1,444 \times 10^{-2}$	0,2873	0,2316	0,7988
$6,1618 \times 10^{-4}$	$1,4016 \times 10^{-4}$	0,9246	$1,391 \times 10^{-2}$	0,3028	0,2452	0,7983

Tabelle II.

Dissoziationskonstante der Benzoesäure.  
25° C.

$C_{\text{Benzoesäure}}$	$C_{\alpha\text{-Dinitrophenol}}$	$C_{\text{H}^+}(\text{HCl})$	$\alpha\text{-Benzoesäure}$	$\alpha\text{-Dinitrophenol}$	$\sqrt{\mu}$	$K_c$	$\log K_c + 5$
$6,160 \times 10^{-4}$	$1,3976 \times 10^{-4}$	$1,509 \times 10^{-4}$	0,2449	0,3050	$1,390 \times 10^{-2}$	$0,6278 \times 10^{-4}$	0,7978
$6,019 \times 10^{-4}$	$1,4135 \times 10^{-4}$	$1,493 \times 10^{-4}$	0,2480	0,2938	$1,381 \times 10^{-2}$	$0,6388 \times 10^{-4}$	0,7985
							$K_a = 6,083 \times 10^{-6}$

F. G. Brockman und M. Kilpatrick<sup>1)</sup> erhielten nach der Leitfähigkeitsmethode für  $K_a$  den Wert  $6,312 \times 10^{-6}$ . Angesichts dieser Differenz von etwa 3% schien es uns erwünscht, die Dissoziationskonstante dieser Säure noch einmal und zwar nach der zweiten Methode zu bestimmen. Dabei ergab sich, wie aus Tabelle II hervorgeht, ein Wert, der mit dem von M. Seiler nach der ersten Methode ermittelten gut übereinstimmt. Wir müssen deshalb annehmen, dass der Wert von Brockman und Kilpatrick tatsächlich zu hoch ist.

H. Kortschak<sup>2)</sup> erhielt für die o-Toluylsäure bei 25° nach der zweiten Methode die folgenden Ergebnisse:

$\mu$	$10^4 K_c$	$\log K_c + 4$	$\log K_a + 4$
0	1,236	0,0920	0,0920
0,0168	1,286	0,1092	0,0920
0,0169	1,286	0,1092	0,0924
0,0169	1,287	0,1096	0,0927
0,0227	1,302	0,1146	0,0910
0,0228	1,302	0,1146	0,0917
0,0455	1,375	0,1383	0,0927
0,0451	1,373	0,1377	0,0920
Daraus $K_a = (1,236 \pm 0,003) \times 10^{-4}$			

Später haben Dippy und Lewis<sup>3)</sup> nach der Leitfähigkeitsmethode diese Säure untersucht und für  $K_a$  den Wert  $1,235 \times 10^{-4}$ , also in überraschend guter Übereinstimmung mit dem von Kortschak erhaltenen Wert gefunden<sup>4)</sup>. Mit Hilfe der elektrometrischen Methode fand Kortschak für die thermodynamische Dissoziationskonstante der o-Toluylsäure den Wert  $1,211 \times 10^{-4}$ . Der Unterschied zwischen diesem und dem nach der optischen und der Leitfähigkeitsmethode gefundenen Wert übersteigt u. E. die Fehlergrenze der elektrometrischen Methode<sup>5)</sup> und man muss daher an die Möglichkeit denken, dass dieser Unterschied den theoretischen Unzulänglichkeiten der elektrometrischen Methode zuzuschreiben ist.

Die stärksten mittelstarken Säuren, deren Dissoziationskonstanten uns noch nicht ganz sichergestellt schienen, sind die Trichloroessigsäure und die Jodsäure. Wir haben deshalb auch diese beiden Säuren nach der zweiten Methode untersucht. Die Resultate finden sich in den folgenden beiden Tabellen. Um einen unmittelbaren Vergleich zwischen der von Seiler<sup>6)</sup> für die Pikrinsäure und der von uns für die Trichloroessigsäure gefundenen Konstanten zu ermöglichen, wurde letztere zunächst bei 20° bestimmt, bei welcher Temperatur die Dissoziationskonstante der Pikrinsäure bestimmt worden war.

1) Brockmann, F. G. und Kilpatrick, M., Am. Soc. 56, 1483 (1934).

2) Kortschak, H., Diss., Zürich 1936.

3) Dippy, J. F. J. und Lewis, R. H., Soc. 1937, 1426.

4) Bei Messungen, die im hiesigen Institut durchgeführt wurden (Diss. Schulze, P., Zürich 1937), ergaben sich sowohl für die o-Toluylsäure wie für Dinitrophenol auf Grund der Leitfähigkeitsmethode zu hohe Werte, offenbar dadurch verursacht, dass unser Leitfähigkeitswasser ( $\kappa = 3 - 4 \times 10^{-7}$ ) noch nicht genügend gut war.

5) Einzelheiten siehe in der angeführten Diss.

6) v. Halban, H. und Seiler, M., Helv. 21, 385 (1938) und Seiler, M., Diss., Zürich 1936.

Trichloressigsäure.

c	[H] <sup>+</sup> HCl	[H] <sup>+</sup> Dinitrophenol	α	√μ	K <sub>c</sub>
20° C.					
3,1370 × 10 <sup>-3</sup>	3,0977 × 10 <sup>-3</sup>	1,75 × 10 <sup>-5</sup>	0,9875	0,05565	0,2455
3,1315 × 10 <sup>-3</sup>	3,0926 × 10 <sup>-3</sup>	1,75 × 10 <sup>-5</sup>	0,9876	0,05561	0,2474
3,1357 × 10 <sup>-3</sup>	3,0968 × 10 <sup>-3</sup>	1,73 × 10 <sup>-5</sup>	0,9876	0,05565	0,2479
3,1432 × 10 <sup>-3</sup>	3,1042 × 10 <sup>-3</sup>	1,75 × 10 <sup>-5</sup>	0,9876	0,05571	0,2484
3,1405 × 10 <sup>-3</sup>	3,1003 × 10 <sup>-3</sup>	1,72 × 10 <sup>-5</sup>	0,9872	0,05568	0,2404
3,1381 × 10 <sup>-3</sup>	3,0985 × 10 <sup>-3</sup>	1,72 × 10 <sup>-5</sup>	0,9874	0,05566	0,2439
Mittel:					0,2456
log K <sub>c</sub> + 1 =					0,3900
K <sub>a</sub> =					0,2159
6,2690 × 10 <sup>-3</sup>	6,1254 × 10 <sup>-3</sup>	1,20 × 10 <sup>-5</sup>	0,9771	0,07826	0,2617
6,2840 × 10 <sup>-3</sup>	6,1400 × 10 <sup>-3</sup>	1,21 × 10 <sup>-5</sup>	0,9771	0,07835	0,2622
6,2721 × 10 <sup>-3</sup>	6,1278 × 10 <sup>-3</sup>	1,22 × 10 <sup>-5</sup>	0,9770	0,07828	0,2607
6,2650 × 10 <sup>-3</sup>	6,1221 × 10 <sup>-3</sup>	1,20 × 10 <sup>-5</sup>	0,9772	0,07824	0,2627
Mittel:					= 0,2618
log K <sub>c</sub> + 1 =					0,4179
K <sub>a</sub> =					0,2185
1,2520 × 10 <sup>-2</sup>	1,1996 × 10 <sup>-2</sup>	0,731 × 10 <sup>-5</sup>	0,9582	0,1094	0,2761
1,2561 × 10 <sup>-2</sup>	1,2037 × 10 <sup>-2</sup>	0,733 × 10 <sup>-5</sup>	0,9583	0,1097	0,2781 <sup>1)</sup>
Mittel:					= 0,2772
25° C.					
6,2955 × 10 <sup>-3</sup>	6,1588 × 10 <sup>-3</sup>	1,38 × 10 <sup>-5</sup>	0,9783	0,07847	0,2781
6,2648 × 10 <sup>-3</sup>	6,1294 × 10 <sup>-3</sup>	1,39 × 10 <sup>-5</sup>	0,9784	0,07829	0,2780
6,2785 × 10 <sup>-3</sup>	6,1492 × 10 <sup>-3</sup>	1,38 × 10 <sup>-5</sup>	0,9783	0,07835	0,2776
Mittel:					= 0,2779
log K <sub>c</sub> + 1 =					0,4438
K <sub>a</sub> =					0,2316

Die folgenden Tabellen enthalten die von uns für die Jodsäure erhaltenen Werte. Die dritte Konzentration liegt bereits ausserhalb des Bereiches der Gültigkeit der *Debye-Hückel'schen* Grenzgeraden. Als Mittel ergibt sich für K<sub>a</sub> der Wert 0,167, der mit dem von *Fuoss* und *Kraus* gefundenen gut übereinstimmt (s. u.).

Über die Genauigkeit der Werte ist folgendes zu sagen: Die Fehlergrenze der Extinktionsbestimmung betrug 0,2<sub>00</sub>. Dem entspricht in K<sub>c</sub> ein Fehler, der natürlich von der Grösse des Dissoziationsgrades abhängt und bei sehr grossen Dissoziationsgraden entsprechend gross wird. Als Beispiel sei angeführt: Bei einem Dissoziationsgrad von 0,987 entsteht ein Fehler in K<sub>c</sub> von 2,5%, bei einem solchen von 0,985 ein Fehler in K<sub>c</sub> von 2,0% und bei einem Dissoziationsgrad von 0,970—0,977 ein solcher von 1,6%.

<sup>1)</sup> Diese Konzentration liegt bereits ausserhalb des Bereiches der *Debye-Hückel'schen* Grenzgeraden.

Jodsäure.  
25° C.

c	[H] <sup>+</sup> <sub>HCl</sub>	[H] <sup>+</sup> <sub>Dinitrophenol</sub>	α	√μ	K <sub>c</sub>
2,8278 × 10 <sup>-3</sup>	2,7861 × 10 <sup>-3</sup>	1,90 × 10 <sup>-5</sup>	0,9853	0,05278	0,1874
2,8315 × 10 <sup>-3</sup>	2,7898 × 10 <sup>-3</sup>	1,90 × 10 <sup>-5</sup>	0,9853	0,05281	0,1879
2,8299 × 10 <sup>-3</sup>	2,7884 × 10 <sup>-3</sup>	1,93 × 10 <sup>-5</sup>	0,9854	0,05280	0,1891
				Mittel: = 0,1881	
				log K <sub>c</sub> + 1 = 0,2743	
				K <sub>a</sub> = 0,1663	
4,1031 × 10 <sup>-3</sup>	4,0194 × 10 <sup>-3</sup>	1,65 × 10 <sup>-5</sup>	0,9796	0,06339	0,1939
4,1143 × 10 <sup>-3</sup>	4,0298 × 10 <sup>-3</sup>	1,63 × 10 <sup>-5</sup>	0,9795	0,06347	0,1932
				Mittel: = 0,1935	
				log K <sub>c</sub> + 1 = 0,2866	
				K <sub>a</sub> = 0,1669	
5,6960 × 10 <sup>-3</sup>	5,5412 × 10 <sup>-3</sup>	1,46 × 10 <sup>-5</sup>	0,9728	0,07443	0,1986
5,6830 × 10 <sup>-3</sup>	5,5285 × 10 <sup>-3</sup>	1,46 × 10 <sup>-5</sup>	0,9728	0,07441	0,1982
5,6973 × 10 <sup>-3</sup>	5,5431 × 10 <sup>-3</sup>	1,44 × 10 <sup>-5</sup>	0,9729	0,07444	0,1998
				Mittel: = 0,1989	
				log K <sub>c</sub> + 1 = 0,2986	
				K <sub>a</sub> = 0,1673	
1,1396 × 10 <sup>-2</sup>	1,0825 × 10 <sup>-3</sup>	0,811 × 10 <sup>-5</sup>	0,9498	0,1040	0,2059
1,1394 × 10 <sup>-2</sup>	1,0822 × 10 <sup>-3</sup>	0,812 × 10 <sup>-5</sup>	0,9497	0,1040	0,2075
1,1425 × 10 <sup>-2</sup>	1,0848 × 10 <sup>-3</sup>	0,811 × 10 <sup>-5</sup>	0,9497	0,1044	0,2060
				Mittel: = 0,2065	

Für die Trichloressigsäure lagen bisher nur ältere Messungen vor, die lange vor der Aufstellung der modernen Theorie der Elektrolyte durchgeführt worden waren und deshalb auch die modernen Extrapolationsmethoden zur Gewinnung eines zuverlässigen Wertes der molekularen Leitfähigkeit bei unendlicher Verdünnung noch nicht verwendeten<sup>1)</sup>. Diese Untersuchungen führten für K<sub>c</sub> zu Werten zwischen 0,2 und 0,4. Für die Jodsäure liegen eine ganze Anzahl Messungen vor, deren beste uns diejenigen von *Fuoss* und *Kraus* zu sein scheinen, die nach der Leitfähigkeitsmethode gearbeitet und ein besonderes Verfahren zur Extrapolation der molaren Leitfähigkeit auf unendliche Verdünnung benützt haben<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> *Drucker, C.*, Z. physikal. Ch. **49**, 563 (1904); **96**, 381 (1920); *Ostwald, W.*, Z. physikal. Ch. **3**, 177 (1889), kommt auf Grund der Geschwindigkeit der Zuckerinversion zu dem Wert 1,21; *Schreiner, E.*, Z. physikal. Ch. **133**, 420 (1925) und *Frivold, O. E.* und *Rund, E.*, Avhandl. Norske Akad. Oslo I. Kl., Nr. 12, 17 (1932), gelangten auf Grund der Refraktion für die Konzentration 0,1 bei 18° zu dem Dissoziationsgrad 0,969. Dies entspräche einem K<sub>c</sub> von etwa 3. Über Versuche zur Bestimmung von K<sub>c</sub> aus Löslichkeitsbestimmungen vgl. *Bhaguar, W. V.* und *Dhar, N. R.*, J. Indian chem. Soc. **16**, 235 (1939). Es ergab sich bei 30° und der Konzentration 0,05 für K<sub>c</sub> der Wert 0,36.

<sup>2)</sup> Vgl. darüber auch die oben angeführte Monographie von *Kortüm, G.*, S. 255f.

Dissoziationskonstanten der Jodsäure der verschiedenen Autoren.

	T	K <sub>a</sub>
Rothmund, V. und Drucker, C. <sup>1)</sup> . . . . .	25°	0,19
Onsager, L. <sup>2)</sup> . . . . .	25°	0,17
Fuoss, R. M. und Kraus, Ch., A. <sup>3)</sup> . . . . .	25°	0,169
Abel, E., Redlich, O. und Hersch, P. <sup>4)</sup> . . . . .	18°	0,19
Kilde, P. <sup>5)</sup> . . . . .	25°	0,180—184
Diese Arbeit . . . . .	25°	0,167

### Experimentelles.

Benzoessäure „für calorimetr. Best.“ von *Kahlbaum* wurde ohne weitere Reinigung verwendet. Ein käufliches Präparat von o-Toluylsäure wurde zweimal fraktioniert aus Leitfähigkeitswasser umkristallisiert. Eine Portion, die ein drittes Mal umkristallisiert wurde, ergab die gleichen Werte. Käufliche Trichloressigsäure wurde zweimal aus Benzol umkristallisiert. Jodsäure „für Analyse mit Garantieschein“ von *Schering A.-G.* wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Wie schon erwähnt, hängt die Genauigkeit der Bestimmung von K<sub>c</sub> von der Genauigkeit ab, mit der die Differenz der Konzentrationen der zu untersuchenden Säure und der Mineralsäure (HCl) ermittelt wird. Ein etwaiger Fehler in der absoluten Grösse der Konzentration der Lösung, mit der die Säuren titriert werden, geht in das Resultat auch nur mit der gleichen Grösse ein und es macht also keine Schwierigkeit, diesen Fehler genügend klein zu halten. Die Sodalösung, mit der die Säurelösungen titriert wurden, wurde durch Einwägen reiner Soda hergestellt. Die Titration wurde nach der früher<sup>6)</sup> beschriebenen photoelektrischen Titrationsmethode durchgeführt.

Die Arbeitsweise ging im einzelnen wie folgt vor sich: Zunächst wurden in zwei Messkolben, deren Volumen auf 0,1<sup>0</sup>/<sub>00</sub> geeicht wurde, solche Mengen Dinitrophenol-Lösung aus einer Reserve-Flasche eingegossen, dass die Konzentration nach Auffüllung etwa  $6 \times 10^{-4}$  betrug. Zu dieser Lösung wurde in einem Wägegöläschen Trichloressigsäure in den einen und HCl-Lösung in den andern Kolben (aus Reserve-Flaschen) eingegossen. Da Konzentrationen und Dichten genau bestimmt wurden, sind auch die Konzentrationen in den aufgefüllten Kolben bekannt und zum Extinktionsvergleich bereit.

Die Extinktionsmessungen wurden in einer zylindrischen Quarzküvette, an die zwei Röhren angesetzt waren, ausgeführt, so dass die Lösungen bequem gewechselt werden konnten, ohne die Küvette zu bewegen<sup>7)</sup>. Die Küvette war in einem Kästchen eingebaut, dessen hohle Wände mit Wasser aus einem Thermostaten durchspült wurden, so dass sich im Innern die gewünschte Temperatur auf etwa 0,02° konstant einstellte.

Die Vergleichsmessungen wurden mit dem Licht der violetten Hg-Linien-Gruppe in der photoelektrischen Zweizellenanordnung ausgeführt. Bei diesem Licht beträgt der mittlere Extinktionskoeffizient  $\epsilon$  des Ions  $1,05 \times 10^4$ , derjenige der Molekel 7,8. Letzterer wurde in der gleichen Weise bestimmt wie dies früher für die blaue Liniengruppe geschah<sup>8)</sup>. Dass beide Werte keine grosse Genauigkeit aufweisen<sup>9)</sup>, ist ohne Bedeutung, da es ja hier nur darauf ankam, festzustellen, dass der eine genügend klein im Vergleich zu dem andern ist, so dass der durch die Lichtabsorption der nichtdissoziierten Molekeln etwa

<sup>1)</sup> Z. physikal. Ch. **46**, 827 (1903).

<sup>3)</sup> Am. Soc. **55**, 486 (1933).

<sup>2)</sup> Phys. Z. **28**, 277 (1927).

<sup>4)</sup> Z. physikal. Ch. [A] **170**, 112 (1934).

<sup>5)</sup> Z. anorg. Ch. **218**, 113 (1934).

<sup>6)</sup> v. Halban, H. und Seiler, M., Z. physikal. Ch. [A] **181**, 70 (1937).

<sup>7)</sup> Kortüm, G. und v. Halban, H., Z. physikal. Ch. [A] **170**, 212 (1934).

<sup>8)</sup> v. Halban, H. und Kortüm, G., Z. physikal. Ch. [A] **170**, 351 (1934).

<sup>9)</sup> Vgl. Kortüm, G. und v. Halban, H., Z. physikal. Ch. [A] **170**, 212 (1934).



entstehende Fehler vernachlässigt werden kann. Dieser Fehler käme bei der Vergleichsmessung zwischen der alkalischen und der sauren Lösung in das Resultat, weil bei diesem Vergleich vorausgesetzt wird, dass bei gleicher Extinktion in beiden Lösungen die Konzentration des Dinitrophenolations die gleiche ist. Wenn aber die Extinktion in der sauren Lösung zu einem nicht zu vernachlässigenden Bruchteil durch die nicht-dissoziierten Molekeln bedingt wäre, während die Lichtabsorption in der alkalischen Lösung nur von dem Ion herrührt, würde, wenn der Extinktionskoeffizient der Molekeln gegenüber demjenigen der Ionen nicht genügend klein ist, ein zu grosser Wert für die Konzentration des Dinitrophenolations und damit des Anteils an Wasserstoffionen, der von dem Dinitrophenol herrührt, in die Rechnung eingesetzt. Die Durchrechnung zeigt, dass dieser Fehler bei der Benzoesäure vernachlässigt werden kann. Bei der Jodsäure und erst recht bei der Trichloressigsäure spielt dies ja nach dem oben Gesagten keine Rolle, da hier der ganze Beitrag an Wasserstoffionen, der von dem Indikator herrührt, nur eine kleine Korrekturgrösse dargestellt.

Natürlich wäre es zu mühsam, die Konzentration einer Vergleichslösung so lange abzuändern, bis die beiden Extinktionen einander innerhalb der Messgenauigkeit der Methode gleich sind. Man begnügt sich damit, je eine Konzentration zu finden, die genügend nahe oberhalb, bezw. unterhalb, des richtigen Wertes liegt und interpoliert dann linear<sup>1)</sup>.

Auch bei diesen Messungen hat sich das kürzlich beschriebene<sup>2)</sup> Netzanschlussgerät sehr gut bewährt.

Zürich, Physikalisch-Chemisches Institut der Universität.

Oktober 1944

## 205. Über Steroide.

37. Mitteilung<sup>3)</sup>.

### Konstitution und Synthese hochwirksamer Abkömmlinge östrogenen Hormone<sup>4)</sup>

von K. Miescher.

(12. X. 44.)

Anlässlich ihrer ersten Untersuchungen über die Konstitution östrogenen Hormone erhielten 1932 *Marrian* und *Haslewood*<sup>5)</sup> und kurz darauf auch *Doisy* und Mitarbeiter<sup>6)</sup> bei der Kalischmelze des Oestriols (Ia) neben anderen Produkten eine Dicarbonsäure  $C_{18}H_{22}O_5$  (IIa), die sich mit Acetanhydrid leicht zu IIIb anhydrieren liess

<sup>1)</sup> v. Halban, H. und Ebert, L., Z. physikal. Ch. 112, 359 (1924). Das Prinzip der „Feinkolorimetrie“.

<sup>2)</sup> Keller, H. und v. Halban, H., Helv. 27, 702 (1944).

<sup>3)</sup> 36. Mitteilung siehe Helv. 27, 1153 (1944).

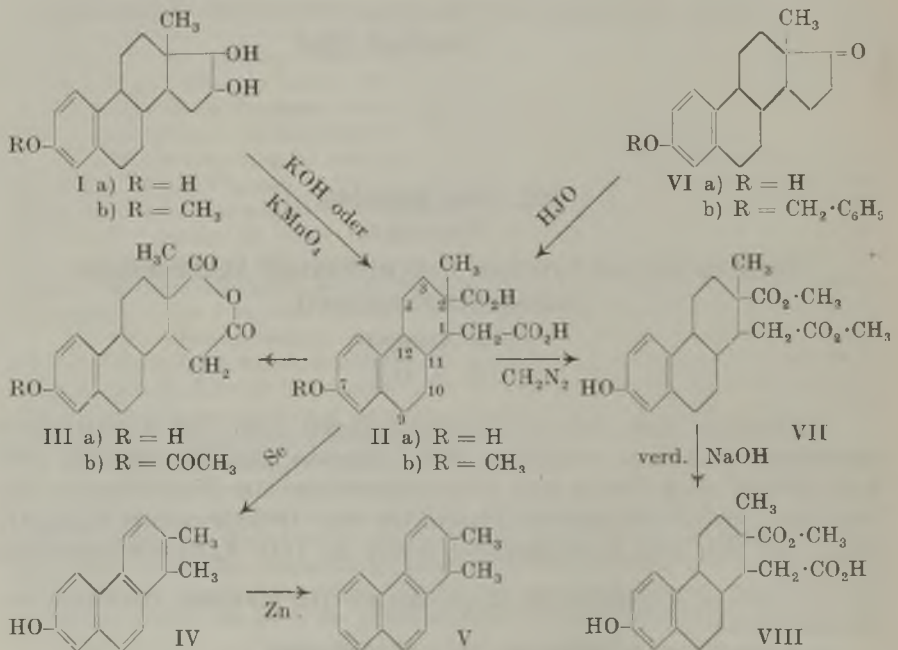
<sup>4)</sup> Vorgetragen an der Jahresversammlung der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft vom 3. September 1944.

<sup>5)</sup> G. F. Marrian und G. Haslewood, J. Soc. Chem. Ind. 51, II, 279 T. (1932).

<sup>6)</sup> D. W. Mac Corquodale, S. A. Thayer und E. A. Doisy, J. Biol. Chem. 99, 327 (1933).

und die durch Aufspaltung eines 5-Ringes zwischen benachbarten Carbinolgruppen entstanden sein musste. *Butenandt*<sup>1)</sup> und Mitarbeiter konnten sie 1933 durch Dehydrierung mit Selen in ein Dimethyl-phenanthrol (IV) und dieses durch Destillation mit Zinkstaub in ein Dimethyl-phenanthren (V) überführen. Durch Vergleich mit einem auf rein synthetischem Wege gewonnenen Produkt wurde es als 1,2-Dimethyl-phenanthren (V) erkannt. Damit waren die kurz zuvor von *Butenandt* aufgestellten Konstitutionsformeln für Oestron und Oestriol weitgehend gesichert.

*Doisy*<sup>2)</sup> und Mitarbeitern gelang es bald darauf, durch Oxydation des Methyläthers des Oestriols (Ib) mit Permanganat auch die entsprechende am Phenolhydroxyl methylierte Dicarbonsäure (IIb) herzustellen. Erstmals beschrieben sie die Bildung einer Monocarbonsäure C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub> vom Smp. 195° durch Kalischmelze von Oestron (VIa). Diese Säure scheint auch *Weidlich*<sup>3)</sup> im Laboratorium von *Butenandt* isoliert zu haben, doch gelang es ihm nicht, sie analysenrein zu erhalten.



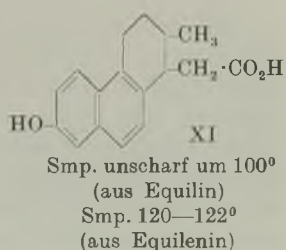
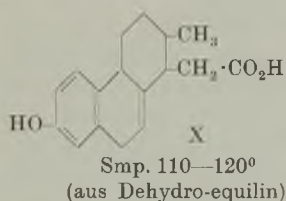
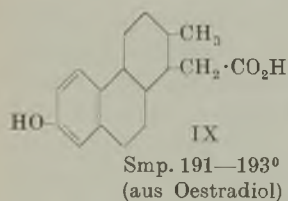
1) *A. Butenandt, H. A. Weidlich und H. Thompsen, B. 66, 601 (1933); J. Soc. Chem. Ind. 52, I, 289 (1933); siehe auch H. A. Weidlich, Inauguraldiss., Göttingen 1934.*

2) *D. W. Mac Corquodale, L. Lewin, S. A. Thayer und E. A. Doisy, J. Biol. Chem. 101, 753 (1933); siehe auch U. S. A.-Patent Nr. 2069096 vom 9. 8. 33.*

3) *H. A. Weidlich l. c. Die Analyse ergab „unterschiedliche“ Werte.*

Auffallenderweise behaupteten die amerikanischen Autoren, dass den aus Oestriol und Oestron gewonnenen Carbonsäuren im Oestrustest an der Ratte eine Wirksamkeit zukomme, die diejenige von Oestron um ein Mehrfaches übertreffe, wenn sie auch etwas verspätet auftrete. In den folgenden Jahren wurde aber diese Angabe widerrufen. Die Schwellendosis der Dicarbonsäure betrage etwa 300  $\gamma$ , während sie für Oestron bei 0,7  $\gamma$  liegt<sup>1)</sup>.

1937 und 1939 meldeten *Hohlweg* und *Inhoffen* von der Firma *Schering*<sup>2)</sup> Verfahren zum Patent an, wonach durch Behandeln von Oestradiol und von Dihydro-equilin, aber auch von Equilenin und Equilin mit schmelzendem Kali die gleiche oder ähnliche Monocarbonsäuren erhalten werden, wie aus Oestron. Per os solle die Schwellendosis an der Ratte bei diesen Verbindungen zwischen 1 und 6  $\gamma$  betragen, während bei oraler Zufuhr 20—30  $\gamma$  Oestron erforderlich sind. Alle diese Säuren erfuhren bisher keine nähere Charakterisierung. Ihre Konstitution soll nach den Patenten vermutlich den Formeln IX—XI entsprechen.



Nach dieser Formulierung handelt es sich um Monocarbonsäuren der C<sub>17</sub>-Reihe. Sie wären durch Verlust von einem Kohlenstoffatom aus den östrogenen Hormonen, zum Teil unter partieller Dehydrierung des Ringsystems, entstanden. Offenbar ist daran gedacht, dass der 5-Ring unter Bildung einer Dicarbonsäure oxydativ aufgespalten wird, die dann unter Verlust von einem CO<sub>2</sub> in die Monocarbonsäure übergehen würde. Unverständlich blieb aber, wieso bei der Bildung der Dicarbonsäure (IIa) durch Kalischmelze des Oestriols keine CO<sub>2</sub>-Abspaltung eintritt.

Zur Abklärung aller noch offenen Fragen drängte sich daher eine gründliche experimentelle Überprüfung des Tatbestandes in chemischer und biologischer Beziehung auf.

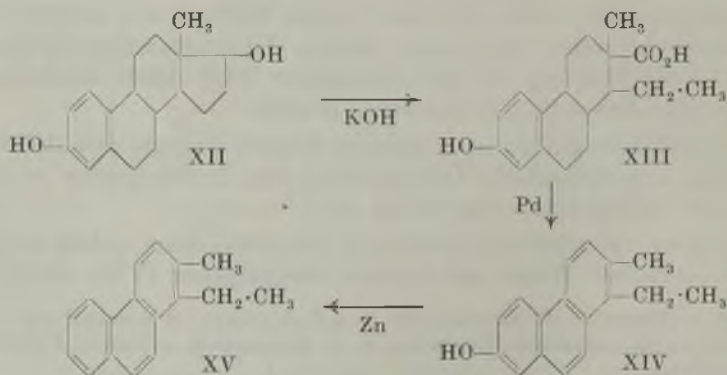
Die dem Oestriol entsprechende Dicarbonsäure entstand in besonders einfacher Weise aus Oestron-benzyläther (VIb) durch Auf-

<sup>1)</sup> *S. A. Thayer*, *D. W. Mac Corquodale* und *E. A. Doisy*, *J. Pharmacol. exp. Therap.* **59**, 48 (1937); siehe auch schon *Mac Corquodale*, *L. Levin* und *S. A. Thayer*, *J. Biol. Chem.* **105**, LV (1934).

<sup>2)</sup> *Schering A. G.*, Berlin (*W. Hohlweg* und *H. H. Inhoffen*), D.R.P. 705862 vom 19. 12. 37 und 719572 vom 20. 1. 39.

spaltung des 5-Rings mit Hypojodit und hydrierende Abtrennung der Benzylgruppe. Die reine Säure schmolz bei 217–218<sup>0</sup> 1). In ähnlicher Weise wurde auch aus Equilenin-benzyläther eine Dicarbonsäure vom Smp. 252–254<sup>0</sup> gewonnen. Beide Carbonsäuren liessen sich leicht durch blosses Erhitzen in ihre Anhydride (z. B. IIIa) überführen. Die freien Säuren gaben mit Diazomethan Dimethylester (z. B. VII), deren eine Methylgruppe besonders glatt verseifbar war. Offenbar wird dabei nur die primär gebundene Carbomethoxygruppe (Formel VIII) angegriffen. Die Konstitution der Dicarbonsäuren erscheint genügend gesichert. Es handelt sich um die 2-Carboxy-2-methyl-7-oxy-1,2,3,4,9,10,11,12-octahydro- und die 2-Carboxy-2-methyl-7-oxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthryl-2-essigsäure. Erstere sei nach ihrem Entdecker *Marrian* kurz als *Marrianolsäure*, letztere als *Bisdehydro-marrianolsäure* bezeichnet. Beide *Marrian*säuren erwiesen sich im Oestrustest an der Ratte bis zu Dosen von 100  $\gamma$  und darüber in Bestätigung der revidierten Ergebnisse von *Doisy* und Mitarbeitern als völlig unwirksam.

Hierauf wurde das Oestradiol (XII) der Alkalischmelze unterworfen und in etwa 47-proz. Ausbeute eine noch unreine Carbonsäure erhalten, die nach mehrfachem Umkrystallisieren bei 197–198,5<sup>0</sup> schmolz. Die Analyse erlaubte zunächst nicht sicher, zwischen der bisher angenommenen Formel C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub> oder der Formel C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub> zu unterscheiden. Doch sprach die Analyse ihres Methylesters, wie auch seines 3-Benzoylderivats eindeutig zugunsten der Formulierung mit 18 C-Atomen. Die Carbomethoxygruppe erwies sich als schwer verseifbar. Erst durch schmelzendes Kali wird sie aufgespalten. Andererseits liess sich die freie Carbonsäure durch alkoholische Salzsäure nicht verestern. Dies spricht eindeutig gegen die Formulierung von *Hohlweg* und *Inhoffen* der Monocarbonsäuren als Hydrophenanthryl-1-essigsäuren.

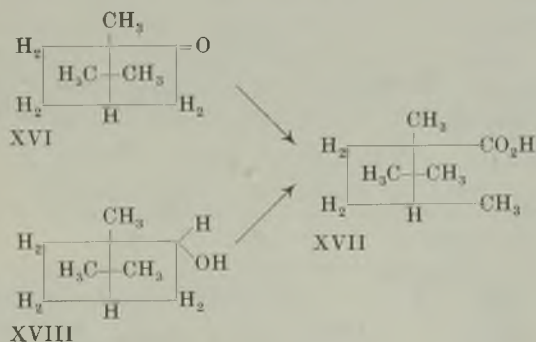


1) Bisher höchster Smp. nach Literatur (*Doisy*) 210–211<sup>0</sup> (korr.).

Endgültige Aufklärung brachte die Dehydrierung mit Palladiumkohle. Die Formulierung der amerikanischen und deutschen Forscher liess die Bildung von 1,2-Dimethyl-7-phenanthrol bzw. 1,2-Dimethyl-phenanthren wie bei der Dicarbonsäure aus Oestriol erwarten. In Wirklichkeit entstand ein Äthyl-methyl-phenanthrol (XIV), das sich mit Zinkstaub in 1-Äthyl-2-methyl-phenanthren (XV) vom Smp. 80–81° überführen liess. Letzteres erwies sich mit einem von *R. D. Haworth* auf synthetischem Wege dargestellten Präparat als identisch<sup>1)</sup>.

Der Monocarbonsäure, wir wollen sie nach ihrem Erstentdecker *Doisynolsäure* nennen, muss somit die Formel XIII einer 1-Äthyl-2-methyl-7-oxy-1,2,3,4,9,10,11,12-octahydro-phenanthryl-2-carbonsäure zukommen. Sie entsteht offenbar durch oxydierende Aufspaltung des 5-Rings des Oestradiols oder durch hydrolytische Öffnung des 5-Rings des Oestrans.

Diese Reaktion erfolgt nicht ganz unerwartet, konnte doch schon *Delalande*<sup>2)</sup> vor mehr als 100 Jahren durch Überleiten von dampfförmigen Campher (XVI) über ein Kalikalkgemisch bei 300–400° die Campholsäure (XVII) derselben Kohlenstoffatomzahl bereiten. Später gewann *Guerbet*<sup>3)</sup> diese Säure auch durch Kalischmelze von Borneol (XVIII). Auch hier tritt ganz analog im einen Fall eine hydrolysierende, im anderen eine oxydierende Spaltung des 5-Rings ein, und die Öffnung des Rings findet vorzugsweise zwischen dem tertiär gebundenen Carbonyl bzw. Carbinol und der benachbarten CH<sub>2</sub>-Gruppe statt.



Wichtig ist nun der Befund, dass die *Doisynolsäure* in Bestätigung der alten, wenn auch widerrufenen Angaben von *Doisy* im Oestrustest an der Ratte hervorragend wirksam ist. Bei subkutaner Applikation erreicht die Säure mit 0,7  $\gamma$ —1  $\gamma$  nahezu die Wirksamkeit des

<sup>1)</sup> *R. D. Haworth*, Soc. 1934, 460. Der Vergleich wurde durch *Haworth* selbst durchgeführt, wofür ihm auch an diesem Ort bestens gedankt sei.

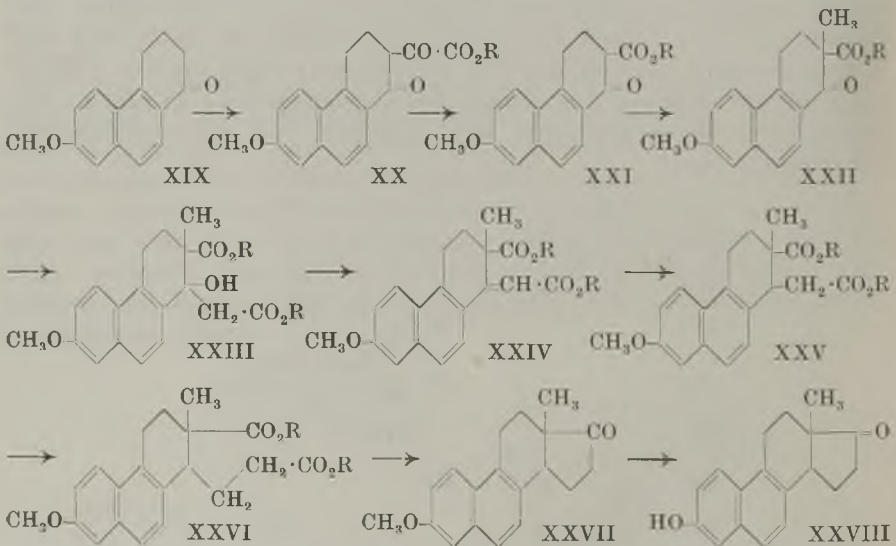
<sup>2)</sup> *Z. Delalande*, A. 38, 337 (1841).

<sup>3)</sup> *M. Guerbet*, C. r. 147, 70 (1908).

Oestrons. Oral beträgt die Schwellendosis bloss 1,5  $\gamma$ , in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von *Hohlweg* und *Inhoffen*, die einen Schwellenwert von 2,5  $\gamma$  angeben.

Durch Kalischmelze von Equilenin oder Dihydro-equilenin entstehen offenbar Säuren ähnlicher Wirkungsgrösse wie aus Oestron oder Oestradiol. Hier bereitet aber die Reindarstellung besondere Schwierigkeiten. Wie wir uns überzeugen konnten, gelingt ebenfalls der Abbau zu 1-Äthyl-2-methyl-7-phenanthrol. Zweifellos liegt eine Bisdehydro-doisylnsäure vor, die vier Wasserstoffatome weniger als die Doisylnsäure enthält.

In Anbetracht des teuren Ausgangsmaterials und der beschränkten Ausbeute kam eine praktische Verwertung der Doisylnsäuren nicht in Betracht. Die Aufklärung ihrer Konstitution erlaubte es aber, hier mit Erfolg den Weg des künstlichen Aufbaus zu beschreiten. Diese Aufgabe wurde durch die schöne Synthese des Equilenins durch den Schweizer *Bachmann*<sup>1)</sup> in U.S.A. ausserordentlich erleichtert. Sie geht von dem von *Butenandt*<sup>2)</sup> 1935 aus *Cleve-Säure* gewonnenen 1-Keto-7-methoxy-tetrahydro-phenanthren (XIX) aus und wird durch die Formeln XIX–XXVIII gekennzeichnet.

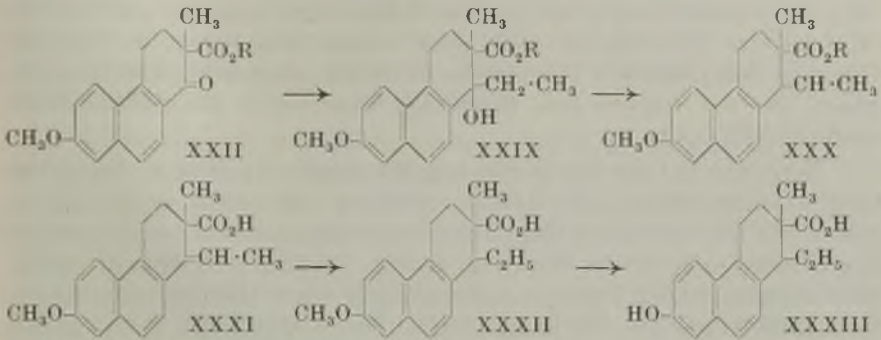


Anstatt mit Bromessigester nach *Reformatsky* wurde der 1-Keto-2-methyl-7-phenanthrol-2-carbonsäure-ester (XXII) mit Äthyl-magnesiumbromid umgesetzt. Glücklicherweise reagierte das *Grignard*-Reagens bloss mit der Ketogruppe und lieferte ein tertiäres Carbinol (XXIX). Durch Wasserabspaltung ging daraus der Ester (XXX)

<sup>1)</sup> W. E. *Bachmann* und Mitarbeiter, Am. Soc. 61, 974 (1939); 62, 824 (1940).

<sup>2)</sup> A. *Butenandt* und G. *Schramm*, B. 68, 2083 (1935).

einer  $\beta, \gamma$ -ungesättigten Säure hervor. Dieser wurde verseift und die gebildete Säure (XXXI) katalytisch hydriert. Die entstandene 7-Methoxy-carbonsäure (XXXII) konnten wir auf verschiedenen Wegen in die gesuchte freie 1-Äthyl-2-methyl-7-oxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthryl-2-carbonsäure (XXXIII), die Bisdehydro-doisylnsäure, überführen.



Infolge der zwei Asymmetriezentren des Phenanthrenskeletts bilden sich jeweils Isomere, doch soll hier auf die zahlreichen von uns isolierten Zwischenprodukte und auch auf gewisse weitere Synthesevarianten nicht eingetreten werden. Wie erwartet, liessen sich zwei Racemate isolieren. Sie schmolzen bei  $204-205^{\circ}$  und  $235-238^{\circ}$ . Wir bezeichnen sie als normale und als iso-Bisdehydro-doisylnsäure, wobei vermutlich der normalen Säure die trans-, der Isosäure die cis-Konfiguration zukommt. Beide Säuren sind schwer veresterbar und schwierig wieder verseifbar. Immerhin ist die sterische Hinderung hier etwas geringer als bei der Doisylnsäure selbst.

Über die Wirkung der neuen Verbindung bei subcutaner und oraler Applikation im Oestrustest an der Ratte orientiert folgende Tabelle:

Schwellenwerte im Oestrustest (Ratte).

	subcutan	oral
n-Dehydro-doisylnsaures Natrium (rac.) . . .	0,1—0,15 $\gamma$	0,1—0,2 $\gamma$
Methyl-ester . . . . .	0,1—0,15	0,1—0,2
iso-Dehydro-doisylnsaures Natrium (rac.) . .	> 100	—
Doisylnsäure (aus Oestradiol) . . . . .	0,7—1,0	1,5
Oestron . . . . .	0,7	20—30
Oestradiol . . . . .	0,3—0,4	20—30
Diäthyl-stilböstrol . . . . .	0,3—0,4	0,7—1,0

Es ist daraus ersichtlich, dass die rein synthetische normale Dehydro-doisylnsäure vom Smp.  $204-205^{\circ}$  alle bisher bekannten Verbindungen mit östrogener Wirkung, sowohl die natürlichen als

auch die künstlichen, ja selbst die optisch aktive Doisynolsäure übertrifft. Das gleiche gilt für ihren Methylester, während die isomere Säure anscheinend wirkungslos ist. Es besteht hier dasselbe Verhältnis wie zwischen Equilenin und Iso-equilenin nach *Bachmann*<sup>1)</sup>. Bei subcutaner Applikation zeigt die Dehydro-doisynolsäure eine Wirkungsverbesserung um mehr als das Doppelte gegenüber Oestradiol oder Stilboestrol und etwa um das 3-fache im Vergleich zu Oestron. Oral ist der Unterschied noch sehr viel beträchtlicher, da hier die Dehydro-doisynolsäure die gleiche Wirkung zeigt wie subcutan, dagegen die der natürlichen Hormone, aber auch des Stilboestrols, stark abfällt.

Während bei der Austestierung östrogenen Hormone, besonders in wässriger Lösung, die Dosis mehrfach unterteilt werden muss, wurde mit der normalen Dehydro-doisynolsäure schon bei einmaliger Applikation eine volle Wirkung erzielt. Schon dies sprach dafür, dass letztere anhält. Diese Annahme wurde durch die Bestimmung der Oestrusdauer an der Ratte bestätigt. Die Kurven der Fig. 1 geben

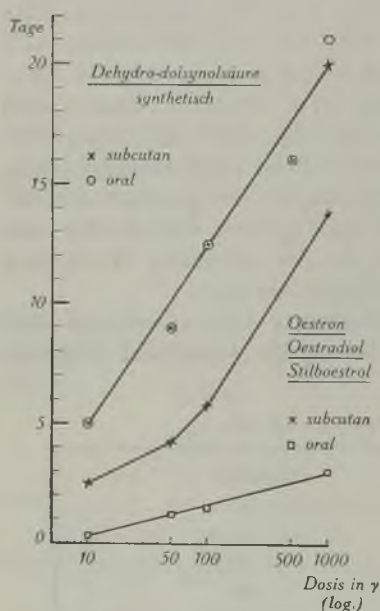


Fig. 1.

Oestrusdauer in Tagen (Ratte)

die Dauer in Tagen bei wachsender Dosis an. Die Dosis ( $\gamma$ ) ist in logarithmischem Masse aufgetragen. Wiederum besteht Übereinstimmung zwischen subcutaner und oraler Wirkung bei der synthetischen Säure. Interessant erscheint der geradlinige Verlauf im untersuchten Intervall. Schon subcutan wirkt die Säure länger wie die Hormone oder Stilboestrol, die bei diesem Test übereinstimmen. Besonders auffällig ist der Unterschied bei oraler Applikation, wo die Dehydro-doisynolsäure die natürlichen Hormone und auch das Stilboestrol, die auch hier unter sich nicht differieren, weit hinter sich lässt. Dies ist darum überraschend, weil im allgemeinen die wasserlöslichen Derivate der Sexualhormone nur eine flüchtige Wirkung aufweisen.

Vorliegende Synthese erlaubt es natürlich auch, Homologe und Analoge der Doisynolsäuren herzustellen. Auch dieser Weg ist beschritten worden. Hierüber wird später zu berichten sein.

<sup>1)</sup> W. E. Bachmann, l. c.



Neuartige Befunde vorliegender Art bedeuten selbstverständlich keinen Abschluss, sondern geben zu einer Fülle weiterer Fragestellungen Anlass. Hier sei bloss auf zwei Aspekte hingewiesen. Das Vorkommen von Oestron, Oestradiol oder Oestriol ist erst in wenigen Tierarten nachgewiesen worden. Möglicherweise bedient sich die Natur in andern Fällen selbst der hochwirksamen Doisynolsäuren. Vielleicht kommen auch die bisher bekannten Hormone, zum mindestens teilweise, erst nach ihrer hydrolytischen (oder dehydrierenden) Aufspaltung zur Wirkung. Sie würden damit bloss Vorstufen der eigentlichen Hormone darstellen.

Andererseits ist es auffällig, dass nur geringe Mengen exogen eingeführter Hormone wieder ausgeschieden werden. Kürzliche Untersuchungen durch *v. Wattenwyl*<sup>1)</sup> an der Zürcher Frauenklinik zeigen, dass es oft nur Bruchteile von Prozenten bis wenige Prozente sind. Wäre es nicht möglich, dass der Abbau über die unwirksamen Dicarbonsäuren führt? Ein Übergang einer Marrianol- zu einer Doisynolsäure oder umgekehrt im Tierkörper scheint dagegen wenig wahrscheinlich. Jedenfalls wird man in Zukunft im Harn und Blut nach dem Vorkommen beiderlei Säuren zu suchen haben.

Mit der Erkenntnis, dass auch gewissen Oxy-phenanthryl-carbonsäuren ausgesprochen östrogene Wirkung zukommt, ja mit der Dehydro-doisynolsäure alle bekannten Verbindungen übertroffen werden, erfährt das vielgestaltige Problem des Zusammenhangs zwischen Konstitution und hormonaler Wirkung eine neue und interessante Wendung. Von einer Erklärungsmöglichkeit stehen wir immer noch weit entfernt.

In folgenden Arbeiten werden die erzielten experimentellen Ergebnisse ausführlicher dargelegt werden. Hieraus wird auch der Anteil der Mitarbeiter, insbesondere der Herren Drs. *Heer* und *Billeter* hervorgehen. Über die ausgedehnten tierexperimentellen Befunde wird andernorts berichtet.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba*, Basel.  
Pharmazeutische Abteilung.

---

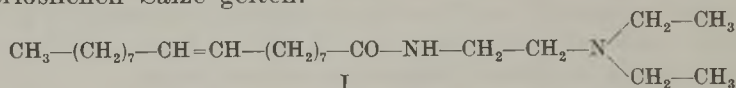
<sup>1)</sup> *v. Wattenwyl*, Schweiz. med. Wschr. **74**, 160 (1944).

## 206. Über invertseifenartige Desinfektionsmittel aus der Reihe des 8-Oxychinolins und des 1-Oxynaphthalins

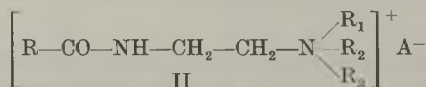
von Werner Bosshard.

(13. X. 44.)

1928 gewannen *M. Hartmann* und *H. Kägi*<sup>1)</sup> basische Amide durch Einwirkung höherer Fettsäuren auf aliphatische Diamine. Die Kondensationsprodukte besaßen in stark saurer, ja selbst mineral-saurer Lösung Seifencharakter, während in der gewöhnlichen Seifen nur in neutraler bzw. alkalischer Lösung zeigen. Die neuen Verbindungen wurden von ihren Entdeckern deswegen „saure Seifen“ genannt. Als Haupttypus dieser sauren Seifen kann das Diäthyl-aminoäthyl-oleyl-amid der Formel I, das „Sapamin“, in Form seiner wasserlöslichen Salze gelten.

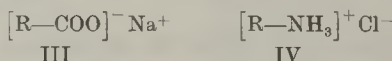


Alkalien fällen aus den wässrigen Lösungen der Salze die freien Basen aus. Wird die tertiäre Verbindung in ein quaternäres Ammoniumsalz übergeführt, so entstehen Körper wie das Sapamin MS, die als Ammoniumsalze vom Typus II weder in saurer oder neutraler, noch in basischer Lösung ausgefällt werden und zugleich auch ihren Seifencharakter beibehalten.



(A = Anion, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = Alkyl, R = Fettsäureradikal)

Bei den üblichen Seifen, den Alkalisalzen der höheren Fettsäuren III, trägt der Fettsäurekomplex eine negative (anionische) Ladung, bei den „sauren“ oder „umgekehrten“<sup>2)</sup> Seifen IV trägt der Fettsäurekomplex eine positive (kationische) Ladung.



*R. Kuhn* hat später den prägnanteren Ausdruck „Invertseifen“ für die „sauren“ oder „umgekehrten“ Seifen vorgeschlagen und das Gebiet der Invertseifen in den letzten Jahren auf breiter Basis bearbeitet. Von *O. Westphal* und *D. Jerchel* ist darüber kürzlich ein Übersichtsreferat veröffentlicht worden<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> *M. Hartmann* und *H. Kägi*, *Angew. Ch.* **41**, 127 (1928).

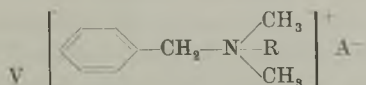
<sup>2)</sup> *F. Krafft* und Mitarb., *B.* **22**, 811 (1889); **29**, 1328, 1334 (1896); ferner *R. Scheuble* und *E. Loebel*, *M.* **25**, 341 (1904).

<sup>3)</sup> *O. Westphal* und *D. Jerchel*, *Koll. Z.* **101**, 213 (1942).

Die technischen Anwendungsmöglichkeiten für die Invertseifen sind sehr zahlreich; wichtig ist vor allem ihre Verwendung als Desinfektionsmittel. So schrieben *M. Hartmann* und *H. Kägi* (loc. cit.):

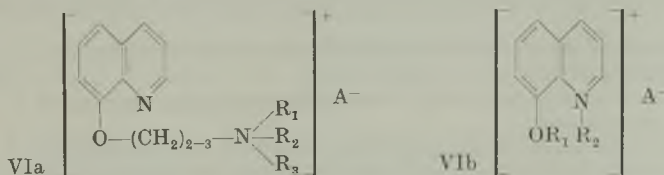
„Es hat sich gezeigt, dass saure Seifen für Kleinlebewesen erheblich giftiger sind als Alkaliseifen. Wie die Saponine haben sie eine grosse hämolytische Wirkung. Ferner sind sie ziemlich starke Antiseptika, wie Prof. *Doerr* gefunden hat.“

Diese Beobachtung hat sich für den Weiterausbau der Desinfektionsmittel-Synthese als ausserordentlich fruchtbringend erwiesen. Die bakteriziden Eigenschaften, die sich in idealer Weise mit dem Seifencharakter verbinden, wurden dann insbesondere von *G. Domagk* zum Gegenstand eingehender Untersuchungen gemacht, die in der Folge zu neuen Desinfektionsmitteln führten<sup>1)</sup>. Das Zephirol von *Domagk* leitet sich vom Typ der Formel V ab, in der R eine kürzere oder längere Paraffinkette darstellt, wobei ein Wirkungsoptimum bei 12 Kohlenstoffatomen vorzuliegen scheint.



Invertseifenartige Desinfektionsmittel haben rasch Eingang in die Praxis gefunden, ohne dass die bisher bekannt gewordenen Verbindungen alle an sie gestellten Anforderungen erfüllten. So konnte beispielsweise bisher noch kein genügend bakterizider Vertreter gefunden werden, der in fester Form vorliegt und gut in Wasser löslich ist. Die wenigen bisher als krystallisiert beschriebenen Verbindungen mit bakterizider Wirkung weisen in Wasser bei Zimmer-temperatur ungenügende Löslichkeit auf.

Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigen sich in erster Linie mit einer Reihe neuer Invertseifen, die sich vom 8-Oxychinolin ableiten und Chinolyl-8-oxy-alkyl-trialkylammoniumsalze vom Typus VIa darstellen. Untersuchungen über die bakterizide Wirkung quaternärer Salze von 8-Oxychinolinäthern wurden zuerst von *R. Kuhn* und *O. Westphal* ausgeführt<sup>2)</sup>. Die *Kuhn*'schen Verbindungen vom Typus VIb enthalten z. B. in 8-Stellung des Chinolinkerns einen Dodecylrest ätherartig gebunden; die Wasserlöslichkeit wird durch die Überführung des Ringstickstoffes in ein quaternäres Ammoniumsalz erreicht.



<sup>1)</sup> *G. Domagk*, Dtsch. med. Wschr. **61**, 829 (1935).

<sup>2)</sup> *B. 73*, 1105 (1940).

Im Gegensatz dazu befindet sich bei den Dialkylaminoalkyl-äthern des 8-Oxychinolins, den unmittelbaren Ausgangsstoffen zu den neuen synthetischen Produkten, die salzbildende Gruppe in der Seitenkette. Die Alkylenbrücke vom Sauerstoff zum Stickstoff zählt 2 oder 3 Kohlenstoffatome. Die Bildung quaternärer Ammoniumsalze erfolgt hier mittels langkettiger Alkylhalogenide am Stickstoff der Seitenkette und nicht am Kernstickstoff.

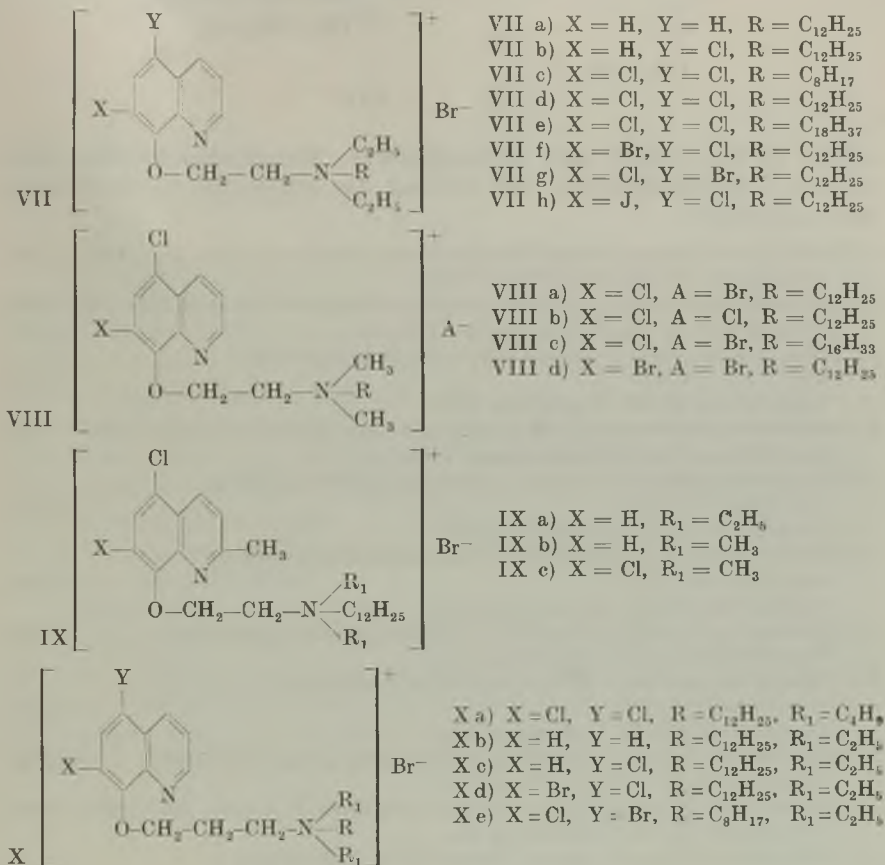
Aus einer früheren Arbeit von *M. Hartmann* und *H. Isler*<sup>1)</sup> war bekannt, dass basischen Äthern von Verbindungen der aromatischen und der Chinolinreihe an sich keine nennenswerte antiseptische Wirkung zukommt, dass sich diese aber durch Einführung eines oder mehrerer Halogenatome so weit steigern lässt, dass solche Verbindungen für antiseptische Zwecke Verwendung finden können. Wir haben nun eine grosse Zahl quaternärer Verbindungen synthetisiert, die in Stellung 5 und 7 des Chinolinringes mit Halogen substituiert sind, und diese mit den entsprechenden nicht quaternären oder quaternären halogenfreien Körpern in ihrer Wirkung verglichen, letzteres um zu sehen, wie sich durch die Einführung des Halogens das für die Wirksamkeit der invertseifenartigen Desinfektionsmittel so wichtige Gleichgewicht hydrophiler und hydrophober Gruppen verschiebt.

Es wurden folgende Verbindungen mit quaternärem Aminstickstoff neu dargestellt (Formel VII bis X; darin bedeuten X und Y Wasserstoff oder Halogen, R die langkettige Alkylseitenkette und A das Anion):

(Chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid	(VIIa)
(5-Chlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid	(VIIb)
(5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-octyl-ammoniumbromid	(VIIc)
(5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid vom Smp. 136°	(VIIId)
(5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-octadecyl-ammoniumbromid vom Smp. 70°	(VIIe)
(5-Chlor-7-brom-chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid	(VIIf)
(5-Brom-7-chlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid	(VIIg)
(5-Chlor-7-jod-chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid vom Smp. 143°	(VIIh)
(5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid vom Smp. 106—107°	(VIIIa)
(5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumchlorid vom Smp. 77—79°	(VIIIb)
(5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-hexadecyl-ammoniumbromid vom Smp. 100—101°	(VIIIc)
(5-Chlor-7-brom-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid vom Smp. 95—100°	(VIIIId)
(2-Methyl-5-chlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid	(IXa)
(2-Methyl-5-chlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid vom Smp. 128—129°	(IXb)

<sup>1)</sup> Ges. f. Chemische Industrie in Basel, D. R. P. 556324 v. 5. 4. 29.

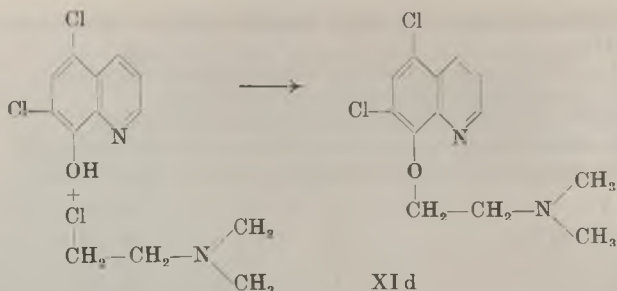
- (2-Methyl-5,7-dichlor-chinoly-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid vom Smp. 142° (IXc)  
 (5,7-Dichlor-chinoly-8-oxy-propyl)-dibutyl-dodecyl-ammoniumbromid (Xa)  
 (Chinoly-8-oxy-propyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid (Xb)  
 (5-Chlor-chinoly-8-oxy-propyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid (Xc)  
 (5-Chlor-7-brom-chinoly-8-oxy-propyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid (Xd)  
 (5-Brom-7-chlor-chinoly-8-oxy-propyl)-diäthyl-octyl-ammoniumbromid (Xc)



Die diesen Chinoly-8-oxy-alkyl-trialkylammoniumsalsen zugrunde liegenden 8-(Dialkylamino-alkoxy)-chinoline lassen sich am einfachsten aus den entsprechenden 8-Oxy-chinolinen mittels Halogenalkyl-dialkylaminen in Aceton mit Pottasche darstellen<sup>1)</sup>. Wir geben als Beispiel die Darstellung von 8-(Dimethylamino-äthoxy)-5,7-dichlor-chinolin (XIId).

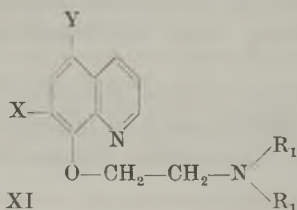
8-(β-Diäthylamino-äthoxy)-2-methyl-5-chlor-chinolin (XIIa) wurde durch Ringschluss nach *Döbner-Miller* aus 2-(β-Diäthylamino-äthoxy)-5-chloranilin und Acetaldehyd dargestellt. Diese Dialkyl-

<sup>1)</sup> D. R. P. 556 324.

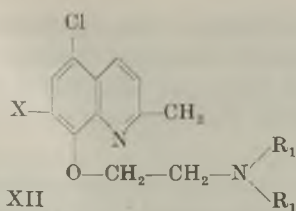


amine liefern meist gut krystallisierte Monohydrochloride oder seltener Dihydrochloride. So wurden die folgenden Verbindungen neu hergestellt:

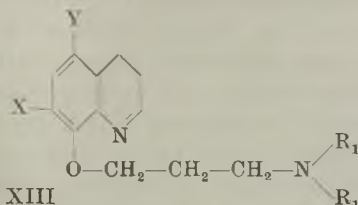
- 8-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-5-chlor-quinolin-dihydrochlorid vom Smp. 184—185° (XIa)  
Grundkörper für die Verbindung VIIb.
- 8-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-5,7-dichlor-quinolin-hydrochlorid vom Smp. 163—164° (XIb)  
Grundkörper für die Verbindungen VIIc—e.
- 8-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-5-brom-7-chlor-quinolin-hydrochlorid vom Smp. 151-152° (XIc)  
Grundkörper für die Verbindung VIIf.
- 8-( $\beta$ -Dimethylamino-äthoxy)-5,7-dichlor-quinolin-hydrochlorid vom Smp. 173° (XI d)  
Grundkörper für die Verbindungen VIIIa—c.
- 8-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-2-methyl-5-chlor-quinolin-dihydrochlorid vom Smp. 170—172° (XIIa)  
Grundkörper für die Verbindung IXa
- 8-( $\beta$ -Dimethylamino-äthoxy)-2-methyl-5-chlor-quinolin-hydrochlorid vom Smp. 190—200° (XIIb)  
Grundkörper für die Verbindung IXb.
- 8-( $\beta$ -Dimethyl-amino-äthoxy)-2-methyl-5,7-dichlor-quinolin-hydrochlorid Grundkörper für die Verbindung IXc.
- 8-( $\gamma$ -Dibutylamino-propoxy)-5,7-dichlor-quinolin-hydrochlorid vom Smp. 120—122° (XIIIa)  
Grundkörper für die Verbindung Xa.
- 8-( $\gamma$ -Diäthylamino-propoxy)-quinolin-hydrochlorid vom Smp. 153—160° (XIIIb)  
Grundkörper für die Verbindung Xb.
- 8-( $\gamma$ -Diäthylamino-propoxy)-5-chlor-quinolin-hydrochlorid vom Smp. 126—129° (XIIIc)  
Grundkörper für die Verbindung Xc.
- 8-( $\gamma$ -Diäthylamino-propoxy)-5-chlor-7-brom-quinolin-hydrochlorid vom Smp. 186° (XIII d)  
Grundkörper für die Verbindung Xd.
- 8-( $\gamma$ -Diäthylamino-propoxy)-5-brom-7-chlor-quinolin-hydrochlorid vom Smp. 185° (XIIIe)  
Grundkörper für die Verbindung Xe.



- XI a) X = H, Y = Cl, R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>
- XI b) X = Cl, Y = Cl, R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>
- XI c) X = Cl, Y = Br, R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>
- XI d) X = Cl, Y = Cl, R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>



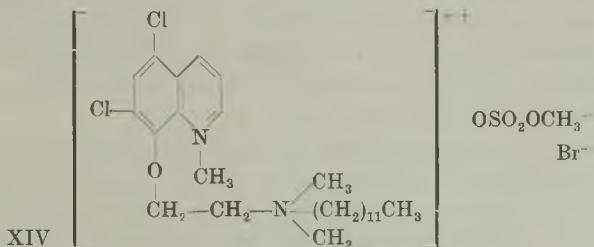
- XII a) X = H, R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>  
 XII b) X = H, R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>  
 XII c) X = Cl, R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>



- XIII a) X = Cl, Y = Cl, R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>  
 XIII b) X = H, Y = H, R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>  
 XIII c) X = H, Y = Cl, R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>  
 XIII d) X = Br, Y = Cl, R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>  
 XIII e) X = Cl, Y = Br, R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

Die Umwandlung der Chinolyl-8-oxyalkyl-dialkylamine in ihre quaternären Ammoniumverbindungen (z. B. XIId in VIIIa) erfolgt leicht durch Umsetzung mit etwas mehr als 1 Mol Alkylbromid bei 100–120°. Dabei lassen sich ziemlich grosse Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit feststellen. Aus den Ausbeuten bei gleichen Reaktionszeiten oder aus den Reaktionszeiten bei gleichen Ausbeuten lässt sich abschätzen, dass sich die Dimethylaminverbindungen etwa 20mal schneller umsetzen als die entsprechenden Diäthylaminverbindungen. Ausserdem reagieren die ersteren zum Unterschied von den letzteren noch recht gut mit den reaktions-trägeren Alkylchloriden.

Durch weitere energische Einwirkung von Halogenalkylen auf die quaternären Verbindungen kann auch der Kernstickstoff, jedoch nur sehr langsam, quaternisiert werden. Mit steigender Kohlenstoffzahl des Halogenalkyls nimmt aber die Reaktionsgeschwindigkeit ab. Bei Verwendung des energisch reagierenden Dimethylsulfats gelingt es leicht, den diquaternären Körper XIV zu erhalten.



Von den neuen quaternären Abkömmlingen des Chinolins sind vorzugsweise die Derivate von 8-(Dimethyl oder -Diäthyl-amino-äthoxy)-chinolin mit 2 Halogenatomen krystallisiert. Sie sind im allgemeinen in Wasser gut, in Alkohol und Aceton sehr gut löslich; einige lösen sich sogar in Essigester. Nur der Vioformabkömmling

VIIIh ist nicht besonders gut in Wasser löslich. Die synthetisierten Körper geben neutrale, stark schäumende wässrige Lösungen, die sauer und alkalisch beständig sind. Die Lösungen sind bei jedem  $p_H$  farblos; sie zeigen nicht mehr die gelbe Färbung der sauren und alkalischen Salze der Oxychinoline.

Das im Vordergrund des Interesses stehende (5,7-Dichlor-chinoyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid (VIIIa) gibt eine mässig viskose Lösung von 10% in Wasser; höhere Konzentrationen zeigen schon ausgesprochene kolloidale Eigenschaften infolge Mizellenbildung wie bei echten Seifen. Es unterscheidet sich von der entsprechenden diäthylierten Verbindung VIIId durch sein Vermögen, Essigester oder Äther gelartig festzubalten und nur langsam in vorsichtigem Trocknungsprozess wieder abzugeben, wobei sich sein Schmelzpunkt von  $65^{\circ}$  kontinuierlich auf  $106-107^{\circ}$  erhöht. Diese Eigenschaft ist vermutlich ein Ausdruck verstärkter Lipoidbindungsfähigkeit und erklärt vielleicht die hervorragende antiseptische Wirkung der Verbindung VIIIa, die jene der Verbindung VIIId übertrifft.

Auf Grund der Versuche von *R. Meier* und *O. Allemann*<sup>1)</sup> aus unserer biologischen Abteilung liessen sich folgende allgemeine Gesetzmässigkeiten in Bezug auf die bakterizide Wirkung unserer neuen quaternären Derivate basischer Äther von 8-Oxychinolinen feststellen:

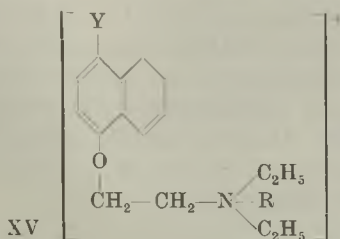
Die bakteriziden Eigenschaften der basischen Äther der 8-Oxychinolinverbindungen werden durch Darstellung ihrer quaternären Alkylverbindungen wesentlich verbessert. Alle neuen Verbindungen wirken tödend auf grampositive wie gramnegative Bakterien. Ein Ersatz der Methylgruppen ( $R_1$ ) durch höhere Alkyle (z. B.  $C_4H_9$  in Verbindung Xa), ja schon durch die Äthylgruppe (z. B. in Verbindung VIIId) oder Umwandlung der Äthoxygruppe in eine Propoxygruppe (z. B. in den Verbindungen Xa-e) verursachen deutliche Verminderung der bakteriziden Wirkung. Das Optimum liegt bei Verbindungen mit einem Alkylrest (R) von 12 Kohlenstoffatomen vor. Die Einführung von Halogenatomen bringt eine weitere merkliche Verbesserung der Wirkung mit sich.

Wie von *M. Hartmann* und *H. Isler* (loc. cit.) früher gefunden wurde, besitzen auch halogensubstituierte, basische Naphtholäther im Gegensatz zu den entsprechenden halogenfreien Naphtholverbindungen antiseptische Eigenschaften. Es interessierte uns deshalb die Frage, ob auch ihre Wirkung durch Anlagerung langkettiger Alkylhalogenide unter Bildung quaternärer Ammoniumsalze verstärkt werden kann. Die folgenden Naphthyl-1-oxy-alkyltrialkylammoniumverbindungen wurden neu hergestellt:

<sup>1)</sup> Eine ausführliche Arbeit hierüber erscheint an anderer Stelle.



- (4-Chlor-naphthyl-1-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid (XVa)  
 (4-Brom-naphthyl-1-oxy-äthyl)-diäthyl-hexyl-ammoniumbromid vom Smp. 62—64° (XVb)  
 (4-Brom-naphthyl-1-oxy-äthyl)-diäthyl-octyl-ammoniumbromid vom Smp. 121—122° (XVc)  
 (4-Brom-naphthyl-1-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid vom Smp. 100—101° (XVd)  
 (4-Brom-naphthyl-1-oxy-äthyl)-diäthyl-octadecyl-ammoniumbromid vom Smp. 90—91° (XVe)



- XV a) Y = Cl, R = C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>  
 XV b) Y = Br, R = C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>  
 XV c) Y = Br, R = C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>  
 XV d) Y = Br, R = C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>  
 XV e) Y = Br, R = C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>

Diese quaternären basischen Naphtholäther sind bei sonst gleichen Eigenschaften wie die Chinolinverbindungen in Wasser ungenügend löslich. So löst sich z. B. das (4-Bromnaphthyl-1-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid (XVd) nur zu 0,2% in Wasser. Wohl der wichtigste Befund ist aber der, dass die an und für sich schon vorhandene antiseptische Wirkung der halogensubstituierten basischen Naphtholäther durch Darstellung quaternärer Ammoniumsalze mittels langkettiger Halogenalkyle nicht gesteigert werden kann. Oxychinolin- und Naphtholverbindung verhalten sich hier also völlig verschieden.

Zwischen Desinfektionswirkung und Oberflächenaktivität bestehen gewisse Beziehungen, die wir allerdings heute noch nicht voll überblicken können. Messungen der Oberflächenaktivitäten sind häufig ausgeführt worden, so bestimmten z. B. *R. Kuhn* und Mitarbeiter die Tropfenzahl wässriger Invertseifenlösungen stalagmometrisch<sup>1)</sup>. Danach hängt die Oberflächenaktivität von der Grösse des hydrophoben Restes, d. h. des langkettigen Alkylsubstituenten der quaternären Verbindung ab; bei einer bestimmten Grösse wird ein deutliches Maximum der Tropfenzahl erreicht. Unsere Messungen mit dem *Traube'schen* Stalagmometer von (5,7-Dichlorchinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid (VII d) und der entsprechenden dimethylierten Verbindung VIII a, sowie von (5,7-Dichlorchinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-hexadecyl-ammoniumbromid (VIII c) unter gleichen Bedingungen ergaben die in der Tabelle 1 zusammengestellten Tropfenzahlen.

<sup>1)</sup> Vgl. *R. Kuhn* und Mitarb. B. 73, 1095 (1940) und die folgenden Mitteilungen.

Tabelle 1.

Verdünnung in %	Bei 25° Wasser = 64 Tropfen					
	1	0,1	0,01	0,001	0,0001	0,00001
VIIId . . . .	105	104	89	79	78	77
VIIIa . . . .	107	97	90	70	64	64
VIIIc . . . .	89	75	75	75	70	66

Aus der Tabelle lässt sich entnehmen, dass bei höherer Konzentration die Verbindungen VIIId und VIIIa nahezu dieselbe Erniedrigung der Oberflächenspannung zeigen; sie gleicht derjenigen von Zephirol, für das unter gleichen Bedingungen die Tropfenzahl z. B. in 0,1-proz. Lösung 99 beträgt. Dagegen ist die geringere wirksame Verbindung VIIIc mit längerem Rest bereits in schwächerer Verdünnung deutlich weniger oberflächenaktiv.

### Experimenteller Teil.

#### A. Herstellung der Dialkylamino-alkoxy-chinoline und -naphthaline.

Die als Ausgangsmaterialien benutzten 8-(Dialkyl-amino-alkoxy)-chinoline und 1-(Dialkylamino-alkoxy)-naphthaline liessen sich in bekannter Weise<sup>1)</sup> durch Umsetzung mit Chloralkyl-dialkylaminen in Aceton in Gegenwart eines Überschusses an Pottasche darstellen. Die Dialkylamino-alkoxy-verbindungen, die den Formeln VIIa, IXa und XVa—e entsprechen, wurden in guter Ausbeute durch Umsatz mit  $\beta$ -Chloräthyl-diäthylamin erhalten. Den basischen Äther zur Verbindung Xa erhielt man durch Umsatz von 5,7-Dichlor-8-oxo-chinolin mit  $\gamma$ -Chlorpropyl-di-n-butylamin, die basischen Äther zu den Verbindungen Xb—e mit  $\gamma$ -Chlorpropyl-diäthylamin. Bei den Dialkylamino-alkoxy-chinolinolen, die den Verbindungen VIIIa—d und IXb—e zugrunde liegen, wurde mit  $\beta$ -Chloräthyl-dimethylamin gearbeitet. Obwohl in einigen Fällen die Umsetzung gleich gut wie mit  $\beta$ -Chloräthyl-diäthylamin verlief, erwies es sich hier als vorteilhaft wegen der erhöhten Reaktionsfreudigkeit des  $\beta$ -Chloräthyl-dimethylamins, die schneller zur Ätherbildung aber auch bereits zur Selbstkondensation führt, zunächst keinen Überschuss an freier  $\beta$ -Chloräthyl-dimethylamin-Base zu erzeugen, sondern diese langsam im Verlaufe der Reaktion in Freiheit zu setzen.

Dieses Verfahren wird im folgenden durch die Darstellung von 8-( $\beta$ -Dimethylamino-äthoxy)-5,7-dichlor-chinolin (XIId) beschrieben.

Eine weitere Möglichkeit, zu den Dialkylamino-alkoxy-chinolinolen zu gelangen, besteht in der Umsetzung von 2-(Dialkylamino-alkoxy)-anilinen mit Acetaldehyd nach *Döbner-Müller* und wird bei der Darstellung von 8-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-2-methyl-5-chlor-chinolin (XIIa) erläutert. Dazu wurde p-Chlor-o-acetaminophenol nach der oben<sup>1)</sup> angegebenen Arbeitsweise in 2-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-5-chlor-acetanilid und dieses durch Verseifen mit Salzsäure in das 2-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-5-chlor-anilin übergeführt. Mit diesem lässt sich der Ringschluss mit Acetaldehyd glatt vollziehen.

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Halogen-Titrationen nach *Volhard*<sup>2)</sup> der neu dargestellten (Dialkylaminoalkoxy)-chinolin-hydrochloride bzw. -dihydrochloride (mit \* bezeichnet) zusammengefasst.

<sup>1)</sup> D. R. P. 556 324.

<sup>2)</sup> H. Gysel, Helv. 24, 128 E (1941).

8-( $\beta$ -Dimethylamino-äthoxy)-5,7-dichlor-chinolin (XIId).

7,5 g 5,7-Dichlor-8-oxy-chinolin und 6 g  $\beta$ -Chloräthyl-dimethylamin-hydrochlorid wurden in 150 cm<sup>3</sup> Aceton durch gutes Rühren suspendiert und schwach am Rückfluss gekocht. Innerhalb 6 Stunden setzte man nun in kleinen Portionen 8,5 g trockene Soda (oder eine entsprechende Menge Pottasche) hinzu und kochte noch weitere 15 Stunden am Rückfluss. Nach dem Abkühlen wurde filtriert, der Filter-Rückstand gut mit Aceton ausgewaschen und das Filtrat auf dem Wasserbade eingedampft. Den Rückstand machte man mit verdünnter Salzsäure eben kongosauer und filtrierte von 2,9 g ausgefallenem, unverändertem 5,7-Dichlor-8-oxy-chinolin. Das Filtrat versetzte man mit einem Überschuss an 10-n. Natronlauge und extrahierte mehrmals mit Äther, wusch den letzteren mit Wasser, trocknete ihn mit Natriumsulfat und destillierte das Lösungsmittel ab. Der rohe Rückstand von 3,6 g Öl wurde mit 10 cm<sup>3</sup> Alkohol aufgenommen und mit 2,25 cm<sup>3</sup> einer 20-proz. alkoholischen Lösung von Salzsäure versetzt, abgekühlt und etwa 10 cm<sup>3</sup> Äther zugegeben. Es krystallisierten 3,6 g 8-( $\beta$ -Dimethylamino-äthoxy)-5,7-dichlor-chinolin-hydrochlorid aus, das nach dem Umkrystallisieren aus einem Alkohol-Äther-Gemisch bei 173° schmolz<sup>1)</sup>. Die Ausbeute betrug 58%, berechnet auf umgesetztes 5,6-Dichlor-8-oxychinolin (Analyse siehe Tabelle 2).

2-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-5-chlor-acetanilid.

100 g p-Chlor-o-acetaminophenol wurden in 400 cm<sup>3</sup> Aceton mit 75 g  $\beta$ -Chloräthyl-diäthylamin und 200 g Pottasche 17 Stunden lang unter Rühren am Rückfluss gekocht, dann abgesaugt und das Filtrat eingedampft. Versetzte man das dabei entstandene 2-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-5-chlor-acetanilid mit alkoholischer Salzsäure, so entstand ein Hydrochlorid, das nach dem Umkrystallisieren aus einem Alkohol-Äther-Gemisch den Smp. 158—160° zeigte.

9,062 mg Subst. verbr. 4,15 cm<sup>3</sup> NH<sub>4</sub>CNS (f = 0,250)

C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> Ber. Cl' 11,31; Gef. Cl' 11,46%

2-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-5-chlor-anilin.

Das rohe 2-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-5-chlor-acetanilid wurde direkt mit 750 cm<sup>3</sup> Salzsäure 1:1 während 17 Stunden am Rückfluss verseift. Danach machte man mit 10-n. Natronlauge alkalisch und extrahierte mehrmals mit Äther. Der Extrakt hinterliess nach dem Trocknen und Abdestillieren des Äthers ein Öl, dessen Hauptfraktion unter 10 mm Hg bei 195° destillierte. Die Ausbeute betrug 78 g 2-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-5-chloranilin, das sind 60% der Theorie.

Diese Base gab ein krystallisiertes Dihydrochlorid vom Smp. 201° nach dem Umkrystallisieren aus einem Alkohol-Äther-Gemisch.

6,820 mg Subst. verbr. 6,11 cm<sup>3</sup> NH<sub>4</sub>CNS (f = 0,250)

C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>ON<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub> Ber. Cl' 22,49; Gef. Cl' 22,40%

8-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-2-methyl-5-chlor-chinolin (XIIa).

65 g 2-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-5-chlor-anilin wurden in 80 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und mit 100 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure versetzt, dann gab man in Portionen eine Lösung von 60 cm<sup>3</sup> Acetaldehyd in 60 cm<sup>3</sup> Alkohol hinzu, liess bei 65° ausreagieren und einige Stunden stehen, versetzte mit Natronlauge, nahm mit Äther auf, extrahierte die Ätherlösung mit 2-n. Salzsäure, machte die salzsaure Lösung wieder alkalisch und extrahierte die Basen mit Äther. Der Extrakt wurde getrocknet, das Lösungsmittel abdestilliert und aus dem Rückstand das 8-( $\beta$ -Diäthylamino-äthoxy)-2-methyl-5-chlor-chinolin unter 0,4 mm Hg bei 185—192° destilliert; 61 g Ausbeute, das sind 58% der Theorie.

Die Base gab ein aus Alkohol umkrystallisierbares Hydrochlorid vom Smp. 170—172° (Analyse siehe Tabelle 2). Aus diesem Dihydrochlorid liess sich die freie Base krystallisiert erhalten. Sie schmolz nach dem Umkrystallisieren aus Aceton bei 59—61°.

<sup>1)</sup> Sämtliche Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

Tabelle 2.

Formel	Einwage mg	Verbrauch Ammonium- rhodanid cm <sup>3</sup> f = 0,250	Gef. % Cl'	Ber. % Cl'	Bruttoformel
XIa	5,75	4,61	20,04	20,18 <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> ON <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub>
XIb	10,28	4,22	10,26	10,15	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> ON <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub>
XId	5,27	2,32	11,01	11,04	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> ON <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub>
XIIa	8,02	6,23	19,42	19,42 <sup>+</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> ON <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub>
XIIIc	10,76	4,55	10,54	10,79	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ON <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
XIII d	4,37	1,51	8,64	8,70	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> ON <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Br
XIII e	4,697	1,58	8,47	8,70	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> ON <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Br

## B. Herstellung der Chinolyl- und Naphthyl-oxy-alkyl-trialkylammonium-Verbindungen.

Aus den Hydrochloriden der genannten Dialkylaminoalkoxy-Verbindungen liessen sich mit Lauge die freien Basen abscheiden und in Äther aufnehmen. Nach dem Trocknen und Abdestillieren des Äthers wärmte man den Rückstand mit 1,1 Mol Alkylhalogenid einige Stunden lang auf dem kochenden Wasserbade, nahm danach in Aceton auf, filtrierte mit Kohle, versetzte mit 1—2 Volumen Essigester und liess bei  $-10^{\circ}$  längere Zeit ausfrieren.

Die in guter Ausbeute entstandenen krystallisierten quaternären Verbindungen wurden dann abgesaugt, nochmals aus Aceton-Essigester umkrystallisiert und stellten dann reine weisse Verbindungen dar, die nach längerem Trocknen im Hochvakuum den angegebenen Schmelzpunkt zeigten. Mit Ausnahme der Verbindungen VIIIa—d und IXa—c, die durch 2—5-stündiges Quaternisieren erhalten wurden, erhitze man 17—24 Stunden lang. Zur Darstellung der Verbindung VIIIb erwärmte man 8-( $\beta$ -Dimethylamino-äthoxy)-5,7-dichlor-chinolin 10 Stunden lang mit Dodecylchlorid auf  $100^{\circ}$ .

Das Quaternisierungsverfahren wird im folgenden durch das Beispiel der Darstellung von (5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid (VIIIa) belegt. Das entsprechende Ammoniumchlorid VIIIb liess sich auch durch Umsetzung der Verbindung VIIIa mit Silberchlorid bereiten. Die Verbindung VIIIa wurde mit Dimethylsulfat in die diquaternäre Verbindung XIV übergeführt.

In der Tabelle 3 sind die Ergebnisse der Halogen-Titrationen nach *Volhard* und Verbrennungswerte für Halogen<sup>1)</sup> (mit + bezeichnet) einiger quaternärer Verbindungen zusammengefasst.

### (5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecylammonium-bromid (VIIIa).

3,6 g 8-( $\beta$ -Dimethylamino-äthoxy)-5,7-dichlor-chinolin wurden mit 3,6 g Dodecylbromid 3 Stunden lang auf  $100^{\circ}$  erwärmt. Dann nahm man mit 10 cm<sup>3</sup> Aceton auf, filtrierte mit Kohle, versetzte mit dem gleichen Volumen Essigester und krystallisierte in der Kälte das in guter Ausbeute entstandene (5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid aus. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus einem Aceton-Essigester-Gemisch und Trocknen im Vakuum bei Zimmertemperatur zeigte die Verbindung den Smp.  $65^{\circ}$ , welcher bei längerem Trocknen bei  $50^{\circ}$  im Hochvakuum auf  $106$ — $107^{\circ}$  anstieg.

4,560 mg Subst. gaben 9,37 mg CO<sub>2</sub> und 3,00 mg H<sub>2</sub>O

2,529 mg Subst. gaben 0,120 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> ( $22^{\circ}$ , 741 mm)

C<sub>25</sub>H<sub>39</sub>ON<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>Br Ber. C 56,15 H 7,35 N 5,24%

Gef. „ 56,07 „ 7,36 „ 5,35%

<sup>1)</sup> Helv. 24, 128 E (1941).

(5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammonium-chlorid (VIIIb).

Man löste 5,3 g (5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammonium-bromid in 100 cm<sup>3</sup> Alkohol und schüttelte 17 Stunden lang mit aus 2 g Silbernitrat bereitetem Silberchlorid auf der Maschine. Nach dem Abfiltrieren wurde eingedampft, der Rückstand in Essigester aufgenommen und bei -10° ausgefrenen. Nach dem Umkrystallisieren aus Essigester und gutem Trocknen schmolz das (5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumchlorid bei 77—79°.

(1-Methyl-5,7-dichlor-chinolinium-methosulfat-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid (XIV).

2 g (5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid wurden mit 0,47 g Dimethylsulfat 30 Minuten lang auf 100° erwärmt. Nach Extraktion mit Äther erhielt man das darin unlösliche (1-Methyl-5,7-dichlor-chinolinium-methosulfat-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid als in Wasser sehr gut lösliches Öl.

(5-Chlor-7-jod-chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-benzyl-ammoniumchlorid.

4 g 8-(β-Diäthylamino-äthoxy)-5-chlor-7-jod-chinolin wurden in 20 cm<sup>3</sup> Toluol zusammen mit 1,4 g Benzylchlorid 20 Stunden lang am Rückfluss gekocht. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels liess sich der Rückstand aus einem Alkohol-Äther-Gemisch umkrystallisieren. Das gebildete (5-Chlor-7-jod-chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-benzyl-ammoniumchlorid war ein farbloses, in Wasser gut lösliches Pulver vom Smp. 178°.

Nachstehend werden noch die Verbrennungswerte von

(5,7-Dichlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-diäthyl-dodecyl-ammoniumbromid (VII d) (VIId)  
und (2-Methyl-5-chlor-chinolyl-8-oxy-äthyl)-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid (IX b) mitgeteilt.

VII d)	4,187 mg Subst. gaben 8,85 mg CO <sub>2</sub> und 2,90 mg H <sub>2</sub> O
	3,384 mg Subst. gaben 0,150 cm <sup>3</sup> N <sub>2</sub> (22°, 739 mm)
	C <sub>27</sub> H <sub>43</sub> ON <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Br Ber. C 57,60 H 7,72 N 4,99%
	Gef. „ 57,67 „ 7,75 „ 4,99%
IX b)	4,219 mg Subst. gaben 9,37 mg CO <sub>2</sub> und 3,10 mg H <sub>2</sub> O
	C <sub>26</sub> H <sub>42</sub> ON <sub>2</sub> ClBr Ber. C 60,80 H 8,23%
	Gef. „ 60,60 „ 8,22%

Tabelle 3.

Formel	Ein- wage mg	Ammoniumrhodanid Verbrauch			gef. % Cl	gef. % Br	ber. % Cl	ber. % Br	Bruttoformel
		gesamt cm <sup>3</sup>	Cl cm <sup>3</sup>	Br cm <sup>3</sup>					
VII d	5,840	3,80	2,53	1,50	12,91	14,52	12,63	14,24	C <sub>27</sub> H <sub>43</sub> ON <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Br
	4,898 <sup>+</sup>			1,27					
VII h	4,05			0,89		12,09		12,19	C <sub>27</sub> H <sub>43</sub> ON <sub>2</sub> ClBrJ
VIII a	12,075	6,62	4,39	3,23	13,17	14,72	13,28	14,96	C <sub>25</sub> H <sub>39</sub> ON <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Br
	8,332 <sup>+</sup>			2,23					
IX b	11,42			3,24		15,61		15,54	C <sub>26</sub> H <sub>42</sub> ON <sub>2</sub> ClBr
IX c	12,79			3,37		14,49		14,43	C <sub>26</sub> H <sub>41</sub> ON <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Br
XV c	12,03			3,33		15,24		15,50	C <sub>24</sub> H <sub>37</sub> ONBr <sub>2</sub>
XV d	6,68			1,69		13,92		13,93	C <sub>28</sub> H <sub>45</sub> ONBr <sub>2</sub>
XV e	7,46			1,63		12,02		12,18	C <sub>34</sub> H <sub>57</sub> ONBr <sub>2</sub>

Faktoren für Cl = 0,250 und Br = 0,550.

Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium von Dr. H. Gysel ausgeführt.

Wissenschaftliche Laboratorien der Ciba in Basel.  
Pharmazeutische Abteilung.

## 207. La preparazione di piridil- e piperidil-arilacetoni-trili e di alcuni prodotti di trasformazione (Parte I<sup>a</sup>)

di Leandro Panizzon.

(17 X 44)

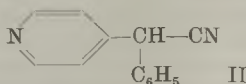
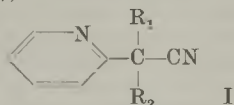
### Introduzione e parte teorica.

Nel corso degli ultimi decenni la ricerca chimico-sintetica ha portato alla scoperta di molte sostanze che sono state introdotte con successo nella terapia. Mentre dapprima si sintetizzarono composti di alto valore terapeutico appartenenti prettamente alla serie aromatica, come l'Aspirina, la Novocaina o la Germanina, oppure alla serie eterociclica, come la Coramina, la Plasmochina o la Percaina, negli ultimi anni la sintesi chimica si diresse anche verso composti a carattere misto aromatico-eterociclico e portò alla introduzione nel commercio di sostanze interessanti non soltanto per la loro azione fisiologica ma anche per la loro indicazione, come la Dolantina, il Priscol o la Privina.

Nell'intento di approfondire lo studio di queste sostanze a carattere aromatico-eterociclico, si andò alla ricerca di una reazione che potesse servire come base di partenza per la preparazione di sostanze presentanti diversi gruppi interessanti dal punto di vista fisiologico. Una tale reazione la trovammo infine nella condensazione di un nitrile arilacetico con una cloropiridina, il gruppo nitrilico offrendo già di per sè molte possibilità di trasformazione.

In questa prima parte comunichiamo la preparazione dei nitrili misti, la loro trasformazione in amidi ed esteri, e la riduzione del gruppo piridinico a quello piperidinico.

Come nitrili aromatici di partenza riportiamo qui il fenil-acetonitrile, l' $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -etil-acetonitrile e il naftil-(1)-acetonitrile. Questi nitrili vennero condensati colla 2- o colla 4-cloropiridina in soluzione toluenica in presenza di amiduro di sodio e fornirono l' $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetonitrile (Ia), l' $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -etil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetonitrile (Ib), l' $\alpha$ -naftil-(1')- $\alpha$ -piridil-(2)-acetonitrile (Ic) e l' $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(4)-acetonitrile (II), dalle formule:

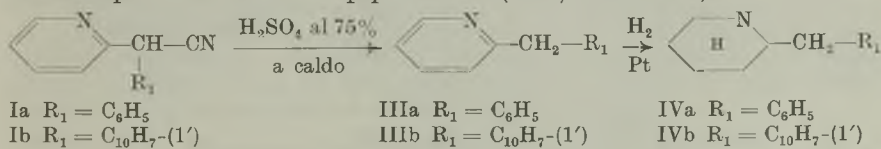


- Ia R<sub>1</sub> = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>      R<sub>2</sub> = H  
 Ib R<sub>1</sub> = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>      R<sub>2</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>  
 Ic R<sub>1</sub> = C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>-(1') R<sub>2</sub> = H

Al nitrile (Ib) si giunse anche per azione del bromuro d'etile sul composto (Ia), in presenza d'amiduro di sodio.

La 2-cloropiridina fu preparata con buon rendimento (95–96%) per clorurazione dell'N-metil-2-piridone con fosgene<sup>1)</sup> ad una temperatura interna di 120–130°. L'N-metil-2-piridone si ottenne a partire dal metilolfato di N-metilpiridinio secondo l'elegante metodo d'ossidazione elettrochimica di *O. Fischer* e *M. Chur*<sup>2)</sup> con un rendimento di oltre 80%. La 4-cloropiridina venne ottenuta per clorurazione della 4-ossipiridina con pentacloruro di fosforo dapprima a bagno maria e infine, dopo aggiunta di ossicloruro di fosforo, a 140–145°. La 4-cloropiridina, contrariamente alla 2-cloropiridina, non si lascia sempre distillare senza pericolo di decomposizione. Essa venne perciò, a clorurazione terminata, raccolta in etere, disidratata e subito adoperata. La 4-ossipiridina fu a sua volta preparata a partire dall'acetone attraverso l'estere acetondiossalico, l'acido chelidonico e l'acido chelidamico.

La saponificazione dei piridil-aril-acetonitrili presentò parecchie difficoltà. Tentativi di isolare gli acidi corrispondenti, dopo saponificazione con acido cloridrico o solforico, riuscirono vani a causa della grande instabilità degli acidi stessi che, data la loro costituzione di acidi piridil-acetici contenenti in più un radicale fenilico, si decompongono nel momento della loro formazione con sviluppo di anidride carbonica. Ciò nonostante si riuscì, mediante qualche astuzia sperimentale, a preparare il primo estere di questa serie, l'estere metilico dell'acido piridil-(2)-fenilacetico (XIa), saponificando a caldo il nitrile (Ia) con acido cloridrico durante 30 minuti, evaporando nel vuoto, disidratando con alcool e trattando l'acido greggio così ottenuto con diazometano. La grande instabilità degli acidi ci permise d'altro canto di arrivare ad un metodo di preparazione semplice e sicuro delle benzilpiridine (IIIa e V), preparate finora o per azione del cloruro di benzile sulla piridina<sup>3)</sup>, reazione questa però che da luogo alla formazione simultanea degli isomeri 2 e 4, o trattando l'N-metil-2-piridone col bromuro di benzilmagnesio e distillando poi l'N-metil-2-benziliden-piridina formatasi<sup>4)</sup>. La stessa reazione ci diede inoltre la possibilità di preparare allo stato puro la 2-[naftil-(1')-metil]-piridina (IIIb), che *J. v. Braun* e *J. Nelles*<sup>5)</sup> ottennero in miscela coll'isomero 4 e isolarono solo parzialmente. Questi derivati piridinici furono da noi in seguito idrogenati, in presenza di platino, ai corrispondenti derivati piperidinici (IVa, IVb e VI).



Ia  $\text{R}_1 = \text{C}_6\text{H}_5$

Ib  $\text{R}_1 = \text{C}_{10}\text{H}_7-(1')$

IIIa  $\text{R}_1 = \text{C}_6\text{H}_5$

IIIb  $\text{R}_1 = \text{C}_{10}\text{H}_7-(1')$

IVa  $\text{R}_1 = \text{C}_6\text{H}_5$

IVb  $\text{R}_1 = \text{C}_{10}\text{H}_7-(1')$

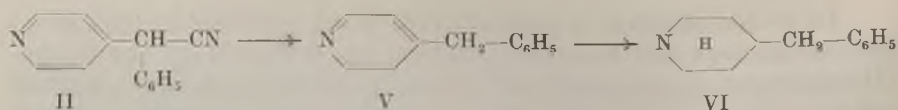
<sup>1)</sup> *Deutsche Gold- und Silber-Scheideanstalt*, D. R. P. 489183 (1926).

<sup>2)</sup> *O. Fischer* e *M. Chur*, J. pr. [2] 93, 364 (1916).

<sup>3)</sup> *A. E. Tschitschibabin*, C. 1902, I. 1301.

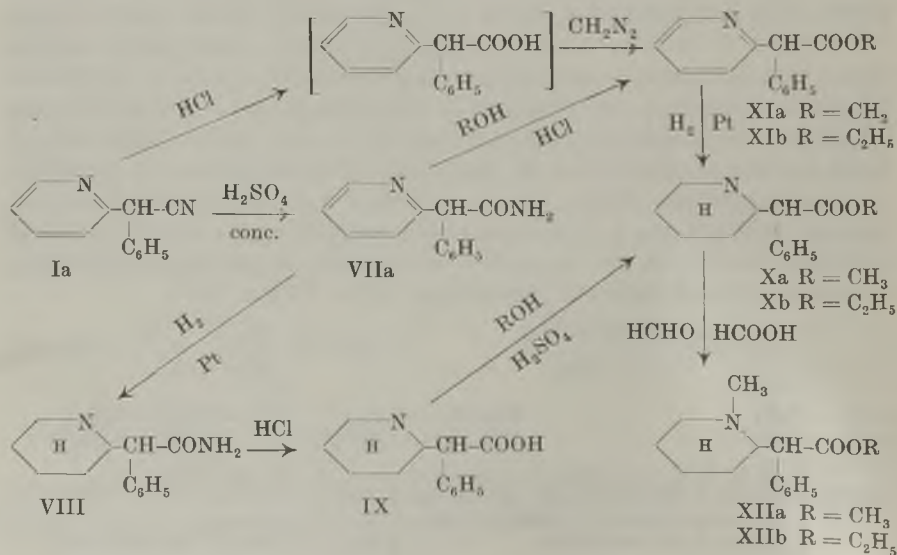
<sup>4)</sup> *H. Decker*, B. 38, 2493 (1905).

<sup>5)</sup> *J. v. Braun* e *J. Nelles*, B. 70, 1767 (1937).



Altri tentativi di trasformare direttamente i nitrili in esteri mediante alcool ed acido solforico concentrato portarono pure alla formazione delle benzilpiridine. Dopo molti esperimenti si riuscì infine a saponificare parzialmente i nitrili ad amidi mediante trattamento con acido cloridrico o meglio solforico concentrato a temperatura ambiente. L'amide (VIIa), per esempio, potè venire ridotta con idrogeno e platino alla corrispondente amide piperidinica (VIII) e trasformata per ulteriore saponificazione energica in acido  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piperidil-(2)-acetico (IX) che, contrariamente a quello  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetico è assolutamente stabile. Questo acido fornì poi con metodi ordinari d'esterificazione con alcool ed acido solforico l'estere corrispondente (Xa).

Gli esteri degli acidi fenil-piperidinici vennero in seguito però preparati secondo un altro metodo ancor più interessante che ci permise di arrivare alla preparazione intermedia degli esteri degli acidi fenilpiridinici instabili (XIa, XIb e XIV) e cioè mediante esterificazione diretta delle amidi piridiniche (VIIa e XIII) con alcool ed acido cloridrico gassoso. Coll'acido solforico invece la trasformazione delle amidi in esteri non riuscì. Gli esteri piridinici vennero poi idrogenati ai corrispondenti esteri piperidinici (Xa, Xb e XV) di cui si prepararono anche i derivati N-metilici con formaldeide ed acido formico (XIIa, XIIb e XVI).







toluene nel modo seguente: ad una soluzione di 19,40 g. di  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetonitrile in 150 cm<sup>3</sup> di toluene, vennero aggiunti a poco a poco 5 g. di amiduro di sodio. Dopo 4 ore si aggiunsero 13 g. di bromuro d'etile mantenendo la temperatura a 40—45°. A reazione terminata si scaldò all'ebollizione per una mezz'ora e si lasciò raffreddare. Dopo aver trattato con acqua, si estrasse la soluzione toluenica con acido cloridrico diluito, si alcalinizzò gli estratti acidi con soda caustica e si estrasse con etere. Il residuo della soluzione eterea, disidratata ed evaporata, distillò ad un p. eb.<sub>11 mm</sub> 193°. Insolubile in acqua. Rendimento 18—19 g.

2,202 mg. di sost. diedero 0,245 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (27°, 741 mm.)

C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub> (222,12) calc. N 12,61 trov. N 12,34%

$\alpha$ -Naftil-(1')- $\alpha$ -piridil-(2)-acetonitrile (Ic).

Pure in modo analogo al primo esempio si ottenne a partire dal naftil-(1)-acetonitrile e 2-cloropiridina l' $\alpha$ -naftil-(1')- $\alpha$ -piridil-(2)-acetonitrile dal p. eb.<sub>0,2 mm</sub> 185—190°. Dopo qualche tempo esso solidificò e, ricristallizzato da acetato d'etile + etere, fuse a 89°. Anche questo nitrile è insolubile in acqua.

4,241 mg. di sost. diedero 13,00 mg. CO<sub>2</sub> e 1,89 mg. H<sub>2</sub>O

C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub> calc. C 83,57 H 4,95%  
(244,11) trov. ,, 83,64 ,, 4,99%

$\alpha$ -Fenil- $\alpha$ -piridil-(4)-acetonitrile (II).

Questo isomere del nitrile (Ia) venne preparato in modo del tutto analogo a partire dal fenil-acetonitrile e 4-cloropiridina ed è pure insolubile in acqua. Ricristallizzato da etere, fonde a 76—77° e forma un cloridrato dal p. f. di circa 204° che è solubile in acqua senza idrolisi. Questo fatto è dovuto alla posizione dell'azoto che si trova più lontano dai gruppi acidi fenilico e nitrilico che nel caso dell' $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetonitrile (Ia) e può così esercitare la sua azione basica.

3,020 mg. di sost. diedero 8,90 mg. CO<sub>2</sub> e 1,46 mg. H<sub>2</sub>O

C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub> calc. C 80,38 H 5,19%  
(194,09) trov. ,, 80,42 ,, 5,41%

## B. Preparazione delle benzil- e naftilmetil-piridine e -piperidine.

### 2-Benzilpiridina (IIIa).

20 g. di  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetonitrile (Ia) vennero aggiunti a poco a poco a 50 cm<sup>3</sup> di acido solforico al 75% e la soluzione ottenuta venne scaldata per 2 ore a 130—140°. Dopo raffreddamento si versò su ghiaccio, si alcalinizzò con soda caustica e si estrasse con etere. Il residuo ottenuto per evaporazione della soluzione eterea, previamente disidratata con potassa anidra, distillò ad un p. eb.<sub>17 mm</sub> 151—152°. Rendimento 13,5 g.

5,172 mg. di sost. diedero 16,09 mg. CO<sub>2</sub> e 3,12 mg. H<sub>2</sub>O

C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N calc. C 85,16 H 6,55%  
(169,09) trov. ,, 84,97 ,, 6,75%

Il picrato della 2-benzilpiridina fuse, come indicato nella letteratura, a 140°.

### 2-[Naftil-(1')-metil]-piridina (IIIb).

Essa venne preparata pure per azione energica dell'acido solforico al 75% sul corrispondente  $\alpha$ -naftil-(1')- $\alpha$ -piridil-(2)-acetonitrile ed isolata in modo analogo al composto (IIIa): p. eb.<sub>0,9 mm</sub> 181°.

5,169 mg. di sost. diedero 16,48 mg. CO<sub>2</sub> e 2,71 mg. H<sub>2</sub>O

C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N calc. C 87,63 H 5,98%  
(219,11) trov. ,, 87,60 ,, 5,87%

Il picrato fuse a 166—167°.

0,786 mg. di sost. diedero 0,088 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (25°, 737 mm.)

C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N · C<sub>8</sub>H<sub>3</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub> (448,16) calc. N 12,5 trov. N 12,44%

2-[Naftil-(1')-metil]-piperidina (IVb).

Per idrogenazione catalitica in presenza di platino: p. eb.<sub>0,15</sub> mm 165°. Essa formò un picrato dal p. f. 195—197° e un cloridrato dal p. f. 211° (ricristallizzato da alcool).

3,998 mg. di sost. diedero 10,73 mg. CO<sub>2</sub> e 2,82 mg. H<sub>2</sub>O

C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> N·HCl	calc. C 73,42	H 7,70%
(261,61)	trov. ,, 73,28	,, 7,88%

4-Benzilpiridina (V).

Preparata in modo analogo alla 2-benzilpiridina (IIIa) per saponificazione energica dell' $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(4)-acetoneitrile (II): p. eb.<sub>10</sub> mm 152—153°. Il picrato, ricristallizzato da alcool, fuse a 138° (letteratura 136—138°).

I picrati delle rispettive 2- e 4-benzilpiperidine (IVa e VI), che vennero preparate per idrogenazione catalitica in presenza di platino dei composti (IIIa e V), fusero, come è riportato nella letteratura, rispettivamente a 156—157° e 184°<sup>1)</sup>.

C. Preparazione delle amidi e degli acidi.

$\alpha$ -Fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetamide (VIIa).

100 g. di  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetoneitrile (Ia) si aggiunsero a poco a poco a 400 cm<sup>3</sup> d'acido solforico concentrato, evitando che la temperatura s'elevasse a più di 50°, e lasciati a sè a temperatura ordinaria per almeno 12 ore. La soluzione ottenuta venne poi versata su ghiaccio e alcalinizzata con soda. L'amide, che si separò in un primo momento allo stato oleoso, solidificò subito dopo. Essa venne raccolta su filtro e ricristallizzata da acetato d'etile: p. f. 134°. Rendimento 96 g. L'amide è solubile in alcool, insolubile in acqua.

5,002 mg. di sost. diedero 13,44 mg. CO<sub>2</sub> e 2,47 mg. H<sub>2</sub>O

C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> ON <sub>2</sub>	calc. C 73,54	H 5,70%
(212,11)	trov. ,, 73,27	,, 5,37%

Trattata con solfato dimetilico in soluzione metanolica all'ebollizione, l'amide formò il corrispondente prodotto di addizione che precipitò per aggiunta di acetato d'etile e fuse a 164°.

$\alpha$ -Fenil- $\alpha$ -etil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetamide (VIIb).

Anche questa amide venne preparata allo stesso modo della precedente colla sola differenza che la saponificazione con acido solforico concentrato dovette essere effettuata a bagno maria (circa 90°) per 10—12 ore. L'amide, ricristallizzata da acetato d'etile, fuse a 108° ed è insolubile in acqua.

1,572 mg. di sost. diedero 0,161 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (20°, 738 mm.)

C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>ON<sub>2</sub> (240,14) calc. N 11,66 trov. N 11,58%

Come detto nella parte teorica questa amide non poté venire esterificata col metodo all'acido cloridrico gassoso ed alcool.

$\alpha$ -Fenil- $\alpha$ -piridil-(4)-acetamide (XIII).

La saponificazione parziale del corrispondente nitrile (II) avvenne in modo analogo all'esempio VIIa. Ricristallizzata da acetato d'etile, essa fuse a 154—155°. Come le precedenti amidi essa è insolubile in acqua.

4,434 mg. di sost. diedero 11,90 mg. CO<sub>2</sub> e 2,25 mg. H<sub>2</sub>O

C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> ON <sub>2</sub>	calc. C 73,54	H 5,70%
(212,11)	trov. ,, 73,24	,, 5,68%

$\alpha$ -Fenil- $\alpha$ -piperidil-(2)-acetamide (VIII).

75 g. di  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetamide (VIIa) vennero idrogenati in soluzione d'acido acetico puro in presenza di 1 g. di ossido di platino (secondo Adams) a 40°. 24 l. d'idro-

<sup>1)</sup> A. E. Tschitschibabin, C. 1902, II, 597.

geno (0° e 760 mm.) furono assorbiti in 26 ore. Si evaporò l'acido acetico e, dopo aggiunta di acqua, si precipitò la base piperidinica mediante soda caustica. Ricristallizzata da acetato d'etile e seccata durante 12 ore nel vuoto a 70° e 12 ore a 120°, l'amide fuse a 173°. Rendimento 70 g. Essa è insolubile in acqua, solubile in acidi con formazione dei sali corrispondenti.

3,613 mg. di sost. diedero 9,50 mg. CO<sub>2</sub> e 2,70 mg. H<sub>2</sub>O

C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> ON <sub>2</sub>	calc. C	71,50	H	8,31%
(218,15)	trov. ,,	71,74	,,	8,36%

Acido- $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piperidil-(2)-acetico (IX).

20 g. di  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piperidil-(2)-acetamide (VIII) furono bolliti con 100 cm<sup>3</sup> di acido cloridrico concentrato per 9 ore. Dopo raffreddamento si raccolse su filtro la sostanza cristallizzata separatasi, si lavò con acqua e si ricristallizzò da alcool metilico: p. decomposizione 248°. Si tratta del cloridrato dell'acido suddetto, poco solubile in acqua.

4,546 mg. di sost. diedero 10,15 mg. CO<sub>2</sub> e 2,85 mg. H<sub>2</sub>O

C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> N·HCl	calc. C	61,03	H	7,10%
(255,60)	trov. ,,	60,91	,,	7,01%

Per esterificazione con metanolo ed acido solforico concentrato si ottenne la sostanza (Xa) (vedi più avanti).

D. Preparazione degli esteri.

Estere metilico dell'acido  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetico (XIa).

90 g. di  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetamide (VIIa), disciolti in 800 cm<sup>3</sup> di metanolo assoluto, vennero trattati con una corrente di acido cloridrico gassoso all'ebollizione durante 6 ore. Dopo raffreddamento si concentrò la soluzione (separazione di cloruro d'ammonio), si riprese con acqua e si alcalinizzò con soda evitando ogni rialzo della temperatura. L'estere metilico dell'acido  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetico separatosi venne raccolto su filtro e ricristallizzato da alcool al 50%; p. f. 74—75°. Rendimento 81 g. Questo estere è solubile in alcool, in acetato d'etile, in etere, insolubile però in acqua ed in etere di petrolio.

3,960 mg. di sost. diedero 10,72 mg. CO<sub>2</sub> e 2,05 mg. H<sub>2</sub>O

C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> N	calc. C	73,97	H	5,77%
(227,11)	trov. ,,	73,87	,,	5,79%

Come è detto nella parte teorica questo estere venne per la prima volta preparato saponificando per 30 minuti il nitrile (Ia) con acido cloridrico concentrato a caldo e, dopo disidratazione con alcool, trattando l'acido instabile così ottenuto con diazometano. Il rendimento fu però piccolo.

Estere etilico dell'acido  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(2)-acetico (XIb).

La preparazione avvenne sostituendo nell'esempio precedente l'alcool metilico col l'alcool etilico. L'estere etilico così ottenuto è liquido, insolubile in acqua e bolle ad un p. eb. 0,25 mm 152°.

5,464 mg. di sost. diedero 14,91 mg. CO<sub>2</sub> e 3,16 mg. H<sub>2</sub>O

C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> N	calc. C	74,65	H	6,27%
(241,12)	trov. ,,	74,47	,,	6,47%

Estere metilico dell'acido  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(4)-acetico (XIV).

Si giunse a questo estere partendo dall' $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -piridil-(4)-acetamide e seguendo il metodo indicato per il composto (XIa). Esso distillò ad un p. eb. 0,2 mm 150° e, data la maggior basicità, a differenza dell'analogo derivato (XIa), si disciolse nella quantità equivalente di acido cloridrico diluito con reazione leggermente acida al rosso congo.

4,929 mg. di sost. diedero 13,37 mg. CO<sub>2</sub> e 2,51 mg. H<sub>2</sub>O

C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> N	calc. C	73,97	H	5,77%
(227,11)	trov. ,,	73,98	,,	5,70%

Estere metilico dell'acido α-fenil-α-piperidil-(2)-acetico (Xa).

L'idrogenazione di 50 g. dell'estere (XIa), disciolti in acido acetico puro ed in presenza di 1 g. di catalizzatore al platino ad una temperatura di 25—35°, portò, dopo assorbimento di 6 atomi di idrogeno (14,8 l. a 0° e 760 mm.), alla formazione del corrispondente composto piperidinico. Dopo aver evaporato il solvente, l'acetato dell'estere venne disciolto in acqua, precipitato con soda caustica in eccesso e estratto con etere. La soluzione eterea, disidratata con solfato sodico anidro, venne evaporata ed il residuo liquido, disciolto in acetato d'etile, trattato colla quantità teorica di acido cloridrico gassoso. Il cloridrato si separò allo stato cristallino e, ricristallizzato da alcool etilico, si decompose a 204—208°. Rendimento quasi teorico. È solubile in acqua ed insolubile in etere.

3,588 mg. di sost. diedero 8,18 mg. CO<sub>2</sub> e 2,35 mg. H<sub>2</sub>O

C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> N·HCl	calc. C	62,31	H	7,10%
(269,62)	trov. ,,	62,22	,,	7,33%

Una piccola porzione dell'estere base venne distillata nel vuoto: p. eb. 0,6 mm 135—137°.

Estere etilico dell'acido α-fenil-α-piperidil-(2)-acetico (Xb).

Esso venne preparato come il composto analogo (Xa) per idrogenazione catalitica del corrispondente composto piridinico (XIb). p. eb. 0,4 mm 148—149°. Il cloridrato fuse a 172—173°.

3,907 mg. di sost. diedero 9,06 mg. CO<sub>2</sub> e 2,76 mg. H<sub>2</sub>O

C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub> N·HCl	calc. C	63,46	H	7,82%
(283,64)	trov. ,,	63,27	,,	7,90%

Estere metilico dell'acido α-fenil-α-piperidil-(4)-acetico (XV).

Mediante idrogenazione al platino dell'estere metilico dell'acido α-fenil-α-piperidil-(4)-acetico (XIV) si giunse al corrispondente composto piperidinico dal p. eb. 0,2 mm 145°.

0,580 g. di sost. richiesero 24,4 cm<sup>3</sup> 0,1—n. NaOH

C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>O<sub>2</sub>N (233,16): peso equivalente calc. 233,16, trov. 227,1

Questo estere assorbe facilmente anidride carbonica e non diede all'analisi risultati sufficientemente esatti.

Estere metilico dell'acido α-fenil-α-N-metilpiperidil-(2)-acetico (XIIa).

4 g. dell'estere (Xa) vennero trattati con 4 cm<sup>3</sup> di formaldeide al 30% e 2 cm<sup>3</sup> d'acido formico concentrato per 5 ore a bagno maria. Si notò subito un vivace svolgimento di anidride carbonica. Quindi si alcalinizzò la soluzione ottenuta con soda caustica, si estrasse con etere, si disidratò la soluzione eterea con potassa anidra, si evaporò e si distillò nel vuoto: p. eb. 0,3 mm 153°.

4,291 mg. di sost. diedero 11,39 mg. CO<sub>2</sub> e 3,44 mg. H<sub>2</sub>O

C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub> N	calc. C	72,82	H	8,56%
(247,17)	trov. ,,	72,44	,,	8,97%

Estere etilico dell'acido α-fenil-α-N-metilpiperidil-(2)-acetico (XIIb).

Il trattamento del composto (Xb) con formaldeide ed acido formico a bagno maria portò alla formazione dell'N-metil-derivato: è un liquido oleoso dal p. eb. 0,3 mm 145—46°. Esso formò un picrato che, ricristallizzato dall'acetato d'etile, fuse a 165—166°.

1,693 mg. di sost. diedero 0,170 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (21°, 738 mm.)

C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>O<sub>2</sub>N·C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub> (490,23) calc. N 11,43 trov. N 11,32%

Estere metilico dell'acido  $\alpha$ -fenil- $\alpha$ -N-metilpiperidil-(4)-acetico (XVI).

Questo venne ottenuto dal composto (XV) in modo analogo al prodotto precedente e si separò, dopo l'aggiunta di soda caustica, in forma solida. Dopo rieristallizzazione da etere+etere di petrolio, esso fuse a 63—64°.

5,725 mg. di sost. diedero 15,29 mg. CO<sub>2</sub> e 4,27 mg. H<sub>2</sub>O

C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>O<sub>2</sub>N calc. C 72,82 H 8,56%  
(247,17) trov. ,, 72,86 ,, 8,34%

Le analisi furono eseguite nel nostro laboratorio micro-analitico sotto la guida del dott. H. Gysel.

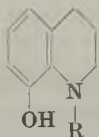
Laboratori di ricerca della *Ciba*, Basilea,  
Reparto farmaceutico.

## 208. Über tricyclische 1,4-Oxazin-Derivate

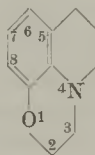
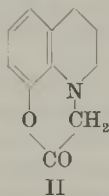
von Hans Isler.

(21. X. 44.)

Zu den ältesten synthetischen Antipyretica gehören die durch *O. Fischer*<sup>1)</sup> bekannt gewordenen 8-Oxy-1,2,3,4-tetrahydro-chinolin-Derivate der Formeln Ib und Ic.



- I a) R = H  
b) R = CH<sub>3</sub> (Kairin)  
c) R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (Kairin A)



VII

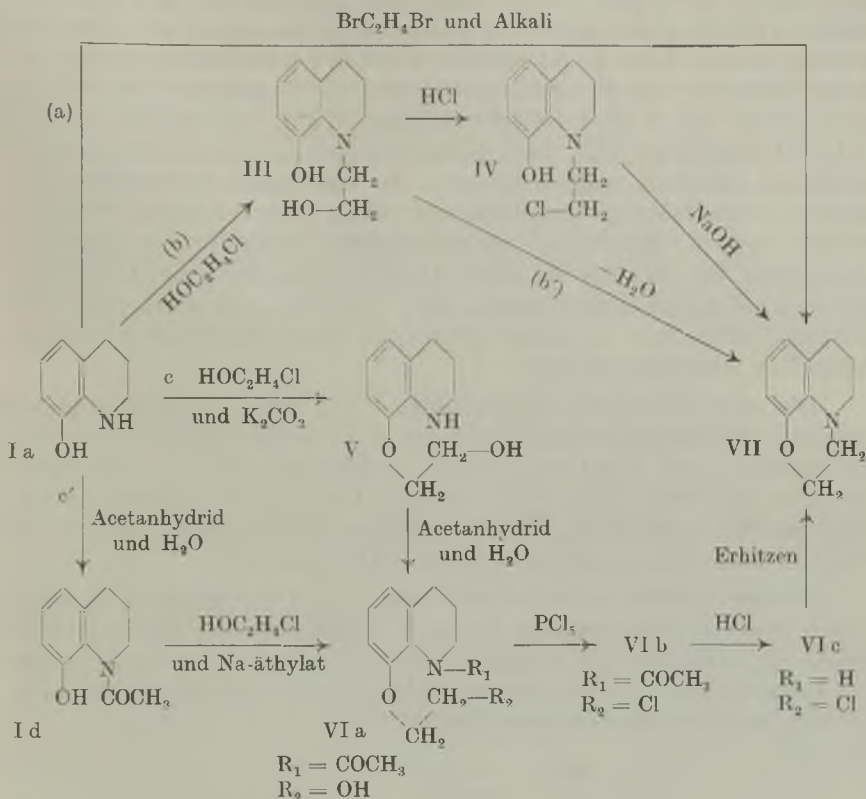
In derselben Publikation wird auch das Kairokoll angeführt, dem nach *Beilstein*<sup>2)</sup> vermutlich die Konstitution II zukommt. Durch diese Arbeit gelangte das Tetrahydro-chinolin ins pharmakologische Blickfeld. Zudem geht aus der von *Gulland* und *Robinson* aufgestellten Formel des Morphins hervor, dass dieses ein hydriertes Chinolin-ähnliches System enthält. Die Vermutung lag daher nahe, durch Anfügen eines weiteren Ringes an das Tetrahydro- bzw. Dekahydro-chinolin möglicherweise zu wasserlöslichen, analgetischen Verbindungen gelangen zu können.

Derartige Überlegungen führten zunächst zur Synthese des Körpers der Formel VII, der als 2,3-Dihydro-4,5-propylen-benzo-1,4-oxazin oder einfacher als 4,5-Propylen-phenmorpholin oder auch als 1,2,3,4-Tetrahydro-chinolin-(1)-äthylenäther-(8) bezeichnet werden kann.

<sup>1)</sup> *O. Fischer*, B. 16, 712 (1883); D.R.P. 21 150.

<sup>2)</sup> *Beilstein XXI*, 63.

Die Herstellung der neuen Verbindungen ist aus 8-Oxy-1,2,3,4-tetrahydro-chinolin (Ia) prinzipiell nach folgenden Methoden denkbar:



Die in obiger Tabelle unter (a) angeführte Umsetzung des 8-Oxy-1,2,3,4-tetrahydrochinolins (Ia) mit Äthylenbromid in Gegenwart äquivalenter Mengen Alkali im Rohr führte nicht zum Ziel. Neben viel unverändertem Ausgangsprodukt entstand hierbei nur das von *O. Fischer* und *C. A. Kohn*<sup>1)</sup> beschriebene 1,1'-Äthylen-bis-(8-oxy-1,2,3,4-tetrahydrochinolin). Auch die Arbeitsweise (b), welche als Analogie-Verfahren der Phenmorpholin-Darstellung nach *L. Knorr*<sup>2)</sup> betrachtet werden kann, war in diesem Falle nicht zu empfehlen, da die Substitution des aliphatischen Hydroxyls von 1-(β-Oxäthyl)-8-oxy-1,2,3,4-tetrahydrochinolin (III) durch Chlor zu 1-(β-Chloräthyl)-8-oxy-1,2,3,4-tetrahydrochinolin (IV) selbst mit konzentriertester Chlorwasserstoffsäure nicht oder nur spurenweise erfolgte. Auch konnte beim Einwirken von wasserentziehenden Mitteln, wie 70-proz.

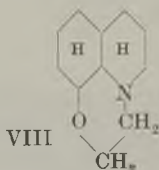
<sup>1)</sup> *O. Fischer* und *C. A. Kohn*, B. **19**, 1047 (1886).

<sup>2)</sup> *L. Knorr*, B. **22**, 2085 (1889).

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> oder Zinkchlorid, auf Verbindung III nach Reaktionsweg (b' der Ringschluss nicht erzwungen werden. Nach dem unter c angegebenen Verfahren erhielt man das gewünschte 4,5-Propylenphenmorpholin (VII) jedoch in guter Ausbeute, wobei aber bemerkt werden muss, dass 8-(β-Oxäthoxy)-1,2,3,4-tetrahydro-chinolin (V) beim Erhitzen mit Essigsäure-anhydrid in Gegenwart von Wasser zwar leicht in 1-Acetyl-8-(β-oxäthoxy)-1,2,3,4-tetrahydro-chinolin (VIa) überzuführen war, dass jedoch ersteres nur in unbefriedigender Ausbeute erhalten werden konnte. Es war daher vorzuziehen, den unter c' angeführten, modifizierten Weg einzuschlagen. Darnach wurde vorerst vermitteltst überschüssigem Essigsäure-anhydrid in Gegenwart von Wasser bei einer Ausbeute von 90% das 1-Acetyl-8-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinolin (Id) erhalten, das sich dann mit Äthylenchlorhydrin in Anwesenheit von Natriumäthylat in Verbindung VIa überführen liess.

Die physikalischen Eigenschaften der neuen Verbindung VII gleichen erwartungsgemäss denjenigen des Phenmorpholins. Sie stellt ein farbloses, am Licht sich rötlich verfärbendes Öl dar. Trotzdem die neue Substanz eine etwas stärkere Base als Phenmorpholin ist, wird das Hydrochlorid in Wasser auffallend stark hydrolysiert, sodass sich die freie Base sogar zum Teil als Öl abscheidet.

Anders verhält es sich mit dem aus Verbindung VII durch katalytische Hydrierung mit Platin in Gegenwart von Eisessig erhaltenen 2,3-Dihydro-4,5-propylen-hexahydro-benzo-1,4-oxazin bzw. 4,5-Propylen-hexahydro-phenmorpholin bzw. Dekahydro-chinolin-(1)-äthylenäther-(8) der Konstitution VIII.



VIII ist eine wasserklare, stark basische Flüssigkeit, die ein neutrales, in Wasser leicht lösliches Hydrochlorid und mit Äthyljodid ein weisses, in Wasser leicht und mit neutraler Reaktion lösliches, am Licht sich bräunendes quaternäres Jodid bildet.

Die pharmakologische Prüfung des Hydrochlorids von Substanz VIII wies zwar einen deutlichen antipyretischen Effekt auf, liess im übrigen aber keine hervortretende Wirksamkeit erkennen; vor allem konnte weder am Kaninchen, noch am Meerschweinchen Analgesie nachgewiesen werden<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Die pharmakologische Analyse wurde unter Leitung von Hrn. Prof. Dr. R. Meier in unserer biologischen Abteilung ausgeführt.



Experimenteller Teil<sup>1)</sup>.

1-( $\beta$ -Oxäthyl)-8-oxy-1,2,3,4-tetrahydro-chinolin (III).

7,5 g 8-Oxy-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin<sup>2)</sup> (Ia) und 4,5 g Äthylen-chlorhydrin (Mol.-Verh. 1:1,1) wurden in Gegenwart von 75 cm<sup>3</sup> trockenem Benzol im Bombenrohr während 6 Stunden auf 145—150° erhitzt. Es hatte sich hierbei ein Krystallbrei gebildet. Die Reaktionssuspension versetzte man mit 2-n. Natronlauge, wobei Verbindung III als Natriumsalz von der wässerigen Lösung aufgenommen wurde, während der Äthylen-chlorhydrin-Überschuss zum grössten Teil in der Benzol-Lösung verblieb. Bei Verwendung von etwas zu konzentriertem Alkali schied sich das Natriumsalz krystallin aus, konnte aber beim Verdünnen mit Wasser wieder in Lösung gebracht werden. Die wässrig-alkalische Lösung wurde mit Eisessig schwach angesäuert, hernach mit Natriumhydrogen-carbonatlösung lackmusalkalisch gestellt und erschöpfend mit Äther extrahiert. Den getrockneten Ätherrückstand krystallisierte man aus Benzin um und erhielt so 7,3 g 1-( $\beta$ -Oxäthyl)-8-oxy-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin (= 75% d. Th.). Es stellt farblose, in Äthanol, Äther und Benzol ziemlich leicht, in heissem Benzin mässig, in kaltem dagegen recht schwer lösliche Krystalle vom Smp. 93—94° dar.

4,628 mg Subst. gaben 11,61 mg CO<sub>2</sub> und 3,24 mg H<sub>2</sub>O  
 2,728 mg Subst. gaben 0,181 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (26°, 739 mm)  
 C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>O<sub>2</sub>N (193,2) Ber. C 68,35 H 7,83 N 7,25%  
 Gef. „ 68,44 „ 7,83 „ 7,37%

8-( $\beta$ -Oxäthoxy)-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin (V).

Bei mehrstündigem Erhitzen von Oxy-tetrahydro-chinolin und Äthylen-chlorhydrin in Gegenwart einer alkoholischen Lösung von Natriumäthylat, fand weder in molekularem Verhältnis noch mit doppeltem Überschuss des letzteren Kondensation statt. Zu obiger Verbindung gelangte man hingegen, aber auch nur mit unbefriedigender Ausbeute, unter folgenden Versuchsbedingungen:

3,0 g 8-Oxy-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin (Ia), 4,9 g Äthylenchlorhydrin und 16,6 g Pottasche (Mol.-Verh. 1:3:6) wurden bei Anwesenheit von 100 cm<sup>3</sup> Aceton während 15 Stunden unter Rückfluss gerührt. Man nutschte vom Pottasche-Überschuss sowie vom entstandenen Kaliumchlorid ab. Der Acetonrückstand wurde in Äther aufgenommen und mit verdünnter Natronlauge ausgeschüttelt zwecks Entfernung von Ausgangsmaterial. Den Ätherrückstand krystallisierte man aus Benzol, oder besser aus Wasser um.

Ausbeute: 0,8 g 8-( $\beta$ -Oxäthoxy)-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin (= 20% d. Th.). Es ist ein weisses, in Äthanol, heissem Benzol leicht, in heissem Wasser, kaltem Benzol mässig, in kaltem Wasser recht schwer lösliches Krystallpulver vom Smp. 96—97°. Die Mischprobe mit der fast gleich schmelzenden Verbindung III ergab eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung.

3,414 mg Subst. gaben 8,550 mg CO<sub>2</sub> und 2,370 mg H<sub>2</sub>O  
 8,734 mg Subst. gaben 0,545 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (15°, 748 mm)  
 C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>O<sub>2</sub>N (193,2) Ber. C 68,35 H 7,83 N 7,25%  
 Gef. „ 68,32 „ 7,77 „ 7,28%

Die neue Verbindung geht beim Erwärmen ihrer wässerigen Lösung mit Benzoylchlorid in 1-Benzoyl-8-( $\beta$ -oxäthoxy)-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin vom Smp. 120—121° über.

1-Acetyl-8-( $\beta$ -oxäthoxy)-1,2,3,4-tetrahydro-chinolin (VIa).

6,0 g 1-Acetyl-8-oxy-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin (Id) vom Smp. 73—74°, Sdp.<sub>0.1</sub> mm 145—146°, wurden in eine Auflösung von 0,74 g Natrium in 25 cm<sup>3</sup> absolutem Äthanol eingetragen. Nach Zusatz von 2,8 g Äthylenchlorhydrin wurde das Ganze in einem Bombenrohr während 8 Stunden auf 145—150° erhitzt. (Mol.-Verh. 1:1,02:1,1).

<sup>1)</sup> Sämtliche Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

<sup>2)</sup> *Bedall, O. Fischer, B. 14, 1368 (1881).*

Man nutschte hernach vom ausgeschiedenen Kochsalz ab und vertrieb das Äthanol sowie den Äthylenchlorhydrin-Überschuss. Das zurückbleibende Öl wurde destilliert, wobei neben einem unbedeutenden Vorlauf und einem geringen Anteil von undestillierbarem Rückstand das 1-Acetyl-8-( $\beta$ -oxäthoxy)-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin bei einem Sdp.<sub>0,06 mm</sub> 165—166° überging. Das Destillat erstarrte zu einem weissen Krystallkuchen, der aus absolutem Äther umkrystallisiert, einen Smp. von 77—78° aufwies. Ausbeute: 5,7 g (= 77% d. Th.)

3,910 mg Subst. gaben 9,54 mg CO<sub>2</sub> und 2,63 mg H<sub>2</sub>O

2,500 mg Subst. gaben 0,134 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (25°, 738 mm)

C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>O<sub>3</sub>N (235,2) Ber. C 66,37 H 7,27 N 5,95%

Gef. „ 66,56 „ 7,53 „ 5,96%

Die neue Verbindung geht beim Erwärmen mit 15-proz. Salzsäure auf dem Wasserbad in die oben beschriebene Verbindung V vom Smp. 96—97° über. Sie weist eine bemerkenswerte Anomalie auf. Vor der Destillation war sie nämlich leicht wasserlöslich und wurde nur schwer von Äther aufgenommen. Mit krystall Lauge schied sie sich aus der wässrigeren Lösung als Öl aus. Nach der Destillation krystallisierte die Substanz recht leicht und war nun in Äther wesentlich leichter löslich als in Wasser. Es handelte sich hierbei wohl um Hydratbildung.

#### 1-Acetyl-8-( $\beta$ -chloräthoxy)-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin (VI b).

Versuche, die Substanz VIa in Benzol-Lösung vermittelt Thionylchlorid in Verbindung VIb überzuführen, verliefen resultatlos. Man erreichte das Ziel jedoch bei Anwendung von Phosphorpentachlorid an Stelle von Thionylchlorid.

3,4 g 1-Acetyl-8-( $\beta$ -oxäthoxy)-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin (VIa) wurden in 11 cm<sup>3</sup> trockenem Chloroform gelöst und bei Raumtemperatur zu einer Suspension von 3,2 g Phosphorpentachlorid (Mol.-Verh. 1:1,05) in 22 cm<sup>3</sup> trockenem Chloroform getropft, wobei die Temperatur von selbst bis fast zum Siedepunkt des Chloroforms anstieg. Nach beendeter Reaktion hielt man noch eine Stunde im gelinden Sieden und vertrieb dann das Chloroform sowie das entstandene Phosphoroxychlorid am Wasserstrahlvakuum. Der Rückstand wurde abermals in wenig Chloroform aufgenommen und erst mit Eiswasser, dann mit Sodalösung und nochmals mit Wasser ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen der Chloroform-Lösung über Pottasche destillierte der vom Chloroform befreite Rückstand bei einem Sdp.<sub>0,2 mm</sub> 150—165°. Das Destillat wurde aus Äther-Petroläther umkrystallisiert; Smp. 95—96°. Man erhielt 1,6 g 1-Acetyl-8-( $\beta$ -chloräthoxy)-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin (= 44% d. Th.). Es spaltet beim Kochen mit 80-proz. Phosphorsäure Essigsäure ab, erkenntlich am Geruch. Die *Beilstein*-Reaktion war positiv. Die Mischproben mit Verbindung III und V gaben starke Schmelzpunkterniedrigungen.

3,795 mg Subst. gaben 8,56 mg CO<sub>2</sub> und 2,19 mg H<sub>2</sub>O

2,391 mg Subst. gaben 0,122 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (21°, 735 mm)

5,583 mg Subst. verbrauchten 3,10 cm<sup>3</sup> NH<sub>4</sub>CNS (f = 0,25)<sup>1)</sup>

C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>NCl (253,7) Ber. C 61,53 H 6,36 N 5,52 Cl 13,98%

Gef. „ 61,53 „ 6,46 „ 5,73 „ 13,88%

#### 8-( $\beta$ -Chloräthoxy)-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin (VI c).

Zur Überführung von Verbindung VIb in VIc musste, bei einer Verseifungstemperatur von 100°, mindestens 10-proz. Salzsäure angewendet werden. 4,9 g 1-Acetyl-8-( $\beta$ -chloräthoxy)-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin (VIb) wurden während 8 Stunden mit 50 cm<sup>3</sup> 15-proz. Salzsäure auf dem siedenden Wasserbad erwärmt. Beim Abkühlen krystallisierte das Hydrochlorid des 8-( $\beta$ -Chloräthoxy)-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolins zur Hauptsache aus und hätte abgenutscht werden können. Es war jedoch vorteilhafter, das gesamte Reaktionsprodukt bei guter Eiskühlung mit Natronlauge schwach alkalisch zu stellen und die krystallin erstarrende Base abzunutschen. Sie wurde aus verdünntem

<sup>1)</sup> H. Gysel, Helv. 24, 128 E (1941).

Äthanol umkrystallisiert. Ausbeute: 3,5 g (= 86% d. Th.); weisse, in Äthanol ziemlich leicht, in heissem Wasser mässig lösliche Krystalle vom Smp. 50—51°.

4,011 mg Subst. gaben 9,18 mg CO<sub>2</sub> und 2,40 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{11}H_{14}ONCl$  (211,6) Ber. C 62,43 H 6,67%  
 Gef. „ 62,44 „ 6,70%

Das Hydrochlorid wurde aus einem Gemisch von absolutem Äthanol und Äther umkrystallisiert und stellte weisse Krystalle vom Smp. 169—170° dar. Sie sind in Wasser leicht und mit kongosaurer Reaktion löslich.

4,253 mg Subst. gaben 8,25 mg CO<sub>2</sub> und 2,39 mg H<sub>2</sub>O  
 4,305 mg Subst. verbrauchten 4,91 cm<sup>3</sup> NH<sub>4</sub>CNS (f = 0,25)  
 $C_{11}H_{15}ONCl_2$  (248,1) Ber. C 53,24 H 6,09 Cl 28,59%  
 Gef. „ 52,92 „ 6,29 „ 28,51%

2,3-Dihydro-4,5-propylen-benzo-1,4-oxazin (VII).

7,8 g 8-(β-Chloräthoxy)-1, 2, 3, 4-tetrahydro-chinolin (VIc) wurden unter Kohlendioxydatmosphäre im Ölbad erhitzt. Schon bei 110° begann sich die geschmolzene, klare Base mit Krystallen zu durchsetzen. Bei 115° war die Ringschluss-Reaktion so heftig, dass unter leichtem Aufschäumen sogar etwas Chlorwasserstoff entwich. An die kälteren, oberen Teile des Reaktionsgefässes setzten sich zufolge Sublimation feine, seidenglänzende Nadeln des Hydrochlorids der neuen Verbindung ab. Zur Vervollständigung der Reaktion hielt man das Ölbad noch während 4 Stunden auf 130°. Die Schmelze war inzwischen zu einem mit wenig Öl (= freie Base, infolge Entweichens von etwas Chlorwasserstoff) durchsetzten Krystallkuchen erstarrt. Man hätte nun durch Behandeln mit Äther den geringen Anteil an Base herauslösen können, wobei fast reines Hydrochlorid zurückgeblieben wäre. Es wurde jedoch vorgezogen, die Reaktionsmasse mit überschüssiger 2-n. Natronlauge zu versetzen und das Ganze erschöpfend mit Äther zu extrahieren. Der getrocknete Äther-Rückstand wurde sodann destilliert, wobei das 2,3-Dihydro-4,5-propylen-benzo-1,4-oxazin fast ohne Vorlauf und einen kaum nennenswerten Rückstand überging. Sdp.<sub>0,6 mm</sub> 86,2—86,5° bezw. Sdp.<sub>6 mm</sub> 133—134°. Ausbeute: 5,5 g (= 85% d. Th.). Wasserklares, ziemlich dünnflüssiges Öl mit den in der Einleitung beschriebenen Eigenschaften.

4,351 mg Subst. gaben 11,98 mg CO<sub>2</sub> und 2,85 mg H<sub>2</sub>O  
 11,833 mg Subst. gaben 0,829 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (20°, 749 mm)  
 $C_{11}H_{13}ON$  (175,2) Ber. C 75,40 H 7,48 N 8,00%  
 Gef. „ 75,12 „ 7,33 „ 8,04%

Das Hydrochlorid konnte aus absolutem Äthanol umkrystallisiert werden und stellte farblose Krystalle vom Smp. 171—172° dar. Die Mischprobe mit dem Hydrochlorid der Verbindung VIc zeigte eine Schmelzpunktserniedrigung. In Wasser schied sich infolge Hydrolyse die Base zum Teil in Form von Öltröpfchen ab; in verdünnter Salzsäure löste sich das Hydrochlorid jedoch klar. Diese Lösungen sind, ähnlich denen von Phenmorpholin, gegen Oxydationsmittel äusserst empfindlich; so erzeugen geringe Spuren von Eisen(III)-Salzen, trotz Abwesenheit eines freien phenolischen Hydroxyls, eine intensiv kirschrote Färbung.

4,060 mg Subst. gaben 9,31 mg CO<sub>2</sub> und 2,41 mg H<sub>2</sub>O  
 4,909 mg Subst. verbrauchten 3,28 cm<sup>3</sup> NH<sub>4</sub>CNS (f = 0,25)  
 $C_{11}H_{14}ONCl$  (211,6) Ber. C 62,43 H 6,67 Cl 16,76%  
 Gef. „ 62,56 „ 6,64 „ 16,70%

2,3-Dihydro-4,5-propylen-hexahydro-benzo-1,4-oxazin (VIII).

0,88 g 2,3-Dihydro-4,5-propylen-benzo-1,4-oxazin (VII) (=  $\frac{1}{200}$  Mol.) und 0,2 g Platinoxid wurden in reinstem Eisessig unter  $\frac{1}{3}$  Atmosphäre Überdruck bei 65—70° hydriert. Die Wasserstoff-Aufnahme war nach  $2\frac{1}{4}$  Stunden quantitativ erfolgt.

Nach dem Erkalten wurde vom Platin abgenutscht; hernach vertrieb man den Eisessig bei 12 mm, versetzte den Rückstand mit starker Lauge und extrahierte erschöpfend mit Äther. Der getrocknete Ätherrückstand destillierte bei einem Sdp. 12 mm 122—123°. Ausbeute: 0,74 g 2,3-Dihydro-4,5-propylen-hexahydro-benzo-1,4-oxazin (= 81% d. Th.). Düninflüssiges, wasserklares, stark basisches Öl.

4,178 mg Subst. gaben 11,18 mg CO<sub>2</sub> und 3,87 mg H<sub>2</sub>O  
 2,519 mg Subst. gaben 0,177 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (35°, 739 mm)  
 C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>ON (181,2) Ber. C 72,90 H 10,57 N 7,73%  
 Gef. „ 73,00 „ 10,37 „ 7,82%

Das Hydrochlorid konnte leicht erhalten werden, indem man äquimolare Mengen trockenen Chlorwasserstoffs in eine Aceton-Lösung der Base leitete, wobei es krystallin ausfiel und aus Butanol-Äther umkrystallisiert werden konnte; farblose, in Wasser leicht und mit lackmusneutraler Reaktion lösliche Krystalle vom Smp. 229—230°.

4,533 mg Subst. gaben 10,07 mg CO<sub>2</sub> und 3,72 mg H<sub>2</sub>O  
 2,539 mg Subst. gaben 0,152 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (24°, 733 mm)  
 7,688 mg Subst. verbrauchten 5,00 cm<sup>3</sup> NH<sub>4</sub>CNS (f = 0,25)  
 C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>ONCl (217,7) Ber. C 60,68 H 9,26 N 6,43 Cl 16,29%  
 Gef. „ 60,60 „ 9,18 „ 6,64 „ 16,26%

Das quaternäre Jodid aus Verbindung VIII und Äthyljodid wurde erhalten durch mehrstündiges Erhitzen der beiden Komponenten auf dem Wasserbad (Mol.-Verh. 1:1,1). Nach dem Erkalten vertrieb man den entstandenen Krystallkuchen mit Äther, nutschte ab und krystallisierte aus Äthanol oder besser aus Äthanol-Essigester um. Weisses, am Licht sich rasch bräunendes, in Wasser leicht lösliches Krystallpulver vom Smp. 216—217° (Zers.).

0,1558 g Subst. verbrauchten im Mittel 4,58 cm<sup>3</sup> 0.1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>ONJ (337,2) Ber. J 37,64 Gef. J 37,31%<sup>1)</sup>

Die Analysen wurden in unserer analytischen Abteilung unter Leitung von Hrn. Dr. H. Gysel ausgeführt.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba* in Basel,  
 Pharmazeutische Abteilung.

## 209. Über Oxyalkyl- bzw. Halogenalkyl-formamidine und -imidazoline<sup>2)</sup>

von W. Klarer und E. Urech.

(21. X. 44.)

Dialkylamino-alkanole und entsprechende Halogensubstitutionsprodukte, wie das Diäthylamino-äthanol und das Chloräthyl-diäthylamin, spielen besonders in der Arzneimittelsynthese zur Einführung

<sup>1)</sup> Die Jod-Bestimmung erfolgte sowohl elektrotitrimetrisch als auch nach *Volhard*.

<sup>2)</sup> Imidazolin (Äthylen-formamidin) kann als cyclisches Derivat des Formamidins angesehen werden. Um den Zusammenhang zwischen den offenen Amidinen und ihren cyclischen Vertretern, den Imidazolinen, besser herauszustellen, betrachten wir die hier beschriebenen, offenen Amidine ebenfalls als Derivate der Formamidine. Die Verbindung vom Typus des Oxyacet- oder Glykolsäure-amidins z. B. bezeichnen wir deshalb als Oxymethyl-formamidin.

basischer Gruppen eine bedeutsame Rolle. Es schien daher verlockend, ähnliche Derivate mit einem anderen basischen Rest, wie z. B. dem Amidinrest oder seiner cyclischen Abart, dem Imidazolinrest, eingehender zu untersuchen.

**A. Zur Darstellung der Oxyalkyl-formamide bzw. -imidazoline.**

Aliphatische Oxyalkyl-formamide (III) sind bereits bekannt. Sie wurden ausgehend von den Cyanhydrinen (I) des Formaldehyds, des Acetaldehyds und des Acetons durch Einwirkung von Ammoniak auf die Imidoäther-hydrochloride (II) erhalten<sup>1)</sup>. Der Ersatz von Ammoniak durch Äthylendiamin führte uns glatt zu entsprechenden Imidazolinen, dem 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid (IVa) vom Smp. 150–151°, dem 2,  $\alpha$ -Oxyäthyl-imidazolin-hydrochlorid (IVb) vom Smp. 173–174° und dem 2,  $\alpha$ -Oxyisopropyl-imidazolin-hydrochlorid (IVc) vom Smp. 192–193°.

Die Salze der neuen Oxyalkyl-imidazoline sind wie auch die freien Basen in Wasser spielend löslich. Zur Isolierung des freien 2-Oxymethyl-imidazolins nahm man sein Hydrochlorid in absolutem Alkohol auf, worin 1 Äquivalent Natrium gelöst war, filtrierte von Kochsalz ab und dampfte ein. Den Rückstand krystallisierte man aus Aceton um. Die freie Base schmolz bei 89–90°. In schwach alkalischem Medium wird sie schon bei gewöhnlicher Temperatur leicht unter Aufnahme von 1 Mol Wasser zu Glykolsäure- $\beta$ -aminoäthyl-amid aufgespalten. Dieses wurde in Form seines Hydrochlorids (IXa) vom Smp. 167–168° isoliert. So vermochte auch *S. R. Aspinall*<sup>2)</sup> kürzlich, die 2-Methyl-imidazolin-Base durch blosses Kochen mit Wasser in Acetyl- $\beta$ -aminoäthyl-amid überzuführen. In ganz analoger Weise werden nach *A. Pinner*<sup>3)</sup> die freien Amidine durch Wasser in Amide und Ammoniak zerlegt.

Mit N-Methyl-äthylendiamin entstand ferner aus dem Glykolsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (IIa) das am Ringstickstoff methylierte Imidazolin, das 1-Methyl-2-oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid vom Smp. 157–158°. An der Luft ist es leicht zerfließlich.

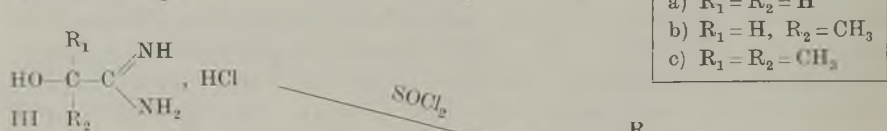
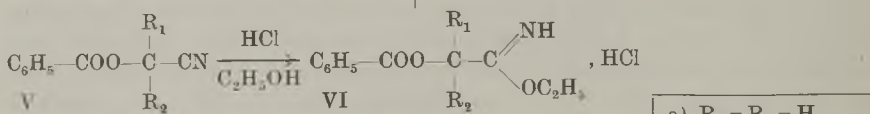
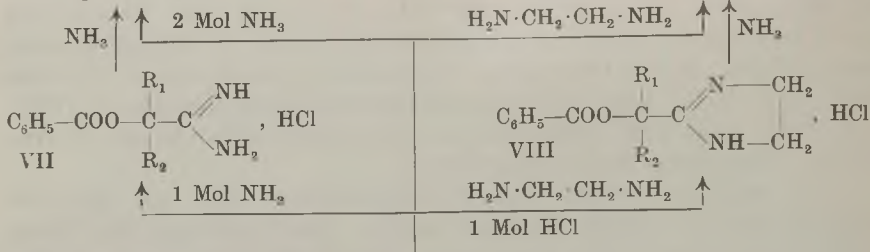
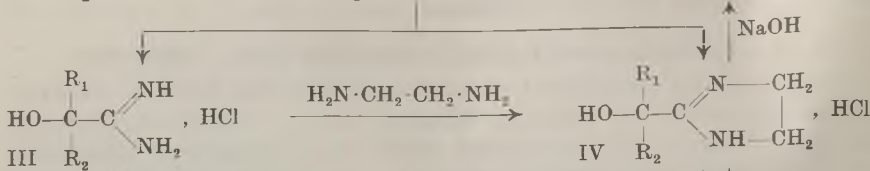
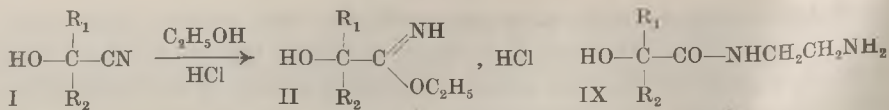
Die als Ausgangsstoffe für die Imidoäther (II) dienenden Cyanhydrine (I) sind nicht sehr stabil, sie polymerisieren sich leicht<sup>4) 5)</sup>, besonders in Gegenwart alkalischer Mittel. Als viel beständiger erwiesen sich dagegen ihre Ester. Nach unseren Befunden lassen sich diese daher mit Vorteil zur Herstellung obiger Oxyalkyl-formamide

<sup>1)</sup> Oxymethyl-formamidin-hydrochlorid: *H. G. Rule*, Soc. **113**, 8 (1918).  $\alpha$ -Oxyäthyl-formamidin-hydrochlorid: *A. Pinner*, B. **23**, 2947 (1890).  $\alpha$ -Oxyisopropyl-formamidin-hydrochlorid: *A. Pinner*, B. **17**, 2009 (1884).

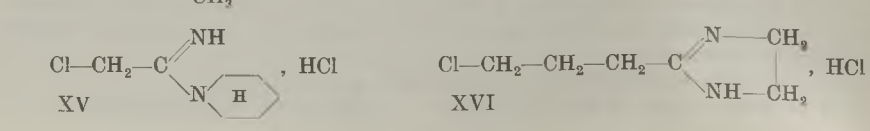
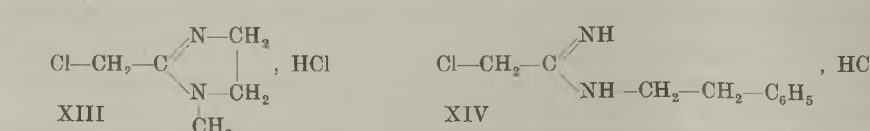
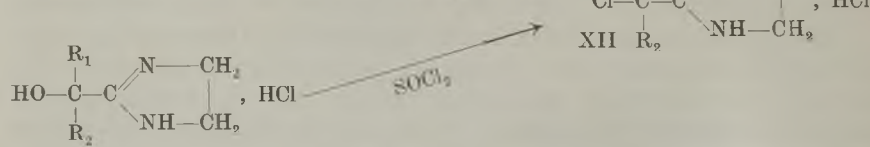
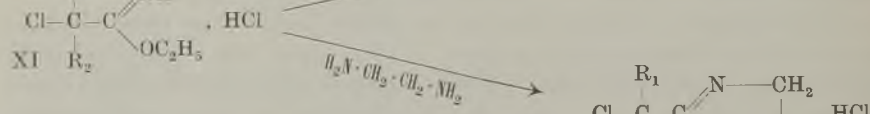
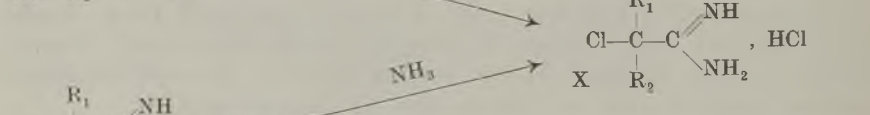
<sup>2)</sup> *S. R. Aspinall*, J. Org. Chem. **6**, 895 (1941). Auch *Hartmann* und *Isler* beobachteten, dass Imidazoline aus der Reihe des Benzyl-imidazolins durch alkalische Mittel aufgespalten werden.

<sup>3)</sup> *A. Pinner*, Die Imidoäther und ihre Derivate, S. 90 (1892).

<sup>4)</sup> *A. Klages*, J. pr. [2] **65**, 189 (1902). <sup>5)</sup> *Henry*, Bl. [3] **4**, 402 (1890).



- a)  $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$   
 b)  $\text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{CH}_3$   
 c)  $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{CH}_3$



bzw. -imidazoline und ihrer Ester verwenden. Wie schon *J. Aloy* und *C. Rabaut*<sup>1)</sup> gezeigt haben, gewinnt man das Benzoyl-glykolsäure-nitril (Va) in guter Ausbeute, wenn man auf ein äquimolekulares Gemisch aus Formaldehyd und Kaliumcyanid in wässriger Lösung Benzoylchlorid einwirken lässt. In ähnlicher Weise gelangt man nach *O. C. M. Davis*<sup>2)</sup> ausgehend von Acetaldehyd zum Benzoyl-milchsäure-nitril (Vb).

Durch Einwirkung von Halogenwasserstoff und Alkohol erhielten wir aus diesen Nitrilen die Imidoäther, das Benzoyl-glykolsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (VIa) vom Smp. 112–114° und das Benzoyl-milchsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (VIb) vom Smp. 110–112°. Als wir auf diese Verbindungen nur 1 Mol Ammoniak einwirken liessen, entstanden die Benzoyl-ester der Amidine, das Benzoyl-oxymethyl-formamidin-hydrochlorid (VIIa) vom Smp. 228–229° und das Benzoyl- $\alpha$ -oxyäthyl-formamidin-hydrochlorid (VIIb) vom Smp. 182°. Übergoss man die benzoilylierten Oxyamidine mit der alkoholischen Lösung eines weiteren Mols Ammoniak, so wurde der Benzoylrest abgespalten, und die bereits bekannten freien Oxyalkyl-formamidin-hydrochloride IIIa und IIIb schieden sich ab. Selbstverständlich liessen sich letztere Verbindungen auch direkt aus den benzoilylierten Imidoäthern (VIa) und (VIb) durch Einwirkung von überschüssigem Ammoniak gewinnen. Der Benzoylrest wurde jeweils in Form von Benzamid abgespalten, das durch Eindampfen der Mutterlaugen isoliert werden konnte. Ähnlich fanden *J. Aloy* und *C. Rabaut*<sup>1)</sup>, dass auch der Benzoylrest vom Benzoyl-glykolsäure-nitril bzw. -amid durch Ammoniak als Benzamid leicht abgelöst wird.

Liess man auf das Benzoyl-glykolsäure-imidoäther-hydrochlorid (VIa) Äthylendiamin in alkoholischer Lösung einwirken, so schied sich ein Krystallisat ab, das sich nach Schmelzpunkt und Analyse als identisch mit dem oben beschriebenen 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid (IVa) erwies. Ganz entsprechend erhielten wir auch das Hydrobromid vom Smp. 113–115°, ausgehend von Benzoyl-glykolsäure-imidoäthyläther-hydrobromid. Auch hier wurde offenbar in beiden Fällen der Benzoylrest durch das bei der Reaktion gebildete Ammoniak direkt abgespalten. Er blieb dagegen gebunden, wenn man das entstandene Ammoniak alsbald durch Zusatz einer molaren Menge Halogenwasserstoff absättigte. Das aus dem Imidoäther VIa und Äthylendiamin nach Zusatz von Chlorwasserstoff erhaltene 2-(Benzoyl-oxymethyl)-imidazolin-hydrochlorid (VIIIa) schmolz bei 208–210°. Durch Behandlung mit alkoholischem Ammoniak liess sich daraus wiederum der Benzoylrest unter Bildung der Oxyverbindung (IVa) abspalten.

<sup>1)</sup> *J. Aloy* und *C. Rabaut*, Bl. [4] 13, 457 (1913).

<sup>2)</sup> *O. C. M. Davis*, Soc. 97, 950 (1910).

Versetzte man eine wässrige Lösung des Benzoyl-oxymethylimidazolin-hydrochlorids (VIIIa) mit verdünnter Sodalösung und ätherte rasch aus, so konnte die freie Base in Form von farblosen Krystallen vom Smp. 85–86° u. Zers. gewonnen werden. Verwendete man aber Alkalilauge, so wurde der Benzoylrest teilweise abgespalten und die entstandene 2-Oxymethylimidazolin-Base unter Ringöffnung in das bereits oben beschriebene Glykolsäure- $\beta$ -aminoäthylamid (IXa) übergeführt.

Weiterhin erhielten wir durch Einwirkung von Äthylendiamin auf Benzoyl-milchsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (VIb) unter Zusatz von 1 Mol Chlorwasserstoff das 2-( $\alpha$ -Benzoyl-oxyäthyl)-imidazolin-hydrochlorid (VIIIb) vom Smp. 185–186°, ohne Zusatz der Säure aber das bereits oben beschriebene 2, $\alpha$ -Oxyäthylimidazolin-hydrochlorid (IVb).

Auf dem von uns gezeigten Wege lassen sich ferner andere Ester der Oxyalkyl-formamide bzw. -imidazoline herstellen, die durch direkte Veresterung der letzteren schwer zugänglich sind.

Schliesslich gelang uns auch die Darstellung der Oxyalkylimidazoline durch Einwirkung von Äthylendiamin auf die Oxyalkylformamide in der Wärme. Dabei wird in glatter Weise Ammoniak abgespalten.

#### B. Zur Darstellung der Halogenalkyl-formamide bzw. -imidazoline<sup>1)</sup>.

Zu ihrer Gewinnung stehen zwei Wege zur Verfügung, indem man entweder Imidoäther von Halogenfettsäuren mit geeigneten Aminen in entsprechende Amide bzw. Imidazoline überführt oder die Oxygruppe von Oxyalkylformamiden bzw. -imidazolen durch Halogen ersetzt.

So erhielten wir das Chlormethylformamidin-hydrochlorid (Xa) vom Smp. 104–106° durch Einwirkung von Ammoniak auf das von *E. Schmidt*<sup>2)</sup> beschriebene Chloracet-imidoäther-hydrochlorid (XIa), ohne dass das Halogen der Chlormethylgruppe wesentlich angegriffen wurde. Die neue Verbindung entstand auch durch Einwirkung von Thionylchlorid auf das Oxymethylformamidin-hydrochlorid (IIIa). In ähnlicher Weise gelangten wir zum 2-Chlormethylimidazolin-hydrochlorid (XIIa) vom Smp. 202–204° durch Behandlung einerseits von Chloracet-imidoäthyläther-hydrochlorid (XIa) mit Äthylendiamin und andererseits von 2-Oxymethylimidazolin-hydrochlorid (IVa) mit Thionylchlorid.

Ferner erhielten wir aus Bromacetonitril über das Bromacet-imidoäthyläther-hydrobromid (Smp. 92–93°) das 2-Bromäthylimidazolin-hydrobromid vom Smp. 206–209°. Letzteres wurde auch aus

<sup>1)</sup> Siehe auch D. R. P. 717 777 vom 19. April 1939 (schweiz. Priorität vom 11. Mai 1938).      <sup>2)</sup> *E. Schmidt*, B. 47, 2547 (1914).



dem 2-Chlormethyl-imidazolin-hydrochlorid (XIIa) durch Kochen mit Natriumbromid in Methylalkohol oder Aceton gebildet.

Durch Einwirkung von Thionylchlorid auf 2-( $\alpha$ -Oxyäthyl)-imidazolin-hydrochlorid (VIb) entstand das 2-( $\alpha$ -Chloräthyl)-imidazolin-hydrochlorid (XIIb) vom Smp. 213–214° und durch Umsetzung mit 2-( $\alpha$ -Oxyisopropyl)-imidazolin-hydrochlorid (IVc) das 2-( $\alpha$ -Chlor-isopropyl)-imidazolin-hydrochlorid (XIIc) vom Smp. 198°.

In analoger Weise wie zu obigen Chloralkyl-imidazolinen kann man auch zu am Ringstickstoff substituierten Basen gelangen. So erhielten wir einerseits durch Umsetzung von Chloracet-imidoäthyl-äther-hydrochlorid (XIa) mit N-Methyl-äthylendiamin und andererseits von 1-Methyl-2-oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid mit Thionylchlorid das sehr hygroskopische 1-Methyl-2-chlormethyl-imidazolin-hydrochlorid (XIII). (Formeln siehe oben.)

Liess man auf Chloracet-imidoäther-hydrochlorid (XIa) z. B. Phenyläthylamin oder Piperidin einwirken, so entstanden das Chlormethyl-( $\beta$ -phenyläthyl)-formamidin-hydrochlorid (XIV) vom Smp. 150–151° bzw. das Chlormethyl-piperidino-formamidin-hydrochlorid (XV) vom Smp. 176°.

Durch Einwirkung von Ammoniak oder Aminen auf  $\omega$ -Halogenalkyl-imidoäther kann man auch zu längerkettigen  $\omega$ -Halogenalkyl-formamidinen bzw. -imidazolinen gelangen. So kommt man z. B. durch Einwirkung von Äthylendiamin auf das aus  $\gamma$ -Chlorbutyronitril in üblicher Weise zu gewinnende  $\gamma$ -Chlorbutyro-imidoäthyl-äther-hydrochlorid vom Smp. 100–102° zum 2-( $\gamma$ -Chlorpropyl)-imidazolin-hydrochlorid (XVI) vom Smp. 146–148°.

Aus den Hydrochloriden der 2-Halogenalkyl-formamidine bzw. -imidazoline lassen sich bei raschem Arbeiten die freien Basen in der Kälte mit Hilfe von Alkali in Freiheit setzen. So erhielten wir mit Hilfe von konz. Kalilauge das freie 2-Chlormethyl-imidazolin (Smp. 72–73°), das freie 2, $\alpha$ -Chloräthyl-imidazolin (Smp. 64–65°) und das freie 2, $\alpha$ -Chlorisopropyl-imidazolin (Smp. 122–124°) in farblosen Krystallen. Sie sind nur kurze Zeit haltbar. Insbesondere gilt dies für die am Ringstoff methylierte 1-Methyl-2-chlormethyl-imidazolin-Base (XIII). Auch das freie Chlormethyl-( $\beta$ -phenyläthyl)-imidazolin vom Smp. 85–86° zersetzte sich innerhalb einiger Tage unter starker Verfärbung.

Mit den Halogenalkyl-formamidinen und besonders den Halogenalkyl-imidazolinen ist eine neue Klasse äusserst reaktionsfähiger Verbindungen erschlossen. Zweckmässig setzt man sie wegen der geringen Haltbarkeit der freien Basen in Form ihrer beständigen Salze um. Über die Reaktion dieser Verbindungen mit Aminen werden wir in einer folgenden Arbeit ausführlicher berichten.

## Experimenteller Teil.

### A. Oxyalkyl-formamidine bzw. -imidazoline.

#### I. Darstellung über die freien Oxyalkyl-imidoäther.

##### 2-Oxymethyl-imidazolin (IVa).

In eine auf 0° abgekühlte Lösung von 16 g Äthylendiamin in 200 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol trug man 35 g Glykolsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (IIa) unter Rühren ein. Das Gemisch hielt man 1 Stunde bei 0° und erwärmte es dann innert einer ½ Stunde zum Sieden. Das Sieden wurde so lange fortgesetzt, bis keine Ammoniak-Abspaltung mehr zu beobachten war, was nach ca. 1½ stündigem Erhitzen erreicht wurde. Die noch heisse Lösung wurde mit alkoholischer Salzsäure kongosauer gestellt und noch heiss filtriert. Beim Abkühlen des Filtrates fiel das 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid in grossen würfelförmigen Krystallen vom Smp. 150—151° aus. Ausbeute 94% d. Th.

4,927; 5,211 mg Subst. gaben	6,44; 6,80 mg CO <sub>2</sub> und	2,93; 2,98 mg H <sub>2</sub> O
3,021 mg Subst. gaben	0,546 cm <sup>3</sup> N <sub>2</sub> (21°, 734 mm)	
0,1465 g Subst. verbrauchten	10,7 cm <sup>3</sup> 0,1-n. AgNO <sub>3</sub> <sup>1)</sup>	
C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> ON <sub>2</sub> , HCl	Ber. C 35,16	H 6,64 N 20,52 Cl' 25,98%
	Gef. „ 35,65; 35,58	„ 6,66; 6,40 „ 20,27 „ 25,90%

Freie Base: Versetzt man eine wässrige Lösung des 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorids mit konz. Natronlauge, so kann keine Ausscheidung an Base beobachtet werden. Sie lässt sich auch nicht durch Ausziehen der alkalischen Lösung mit Äther gewinnen. Dagegen wurde sie auf folgende Weise erhalten:

2,3 g Natrium wurden in 100 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol gelöst und zur Lösung 13,6 g 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid gegeben. Es schied sich sofort Kochsalz aus, von dem nach einiger Zeit abfiltriert wurde. Die klare Lösung hinterliess nach dem Eindampfen ein braunes Öl, das nach einigem Stehen zu einer festen Masse erstarrte. Diese wurde in heissem Aceton, worin sie nur zum Teil löslich war, aufgenommen. Aus der erkalteten Aceton-Lösung schied sich die 2-Oxymethyl-imidazolin-Base in bräunlichen Krystallen vom Smp. 89—90° ab.

Die Base ist in Wasser in jedem Verhältnis löslich. In wässrig, alkalischer Lösung findet äusserst leicht Ringöffnung statt.

##### Überführung von

##### 2-Oxymethyl-imidazolin in Glykolsäure-β-aminoäthyl-amid (IXa).

2,7 g 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid (<sup>1</sup>/<sub>50</sub> Mol.) wurden in 40 cm<sup>3</sup> n. Natronlauge gelöst und 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann setzte man wieder 40 cm<sup>3</sup> n. Salzsäure hinzu und dampfte die neutrale Lösung zur Trockne ein. Durch Ausziehen des Rückstandes mit heissem, abs. Alkohol konnten daraus 2,6 g Glykolsäure-β-aminoäthylamid-hydrochlorid vom Smp. 167—168° isoliert werden.

0,1786 g Subst. verbrauchten	11,6 cm <sup>3</sup> 0,1-n. AgNO <sub>3</sub>
C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub> , HCl	Ber. Cl' 22,95 Gef. Cl' 23,04%

##### 2-α-Oxyäthyl-imidazolin (IVb).

Ausgehend von 15,3 g Milchsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (IIb), 6 g Äthylendiamin und 75 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol erfolgte die Darstellung des 2-(α-Oxyäthyl)-imidazolin-hydrochlorids in genau gleicher Weise, wie die des 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorids. Aus einer Mischung von Alkohol und Aceton umkrystallisiert schmolz das 2-(α-Oxyäthyl)-imidazolin-hydrochlorid bei 173—174°.

4,955; 4,990 mg Subst. gaben	7,21; 7,25 mg CO <sub>2</sub> und	3,17; 3,22 mg H <sub>2</sub> O
1,770 mg Subst. gaben	0,291 cm <sup>3</sup> N <sub>2</sub> (20°, 747 mm)	
0,1311 g Subst. verbrauchten	8,7 cm <sup>3</sup> 0,1-n. AgNO <sub>3</sub>	
C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> ON <sub>2</sub> , HCl	Ber. C 39,86	H 7,36 N 18,60 Cl' 23,55%
	Gef. „ 39,70; 39,65	„ 7,16; 7,22 „ 18,83 „ 23,53%

<sup>1)</sup> Das ionogene Chlor wurde in dieser Arbeit stets elektrometrisch bestimmt.

2,α-Oxyisopropyl-imidazolin (IVc).

Durch Umsetzung von 16,7 g Dimethyl-glykolsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (IIc) mit 6 g Äthylendiamin in 40 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol gelangte man nach dem für die Darstellung des 2-Oxymethyl-imidazolins beschriebenen Verfahrens zum 2,α-Oxyisopropyl-imidazolin-hydrochlorid. Aus einem Alkohol-Essigester-Gemisch krystallisiert zeigte es den Smp. 192—193°.

0,2063 g Subst. verbrauchten 12,6 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>ON<sub>2</sub>, HCl Ber. Cl' 21,55 Gef. Cl' 21,66%

1-Methyl-2-oxymethyl-imidazolin.

Unter Verwendung von N-Methyl-äthylendiamin und Glykolsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid wurde das methylierte 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid genau nach dem für die Darstellung des 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid beschriebenen Verfahren hergestellt. Aus Alkohol krystallisiert zeigte das N-Methyl-2-oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid den Smp. 157—158°.

0,3022 g Subst. verbrauchten 20,1 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>ON<sub>2</sub>, HCl Ber. Cl' 23,53 Gef. Cl' 23,59%

II. Darstellung über die benzoylierten Oxyalkyl-imidoäther.

a) Benzoyl-oxylfettsäure-imidoäther.

Benzoyl-glykolsäure-imidoäthyläther (VIa).

Hydrochlorid: Unter guter Kühlung leitete man in eine Lösung von 32,2 g Benzoyl-glykolsäure-nitril (Va) in 9,2 g abs. Alkohol und 50 cm<sup>3</sup> trockenem Chloroform 7,2 g trockenes Salzsäuregas ein. Nach 24stündigem Stehen bei -10° hatte sich das Benzoyl-glykolsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid krystallin abgeschieden. Es wurde abgenutscht, mit abs. Äther gewaschen und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Smp. 112—114° u. Zers. Die Ausbeute betrug 45 g.

0,2113 g Subst. verbrauchten 8,75 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub>N, HCl Ber. Cl' 14,56 Gef. Cl' 14,68%

Hydrobromid: In eine Lösung von 60 cm<sup>3</sup> Chloroform, 32,2 g Benzoyl-glykolsäure-nitril (Va) und 9,2 g abs. Alkohol wurden unter guter Kühlung 16,2 g trockenes Bromwasserstoffgas eingeleitet. Dann fügte man noch 200 cm<sup>3</sup> abs. Äther hinzu und liess die klare Lösung 48 Stunden im Eisschrank bei -10° stehen. Nach dieser Zeit war das Benzoyl-glykolsäure-imidoäthyläther-hydrobromid als krystalline Masse ausgefallen, die leicht von der Chloroform-Ätherlösung getrennt werden konnte. Das Hydrobromid, mit Äther gewaschen und nachher über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet, schmolz bei 95° u. Zers. Es wurde in quantitativer Ausbeute erhalten.

0,3616 g Subst. verbrauchten 12,3 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub>N, HBr. Ber. Br' 27,74 Gef. Br' 27,53%

Benzoyl-milchsäure-imidoäther (VIb).

In eine Lösung von 43,7 g Benzoyl-milchsäure-nitril (Vb) in 11,5 g abs. Alkohol und 150 cm<sup>3</sup> abs. Äther leitete man unter guter Kühlung 9,2 g Salzsäuregas ein und liess das Gemisch 6 Tage bei -10° stehen. Nach dieser Zeit hatten sich 44 g des Benzoyl-milchsäure-imidoäthyläther-hydrochlorids vom Smp. 110—112° krystallin abgeschieden.

0,3330 g Subst. verbrauchten 12,9 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>O<sub>3</sub>N, HCl Ber. Cl' 13,77 Gef. Cl' 13,74%

b) Benzoyl-oxyalkyl-formamidine bzw. -imidazoline.

Benzoyl-oxymethyl-formamidin (VIIa).

In eine eisgekühlte Lösung von 1,7 g Ammoniak in 50 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol trug man 24,3 g Benzoyl-glykolsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (VIa) ein. Es entstand sofort

eine krystalline Fällung; Kühlung des Gemisches über Nacht in Eiswasser liess sie noch merklich zunehmen. Nun wurde abgenutscht und der Rückstand aus Alkohol krystallisiert. Das Benzoyl-oxymethyl-formamidin-hydrochlorid schmolz bei 228—229°. Ausbeute 17 g.

0,0852 g Subst. verbrauchten 4,0 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, HCl Ber. Cl' 16,53 Gef. Cl' 16,65%

Benzoyl- $\alpha$ -oxyäthyl-formamidin (VIIb).

51,5 g  $\alpha$ -Benzoyl-milchsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (VIb) gab man zu einer kalten Lösung von 3,4 g Ammoniak in 80 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol. Dabei entstand sofort eine Fällung von Ammoniumchlorid, die nach 24stündigem Stehen des Gemisches bei +4° wieder verschwunden war. Die klare alkoholische Lösung wurde im Vakuum auf das halbe Volumen eingedampft und dann mit der dreifachen Menge Essigester versetzt. Aus dem Alkohol-Essigester-Gemisch krystallisierte das Benzoyl- $\alpha$ -oxyäthyl-formamidin-hydrochlorid vom Smp. 182°.

0,2761 g Subst. verbrauchten 12,05 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, HCl Ber. Cl' 15,51 Gef. Cl' 15,48%

2-(Benzoyl-oxymethyl)-imidazolin (VIIIa).

6 g Äthylendiamin (wasserfrei) wurden in 100 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol gelöst und auf 0° abgekühlt. In diese Lösung gab man unter Rühren und Kühlen 24,3 g Benzoyl-glykolsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (VIa) und hielt sie eine Stunde bei 0°. Dann setzte man eine Lösung von 3,6 g HCl in 100 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol zu und liess das Gemisch zunächst eine Stunde bei 0°, dann noch 1—2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und erwärmte es hierauf während einer Stunde unter Rückfluss zum Sieden. Die noch heisse Lösung wurde durch Filtration vom grössten Teil des gebildeten Ammoniumchlorids getrennt. Beim Abkühlen schied sich das 2-(Benzoyl-oxymethyl)-imidazolin-hydrochlorid beinahe quantitativ ab. Das so gewonnene Hydrochlorid enthielt aber trotz Umkrystallisieren aus Alkohol oder Wasser noch Spuren von Ammoniumchlorid. Rein entstand es, allerdings mit merklichem Substanzverlust, wenn man daraus die Base in Freiheit setzte und diese wieder ins Hydrochlorid überführte. Aus Alkohol umkrystallisiert zeigte es dann den Smp. 208—210°.

4,528 mg Subst. gaben 9,12 mg CO<sub>2</sub> und 2,18 mg H<sub>2</sub>O  
 2,112 mg Subst. gaben 0,223 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 735 mm)  
 0,1376 g Subst. verbrauchten 5,70 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, HCl Ber. C 54,88 H 5,44 N 11,65 Cl' 14,74%  
 Gef. ,, 54,96 ,, 5,39 ,, 11,81 ,, 14,69%

Freie Base: Eine Suspension von 40 g 2-(Benzoyl-oxymethyl)-imidazolin-hydrochlorid in 100 cm<sup>3</sup> Eiswasser wurde mit 40 cm<sup>3</sup> 10-n. Natronlauge versetzt. Die sich als Öl ausscheidende Base nahm man sofort in 500 cm<sup>3</sup> Äther auf, trocknete die Ätherlösung über ausgeglühtem Natriumsulfat und dampfte sie ein. Als Rückstand blieb ein Öl, das bald zu krystallisieren begann. Das 2-(Benzoyl-oxymethyl)-imidazolin ist in Alkohol, Essigester und Äther leicht, dagegen in Petroläther schwer löslich. Aus letzterem krystallisiert schmolz es bei 85—86°.

Die Ausbeute an Base betrug nur etwa 50% der Theorie.

Die bei der Gewinnung von 2-(Benzoyl-oxymethyl)-imidazolin-Base verbleibende alkalisch wässrige Mutterlauge wurde angesäuert und nach Abtrennen der ausgeschiedenen Benzoesäure eingedampft. Der Rückstand wurde mit heissem Alkohol ausgezogen und die alkoholische Lösung noch heiss filtriert. Aus dem klaren Filtrat schieden sich beim Abkühlen farblose Krystalle vom Smp. 167—168° aus, die mit dem bereits oben beschriebenen Glykolsäure- $\alpha$ -aminoäthyl-amid (IX) identisch waren. Es entstand offenbar infolge Verseifung des Benzoylrestes und Aufspaltung des intermediär gebildeten Oxy-methyl-imidazolins.

2-( $\alpha$ -Benzoyl-oxyäthyl)-imidazolin (VIIIb).

12,9 g Benzoyl-milchsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (VIb) gab man portionenweise zu einer gut gekühlten Lösung von 3 g Äthylendiamin (wasserfrei) in 50 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol. Nach einer Stunde setzte man eine Lösung von 1,85 g Salzsäure in 10 cm<sup>3</sup> Alkohol zu und erwärmte dann das Gemisch, nachdem es noch eine weitere Stunde bei 0° gehalten wurde, zum Sieden. Die alkoholische Lösung wurde nun im Vakuum eingedampft und der Rückstand in Chloroform aufgenommen, wobei das gebildete Ammoniumchlorid ungelöst blieb. Die filtrierte Chloroformlösung wurde eingedampft und der Rückstand aus einem Gemisch von Alkohol-Äther umkrystallisiert. Das 2-( $\alpha$ -Benzoyl-oxyäthyl)-imidazolin-hydrochlorid vom Smp. 185—186° wurde daraus in etwa 60-proz. Ausbeute erhalten.

0,1890 g Subst. verbrauchten 7,4 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, HCl Ber. Cl' 13,94 Gef. Cl' 13,92%

c) Oxyalkyl-formamide bzw. -imidazoline.

Oxymethyl-formamidin (IIIa).

(Glykolsäure-amidin-hydrochlorid.)

21 g Benzoyl-oxymethyl-formamidin-hydrochlorid (VIIa) wurden mit 70 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol, die 1,7 g Ammoniak gelöst enthielten, übergossen und 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann erwärmte man das Gemisch innert 2 Stunden zum Sieden, wobei eine klare Lösung entstand. Beim Abkühlen derselben fiel das Oxymethylformamidin-hydrochlorid krystallin aus. Smp. 148—149°<sup>1)</sup>. Ausbeute 8,2 g.

4,898 mg Subst. gaben 3,93 mg CO<sub>2</sub> und 2,83 mg H<sub>2</sub>O

2,132 mg Subst. gaben 0,477 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (21°, 735 mm)

0,1134 g Subst. verbrauchten 10,2 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>

C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>ON<sub>2</sub>, HCl Ber. C 21,72 H 6,38 N 25,35 Cl' 32,08%  
 Gef. „ 21,9 „ 6,46 „ 25,12 „ 31,90%

$\alpha$ -Oxyäthyl-formamidin (IIIb).

(Milchsäure-amidin-hydrochlorid.)

3,4 g Ammoniak löste man in 80 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol. Hierzu gab man unter Rühren 22,9 g  $\alpha$ -Benzoyl-oxyäthyl-formamidin-hydrochlorid (VIIb) und hielt das Gemisch während 3 Stunden bei Zimmertemperatur. Aus der anfänglich klaren Lösung schied sich nach etwa halbstündigem Stehen ein krystallines Produkt aus. Zur Beendigung der Umsetzung wurde noch 2 Stunden auf 50—60° erwärmt, wobei wieder eine klare Lösung entstand. Sie wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft und der Rückstand zwecks Entfernung des gebildeten Benzamids 2 mal mit je 200 cm<sup>3</sup> Essigester ausgekocht. Den Rückstand krystallisierte man aus einem Alkohol-Essigester-Gemisch. Das  $\alpha$ -Oxyäthylformamidin-hydrochlorid wurde daraus in farblosen Krystallen vom Smp. 164—165°<sup>2)</sup> erhalten.

0,1487 g Subst. verbrauchten 11,85 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>ON<sub>2</sub>, HCl Ber. Cl' 28,48 Gef. Cl' 28,26%

2-Oxymethyl-imidazolin (IVa).

1. Aus Benzoyl-glykolsäure-imidoäther.

Hydrochlorid: In eine auf 0° abgekühlte Lösung von 12 g Äthylendiamin in 100 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol trug man unter Rühren 48,6 g Benzoyl-glykolsäure-imidoäthyläther-hydrochlorid (VIa) ein. Man liess noch 2—3 Stunden bei 0°, hierauf 5 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, erwärmte das Reaktionsgemisch innert 2 Stunden auf 60° und behielt diese Temperatur noch 2 Stunden bei. Nun destillierte man den Alkohol im

<sup>1)</sup> H. G. Rule (loc. cit.) gibt als Smp. 150—151° an.

<sup>2)</sup> A. Pinner (loc. cit.) gibt als Smp. 171° an.

Vakuum ab und zog den Rückstand mit heissem Essigester aus. Das 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid blieb ungelöst zurück. Nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol Smp. 150—151°; Ausbeute 15 g.

Durch Einengen des Essigesterazuges wurde Benzamid vom Smp. 126—128° erhalten.

Hydrobromid: Ausgehend von Benzoyl-glykolsäure-imidoäthyläther-hydrobromid erfolgte in analoger Weise die Darstellung des 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrobromids. Aus Alkohol krystallisiert zeigte es den Smp. 113—115°.

0,1453 g Subst. verbrauchten 8,05 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>ON<sub>2</sub>, HBr Ber. Br' 44,15 Gef. Br' 44,28%

#### 2. Aus 2-(Benzoyl-oxymethyl)-imidazolin.

12 g des Hydrochlorids (VIIa) wurden mit einer Lösung von 0,9 g Ammoniak in 50 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol übergossen und 2 Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann wurde der Alkohol im Vakuum abdestilliert und der Rückstand durch Ausziehen mit heissem Essigester von Benzamid befreit. Das ungelöst bleibende 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid krystallisierte man wiederum aus wenig Alkohol um; gute Ausbeute.

#### 2,α-Oxyäthyl-imidazolin (IVb).

Ein Gemisch von 3 g Äthylendiamin und 12,9 g Benzoyl-milchsäure-imidoäthyläther (VIb) in 50 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol wurde nach 2stündigem Stehen bei 0° 1 Stunde zum Sieden erwärmt, die klare Lösung im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit 100 cm<sup>3</sup> Aceton aufgeköcht. Das darin schwer lösliche 2,α-Oxyäthyl-imidazolin-hydrochlorid nutschte man ab und krystallisierte es aus einer Mischung von Alkohol und Aceton um. Smp. 173—174° (vgl. oben).

### III. Darstellung der Oxyalkyl-imidazoline über die Oxyalkylformamidine.

#### 2-Oxymethyl-imidazolin (IVa).

11 g Oxymethyl-formamidin-hydrochlorid (IIIa) wurden mit 6,6 g Äthylendiamin in 120 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das sich bei der Reaktion abspaltende Ammoniak wurde in einer Vorlage mit 2-n. Salzsäure aufgefangen. Nach einer Stunde konnte über 90% der theoretisch möglichen Menge Ammoniak nachgewiesen werden. Das Reaktionsgemisch stellte man mit alkoholischer Salzsäure kongosauer, erhitze es nochmals für ½ Stunde zum Sieden und filtrierte dann heiss vom ungelösten Alkyldiamin-di-hydrochlorid ab. Aus dem klaren Filtrat krystallisierten beim Abkühlen 12,1 g 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid vom Smp. 150—151°.

#### 2,α-Oxyäthyl-imidazolin (IVb).

Das Gemisch von 4,15 g α-Oxyäthyl-formamidin-hydrochlorid (IIIb), 2,0 g Äthylendiamin und 40 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol wurde während 1 Stunde zum Sieden erhitzt. Während dieser Zeit spalteten sich 91% der theoretisch möglichen Menge Ammoniak ab. Der noch heissen Lösung setzte man alkoholische Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion zu, filtrierte und liess das Filtrat abkühlen. Dabei schieden sich 4,3 g 2,α-Oxyäthyl-imidazolin-hydrochlorid vom Smp. 173—174° aus. Ausbeute: 86% d. Theorie.

## B. Halogenalkyl-formamidine bzw. -imidazoline.

#### Chlormethyl-formamidin (Xa).

a) Aus Chloracet-imidoäthyläther. 31,6 g Chloracet-imidoäthyläther-hydrochlorid (XIa) wurden in die mit Eis-Kochsalz gekühlte Lösung von 3,4 g Ammoniak in 150 cm<sup>3</sup> Alkohol eingetragen. Nach zweistündigem Stehen in der Kälte wurde die Reaktionsmasse einige Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt, wobei das zuerst entstandene Ammoniumchlorid nach und nach in Lösung ging. Nach dem Abnutschen einer geringen

Menge Ammoniumchlorid dampfte man die meist braun gefärbte Lösung im Vakuum ein, löste den Rückstand in wenig Wasser, klärte mit Kohle und entfernte das Wasser im Vakuum. Der Trockenrückstand wurde in wenig Alkohol warm gelöst und durch Zugabe von Essigester das Chlormethyl-formamidin-hydrochlorid in guter Ausbeute zur Krystallisation gebracht; farblose hygroskopische Krystalle vom Smp. 104—106°.

0,1000 g Subst. verbrauchten 7,8 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>

C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>N<sub>2</sub>Cl, HCl Ber. Cl' 27,49 Gef. Cl' 27,66%

b) Aus Oxymethyl-formamidin. 1,7 g Oxymethyl-formamidin-hydrochlorid (IIIa) wurden mit 5 cm<sup>3</sup> Thionylchlorid bis zur Beendigung der HCl-Entwicklung in schwachem Sieden gehalten. Nach Abdestillieren des Thionylchlorid-Überschusses blieb das 2-Chlormethyl-formamidin-hydrochlorid als krystalline Masse zurück. Aus Alkohol-Essigester gut ausgebildete Krystalle vom Smp. 104—106°. Die Mischprobe mit der nach Methode a) hergestellten Verbindung gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

### 2-Chlormethyl-imidazolin (XIIa).

a) Aus Chloracet-imidoäthyläther. 15,7 g Chloracet-imidoäthyläther-hydrochlorid (XIa) gab man portionenweise zu einer gut gekühlten Lösung von 6 g Äthylen-diamin in 50 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol und liess das Gemisch 1 Stunde bei 0° stehen. Dann fügte man unter weiterem Kühlen eine Lösung von 3,6 g Salzsäure, gelöst in 50 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol, hinzu. Nach mehrstündigem Stehen bei 0° wurde mit 250 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol verdünnt und während 1 Stunde auf 40° erwärmt. Die alkoholische Lösung wurde noch warm vom abgeschiedenen Ammoniumchlorid filtriert und das klare Filtrat im Vakuum auf ca. 50 cm<sup>3</sup> eingedampft. Aus der verbleibenden Lösung schied sich das 2-Chlormethyl-imidazolin-hydrochlorid nach Kühlung im Eiswasser krystallin ab. Nach nochmaligem Umkrystallisieren schmolz es bei 202—204°. Ausbeute 11 g.

5,076; 5,233 mg Subst. gaben 5,78; 5,99 mg CO<sub>2</sub> und 2,30; 2,29 mg H<sub>2</sub>O

2,308 mg Subst. gaben 0,371 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (21°, 734 mm)

0,1895 g Subst. verbrauchten 12,1 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>

C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>Cl, HCl Ber. C 30,98 H 5,20 N 18,07 Cl' 22,87%

Gef. „ 31,06; 31,22 „ 5,07; 4,90 „ 18,03 „ 22,64%

b) Aus 2-Oxymethyl-imidazolin. 7,2 g 2-Oxymethyl-imidazolin-hydrochlorid (IVa) wurden mit 7 cm<sup>3</sup> Thionylchlorid übergossen und 2 Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann destillierte man den Überschuss an Thionylchlorid im Vakuum ab und krystallisierte den Rückstand aus 40 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol. Smp. 203—204°. Ausbeute 6,75 g.

c) Freie Base. Eine 50-proz. wässrige Lösung des 2-Chlormethyl-imidazolin-hydrochlorids versetzte man unter guter Kühlung in Eiswasser mit der gleichen Menge 50-proz. KOH-Lösung. Das 2-Chlormethyl-imidazolin schied sich dabei unmittelbar fest aus. Es wurde sofort in Isopropyläther aufgenommen, die wässrige Schicht abgetrennt und die Isopropyläther-Lösung im Eisschrank über festem KOH getrocknet. Dabei schied sich die Base krystallin ab. Durch Erwärmen auf Zimmertemperatur ging sie wieder in Lösung, worauf die Lösung vom festen KOH durch Filtration getrennt wurde. Nach Wiederabkühlen der klaren Lösung auf -10° erhielt man das 2-Chlormethyl-imidazolin in farblosen Krystallen vom Smp. 72—73°.

1,597; 1,801 mg Subst. gaben 0,334; 0,382 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 736 mm; 22°, 736 mm)

0,1274 g Subst. verbrauchten 10,7 cm<sup>3</sup> 0,1-n. HCl (Methylrot)

C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>Cl Ber. N 23,63% Äquiv.-Gew. 118,55

Gef. „ 23,43; 23,77% „ „ 119,07

Wird die Base bei Zimmertemperatur aufbewahrt, so verändert sie sich schon nach wenigen Stunden; sie wird gelb und nach und nach flüssig. Diese Umwandlung kann aber auch plötzlich unter starker Wärmeentwicklung auftreten.

2-Brommethyl-imidazolin.

a) Aus Bromacet-imidoäthyläther.

Imidoäther: In eine Lösung von 30 g Bromaceto-nitril und 11,5 g abs. Alkohol in 300 cm<sup>3</sup> Äther leitete man 20 g Bromwasserstoffgas und liess das Gemisch 7 Stunden bei -10° stehen. Das krystallin ausgefallene Bromacet-imidoäthyläther-hydrobromid zeigte den Smp. 92—93°. Ausbeute 53 g.

0,2202 g Subst. verbrauchten 8,8 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>ONBr, HBr Ber. Br' 32,37 Gef. Br' 31,94%

Imidazolin: Eine eiskalte alkoholische Äthylendiaminlösung, die 6 g der Base in 100 cm<sup>3</sup> enthielt, versetzte man mit 24,7 g Bromacet-imidoäthyläther-hydrobromid und gab dann nach 1stündigem Stehen in Eiswasser 100 cm<sup>3</sup> einer normalen, absolut alkoholischen Bromwasserstoffsäurelösung hinzu. Das Gemisch liess man 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und erwärmte es dann noch 1 Stunde auf 40°. Hierauf wurde zum Sieden erhitzt und noch heiss vom ungelösten Ammoniumbromid abfiltriert. Aus dem Filtrat krystallisierte das 2-Brommethyl-imidazolin-hydrobromid vom Smp. 206—209°. Ausbeute 17 g.

4,935 mg Subst. gaben 3,60 mg CO<sub>2</sub> und 1,39 mg H<sub>2</sub>O  
 3,065 mg Subst. gaben 0,310 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (20°, 732 mm)  
 0,2224 g Subst. verbrauchten 9,2 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>Br, HBr Ber. C 19,69 H 3,30 N 11,49 Br' 32,77%  
 Gef. „ 19,91 „ 3,15 „ 11,35 „ 33,06%

b) Aus Chlormethyl-imidazolin.

15,4 g 2-Chlormethyl-imidazolin-hydrochlorid (XIIa) und 20,6 g Natriumbromid wurden in 200 cm<sup>3</sup> Methylalkohol 24 Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurde vom ausgeschiedenen Kochsalz abfiltriert und die methylalkoholische Lösung im Vakuum eingedampft. Durch Umkrystallisieren des Rückstandes aus Alkohol erhielt man das 2-Brommethyl-imidazolin-hydrobromid in krystalliner Form. Smp. 206—209° (s. oben).

2,α-Chloräthyl-imidazolin (XIIb).

15 g 2,α-Oxyäthyl-imidazolin-hydrochlorid (IVb) wurden mit 30 cm<sup>3</sup> Thionylchlorid langsam auf 70° erwärmt. Nach Aufhören der SO<sub>2</sub>- und HCl-Entwicklung wurde der Überschuss an Thionylchlorid im Vakuum abdestilliert und der Rückstand aus einem Alkohol-Essigester-Gemisch krystallisiert. Das 2,α-Chloräthyl-imidazolin-hydrochlorid schied sich hieraus in langen, farblosen Stäbchen vom Smp. 213—214° ab.

0,2210; 0,1880 g Subst. verbrauchten 13,2; 11,2 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>Cl, HCl Ber. Cl' 20,98 Gef. Cl' 21,18; 21,13%

Freie Base. 1 g 2,α-Chloräthyl-imidazolin-hydrochlorid (XIIa) wurde in 1 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und die Lösung nach guter Kühlung in einem Eis-Kochsalz-Gemisch mit 1 cm<sup>3</sup> 10-n. NaOH versetzt. Das sich ausscheidende Öl nahm man sofort in Isopropyläther auf und trocknete die Lösung im Eisschrank über festem KOH. Ein Teil der Base schied sich hierbei krystallin aus, ging jedoch sofort beim Erwärmen auf Zimmertemperatur wieder in Lösung, so dass die Lösung leicht vom Trocknungsmittel getrennt werden konnte. Beim Wiederabkühlen des Filtrates auf -10° schied sich das 2,α-Chloräthyl-imidazolin krystallin ab. Es wurde ½ Stunde im Hochvakuum (0,01 mm) bei 20° getrocknet; Smp. 64—65°.

0,1262 g Subst. verbrauchten 9,55 cm<sup>3</sup> 0,1-n. HCl (Methylrot)  
 C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>Cl Ber. Äquiv.-Gew. 132,57 Gef. Äquiv.-Gew. 132,2

2,α-Chlorisopropyl-imidazolin (XIIc).

9,9 g 2,α-Oxyisopropyl-imidazolin-hydrochlorid (IVc) wurden mit 20 cm<sup>3</sup> Thionylchlorid ½ Stunde zum Sieden erhitzt. Nach Abdestillieren des Thionylchlorid-Überschusses im Vakuum nahm man den krystallinen Rückstand in wenig absolutem Alkohol



auf und versetzte die alkoholische Lösung bis zur beginnenden Trübung mit Essigester. Nach mehrstündigem Stehen hatte sich das 2,α-Chlorisopropyl-imidazolin-hydrochlorid in feinen Kryställchen vom Smp. 198° ausgeschieden.

0,2224 g Subst. verbrauchen 12,1 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>

C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>Cl, HCl Ber. Cl' 19,37 Gef. Cl' 19,30%

Freie Base: Das 2,α-Chlorisopropyl-imidazolin isolierte man aus dessen Hydrochlorid auf die gleiche Weise, wie sie für 2,α-Chloräthyl-imidazolin beschrieben ist.

Aus Isopropyläther krystallisiert zeigte die Base den Smp. 122—124°.

0,1856 g Subst. verbrauchten 12,6 cm<sup>3</sup> 0,1-n. HCl (Methylrot)

C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>Cl Ber. Äquiv.-Gew. 146,6 Gef. Äquiv.-Gew. 147,3

#### 1-Methyl-2-chlormethyl-imidazolin (XIII).

Zu einem Gemisch aus 7,2 g N-Methyläthylendiamin und 15,7 g Chloracet-imidoäthyläther-hydrochlorid (XIa) in 50 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol gab man nach einstündigem Stehen bei 0° eine Lösung von 3,6 g Chlorwasserstoff in 50 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol. Hierauf erwärmte man innert einer Stunde auf 40° und hielt diese Temperatur 2 Stunden bei. Dann wurde die alkoholische Lösung filtriert und das klare Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft. Das 1-Methyl-2-chlormethyl-imidazolin-hydrochlorid wurde so als zähflüssiges Öl erhalten, das nach Kühlung mit Eiswasser zu einer krystallinen Masse erstarrte. Es war sehr hygroskopisch, so dass der Schmelzpunkt nicht mit Sicherheit bestimmt werden konnte. In Aceton war es sehr wenig, in Alkohol sehr leicht löslich.

0,3631 g Subst. verbrauchten 21,0 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>

C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>Cl, HCl Ber. Cl' 20,98 Gef. Cl' 20,51%

Freie Base. Aus der wässrigen Lösung des Hydrochlorids mit Alkali in ölicher Form abgeschieden und in Äther aufgenommen zersetzte sich die Base beim Eindampfen der Lösung bei niedriger Temperatur unter Bildung eines braunen Harzes.

#### Chlormethyl-(β-phenyläthyl)-formamidin (XIV).

31,6 g Chloracet-imidoäthyläther-hydrochlorid (XIa) wurden unter Kühlung mit Eis-Kochsalz in die Lösung von 24,2 g β-Phenyläthylamin in 120 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol eingetragen. Die Lösung hielt man während 24 Stunden bei etwa 15° und fällte hierauf das Chlormethyl-(β-phenyläthyl)-formamidin-hydrochlorid mit Hilfe von Aceton oder Äther. Aus der dreifachen Menge Alkohol umkrystallisiert; farblose Krystalle vom Smp. 150—151°.

3,953 mg Subst. gaben 7,49 mg CO<sub>2</sub> und 2,15 mg H<sub>2</sub>O

2,698 mg Subst. gaben 0,292 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 721 mm)

0,2085 g Subst. verbrauchten 8,95 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>

C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>Cl, HCl Ber. C 51,52 H 6,05 N 12,02 Cl' 15,21%

Gef. „ 51,70 „ 6,08 „ 11,88 „ 15,22%

Freie Base. Aus der Lösung von 3 g Hydrochlorid in 12 cm<sup>3</sup> Wasser fällte man durch konz. Pottaschelösung die Base als Öl aus, das alsbald krystallin erstarrte. Die Base wurde abgenutscht, mit wenig Wasser gewaschen, in Äther aufgenommen und nach Trocknung der Lösung mit Natriumsulfat und Verdampfen des Lösungsmittels bei niedriger Temperatur als farblose Krystallmasse erhalten. Aus Isopropyläther umkrystallisiert; Smp. 85—86°. Sie zersetzte sich, besonders an der Luft, innerhalb einiger Tage unter starker Verfärbung.

#### Chlormethyl-piperidino-formamidin (XV).

Nimmt man an Stelle des im vorangehenden Beispiel verwendeten γ-Phenyläthylamins 17,5 g Piperidin, so erhält man Chlormethyl-piperidino-formamidin-hydrochlorid, das nach dem Umkrystallisieren aus einem Alkohol-Aceton-Gemisch den Smp. 176° zeigte.

0,1819 g Subst. verbrauchten 9,3 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>

C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>Cl, HCl Ber. Cl' 17,99 Gef. Cl' 18,13%

$\gamma$ -Chlorbutyro-imidoäthyläther.

Eine Lösung, die 103 g  $\gamma$ -Chlorbutyronitril, 46 g Alkohol, 37 g HCl und 300 cm<sup>3</sup> Äther enthielt, liess man 24 Stunden bei -10° stehen. Nach dieser Zeit schied sich 120 g des  $\gamma$ -Chlorbutyro-imidoäthyläther-hydrochlorids vom Smp. 100—102° krystallin ab.

0,2323 g Subst. verbrauchten 12,5 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>ONCl, HCl Ber. Cl' 19,06 Gef. Cl' 19,08%

2, $\gamma$ -Chlorpropyl-imidazolin (XVI).

Unter gutem Kühlen und Rühren gab man zu einer Lösung von 30 g Äthylendiamin in 300 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol 92,5 g  $\gamma$ -Chlorbutyro-imidoäthyläther-hydrochlorid. Nach 2 Stunden fügte man unter weiterer Kühlung 18 g HCl, gelöst in 180 cm<sup>3</sup> Alkohol, hinzu. Dann liess man einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen, verdünnte das Reaktionsgemisch mit 500 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol und erhitzte es für 2 Stunden auf 50—60°. Die erkaltete, alkoholische Lösung wurde vom ausgeschiedenen Ammoniumchlorid abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Zur Abtrennung von noch vorhandenen NH<sub>4</sub>Cl nahm man den Rückstand in 500 cm<sup>3</sup> heissem Chloroform auf und dampfte das klare Filtrat unter vermindertem Druck auf die Hälfte ein. Zusatz von Äther liess das  $\gamma$ -Chlorpropyl-imidazolin-hydrochlorid auskrystallisieren. Nach nochmaliger Krystallisation aus einem Alkohol-Äther-Gemisch zeigte es den Smp. 146—148°.

4,917 mg Subst. gaben 7,08 mg CO<sub>2</sub> und 2,81 mg H<sub>2</sub>O  
 3,778 mg Subst. gaben 0,516 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (21°, 734 mm)  
 0,1756 g Subst. verbrauchten 9,5 cm<sup>3</sup> 0,1-n. AgNO<sub>3</sub>  
 C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>Cl, HCl Ber. C 39,38 H 6,61 N 15,31 Cl' 19,38%  
 Gef. „ 39,29 „ 6,40 „ 15,31 „ 19,18%

Die Mikroanalysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium unter der Leitung von Hrn. Dr. Gysel ausgeführt.

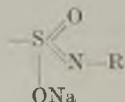
Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba*, Basel,  
 Pharmazeutische Abteilung.

210. Sulfathiazole soluble à réaction neutre

par J. Druey.

(21 X 44)

Il est connu que le sulfathiazole (Cibazol) forme des sels par son groupement sulfamidé —SO<sub>2</sub>NH—R. Les dérivés sodés des sulfamides, auxquels on attribue la formule



sont, en règle générale, facilement solubles dans l'eau. Leurs solutions présentent, cependant, une alcalinité plus ou moins élevée. L'acidité du groupement sulfamidé — et par là l'alcalinité des solutions sodiques — dépend beaucoup du substituant R. Dans le cas du Cibazol, R est constitué par le noyau thiazolique qui a l'avantage

d'augmenter l'acidité par rapport à d'autres sulfanilamides connues au moment de l'introduction du Cibazol (avril 1940) par *Hartmann*. Le  $p_H$  des solutions de son sel de sodium est de 9,5 alors que la sulfapyridine, issue de la même série de recherches de *Hartmann* et *Merz* sur les sulfanilamides hétérocycliques durant l'hiver 1937/38<sup>1)</sup>, donne un  $p_H$  de 10.5. Le très large usage qu'on fait, dans le monde entier, des ampoules de sulfathiazole sodique en marque bien les avantages.

Nous reproduisons ici quelques résultats d'une étude que nous avons entreprise afin de trouver une forme de sulfathiazole soluble dans l'eau à réaction entièrement neutre.

Quelques premiers essais nous ont donné la conviction que les agents solubilisants n'auraient aucun succès. Il s'agissait alors de trouver un groupe pouvant former des sels neutres dont l'introduction dans la molécule du Cibazol donnerait des dérivés solubles étant rapidement scindés dans l'organisme, en régénérant le Cibazol lui-même. Un problème semblable s'était posé pour le Salvarsan qui contient, comme les sulfanilamides, le groupe aminé aromatique. On se souvient qu'on a préparé des dérivés solubles du Salvarsan par introduction de groupements tels que  $-\text{CH}_2 \cdot \text{SO}_2\text{Na}$ ,  $-\text{CH}_2 \cdot \text{SO}_3\text{Na}$ ,  $-\text{CH}_2 \cdot \text{COONa}$  ou de l'acide phosphorique. Il est donc tout naturel que ces mêmes principes aient été appliqués à la sulfanilamide et à ses dérivés dès 1935, année de la découverte sensationnelle de *Tréjouel*, *Nitti* et *Bovet*. Dans le cas du Cibazol, nos résultats ne nous apparurent pas satisfaisants, malgré de nombreuses recherches sur les dérivés à chaîne acide  $\alpha$ -sulfonique, préparés par l'action d'aldéhydes et de l'hydrogénosulfite de sodium. Nous avons constaté que l'organisme n'était pas capable de scinder ces produits et de régénérer le Cibazol d'une manière suffisamment rapide.

D'autres restes introduits dans le groupe aminé ont eu plus de chance. Les bases de *Schiff*, qui sont présumées se former par l'action d'aldéhydes sur les amines aromatiques, additionnent facilement les corps à groupement mercaptique ( $\text{R}-\text{SH}$ ). Les dérivés qui en résultent, de la formule générale

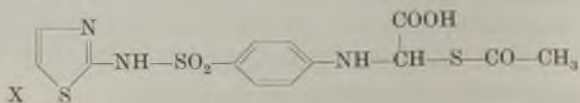
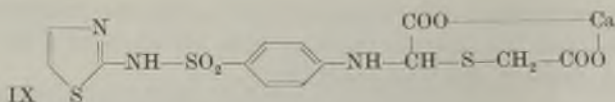
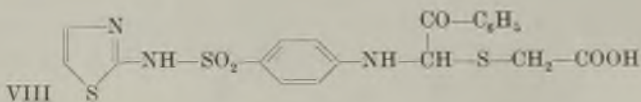
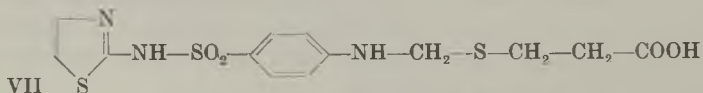
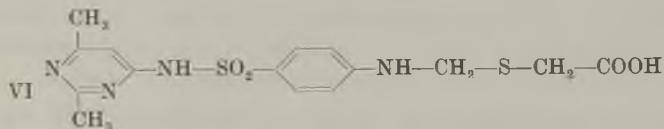
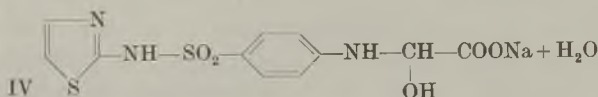
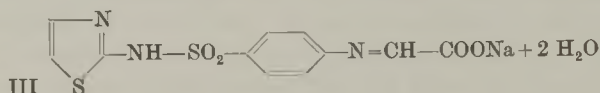
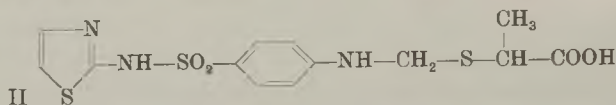
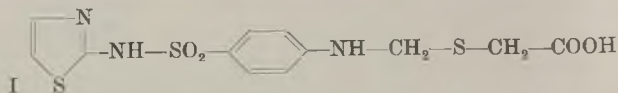


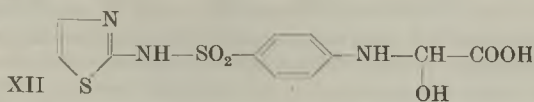
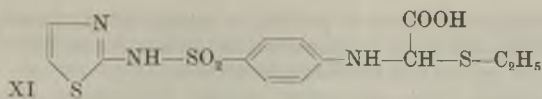
dans le cas du sulfathiazole, donneront des solutions neutres lorsque soit l'aldéhyde, soit le composé mercaptique est porteur d'un groupement pouvant former des sels solubles.

Ces dérivés sont très instables dans l'organisme; par suite d'une scission rapide ils possèdent le pouvoir antibactérien total du Cibazol appliqué. Ceci est d'autant plus remarquable que les bases de *Schiff*

<sup>1)</sup> Brevets Suisses 210425 et 210776 du 31 janvier 1938.

elles-mêmes, avec le formol ou l'aldéhyde acétique par exemple, ne sont presque plus actives en raison du blocage intense, dans ce cas, de la fonction aminée. Nous avons eu des résultats particulièrement intéressants dans le cas de l'aldéhyde formique et de l'acide thio-glycolique ou thiolactique. Les corps qui se forment par condensation avec le Cibazol (I et II) sont des produits bien cristallisés, précipitant à l'état pur et avec un rendement presque quantitatif.





En travaillant avec l'acide glyoxylique comme dérivé aldéhydique, qui donne des produits bien cristallisés et solubles dans le carbonate de sodium lorsqu'on emploie des mercaptans, l'acide thioacétique et d'autres composés thioliques, nous avons constaté que le glyoxylate de sodium à lui tout seul pouvait fournir un dérivé avec le Cibazol ayant d'excellentes propriétés. Il se présente sous la forme d'une poudre blanche, facilement soluble dans l'eau, à réaction neutre. Appliqué à l'organisme par voie parentérale, il a la même activité sur les streptococques et les pneumococques qu'une quantité équivalente de Cibazol administré per os ou par voie intraveineuse sous forme de son sel de sodium. L'excrétion par l'urine, à l'état de Cibazol libre, a lieu d'une façon tout aussi rapide. La méthode de préparation est très simple. La pureté du produit obtenu directement, sans opérations de purification, est remarquable. D'après l'analyse il répond à la formule III ou plutôt IV, puisque une molécule d'eau seulement se perd par chauffage à 100° dans le vide.

Le voisinage du groupe carboxylique diminue donc fortement la stabilité de la fonction azométhine, du fait que la combinaison du Cibazol avec le formol n'est, comme nous l'avons déjà dit, que peu attaquée par l'organisme.

## Partie expérimentale.

### I. Dérivés avec des composés mercaptiques.

L'alcool et l'acide acétique crist. sont les dissolvants qui s'imposent pour la réaction du Cibazol avec les aldéhydes et les composés mercaptiques. Il suffit, en général, de mélanger les trois composants en portions équimoléculaires (ou en présence d'un faible excès du composé mercaptique) et de chauffer pendant peu de temps. Le Cibazol entre en solution et le produit de condensation cristallise, dans la plupart des cas, par refroidissement. Parfois, il est avantageux de faire réagir tout d'abord l'aldéhyde avec le composé mercaptique et d'isoler le produit d'addition formé; la condensation avec le Cibazol se fait ensuite normalement dans l'alcool ou dans l'acide acétique crist.

#### *Cibazol, aldéhyde formique et acide thioglycolique.*

400 gr. de Cibazol, en suspension dans 2 litres d'alcool à 95%, ont été additionnés, sous agitation, de 150 cm<sup>3</sup> d'aldéhyde formique à 30% et de 120 cm<sup>3</sup> d'acide thioglycolique. La température s'est élevée spontanément à 30—35°. On a chauffé à 50° en continuant à agiter. Au bout de 10 à 15 minutes tout le Cibazol était dissous. A ce moment on a refroidi par un bain de glace tout en continuant l'agitation. La cristallisation ne tardait pas à commencer. On a essoré au bout de quelques heures, lavé avec de l'alcool refroidi

et séché à 50°. Nous avons tamisé le produit et obtenu 535 gr. de poudre blanche du p. de f. 159—160° (formule I). Ce composé est difficilement recristallisable mais l'analyse témoigne du degré de pureté très élevé du produit «brut».

$C_{12}H_{13}O_4N_3S_3$	Calculé C 40,05	H 3,62	N 11,65	S 26,75%
	Trouvé ,, 40,27	,, 3,88	,, 11,80	,, 26,23%

Dans une autre expérience, nous sommes partis d'une solution aqueuse concentrée de 13 gr. d'acide méthylène-bis-thioglycolique  $HOOC-CH_2-S-CH_2-S-CH_2-COOH$ , obtenu à partir de l'acide thioglycolique et de l'aldéhyde formique selon *Holmberg et Mattisson*<sup>1)</sup>. Chauffé à 60° avec 15 gr. de Cibazol en présence de 70 cm<sup>3</sup> d'alcool, il a donné une solution qui a déposé le même produit de condensation du p. de f. 159 à 160° par refroidissement.

*Préparation du sel de calcium.* 360 gr. de l'acide du p. de f. 159—160°, dans 3 litres d'alcool méthylique, ont été dissous par addition de 90 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque concentrée (13 n.). La solution a été refroidie à 5°, puis on a ajouté 500 cm<sup>3</sup> d'une solution molaire de chlorure de calcium dans l'alcool méthylique, en agitant très énergiquement. Le sel de calcium s'est séparé à l'état très finement divisé; il a été essoré, lavé à l'alcool méthylique et à l'éther, puis séché à 50°. Rendement 320 gr. C'est une poudre blanche très facilement soluble dans l'eau, à réaction neutre.

$C_{24}H_{24}O_8N_6S_6Ca + H_2O$	Calculé C 37,2	H 3,37	N 10,8	Ca 5,18%
	Trouvé ,, 36,9	,, 3,45	,, 10,85	,, 5,24%

D'autres sulfanilamides, hétérocycliques ou autres, ou la sulfanilamide elle-même, réagissent de façon analogue avec l'aldéhyde formique et l'acide thioglycolique. Le pouvoir de cristallisation n'est, cependant, pas toujours aussi marqué que dans le cas du Cibazol qui, de ce fait, se prête tout particulièrement à la réaction. Le dérivé correspondant de la sulfapyridine (V) fond à 165—166°. Avec la 6-sulfanilamido-2,4-diméthylpyrimidine (*Elkosine «Ciba»*) il est avantageux d'opérer dans l'acide acétique cristallisable comme dissolvant. Le produit de condensation de la formule VI fond à 175—177°.

*Cibazol, aldéhyde formique et acide  $\alpha$ -thiolactique.*

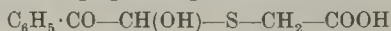
On a fait réagir 42 gr. de Cibazol, 13 cm<sup>3</sup> d'aldéhyde formique à 40% et 17 cm<sup>3</sup> d'acide  $\alpha$ -thiolactique dans 250 cm<sup>3</sup> d'acide acétique cristallisable. A une température de 40 à 45°, le Cibazol a passé en solution au bout de quelques minutes. On a laissé refroidir en agitant. Après 6 heures, le produit de condensation s'est séparé presque quantitativement. Il a été essoré et lavé à l'éther. Nous avons obtenu 61 gr. d'une poudre cristalline fondant à 96—97° (formule II).

*Cibazol, aldéhyde formique et acide  $\beta$ -mercapto-propionique.*

Le produit de condensation, de la formule VII, cristallise également très bien. Nous sommes partis de 25 gr. de Cibazol, 7,5 cm<sup>3</sup> d'aldéhyde formique à 40% et de 11,3 cm<sup>3</sup> d'acide  $\beta$ -mercapto-propionique, dans 125 cm<sup>3</sup> d'alcool à 95%, et nous avons obtenu 32 gr. d'un produit blanc du p. de f. 165—166°.

*Cibazol, phénylglyoxal et acide thioglycolique.*

Nous avons tout d'abord préparé le produit d'addition



qui fond à 109—110°<sup>2)</sup>. 23 gr. de ce composé et 25 gr. de Cibazol ont été chauffés à 80° dans 150 cm<sup>3</sup> d'acide acétique cristallisable. Lorsque le tout était dissous, nous avons versé la solution dans de l'eau glacée. Le précipité a été essoré, lavé à l'eau et séché dans le dessiccateur sur l'acide sulfurique. Il est facilement soluble dans l'hydrogénocarbonate de sodium et dans l'alcool méthylique. La solution méthanolique dépose au bout de

<sup>1)</sup> A. 353, 124 (1907).

<sup>2)</sup> M. P. Schubert, J. Biol. Chem. 111, 671 (1935).

quelque temps, plus rapidement lorsqu'on frotte avec un bâton de verre, un autre produit difficilement soluble dans le méthanol, facilement soluble dans l'hydrogénocarbonate de sodium. Son analyse répond au corps cherché (VIII).



Il n'a pas de point de fusion net; chauffé rapidement, il fond à environ 100°, autrement, il devient brun et se décompose à partir de 120°. Introduit dans un bain à température donnée, il fond à >105°. Le composé soluble dans le méthanol est probablement un hydrate.



*Cibazol, acides glyoxylique et thioglycolique.*

25 gr. d'acide glyoxylique, titrant 73%, ont été additionnés, peu à peu, de 19 cm<sup>3</sup> d'acide thioglycolique, en refroidissant. Le sirop obtenu n'a pas cristallisé. 47 gr. en ont été dissous dans 450 cm<sup>3</sup> d'acide acétique crist. A la solution chaude, nous avons ajouté 57 gr. de Cibazol qui se sont dissous rapidement pour faire place au produit de condensation difficilement soluble, même à chaud. Après refroidissement, on a obtenu 82 gr. d'une poudre un peu jaunâtre du p. de f. 191° (décomposition). Pour préparer le sel de calcium, 7 gr. du diacide ont été dissous dans 90 cm<sup>3</sup> d'alcool méthylique et 3 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque conc. Par adjonction de 20 cm<sup>3</sup> d'une solution molaire de chlorure de calcium dans l'alcool méthylique il y a eu prise en masse. Pour l'analyse on a séché à 100° dans le vide; le produit retient opiniâtement du méthanol (formule IX).



*Cibazol, acide glyoxylique et acide thioacétique (et mercaptan).*

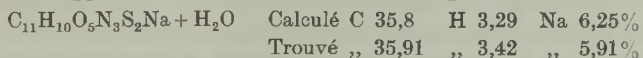
Un mélange de 3,6 gr. d'acide glyoxylique à 73%, 2,7 gr. d'acide thioacétique, 8 gr. de Cibazol dans 50 cm<sup>3</sup> d'acide acétique crist. a été chauffé jusqu'à dissolution complète (quelques minutes). Le produit de condensation X a cristallisé par refroidissement. Rendement 13 gr., p. de f. 144°.

Lorsqu'on a remplacé l'acide thioacétique par 2,7 cm<sup>3</sup> de mercaptan, la réaction a eu lieu de la même façon (formule XI). P. de f. 180° (décomposition, la substance brunit dès 120°). Rendement 11,5 gr.

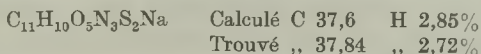
Les deux composés se dissolvent facilement dans une solution d'hydrogénocarbonate de sodium.

**II. Dérivé du Cibazol avec l'acide glyoxylique.**

170 gr. de glyoxylate de sodium, contenant 94% de (HO)<sub>2</sub>CH—COONa, ont été dissous dans 800 cm<sup>3</sup> d'eau de 70° et additionnés de 250 cm<sup>3</sup> d'alcool à 95%. On a introduit ensuite 390 gr. de Cibazol finement pulvérisé, en agitant. La température a été maintenue à 60° jusqu'à dissolution complète (environ 5 minutes). Le produit de condensation qui s'est formé a été précipité par 1,8 litres d'alcool à 95%, introduits en quelques minutes avec forte agitation. Après refroidissement, le précipité blanc a été essoré et lavé à l'alcool et à l'éther. Nous avons obtenu 480 gr. d'une poudre blanche facilement soluble dans l'eau (jusqu'à une teneur de 20% calculée en Cibazol libre, à température ordinaire). Le p<sub>H</sub> de la solution est d'environ 6. Les résultats d'analyse d'échantillons séchés à l'air se rapprochent tous des valeurs calculées pour la formule IV.



Séchée dans le vide à 100°, sur l'anhydride phosphorique, la substance perd une molécule d'eau.



A l'air, elle fixe de l'humidité pour regagner son poids initial avec le temps.

L'acide libre correspondant a été préparé par condensation du Cibazol avec l'acide glyoxylique. 6,2 gr. de ce dernier (titrant 68%) et 7,2 gr. de Cibazol se sont dissous, à chaud, dans 60 cm<sup>3</sup> d'alcool. Après refroidissement, on a ajouté de l'éther; le produit de réaction a précipité sous forme d'une poudre jaunâtre, facilement soluble dans une solution d'hydrogencarbonate de sodium.

$C_{11}H_{11}O_5N_3S$	Calculé C 40,2	H 3,35%
	Trouvé „ 39,98	„ 3,65%

Nous lui attribuons la formule XII.

Cette substance n'a pas de point de fusion net. Elle brunit à partir de 170° et se décompose au-dessus de 210°.

Les analyses ont été effectuées sous la direction de M. H. Gysel.

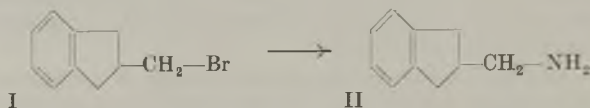
*Ciba*, Laboratoires de recherches.

## 211. N-Substituierte 2-(Amino-methyl)-indene und -indane

von K. Hoffmann und H. Schellenberg.

(24. X. 44.)

J. Kenner<sup>1)</sup> hat erstmals aus 2-(Brom-methyl)-indan (I) durch Kondensation mit Phtalimidkalium in schlechter Ausbeute 2-(Amino-methyl)-indan (II) gewonnen:



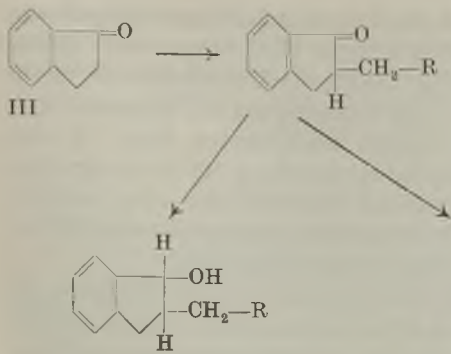
Wir stellten uns die Aufgabe, 2-(Amino-methyl)-derivate der Indan- und Inden-reihe näher zu untersuchen und einfache Wege zu ihrer Gewinnung auszuarbeiten.

Da die Darstellung des 2-(Brom-methyl)-indans umständlich ist<sup>1)</sup>, wählten wir als Ausgangsstoff das relativ leicht zugängliche Indan-1-on (III). Dieses ist von R. H. Harradence und F. Lions<sup>2)</sup> bereits mit Formaldehyd und Morpholin der Mannich'schen Reaktion unter Bildung des 2-(Morpholino-methyl)-indan-1-ons (IVc) unterworfen worden. In ganz ähnlicher Weise stellten wir mit Formaldehyd und Piperidin, 4-Äthylpiperidin, Dimethylamin, Diäthylamin, Dipropylamin und Benzylmethylamin auch die Aminoketone IVa, IVb und IVd bis IVg dar. Wir können bestätigen, dass diese nur in Form ihrer Salze beständig sind, während sich die freien Basen bereits bei Zimmertemperatur nach einiger Zeit zersetzen. Aus IVg spalteten wir die Benzylgruppe katalytisch in Gegenwart von Palladium ab und gewannen so das 2-(Methylamino-methyl)-indan-1-on (IVh).

<sup>1)</sup> Soc. 105, 2685 (1914).

<sup>2)</sup> J. Proc. Roy. Soc. New South Wales 72, 284 (1939) [C. 1939, II, 2537].

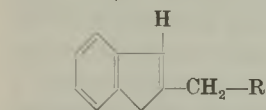




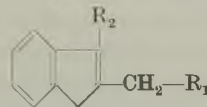
- IV a) R = Piperidino
- b) R = 4'-Äthylpiperidino
- c) R = Morpholino
- d) R = Dimethylamino
- e) R = Diäthylamino
- f) R = Dipropylamino
- g) R = Benzylmethylamino
- h) R = Methylamino

- V a) R = Piperidino
- b) R = 4'-Äthylpiperidino
- c) R = Morpholino
- d) R = Dimethylamino
- e) R = Diäthylamino
- f) R = Dipropylamino
- g) R = Benzylmethylamino

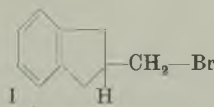
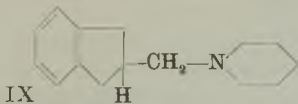
- VI a) R<sub>1</sub> = Piperidino, R<sub>2</sub> = Methyl
- b) R<sub>1</sub> = Piperidino, R<sub>2</sub> = Äthyl
- c) R<sub>1</sub> = Piperidino, R<sub>2</sub> = Phenyl



- VII a) R = Piperidino
- b) R = 4'-Äthylpiperidino
- c) R = Morpholino
- d) R = Dimethylamino
- e) R = Diäthylamino
- f) R = Dipropylamino
- g) R = Methylamino



- VIII a) R<sub>1</sub> = Piperidino, R<sub>2</sub> = Methyl
- b) R<sub>1</sub> = Piperidino, R<sub>2</sub> = Äthyl
- c) R<sub>1</sub> = Piperidino, R<sub>2</sub> = Phenyl



Die Aminoketone IVa bis IVg wurden in Form ihrer Salze mit Natriumamalgam in essigsaurer Lösung zu den entsprechenden Aminoalkoholen Va bis Vg reduziert. Letztere lassen cis,trans-Isomerie erwarten. In der Tat erhielten wir durch fraktioniertes Umkrystallisieren der rohen Hydrochloride des Piperidinalkohols Va zwei Verbindungen, die wir mit  $\alpha$  und  $\beta$  bezeichnen. Das Aminoketon IVa wurde auch mit Methyl-, Äthyl- und Phenyl-magnesiumbromid umgesetzt. Auf diese Weise erhielten wir die in 1-Stellung substituierten Amino-alkohole VIa bis VIc, die direkt weiter verarbeitet wurden.

Aus den Carbinolen V und VI wurden durch Wasserabspaltung die entsprechenden Inden-Derivate VII und VIII hergestellt. Diese Reaktion gelang leicht mittels konz. Halogenwasserstoffsäure allein oder in Gegenwart von Essigsäure. Zur Darstellung des Monomethylamin-Derivates VIIg gingen wir von der benzylierten Base Vg aus, entfernten zunächst durch katalytische Hydrierung die Benzylgruppe und spalteten hierauf aus dem erhaltenen Rohprodukt ohne weitere Reinigung Wasser ab. Aus dem 2-(Piperidino-methyl)-inden (VIIa) wurde in üblicher Weise das Chlormethylat dargestellt.

Zum Beweise der Konstitution der 2-(Amino-methyl)-indene der Formel VII reduzierten wir das 2-(Piperidinomethyl)-inden (VIIa) mit Wasserstoff in Gegenwart von Nickel als Katalysator zum 2-(Piperidino-methyl)-indan (IX). Es erwies sich als identisch mit der Verbindung, welche wir durch Umsetzung des 2-(Brom-methyl)-indans (I) mit Piperidin erhielten.

Die neuen Amino-methyl-derivate der Inden- bzw. Indan-reihe wurden in unserer biologischen Abteilung pharmakologisch geprüft. Hierüber soll noch ausführlicher an anderer Stelle berichtet werden. Hier sei lediglich hervorgehoben, dass die sauerstofffreien N-substituierten Verbindungen der Typen VII bis IX eine spezifische Wirksamkeit auf den Uterus besitzen, im Gegensatz zum unsubstituierten Amin II sowie zu den Aminoketonen IV und den Aminoalkoholen V und VI, die keine interessanten pharmakologischen Eigenschaften aufweisen. Ganz besonders günstig wirkt das 2-(Piperidino-methyl)-inden (VIIa), ruft es doch schon in der Verdünnung von  $10^{-8}$  bis  $10^{-7}$  ausgesprochene rhythmische Kontraktionen des Meerschweinchenuterus hervor, eine Wirkung, die mit derjenigen von Ergotamin durchaus zu vergleichen ist, wobei jedoch die neue Verbindung eine wesentlich geringere Giftigkeit zeigt.

## Experimenteller Teil.

### 1. Aminoketone (IV).

#### 2-(Piperidino-methyl)-indan-1-on (IVa).

5,3 g Indan-1-on, gelöst in 30 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol, wurden mit 5,3 g Paraformaldehyd und 4,8 g Piperidin-hydrochlorid unter Rühren am Rückfluss erhitzt. Nach einer halben Stunde bestand nur noch eine leichte Trübung von ungelöstem Paraformaldehyd, die durch Versetzen mit einigen Tropfen konz. Salzsäure zum Verschwinden gebracht wurde. Beim Erkalten fiel das Hydrochlorid des 2-(Piperidino-methyl)-indan-1-ons aus. Aus Alkohol-Essigester (1 : 4) umkrystallisiert schmilzt es bei 214° unter Zersetzung.

4,827; 4,957 mg Subst. gaben 11,99; 12,33 mg CO<sub>2</sub> und 3,33; 3,39 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>ONCl Ber. C 67,78 H 7,59%

Gef. „ 67,81; 67,95 „ 7,72; 7,66%

Die freie Base zersetzt sich teilweise beim Destillieren.

#### 2-(4'-Äthylpiperidino-methyl)-indan-1-on (IVb).

13,2 g Indan-1-on, 3,3 g Paraformaldehyd und 15 g 4-Äthylpiperidin-hydrochlorid vom Smp. 161—162° wurden in 75 cm<sup>3</sup> Dioxan bis zur vollständigen Lösung zum Sieden

erhitzt. Nach dem Abkühlen schied sich das Hydrochlorid des 2-(4'-Äthylpiperidino-methyl)-indan-1-ons in zu Drusen vereinigten Krystallen aus, die beim Umkrystallisieren aus Alkohol und Essigester bei 140–141° schmolzen.

3,894 mg Subst. gaben 9,89 mg CO<sub>2</sub> und 2,82 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> ONCl	Ber. C 69,50	H 8,23%
	Gef. „ 69,31	„ 8,10%

2-(Morpholino-methyl)-indan-1-on (IVc).

5,3 g Indan-1-on, 1,32 g Paraformaldehyd und 4,93 g Morpholin-hydrochlorid wurden in 30 cm<sup>3</sup> Dioxan unter Rühren langsam erwärmt. Es setzte bald lebhaftere Reaktion ein, die ohne weitere Wärmezufuhr sich selbst überlassen wurde. Das homogene Reaktionsgemisch war nach kurzer Zeit von einer voluminösen Krystallmasse durchsetzt. Nach dem Erkalten wurde abgenutscht und aus 98-proz. Alkohol umkrystallisiert. Wir erhielten 10 g Hydrochlorid des 2-(Morpholino-methyl)-indan-1-ons vom Smp. 162°<sup>1)</sup>.

2-(Dimethylamino-methyl)-indan-1-on (IVd).

5,3 g Indan-1-on, gelöst in 30 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol, wurden mit 3,3 g Paraformaldehyd und 4,8 g Dimethylamin-hydrochlorid  $\frac{1}{4}$  Stunde am Rückflusskühler erhitzt, der überschüssige Paraformaldehyd wurde mit einigen Tropfen Salzsäure in Lösung gebracht und das entstandene homogene Reaktionsgemisch über Nacht stehen gelassen. Die abgeschiedenen Krystalle des 2-(Dimethylamino-methyl)-indan-1-on-hydrochlorids liessen sich trotz mehrfacher Umkrystallisieren aus Alkohol nicht analysenrein erhalten. Sie zersetzen sich bei etwa 138°.

2-(Diäthylamino-methyl)-indan-1-on (IVe).

26,4 g Indan-1-on, 15 g Paraformaldehyd und 26,2 g Diäthylamin-hydrochlorid in 60 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol wurden 10 Minuten am Rückflusskühler unter Rühren erhitzt; der überschüssige Paraformaldehyd wurde mit ca. 1 $\frac{1}{2}$  cm<sup>3</sup> konzentrierter Salzsäure in Lösung gebracht. Beim Abkühlen entstanden zwei Schichten. Die untere Schicht war nach zwei Tagen mit Krystallen des 2-(Diäthylamino-methyl)-indan-1-on-hydrochlorids durchsetzt die sich nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol und Essigester bei 115° zu zersetzen beginnen.

4,948 mg Subst. gaben 11,99 mg CO<sub>2</sub> und 3,44 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> ONCl	Ber. C 66,28	H 7,94%
	Gef. „ 66,15	„ 7,77%

2-(Dipropylamino-methyl)-indan-1-on (IVf).

26,4 g Indan-1-on, gelöst in 60 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol, wurden mit 6 g Paraformaldehyd und 24,8 g Dipropylamin-hydrochlorid am Rückflusskühler erhitzt. Nachdem eine homogene Lösung entstanden war, wurden weitere 6 g Paraformaldehyd zugegeben, die nach  $\frac{1}{2}$  Stunde ebenfalls in Lösung gingen. Nun wurde abermals mit 6 g Paraformaldehyd versetzt und der nach 1 $\frac{1}{2}$  Stunden Reaktionsdauer noch ungelöste Paraformaldehyd mit konz. Salzsäure zersetzt. Die abgekühlte Lösung wurde sodann in die 5-fache Menge Äther gegossen, wobei zwei Schichten entstanden. Aus der unteren, mit Krystallen durchsetzten Schicht konnte das Hydrochlorid des 2-(Dipropylamino-methyl)-indan-1-ons nicht rein erhalten werden. Das mit Dipropylamin-hydrochlorid verunreinigte Produkt ist wasserlöslich. Die wässrige Lösung gibt mit Sodalösung eine zunächst ölige, langsam fest werdende Fällung.

2-(Benzylmethylamino-methyl)-indan-1-on (IVg).

5,3 g Indan-1-on, 1,32 g Paraformaldehyd und 8 g Benzylmethylamin-hydrobromid wurden in 30 g Dioxan kurz aufgeköcht. Aus der homogenen Reaktionslösung schied

<sup>1)</sup> In Übereinstimmung mit *R. H. Harradence* und *F. Lions*, loc. cit.

sich beim Erkalten das Hydrobromid des 2-(Benzylmethylamino-methyl)-indan-1-ons aus, das nach Umkrystallisieren aus Methylalkohol den konstanten Smp. 153—154° zeigt.

4,730 mg Subst. gaben 10,81 mg CO<sub>2</sub> und 2,43 H<sub>2</sub>O

C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> ONBr	Ber. C 62,43	H 5,80%
Gef. „	62,36	„ 5,75%

### 2-(Methylamino-methyl)-indan-1-on (IVh).

3,46 g der oben beschriebenen Verbindung IVg wurden in 150 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol suspendiert und bei 40° in Gegenwart von 0,1 g Palladiummohr hydriert. Nach Aufnahme der für 1 Mol berechneten Menge Wasserstoff war vollständige Lösung eingetreten. Hierauf wurde vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat eingedampft und der Rückstand aus Alkohol und Essigester umkrystallisiert. Das Hydrobromid des 2-(Methylamino-methyl)-indan-1-ons schmolz rein bei 158—159°.

4,469 mg Subst. gaben 8,46 mg CO<sub>2</sub> und 2,18 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> ONBr	Ber. C 51,55	H 5,51%
Gef. „	51,65	„ 5,46%

## 2. Aminoalkohole (V) und Indenderivate (VII).

### 2-(Piperidino-methyl)-indan-1 $\alpha$ - und -1 $\beta$ -ole (Va).

53,2 g Hydrochlorid des 2-(Piperidino-methyl)-indan-1-ons vom Zersetzungspunkt 214° wurden in 900 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und in die eisgekühlte Lösung unter Rühren 600 g 5-proz. Natriumamalgam allmählich eingetragen. Durch gleichzeitiges Zutropfen von 150 cm<sup>3</sup> 50-proz. Essigsäure sorgte man für fortwährende schwach saure Reaktion. Hierauf wurde abfiltriert, das Filtrat mit Sodalösung alkalisiert, die ausgefallene ölige Base in Äther aufgenommen, die ätherische Lösung über Pottasche getrocknet und eingedampft. Der ölige Rückstand wurde in der 10-fachen Menge Essigester gelöst und diese Lösung mit der berechneten Menge in Essigester gelöster Chlorwasserstoffsäure neutralisiert. Die ausgefällte Substanz krystallisierte man mehrmals aus Alkohol-Essigester (1 : 2) um, wobei eine einheitliche bei 206,5—207° schmelzende Verbindung, das Hydrochlorid des 2-(Piperidino-methyl)-indan-1 $\alpha$ -ols, erhalten werden konnte.

3,864; 4,837 mg Subst. gaben 9,53; 11,93 mg CO<sub>2</sub> und 2,76; 3,46 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> ONCl	Ber. C 67,22	H 8,28%
Gef. „	67,30; 67,32	„ 7,99; 8,00%

Aus den Mutterlaugen liess sich die isomere  $\beta$ -Verbindung durch Umwandlung des Hydrochlorids in die freie Base und Destillation des erhaltenen Öles rein erhalten. Sdp.<sub>0.1 mm</sub> 128—129°. Das aus der gereinigten Base erhaltene Hydrochlorid zeigt den Smp. 169—170°.

4,834; 4,185 mg Subst. gaben 11,91; 10,32 mg CO<sub>2</sub> und 3,61; 3,11 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> ONCl	Ber. C 67,22	H 8,28%
Gef. „	67,23; 67,28	„ 8,33; 8,30%

### 2-(Piperidino-methyl)-inden (VIIa).

a) Aus der  $\alpha$ -Verbindung (Va). 1 g Hydrochlorid des 2-(Piperidino-methyl)-indan-1 $\alpha$ -ols vom Smp. 206,5—207° wurde mit 10 cm<sup>3</sup> einer Mischung von Eisessig und konz. Salzsäure in Verhältnis von 4 : 1 15 Minuten am Rückfluss gekocht. Die Reaktionslösung wurde eingedampft und der Rückstand im Hochvakuum scharf getrocknet. Das so erhaltene Hydrochlorid des 2-(Piperidino-methyl)-indens schmilzt bereits nach einmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol-Essigester (1 : 3) konstant bei 235—237°.

5,039 mg Subst. gaben 13,24 mg CO<sub>2</sub> und 3,63 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> NCl	Ber. C 71,56	H 8,01%
Gef. „	71,59	„ 8,06%

Die in Freiheit gesetzte Base vom Sdp.<sub>0,1 mm</sub> 139—141° bildete eine krystallinische Masse vom Smp. 36—37°, die in allen Lösungsmitteln leicht löslich ist.

b) Aus der  $\beta$ -Verbindung (Va). 1 g Hydrochlorid des 2-(Piperidino-methyl)-indan-1 $\beta$ -ols, Smp. 169—170°, wurde mit 2 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure kurze Zeit gekocht und die Reaktionslösung im Vakuum zur Trockne eingedampft. Die erhaltenen Krystalle schmelzen nach einmaligem Umkrystallisieren bei 235—237° und geben mit dem unter a) beschriebenen 2-(Piperidino-methyl)-inden-hydrochlorid keine Schmelzpunktserniedrigung.

Chlormethylat: 10 g Hydrochlorid des 2-(Piperidino-methyl)-indens vom Smp. 235—237° wurden mit 10 g Methyljodid in 100 cm<sup>3</sup> Aceton einige Minuten stehen gelassen, wobei spontane Krystallisation unter Selbsterwärmung eintrat. Die abgenutzten Krystalle wurden in 200 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und die Lösung mit aus 20 g Silbernitrat frisch gefälltem Silberchlorid einige Stunden geschüttelt. Sodann wurde abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Das erhaltene Chlormethylat des 2-(Piperidino-methyl)-indens schmilzt umkrystallisiert bei 210—212°.

3,994 mg Subst. gaben 10,63 mg CO<sub>2</sub> und 2,99 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> NCl	Ber. C 72,82	H 8,38%
	Gef. „ 72,63	„ 8,40%

#### 2-(4'-Äthylpiperidino-methyl)-inden (VIIb).

20 g 2-(4'-Äthylpiperidino-methyl)-indan-1-on-hydrochlorid, in 450 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, wurden mit 200 g Natriumamalgam unter gleichzeitigem Zutropfen von 75 cm<sup>3</sup> 50-proz. Essigsäure reduziert. Das erhaltene Aminoalkohol-Gemisch führte nach der Wasserabspaltung zum 2-(4'-Äthylpiperidino-methyl)-inden vom Sdp.<sub>0,05 mm</sub> 128° und Smp. 48—50°. Das Hydrochlorid krystallisiert aus Alkohol und Essigester in Blättchen vom Smp. 215—217°.

3,418 mg Subst. gaben 9,20 mg CO<sub>2</sub> und 2,65 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> NCl	Ber. C 73,47	H 8,72%
	Gef. „ 73,44	„ 8,67%

#### 2-(Morpholino-methyl)-inden (VIIc).

10 g 2-(Morpholino-methyl)-indan-1-on-hydrochlorid wurden, in 270 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, mit 300 g 4-proz. Natriumamalgam unter gleichzeitigem Zutropfen von 45 cm<sup>3</sup> 50-proz. Essigsäure reduziert. Die Aufarbeitung ergab ein Gemisch der zu erwartenden stereoisomeren 2-(Morpholino-methyl)-indan-1-ole in Form eines dickflüssigen Öles vom Sdp.<sub>0,35 mm</sub> 150—160°, das unmittelbar der Wasserabspaltung unterworfen wurde. Hierzu erhitze man das destillierte Gemisch in Eisessig und konz. Salzsäure im Verhältnis von 4 : 1  $\frac{1}{4}$  Stunde lang am Rückfluss, dampfte die Reaktionslösung zur Trockne ein, setzte die Base mit verdünnter Lauge in Freiheit und destillierte sie. Das 2-(Morpholino-methyl)-inden siedete bei 115—120° unter 0,2 mm Druck und schmolz bei 57—59°. Das Hydrochlorid vom Smp. 234—235° liess sich aus Alkohol umkrystallisieren.

4,404 mg Subst. gaben 10,79 mg CO<sub>2</sub> und 2,92 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> ONCl	Ber. C 66,78	H 7,25%
	Gef. „ 66,86	„ 7,42%

#### 2-(Dimethylamino-methyl)-inden (VII d).

10 g 2-(Dimethylamino-methyl)-indan-1-on-hydrochlorid vom Zersetzungspunkt 138° wurden in üblicher Weise mit Natriumamalgam reduziert und die erhaltene ölige Base ohne weitere Reinigung drei Tage bei Zimmertemperatur in der dreifachen Menge 48-proz. Bromwasserstoffsäure gelöst stehen gelassen. Alsdann wurde die Base in Freiheit gesetzt. Das 2-(Dimethylamino-methyl)-inden vom Sdp.<sub>0,1 mm</sub> 100—105° lieferte ein Hydrochlorid vom Smp. 210—212°.

4,032 mg Subst. gaben 10,17 mg CO<sub>2</sub> und 2,77 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> NCl	Ber. C 68,72	H 7,69%
	Gef. „ 68,83	„ 7,69%

2-(Diäthylamino-methyl)-inden (VIIe).

25 g 2-(Diäthylamino-methyl)-indan-1-on wurde wie oben mit Natriumamalgam reduziert und die erhaltene Base destilliert. Sdp. 0,07 mm 103—107°. Die Wasserabspaltung wurde mit Eisessig und konz. Salzsäure vorgenommen. Das erhaltene 2-(Diäthylamino-methyl)-inden siedete bei 86—88° unter 0,08 mm Druck.

Das Hydrochlorid vom Smp. 183—184° stellt, aus Alkohol und Essigester umkrystallisiert, grobkörnige Krystalle dar.

4,640 mg Subst. gaben 12,03 mg CO<sub>2</sub> und 3,46 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{14}H_{22}NCl$  Ber. C 70,69 H 8,50%  
 Gef. „ 70,74 „ 8,35%

2-(Dipropylamino-methyl)-inden (VIIIf).

Rohes 2-(Dipropylamino-methyl)-indan-1-on ergab bei der Reduktion mit Natriumamalgam eine bei 115—117° unter 0,08 mm Druck siedende farblose Base.

3,908; 3,655 mg Subst. gaben 11,08; 10,31 mg CO<sub>2</sub> und 3,30; 3,21 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{16}H_{25}ON$  Ber. C 77,66 H 10,19%  
 Gef. „ 77,32; 76,96 „ 9,45; 9,82%

Die Wasserabspaltung mit konz. Salzsäure in Eisessig führte zum 2-(Dipropylamino-methyl)-inden vom Sdp. 0,35 mm 109—110°.

4,912 mg Subst. gaben 15,05 mg CO<sub>2</sub> und 4,36 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{16}H_{23}N$  Ber. C 83,77 H 10,13%  
 Gef. „ 83,60 „ 9,93%

Das Hydrochlorid schmolz, aus Alkohol und Essigester umkrystallisiert, bei 163—165°.

4,028 mg Subst. gaben 10,66 mg CO<sub>2</sub> und 3,22 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{16}H_{24}NCl$  Ber. C 72,30 H 9,10%  
 Gef. „ 72,22 „ 8,95%

2-(Benzylmethylamino-methyl)-indan-1-ole (Vg).

In eine eisgekühlte wässrige Lösung von 22,4 g Hydrobromid des 2-(Benzylmethylamino-methyl)-indan-1-ons vom Smp. 153—154° wurden allmählich 540 g 5-proz. Natriumamalgam unter Rühren eingetragen. Durch gleichzeitiges Zutropfen von 50-proz. Essigsäure hielt man die Reaktionslösung ständig schwach sauer. Hierauf wurde abfiltriert, aus dem sauren Filtrat die Base in Freiheit gesetzt und durch Destillation gereinigt. Die bei 160—170° unter 0,1 mm Druck übergehende Fraktion stellte ein Gemisch der stereoisomeren 2-(Benzylmethylamino-methyl)-indan-1-ole dar.

4,810 mg Subst. gaben 14,29 mg CO<sub>2</sub> und 3,33 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{18}H_{21}ON$  Ber. C 80,84 H 7,92%  
 Gef. „ 81,01 „ 7,77%

2-(Methylamino-methyl)-inden (VIIg).

6,4 g der oben beschriebenen Verbindung Vg schüttelte man in alkoholischer Lösung in Gegenwart von 0,1 Teil Palladiummohr in Wasserstoffatmosphäre bei 40—50°, wobei die für 1 Mol berechnete Menge Wasserstoff aufgenommen wurde. Nach Abfiltrieren und Eindampfen versetzte man mit verdünnter Natronlauge, nahm das ausgefallene Gemisch der stereoisomeren 2-(Methylamino-methyl)-indan-1-ole in Äther auf, trocknete die ätherische Lösung über Pottasche und dampfte sie ein. Der Rückstand wurde in der 5-fachen Menge konz. Salzsäure gelöst, 24 Stunden stehen gelassen, hierauf noch 1/2 Stunde auf 50° erwärmt, dann mit Wasser verdünnt und die Base mit Ammoniak in Freiheit gesetzt. Das 2-(Methylamino-methyl)-inden vom Sdp. 0,06 mm 76—78° lieferte ein Hydrochlorid in Form von Blättchen vom Smp. 212—213° (aus Alkohol und Essigester).

3,017 mg Subst. gaben 7,47 mg CO<sub>2</sub> und 1,95 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{11}H_{14}ONCl$  Ber. C 67,55 H 7,12%  
 Gef. „ 67,56 „ 7,21%

### 3. Indenderivate VIII.

#### 1-Methyl-2-(piperidino-methyl)-inden (VIIIa).

Aus einer eisgekühlten Lösung von 53,2 g salzsaurem 2-(Piperidino-methyl)-indan-1-on vom Zersetzungspunkt 214° wurde die Base mit Ammoniak in Freiheit versetzt und rasch in Äther aufgenommen. Der scharf getrocknete Ätherauszug wurde in eine vorbereitete *Grignard*-Lösung, dargestellt aus 60 g Methyljodid und 11,5 g Magnesiumspänen in Äther, so rasch zugetropf, dass das Reaktionsgemisch im Sieden gehalten wurde. Hierauf wurde noch  $\frac{1}{4}$  Stunde auf dem Wasserbad gekocht und mit Eis und Ammoniumchlorid-Lösung zersetzt. Es bildet sich eine Emulsion, die sich durch Zugabe von 50-proz. Essigsäure in zwei Schichten trennen liess. Die getrocknete Ätherschicht wurde eingedampft und der Rückstand mit Petroläther (Sdp. 50°) verrührt. Der in Petroläther lösliche Anteil, der die isomeren 1-Methyl-2-(piperidino-methyl)-indan-1-ole (VIa) enthielt, wurde eingedampft und das erhaltene dickflüssige Öl unmittelbar der Wasserabspaltung unterzogen.

3,7 g dieses Gemisches, in 37 g Eisessig gelöst und mit 9 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure versetzt, wurden  $\frac{1}{4}$  Stunde zum Sieden erhitzt und die Reaktionslösung wurde eingedampft. Der krystalline Rückstand wurde mit 2-n. Natronlauge übergossen, die in Freiheit gesetzte Base in Äther aufgenommen, die ätherische Lösung über Pottasche getrocknet und eingedampft. Das so erhaltene 1-Methyl-2-(piperidino-methyl)-inden siedete bei 125—127° unter 0,15 mm Druck. Das Hydrochlorid krystallisierte aus 95-proz. Alkohol in glasklaren Körnern vom Smp. 259°.

4,918; 3,618 mg Subst. gaben 13,17; 9,64 mg CO<sub>2</sub> und 3,68; 2,65 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> NCl	Ber. C 72,82	H 8,40%
	Gef. „ 73,08; 72,71	„ 8,37; 8,20%

#### 1-Äthyl-2-(piperidino-methyl)-inden (VIIIb).

Wie oben beschrieben unter Verwendung von Äthyljodid erhalten, Sdp.<sub>0,1 mm</sub> 132—135°, Hydrochlorid Smp. 242—243° (aus Essigester-Alkohol).

4,686; 4,712 mg Subst. gaben 12,61; 12,65 mg CO<sub>2</sub> und 3,55; 3,56 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> NCl	Ber. C 73,50	H 8,68%
	Gef. „ 73,43; 73,28	„ 8,48; 8,45%

#### 1-Phenyl-2-(piperidino-methyl)-inden (VIIIc).

In ähnlicher Weise mittels Phenyl-magnesiumbromid gewonnen, Öl vom Sdp.<sub>0,4 mm</sub> 190°, das ein aus Essigester-Alkohol unkrystallisierbares Hydrochlorid vom Smp. 230—232° bildet.

5,162 mg Subst. gaben 14,65 mg CO<sub>2</sub> und 3,41 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> NCl	Ber. C 77,38	H 7,43%
	Gef. „ 77,47	„ 7,39%

### 4. 2-(Piperidino-methyl)-indan (IX).

a) Aus (VIIa). Eine Lösung von 7,5 g 2-(Piperidino-methyl)-inden-hydrochlorid vom Smp. 235—237° in 50 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol wurde mit etwa 30 cm<sup>3</sup> 1-n. Natronlauge neutralisiert, mit 15 g vorreduziertem Nickelkatalysator versetzt und mit Wasserstoff bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff kommt die Hydrierung praktisch zum Stillstand. Die filtrierte Reaktionslösung wurde eingedampft und der Rückstand destilliert. Das so erhaltene 2-(Piperidino-methyl)-indan vom Sdp.<sub>0,35 mm</sub> 110—112° lieferte ein in Blättchen krystallisierendes wasserlösliches Hydrochlorid, das, aus einer Mischung von Alkohol und Essigester unkrystallisiert, bei 218° sinterte und bei 220—222° schmolz.

5,320 mg Subst. gaben 13,98 mg CO<sub>2</sub> und 4,15 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> NCl	Ber. C 71,65	H 8,77%
	Gef. „ 71,71	„ 8,71%

b) Aus (I) und Piperidin. 4,3 g 2-(Brom-methyl)-indan wurden in 25 cm<sup>3</sup> absolutem Benzol gelöst, diese Lösung wurde mit 3,8 g Piperidin versetzt und zum Sieden erhitzt. Es schieden sich bald feine Krystalle von Piperidin-hydrobromid aus. Nach 4-stündiger Reaktionsdauer wurden diese abgenutscht, der Rückstand mit Benzol ausgewaschen und aus dem Filtrat die basischen Anteile durch 3-maliges Schütteln mit 5 cm<sup>3</sup> 2-n. Salzsäurelösung ausgezogen. Hierauf wurde der salzsaure Auszug mit Ammoniaklösung alkalisiert, das ausfallende Öl in Äther aufgenommen, die ätherische Lösung über Pottasche getrocknet, eingedampft und der Rückstand der Destillation unterworfen. Die Fraktion vom Sdp.<sub>0,6 mm</sub> 130—132° lieferte ein Hydrochlorid vom scharfen Smp. 224°. Im Gemisch mit dem unter a) beschriebenen Produkt konnte keine Schmelzpunkts-erniedrigung beobachtet werden.

4,060 mg Subst. gaben 10,68 mg CO<sub>2</sub> und 3,24 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{15}H_{22}NCl$  Ber. C 71,65 H 8,77%  
 Gef. „ 71,80 „ 8,93%

Die Analysen wurden unter der Leitung von Hrn. Dr. *Gysel* in unserer analytischen Abteilung ausgeführt.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba*, Basel  
 Pharmazeutische Abteilung.

## 212. Über stickstoffhaltige Derivate der Methionsäure

von B. H. Ringier.

(26. X. 44.)

*G. Schroeter*<sup>1)</sup> hat eine grosse Zahl funktioneller Derivate der Methionsäure (Methylen-disulfonsäure) von der Formel I dargestellt und die grundsätzlichen Möglichkeiten der Verwendung dieser Säure für Synthesen beschrieben. Auf ihn geht auch die Ausarbeitung eines Verfahrens zur Darstellung reiner Methionsäure in grösseren Mengen zurück. Seine Ergebnisse sind, soweit sie hier interessieren, kurz die folgenden:

1. Methionsäure-alkylester stellen ganz unbeständige Körper dar; sie werden schon in kaltem Wasser verseift.

2. Methionsäure-arylester dagegen sind äusserst beständig. Selbst mit starker Lauge werden sie nur sehr langsam und dann schliesslich unter Abspaltung von SO<sub>2</sub> verseift. Sie haben phenolischen Charakter, bilden z. B. wasserlösliche Alkalisalze und weisen eine gewisse Desinfektionswirkung auf.

3. Methionsäure-amid sowie dessen N-Alkylderivate sind beständige, krystallisierte Verbindungen. Ihre Darstellung gelingt häufig durch Umsetzung von Alkylaminen mit den beständigen Arylestern der Säure I, nicht aber durch Einwirkung dieser Basen auf das Methionsäure-chlorid.

4. Aus dem Methionsäure-chlorid lassen sich dagegen die Methionsäure-anilide gewinnen. Auch sie sind äusserst beständige Verbindungen, schwer verseifbar, selbst in starken Säuren und bilden, zufolge ihres phenolischen Charakters, wasserlösliche Alkalisalze.

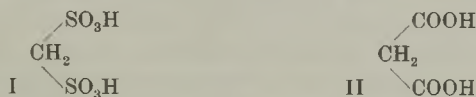
<sup>1)</sup> *G. Schroeter*, A. 418, 161 (1919).



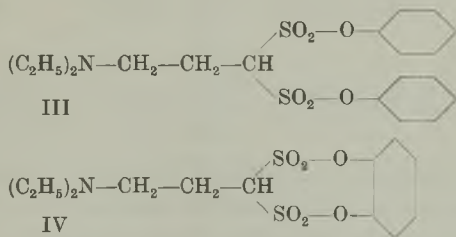
5. Dank der aktivierten Methylengruppe bilden die niederen Methionsäure-arylester und -alkylanilide benzollösliche Metallverbindungen, welche den Eintritt von Alkylgruppen, Halogen- und Acylresten erlauben.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit wurde ein Teil der Arbeiten aus *Schroeters's* Versuchsreihen reproduziert und in Übereinstimmung mit den zitierten Ergebnissen befunden. Als Lösungsmittel gelangte dabei Tetrachloräthan zur Anwendung an Stelle des von *Schroeter* empfohlenen Toluols.

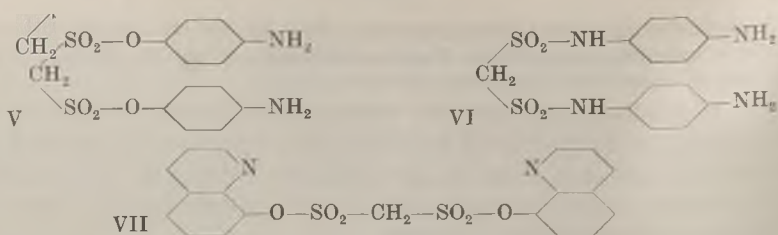
Bezüglich der Beweglichkeit des Wasserstoffes an der Methylengruppe steht die Disulfonsäure I (Methionsäure) in Analogie zur entsprechenden Dicarbonsäure II (Malonsäure). In Ausnützung dieser Eigenschaft hatte *Schroeter* am Methylenkohlenstoff Substitutionen durch einfache Alkyl- und Alkylengruppen, sowie durch Halogen- und Acylreste ausgeführt.



In Weiterentwicklung dieses Gedankens wurde in der hier vorliegenden Arbeit zunächst versucht, einen basischen Substituenten in die Methylengruppe von Arylestern der Methionsäure einzuführen. Als Beispiel kam der Diäthylamino-äthylrest zur Anwendung. Ich gelangte so zu dem gut krystallisierenden Diäthylaminoäthyl-methionsäure-diphenylester (III) und zum Diäthylaminoäthyl-methionsäure-brenzcatechinester (IV). Die Synthese hat aber nicht allgemeine Gültigkeit; nur die einfachsten Arylester der Methionsäure erwiesen sich als der Substitution durch basische Alkyle fähig. So war diese überall dort nicht durchführbar, wo die Arylgruppen ihrerseits schon stickstoffhaltige Substituenten oder Ringstickstoff trugen, und zwar gleichgültig, ob dieser Stickstoff in sauren oder basischen Gruppen vorlag.

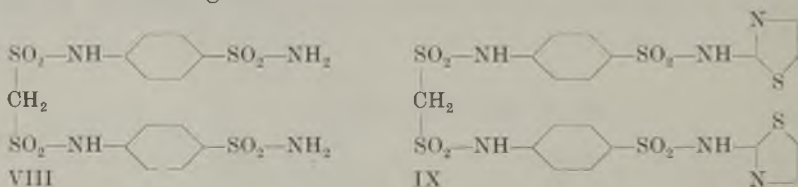


Eine zweite Gruppe von Derivaten bezweckte die Gewinnung basischer Abkömmlinge von Methionsäure-arylestern, welche den Stickstoff am Arylkern tragen. So stellte ich den Methionsäure-4,4'-diamino-diphenylester (V) und als Vertreter von Arylestern mit heterocyclischem Stickstoff den Methionsäure-dichinolylester (VII) dar.



Zu der Verbindung V kam ich durch Einwirkung von Acetaminophenol auf Methionsäure-chlorid in Anwesenheit von Pyridin als Kondensationsmittel und anschliessender alkalischer Verseifung der Acetylaminogruppen. Die Darstellung des Esters von der Formel VII erfolgte in gleicher Weise aus dem 8-Oxy-chinolin. In der Literatur ist das Methionsäure-4,4'-diaminodiphenyl-diamid (VI)<sup>1)</sup> erwähnt. Es wurde hier aus der entsprechenden Dinitroverbindung auf einem anderen Weg, nämlich durch Reduktion mittels Natriumdithionit bereitet. Wie zu erwarten, ist die alkalische Lösung dieses 4-Aminoanilids instabil; beim Stehen an der Luft erleidet die Verbindung Oxydation zu Chinon.

In den Methionsäure-amiden der Sulfanilamidreihe liegt eine dritte, im Rahmen dieser Untersuchung liegende Gruppe von Derivaten vor. Ich habe zwei bekannte Sulfanilamide, das einfache p-Amino-phenyl-sulfonamid und das Sulfathiazol (Cibazol) mit Methionsäure-chlorid umgesetzt. Die dabei entstandenen Verbindungen VIII und IX, das Methionsäure-4,4'-di-amidosulfondiphenyl-diamid und das Methionsäure-4,4'-di-thiazolylamid-sulfondiphenyl-diamid, bilden leicht lösliche Alkalisalze. Das Sulfathiazol büsst aber in Verbindung mit Methionsäure seine chemotherapeutischen Eigenschaften vollständig ein.



Schliesslich wurden, ausgehend von den Aminoverbindungen V und VI, auch einige Azofarbstoffe hergestellt. Wie das Aminoanilid VI, so lässt sich auch der Amino-arylester V in salzsaurer Lösung ohne Schwierigkeit diazotieren und hierauf in alkalischer Lösung kuppeln. Als Kupplungskomponenten kamen  $\alpha$ -Naphthol, R-Säure und Acetyl-H-Säure zur Anwendung. Die erhaltenen roten und violetten Farbstoffe liessen sich alle mehr oder weniger leicht isolieren. Hier sei noch erwähnt, dass die Diazoniumsalze beider

<sup>1)</sup> G. T. Morgan und Mitarb., Soc. 97, 58 (1910).

Verbindungen mit Naphthylaminsulfonsäuren selbst in stark alkalischer Umgebung nur sehr unvollständig kuppeln. Die Kupplung gelingt jedoch leicht, wenn acetylierte Naphthylaminsulfonsäuren zur Anwendung kommen.

### Experimenteller Teil.

#### Diäthylaminoäthyl-methionsäure-diphenylester (III).

Man trug in die Lösung von 19 g Methionsäure-diphenylester (dargestellt nach *Schroeter*: loc. cit.) und 100 cm<sup>3</sup> Toluol, 1,32 g Natrium ein und erhitze den Kolben am Rückflusskühler bis zum Verschwinden des Natriums. Hierauf versetzte man die Lösung bei Siedehitze unter mechanischem Rühren in einer Operation mit 25 g Diäthylamino-äthylchlorid, verdünnt mit 25 cm<sup>3</sup> Toluol. Nachdem die Reaktion nachgelassen hatte, kochte man einige Minuten weiter, liess erkalten und filtrierte vom ausgeschiedenen Natriumchlorid ab. Die Lösung wurde hierauf im Vakuum konzentriert, mit 1,5 Liter Wasser und 10 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure versetzt und zur Entfernung des Ausgangsmaterials gut ausgeäthert. Nach Zusatz weiterer 300 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure krystallisierte das Hydrochlorid des Diäthylamino-methionsäure-diphenylesters beim Stehen über Nacht in weissen Flocken aus. Smp. 142—145°. Die Ausbeute betrug 11,6 g. Aus dem Hydrochlorid liess sich die Base durch Soda leicht in Freiheit setzen. Ihr Schmelzpunkt lag bei 90°.

4,201 mg Subst. gaben 0,127 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 736 mm)

C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>O<sub>6</sub>NS<sub>2</sub> Ber. N 3,27 Gef. N 3,39%

#### Diäthylaminoäthyl-methionsäure-brenzcatechinester (IV).

Zu der Lösung von 10 g Brenzcatechin in 15 cm<sup>3</sup> Tetrachloräthan und 7,2 g Pyridin liess man bei Zimmertemperatur 9,7 g Methionsäure-chlorid, verdünnt mit 10 cm<sup>3</sup> Tetrachloräthan, eintropfen. Der starken Selbsterwärmung wurde durch Kühlen von aussen begegnet. Schliesslich erwärmte man das Reaktionskölbchen noch 2 Stunden auf 70° und liess langsam abkühlen. Bei mehrstündigem Stehen krystallisierte der Ester des Brenzcatechins in grosser Reinheit aus. Man filtrierte ihn auf der Nutsche ab und wusch ihn mit Äther, worin er vollständig unlöslich war, nach. Sein Schmelzpunkt lag bei 195—200°. Ausbeute 6,6 g.

4,853 mg Subst. gaben 5,99 mg CO<sub>2</sub> und 1,08 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> Ber. C 33,60 H 2,40%

Gef. „ 33,68 „ 2,48%

Von dieser Methylenverbindung wurden 10,9 g in 20 cm<sup>3</sup> Wasser und 5 g NaOH gelöst. Man fügte 100 cm<sup>3</sup> Aceton hinzu und liess in die Lösung bei Eiskühlung unter Rühren 15 g Chloräthyl-diäthylamin-hydrochlorid in 20 cm<sup>3</sup> Wasser eintropfen. Man erwärmte hierauf allmählich auf 120°, belliess die Reaktionsmischung 2 Stunden bei dieser Temperatur, filtrierte nach dem Erkalten von den ausgeschiedenen, anorganischen Salzen ab und destillierte das Lösungsmittel im Vakuum weg. Der Trockenrückstand wurde samt den anorganischen Salzen mit 500 cm<sup>3</sup> 1-n. Salzsäure ausgekocht. Man filtrierte heiss und schüttelte den HCl-Auszug nach dem Erkalten mit Äther aus. Schliesslich wurde er stark konzentriert und der Krystallisation überlassen. Das sehr schön krystallisierte Hydrochlorid des Diäthylaminoäthyl-methionsäure-brenzcatechinesters liess sich aus Alkohol umkrystallisieren. Die Ausbeute betrug 6,5 g. Die Base selber liess sich aus der wässrigen Lösung des Hydrochlorids durch Soda ausfallen und hierauf ausäthern. Ihr Schmelzpunkt lag bei 161°.

2,296 mg Subst. gaben 0,085 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (21°, 742 mm)

C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>O<sub>6</sub>NS<sub>2</sub> Ber. N 4,01 Gef. N 4,20%

Methionsäure-4,4'-diaminodiphenyl-ester (V).

Zu der Lösung von 60 g Acetaminophenol in 70 cm<sup>3</sup> Tetrachloräthan und 21 g Pyridin liess man unter Rühren langsam 24 g Methionsäure-chlorid in 30 cm<sup>3</sup> des gleichen Lösungsmittels zufließen. Die Reaktion war heftig. Nach Beendigung der Zugabe erwärmte man allmählich bis auf 120° und belies den Kolben 6 Stunden bei dieser Temperatur. Nach dem Erkalten setzte man ½ Liter Äther zu und schüttelte die Lösung mit 300 cm<sup>3</sup> 2-n. Natronlauge aus. Der Methionsäure-4,4'-diacetamino-diphenylester wurde hierauf aus der wässrigen Lösung seines Natriumsalzes mittels Salzsäure ausgefällt. Nach der Filtration wurde er noch mit Alkohol ausgewaschen. Sein Schmelzpunkt lag bei 212—215°. Ausbeute 20,3 g.

Zur Verseifung der Acetylamino-Gruppen wurden 23,5 g dieses Esters ohne weitere Reinigung in 800 cm<sup>3</sup> 0,2-n. Natronlauge während 6 Stunden in Stickstoff-Atmosphäre erhitzt. Man fällte hierauf mit Essigsäure, nutschte ab, wusch mit Wasser nach und brachte den Methionsäure-4,4'-diamino-diphenylester durch Auskochen mit 2-n. Salzsäure in Lösung. Man verdünnte noch mit Wasser, filtrierte die lauwarme Lösung von etwas Unverseiftem ab, und fällte den Ester mit Pottasche wieder aus. Zur weiteren Reinigung wurde er in 100 cm<sup>3</sup> Essigester aufgelöst, von einer beträchtlichen Menge einer dunklen, flockigen Beimengung abgetrennt und nach dem Vertreiben des Lösungsmittels aus 25 cm<sup>3</sup> Methanol umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt lag bei 141—146°. Ausbeute 9,5 g.

2,992 mg Subst. gaben 0,206 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 739 mm)

C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> Ber. N 7,80 Gef. N 7,70%

Die Substanz ist löslich in 1 Äquivalent NaOH. Zur Auflösung in Salzsäure ist ein Überschuss an HCl notwendig. In verd. salzsaure Lösung ist sie diazotierbar. Das so entstandene Diazoniumsalz wurde in Natronlauge gekuppelt mit  $\alpha$ -Naphthol, R-Säure und Acetyl-H-Säure.

Methionsäure-4,4'-diaminodiphenyl-diamid (VI).

10 g Methionsäure-dinitrodiphenyl-diamid (dargestellt nach *Morgan* bzw. *Schroeter*, loc. cit.) wurden in 1 Liter Wasser im Beisein von 14 g Soda gelöst, gut gekühlt und unter Rühren mit 60 g festem Natriumdithionit versetzt. Schon nach wenigen Minuten begann sich das Sulfonamid krystallinisch auszuscheiden. Nach 30 Minuten langem Stehen wurde filtriert. Das weisse Krystallpulver zersetzte sich bei 230° unter Aufschäumen, ohne vorher zu schmelzen. Die Ausbeute betrug 4,8 g.

1,347 mg Subst. gaben 0,186 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 742 mm)

C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub>S<sub>2</sub> Ber. N 15,72 Gef. N 15,60%

Die Verbindung ist löslich in 1 Äquivalent wässriger Natronlauge; die Lösung erleidet jedoch beim Stehen Autoxydation. In überschüssiger Salzsäure tritt ebenfalls Auflösung ein und die verd. salzsaure Lösung des Diamids ist diazotierbar, was schon von *Morgan* erkannt worden ist. Das so entstandene Diazoniumsalz wurde in Natronlauge gekuppelt mit  $\alpha$ -Naphthol, R-Säure und Acetyl-H-Säure.

Methionsäure-di-8-oxy-chinolyester (VII).

15 g 8-Oxy-chinolin, 25 cm<sup>3</sup> Tetrachloräthan und 8,2 g Pyridin wurden in üblicher Weise mit 11 g Methionsäure in 15 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel versetzt. Nach 2-stündigem Erwärmen auf 70° wurde abgenutscht, mit Äther nachgewaschen und der rohe Ester des Oxychinolins zweimal aus alkalischer Lösung mit Essigsäure umgefällt. Man gewann 6,5 g des Esters vom Schmelzpunkt 140—150°.

3,580 mg Subst. gaben 0,204 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 735 mm)

C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> Ber. N 6,50 Gef. N 6,38%

In gleicher Weise erhielten wir aus 10 g 5-Chlor-8-oxychinolin, 4,4 g Pyridin und 6 g Methionsäure-chlorid den entsprechenden Di-chlor-oxychinolyester in einer Ausbeute von 6,7 g. Schmelzpunkt 161—167°.

3,491 mg Subst. gaben 0,176 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 739 mm)

C<sub>19</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> Ber. N 5,60 Gef. N 5,67%

Und die Veresterung von 29 g 5-Chlor-7-acetamino-8-oxychinolin mit 13 g Methionsäure-chlorid im Beisein von 10 g Pyridin und dem üblichen Lösungsmittel ergab ein tief goldgelb gefärbtes Derivat, welches unterhalb seiner Zersetzungstemperatur von 200° nicht schmolz.

1,918 mg Subst. gaben 0,153 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 739 mm)

C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub>S<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> Ber. N 9,11 Gef. N 8,97%

#### Methionsäure-4,4'-di-amidosulfondiphenyl-diamid (VIII).

Eine Lösung von 20 g Sulfanilamid in 80 cm<sup>3</sup> Dioxan und 9,5 g Pyridin wurde bei 50° tropfenweise mit 12,4 g Methionsäure-chlorid in 40 cm<sup>3</sup> Dioxan versetzt. Nach 2-stündigem Erhitzen auf 90—100° goss man die Lösung ab, wusch den Bodenkörper mit frischem Dioxan nach, löste ihn in 300 cm<sup>3</sup> Wasser und überliess ihn der Krystallisation. Die ausgeschiedenen Anteile waren nur zum Teil krystallinisch; durch Aufnehmen in Alkohol konnten diese jedoch leicht von den amorphen Teilen getrennt werden. Der Schmelzpunkt lag bei 260—265°. Die Ausbeute betrug 7,9 g. Das Amid bildet eine wasserlösliche Natriumverbindung von schwach alkalischer Reaktion. Seine Bildung war immer mit dem Entstehen einer grösseren Menge von Methionsäure-4-amidosulfon-mono-phenylamid verbunden, von dem es nicht zu trennen war. Gute Analysenwerte können daher von dieser Verbindung nicht mitgeteilt werden.

#### Methionsäure-4,4'-di-thiazolylamid-sulfondiphenyl-diamid (IX).

Man liess in eine Lösung von 81 g Sulfathiazol (Cibazol), 24 g Pyridin und 1 Liter Tetrachloräthan bei 120° unter Rühren 33 g Methionsäure-chlorid in 200 cm<sup>3</sup> dieses Lösungsmittels eintropfen. Nach beendetem Eintragen wurde das Gemisch nicht mehr weiter erhitzt. Man destillierte das Tetrachloräthan ab, kochte den Trockenrückstand mit 4 Liter Wasser aus, welches verworfen wurde und brachte ihn schliesslich durch Erwärmen mit 2 Liter 0,4-n. Natronlauge in Lösung. Nachdem man die Lösung noch von Beimengungen abfiltriert hatte, wurde das Amid durch Zusatz von Essigsäure sorgfältig ausgefällt. In diese Aufschlammung brachte man nun 200 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure und liess sie bei Zimmertemperatur während 3 Stunden am Rührwerk stehen, um alles überschüssige Sulfathiazol herauszulösen. Hierauf nutschte man das rohe Amid ab, löste es in 2 Liter heissem 95-proz. Alkohol und trennte 7 g unlösliche Verunreinigungen durch Filtration ab. Aus der alkoholischen Lösung wurde das Amid durch vorsichtiges Hinzufügen von 750 cm<sup>3</sup> 0,5-n. alkoholischer Natronlauge in Form seines Natriumsalzes zur Abscheidung gebracht. Die Ausbeute betrug 55 g. Die wässrige Lösung des Salzes hat schwach alkalische Reaktion. Aus ihr ist das reine Amid nun leicht zu gewinnen. Dieses schmilzt ziemlich scharf bei 210°.

4,878 mg Subst. gaben 6,27 mg CO<sub>2</sub> und 1,26 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>N<sub>6</sub>S<sub>2</sub> Ber. C 35,08 H 2,78%

Gef. „ 35,13 „ 2,90%

Die Analysen wurden in unserer analytischen Abteilung unter Leitung von Hrn. Dr. H. Gysel ausgeführt.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba*, Basel,  
Pharmazeutische Abteilung.

## 213. Gonadotropes Hormon und Hodenstoffwechsel

(II. Mitteilung<sup>1)</sup>)

von **Werner Schuler**.

(27. X. 44.)

Versuche, eine Hormonwirkung auf den Gewebsstoffwechsel von Organen nachzuweisen und zu analysieren, haben früher ergeben, dass sich am Hoden von Ratten die Inkretfunktion der Hypophyse nicht nur an Veränderungen des Wachstums und der Gewebsstruktur nachweisen lässt, sondern auch an charakteristischen Veränderungen des Gewebsstoffwechsels *in vitro*. Die Analyse dieser hormonbedingten Stoffwechseländerung erfolgte 1. durch den Vergleich der Atmung von Hodengewebe normaler Ratten mit der von Hoden hypophysenloser Ratten und 2. durch die Untersuchung der Hodenatmung hypophysenloser, unbehandelter Ratten im Vergleich mit der hypophysenloser, mit gonadotropem Hormon behandelter Ratten. Wir berichten im Folgenden über Versuche, welche unsere damaligen Befunde ergänzen und erweitern.

### 1.

Hodengewebe normaler, erwachsener Ratten atmet in glucosehaltiger *Ringer*-Lösung wesentlich stärker als in glucosefreier Lösung, vermag also zugesetzte Glucose *in vitro* oxydativ zu verwerten.

Hodengewebe hypophysenloser Ratten atmet — etwa 4–5 Wochen nach der Hypophysektomie, in welcher Zeit die Hoden stark atrophiert sind — in glucosefreier Lösung nahezu wie normales Hodengewebe, in glucosehaltiger Lösung dagegen nicht stärker als in glucosefreier Lösung; das Hodengewebe vermag also nach dem Ausfall der Inkretfunktion der Hypophyse *in vitro* zwar zelleigenes Material nach wie vor oxydativ zu verwerten, hat aber die Fähigkeit eingebüsst, zugesetzte Glucose oxydativ umzusetzen.

Dieser früher erhobene Befund einer charakteristischen Stoffwechseländerung des Hodengewebes bezieht sich auf ein Zeitintervall von 4–5 Wochen nach dem Ausfall der Inkretfunktion der Hypophyse, lässt aber die Frage nach der Entwicklung dieser Stoffwechseländerung eines Organes in zeitlicher Abhängigkeit von dem Inkretausfall offen.

Es wurde daher an einer grösseren Anzahl hypophysenloser Ratten zu verschiedenen Zeiten nach der Hypophysektomie die

<sup>1)</sup> I. Mitteilung: *W. Schuler*, *Helv.* **24**, 119 E (1941); s. a.: *R. Meier* und *W. Schuler*: *Helv. med. acta* **7**, Suppl. VI (1940/41).

Hodengewebsatmung sowohl in glucosefreier als auch in glucosehaltiger Lösung, die sogenannte „Grundatmung“ sowie die „Glucoseatmung“<sup>(1)</sup>, bestimmt. Die entsprechenden Atmungswerte einiger normaler Ratten dienten als Kontrolle und dem Nachweis, dass die gefundenen Werte trotz jahreszeitlicher Verschiedenheit mit den früher an zahlreichen Tieren erhobenen Befunden übereinstimmen. Methodische Angaben und die bei den Einzelversuchen gefundenen Atmungswerte sind dem Versuchsteil zu entnehmen. In Fig. 1 sind die mittleren Werte der Grundatmung und der Glucoseatmung in zeitlicher Abhängigkeit von der Hypophysektomie graphisch zur Darstellung gebracht; als quantitativ erfassbare Äusserungen der gleichzeitig erfolgten Hodenatrophie sind die Mittelwerte der Hodenfeuchtgewichte (pro 100 g Tiergewicht) und der Hodentrockengewichte (in % der Feuchtgewichte) ebenfalls in der Figur eingetragen.

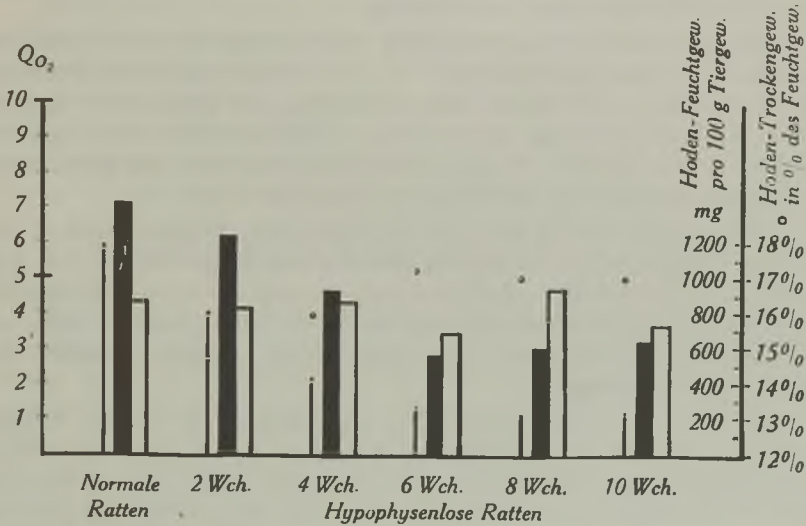


Fig. 1.

Hodengewebsatmung vor und zu verschiedenen Zeiten nach Hypophysektomie.

Q<sub>O<sub>2</sub></sub> in glucosehaltiger Lösung: schwarz (Glucoseatmung)

Q<sub>O<sub>2</sub></sub> in glucosefreier Lösung: weiss (Grundatmung)

Hodenfeuchtgewichte pro 100 g Tiergewicht in mg: Linie

Hodentrockengewichte in % der Hodenfeuchtgewichte: o o o

Bei normalen Ratten entsprechen die gefundenen Mittelwerte der Grundatmung und der Glucoseatmung des Hodengewebes weitgehend den früher von uns festgestellten mittleren Werten; die Glucoseatmung ist wesentlich höher als die Grundatmung.

<sup>1)</sup> Vgl. W. Schuler, Helv. physiol. pharmacol. acta 1, 105 (1943).

Dass unsere Atmungswerte für Hodengewebe niedriger sind als die anderer Autoren (*O. Warburg* c. s.<sup>1)</sup>; *W. Reiss* c. s.<sup>2)</sup>) bedarf vielleicht der Begründung: aus besonderen, früher eingehend erörterten Gründen<sup>3)</sup>, auf die auch im Versuchsteil nochmals kurz eingegangen wird, sind unsere Werte auf das gesamte Trockengewicht, bestimmt an einem aliquoten Teil des frischen Hodens, bezogen. Der höhere, weil verlustlose Trockengewichtswert erniedrigt den *Warburg'schen* Atmungsquotienten.

Auch das mittlere Hodenfeuchtgewicht, bezogen auf je 100 g Tiergewicht, sowie das Trockengewicht in % des Feuchtgewichtes entsprechen den früher von uns gefundenen<sup>3)</sup> Werten.

Bei hypophysenlosen Ratten verhalten sich Grundatmung und Glucoseatmung verschieden:

Die Grundatmung verändert sich mit der Zeit nach Hypophysektomie kaum; bei den 6, 8 und 10 Wochen nach der Hypophysektomie gefundenen Mittelwerten war entsprechend der langen Zeit und der Anfälligkeit der Tiere mit der etwas grösseren Schwankung der Grundatmung zu rechnen.

Die Glucoseatmung dagegen nimmt mit der Zeit nach der Hypophysektomie kontinuierlich ab. Sie erreicht in dieser Versuchsserie nach etwa 6 Wochen einen Tiefwert, der auch nach längerer Zeit, 8 und 10 Wochen, nicht weiter unterschritten wird und mit den früher von uns 4—5 Wochen nach Hypophysektomie gefundenen Glucoseatmungswerten befriedigend übereinstimmt.

Nahezu gleichzeitig mit der Abnahme der Glucoseatmung verläuft die Abnahme der mittleren Hodenfeuchtgewichte als Ausdruck der mit der Zeit nach Hypophysektomie zunehmenden Hodenatrophie, histologisch charakterisiert durch zunehmenden Schwund der Hodenkanälchen sowie Abnahme ihres zelligen Inhaltes und dessen Differenzierung.

Das Hodentrockengewicht, ausgedrückt in % des Feuchtgewichtes, nimmt demgegenüber mit der Zeit nach der Hypophysektomie stark zu und erreicht ebenfalls nach etwa 6 Wochen einen Maximalwert, der nicht mehr überschritten wird und mit den früher von uns<sup>3)</sup> festgestellten Werten, 4—5 Wochen nach Hypophysektomie, übereinstimmt.

Das Minimum der Glucoseatmung des Hodengewebes und des Hodenfeuchtgewichtes wie das Maximum des prozentualen Hodentrockengewichtes werden also zu etwa gleicher Zeit erreicht; weder der zeitliche Verlauf dieser Gewichtsveränderungen noch der der Veränderungen des histologischen Bildes der Hoden, verglichen mit dem zeitlichen Verlaufe der Stoffwechseländerung nach Hypophysektomie, ergeben Anhaltspunkte dafür, dass einer der Vorgänge dem anderen vorausgeht oder nachfolgt.

<sup>1)</sup> *O. Warburg, K. Posener, E. Negelein, Bioch. Z.* **152**, 309 (1924).

<sup>2)</sup> *W. Reiss, H. Druckrey, A. Hochwald, Endokrinologie* **12**, 243 (1933).

<sup>3)</sup> *R. Meier, W. Schuler, Helv. med. acta* **7**, Suppl. VI (1940/41).



Die Behandlung hypophysenloser Ratten mit gonadotropem Hormon verursacht nicht nur Wachstum des atrophischen Hodens und Veränderungen der geweblichen Struktur, sondern auch eine Steigerung der als Folge der Hypophysektomie herabgesetzten Hodengewebsatmung *in vitro*. Während aber nach der Hypophysektomie nur die Glucoseatmung des Hodens — und zwar, wie vorgehend beschrieben, kontinuierlich — absinkt, steigt bei der Behandlung hypophysenloser Ratten mit gonadotropem Hormon nicht nur die Glucoseatmung, sondern in den ersten 10–12 Behandlungstagen gleichzeitig und gleich stark auch die durch die Hypophysektomie nicht veränderte Grundatmung, sodass ein Atmungsstoffwechsel resultiert, der von dem normalen Hodengewebe wesentlich verschieden ist und dem des Hodens infantiler Ratten gleicht.

Diese früher erhobenen Befunde (l. c. S. 1<sup>1</sup>) liessen zwei Deutungsmöglichkeiten offen: entweder ist für die Normalisierung des Hodenstoffwechsels hypophysenloser Ratten ausser dem gonadotropen Hormon noch ein anderer Hypophysenfaktor nötig, der in unseren gereinigten Extrakten fehlt — oder die Stoffwechseländerung des Hodengewebes ist im wesentlichen von der durch das gonadotrope Hormon bedingten Wachstums- und Strukturänderung des Gewebes abhängig; in diesem Falle müsste eine länger dauernde Behandlung zur Normalisierung des Hodenstoffwechsels führen, im erstgenannten Falle nicht.

Um diese Frage zu entscheiden, haben wir eine grössere Anzahl von Ratten, welche seit 4 Wochen hypophysenlos waren (und von denen einige zur Bestimmung der Hodenatmung lt. Fig. 1 Verwendung fanden) täglich während weiteren 4 Wochen mit einem gonadotrop stark wirksamen Hypophysenpräparat behandelt, das von Dr. Benz in unseren chemischen Laboratorien dargestellt, weitgehend gereinigt und von uns auf seine gonadotrope Wirksamkeit geprüft worden war.

Nach 4 Wochen Behandlung wurde bei den noch überlebenden Tieren wie üblich die Grund- und Glucoseatmung des Hodengewebes bestimmt. Die gefundenen Mittelwerte sind in Fig. 2 neben früher gefundenen Atmungswerten graphisch zur Darstellung gebracht.

Nach einer Behandlungszeit von 4 Wochen ist — wie ersichtlich — die Glucoseatmung wieder wesentlich stärker als die Grundatmung; das Hodengewebe dieser hypophysenlosen, lange mit gonadotropem Hormon behandelten Ratten verhält sich also wie das normaler Ratten und die Atmungswerte sowohl der Glucose- wie der Grundatmung erreichen fast die Werte normaler, erwachsener Tiere.

<sup>1</sup>) R. Meier, W. Schuler, Helv. med. acta 7, Suppl. VI (1940/41).

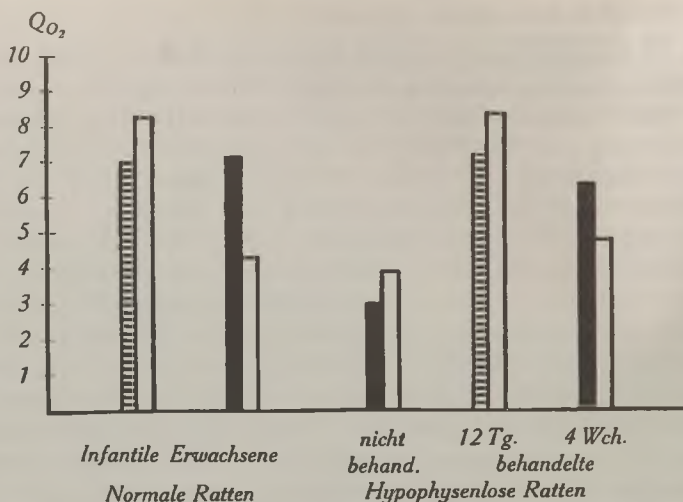


Fig. 2.

#### Hodengewebsatmung

von Ratten, welche 4 Wochen nach Hypophysektomie weitere 4 Wochen mit gonadotropem Hormon behandelt worden sind, sowie von infantilen und erwachsenen Normalratten und von unbehandelten und nur 12 Tage behandelten hypophysenlosen Ratten.

Q<sub>O<sub>2</sub></sub> in glucosehaltiger Lösung: schwarz (Glucoseatmung);  
 Q<sub>O<sub>2</sub></sub> in glucosefreier Lösung: weiss (Grundatmung).

Die Normalisierung der Hodenatmung durch Behandlung mit gonadotropem Hormon erfolgt aber nicht durch kontinuierlichen Anstieg der Glucoseatmung, wie der Abfall derselben nach Hypophysektomie, sondern verläuft über einen dem Hodengewebe infantiler Ratten ähnlichen Atmungstyp, der erst nach länger dauernder Behandlung normalisiert wird.

#### Versuchsteil.

Die Versuchstiere entstammen unserem Tierbestand, doch kamen nur ausgesuchte, in jeder Beziehung einwandfreie, schon längere Zeit bei uns unter optimalen Bedingungen gehaltene Ratten zur Verwendung, da die Hypophysektomie einen immerhin schweren operativen Eingriff darstellt.

Die Hypophysektomie wurde im wesentlichen nach der Methode von Collip, Selye und Thompson<sup>1)</sup> durchgeführt, welche sich uns seit langer Zeit bewährt hat; Schwierigkeiten bereitete lediglich die jahreszeitlich unterschiedliche Blutungsneigung der Tiere, die durch Nachblutung aus der Knochenwunde zu höherer Sterblichkeit post operationem führen kann. Durch Füllen des Bohrloches mit etwas Wachs lässt sich die Gefahr der Nachblutung vermeiden. Die Sterblichkeit der Ratten beträgt bei uns in den ersten 4 Wochen ca. 20—30%, in 6—8 Wochen ca. 30—40%. Nur Tiere, welche sich bei der Autopsie als völlig hypophysenlos erwiesen, wurden zu den Versuchen verwandt.

<sup>1)</sup> I. B. Collip, H. Selye, D. L. Thompson, Nature (Brit.) 131, 56 (1933); Virchow's Arch. 290, 24 (1933).

Tabelle I.

Atmung von Hodengewebe normaler Ratten.

Vers. Nr.	Tierzahl	Tiergewicht g	Hodengewicht			Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	
			feucht g	pro 100 g Tier g	trocken %	Atmungs- <i>Ringer</i> -Lösung ohne Glucose (Grund- atmung)	mit Glucose (Glucose- atmung)
252	1	220	2,55	1,16	12,7	5,2	—
254	1	190	2,40	1,26	12,3	4,7	—
254	1	190	2,41	1,26	12,3	4,0	—
256	1	245	2,83	1,15	12,8	4,0	—
256	1	245	2,83	1,15	12,6	3,9	—
253	1	196	2,46	1,25	12,5	—	7,4
255	1	250	2,85	1,14	12,6	—	6,5
255	1	250	2,85	1,14	12,6	—	7,2
256	1	245	2,83	1,15	12,8	—	7,0
256	1	245	2,83	1,15	12,8	—	7,2
Mittelwerte:			2,68	1,18	12,6	4,4	7,1

Tabelle II.

Atmung von Hodengewebe hypophysenloser Ratten.

Vers. Nr.	Tierzahl	Tiergewicht g	Wo- chen hypo- physen- los	Hodengewicht			Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	
				feucht mg	pro 100 g Tier mg	trocken %	Atmungs- <i>Ringer</i> -Lösung ohne Glucose (Grund- atmung)	mit Glucose (Glucose- atmung)
283	2	143	2	1120	783	14,4	3,6	6,2
283a	2	127	2	1020	803	15,1	4,7	6,2
Mittelwerte:				1070	793	14,7	4,15	6,2
284	2	190	4	666	351	16,0	4,2	3,9
284a	3	120	4	616	513	15,7	4,5	5,4
Mittelwerte:				641	432	15,9	4,35	4,65
307	2	140	6	350	250	18,5	4,1	2,8
307a	2	96	6	295	307	16,2	3,5	2,7
308	2	120	6	319	266	16,9	2,9	1,7
308a	4	106	6	281	265	17,3	3,3	3,9
Mittelwerte:				311	272	17,2	3,45	2,78
316	3	130	8	300	231	15,3	4,8	3,0
317	3	110	8	247	224	18,7	4,6	3,0
Mittelwerte:				273	227	17,0	4,7	3,0
318	3	100	10	180	180	17,8	3,3	2,8
318a	3	130	10	375	289	15,6	4,1	3,8
Mittelwerte:				277	234	17,0	3,7	3,3

Die Atmung des Hodengewebes wurde nach *Warburg* möglichst schnell und immer zu gleicher Zeit nach dem Tode der Tiere in glucosefreier und glucosehaltiger Atmungs-Ringer-Lösung (0,2% Glucose) bestimmt. 0,4 cm<sup>3</sup> 20-proz. NaOH-Lösung im Einsatz der Atmungsgefäße diente der Kohlendioxydabsorption; die Versuchstemperatur betrug 37,02—37,04° C. Nach *Warburg* geben wir die Atmungsgrösse als Atmungsquotient Q<sub>O<sub>2</sub></sub> (= mm<sup>3</sup> O<sub>2</sub>/1 Std./1 mg Trockengewicht) an, verwenden aber als Trockengewichtswert nicht, wie sonst üblich, das Trockengewicht des nach dem Versuche aus der Lösung herausgenommenen Gewebes, sondern das sofort an einem aliquoten Teil des Hodens bestimmte sogenannte „Gesamtrockengewicht“, denn die Herausnahme des Hodengewebes nach dem Versuche führt, wie *R. Meier* und ich (l. c.) früher zeigen konnten, unvermeidlich zu grösseren Verlusten. Durch die Bezugnahme des Sauerstoffverbrauches auf ein höheres, weil verlustloses Trockengewicht sind unsere Atmungswerte niedriger als die anderer Autoren.

Tabelle III.

Atmung von Hodengewebe hypophysenloser, behandelter Ratten. Die Ratten wurden 4 Wochen nach Hypophysektomie weitere 4 Wochen mit täglich 0,1 mg eines gonadotrop wirksamen<sup>1)</sup> Hypophysenpräparates behandelt, sind also insgesamt 8 Wochen hypophysenlos.

Vers. Nr.	Tierzahl	Tiergew. g	Wochen hypophysenlos	Hodengewicht			Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	
				feucht mg	trocken pro 100 g Tier mg	Atmungs-Ringer-Lösung ohne Glucose (Grundatmung)	mit Glucose (Glucoseatmung)	
300	2	160	8	1800	1130	13,0	4,5	6,5
300a	2	145	8	1000	690	12,9	5,9	6,7
302	2	140	8	1200	860	13,5	5,3	5,9
302a	2	120	8	1200	1000	13,1	4,5	6,1
303	2	154	8	1300	840	13,2	5,7	6,6
303a	2	140	8	1200	860	13,1	4,5	6,8
304	2	175	8	1200	690	13,4	5,0	6,0
306	2	120	8	1250	1050	13,0	4,0	6,6
306a	2	120	8	1250	1050	13,0	3,9	5,5
Mittelwerte:				1270	900	13,2	4,8	6,4

Zusammenfassung.

Die Untersuchung der Hodengewebstatmung von Ratten nach Hypophysektomie sowie nach Behandlung hypophysektomierter Ratten mit gonadotropem Hormon hat ergeben:

1. Die „Glucoseatmung“ des Hodengewebes fällt in den folgenden Wochen nach der Hypophysektomie kontinuierlich mit der Zeit und erreicht nach etwa 6 Wochen einen Minimalwert, der sich in der folgenden Zeit nicht mehr verändert, während die „Grundatmung“ unverändert bleibt. Die nach ca. 6 Wochen erreichten Hodenatmungswerte stimmen mit den früher gefundenen weitgehend überein.

<sup>1)</sup> Für die gonadotrope Wirksamkeit von Hypophysenpräparaten existiert kein internationaler Standard; 15 γ unseres Präparates innert 3 Tagen bewirken an juvenilen Ratten eine Uterusgewichtssteyerung auf das 3-fache des Ausgangswertes.

2. Der kontinuierliche Abfall der „Glucoseatmung“ des Hodengewebes nach der Hypophysektomie verläuft so weitgehend parallel den quantitativ erfassbaren Erscheinungen der Hodenatrophie — dem Abfall des Feuchtgewichts und dem Anstieg des prozentualen Trockengewichts des Hodens wie auch den histologischen Strukturveränderungen —, dass man nicht zu entscheiden vermag, ob einer der Vorgänge dem andern vorangeht oder nachfolgt.

3. Die Normalisierung der Hodengewebssatmung hypophysenloser Ratten durch Behandlung mit gonadotropem Hormon erfolgt nicht durch kontinuierlichen Wiederanstieg der „Glucoseatmung“ zu normalen Werten, sondern über Atmungswerte, welche von denen normalen Hodengewebes stark verschieden sind — gelingt aber nach relativ langdauernder Behandlungszeit. Der Hodenstoffwechsel ist offensichtlich abhängig von Struktur- oder Differenzierungsveränderungen des Gewebes, die histologisch nicht erfassbar sind.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba*, Basel,  
Pharmazeutische Abteilung.

## 214. Über Steroide.

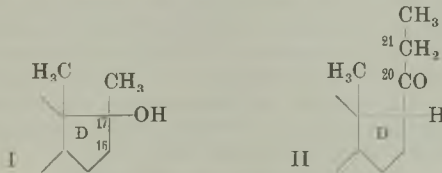
(38. Mitteilung<sup>1)</sup>).

### Zur Herstellung von 16-Methyl-progesteron und verwandten Verbindungen

von A. Wettstein.

(27. X. 44.)

Durch Einführung einer Methylgruppe in 17-Stellung des Testosterons<sup>2)</sup> bleibt die androgene Wirkung nicht nur voll erhalten, sondern wird überraschenderweise nun auch bei peroraler, nicht nur bei parenteraler Verabreichung erzielt<sup>3)</sup>. Diese neue Eigenschaft des 17-Methyl-testosterons (Teilformel I):



<sup>1)</sup> 37. Mitteilung siehe *K. Miescher*, *Helv.* **27**, 1727 (1944). Die neue Arbeit stellt zugleich Nr. VI dar in der Reihe „Homologe der Keimdrüsenhormone“; Nr. V siehe *A. Wettstein*, *Helv.* **24**, 311 (1941).

<sup>2)</sup> *L. Ruzicka*, *M. W. Goldberg*, *H. R. Rosenberg*, *Helv.* **18**, 1487 (1935).

<sup>3)</sup> *K. Miescher*, *E. Tschopp*, *Schweiz. med. Wschr.* **68**, 1258 (1938).

darf wohl auf die „sterische Hinderung“ der Hydroxylgruppe zurückgeführt werden. Bereits seit längerer Zeit hatten wir uns deshalb die Frage gestellt, ob ein ähnlicher Effekt nicht ebenfalls durch Methylierung in 16-Stellung zu erreichen sei. Die aus äusseren Gründen unterbrochene Untersuchung wurde auch für das Progesteron besonders aktuell, als ich zeigen konnte, dass die Einführung einer Methylgruppe in 21-Stellung dieses verhältnismässig spezifischen Hormons (Teilformel II)<sup>1)</sup> seine Wirkung nur wenig herabsetzt<sup>2)</sup>.

Die Herstellung eines 16-Methyl-progesterons bzw. eines Isomeren gelang in erster Stufe mit Hilfe einer auf *Azzarello*<sup>3)</sup> zurückgehenden Reaktion. Dieser Autor zeigte vor langem, dass sich Diazomethan<sup>4)</sup> an die Doppelbindung des Benzalacetons unter Bildung eines Pyrazolins so anlagert, dass der Stickstoff an das der Carbonylgruppe benachbarte Kohlenstoffatom tritt. Denselben Reaktionsverlauf haben dann *Kohler* und *Steele*<sup>5)</sup> bei der Addition von Diazoessigester an Benzalacetophenon angenommen und neuerdings *Smith* und Mitarbeiter<sup>6)</sup> bei der Einwirkung von Diazomethan auf weitere  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Ketone der aromatischen Reihe nachgewiesen.

Im Gegensatz zu den bisher untersuchten  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Ketonen, die alle mindestens eine Phenylgruppe in Konjugation zum ungesättigten System aufweisen und sich sehr leicht umsetzen, reagiert das Progesteron, wie ich feststellte, überraschenderweise mit ätherischer Diazomethanlösung in der Kälte nicht. Mit  $\Delta^{16;17}$ -20-Keto-pregnanen, die das ungesättigte System statt im Ring A im Ring D und der Seitenkette enthalten, erfolgt die Reaktion unter den genannten Bedingungen hingegen ganz glatt. Die letztere Tatsache findet ihre Parallele in der von *Ruzicka* und Mitarbeitern<sup>7)</sup> unlängst beobachteten leichten Reaktionsfähigkeit der mit einer Carbo-methoxygruppe konjugierten 16,17-ständigen Doppelbindung.

Als Ausgangsstoffe für die neue Synthese dienten das  $\Delta^{5;16}$ -Pregnadien-3-ol-20-on (IV) bzw. sein Acetat (III)<sup>8)</sup>. Beide Verbindungen

<sup>1)</sup> *A. Wettstein*, *Helv.* **23**, 1371 (1940).

<sup>2)</sup> Inzwischen haben *W. E. Bachmann* und *D. W. Holmes*, *Am. Soc.* **63**, 2593 (1941) an einem totalsynthetisch gewonnenen *d,l*-16-Methyl-equilenin allerdings eine im Vergleich mit Equilenin sehr stark verminderte Wirksamkeit festgestellt.

<sup>3)</sup> *E. Azzarello*, *R.A.L.* [5] **14** II, 229 (1905); *G.* **36** II, 50 (1906).

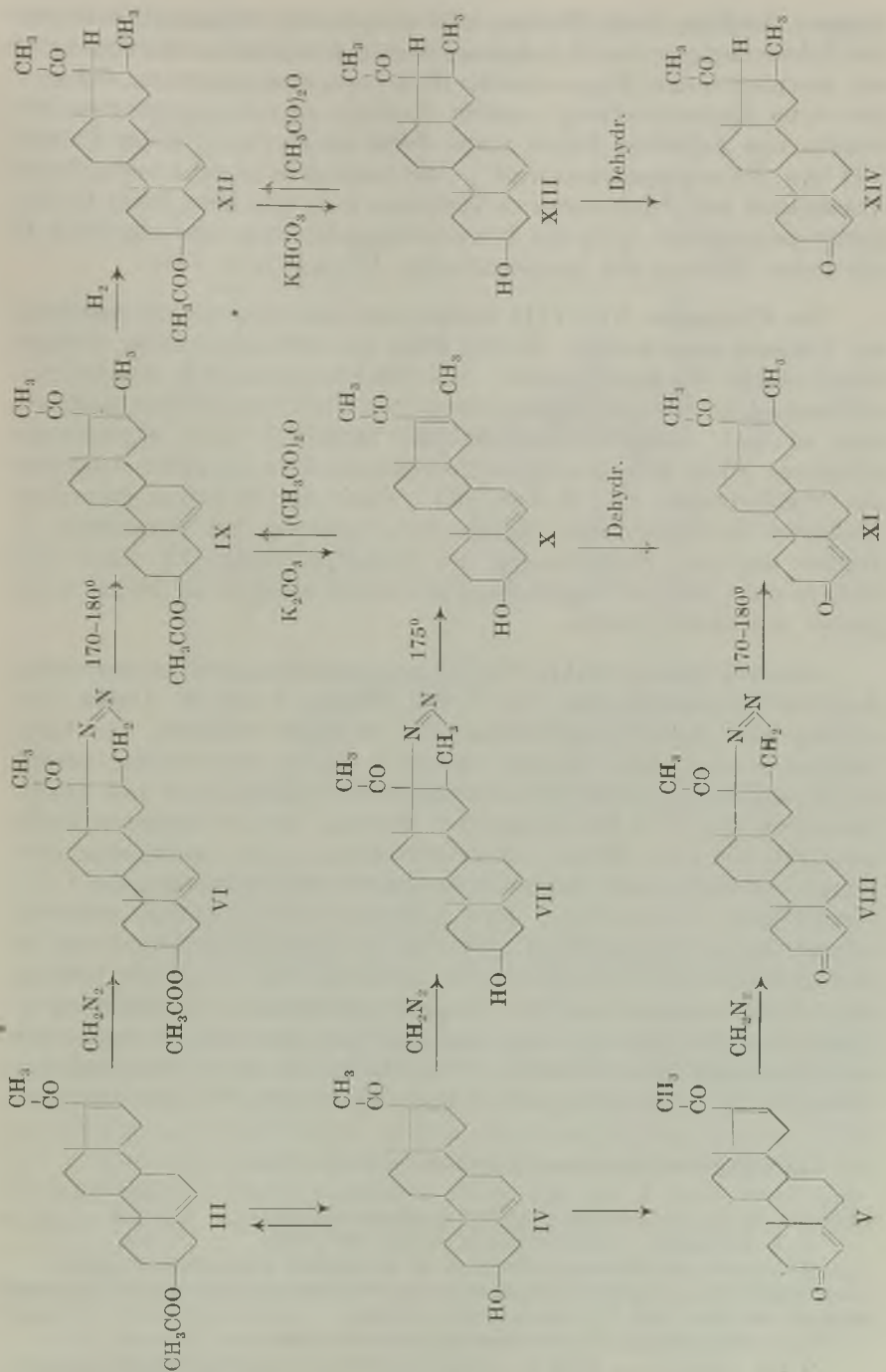
<sup>4)</sup> Allgemeines über die Reaktion von Diazomethan mit mehrfachen Kohlenstoffbindungen oder Carbonylgruppen siehe *B. Eistert* in „Neuere Methoden der präparativen organischen Chemie“, Berlin 1943, S. 366, 388, 403, 408.

<sup>5)</sup> *E. P. Kohler*, *L. L. Steele*, *Am. Soc.* **41**, 1093 (1919).

<sup>6)</sup> *L. I. Smith*, *W. B. Pings*, *J. Org. Chem.* **2**, 23 (1937); *L. I. Smith*, *K. L. Howard*, *Am. Soc.* **65**, 159, 165 (1943).

<sup>7)</sup> *L. Ruzicka*, *E. Hardegger*, *C. Kauter*, *Helv.* **27**, 1166 (1944).

<sup>8)</sup> *A. Butenandt*, *J. Schmidt-Thomé*, *Naturwiss.* **26**, 253 (1938); *B.* **72**, 182 (1939); *M. W. Goldberg*, *R. Aeschbacher*, *Helv.* **22**, 1185 (1939).

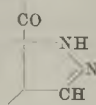


dungen lieferten beim Stehen mit ätherischer Diazomethanlösung bei Zimmertemperatur in ausgezeichneter Ausbeute je ein Krystallisat, das nach seinen Eigenschaften (Bruttozusammensetzung, Schmelzen unter Gasentwicklung) und in Analogie zu den angeführten Befunden von *Azzarello*, *Kohler* sowie *Smith* als Pyrazolin der Formel VII bzw. VI angesprochen wird<sup>1)</sup>. Wie nach dem negativ verlaufenen Vorversuch mit Progesteron zu erwarten war, trat auch beim 16-Dehydro-progesteron (V)<sup>2)</sup> die Diazomethan-Addition nur am Ring D ein unter Bildung des entsprechenden Pyrazolins VIII.

Die Pyrazoline VI—VIII wurden nun der thermischen Spaltung im Vakuum unterworfen. In der Nähe des Schmelzpunktes erfolgte dabei rasche Stickstoffabgabe. Die Reaktionsprodukte wurden anschliessend im Hochvakuum teilweise oder vollständig überdestilliert und so fast völlig krystallisierende Destillate oder Rückstände erhalten. Diese lieferten beim Umkrystallisieren in guter Ausbeute die Verbindungen IX, X bzw. XI. Nach der in etwas grösserem Maßstabe durchgeführten thermischen Spaltung des Pyrazolins VI konnte aus den Mutterlaugen des Hauptproduktes IX noch eine weitere dazu isomere Verbindung gewonnen werden, die bisher nicht genau untersucht wurde.

Die drei Spaltprodukte IX—XI unterscheiden sich, entsprechend den drei Ausgangsstoffen, nur in den Ringen A und B. Durch Verseifung der Acetoxyverbindung IX entstand nämlich das Oxy-Derivat X und dieses konnte einerseits durch Acetylierung zurück in IX, anderseits durch Dehydrierung mit Cyclohexanon und Aluminium-isopropylat in XI übergeführt werden. Bei der letzteren Reaktion trat, wie zu erwarten, starke Verschiebung des spezifischen Drehungsvermögens nach der positiven Seite<sup>3)</sup> und Erhöhung der U.V.-Extinktion<sup>4)</sup> entsprechend dem Auftreten eines zweiten isolierten ungesättigten Systems<sup>5)</sup> ein. Dass bei der thermischen Spaltung die Ketogruppe in 20-Stellung erhalten geblieben war, zeigte die Bildung eines Semicarbazons aus IX. Im übrigen bestehen für die übereinstimmende Struktur der drei Spaltprodukte am Ring D theoretisch die folgenden Möglichkeiten<sup>6)</sup>:  $\Delta^{16}$ -16-Methyl-17-acetyl-Derivate (Formeln IX—XI), unter Ringerweiterung entstandene D-homo-Derivate,

<sup>1)</sup> Ob gegebenenfalls isomere Pyrazoline, z. B. der Formel



vorliegen, ist für den weiteren Gang der Synthese ohne Belang.

<sup>2)</sup> *A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé, B. 72, 182 (1939).*

<sup>3)</sup> Vgl. z. B. *L. Ruzicka, K. Hofmann, H. F. Meldahl, Helv. 21, 371 (1938).*

<sup>4)</sup> Siehe Fig. 1, Kurve C im Vergleich zu Kurve A. Die Aufnahme der U.V.-Spektren verdanke ich Hrn. Prof. *F. Almasy*, Zürich, bestens.

<sup>5)</sup> *A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé, B. 72, 182 (1939).*

<sup>6)</sup> Vgl. *Kohler (l. c.), Smith (l. c.) und Eistert (l. c.)* sowie dort zitierte Literatur.



z. B.  $\Delta^{17-17a}$ -Acetyl-D-homo-Verbindungen (Teilformel XV)<sup>1)</sup>, sowie Acetyl-cyclopropan-Derivate der Formel XVI.

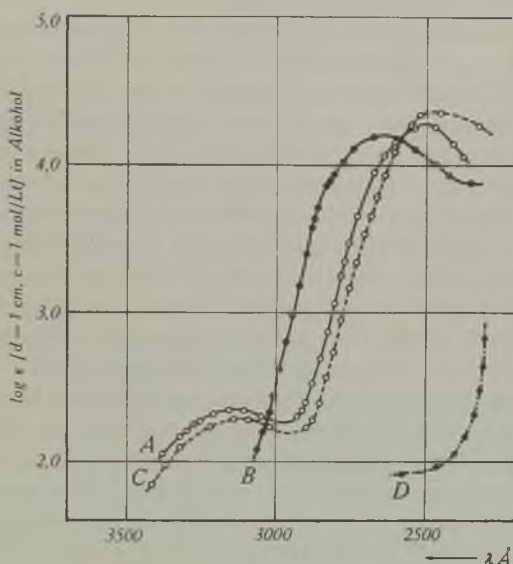
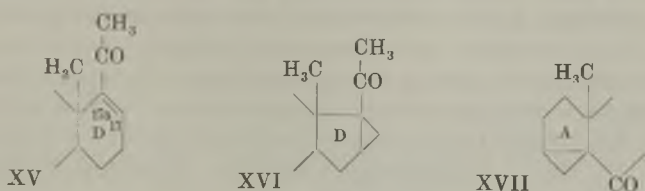


Fig. 1.

- A:  $\Delta^{15,16}$ -16-Methyl-pregnadien-3-ol-20-on-acetat (IX).  
 B: Semicarbazon von IX.  
 C: 16-Methyl-16-dehydro-progesteron (XI).  
 D: Nebenprodukt von IX bei thermischer Spaltung des VI.

Die letztere Formulierung liess sich verhältnismässig leicht ausschliessen, obschon Acetyl-cyclopropane und  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Ketone manche Analogie in den chemischen und optischen Eigenschaften aufweisen: Im U.V.-Spektrum zeigte die Verbindung IX nämlich die für ein  $\alpha, \beta$ -ungesättigtes Keton charakteristische Bande (siehe Fig. 1, Kurve A), welche durch Überführung der Grundsubstanz ins Semicarbazon in kennzeichnender Weise um 150 Å nach dem langwelligeren Gebiet verschoben<sup>2)</sup> wurde (siehe Fig. 1, Kurve B). Dem-

<sup>1)</sup> Zur Nomenklatur s. *L. Ruzicka, H. F. Meldahl, Helv. 23, 365 (1940)*; für ring-erweiterte Verbindungen sind auch Formulierungen als Ringketone vom „Neo-pregnantypus“ in Betracht zu ziehen.

<sup>2)</sup> *K. Dimroth, Z. angew. Ch. 52, 550, 555 (1939)*; *H. Dannenberg, „Über die U.V.-Absorption der Steroide“, Berlin 1940, S. 42, 12.*

gegenüber besitzt z. B. das „Heterocholestenon“, welches die der Formel XVI ganz ähnliche Teilformel XVII einschliesst, ein Absorptionsspektrum, das nur eine isolierte Carbonylgruppe anzeigt<sup>1)</sup>. Die drei Hauptprodukte der Pyrazolin-Spaltung enthalten also im Bereich des Ringes D eine  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Ketogruppe. Dem zu IX isomeren Nebenprodukt hingegen kommt wahrscheinlich die Teilformel XVI eines Cyclopropan-Derivates zu, da in seinem U.V.-Spektrum die für  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Ketone charakteristische Bande völlig fehlt (siehe Fig. 1, Kurve D).

Nicht so einfach kann zwischen den Formulierungen IX—XI oder XV für die  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Ketone entschieden werden. Die bei Bildung und Spaltung der Pyrazoline aus III bzw. V insgesamt auftretende Änderung des spezifischen Drehungsvermögens in negativer Richtung beträgt zwar nicht 130—154°, wie sie bei den früher am Ring D der Steroid-Reihe durchgeführten, nicht völlig vergleichbaren Ringerweiterungen beobachtet wurde<sup>2)</sup>, immerhin aber 52—68°. Auch aus der Tatsache einer geringfügigen Verschiebung der U.V.-Absorptions-Maxima nach langen Wellen<sup>3)</sup>, die mit einer Verzweigung am Ende des konjugierten Systems (16-Methylgruppe gemäss IX—XI) zu vereinen wäre<sup>4)</sup>, lässt sich kein zwingender Schluss auf die Konstitution ziehen. Die endgültige Entscheidung wird vielmehr durch Abbaureaktionen ermöglicht, über die später berichtet werden soll. Inzwischen ist hier für die Haupt-Spaltprodukte der Pyrazoline und die hievon abgeleiteten Verbindungen provisorisch die Formulierung als 16-Methyl-pregnanderivate (IX bis XIV) gewählt worden; X bzw. IX sind dann also  $\Delta^{5;16}$ -16-Methyl-pregnadien-3-ol-20-on bzw. sein Acetat, XI 16-Methyl-16-dehydro-progesteron zu nennen.

Die weitere Umwandlung von IX zum 16-Methyl-progesteron vollzieht sich ähnlich wie die Überführung von  $\Delta^{5;16}$ -Pregnadien-3-ol-20-on in Progesteron<sup>5)</sup>. Das 16-Methyl-16-dehydro-pregnenolon-acetat wurde mit Hilfe von Nickelkatalysator, dargestellt nach *Rupe*, partiell hydriert, wobei die Reaktion bald nach Aufnahme von 1 Mol

<sup>1)</sup> I. M. Heilbron, J. Hodges, F. S. Spring, Soc. 1938 I, 759.

<sup>2)</sup> K. Miescher, H. Kägi, Helv. 22, 189 (1939); L. Ruzicka, H. F. Meldahl, Helv. 22, 424 (1939); M. W. Goldberg, R. Monnier, Helv. 23, 379 (1940); M. W. Goldberg, S. Studer, Helv. 24, 479 (1941); Über das Ausbleiben einer Drehungsverschiebung bei offenbar nicht eingetretener Ringerweiterung s. L. Ruzicka, E. Hardegger, C. Kauter, Helv. 27, 1166 (1944).

<sup>3)</sup> Spektren der Ausgangsstoffe s. A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé, B. 72, 183 (1939). Beim Vergleich mit den neuen Kurven A und C muss der Einfluss der verschiedenen Lösungsmittel in Rechnung gestellt werden, der hier zum mindesten für einen Teil der Verschiebung verantwortlich ist (vgl. H. Dannenberg, loc. cit., S. 4).

<sup>4)</sup> K. Dimroth, Z. angew. Ch. 52, 550, 555 (1939); H. Dannenberg, „Über die U.V.-Absorption der Steroide“, Berlin 1940, S. 42, 12.

<sup>5)</sup> A. Butenandt und Mitarb., B. 72, 184 (1939); 67, 1613, 2087 (1934); 69, 447 (1936).

Wasserstoff praktisch aufhörte. Aus dem Rohprodukt gewann man durch Chromatographie bisher nur eine Verbindung der gewünschten Zusammensetzung, während theoretisch bis 4 Isomere entstehen können.

In der erhaltenen Verbindung ist die Konfiguration am Kohlenstoffatom 17 besonders wichtig. Das 17-iso-Progesteron<sup>1)</sup>, das sich nur in dieser Beziehung vom natürlichen Hormon unterscheidet, ist ja bekanntlich wenig wirksam. Unter völlig gleichen Bedingungen wie in unserem Versuch entstand nun aus 16-Dehydro-pregnenolon-acetat das Pregnenolon-acetat, nicht die Iso-Verbindung. Bei dieser Reaktion und ebenso bei der Hydrierung von IX tritt eine ähnliche Verschiebung der spezifischen Drehung nach der positiven Seite ein, während bei Bildung einer 17-iso-Verbindung eine starke Änderung nach der negativen Seite zu erwarten wäre<sup>1)2)</sup>.

Diesen Überlegungen folgend, könnte das neue Hydrierungsprodukt als  $\Delta^5$ -16-Methyl-pregnen-3-ol-20-on-acetat (XII) angesprochen werden. Es wurde aber mit wässrig-alkoholischer Pottasche-Lösung nur unter gleichzeitiger Umlagerung zu einem freien Oxy-keton<sup>3)</sup> hydrolysiert, denn letzteres zeigte eine stark erhöhte Linksdrehung und ergab beim Reacetylieren nicht XII, sondern ein neues Acetat. Erfolgte die Verseifung hingegen mit wässrig-alkoholischer Hydrogencarbonat-Lösung<sup>4)</sup>, so wurde diese Umlagerung vermieden; die so erhaltene, vorläufig als  $\Delta^5$ -16-Methyl-pregnen-3-ol-20-on (XIII) bezeichnete Verbindung wies nämlich eine praktisch unveränderte Drehung auf und liess sich wieder zu XII acetylieren.

Die Änderung der spezifischen Drehung nach Grösse und Richtung beim Übergang vom Oxy-keton X zu XIII spricht, wie schon bei den Acetaten, gegen das Entstehen einer iso-Verbindung und auch gegen Ringerweiterung bei dieser letzten Reaktionsfolge. Dagegen unterscheidet sich die im Ring D gesättigte Verbindung bei der Digitonin-Reaktion etwas von der dort ungesättigten: Während die letztere, gleich wie Pregnenolon, nach kurzer Zeit als schwerlösliche Digitonin-Additionsverbindung ausfällt, bewirkt XIII erst nach einiger Zeit eine in der Hitze wieder ziemlich lösliche Fällung, nähert sich also in dieser Eigenschaft dem 17-iso-Pregnenolon<sup>2)</sup>. Auch die Labilität bei Einwirkung von Pottasche liess sich wohl mit iso-Konfiguration vereinigen.

In letzter Stufe wurde schliesslich XIII mit Cyclohexanon und Aluminium-isopropylat dehydriert und so eine Verbindung erhalten, die nach chromatographischer Reinigung bei 210–212° korr. schmolz. Vorbehaltlich einer früher eingetretenen Erweiterung des Ringes D sind wir damit zu einem 16-Methyl-progesteron (XIV) gelangt. Sein U.V.-Spektrum, das bei 2360 Å eine hohe Bande ( $\log \epsilon = 4,56$ ) aufweist, sowie seine gegenüber dem Ausgangsmaterial stark erhöhte spezifische Drehung bestätigen das Vorliegen eines  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Ketons.

<sup>1)</sup> A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé, H. Paul, B. 72, 1112 (1939).

<sup>2)</sup> A. Butenandt, G. Fleischer, B. 70, 96 (1937).

<sup>3)</sup> Smp. 230–232°;  $[\alpha]_D^{23} = -113^\circ$  in Alkohol. Über dieses durch Umlagerung entstandene Oxy-keton, sein Acetat sowie das entsprechende Diketon wird später berichtet.

<sup>4)</sup> T. Reichstein, J. v. Euv., Helv. 21, 1181 (1938); A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé, H. Paul, B. 72, 1112 (1939).

Die neue Verbindung ist, wie schon XII und XIII, gegen Pottasche-Lösung labil und wird auch durch Mineralsäure<sup>1)</sup> in gleicher Weise umgelagert.

Über die Ergebnisse der biologischen Testierungen mit den neuen homologen Substanzen und über Versuche zur eindeutigen Konstitutions-Abklärung der Verbindungen IX—XIV soll später berichtet werden.

### Experimenteller Teil<sup>2)</sup>.

$\Delta^5;16$ -16-Methyl-pregnadien-3-ol-20-on (X) aus

$\Delta^5;16$ -Pregnadien-3-ol-20-on-acetat (III).

In 400 cm<sup>3</sup> einer ätherischen Lösung von Diazomethan, dargestellt aus 100 g Nitroso-methylharnstoff, wurden 13,02 g 16-Dehydro-pregnenolon-acetat (III;  $[\alpha]_D^{25} = -31^{\circ}$  in Alkohol) gegeben. Die gelbe Lösung liess man über Sonntag bei Zimmertemperatur stehen, dampfte sie dann im Vakuum bei 40° Badtemperatur ein und krystallisierte den Rückstand aus Aceton um. Das erhaltene farblose 3-Acetoxy-pyrazolin VI<sup>3)</sup> schmolz bei 168—169° unter starker Zersetzung.

Nach 16-stündigem Trocknen bei 70° und 0,02 mm wurde analysiert:

4,492 mg Subst. gaben 11,92 mg CO<sub>2</sub> und 3,41 mg H<sub>2</sub>O

2,685 mg Subst. gaben 0,173 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (25°, 736 mm)

C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> Ber. C 72,33 H 8,60 N 7,03%

(M.G. 398,53) Gef. „ 72,42 „ 8,50 „ 7,15%

Wenn auf ähnliche Weise 2 g Progesteron mit 80 cm<sup>3</sup> einer ätherischen Lösung von Diazomethan, dargestellt aus 20 g Nitroso-methylharnstoff, behandelt wurden, konnte nur unverändertes Ausgangsmaterial zurückgewonnen werden.

Zur thermischen Spaltung wurden 9 g des 3-Acetoxy-pyrazolins VI in einem Wurstkolben unter 0,02 mm Druck durch ein Metallbad erhitzt und gleichzeitig die oberen Teile des Kolbens bis zum Wurst-Ansatz durch ein Luftbad erwärmt. Die Metallbadtemperatur steigerte man langsam von 150° auf 180°. Beim Schmelzen der Substanz trat rasche Stickstoffabspaltung ein, sodass sich das Vakuum stark verschlechterte, nach beendigter Reaktion aber wieder auf den Anfangswert stieg. Nachdem ein wesentlicher Teil des Reaktionsproduktes übersublimiert war, liess man abkühlen, wobei nun auch der Rückstand im Kolben krystallisierte. Sublimat und Rückstand wurden zusammen aus Aceton umkrystallisiert und so als Hauptprodukt schöne Nadeln vom Smp. 177—178° erhalten. Im Gemisch mit dem Ausgangsmaterial III zeigten sie eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Dieses  $\Delta^5;16$ -16-Methyl-pregnadien-3-ol-20-on-acetat (IX) wurde zur Analyse 16 Stunden bei 100° und 0,02 mm getrocknet.

3,735 mg Subst. gaben 10,65 mg CO<sub>2</sub> und 3,05 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 77,79 H 9,25%

(M.G. 370,51) Gef. „ 77,81 „ 9,14%

$[\alpha]_D^{25} = -83^{\circ}$  in Alkohol (c = 0,695%)

U.V.-Spektrum s. theoretischer Teil!

Entsprechend der Anwesenheit einer  $\Delta^5$ -3-Acetoxy-Gruppe sowie einer  $\alpha,\beta$ -unge-sättigten Ketogruppe gibt IX mit Tetranitromethan starke Gelbfärbung und reduziert verdünnt-alkoholische Permanganatlösung momentan.

<sup>1)</sup> A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé, H. Paul, B. 72, 1118 (1939); C. W. Shoppee, Helv. 23, 925 (1940).

<sup>2)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>3)</sup> Die drei neuen Pyrazoline geben keine ausgesprochene Pyrazolin-Reaktion nach Knorr, die nur mit am Stickstoff phenylierten Pyrazolinen positiv ausfallen soll (vgl. G. B. Trener, M. 21, 1120 (1901)).

Semicarbazon: 123 mg der Verbindung IX wurden mit 6 cm<sup>3</sup> einer absolut-alkoholischen Lösung von Semicarbazid-acetat, dargestellt aus 111 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 136 mg krystallisiertem Natriumacetat, 5 Stunden unter CaCl<sub>2</sub>-Verschluss gekocht. Dann verdünnte man mit Wasser, saugte das ausgeflockte Produkt ab, wusch es mit viel Wasser nach, trocknete es und krystallisierte es aus Aceton um: Glänzende Krystalle vom Smp. 276—278° unter Zersetzung, die 6 Stunden bei 100° und 0,02 mm getrocknet wurden.

3,947 mg Subst. gaben 10,15 mg CO<sub>2</sub> und 3,04 mg H<sub>2</sub>O  
 2,983 mg Subst. gaben 0,261 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°; 733 mm)  
 C<sub>25</sub>H<sub>37</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub> Ber. C 70,22 H 8,72 N 9,83%  
 (M.G. 427,57) Gef. „ 70,18 „ 8,62 „ 9,76%

U.V.-Spektrum s. theoretischer Teil!

Verseifung: 350 mg 16-Methyl-16-dehydro-pregnenolon-acetat (IX) wurden mit 350 mg Pottasche, 1,4 cm<sup>3</sup> Wasser und 5,6 cm<sup>3</sup> Methanol 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach einigen Minuten, als fast völlige Lösung eingetreten war, erfolgte starkes Auskrystallisieren des Verseifungsproduktes. Dieses wurde schliesslich mit viel Wasser völlig gefällt, abgesaugt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus Aceton umkrystallisiert. Die so erhaltenen farblosen, derben Spiesse des  $\Delta^{5,16}$ -16-Methyl-pregnadien-3-ol-20-ons (X) schmolzen bei 197—198°. Nach 18-stündigem Trocknen bei 100° und 0,02 mm wurde analysiert:

3,719 mg Subst. gaben 10,99 mg CO<sub>2</sub> und 3,21 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 80,42 H 9,83%  
 (M.G. 328,26) Gef. „ 80,64 „ 9,66%  
 $[\alpha]_D^{21} = -78^\circ$  in Alkohol (c = 0,74%)

1—2 mg X, in 0,4 cm<sup>3</sup> 90-proz. Alkohol gelöst und mit 0,4 cm<sup>3</sup> einer 1-proz. Lösung von Digitonin in 90-proz. Alkohol heiss versetzt, ergaben nach kurzer Zeit eine Fällung von schwerlöslicher Digitonin-Additionsverbindung.

Nebenprodukt der thermischen Spaltung von VI: Die Mutterlaugen des Hauptproduktes IX wurden im Vakuum eingedampft, der Rückstand in warmem Lösungsmittel-Gemisch Petroläther-Benzol 1:3 aufgenommen und diese Lösung durch eine Säule von Aluminiumoxyd laufen gelassen. Beim Eluieren mit demselben Lösungsmittel erhielt man ein Krystallisat, das nach dem Umkrystallisieren aus Aceton bei 202,5—205° schmolz. Dieses Isomere von IX wurde zur Analyse 16 Stunden bei 100° und 0,02 mm getrocknet:

3,887 mg Subst. gaben 11,06 mg CO<sub>2</sub> und 3,26 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 77,79 H 9,25%  
 (M.G. 370,51) Gef. „ 77,65 „ 9,39%  
 U.V.-Spektrum s. theoretischer Teil!

$\Delta^{5,16}$ -16-Methyl-pregnadien-3-ol-20-on-acetat (IX) aus  
 $\Delta^{5,16}$ -Pregnadien-3-ol-20-on (IV).

2 g 16-Dehydro-pregnenolon (IV) wurden mit 50 cm<sup>3</sup> einer ätherischen Diazomethanolösung, dargestellt aus 20 g Nitroso-methyl-harnstoff, versetzt und unter gelegentlichem Schwenken 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann dampfte man das Reaktionsgemisch im Vakuum zur Trockne ein und krystallisierte den Rückstand aus Aceton um. Das 3-Oxy-pyrazolin VII schmolz bei 178° unter starker Zersetzung.

Nach 16-stündigem Trocknen bei 80° und 0,05 mm gaben:

4,478 mg Subst. 12,16 mg CO<sub>2</sub> und 3,63 mg H<sub>2</sub>O  
 1,170 mg Subst. 0,085 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (23°; 735 mm)  
 C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub> Ber. C 74,11 H 9,05 N 7,86%  
 (M.G. 356,49) Gef. „ 74,10 „ 9,07 „ 8,10%

Die thermische Spaltung des 3-Oxy-pyrazolins VII wurde in einem Sublimations-Apparat bei 0,04 mm unter langsamer Temperatursteigerung von 150° auf 175° vorgenommen. Bei Beginn der Zersetzung trat Schmelzen ein und der Druck stieg vorübergehend auf 0,1 mm. Nach fast vollständiger Destillation der Substanz an die gekühlte Fläche wurde sie von dieser abgelöst und nochmals in der gleichen, gereinigten Apparatur bei 160° und 0,03 mm sublimiert. Das Sublimat lieferte, aus verdünntem Aceton umkrystallisiert, schöne Blättchen, die bei 196—197° schmolzen und im Gemisch mit dem früher aus dem Acetat erhaltenen  $\Delta^5;16$ -16-Methyl-pregndien-3-ol-20-on (X) keine Schmelzpunktserniedrigung gaben. Nach 6-stündigem Trocknen bei 120° und 0,02 mm:

3,342 mg Subst. gaben 9,88 mg CO<sub>2</sub> und 2,94 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{22}H_{32}O_2$  Ber. C 80,42 H 9,83%  
 (M.G. 328,26) Gef. „ 80,67 „ 9,84%

Acetylierung: 180 mg 16-Methyl-16-dehydro-pregnenol (X) wurden in 4 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin gelöst, die Lösung mit 1 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid versetzt und 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann goss man in 50 cm<sup>3</sup> Wasser, saugte die ausgeflockte Verbindung ab, wusch sie mit viel Wasser nach, trocknete sie im Vakuum-Exsikkator und krystallisierte sie aus Aceton um. Das so gewonnene  $\Delta^5;16$ -16-Methyl-pregndien-3-ol-20-on-acetat (IX) schmolz bei 177—178° und ergab im Gemisch mit der früher direkt aus dem 3-Acetoxy-pyrazolin VI erhaltenen Verbindung keine Erniedrigung des Schmelzpunktes, wohl aber eine starke Erniedrigung zusammen mit III.

Trocknen: 16 Stunden bei 100° und 0,02 mm.

3,130 mg Subst. gaben 8,92 mg CO<sub>2</sub> und 2,61 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{24}H_{34}O_3$  Ber. C 77,79 H 9,25%  
 (M.G. 370,51) Gef. „ 77,77 „ 9,33%

$\Delta^4;16$ -16-Methyl-pregndien-3,20-dion (XI) aus  
 16-Dehydro-progesteron (V).

4,57 g 16-Dehydro-progesteron ( $[\alpha]_D^{21} = +154^\circ$  in Alkohol) wurden in 200 cm<sup>3</sup> einer ätherischen Diazomethanlösung, dargestellt aus 60 g Nitroso-methyl-harnstoff, gelöst und über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann dampfte man die Lösung im Vakuum ein und krystallisierte den Rückstand aus Aceton um. Das 3-Keto-pyrazolin VIII schmolz bei 173° unter starker Zersetzung. Nach 20-stündigem Trocknen bei 80°:

4,100 mg Subst. gaben 11,16 mg CO<sub>2</sub> und 3,06 mg H<sub>2</sub>O  
 4,425 mg Subst. gaben 0,314 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°; 735 mm)  
 $C_{22}H_{30}O_2N_2$  Ber. C 74,54 H 8,53 N 7,90%  
 (M.G. 354,48) Gef. „ 74,28 „ 8,35 „ 7,94%

Zur thermischen Spaltung wurden 500 mg des 3-Keto-pyrazolins VIII in einem Sublimations-Apparat bei 0,03 mm langsam von 150° auf 180° erhitzt. Das Sublimat behandelte man hierauf noch ein zweites Mal auf gleiche Weise und krystallisierte es aus verdünntem Aceton und aus Essigester um. Danach schmolz das  $\Delta^4;16$ -16-Methyl-pregndien-3,20-dion (XI) bei 176—177°. Mit dem 16-Dehydro-progesteron (V) gemischt zeigte es starke Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde 16 Stunden bei 100° und 0,02 mm getrocknet:

3,874 mg Subst. gaben 11,46 mg CO<sub>2</sub> und 3,27 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{22}H_{30}O_2$  Ber. C 80,92 H 9,27%  
 (M.G. 326,24) Gef. „ 80,73 „ 9,45%  
 $[\alpha]_D^{22} = +86^\circ$  in Alkohol (c = 1,02%)  
 U.V.-Spektrum s. theoretischer Teil!

Da XI nur  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Ketogruppen enthält, entfärbt es verdünnt-alkoholische Permanganatlösung momentan, gibt aber mit Tetranitromethan nur eine schwache Gelbfärbung wie V.

Dehydrierung von  $\Delta^{5,16}$ -16-Methyl-pregnadien-3-ol-20-on (X)  
zu  $\Delta^{4,16}$ -16-Methyl-pregnadien-3,20-dion (XI).

180 mg 16-Methyl-16-dehydro-pregnenolon (X) wurden mit 5 cm<sup>3</sup> absolutem Toluol, 1 cm<sup>3</sup> Cyclohexanon und 200 mg Aluminium-isopropylat 2 Stunden unter Calciumchlorid-Verschluss gekocht. Dann behandelte man das Reaktionsgemisch 2 Stunden mit Wasserdampf, säuerte den Rückstand mit verdünnter Schwefelsäure an und ätherte ihn aus. Die Ätherlösung wurde mit n. Sodälösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand, 170 mg eines etwas klebrigen Krystallisates, wurde in Hexan gelöst und diese Lösung durch eine Säule von 5 g Aluminiumoxyd laufen gelassen. Die Eluate mit Hexan-Gemischen steigenden Benzolgehaltes ergaben beim Umkrystallisieren aus Hexan ein reines Krystallisat vom Smp. 175,5—176,5°. Dieses 16-Methyl-16-dehydro-progesteron (XI) zeigte in Mischung mit der früher aus dem 3-Ketopyrazolin VIII erhaltenen Verbindung keine Schmelzpunktserniedrigung.

Analysiert wurde ein bei 170° und 0,01 mm sublimiertes Präparat:

3,931 mg Subst. gaben 11,66 mg CO<sub>2</sub> und 3,29 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	Ber. C 80,92	H 9,27%
(M.G. 326,24)	Gef. „ 80,94	„ 9,37%

Partielle Hydrierung von

$\Delta^{5,16}$ -16-Methyl-pregnadien-3-ol-20-on-acetat (IX).

3,7 g der Verbindung IX wurden in 60 cm<sup>3</sup> Alkohol mit 1,2 g Nickel-Katalysator nach *Rupe* unter geringem Wasserstoff-Überdruck bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach 6 Stunden, als die Wasserstoffaufnahme 1,08 Mol betragen hatte, kam die Reaktion praktisch zum Stillstand. Man erwärmte das Reaktionsgemisch, sog es durch eine Glasfilternutsche ab und wusch diese mit warmem Äther nach. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in einem Gemisch Petroläther-Benzol 3:1 gelöst und durch eine Säule von 100 g Aluminiumoxyd laufen gelassen. Die Eluate von der angegebenen Zusammensetzung lieferten bereits das Hauptprodukt, das  $\Delta^5$ -16-Methyl-pregnen-3-ol-20-on-acetat (XII). Es krystallisierte aus Hexan in prächtigen Nadeln vom Smp. 155—155,5°.

Zur Analyse wurde 16 Stunden bei 90° und 0,02 mm getrocknet:

3,828 mg Subst. gaben 10,84 mg CO<sub>2</sub> und 3,33 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>24</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	Ber. C 77,37	H 9,74%
(M.G. 372,53)	Gef. „ 77,28	„ 9,74%

$[\alpha]_D^{25} = -20^\circ$  in Alkohol (c = 0,958%).

Für die in Verbindung XII einzig enthaltene ungesättigte Gruppe, die  $\Delta^5$ -3-Acetoxygruppe, ist starke Gelbfärbung mit Tetranitromethan und vorübergehende Resistenz gegen verdünnt-alkoholische Permanganatlösung typisch.

Bei weiterer Elution der Aluminiumoxyd-Säule mit Petroläther-Benzol-Gemischen höheren Benzol-Gehaltes wurde neben kleineren uneinheitlichen Fraktionen auch ganz wenig Ausgangsmaterial erhalten. Mit Benzol-Äther-Gemisch 1:1 konnte schliesslich noch eine Verbindung gewonnen werden, die aus Aceton in Nadeln vom Zersetzungspunkt 180° krystallisierte und sich als wesentlich Sauerstoff-reicher erwies (C 71,3; H 9,0%).

Verseifung mit Hydrogencarbonat: 320 mg  $\Delta^5$ -16-Methyl-pregnen-3-ol-20-on-acetat (XII) wurden mit 200 mg Kaliumhydrogencarbonat in 4 cm<sup>3</sup> Wasser und 20 cm<sup>3</sup> Methanol  $\frac{3}{4}$  Stunden gekocht. Dann goss man die Reaktionslösung in 200 cm<sup>3</sup> Wasser, saugte das ausgeflockte Produkt ab, wusch es mit viel Wasser nach und trocknete

es im Vakuum-Exsikkator. Nach dem Umkrystallisieren aus Aceton schmolz das  $\Delta^5$ -16-Methyl-pregnen-3-ol-20-on (XIII) bei 205—207°.

Nach 20-stündigem Trocknen bei 100° und 0,02 mm:

3,992 mg Subst. gaben 11,70 mg CO<sub>2</sub> und 3,68 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 79,93 H 10,38%  
(M.G. 330,27) Gef. „ 79,98 „ 10,32%

$[\alpha]_D^{23} = -14^\circ$  in Alkohol (c = 0,90%)

1—2 mg XIII, in 0,4 cm<sup>3</sup> 90-proz. Alkohol gelöst und mit 0,4 cm<sup>3</sup> einer 1-proz. Lösung von Digitonin in 90-proz. Alkohol heiss versetzt, ergaben erst nach einiger Zeit eine Fällung von in der Wärme ziemlich löslicher Digitonin-Additionsverbindung.

Reacetylierung: 24 mg 16-Methyl-pregnenolol (XIII) wurden in 2 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin gelöst, die Lösung mit 0,5 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid versetzt, 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen und schliesslich in 20 cm<sup>3</sup> Wasser gegossen. Das ausgeflockte Präparat wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen, im Vakuum-Exsikkator getrocknet und aus Hexan umkrystallisiert. Es stimmte nach Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit 16-Methyl-pregnenolol-acetat (XII) überein.

Dehydrierung von 16-Methyl-pregnenolol (XIII)  
zu 16-Methyl-progesteron (XIV).

145 mg  $\Delta^5$ -16-Methyl-pregnen-3-ol-20-on (XIII) in 6 cm<sup>3</sup> absolutem Toluol wurden mit 1 cm<sup>3</sup> Cyclohexanon und 200 mg Aluminium-isopropylat 2 Stunden unter Calciumchlorid-Verschluss gekocht. Dann behandelte man das Reaktionsgemisch 1 Stunde mit Wasserdampf, säuerte den Rückstand mit verdünnter Schwefelsäure an und ätherte ihn aus. Die Ätherlösung wurde mit n. Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in Hexan aufgenommen und die Hexanlösung durch eine Säule von 4 g Aluminiumoxyd laufengelassen. Mit Hexan-Benzol-Gemischen 3:1 und 1:1 liess sich ein einheitliches Krystallinat gewinnen, das aus Hexan umkrystallisiert wurde. Die Nadeln von 16-Methyl-progesteron (XIV) schmolzen danach bei 210—211° und wurden zur Analyse 16 Stunden bei 80° und 0,02 mm getrocknet.

3,992 mg Subst. gaben 11,77 mg CO<sub>2</sub> und 3,54 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 80,42 H 9,83%  
(M.G. 328,26) Gef. „ 80,46 „ 9,92%

$[\alpha]_D^{23} = +131^\circ$  in Alkohol (c = 0,72%)

Absorption im Ultraviolett siehe theoretischer Teil!

XIV gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung, entfärbte hingegen verdünnt-alkoholische Permanganatlösung momentan. Im Gemisch mit dem Ausgangsmaterial XIII trat sehr starke Schmelzpunktserniedrigung ein.

Die Analysen wurden unter Leitung der HH. Dr. Gysel und Dr. Gubser in unseren Laboratorien ausgeführt.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba*, Basel,  
Pharmazeutische Abteilung.



## 215. Über Steroide.

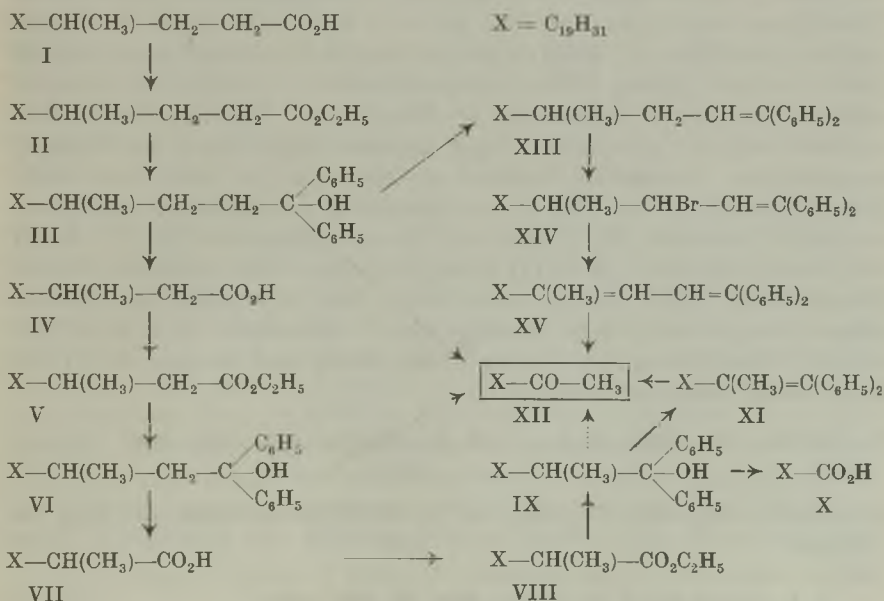
(33. Mitteilung<sup>1)</sup>).

### Ein einfacher Abbau der Gallensäuren-Seitenkette zur Methylketonstufe

von Ch. Meystre, H. Frey, A. Wettstein und K. Miescher.

(27. X. 44.)

Bereits 1936 beschrieben *Wieland, Schlichting* und *Jakobi*<sup>2)</sup> in einer klassisch gewordenen Arbeit den stufenweisen Abbau der Cholansäure I über die Nor-cholan-säure IV, die Bisnor-cholan-säure VII zur Aetio-cholan-säure X und weiterhin zu einer Dicarbonsäure, der Aetio-bilian-säure. Dabei beschritten sie einen zuerst von *Barbier* und *Locquin*<sup>3)</sup> empfohlenen Weg, nach dem jeweils die Carboxylgruppe zuerst verestert, der Ester (z. B. II) mit Phenyl- oder Methyl-magnesium-bromid umgesetzt und das erhaltene tertiäre Carbinol (z. B. III) bzw. die durch Wasserabspaltung daraus gewonnene Äthylenverbindung (z. B. XIII) mit Chromsäure oxydiert wird.



<sup>1)</sup> 38. Mitteilung siehe *Helv.* **27**, 1803 (1944).

<sup>2)</sup> *H. Wieland, O. Schlichting* und *R. Jakobi*, *Z. physiol. Ch.* **161**, 80 (1926).

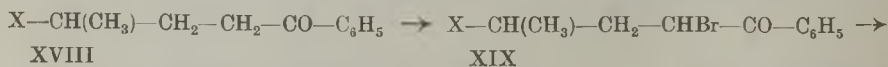
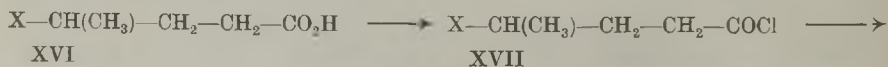
<sup>3)</sup> *Ph. Barbier* und *R. Locquin*, *C. r.* **156**, 1443 (1913).

Neben den Säuren erhielten *Wieland* und Mitarbeiter eine Reihe von Ketonen; insbesondere beschrieben sie die Bildung des Methylketons XII. Es entstand in geringer Menge als Nebenprodukt bei der Oxydation des tertiären Carbinols IX mit Chromsäure, aber auch der beiden Carbinole III und VI.

Methylketone erhält man auch in geringem Masse bei der direkten Oxydation der Sterine mit Chromsäure nach dem Verfahren von *Ruzicka*<sup>1)</sup> zur Gewinnung von Verbindungen der Androsteronreihe. Dieser Weg ist aber wenig ergiebig.

Da die Methylketone der Pregnanreihe wichtigen Hormonen, wie dem Progesteron und den Nebennierenrindenhormonen, zugrunde liegen, ist ihre Gewinnung aus Gallensäuren durch stufenweisen Abbau mehrfach unternommen worden. Die Bildung des Methylketons aus dem Carbinol IX wird naturgemäss verbessert, wenn vorerst Wasser abgespalten und die Äthylenverbindung XI mit Ozon oxydiert wird. Die Abtrennung von je 1 C-Atom der Seitenkette erfordert 3—4 Reaktionen und der Gesamtabbau von der Cholsäure zum Methylketon 10—12 Reaktionen. Dieses Vorgehen ist somit ausserordentlich umständlich und verlustreich.

Mehrfach wurden Anstrengungen unternommen, den Abbauweg zu verkürzen. Nach einem Vorschlag von *E. Bergmann*<sup>2)</sup> soll man durch Überführen von Lithocholsäure in die  $\alpha$ -bromierte Säure nach Abspaltung von HBr in 5 Reaktionen zur Bisnor-lithocholsäure gelangen. Da der weitere Abbau 4 Reaktionen erfordert, so beträgt die Gesamtzahl bis zur Methylketonstufe 9. Über dieses Verfahren ist nichts weiteres bekannt geworden. Nach unseren schon früher unabhängig ausgeführten Versuchen bewährt es sich aber in der Tat nicht. Kürzlich erschien eine Notiz von *Jacobsen*<sup>3)</sup>, wonach man ausgehend von der Cholsäure (XVI) über die Zwischenprodukte XVII—XXII zur Bisnor-cholsäure (XXIII) gelangen könne. Die Ausbeute bis zur Diketonstufe XXI betrage etwa 45%. Die Oxydation zur Bisnor-säure scheint noch nicht durchgeführt. Jedenfalls sind auch hier schon 7 Reaktionen nur bis zu dieser Stufe und im ganzen 11 bis zum Methylketon erforderlich<sup>4)</sup>.

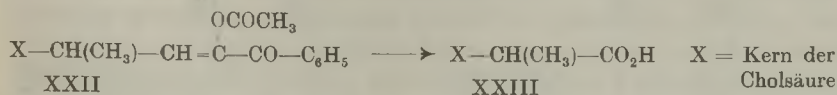
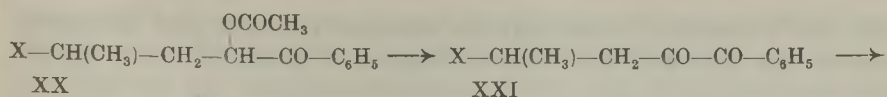


<sup>1)</sup> *L. Ruzicka* und *W. H. Fischer*, *Helv.* **20**, 1291 (1937).

<sup>2)</sup> *E. Bergmann*, *E.P.* 544 051 vom 19. 9. 40.

<sup>3)</sup> *R. Jacobsen*, *Am. Soc.* **66**, 662 (1944).

<sup>4)</sup> Selbstredend könnte in diesem wie im vorigen Fall von der Nor-säure ausgegangen werden; dies berührt aber unsere prinzipiellen Erörterungen nicht.



Die vorliegenden Abbauwege befriedigen somit noch keineswegs. Vorzuziehen wäre ein Verfahren, das auf einen Schlag die Abtrennung einer Dreikohlenstoffkette erlauben würde. Wäre es möglich, in der  $\alpha$ -Stellung zur Äthylenlücke der Verbindung XIII Halogen einzuführen, so erhielte man aus der so gewonnenen Verbindung XIV durch Halogenwasserstoffabspaltung das Dien XV. Seine Oxydation müsste direkt das gewünschte Methylketon XII neben Benzophenon und Oxalsäure ergeben. Ausgehend von der freien Cholsäure erfordert dies nur 6 Reaktionen. Wie *Ziegler* und Mitarbeiter<sup>1)</sup> kürzlich gezeigt haben, ist es prinzipiell möglich, mit Hilfe von Bromsuccinimid in  $\alpha$ -Stellung von analogen ungesättigten Systemen, z. B. in 1,1-Diphenyl-propylen-(1) und -n-butylen-(1) Brom einzuführen; auch die Umwandlung ins Dien liess sich in bestimmten Fällen realisieren.

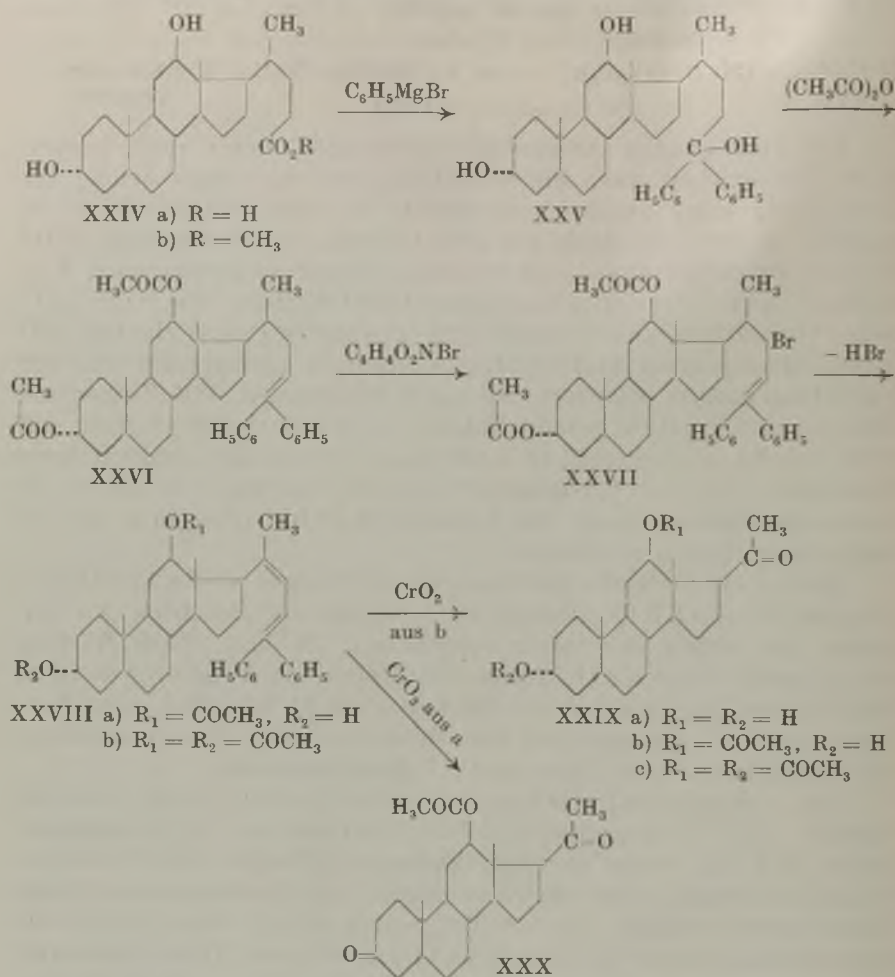
Da für synthetische Zwecke grössere Mengen an  $3\alpha,12\beta$ -Dioxy-pregnan-20-on (XXIX) erforderlich waren, untersuchten wir zunächst den Abbau der Desoxy-cholsäure (XXIVa). Nach *Wieland* war er bereits 1938 durch *Hoehn* und *Mason*<sup>2)</sup> durchgeführt worden. Sie erhielten das Diacetat des Methylketons (XXIXc) in einer Ausbeute von 7,1% (bezogen auf den Methylester der Desoxy-cholsäure als Ausgangsmaterial) über etwa 17 Zwischenglieder.

Als Ausgangsstoff verwendeten wir das von ihnen über das Carbinol (XXV) hergestellte  $\Delta^{23-3\alpha,12\beta}$ -Diacetoxy-24,24-diphenylcholen (XXVI). Schon der Publikation von *Ziegler* und Mitarbeiter ist zu entnehmen, dass die Einwirkung von Bromsuccinimid nicht überall glatt verläuft. In der Tat gelang es uns bisher nicht, die gewünschte Bromverbindung XXVII zu isolieren. Bromwasserstoff konnte zwar aus dem Rohprodukt gut mit Basen abgespalten werden, das erwartete Dien (XXVIIIb) liess sich aber zunächst trotz Entfernung von noch unverändertem Ausgangsmaterial mit Aceton nicht rein abtrennen. So oxydierten wir den Acetonrückstand direkt mit Chromsäure und unterwarfen das Oxydationsprodukt der partiellen Verseifung mit Kaliumcarbonat, wobei nach *Reichstein* und

<sup>1)</sup> *K. Ziegler, A. Späth, E. Schaaf, W. Schumann und E. Winkelmann, A. 551, 80 (1942).*

<sup>2)</sup> *W. M. Hoehn und H. L. Mason, Am. Soc. 60, 1493 (1938); siehe auch J. Sawlewicz Roczniki Chem. 18, 755 (1938) und P. Hegner und T. Reichstein, Helv. 26, 715 (1943).* Nach den Angaben letzterer Autoren berechnet sich die Ausbeute an Methylketon sogar bloss zu 3,8%.

von Arx<sup>1)</sup> bloss die 3-Acetylgruppe abgespalten wird. Zur Reinigung wurde das Gemisch mit Girard-Reagens P behandelt und die er-



haltene Girard-Verbindung gespalten. Durch Umkrystallisieren der so erhaltenen Ketonfraktion aus Isopropyläther konnte das gesuchte 3 $\alpha$ -Oxy-12 $\beta$ -acetoxy-pregnan-20-on (XXIXb) isoliert werden. Aus der Mutterlauge liess sich noch eine weitere Menge des Methylketons isolieren. Nach mehrmaligem Umlösen aus Methanol krystallisierte es in farblosen Nadeln vom Smp. 212—214<sup>o</sup> und zeigte eine Drehung von  $[\alpha]_D^{21} = +148,5 \pm 4^o$ . Es erwies sich als identisch mit einem nach Reichstein und von Arx dargestellten Produkt<sup>2)</sup>. Die Ausbeute

<sup>1)</sup> T. Reichstein und E. von Arx, Helv. 23, 747 (1940).

<sup>2)</sup> Sie geben einen Schmelzpunkt von 208—210<sup>o</sup> an.

betrug 25 % berechnet auf umgesetzte Äthylenverbindung. Damit war das gesuchte Ziel in relativ einfacher Weise erreicht<sup>1)</sup>.

Da wir die Äthylenverbindung XXVI mit 74 % Ausbeute aus Desoxy-cholsäure-methylester (XXIVb) gewonnen hatten, beträgt die Gesamtausbeute an Methylketon-monoacetat bezogen auf dieses Ausgangsmaterial 18,5 %, also mehr als das Zweieinhalbfache derjenigen von *Hoehn* und *Mason*, die als Endprodukt das Diacetat erhielten.

Durch Acetylierung des Methylketon-monoacetats (XXIXb) gewonnenes Diacetat (XXIXc), sowie durch Verseifung vorbereitetes freies Dioxy-methylketon (XXIXa) waren ebenfalls identisch mit von anderer Seite dargestellten Präparaten.

Die direkte Überführung der Äthylenverbindung XXVI ohne Isolierung der Zwischenprodukte in das Methylketon XXIX stellt einerseits eine Vereinfachung des Verfahrens dar, andererseits erschwert sie aber die Kontrolle des Reaktionsgangs. Es bedeutete daher einen Fortschritt, als es gelang, durch partielle Verseifung des rohen, nur vom Ausgangsmaterial befreiten Diens mit  $K_2CO_3$  in kochendem Methanol, es in Form seines Monoacetats XXVIIIa zu isolieren. Das  $\Delta^{20,23}$ -3 $\alpha$ -Oxy-12 $\beta$ -acetoxy-24,24-diphenyl-choladien ist in Methanol schwer löslich und kristallisiert schon während der Verseifung aus. Durch Umlösen aus Benzol erhält man es in feinsten Nadelchen vom Smp. 232—234°,  $[\alpha]_D^{21} = +197^\circ \pm 4^\circ$ . Durch Acetylieren wurde daraus das reine dimorphe Diacetat (XXVIIIb) in feinen Nadeln erhalten. Es schmolz bei 140—142° bzw. 184°,  $[\alpha]_D^{26} = +197^\circ \pm 4^\circ$ . In Methanol ist es ebenfalls relativ schwer löslich.

Der Einfluss einer neuen konjugierten Doppelbindung beim Dien tritt besonders deutlich beim Vergleich der Ultraviolett-spektren<sup>2)</sup> der Verbindungen XXVI und XXVIIIb hervor. Bei leicht erhöhter Extinktion zeigt die Absorptionsbande beim Übergang vom Diphenyl-äthylen- zum Diphenyldienderivat eine starke Verschiebung um etwa 600 Å nach dem langwelligen Gebiet (siehe Fig. 1, Kurven A und B).

Im Unterschied zur Äthylenverbindung (XXVI) und zum Methylketon (XXIXb), die keine ausgesprochene Farb-reaktion ergeben, färben sich die Acetate des Diens (XXVIIIa und b) nach *Liebermann-Burchard* von Rosa über Rot bis Bordeaux und mit Trichloressigsäure ohne oder mit Zusatz von wenig Eisessig Rosa bis Hellblau. Die Färbungen sind aber nicht sehr intensiv. Hingegen werden Lösungen der Acetate des Diens mit Tetranitromethan in Chloroform tiefbraun, während die Äthylenverbindung nur eine citronengelbe Farbe ergibt.

<sup>1)</sup> Das neue Verfahren wurde am 18. Aug. 1942 in der Schweiz zum Patent angemeldet.

<sup>2)</sup> Für ihre Ausführung sprechen wir Hrn. Prof. *Almasy* unseren besten Dank aus.

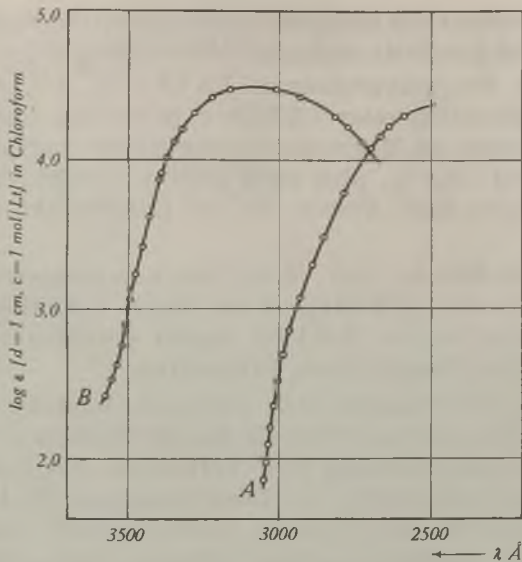


Fig. 1.

- A:  $\Delta^{23}$ -3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholen (XXVI);  
 B:  $\Delta^{20,23}$ -3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Diacetoxy-24,24-diphenyl-choladien (XXVIIb).

In Bestätigung unserer ohne Isolierung des Diens durchgeführten Versuche zeigte es sich, dass die Ausbeute an Dien massgeblich bestimmt wird durch die Zeitdauer der Einwirkung des Bromsuccinimids, das vorteilhaft entgegen der allgemeinen Vorschrift von Ziegler im Überschuss anzuwenden ist. Längeres Kochen der Reaktionslösung in Tetrachlorkohlenstoff erhöht die Ausbeute, lässt aber die Menge des regenerierbaren Ausgangsmaterials unverhältnismässig rasch absinken. Relativ am günstigsten erwies es sich, wenn die Reaktionsdauer beschränkt blieb. Bei längerem Kochen spaltet sich bereits Bromwasserstoff ab. Dadurch wird Brom in Freiheit gesetzt, das sich an vorhandene Doppelbindungen anlagert. Dies lässt sich auch schon bei kürzerem Kochen nicht ganz vermeiden. Wendet man nämlich zur HBr-Abspaltung milde Mittel, wie z. B. Acetanilid, an, so wird zwar die Hauptmenge Halogen entfernt, es bleiben aber stets noch bromhaltige Verbindungen zurück. Nachdem sich gezeigt hatte, dass das Dibromid der Verbindung XXVI durch kochendes Dimethylanilin quantitativ in die freie Äthylenverbindung übergeführt werden kann, empfiehlt sich dieses Mittel ganz besonders. Es kann aber selbstredend auch durch andere ersetzt werden. Die leichte Abspaltung von HBr aus der Monobromverbindung XXVII ergab sich auch daraus, dass schon beim Kochen des Rohproduktes in Methanol ein Methoxyderivat entstand, worauf wir später zurückkommen werden.

Das reine Dien-diacetat (XXVIIIb) unterwarfen wir nun der Oxydation mit Chromsäure in Chloroform-Eisessig. Auch hier erfolgte die Abtrennung des Methylketons mit *Girard*-Reagens. Die Ketonfraktion ergab nach partiellem Verseifen das Monoacetat des Methylketons (XXIXb) in einer Ausbeute von 58,5%. Oxydierte man in gleicher Weise das Dien-monoacetat (XXVIIIa), so entstand das dimorphe 12-Acetoxy-pregnan-3,20-dion (XXX) vom Smp. 130–131° sowie 136°. Nach Schmelzpunkt und Mischprobe erwies es sich als identisch mit einem von *Hegner* und *Reichstein* aus 3 $\alpha$ -Oxy-12 $\beta$ -acetoxy-pregnan-20-on gewonnenen Diketon<sup>1)</sup>.

Über ergänzende Versuche und die Übertragung des neuen Verfahrens auf andere Gallensäuren werden wir demnächst berichten. Abschliessend lässt sich sagen, dass der von uns durchgeführte Abbau einer Gallensäure zum Methylketon über die Dienverbindung, unter auf einmal erfolgreicher Ablösung von 3 C-Atomen der Valeriansäure-Seitenkette, gegenüber dem bisherigen Stand einen wesentlichen Fortschritt darstellt. Diese Methode dürfte sich auch in anderen ähnlich gelagerten Fällen als vorteilhaft erweisen.

### Experimenteller Teil<sup>2)</sup>.

1. Abbau von 1<sup>23</sup>-3 $\alpha$ , 12 $\beta$ -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholen (XXVI) zur Methylketonstufe, ohne Isolierung der Zwischenprodukte.

a) Umsetzung mit Bromsuccinimid. Zu einer siedenden Lösung von 100 g trockenem 1<sup>23</sup>-3 $\alpha$ , 12 $\beta$ -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholen in 500 cm<sup>3</sup> Tetrachlorkohlenstoff fügte man 40 g reines Bromsuccinimid und kochte 10 Minuten. Nun kühlte man durch Eintauchen des Kolbens in Eiswasser und nutschte das überschüssige Bromsuccinimid, sowie das gebildete Succinimid ab und wusch mit Tetrachlorkohlenstoff gut aus.

b) Abspaltung von Bromwasserstoff mit Dimethylanilin. Die erhaltene klare gelbe Lösung wurde mit 100 cm<sup>3</sup> Dimethylanilin versetzt und der Tetrachlorkohlenstoff abdestilliert. Die zurückbleibende Lösung erhitze man 10 Minuten lang zum Sieden und kühlte wieder ab. Die Lösung wurde hierauf mit Äther verdünnt und das Dimethylanilin durch Ausschütteln mit verdünnter Salzsäure und Wasser entfernt. Man trocknete mit Natriumsulfat und vertrieb den Äther. Rückstand: 100 g einer zum Teil krystallisierenden Substanz.

Zur Abtrennung des unverbrauchten Ausgangsmaterials wurde der Rückstand in 1 Liter Aceton gelöst und in der Wärme unter Rühren mit Wasser verdünnt. Bald krystallisierte das nicht umgesetzte Ausgangsmaterial aus. Nach dem Abkühlen wurde es abgenutscht und mit 200 cm<sup>3</sup> kaltem 75-proz. Aceton gewaschen und getrocknet. Es wurden 68 g Ausgangssubstanz erhalten, die ohne weiteres für einen folgenden Ansatz Verwendung finden konnte. Die erhaltene Lösung engte man ein und zog mit Äther aus. Der Rückstand der ätherischen Lösung wurde auf dem Wasserbad mit Acetanhydrid in Pyridin nachacetyliert. Pyridin und Acetanhydrid dampfte man hierauf im Vakuum ab, löste in Äther, wusch die Lösung mit verdünnter Salzsäure und Wasser, trocknete mit Natriumsulfat und dampfte ein. Durch nochmalige Behandlung mit wässrigem Aceton konnten noch weitere 6 g Ausgangssubstanz gewonnen werden (total 74 g).

<sup>1)</sup> P. *Hegner* und T. *Reichstein*, *Helv.* **26**, 723 (1943).

<sup>2)</sup> Alle Schmelzpunkte wurden nach *Kofler* unter dem Mikroskop thermoelektrisch bestimmt und sind somit korrigiert.

Die Mutterlaugen konzentrierte man im Vakuum, extrahierte mit Äther, trocknete mit Natriumsulfat und vertrieb das Lösungsmittel. Das so erhaltene amorphe gelbe Pulver enthielt das rohe  $\Delta^{20,23}$ - $3\alpha,12\beta$ -Diacetoxy-24,24-diphenyl-choladien (XXVIIIb) und wog 28 g.

c) Oxydation mit Chromsäure. Man löste das Pulver in 100 cm<sup>3</sup> Eisessig. Unter Eiskühlung gab man hiezu langsam eine abgekühlte Lösung von 20 g Chromtrioxyd in 20 cm<sup>3</sup> Wasser und 100 cm<sup>3</sup> Eisessig, hielt eine Stunde bei 0° und hierauf 15 Stunden bei 20°. Den Chromsäure-Überschuss zersetzte man durch Zusatz von 50 cm<sup>3</sup> Methanol, dampfte ein, nahm den Rückstand nach Zusatz von Wasser in Äther auf, wusch mit verdünnter Sodalösung und Wasser, trocknete und dampfte ein. Der 24,5 g wiegende ölige Rückstand enthielt das rohe  $3\alpha,12\beta$ -Diacetoxy-pregnan-20-on (XXIXc) neben Benzophenon und anderen Produkten.

d) Partielle Verseifung. Das erhaltene ölige Roh-Diacetat wurde in 500 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit einer Lösung von 6 g Kaliumcarbonat in 100 cm<sup>3</sup> Wasser und 250 cm<sup>3</sup> Methanol versetzt und 15 Stunden stehen gelassen. Nach Zugabe von 100 cm<sup>3</sup> Wasser engte man das Methanol bei gelinder Temperatur im Vakuum ein, schüttelte mit Äther aus, wusch mit verdünnter Sodalösung und Wasser, trocknete und dampfte wieder ein.

e) Trennung mit *Girard*-Reagens und Isolierung von  $3\alpha$ -Oxy- $12\beta$ -acetoxy-pregnan-20-on (XXIXb). Aus dem erhaltenen Öl trennte man mit Hilfe von 16 g *Girard*-Reagens P eine Ketonfraktion von 6,7 g ab und erhielt nach Umkrystallisieren aus Isopropyläther 3,8 g des gesuchten Methylketons. Aus den Mutterlaugen liessen sich noch weitere 340 mg isolieren (total 4,14 g = 25% berechnet auf umgesetztes Ausgangsprodukt). Nach mehrmaligem Umkrystallisieren des Monoacetats aus Methanol erhielten wir es in analysenreiner Form vom Smp. 212—214°.

3,838 mg Subst. gaben 10,30 mg CO<sub>2</sub> und 3,31 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 73,36 H 9,63%

Gef. „ 73,23 „ 9,65%

$[\alpha]_D^{21} = +148,5^{\circ} \pm 4^{\circ}$  (c = 1,035 in Aceton)

Die Mischprobe mit einem nach dem früheren stufenweisen Abbau erhaltenen Methylketon-monoacetat gab keine Erniedrigung des Schmelzpunktes.

f) Acetylierung und Verseifung des Methylketon-monoacetats XXIXb. Die Acetylierung des Methylketon-monoacetats mit Acetanhydrid in Pyridin führte zum Diacetat (XXIXc) vom Smp. 116-118°. Ein von *T. Reichstein* freundlichst überlassenes Präparat schmolz genau gleich<sup>1)</sup>, während *Hoehn* und *Mason* (l. c.) einen Schmelzpunkt von 121—122,5° angeben. Durch völlige Verseifung des Monoacetats mit äthanolischer Kalilauge gewannen wir auch das freie Dioxymethylketon (XXIXa) vom Smp. 167—170° (*Hoehn* und *Mason* 165—166°; *Reichstein* und *von Arx* 166—168°).

g) Entbromierung des Dibromids von  $\Delta^{23}$ - $3\alpha,12\beta$ -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholen. Eine Chloroformlösung von 1 g der Äthylenverbindung XXVI wurde mit einem kleinen Überschuss von Brom versetzt. Die Entfärbung trat sofort ein. Den nach Vertreibung des Lösungsmittels erhaltenen Rückstand des Dibromids kochte man mit Dimethylanilin 10 Minuten lang, nahm in Äther auf, zog mit Salzsäure die Base aus und wusch mit Wasser nach. Durch Umkrystallisieren des Ätherrückstandes aus Äther-Methanol gewannen wir die Äthylenverbindung XXVI vom Smp. 163—165° mit guter Ausbeute wieder zurück.

## 2. Isolierung des Diens und seiner Derivate.

a)  $\Delta^{20,23}$ - $3\alpha$ -Oxy- $12\beta$ -acetoxy-24,24-diphenyl-choladien (XXVIIIa).

22,8 g einer aus 100 g Cholen-Verbindung (XXVI) nach Abtrennung von Ausgangsmaterial erhaltenen rohen Dienfraktion nahm man in 400 cm<sup>3</sup> Methanol auf und kochte nach Zugabe einer Lösung von 5,3 g Kaliumcarbonat in 20 cm<sup>3</sup> Wasser während 3 Stunden

<sup>1)</sup> Die Mischprobe ergab keine Schmelzpunktserniedrigung.



am Rückfluss. Innert 10—20 Minuten trat allmählich Lösung ein und nach 20—30 Minuten begann das Verseifungsprodukt langsam in fein krystalliner Form auszufallen. Es wurde abgenutscht, mit wenig Äther gewaschen und getrocknet. Man erhielt 8,1 g Dien-monoacetat, das zwischen 220—223° schmolz. Durch einmaliges Umkrystallisieren aus Benzol gewannen wir es in feinsten Nadelchen vom Smp. 232—234°. Die Ausbeute betrug 37,8% berechnet auf 23,2 g umgesetzte Cholen-Verbindung.

3,688 mg Subst. gaben 14,16 mg CO<sub>2</sub> und 3,73 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>38</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 82,56 H 8,75%

Gef. „ 82,43 „ 8,90%

$[\alpha]_D^{21} = +197 \pm 4^{\circ}$  (c = 0,926 in Chloroform)

b)  $\Delta^{20,23}$ -3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Diacetoxy-24,24-diphenyl-choladien (XXVIIIb).

20 g Dien-monoacetat wurden zusammen mit 100 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid und 200 cm<sup>3</sup> Pyridin während 60 Minuten auf dem siedenden Wasserbad erwärmt. Nach Eindampfen im Vakuum löste man den Rückstand in Chloroform und wusch den Extrakt nacheinander mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser. Die Chloroformlösung wurde getrocknet und eingedampft. Den Rückstand (21,9 g) löste man in 500 cm<sup>3</sup> Aceton und filtrierte nach Zusatz von etwas Norit. Aus dem Filtrat krystallisierte das Diacetat nach Zusatz von 200 cm<sup>3</sup> Methanol in feinen verfilzten Nadeln aus (20 g). Offenbar besteht Dimorphie; denn es schmolz bei 140—142°, erstarrte wieder in Form langer Nadeln und schmolz endgültig bei 184°.

Das reine Diacetat ist selbst in kochendem Methanol nur zu etwa 1% löslich.

4,189 mg Subst. gaben 12,42 mg CO<sub>2</sub> und 3,18 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>40</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 80,76 H 8,47%

Gef. „ 80,74 „ 8,48%

$[\alpha]_D^{26} = +197 \pm 4^{\circ}$  (c = 1,08 in Chloroform)

Die Drehung der Ausgangssubstanz, des  $\Delta^{23}$ -3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholens XXVI, betrug dagegen:  $[\alpha]_D^{21} = +96^{\circ} \pm 4^{\circ}$  (c = 1,00 in Chloroform).

3. Oxydation der reinen Dien-acetate (XXVIII) mit Chromsäure zu Methylketonen (XXIX).

a) 3 $\alpha$ -Oxy-12 $\beta$ -acetoxy-pregnan-20-on (XXIXb).

5,9 g Dien-diacetat löste man in 10 cm<sup>3</sup> Chloroform und 60 cm<sup>3</sup> Eisessig und liess innerhalb 60 Minuten bei 15—20° eine Lösung von 4 g Chromtrioxyd in 3 cm<sup>3</sup> Wasser und 17 cm<sup>3</sup> reinem Eisessig langsam zutropfen. Nach weiteren 2 Stunden wurde das Reaktionsgemisch in Wasser gegossen. Man gab etwas Hydrogensulfid zu und schüttelte anschliessend mit Äther aus. Die neutral gewaschene Lösung lieferte nach dem Eindampfen 5,7 g eines rötlichen Harzes, das man zusammen mit 40 cm<sup>3</sup> absolutem Äthanol, 5 g Girard-Reagens P und 4 cm<sup>3</sup> Eisessig während 30 Minuten zum Sieden erhitzte. Die klare Reaktionslösung wurde nun gekühlt und nach Zugabe von 400 cm<sup>3</sup> gekühlter 0,15-n. Natronlauge sofort zweimal mit Äther ausgeschüttelt. Nun säuerte man die wässrige Phase mit Schwefelsäure an und extrahierte nach einigem Stehen die freigesetzte Keton-Fraktion mit Äther. Die neutral gewaschene Lösung lieferte nach dem Verdampfen des Lösungsmittels 4,0 g eines gelbbraunen Harzes.

Zur partiellen Verseifung wurde das Rohprodukt in 100 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit der Lösung von 1,7 g Kaliumcarbonat in 20 cm<sup>3</sup> Wasser und 50 cm<sup>3</sup> Methanol versetzt und etwa 20 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann gab man 20 cm<sup>3</sup> Wasser zu und vertrieb weitgehend das Methanol, wobei das Methylketon krystallin ausfiel. Nun nahm man in Äther auf, wusch mit Wasser neutral, trocknete und dampfte auf ein kleines Volumen ein. Die ausgefallenen Krystalle wurden abgenutscht, mit etwas Äther von der gelbgefärbten Mutterlauge befreit und getrocknet. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Methanol schmolz das 3 $\alpha$ -Oxy-12 $\beta$ -acetoxy-pregnan-20-on zwischen 208—210°. Die Ausbeute betrug 2,2 g = 58,5% d. Th.

b.  $12\beta$ -Acetoxy-pregnan-3,20-dion (XXX).

5,5 g Dien-monoacetat löste man in 30 cm<sup>3</sup> Chloroform und 100 cm<sup>3</sup> Eisessig und liess innerhalb einer Stunde bei 15—20° eine Lösung von 5 g Chromtrioxyd in 4 cm<sup>3</sup> Wasser und 23 cm<sup>3</sup> Eisessig zutropfen. Nach 3 Stunden wurde das Reaktionsgemisch in Wasser gegossen und nach Zugabe von etwas Hydrogensulfid mit Äther ausgeschüttelt. Die neutral gewaschene Lösung lieferte nach dem Eindampfen 5,0 g eines rötlichen Harzes, das man in üblicher Weise mit *Girard*-Reagens behandelte. Die auf diese Weise gewonnene Ketonfraktion krystallisierte nach Zusatz von etwas Isopropyläther in Form eines feinen Pulvers, das bei 126,5—127° schmolz. Durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Aceton wurden feine, zu Drusen verwachsene lanzettförmige Nadelchen erhalten. Auch dieses Diketon erwies sich als dimorph: denn es schmolz zuerst bei 130—131°, erstarrte wieder zu breiten Prismen und schmolz endgültig bei 136°.

Die Mischprobe mit einem von *Hegner* und *Reichstein* in anderer Weise gewonnenen Präparat zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung.

Die Analysen wurden unter der Leitung von Hrn. Dr. *Gysel* in unserem mikroanalytischen Laboratorium ausgeführt.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba*, Basel.  
Pharmazeutische Abteilung.

216. Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren  
im tierischen Organismus.

4. Über den oxydativen Abbau der Aminosäuren im Gehirn  
von S. Edlbaeher und O. Wiss.

(25. X. 44.)

In unserer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> haben wir über den Abbau verschiedener Aminosäuren durch Gehirnhackbrei berichtet. In Erweiterung der ursprünglichen Versuche von *Weil-Malherbe*<sup>2)</sup> konnte gezeigt werden, dass unter den gewählten Versuchsbedingungen zerkleinertes Gehirngewebe nicht nur *l*-Glutaminsäure, sondern auch *l*- und *d*-Alanin, *l*- und *d*-Valin, *l*- und *d*-Leucin, *l*- und *d*-Asparaginsäure oxydativ desaminiert. In Fortsetzung dieser Untersuchungen haben wir nun festgestellt, dass durch Gehirngewebe auch *l*- und *d*-Isoleucin, *l*- und *d*-Phenylalanin, *d*-Histidin, *l*-Arginin, *l*-Ornithin, *l*-Lysin und *l*-Tryptophan oxydativ desaminiert werden. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen unserer letzten Mitteilung zeigte es sich auch hier, dass die unnatürlichen *d*-Formen der Aminosäuren viel intensiver desaminiert werden als ihre optischen Antipoden. Als Mass für den Abbau haben wir wieder die Ammoniakbestimmung nach der *Conway*'schen Diffusionsmethode verwendet. In manchen Fällen ist bei den Atmungsversuchen kein Sauerstoff-Mehrverbrauch

<sup>1)</sup> Helv. 27, 1060 (1944).

<sup>2)</sup> Biochem. J. 30, 665 (1936).

bei Zusatz einer Aminosäure zu beobachten. Dies kommt daher, dass die in dem Enzym-Material schon vorhandenen oxydierbaren Substanzen mit der zugesetzten Aminosäure um den Sauerstoff konkurrieren. Diese sogenannte Leeratmung des Enzym-Materials ist manchmal sehr stark. Wir haben schon in den beiden Mitteilungen mit *H. Grauer*<sup>1)</sup> auf diese Tatsache hingewiesen.

Da die erwähnte *Conway*'sche Ammoniak-Bestimmungsmethode es nun gestattet, noch wenige Gamma gebildeten Ammoniaks mit grösster Sicherheit zu bestimmen, ist erst durch Anwendung dieser Versuchstechnik der Nachweis des Abbaues vieler Aminosäuren möglich gewesen. Die unnatürlichen Aminosäuren der *d*-Reihe werden über zehnfach, in einzelnen Fällen sogar hundertfach stärker abgebaut als die Aminosäuren der natürlichen *l*-Reihe. In manchen Fällen liegen die gebildeten Ammoniakwerte für die *l*-Aminosäuren gerade an der Grenze der Leistungsfähigkeit der Methodik. Durch sorgfältigste Kontrolluntersuchungen sind aber auch diese Abbauwerte durchaus sichergestellt.

Dass es sich bei diesen Abbauversuchen um aerobe Desaminierungen handelt, konnten wir dadurch beweisen, dass wir die gleichen Abbauversuche in Stickstoff-Atmosphäre durchführten, wobei sich keine Ammoniakbildung feststellen liess. In unserer vorherigen Mitteilung hatten wir im Anschluss an die Untersuchungen über das *Abderhalden*'sche Schockphänomen, das namentlich bei Tauben nach Injektion von *d*-Alanin auftritt, die Möglichkeit erwogen, dass diese Symptome durch Blockierung lebenswichtiger Stoffwechselforgänge des Gehirns durch *d*-Alanin bedingt wären. Auf Grund dieser Überlegung hatten wir in der früheren Mitteilung schon Konkurrenzversuche zwischen verschiedenen *d*- und *l*-Aminosäuren mitgeteilt, welche ergaben, dass bei Wahl von geeigneten Aminosäure-Konzentrationen sehr intensive Konkurrenzen um den Sauerstoff-Verbrauch auftreten können. Diese Konkurrenzversuche bildeten einen deutlichen Hinweis, dass beim *Abderhalden*'schen Schockphänomen wahrscheinlich ebenfalls derartige Konkurrenzen auftreten. Wir werden in einer folgenden Mitteilung auf diese eigentümlichen Verhältnisse ausführlich zurückkommen.

Weiterhin wurde die Intensität der oxydativen Desaminierung in Gehirn-, Leber- und Nierengewebe, das in gleicher Weise präpariert worden war, verglichen. Solchen Vergleichen haftet natürlich eine Willkür an, denn es werden die Abbauwerte auf das Organvolumen oder das Organgewicht bezogen. Bei der grossen histologischen Verschiedenheit der verglichenen drei Organe sagen derartige Vergleichswerte natürlich nur bilanzmässig etwas über die Intensität des Eiweiss-Stoffwechsels in den betreffenden Organen aus. Man

<sup>1)</sup> *Helv.* 27, 151 und 928 (1944).

könnte sich aber vorstellen, dass gewisse Zellarten oder Zellbezirke in den verschiedenen Organen die oxydative Desaminierung in gleicher Intensität durchführen. Nur kann dies mit der vorliegenden Methodik nicht bewiesen werden. Bei der Besprechung der Ergebnisse werden wir auf diesen Punkt noch zurückgreifen.

In einer früheren Mitteilung haben *S. Edlbacher, E. Goldschmid* und *V. Schläppi*<sup>1)</sup> namentlich in bezug auf die Dephosphorylierungsreaktion Untersuchungen mitgeteilt, welche eine eigentümliche Reaktionsträgheit der Gehirnssubstanz gegenüber anderen Geweben bewiesen. Diese Versuche stehen in einer gewissen Übereinstimmung zu den oxydativen Desaminierungsvorgängen des Gehirns, die auch bilanzmässig relativ geringfügig sind, mit Ausnahme der schon von *Weil-Matherbe* (l. c.) nachgewiesenen dominierenden oxydativen Desaminierung der *l*-Glutaminsäure. Dass tatsächlich grosse Unterschiede durch den histologischen Bau des Gehirns bedingt sind, wurde schon in unserer letzten Mitteilung auf Grund der Atmungsgrösse verschiedener Gehirnpartien gezeigt.

In den mitgeteilten Versuchen liess sich ein Abbau der verschiedenen Aminosäuren meist nur bei Anwendung von ganz unphysiologisch hohen Substratkonzentrationen nachweisen. Dies muss aber nun nicht bedeuten, dass unter physiologischen Bedingungen tatsächlich kein Abbau stattfindet. Im intakten Gehirngewebe finden neben den Desaminierungsvorgängen sicher eine grosse Zahl von aminierenden und umaminierenden Reaktionen statt, sodass normalerweise Ammoniak im freien Zustand gar nicht auftreten kann. Es ist dementsprechend von vornherein zu erwarten, dass erst bei Anwendung sehr hoher Substratkonzentrationen das Gleichgewicht des Reaktionsablaufs so weit verschoben wird, dass freies Ammoniak nachweisbar wird.

Die antipodische Hemmung des Aminosäure-Abbaues, die der eine von uns (*E.*)<sup>2)</sup> am Beispiel der Histidase nachgewiesen hat, lässt sich, wie schon oben erwähnt, beim oxydativen Aminosäure-Abbau weitgehend beobachten. Ihr Auftreten weist darauf hin, dass wahrscheinlich die einzelnen Aminosäure-oxydasen gemeinsame Komponenten besitzen. Wir werden in einer folgenden Mitteilung genauer darauf eingehen.

### Experimenteller Teil.

Die Bereitung des ausgewaschenen Hackbreies des Gehirns, die Messung des Sauerstoff-Verbrauches, die Bestimmung des gebildeten Ammoniaks sind in der letzten Mitteilung beschrieben. Der Leber- und Nierenhackbrei wurde in der gleichen Weise hergestellt und ausgewaschen. Der Gehirnhackbrei wurde jeweils ohne Pufferzusatz in die *Warburg*-Gefässe pipettiert. Es hat sich als notwendig erwiesen, zum Leber- und Nierenhackbrei etwas Puffer zuzugeben, damit sich das Material in die Pipette aufsaugen liess, und zwar wurde  $\frac{1}{3}$  des Organgewichts Puffer zugesetzt. Für alle Versuche verwendeten

<sup>1)</sup> *Z. physiol. Ch.* **227**, 118 (1934).

<sup>2)</sup> *Z. physiol. Ch.* **265**, 61 (1940).

wir Sørensen-Phosphatpuffer  $p_H = 7,0$ . Die Versuchsdauer betrug immer eine Stunde. Das Gesamtflüssigkeitsvolumen ist bei den einzelnen Tabellen angegeben. Die angegebenen Konzentrationen sind als Endkonzentration des jeweiligen Ansatzes zu betrachten. Der Sauerstoffverbrauch ist in den Tabellen mit einem + bezeichnet. Ist der Sauerstoffverbrauch kleiner als der des Leeransatzes, so findet sich ein — vor den Ziffern. Für die Versuche in Stickstoff-Atmosphäre haben wir die Gefässchen mit einem kräftigen Stickstoff-Strom, der durch Pyrogalllösung und über glühende Kupferwolle geleitet wurde, während 10 Minuten durchströmt. Die in den folgenden Tabellen zusammengestellten Abbauwerte sind als Einzelwerte vielfach wiederholter Untersuchungen zu betrachten, die prinzipiell immer das gleiche Resultat ergaben.

**Tabelle 1.**

Abbau weiterer Aminosäuren.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 4 cm<sup>3</sup>.

Ratten-Hirnhackbrei = 1 cm<sup>3</sup>.

Aminosäuren	Mol	mm <sup>3</sup> Sauerstoff- Verbrauch	O <sub>2</sub> -Verbrauch abzüglich Leerwert	$\gamma$ NH <sub>3</sub> - Bildung	$\gamma$ NH <sub>3</sub> - Bildung abzüglich Leerwert
—	—	152	—	37	—
<i>l</i> -Phenylalanin . . .	m/10	161	+ 9	45	8
<i>d</i> -Phenylalanin . . .	m/20	191	+ 39	106	69
—	—	179	—	37	—
<i>l</i> -Isoleucin . . . . .	m/10	156	- 23	43	6
<i>d</i> -Isoleucin . . . . .	m/10	195	+ 16	79	42
—	—	134	—	38	—
<i>l</i> -Arginin . . . . .	m/10	159	+ 25	48,5	10,5
<i>l</i> -Lysin . . . . .	m/10	143	+ 9	45	7
—	—	91	—	23	—
<i>l</i> -Tryptophan . . . . .	m/15	79	- 12	28	5
<i>l</i> -Ornithin . . . . .	m/10	100	+ 9	32	9
—	—	211	—	45	—
<i>l</i> -Histidin . . . . .	m/10	194	- 17	45	0
<i>d</i> -Histidin . . . . .	m/10	235	+ 24	58	13

**Tabelle 1a.**

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 2,5 cm<sup>3</sup>.

Ratten-Hirnhackbrei = 0,5 cm<sup>3</sup>.

Aminosäuren	Mol	mm <sup>3</sup> Sauerstoff- Verbrauch	O <sub>2</sub> -Verbrauch abzüglich Leerwert	$\gamma$ NH <sub>3</sub> - Bildung	$\gamma$ NH <sub>3</sub> - Bildung abzüglich Leerwert
—	—	72	—	14	—
<i>l</i> -Tyrosin . . . . .	m/60	56	- 16	13,5	- 0,5
Glykokoll . . . . .	m/6	72	0	15	1
Glykocyamin . . . . .	m/10	68	- 4	14	0

**Tabelle 2.**

Abbau der Aminosäuren in Stickstoff-Atmosphäre.  
Gesamtflüssigkeitsvolumen = 4 cm<sup>3</sup>.  
Ratten-Gehirnhackbrei = 1 cm<sup>3</sup>.

Aminosäure	Mol	$\gamma$ Ammoniak	$\gamma$ Ammoniak abzüglich Leerwert
—	—	21,5	—
<i>d</i> -Alanin . . . .	m/10	19	- 2,5
<i>l</i> -Alanin . . . .	m/10	20	- 1,5
<i>d</i> -Valin . . . . .	m/10	20	- 1,5
<i>l</i> -Valin . . . . .	m/10	19	- 2,5
—	—	12	—
<i>d</i> -Leucin . . . . .	m/15	13,5	1,5
<i>l</i> -Leucin . . . . .	m/15	14,5	2,5
<i>d</i> -Isoleucin . . . .	m/15	15,5	3,5
<i>l</i> -Isoleucin . . . .	m/15	12,5	0,5
—	—	17	—
<i>d</i> -Phenylalanin . .	m/15	17	0
<i>l</i> -Phenylalanin . .	m/15	19	2
<i>d</i> -Histidin . . . . .	m/10	17	0
—	—	11	—
<i>l</i> -Tryptophan . . .	m/12,5	12,5	1,5
<i>l</i> -Ornithin . . . . .	m/10	12	1
<i>l</i> -Arginin . . . . .	m/5	11,5	0,5
<i>l</i> -Lysin . . . . .	m/5	11	0

**Tabelle 3.**

Konkurrenzversuche zwischen den optischen Antipoden.  
Gesamtflüssigkeitsvolumen = 4 cm<sup>3</sup>.  
Ratten-Gehirnhackbrei = 1 cm<sup>3</sup>.

Aminosäuren	Mol	mm <sup>3</sup> Sauerstoff- Verbrauch	O <sub>2</sub> -Verbrauch abzüglich Leerwert	$\gamma$ NH <sub>3</sub> - Bildung	$\gamma$ NH <sub>3</sub> - Bildung abzüglich Leerwert
—	—	47	—	23	—
<i>l</i> -Alanin . . . . .	m/10	72	+ 25	34	11
<i>d</i> -Alanin . . . . .	m/10	194	+ 147	87,5	64,5
<i>l</i> -Alanin + . . . . .	m/10	210	+ 163	91	68
<i>d</i> -Alanin . . . . .	m/10				
—	—	73	—	24,5	—
<i>l</i> -Valin . . . . .	m/10	86	+ 13	34,5	10
<i>d</i> -Valin . . . . .	m/10	106	+ 33	55	30,5
<i>l</i> -Valin + . . . . .	m/10	113	+ 40	55	30,5
<i>d</i> -Valin . . . . .	m/10				

Tabelle 3 (Fortsetzung).

Aminosäuren	Mol	mm <sup>3</sup> Sauerstoff- Verbrauch	O <sub>2</sub> -Verbrauch abzüglich Leerwert	γ NH <sub>3</sub> - Bildung	γ NH <sub>3</sub> - Bildung abzüglich Leerwert
—	—	84	—	24,5	—
<i>l</i> -Leucin . . . .	m/11,5	96	+ 12	31	6,5
<i>d</i> -Leucin . . . .	m/15	100	+ 16	48	23,5
<i>l</i> -Leucin + . . . .	m/11,5	97	+ 13	45	20,5
<i>d</i> -Leucin . . . .	m/15				
—	—	126	—	25,5	—
<i>l</i> -Isoleucin . . . .	m/10	135	+ 9	30	4,5
<i>d</i> -Isoleucin . . . .	m/10	153	+ 27	49	23,5
<i>l</i> -Isoleucin + . . . .	m/10	153	+ 27	44	18,5
<i>d</i> -Isoleucin . . . .	m/10				
—	—	114	—	28	—
<i>l</i> -Phenylalanin . .	m/11,5	119	+ 5	35	7
<i>d</i> -Phenylalanin . .	m/11,5	152	+ 38	120	92
<i>l</i> -Phenylalanin + .	m/11,5	147	+ 33	96	68
<i>d</i> -Phenylalanin . .	m/11,5				
—	—	211	—	45	—
<i>l</i> -Histidin . . . .	m/10	194	— 17	45	0
<i>d</i> -Histidin . . . .	m/10	235	+ 24	58	13
<i>l</i> -Histidin + . . . .	m/10	216	+ 5	53	8
<i>d</i> -Histidin . . . .	m/10				

Aus den obigen Tabellen ergibt sich also, dass ausser den in der 3. Mitteilung erwähnten Aminosäuren durch Gehirngewebe *l*- und *d*-Isoleucin, *l*- und *d*-Phenylalanin, *d*-Histidin, *l*-Arginin, *l*-Ornithin, *l*-Lysin und *l*-Tryptophan oxydativ desaminiert werden, während bei Glykokoll, *l*-Histidin und Glykocyamin keine Ammoniakbildung nachweisbar ist.

Tabelle 2 zeigt, dass tatsächlich in Stickstoff-Atmosphäre keine messbaren Ammoniakmengen nachgewiesen werden können. Der Abbau der Aminosäuren durch Gehirnhackbrei geht also nur unter aeroben Bedingungen vor sich. Es sei übrigens ausdrücklich erwähnt, dass man bei Ersatz des Sauerstoffs durch andere Wasserstoff-Akzeptoren wie Methylenblau etc. nach der *Thunberg*'schen Methodik die oxydative Desaminierung der Aminosäuren im Gehirn ebenfalls beobachten kann.

Die in Tabelle 3 wiedergegebenen Konkurrenzversuche zeigen deutlich, dass die *l*- und *d*-Substrate um das Enzym konkurrieren. Es ist auch noch zu erwähnen, dass mit zunehmender Länge der C-Kette ansteigend von Alanin → Valin → Leucin ein Ansteigen der konkurrierenden Hemmung zu beobachten ist.

Der Vergleich des Abbaues der verschiedenen Aminosäuren im Gehirn-, Leber- und Nierengewebe ergibt bei allen drei Organen, dass sie sich prinzipiell gleich verhalten. Wenn tatsächlich im Gehirn der Abbau der meisten Aminosäuren, bezogen auf das Organgewicht, sehr geringfügig erscheint, so ist zu bedenken, dass durch den grossen Lipoidreichtum des Nervengewebes hier spezielle Verhältnisse bestehen. Wie schon eingangs hervorgehoben wurde, erscheint es wahrscheinlich, dass ganz bestimmte histologische Elemente die oxydative Desaminierung der Aminosäuren durchführen. Es muss in diesem Zusammenhang auf die zahlreichen Beobachtungen von *T. Caspersson*<sup>1)</sup> hingewiesen

<sup>1)</sup> Zusammenfassende Darstellung: Acta Radiol. Suppl. 46, Stockholm 1942 sowie Naturwiss. 29, 29 (1941).

Tabelle 4.

Gegenüberstellung der Abbauwerte von Gehirn, Leber- und Nierengewebe der Ratte.  
 Gesamtflüssigkeitsvolumen für Ansätze mit Gehirn = 4 cm<sup>3</sup>. Gesamtflüssigkeitsvolumen für Ansätze mit Leber und Niere = 3 cm<sup>3</sup>.  
 Legende: G = Gehirn, L = Leber, N = Niere.

Aminosäuren	Mol	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub> Verbrauch			O <sub>2</sub> Verbrauch abzüglich Leerwert			γ Ammoniak-Bildung			γ Ammoniak-Bildung abzüglich Leerwert		
		G	L	N	G	L	N	G	L	N	G	L	N
<i>l</i> -Alanin	m/10	47	73	264	+ 25	+ 16	- 84	23	12	44	11	10	- 2*
<i>d</i> -Alanin	m/10	194	287	1473	+ 147	+ 214	+ 1209	87,5	421	1810	64,5	409	1766
<i>l</i> -Valin	m/10	73	73	285	-	-	-	24,5	12	35	10	13	23
<i>d</i> -Valin	m/10	113	157	703	+ 33	+ 84	+ 418	34,5	202	975	30,5	190	940
*** <i>l</i> -Leucin	m/11,4	84	81	253	+ 12	- 4	- 68	24,5	18	25	6,5	9,5	31
<i>d</i> -Leucin	m/15	100	131	348	+ 16	+ 50	+ 95	31	27,5	56	23,5	87	721
<i>l</i> -Isoleucin	m/10	126	95	253	+ 9	- 1	+ 1	25,5	20,5	25	4,5	8,5	50
<i>d</i> -Isoleucin	m/10	153	141	532	+ 27	+ 46	+ 279	30	29	75	23,5	79,5	621
<i>l</i> -Phenylalanin	m/10	161	50	212	+ 9	+ 11	- 167	37	20	47	8	49	43
<i>d</i> -Phenylalanin	m/20	191	199	568	+ 53	+ 160	+ 189	106	377	1022	69	+ 357	975
<i>d</i> -Histidin**	m/10	82	42	251	-	-	-	21	11	30	14	66	268
<i>l</i> -Tryptophan	m/12,5	102	53	383	-	-	-	35	77	298	7	5	24
<i>l</i> -Lysin	m/10	134	73	369	-	-	-	23	20	68	7	5	24
<i>l</i> -Ornithin	m/10	97	73	366	+ 9	- 13	+ 83	38	12,5	43	7	- 5	56
		100	72	551	+ 3	- 1	+ 185	45	12,5	43	10	6	147

\* Bei höherer Alaninkonzentration fand jedoch eine messbare Ammoniakbildung statt. Bei m/2,5 *l*-Alanin-Konzentration betrug sie 13 γ.  
 \*\* *l*-Histidin wurde wegen des Vorkommens der Histidase nicht aufgenommen.  
 \*\*\* In allen Versuchsansätzen mit Nierenhackbrei betrug die *d*- und *l*-Leucin-Konzentration m/10.



werden, welcher den Beweis zu führen versucht, dass die Eiweiss-Synthese sich hauptsächlich in der Zellkernsubstanz abspielt. Da Aminosäure-Synthese und Aminosäure-Abbau in innigster Weise miteinander verknüpft sein werden, erscheint es vom physiologischen Standpunkt sehr wahrscheinlich, dass bestimmte Zellbezirke in den verschiedenen Organen in ähnlicher Weise funktionieren.

Wir möchten endlich nochmals hervorheben, dass diese Untersuchungen mit den ursprünglichen Beobachtungen von *Weil-Malherbe* (1. c.) nicht in Widerspruch stehen, sondern diese durch eine andere Versuchstechnik erweitern.

Frl. *Frieda Nebiker* hat bei den Versuchen wertvolle Hilfe geleistet.

Basel, Physiologisch-chemisches Institut der Universität.

## 217. Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus.

### 5. Die antipodische Hemmung des Aminosäure-Abbaues

von S. Edlbacher und O. Wiss.

(25. X. 44.)

Als „antipodische Hemmung“ bezeichnen wir bekanntlich die Erscheinung, dass der enzymatische Abbau einer optisch aktiven Substanz durch die Gegenwart des optischen Antipoden gehemmt wird. Es wurde dieses Verhalten von einem von uns (*E.*) am Beispiele der Histidase<sup>1)</sup> gezeigt. Auch *E. Bamann*<sup>2)</sup> hat solche Verhältnisse bei den Organproteasen entdeckt. Er konnte zeigen, dass bei Versuchen mit *d,l*-Leucylglycin die *d*-Peptidspaltung durch das entstehende *l*-Leucin blockiert wird<sup>3)</sup>. Gemeinsam mit *H. Baur*<sup>4)</sup> haben wir auch über Versuche mit Peptidasen berichtet, die darauf hinweisen, dass die *l*-Leucylglycinspaltung antipodisch durch das *d*-Peptid gehemmt wird. Eine Beeinflussung der *d*-Alanin-oxydase durch *l*-Alanin ist unter den damals gewählten Versuchsbedingungen nicht erwiesen worden. In den beiden Mitteilungen über den Abbau der Aminosäuren im Gehirn<sup>5)</sup> haben wir nun dieses Problem weiter verfolgt und konnten zeigen, dass sich auch der oxydative Abbau der Aminosäuren durch die Enzyme des Gehirnes antipodisch hemmen lässt. Wie zu erwarten war, wird diese Hemmung weitgehend durch die Konzentrationsverhältnisse der Reaktionspartner beeinflusst. So ist z. B. die Hemmung des *l*-Glutaminsäure-Abbaues nur bei hohen Substratkonzentrationen unter Messung des Sauerstoffverbrauches

<sup>1)</sup> Z. physiol. Ch. **265**, 61 (1940).

<sup>2)</sup> Bioch. Z. **310**, 119 (1941) und **310**, 302 (1941).

<sup>3)</sup> Naturwiss. **29**, 515 (1941).

<sup>4)</sup> Z. physiol. Ch. **270**, 176 (1941).

<sup>5)</sup> Helv. **27**, 1060 und 1824 (1944).

zu beobachten. In den genannten Mitteilungen brachten wir weitere Beispiele über die antipodische Hemmung zwischen den folgenden Aminosäuren beim oxydativen Abbau durch Gehirnenzyme:

*l*-Alanin und *d*-Alanin,  
*l*-Valin und *d*-Valin,  
*l*-Glutaminsäure und *d*-Alanin,  
*l*-Leucin und *d*-Leucin,  
*l*-Isoleucin und *d*-Isoleucin,  
*l*-Phenylalanin und *d*-Phenylalanin,  
*l*-Histidin und *d*-Histidin.

In der vorliegenden Mitteilung teilen wir neue Versuche mit, welche zeigen, dass das Phänomen der antipodischen Hemmung des oxydativen Aminosäure-Abbaus sich auch bei Verwendung von Leber- und Nierengewebe beobachten lässt. Für die Auswahl der einzelnen Aminosäuren war dabei der folgende Gesichtspunkt massgebend: Beim Abbau der Monoamino-di-carbonsäuren unter Verwendung von nativen und ungereinigten Enzympräparaten findet eine weitergehende Umsetzung des gebildeten Ammoniaks statt. Daher kann diese Ammoniakbildung nicht zur Messung der Abbaugröße verwendet werden. Es wurden daher die Untersuchungen auf Monoamino-mono-carbonsäuren beschränkt. Bei dieser Gruppe von Aminosäuren dominiert nun der Abbau der unnatürlichen *d*-Formen über den der natürlichen *l*-Antipoden sehr stark. Es wurde daher die hemmende Wirkung der *l*-Formen auf den Abbau der *d*-Formen untersucht. Die Abbauwerte der natürlichen *l*-Formen sind unter den gewählten Versuchsbedingungen viel kleiner als der hemmende Effekt auf den Abbau der *d*-Formen. Sie betragen nur ungefähr den zehnten Teil des letzteren, sodass sich die Hemmung also deutlich auswirken konnte.

Wie im experimentellen Teil gezeigt wird, liess sich die antipodische Hemmung bei Wahl von geeigneten Konzentrationen in allen untersuchten Fällen beweisen. In den Tabellen Nr. 1 und 2 sind die Verhältnisse bei Verwendung von Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Histidin beim Abbau durch Ratten-Nieren und Ratten-Leber wiedergegeben. Bei wesentlich grösseren Umsätzen als im Gehirn zeigen sie sehr eindrucksvoll die antipodische Hemmung.

In Fortsetzung dieser Untersuchungen wurden neue Versuche durchgeführt, bei denen der Abbau einer *d*-Aminosäure in fallenden Konzentrationen durch eine bestimmte Konzentration einer *l*-Aminosäure gehemmt wurde. In Tabelle 3 ist ein solcher Versuch wiedergegeben, der das Paar *d*-Alanin—*l*-Phenylalanin betrifft. Man sieht aus den Zahlen, dass sowohl in bezug auf den Sauerstoffverbrauch, als auch auf die Ammoniakbildung sich der hemmende Zusatz von *l*-Phenylalanin sehr eindrucksvoll darstellen lässt.

**Durchführung der Versuche.**

Die Messung des Sauerstoffverbrauches und die Ammoniakbildung sowie die Herstellung des Hackbreies wurde in den früheren Mitteilungen beschrieben. Zur Bereitung der Extrakte wurden die Organe 10 Minuten lang mit feinem Seesand im Mörser verrieben. Dieser Brei wurde mit der sechsfachen Menge Phosphatpuffer ( $pH = 7,0$  von  $38^{\circ}$ ), bezogen auf das Organgewicht, einige Minuten extrahiert und abzentrifugiert. Pro Ansatz wurde  $1\text{ cm}^3$  verwendet und das Volumen mit Puffer bzw. Aminosäurelösung auf  $3\text{ cm}^3$  gebracht. Die angegebenen Aminosäurekonzentrationen beziehen sich auf die

**Tabelle 1.**

Antipodische Hemmung der Aminosäuren in Ratten-Nierenhackbrei.  
Gesamtflüssigkeits-Volumen =  $3\text{ cm}^3$ .  
Versuchsdauer betrug immer 1 Stunde.

Aminosäure	Mol.	Hackbrei $\text{cm}^3$	$\text{O}_2$ -Verbrauch $\text{mm}^3$	$\text{O}_2$ -Verbrauch abzüglich Leeratmung $\text{mm}^3$	Ammoniak- Bildung $\gamma$	Ammoniak- Bildung abzüglich Leerwert $\gamma$
—	—	0,5	264	—	44	—
<i>l</i> -Alanin . . . . .	m/10	0,5	180	- 84	42	- 2
<i>d</i> -Alanin . . . . .	m/10	0,5	1473	1209	1810	1766
<i>l</i> -Alanin+ . . . . .	m/10					
<i>d</i> -Alanin . . . . .	m/10	0,5	1387	1123	1828	1784
—	—	0,5	285	—	35	—
<i>l</i> -Valin . . . . .	m/10	0,5	221	- 64	58	23
<i>d</i> -Valin . . . . .	m/10	0,5	703	418	975	940
<i>l</i> -Valin+ . . . . .	m/10					
<i>d</i> -Valin . . . . .	m/10	0,5	668	383	862	827
—	—	0,5	394	—	50	—
<i>l</i> -Leucin . . . . .	m/11	0,5	304	- 90	92	42
<i>d</i> -Leucin . . . . .	m/15	0,5	486	92	950	900
<i>l</i> -Leucin+ . . . . .	m/11					
<i>d</i> -Leucin . . . . .	m/15	0,5	475	81	489	439
—	—	0,5	415	—	36	—
<i>l</i> -Isoleucin . . . . .	m/10	0,5	346	- 69	94	58
<i>d</i> -Isoleucin . . . . .	m/10	0,5	695	280	800	764
<i>l</i> -Isoleucin+ . . . . .	m/10					
<i>d</i> -Isoleucin . . . . .	m/10	0,5	598	183	624	588
—	—	0,5	379	—	47	—
<i>l</i> -Phenylalanin . . . . .	m/12	0,5	212	- 167	89	42
<i>d</i> -Phenylalanin . . . . .	m/20	0,5	568	189	1022	975
<i>l</i> -Phenylalanin+ . . . . .	m/12					
<i>d</i> -Phenylalanin . . . . .	m/20	0,5	475	96	818	771
—	—	0,5	251	—	30	—
<i>l</i> -Histidin . . . . .	m/5	0,5	153	- 98	28	- 2
<i>d</i> -Histidin . . . . .	m/10	0,5	332	81	298	268
<i>l</i> -Histidin+ . . . . .	m/5					
<i>d</i> -Histidin . . . . .	m/10	0,5	225	- 26	164	136

Endkonzentration des Ansatzes. Die Versuchsdauer betrug je nach der Intensität des Abbaues eine halbe oder eine Stunde. Sie wurde so kurz gewählt, damit sich die Messung bei konstanter Reaktionsgeschwindigkeit abschliessen liess. Das in mm<sup>3</sup> gemessene Sauerstoff-Ammoniak-Verhältnis erreicht nicht genau den theoretischen Wert von 1:2, sondern ist zugunsten des Ammoniaks verschoben. Diese relativ erhöhten Ammoniakwerte erklären sich durch die Tatsache, dass die Aminosäuren gleich zu Beginn des Versuches zugegeben wurden und nicht erst nach der Temperatúrausgleichsperiode, d. h. zu Beginn der Sauerstoffmessung in den Hauptraum der Gefässe eingekippt wurden. Nach Beendigung der Sauerstoffmessung verstrich wiederum geraume Zeit, bis das Enzym in den *Conway*-Gefässen durch Zusatz von Lauge inaktiviert wurde.

Tabelle 2.

Antipodische Hemmung der Aminosäuren in Ratten-Leberhackbrei.  
Gesamtflüssigkeits-Volumen = 3 cm<sup>3</sup>.  
Versuchsdauer betrug immer 1 Stunde.

Aminosäuren	Mol.	Hack- brei cm <sup>3</sup>	O <sub>2</sub> -Ver- brauch mm <sup>3</sup>	O <sub>2</sub> -Ver- brauch abzüglich Leeratmung mm <sup>3</sup>	Am- moniak- Bildung γ	Ammoniak- Bildung abzüglich Leerwert γ
—	—	0,5	—	—	21	—
<i>l</i> -Alanin . . . . .	m/10	0,5	—	—	29	8
<i>d</i> -Alanin . . . . .	m/10	0,5	—	—	483	462
<i>l</i> -Alanin + . . . . .	m/10	—	—	—	—	—
<i>d</i> -Alanin . . . . .	m/10	0,5	—	—	438	417
—	—	0,5	—	—	11	—
<i>l</i> -Valin . . . . .	m/10	0,5	—	—	18	7
<i>d</i> -Valin . . . . .	m/10	0,5	—	—	177	166
<i>l</i> -Valin + . . . . .	m/10	—	—	—	—	—
<i>d</i> -Valin . . . . .	m/10	0,5	—	—	151	140
—	—	0,5	81	—	18	—
<i>l</i> -Leucin . . . . .	m/11	0,5	77	- 4	27	9
<i>d</i> -Leucin . . . . .	m/15	0,5	131	50	105	87
<i>l</i> -Leucin + . . . . .	m/11	—	—	—	—	—
<i>d</i> -Leucin . . . . .	m/15	0,5	102	21	85	67
—	—	0,5	95	—	20	—
<i>l</i> -Isoleucin . . . . .	m/10	0,5	96	1	29	9
<i>d</i> -Isoleucin . . . . .	m/10	0,5	141	46	100	80
<i>l</i> -Isoleucin + . . . . .	m/10	—	—	—	—	—
<i>d</i> -Isoleucin . . . . .	m/10	0,5	124	29	81	61
—	—	0,5	39	—	19	—
<i>l</i> -Phenylalanin . . . . .	m/12	0,5	50	11	69	50
<i>d</i> -Phenylalanin . . . . .	m/20	0,5	199	160	377	358
<i>l</i> -Phenylalanin + . . . . .	m/12	—	—	—	—	—
<i>d</i> -Phenylalanin . . . . .	m/20	0,5	117	78	210	191
—	—	0,5	42	—	11	—
<i>l</i> -Histidin . . . . .	m/5	0,5	56	14	74	63
<i>d</i> -Histidin . . . . .	m/10	0,5	93	51	77	66
<i>l</i> -Histidin + . . . . .	m/5	—	—	—	—	—
<i>d</i> -Histidin . . . . .	m/10	0,5	94	52	83	72

Tabelle 3.

Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch *l*-Phenylalanin im Ratten-Nierenextrakt.

Die Versuchsdauer betrug  $\frac{1}{2}$  Stunde.

Ex- trakt	<i>d</i> -Alanin	<i>l</i> -Phenyl- alanin	O <sub>2</sub> -Ver- brauch mm <sup>3</sup>	O <sub>2</sub> -Ver- brauch abzüglich Leeratmung mm <sup>3</sup>	Am- moniak- Bildung $\gamma$	Ammoniak- bildung abzüglich Leerwert $\gamma$
1	—	—	24	—	47	—
1	m/4	—	454	430	1211	1164
1	m/16	—	392	368	1060	1013
1	m/32	—	302	278	798	751
1	m/64	—	203	197	597	550
1	m/128	—	105	81	376	329
1	m/256	—	64	40	234	187
1	m/1024	—	29	5	115	68
1	—	m/30	13	—	77	—
1	m/4	m/30	398	385	1168	1091
1	m/16	m/30	298	285	954	877
1	m/32	m/30	226	213	750	673
1	m/64	m/30	124	111	530	453
1	m/128	m/30	85	72	328	251
1	m/256	m/30	52	39	207	130
1	m/1024	m/30	24	11	122	45

Eine Ausdehnung der in Tabelle 3 wiedergegebenen Versuchsanordnung auf andere Aminosäuren ergab prinzipiell gleiche Resultate, die in den Tabellen 4—9 in abgekürzter Form zusammengefasst sind.

Tabelle 4.

Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch *l*-Alanin.

Versuchsdauer  $\frac{1}{2}$  Stunde.

<i>d</i> -Alanin- Konzentr.	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	$\gamma$ NH <sub>3</sub>	bei Zusatz von m/7 <i>l</i> -Alanin		bei Zusatz von m/3,5 <i>l</i> -Alanin	
			mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	$\gamma$ NH <sub>3</sub>	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	$\gamma$ NH <sub>3</sub>
m/1024	6	21	6	24	4	29
m/256	26	88	30	102	26	102
m/64	95	269	89	270	69	232
m/10	167	478	161	457	137	419
m/4	215	607	207	506	188	501

Bei m/7 *l*-Alanin-Konzentration ist die Hemmung noch nicht deutlich. Sie tritt jedoch bei m/3,5 *l*-Alanin-Konzentration in Erscheinung.

**Tabelle 5.**

Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch *l*-Valin.  
Versuchsdauer ½ Stunde.

<i>d</i> -Alanin-Konzentr.	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>	bei Zusatz von m/10 <i>l</i> -Valin		bei Zusatz von m/5 <i>l</i> -Valin	
			mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>
m/1024	17	32	13	17	— 1	16
m/256	44	75	30	45	16	28
m/64	144	359	83	252	62	198
m/16	273	634	189	528	160	466
m/4	321	774	248	732	250	678

Bei m/10 *l*-Valin ist die Hemmung schon deutlich, bei m/5 *l*-Valin ist sie noch deutlicher.

**Tabelle 6.**

Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch *l*-Histidin.  
Versuchsdauer ½ Stunde.

<i>d</i> -Alanin-Konzentr.	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>	bei Zusatz von m/5 <i>l</i> -Histidin	
			mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>
m/1024	19	50	1	27
m/256	73	264	7	160
m/64	273	838	138	591
m/16	424	1304	331	1145
m/4	472	1530	429	1420

Bei Zusatz von m/5 *l*-Histidin ist die Hemmung im Sauerstoffverbrauch sehr deutlich, beim Ammoniak schwächer.

**Tabelle 7.**

Vergleich der hemmenden Wirkung von *l*-Leucin und *l*-Isoleucin auf den *d*-Alanin-Abbau.

Versuchsdauer ½ Stunde.

<i>d</i> -Alanin-Konzentr.	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>	bei Zusatz von m/40 <i>l</i> -Leucin		bei Zusatz von m/40 Isoleucin	
			mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>
m/1024	3	25	0	12	—	11
m/256	23	116	16	73	—	96
m/64	123	324	53	203	—	270
m/16	236	635	164	465	—	558
m/4	279	749	233	666	—	703

In Erweiterung mit der in der vorangehenden Abhandlung erwähnten Tatsache, dass die C-Kettenlänge den Grad der Hemmung beeinflusst, ist hier ersichtlich, dass Leucin stärker hemmt als Isoleucin.

Tabelle 8.

Hemmung des *d*-Valin-Abbaues durch *l*-Valin.  
Versuchsdauer 1 Stunde.

<i>d</i> -Valin-Konzentr.	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>	bei Zusatz von m/10 <i>l</i> -Valin	
			mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>
m/556	29	58	16	10
m/128	69	174	48	111
m/32	149	332	109	267
m/16	159	387	141	319
m/4	187	434	173	425

Tabelle 9.

Hemmung des *d*-Phenylalanin-Abbaues durch *l*-Phenylalanin.  
Versuchsdauer 1 Stunde.

<i>d</i> -Phenylalanin-Konzentr.	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>	bei Zusatz von m/15 <i>l</i> -Phenylalanin	
			mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	γ NH <sub>3</sub>
m/640	16	81	33	7
m/160	42	124	34	69
m/80	52	219	49	133
m/40	109	354	75	217
m/10	204	572	132	435

Die Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch verschiedene Konzentrationen von *l*-Leucin ist nun in den beiden Figg. I und II bezüglich des Sauerstoffverbrauches und der Ammoniakbildung graphisch dargestellt. Auf die Abszisse ist der negative Logarithmus der Molarität des *d*-Alanins, auf die Ordinate der Sauerstoffverbrauch bzw. die Ammoniakbildung in gewöhnlichem Masstabe aufgetragen. Die obersten Kurven stellen also den ungehemmten *d*-Alanin-Abbau dar. Die übrigen Kurven illustrieren den Einfluss von verschiedenen *l*-Leucinkonzentrationen.

Aus Raumerparnis bringen wir nur dieses Beispiel. Die in den Tabellen 5—9 mitgeteilten Zahlen ergeben alle die gleichen Kurven.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, dass sich die Beziehung zwischen den Abbaugrößen der *d*-Aminosäuren und den Substratkonzentrationen durch eine S-förmige Kurve ausdrücken lässt, und dass die Beeinflussung durch *l*-Aminosäuren eindeutig eine Parallelverschiebung der Kurve bewirkt. Dieses Verhalten erinnert an Beobachtungen, die von *L. Michaelis*<sup>1)</sup> und Mitarbeitern schon vor längerer Zeit am Beispiele der Saccharase gemacht wurden. Auch sie erhielten ähnliche S-Kurven. Besitzt der

<sup>1)</sup> Bioch. Z. 49, 333 (1913) und 60, 79 (1914).

Hemmungskörper eine Affinität zum Enzym, so wird dadurch die Konzentration der Enzym-Substratverbindung vermindert. Es ergibt sich in diesem Falle nach *Michaelis* eine Parallelverschiebung der Kurve.

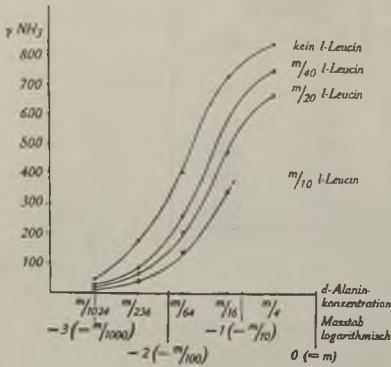


Fig. I.

Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch  $m/10$ ,  $m/20$  und  $m/40$  *l*-Leucin in Bezug auf  $\text{NH}_3$ -Bildung.

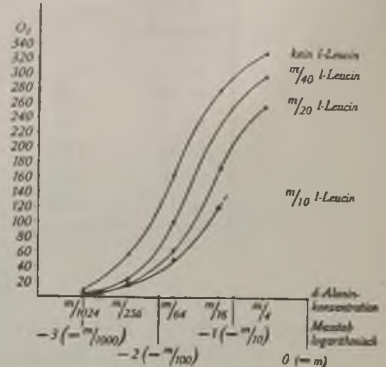


Fig. II.

Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch  $m/10$ ,  $m/20$  und  $m/40$  *l*-Leucin in Bezug auf  $\text{O}_2$ -Verbrauch.

Bewirkt jedoch der Hemmkörper nur eine Hemmung des Zerfalles der primär entstehenden Enzym-Substratverbindung, so resultieren divergierende Kurven.

Da nun in den von uns untersuchten Fällen durch Zusatz von *l*-Aminosäuren immer die Parallelverschiebung auftritt, so bildet diese Tatsache einen Hinweis, dass die *l*-Aminosäuren Affinitäten zu den *d*-Aminosäureoxydasen besitzen.

Wir haben in den vorangehenden Mitteilungen dieser Reihe wiederholt darauf hingewiesen, dass sich die verschiedenen *d*- und *l*-Aminosäureoxydasen teilweise ähnlich, teilweise verschieden verhalten. Es wäre verfrüht, aus dem vorliegenden Beobachtungsmaterial weiter gehende Schlüsse zu ziehen. Es müssen solche Versuche namentlich auch mit Rein-Enzymen durchgeführt werden. Die verschiedenen *l*- und *d*-Aminosäureoxydasen müssen aber zumindest ganz ähnlich gebaute oder gleiche Komponenten enthalten, sonst könnten die von uns beschriebenen Hemmungserscheinungen nicht auftreten. Wir erinnern in diesem Zusammenhange nochmals an die von *Euler* entwickelte Vorstellung des „Enzymoid“-Begriffes, auf die in der Abhandlung mit *H. Grauer*<sup>1)</sup> schon hingewiesen wurde.

<sup>1)</sup> Helv. 27, 941 (1944).



Durch diese neuen Untersuchungen wird das Auftreten der „antipodischen Hemmung“ beim oxydativen Aminosäure-Abbau bewiesen. Sie bringt das Zustandekommen des *Abderhalden'schen* Schockphänomens dem Verständnis näher. Solange jedoch das Auftreten messbarer Quantitäten von *d*-Aminosäuren als Metabolite nicht eindeutig bewiesen ist, hat die antipodische Hemmung keine physiologische, sondern nur theoretische Bedeutung.

Erl. *Frieda Nebiker* hat bei den Versuchen wertvolle Hilfe geleistet.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

## 218. Etude critique des réactifs des cations.

### 12. Réactifs des cations et des anions du chrome

par **P. Wenger** et **R. Duekert**.

(Collaboratrice Mlle **Y. Rusconi**.)

(26 X 44)

Nous présentons, dans ce travail, l'étude des cations et des anions du chrome, faisant suite à celle des ions d'autres éléments<sup>1</sup>). Nous avons fait un examen approfondi des réactifs du chrome pour procéder à un choix de quelques-uns des meilleurs, en nous inspirant des mêmes principes critiques que précédemment.

Nous nous sommes basés sur la liste des réactifs établie par la Commission Internationale des Réactions et Réactifs analytiques nouveaux (Premier Rapport de la Commission) et sur les indications de la bibliographie des années 1937–1943.

Il nous semble utile de proposer, pour un usage pratique, des réactifs du cation  $\text{Cr}^{+++}$  aussi bien que des anions  $\text{CrO}_4^{--}$  et  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{--}$ , tous ces ions se rencontrant fréquemment dans l'analyse. Il faut noter aussi que le cation peut facilement être oxydé en anion et recherché ensuite au moyen des réactifs de ce dernier.

#### 1. Réactifs des ions du chrome dont nous ne recommandons pas l'emploi.

Nous énumérons ci-dessous tous les réactifs que nous avons décidé d'éliminer au cours de nos recherches. Ils se répartissent en quatre groupes d'après leurs défauts caractéristiques.

<sup>1</sup>) 11e Etude, *Helv.* **27**, 759 (1944); voir également *Helv.* **26**, 416 (1943).

N <sup>o</sup>	Réactifs	Auteurs	Pas sensibles	Réagissent avec les cations du même groupe (Al <sup>+++</sup> , Fe <sup>+++</sup> , Mn <sup>+++</sup> ,...)	Réagissent avec les oxydants	Réactifs utilisables, mais de moindre intérêt
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 1*)	Acétate de thallium(I) . . . . .	C. W. Chamot et E. M. Mason				+
Cr <sup>+++</sup> 2	Dichromate de potassium + pyridine . . . . .	I. M. Korenman . . . . .	+	+		+
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 5	Bricine . . . . .	Dragendorff . . . . .	+			
Cr <sup>+++</sup> 6	Salicylate de sodium . . . . .	C. van Zijp . . . . .		+		
Cr <sup>+++</sup> 7	Quinoléine + acide oxalique . . . . .	A. Martini . . . . .		+		
C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>''</sup> 8	Cocaine . . . . .	M. Wagenaar . . . . .				
C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>''</sup> 12	Nitrate d'argent . . . . .	K. Haushofer . . . . .				
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 14	Acétate de plomb + hydroxyde de potassium . . . . .	Behrens-Kley . . . . .				
Cr <sup>+++</sup> 15	Nitrate d'argent (ou de mercure(II)) . . . . .	N. A. Tananasi . . . . .				
Cr <sup>+++</sup> 16	Chlore (ou brome) + nitrate d'argent . . . . .	E. Posner . . . . .	+			
C <sup>+++</sup> 17	Cyanate de potassium . . . . .	R. Ripan . . . . .	+			
Cr <sup>+++</sup> 18	Oxyde de zinc + anion sulfurique . . . . .	C. Montemartini et E. Verazza	+	+		
C <sup>+++</sup> 26	Jaune d'alizarine acide R. C. (Jaune d'antraçène) . . . . .	F. Feigl et R. Stern . . . . .		+		
C <sup>+++</sup> 27	Rouge d'alizarine acide G . . . . .	F. Feigl et R. Stern . . . . .		+		
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 28	Diphénylthiocarbazide . . . . .	W. Paris . . . . .		+		
Cr <sup>+++</sup> 29	Amines aliphatiques . . . . .	E. J. Fischer . . . . .	+	+		
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 30	m-Phénylènediamine . . . . .	D. Katakousias . . . . .	+			
Cr <sup>+++</sup> 31	Résorufine . . . . .	H. Dieckler . . . . .	+			
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 32	Bleu de méthylène . . . . .	L. Passerini et L. Michelotti . . . . .	+			
Cr <sup>+++</sup> 33	Acide p-diméthylaminobenzène-azobenzènesulfonique (méthylorange) . . . . .	M. E. Pozzi-Essot . . . . .		+		

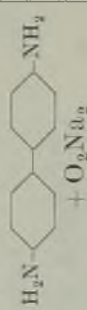
\*) Ces numéros ont été adoptés dans le Premier Rapport de la « Commission Internationale des Réactifs » (1938).

N°	Réactifs	Auteurs	Pas sensibles	Réagissent avec les cations du même groupe (Al <sup>+</sup> , Fe <sup>+++</sup> , Mn <sup>++</sup> ,.....)	Réagissent avec les oxydants	Réactifs utilisables, mais de moindre intérêt
Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> '' 41	Vanadate d'ammonium + tartrate dipotassique . . .	<i>Barreswill</i>	+			
CrO <sub>4</sub> '' 42	Chlorure de manganèse(II) . . . . .	<i>L. L. de Koninck</i>	+			
Cr... 43	Chlorate de potassium . . . . .	<i>G. Gutzeit</i>	+	+		
Cr... 44	Hypochlorite (ou hypobromite) de sodium . . . . .	<i>G. Chaborski</i>	+	+		
Cr... 45	Oxydants: peroxyde d'hydrogène, bioxyde de sodium. . . . .	<i>G. Gutzeit</i>				+
CrO <sub>4</sub> '' 50	Extrait de bois de Campêche (hématoxyline) . . . . .	<i>A. Vogel</i>		+		
CrO <sub>4</sub> '' 51	Dihydroxy-3,5-toluène (oreinol) . . . . .	<i>Lindo</i>	+			
CrO <sub>4</sub> '' 52	Diphénylamine . . . . .	<i>Laar</i>				+
Cr... 53	Phénol . . . . .	<i>Lindo</i>	+			
CrO <sub>4</sub> '' 55	Ether diméthyle du pyrogallol . . . . .	<i>J. Meyerfeld</i>				
CrO <sub>4</sub> '' 56	Rouge chrome acide . . . . .	<i>G. Gutzeit</i>		+		
CrO <sub>4</sub> '' 58	α-Naphthylamine . . . . .	<i>G. Gutzeit</i>	+			
CrO <sub>4</sub> '' 59	Diphénylbenzidine . . . . .	<i>I. L. Newell et W. H. Keefe</i>				
Cr... 60	Bleu séricchrome R. . . . .	<i>G. C. Spencer</i>		+		
CrO <sub>4</sub> '' 61	Diphénylcarbazone . . . . .	<i>Th. Grossel</i>				+
CrO <sub>4</sub> '' 62	Phényl-β-naphthylamine . . . . .	<i>A. Sâ</i>				+
CrO <sub>4</sub> '' 63	Phénylsemicarbazide (eryogénine) . . . . .	<i>L. Bornet</i>		+		
Cr... 64	Dérivés azoïques de l'hydroxy-8-quinoléine . . . . .	<i>G. Gutzeit et R. Monnier</i>	+			
Cr... 70	Sulfure de sodium . . . . .	<i>A. Glasunow</i>		+		
Cr... 71	Benzidine . . . . .	<i>A. Glasunow</i>				+



N°	Réactifs	Auteurs	Pas sensibles	Réagissent avec les cations du même groupe (Al <sup>+++</sup> , Fe <sup>+++</sup> , Mn <sup>+++</sup> .....)	Réagissent avec les oxydants	Réactifs utilisables, mais de moindre intérêt
Cr <sup>+++</sup> 72*)	Phénylglycine . . . . .	<i>J. V. Dubsky</i> . . . . .		+		
Cr <sup>+++</sup> 73	Hexanitrodiphénylamine (aurantia) . . . . .	<i>O. G. Schinziss</i> . . . . .	+	+		
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 74	Chlorure de dinitrotétraminocobalt (chlorure crocécobaltique) . . . . .	<i>L. K. Yonovski et W. A. Hynes</i>		+		
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 76	Trichlorure d'hexaminocobalt (chlorure lutécobaltique) . . . . .	<i>M. P. Babkin</i> . . . . .		+		
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 77	Diéthylamino-isopentylamino-8-méthoxy-6-quinoléine (plasmocquine) . . . . .	<i>B. K. Nandi</i> . . . . .			+	
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 78	α, α'-Bipyridyle de fer(II) . . . . .	<i>N. S. Poluektoff et W. A. Nasarenko</i>			+	
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 79	Hydrochlorure de p-phénétidine . . . . .	<i>N. Wawilow</i> . . . . .			+	
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 80	Tellurite de potassium + o-phénanthroline de fer(II) .	<i>R. Lang</i> . . . . .			+	
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 81	Tellurite de potassium + bromure de potassium + carmin d'indigo . . . . .	<i>R. Lang</i> . . . . .			+	
CrO <sub>4</sub> <sup>''</sup> 82	Diphénylamine + cation Mn <sup>++</sup> . . . . .	<i>R. Lang</i> . . . . .			+	

\*) Les réactifs 72 à 82 ne figurent pas dans le Premier Rapport de la «Commission des Réactifs».


2. Réactifs des ions du chrome dont nous recommandons l'emploi.

N°	Réactifs	Bibliographie	Caractéristiques de la réaction	Sensibilité (Limite de perceptibilité)	Limite de dilution	Spécificité
<b>Cation Cr<sup>+++</sup></b>						
<b>1. Microscope (M).</b>						
Cr <sup>+++</sup> 13	Chlorure de césium + hydrogénosulfate de potassium Sels solides	1—2	II—III* 20° ↓ □ v	0,6[M] <sup>0,01</sup>	1:1,67 × 10 <sup>4</sup> 10 <sup>-4,22</sup>	n.*: Cu, Bi, Cd, As, Sn, Rh, Pd, Pt, Se, Te, Mo, W, Ce, Zr, Th, Ti, Zn, Mn, Ni, Mg, alcalins. Sensibilité dimi- nuée par: Ag, Hg, Pb, Sb, Au, Ir, V, Fe, U, terres rares, Y, Co, alcalino-terreux. ○ et * : Al
Cr <sup>+++</sup> 24	Benzidine + peroxyde de sodium  + O <sub>2</sub> N <sub>0,2</sub> Sol. sat. de benzidine dans CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H glacial Peroxyde de sodium solide	3—10	V HON <sup>a</sup> 20° □ bl	0,01[M] <sup>0,01</sup>	1:10 <sup>6</sup> 10 <sup>-6</sup>	n.○ et n.*: Hg <sup>+</sup> , Bi, Cd, As, Sb, Pt, SeO <sub>2</sub> <sup>+</sup> , Mo, W, Nb, Ta, Al, U, terres ra- res, Y, Ti, Zr, Th, Be, Ti, Zn, Ni, alcalino- terreux, alcalins. Sensibilité dimi- nuée par: Rb, Pd, Te, Fe... ○ et * : Ag, Hg, Cu <sup>+</sup> , Pb, Sb, Au, Ir, V...; Tl <sup>+</sup> , Mn, Co, F <sup>+</sup>

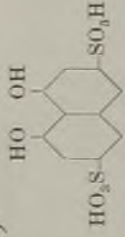
\*) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.

N°	Réactifs	Bibliographie	Caractéristiques de la réaction	Sensibilité (Limite de perceptibilité)	Limite de dilution	Spécificité
2. Godet (A).						
Cr... 24	<i>Benzidine + peroxyde de sodium</i>  $+ O_2Na_2$ Sol. sat. de benzidine dans $CH_3CO_2H$ glacial Peroxyde de sodium solide	3—10	V HONa* 20° <input type="checkbox"/> bl	0,06[A] <sup>0,03</sup>	1:5 × 10 <sup>5</sup> 10 <sup>-5,70</sup>	Voir plus haut
3. Touche sur papier filtre (B).						
Cr... 24	<i>Benzidine + peroxyde de sodium</i>  $+ O_2Na_2$ Sol. sat. de benzidine dans $CH_3CO_2H$ glacial Peroxyde de sodium solide	3—10	V HONa 20° <input type="checkbox"/> bl	0,15[B] <sup>0,03</sup>	1:2 × 10 <sup>5</sup> 10 <sup>-5,30</sup>	Voir plus haut

\* ) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.

N°	Réactifs	Bibliographie	Carac- téristiques de la réaction	Sensibilité (Limite de percep- tibilité)	Limite de dilution	Spécificité
4. Micro- et macro-éprouvettes (C et D).						
Cr...24	<p><i>Benzidine</i> + <i>peroxyde de sodium</i></p>  <p>+ O<sub>2</sub>Na<sub>2</sub></p> <p>Sol. sat. de benzidine dans CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H glacial</p> <p>Peroxyde de sodium solide</p>	3—10	V HONa*) 20° □bl	0,1[C] <sup>5</sup>	1:5 × 10 <sup>7</sup> 10 <sup>-7:0</sup>	Voir plus haut
Anion CrO <sub>4</sub> ''						
CrO <sub>4</sub> '75	<p><i>Dichlorure de nitropentam- minocobalt(III) (chlorure xanthocobaltique)</i></p> <p>Cl<sub>2</sub>[Co(NO<sub>2</sub>)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]</p> <p>Solide</p>	11—12	II—III 20° ↓□j	1[M] <sup>10,01</sup>	1:10 <sup>4</sup> 10 <sup>-4</sup>	*: [HF <sub>2</sub> ]', ClO <sub>4</sub> ' S <sub>2</sub> O <sub>6</sub> '', Sb <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> '', C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> '

\*) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.

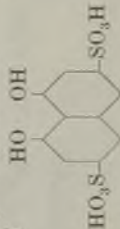
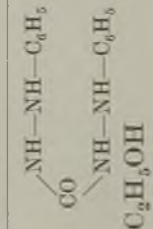
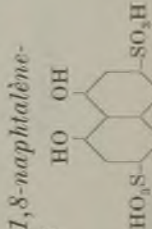
N°	Réactifs	Bibliographie	Carac- téristiques de la réaction	Sensibilité (Limite de percep- tibilité)	Limite de dilution	Spécificité
CrO <sub>4</sub> '25	<p><i>Acide dihydroxy-1,8-naphthaléna-di-sulfonique-3,6 (acide chromotropique)</i></p>  <p>Sol. sat. dans H<sub>2</sub>O</p>	<p>2. Godet (A). 13—17</p>	<p>II NO<sub>3</sub>H*) 20° <input type="checkbox"/>r</p>	<p>0,6[A]<sup>0,03</sup></p>	<p>1:5 × 10<sup>4</sup> 10<sup>-4,70</sup></p>	<p>n. ○ et n. ✖: Ag, Hg, Cu, Pb, Bi, Cd, Sb...; Au, Rh, Pd, Ir, Pt, Se, Mo, V, Nb, Ta, Al, U, Ce, terres rares, Y, Ti, Zr, Th, Be, Tl, Zn, Mn, Co, Ni, alcalino-terreux, alcalins. Sensibilité diminuée par: As, Sb...; Sn, Te, W</p>
CrO <sub>4</sub> '49	<p><i>Résine de gaïac</i></p> <p>Sol. à 1 % dans C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH</p>	<p>18</p>	<p>II SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> 20° <input type="checkbox"/>bl</p>	<p>0,3[A]<sup>0,03</sup></p>	<p>1:10<sup>5</sup> 10<sup>-5</sup></p>	<p>n. ○ et n. ✖: Ag, Hg, Cu, Pb, Cd, As...; Sn...; Rh, Pd, Pt, Se, Te, Mo, W, Nb, Ta, Al, Fe...; U, Ce...; terres rares, Y, Ti, Zr, Th, Be, Tl, Zn, Mn, Co, Ni, Sr, Ca, Mg, alcalins. Sensibilité diminuée par: Bi, As...; Sn...; Ba ○ et ✖: Sb, Au, Ir, V, Ce...</p>

\*) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.



N°	Réactifs	Bibliographie	Caractéristiques de la réaction	Sensibilité (Limite de perceptibilité)	Limite de dilution	Spécificité
CrO <sub>4</sub> '57	<p><i>Strychnine</i>      C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub></p> <p>Sol. à 1 % dans SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> concentré</p>	19—20	<p>I SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>*)</p> <p>20<sup>0</sup></p> <p><input type="checkbox"/> r/or</p>	0,3[A] <sup>0,03</sup>	1:10 <sup>5</sup> 10 <sup>-5</sup>	<p>n. O et n. * : Ag, Hg, Cu, Bi, Cd, As, Sb<sup>...</sup>, Sn<sup>...</sup>, Au, Rh, Pd, Ir, Mo, W, Nb, Ta, Al, Ce<sup>...</sup>, terres rares, Y, Ti, Zr, Be, Tl, Zn, Mn, Ni, alcalino-terreux, alcalins.</p> <p>Sensibilité diminuée par : Pb, Sb<sup>...</sup>, Pt, Se, Te, Fe, U, Th, Co</p> <p>○ : Ce<sup>...</sup></p> <p>* : Sr<sup>...</sup>, Ce<sup>...</sup></p>
CrO <sub>4</sub> '54	<p><i>sym-Diphénylcarbazide</i></p> $\begin{array}{c} \text{NH-NH-C}_6\text{H}_5 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{CO} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{NH-NH-C}_6\text{H}_5 \end{array}$ <p>Sol. à 1 % dans C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH</p>	21—33	<p>II</p> <p>20<sup>0</sup></p> <p><input type="checkbox"/> V</p>	0,03[A] <sup>0,03</sup>	1:10 <sup>6</sup> 10 <sup>-6</sup>	<p>* : oxydants, MnO<sub>4</sub><sup>...</sup>, MnO<sub>4</sub><sup>...</sup>, Au, V</p> <p>○ : Hg, Cu, Fe</p> <p>n. * : Ag, Pb, Bi, Cd, As, Sb, Sn, Pt, Se, Te, W, Al, Tl</p>

\*) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.

N°	Réactifs	Bibliographie	Caractéristiques de la réaction	Sensibilité (Limite de perceptibilité)	Limite de dilution	Spécificité
<b>3. Touche sur papier filtre (B).</b>						
CrO <sub>4</sub> '25	<p><i>Acide dihydroxy-1,8-naphtalène-disulfonique-3,6 (acide chromotrope)</i></p>  <p>Sol. sat. dans H<sub>2</sub>O</p>	13—17	<p>II NO<sub>3</sub>H*</p> <p>20° <input type="checkbox"/>r</p>	1[B] <sup>0,03</sup>	1:3 × 10 <sup>4</sup> 10 <sup>-4,48</sup>	Voir plus haut
CrO <sub>4</sub> '49	<p><i>Résine de gaïac</i></p> <p>Sol. à 1 % dans C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH</p>	18	<p>II SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub></p> <p>20° <input type="checkbox"/>bl</p>	0,3[B] <sup>0,03</sup>	1:10 <sup>5</sup> 10 <sup>-5</sup>	Voir plus haut
CrO <sub>4</sub> '54	<p><i>sym-Diphényl-carbazide</i></p> <p>Sol. à 1 % dans C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH</p> 	21—33	<p>II</p> <p>20° <input type="checkbox"/>v</p>	0,03[B] <sup>0,03</sup>	1:10 <sup>6</sup> 10 <sup>-6</sup>	Voir plus haut
<b>4. Macro- et micro-épreuves (C et D).</b>						
CrO <sub>4</sub> '25	<p><i>Acide dihydroxy-1,8-naphtalène-disulfonique-3,6 (acide chromotrope)</i></p> 	13—17	<p>II NO<sub>3</sub>H</p> <p>20° <input type="checkbox"/>r</p>	1[D] <sup>5</sup>	1:5 × 10 <sup>6</sup> 10 <sup>-6,70</sup>	Voir plus haut

\*) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.

N°	Réactifs	Bibliographie	Carac- téristiques de la réaction	Sensibilité (Limite de percep- tibilité)	Limite de dilution	Spécificité
CrO <sub>4</sub> '40	<p><i>Peroxyde d'hydrogène</i> O<sub>2</sub>H<sub>2</sub></p> <p>Peroxyde d'hydrogène à 3 %</p>	34—45	<p>II ClH*)</p> <p>20°</p> <p>+ éther</p> <p>□bl</p>	2[C] <sup>0,1</sup>	1:5 × 10 <sup>4</sup>	<p>n. O et n. *: Ag, Hg, Cu, Pb, Cd, Sb, Sn... Au, Rh, Pd, Pt, Se, Mo, W, Nb, Ta, Al, Fe... U, Ge, terres rares, Zr, Th, Be, Tl, Zn, Mn, Co, Ni, alcalino-terreux, alcalins.</p> <p>Sensibilité dimi- nuée par: Bi, As, I, Te, Fe, Ti, Tl...</p> <p>*: V</p>
CrO <sub>4</sub> '49	<p><i>Résine de gaïac</i></p> <p>Sol. à 1 % dans C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH</p>	18	<p>II SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub></p> <p>20°</p> <p>□bl</p>	1[C] <sup>1</sup>	1:10 <sup>6</sup>	Voir plus haut
CrO <sub>4</sub> '57	<p><i>Strychnine</i></p> <p>Sol. à 1 % dans SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> concentré</p>	19—20	<p>I SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub></p> <p>20°</p> <p>□r/or</p>	0,1[C] <sup>0,1</sup>	1:10 <sup>6</sup>	Voir plus haut
CrO <sub>4</sub> '54	<p><i>sym-Diphényl- carbazine</i></p> <p>Sol. à 1 % dans C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH</p>	21—33	<p>II</p> <p>20°</p> <p>□v</p>	0,1[C] <sup>0,1</sup>	1:10 <sup>6</sup>	Voir plus haut

\*) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.

ABRÉVIATIONS

A: godet	I: fortement acide
B: papier filtre	II: acide
C: micro-éprouvette	III: neutre
D: macro-éprouvette	IV: alcalin
M: microscope	V: fortement alcalin
	20°: température à laquelle la réaction doit être faite
↓: précipité	□: coloration
w: blanc	v: violet
n: noir	j: jaune
bl: bleu	br: brun
r: rouge	or: orange
gr: vert	w/n: gris

exemple: ↓ □ r = précipité rouge

○: réaction identique

n. ○: ne réagit pas (permet de discriminer)

\*: gêne la réaction

n. \*: réagit, mais sans amener de perturbation

+++ cat. = un grand nombre de cations

0,3[A]<sup>0,03</sup> (symbole de *Feigl*) = sur la plaque de touche, on peut distinguer 0,3 μg (γ) de l'élément dans un volume de 0,03 ml (cm<sup>3</sup>)

1:10<sup>5</sup> ou 10<sup>-5</sup> = limite de dilution.

BIBLIOGRAPHIE.

- 1) *J. Vermande*, Pharm. Weekb. **55**, 1131 (1918); C. **1918**, II, 662; Abstr. **1918**, 2294.
- 2) *A. Martini*, Mikroch. **8**, 143 (1930).
- 3) *N. Schoorl*, Z. anal. Ch. **48**, 219 (1909).
- 4) *Behrens-Kley*, Mikrochemische Analyse 88.
- 5) *N. A. Tananaeff*, Z. anorg. Ch. **140**, 327 (1924).
- 6) *N. A. et J. W. Tananaeff*, Z. anorg. Ch. **170**, 113 (1928).
- 7) *S. P. Leiba et M. M. Schapiro*, Betriebs-Lab. **3**, 503, (1934); C. **1936**, I, 3183; Abstr. **1935**, 1737.
- 8) *L. M. Kuhlberg*, Mikroch. **20**, 244 (1936).
- 9) *L. M. Kuhlberg*, Betriebs-Lab. **7**, 905 (1938); C. **1940**, II, 1477.
- 10) *W. Rudzik*, Oberflächentechn. **18**, 115 (1941); C. **1942**, I, 236.
- 11) *W. A. Hynes et L. K. Yanowski*, Mikroch. **25**, 57 (1938).
- 12) *L. K. Yanowski et W. A. Hynes*, Mikroch. **25**, 61 (1938).
- 13) *P. Koenig*, Landw. Jahresb. **39**, 775 (1910); C. **1911**, I, 498; Abstr. **1911**, 2666.
- 14) *P. Koenig*, Ch. Z. **35**, 277 (1911).
- 15) *F. Garratt*, Ind. Eng. Chem. **5**, 298 (1913).
- 16) *G. Gutzeit*, Helv. **12**, 840 (1929).
- 17) *K. Heller*, Mikroch. **12**, 332 (1933).
- 18) *H. Schiff*, A. **120**, 208 (1861).
- 19) *M. Wagenaar*, Pharm. Weekb. **66**, 1073 (1929); C. **1930**, I, 869; Abstr. **1930**, 683.
- 20) *S. Augusti*, Mikroch. **17**, 17 (1935).
- 21) *P. Cazenewue*, J. Pharm. Chim. [6] **12**, 150 (1900); Bl. [3] **23**, 701 (1900); Z. anal. Ch. **41**, 568 (1902).
- 22) *N. M. Stover*, Am. Soc. **50**, 2363 (1928).
- 23) *F. Feigl et P. Krumholz*, Mikroch. *Pregl-Festschr.* **80** (1929).
- 24) *K. Heller et P. Krumholz*, Mikroch. **7**, 213 (1929).
- 25) *G. Sensi et R. Testori*, Ann. chim. applic. **19**, 383 (1929); C. **1930**, I, 1334; Abstr. **1930**, 1053.

- 26) *G. Gutzeit*, Thèse, 10, Genève 1929.  
27) *F. Feigl*, Mikroch. *Emich-Festschr.* 127 (1930).  
28) *F. Feigl*, Z. angew. Ch. **44**, 739 (1931).  
29) *K. Klanjer*, Mikroch. **9**, 34 (1931).  
30) *F. Feigl*, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, 3e éd. 230.  
31) *Th. Grosset*, Ann. Soc. sci. Bruxelles [B], **53**, 16 (1933); C. **1933**, II, 94; Abstr. **1933**, 2902.  
32) *K. Heller*, Mikroch. **12**, 333 (1933).  
33) *L. Thiebaut*, Chem. Age **28**, 411 (1933); C. **1933**, II, 747.  
34) *Barreswill*, Ann. Chim. Phys. [3] **20**, 364 (1847).  
35) *C. F. Schönbein*, A. **108**, 160 (1858).  
36) *G. Werther*, J. pr. **83**, 195 (1861).  
37) *Storer*, J. pr. **80**, 44 (1860).  
38) *Baumann*, Z. angew. Ch. **4**, 136 (1891).  
39) *C. Reichard*, Z. anal. Ch. **40**, 577 (1901).  
40) *W. J. Karlslake*, Am. Soc. **31**, 250 (1909).  
41) *A. Terni*, G. **43**, II, 63 (1913).  
42) *O. Lutz et J. Jacoby*, Latvijas Augstskolas Univ. Raksti **3**, 109 (1922); C. **1923**, II, 219; Abstr. **1923**, 3147.  
43) *A. Scheinkmann*, Z. anal. Ch. **83**, 183 (1931).  
44) *W. B. S. Bishop et F. P. Dwyer*, Austr. Chem. Inst. J. et Proc. **2**, 278 (1935); Abstr. **1936**, 4781.  
45) *M.-E. Rumpf*, Ann. Chim. [11] **8**, 500 et 513 (1937).

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

## 219. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

32. Mitteilung<sup>1</sup>).

### 17-*iso*-Ätio-*allo*-cholansäure

von J. von Euw und T. Reichstein.

(27. X. 44.)

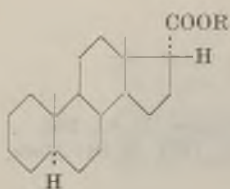
Zur Gewinnung von Ätio-*allo*-cholansäure (I)<sup>2</sup>) wurde 3-Keto-ätio-*allo*-cholansäure-methylester (IV)<sup>3</sup>) durch Erhitzen mit Hydrazinhydrat und Natriumäthylat auf 170° nach *Wolff-Kishner* reduziert. Ausser der erwarteten Säure (I), die bei der Methylierung den bekannten Methylester (II)<sup>2</sup>)<sup>3</sup>)<sup>4</sup>) lieferte, erhielten wir in kleiner Menge eine isomere Säure, die ebenfalls in Form ihres Methylesters völlig gereinigt wurde. Er schmolz 10° tiefer als (II) und zeigte eine um

<sup>1</sup>) 31. Mitt., *M. Sorkin, T. Reichstein*, Helv. **27**, 1631 (1944).

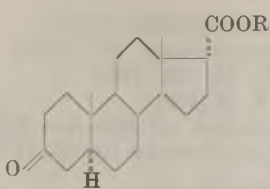
<sup>2</sup>) *R. Tschesche*, B. **68**, 7 (1935).

<sup>3</sup>) *M. Steiger, T. Reichstein*, Helv. **20**, 1040 (1937).

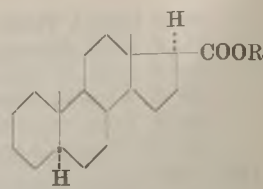
<sup>4</sup>) *Pl. A. Plattner, A. Fürst*, Helv. **26**, 2266 (1943).



I (R=H) F. 236°  
II (R=CH<sub>3</sub>) F. 144° [+49 D]<sup>3)</sup>



III (R=H) F. 260°<sup>1)</sup>  
IV (R=CH<sub>3</sub>) F. 184°



V (R=H) nicht isoliert  
VI (R=CH<sub>3</sub>) F. 134° [-41 D]<sup>3)</sup>

90° tiefere spez. Drehung als dieser. Da kaum etwas anderes als Raumisomerie in 17-Stellung in Frage kommt, erteilen wir der neuen Säure und ihrem Methylester die Formeln (V) und (VI). Die spez. Drehungen stehen mit dieser Annahme in gutem Einklang, denn bei den in 17-Stellung isomeren 3-Keto-ätio-cholen-(4)-säure-methylestern wurde, wie sich aus folgender Tabelle ergibt, ein gleichsinniger Unterschied von ähnlicher Grösse gefunden.

Substanz	Spez. Drehung	Differenz	Spez. Drehung	Differenz
Ätio-allo-cholan-säure-methylester (II) <sup>4)</sup>	$[\alpha]_D^{13} = +48,7^\circ \pm 1^\circ$ Dioxan		$[\alpha]_{5461}^{13} = +58,5^\circ \pm 1^\circ$ Dioxan	
17-iso-Ätio-allo-cholan-säure-methylester (VI) <sup>4)</sup>	$[\alpha]_D^{13} = -40,8^\circ \pm 1^\circ$ Dioxan	$89,5^\circ \pm 2^\circ$	$[\alpha]_{5461}^{13} = -48^\circ \pm 1^\circ$ Dioxan	$106,5^\circ \pm 2^\circ$
3-Keto-ätio-cholen-(4)-säure-methylester <sup>4)</sup>	$[\alpha]_D^{15} = +144,7^\circ \pm 2^\circ$ Aceton		$[\alpha]_{5461}^{15} = +172,2^\circ \pm 2^\circ$ Aceton	
17-iso-3-Keto-ätio-cholen-(4)-säure-methylester <sup>5)</sup>	$[\alpha]_D^{18} = +36^\circ \pm 2^\circ$ Aceton	$108,7^\circ \pm 4^\circ$	$[\alpha]_{5461}^{18} = +46^\circ \pm 3^\circ$ Aceton	$126,2^\circ \pm 5^\circ$

Die Bildung von V ist bemerkenswert, weil nicht nur die freien Ätiosäuren, sondern auch ihre Ester gegen Isomerisierung recht beständig sind<sup>5)</sup>. Der Eintritt dieses Vorganges kann entweder durch das lange Erhitzen des Natriumsalzes von (I) mit Alkali auf 170° bewirkt sein oder durch die Einwirkung des Natriumalkoholats auf den noch intakten Ester (IV) oder durch intermediäre Hydrazidbildung. Wir halten letzteres für möglich, da auch in anderen Fällen

<sup>1)</sup> R. Tschesche, B. **68**, 7 (1935).

<sup>2)</sup> M. Steiger, T. Reichstein, Helv. **20**, 1040 (1937).

<sup>3)</sup> Die Zahlen in eckigen Klammern geben den auf ganze Grade auf- oder abgerundeten Wert der spez. Drehung für Na-Licht an; D = Dioxan.

<sup>4)</sup> Vgl. den experimentellen Teil dieser Arbeit.

<sup>5)</sup> C. W. Shoppee, Helv. **23**, 925 (1940).

beobachtet wurde<sup>1)</sup>, dass eine Isomerisierung von Säuren mit einem Asymmetriezentrum in  $\alpha$ -Stellung bei der Überführung ins Hydrazid besonders leicht erfolgt. Der Verlauf der Reaktion, durch die sich die sonst schwer zugänglichen 17-*iso*-Säuren relativ leicht gewinnen lassen, soll durch spätere Versuche aufgeklärt werden.

### Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ . Die Substanzproben zur Drehung und Analyse wurden im Hochvakuum bei  $90^\circ$  getrocknet.)

2,3 g 3-Keto-ätio-*allo*-cholansäure-methylester (IV) vom Smp.  $184\text{--}185^\circ$ <sup>2)</sup> wurden mit  $5\text{ cm}^3$  Hydrazinhydrat und der Lösung von 2,5 g Natrium in  $60\text{ cm}^3$  Alkohol 12 Stunden im Drehaufklaven auf  $170^\circ$  erhitzt. Nach dem Erkalten wurde mit Wasser versetzt, der Alkohol im Vakuum entfernt und die Lösung mit Äther ausgeschüttelt, der jedoch nur Spuren Eindampfdruckstand gab. Nach Zusatz von HCl wurde wieder mit viel Äther ausgeschüttelt und die mit Wasser gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Ätherauszüge eingedampft. Der Rückstand lieferte beim Umkrystallisieren aus wenig Aceton-Äther (1:2) sowie aus Eisessig 1 g reine Ätio-*allo*-cholansäure (I)<sup>3)4)5)</sup> vom Smp.  $236\text{--}237^\circ$ . Der daraus mit Diazomethan bereitete Methylester (II)<sup>3)5)</sup> schmolz bei  $144\text{--}145^\circ$ . Die vereinigten und getrockneten Mutterlaugen wurden mit Diazomethan methyliert und das unscharf bei  $105\text{--}130^\circ$  schmelzende Estergemisch (II + VI) (866 mg) in reinem Petroläther gelöst und sehr sorgfältig über  $35\text{ g Al}_2\text{O}_3$  (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert. Zum Nachwaschen diente ausschliesslich Petroläther. Die ersten zwei Fraktionen lieferten nach Umkrystallisieren aus wenig Chloroform-Äther, dann aus Aceton-Methanol 130 mg reinen 17-*iso*-Ester (VI) als grobe Prismen vom Smp.  $134\text{--}135^\circ$  und  $[\alpha]_{\text{D}}^{13} = -40,8^\circ \pm 1^\circ$ ;  $[\alpha]_{5461}^{13} = -48,0^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 2,353$  in Dioxan).

23,580 mg Subst. zu  $1,002\text{ cm}^3$ ;  $l = 1\text{ dm}$ ;  $\alpha_{\text{D}}^{13} = -0,96^\circ \pm 0,02^\circ$ ;  $\alpha_{5461}^{13} = -1,13^\circ \pm 0,02^\circ$

3,568 mg Subst. gaben 10,366 mg  $\text{CO}_2$  und 3,432 mg  $\text{H}_2\text{O}$

$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_2$  (318,48) Ber. C 79,19 H 10,76%

Gef. „ 79,29 „ 10,76%

Die folgenden Fraktionen gaben zunächst Gemische von (II) + (VI), und schliesslich folgten noch 150 mg reiner Ester (II) vom Smp.  $144\text{--}145^\circ$ . Die spez. Drehung dieses Esters betrug:  $[\alpha]_{\text{D}}^{13} = +48,7^\circ \pm 1^\circ$ ;  $[\alpha]_{5461}^{13} = +58,5^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 2,1362$  in Dioxan).

21,405 mg Subst. zu  $1,002\text{ cm}^3$ ;  $l = 1\text{ dm}$ ;  $\alpha_{\text{D}}^{13} = +1,04^\circ \pm 0,02^\circ$ ;  $\alpha_{5461}^{13} = +1,25^\circ \pm 0,02^\circ$ .

Der Unterschied gegenüber früheren in Chloroform gefundenen Werten<sup>6)7)</sup> ist gering.

<sup>1)</sup> A. Stoll, A. Hofmann, Z. physiol. Ch. **250**, 7 (1937).

<sup>2)</sup> M. Steiger, T. Reichstein, Helv. **20**, 1040 (1937) gaben als Smp.  $176\text{--}179^\circ$  an. Das hier verwendete Präparat wurde aus dem  $3\beta$ -Oxy-ätio-*allo*-cholansäure-methylester mit  $\text{CrO}_3$  bereitet.

<sup>3)</sup> R. Tschesche, B. **68**, 7 (1935).

<sup>4)</sup> M. Steiger, T. Reichstein, Helv. **20**, 1040 (1937).

<sup>5)</sup> Pl. A. Plattner, A. Fürst, Helv. **26**, 2266 (1943).

<sup>6)</sup> R. Tschesche, B. **68**, 7 (1935) fand Smp.  $140\text{--}142^\circ$  und  $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +48^\circ$  (Chf.).

<sup>7)</sup> Pl. A. Plattner, A. Fürst, Helv. **26**, 2266 (1943) fanden Smp.  $140\text{--}142^\circ$  und  $[\alpha]_{\text{D}} = +55,4^\circ$  (Chf.).

Spez. Drehung des 3-Keto-ätio-cholen-(4)-säure-methylesters.  
Das aus Äther umkrystallisierte Präparat schmolz bei 131—132°.

$[\alpha]_D^{15} = +144,7^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ;  $[\alpha]_{5461}^{15} = +172,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,0507$  in Aceton).  
10,596 mg Subst. zu 1,002 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{15} = +1,52^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$ ;  $\alpha_{5461}^{15} = +1,81^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$ .

Die Mikroanalyse wurde im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

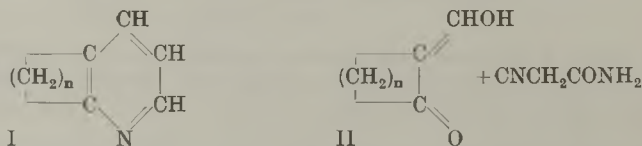
## 220. Über Cyclohepteno-2,3-pyridin

von V. Prelog und W. Hinden.

(27. X. 44.)

Als Modellversuch zur Herstellung von Cycloalkeno-2,3-pyridinen I mit einer grösseren Zahl von Ringgliedern ( $n > 8$ ) stellen wir das bisher unbekannte Cyclohepteno-2,3-pyridin ( $n = 5$ ) auf einem früher nicht benützten Wege (V—X) her.

Die beiden schon bekannten Vertreter der Cycloalkeno-2,3-pyridin-Reihe, das Pyridan (5,6-Dihydro-pyridin, Pyrhydrinden,  $n = 3$ )<sup>1)</sup> und das 5,6,7,8-Tetrahydro-chinolin ( $n = 4$ )<sup>2)</sup> sind nach einem von *J. von Braun* und *G. Lemke* stammenden Verfahren hergestellt worden. Die erste Reaktionsstufe dieses Verfahrens, die Kondensation eines  $\alpha$ -Oxymethylen-cyclanons (II) mit Cyan-acetamid könnte sowohl zu Cycloalkeno-2,3-pyridin-Derivaten (III), wie zu Cycloalkeno-3,4-pyridin-Derivaten (IV) führen<sup>3)</sup>. Die Konstitution der erhaltenen Verbindungen musste deshalb immer besonders bewiesen werden. Der neue Weg besitzt demgegenüber den Vorteil der Eindeutigkeit.

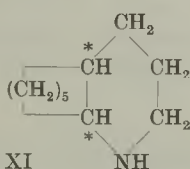
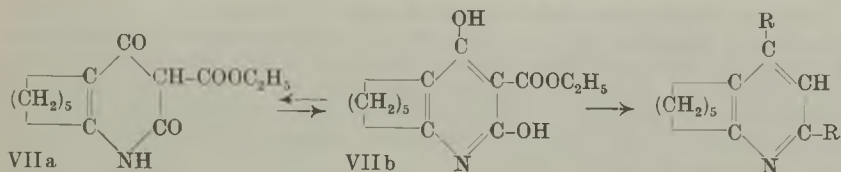
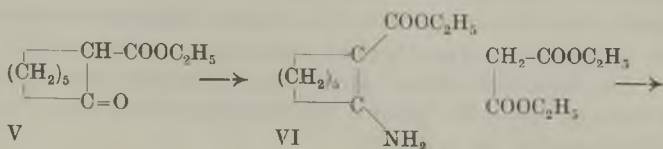
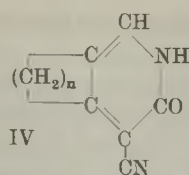
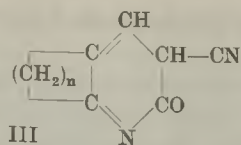


<sup>1)</sup> Über die Benennung vgl. *T. Zincke*, A. 290, 324 (1896). Die Verbindung wurde zuerst von *T. Eguchi*, C. 1929, I. 331, aus Schieferteer isoliert. Die Synthese führte *W. C. Thompson*, Am. Soc. 53, 3160 (1931) aus.

<sup>2)</sup> Das von *J. von Braun* und *G. Lemke*, A. 478, 182 (1930), auf synthetischem Wege hergestellte 5,6,7,8-Tetrahydro-chinolin kann nach den Angaben von *M. Ehrenstein* und *W. Bunge*, B. 67, 1715 (1934), auch durch partielle Dehydrierung von Dekahydro-chinolinen erhalten werden. Substituierte 5,6,7,8-Tetrahydro-chinolone lassen sich durch Reduktion von Chinolin-Derivaten herstellen, vgl. *J. von Braun* und Mitarb., B. 55, 3779 (1922); 56, 1338, 1347 (1923); *J. Tröger* und Mitarb., J. pr. [2] 112, 221, 243 (1926). Über weitere Herstellungsverfahren vgl. *S. Yamaguchi*, C. 1926, II. 2722; *U. Basu*, A. 512, 131 (1934); 530, 131 (1937); *J. Kenner*, *W. H. Ritchie* und *A. L. Wain*, Soc. 1937, 1526; *A. E. Tchitchibabine*, Bl. [5] 6, 522 (1939); C. r. 212, 914 (1941); *S. Fujise* und *K. Tiba*, C. 1940, I. 1832.

<sup>3)</sup> Vgl. dazu *H. K. Sen* und *U. Bose*, C. 1927, II. 435.





Als Ausgangsprodukt diente der nach *A. Kötze* und *A. Michels*<sup>1)</sup> durch thermische Spaltung von Cycloheptanon-(2)-oxalylsäure-(1)-äthylester hergestellte Cycloheptanon-(2)-carbonsäure-(1)-äthylester<sup>2)</sup> (V). Dabei konnten die früheren Angaben bestätigt werden, dass die Ausbeuten bei dieser Reaktion schwankend und aus unbekanntem Gründen oft schlecht sind<sup>3)</sup>. Regelmässig gute Ausbeuten erhielten wir dagegen nach Zugabe kleiner Mengen von Borsäure vor der thermischen Spaltung.

Der Cycloheptanon-(2)-carbonsäure-(1)-äthylester gab mit Ammoniak den bisher nicht beschriebenen 2-Amino-cyclohepten-(1)-carbonsäure-(1)-äthylester (VI). Dieser wurde mit Malonsäure-diäthylester zum 4,6-Dioxy-cyclohepteno-2,3-pyridincarbonsäure-(3)-äthylester (VIIa bzw. VIIb) kondensiert. Durch Verseifung und Decarboxylierung ging die letztgenannte Verbindung in das 4,6-Dioxy-cyclohepteno-2,3-pyridin (VIII) über, aus welchem mit Phosphoroxchlorid bei 190° das 4,6-Dichlor-cyclohepteno-2,3-pyridin (IX) hergestellt wurde. Katalytische Hydrierung mit *Raney-Nickel* in

<sup>1)</sup> *A.* **350**, 211 (1906); **358**, 198 (1907).

<sup>2)</sup> *R. H. F. Manske* und *L. Ch. Leitch*, *C.* **1936**, I, 4723.

<sup>3)</sup> Vgl. z. B. *W. E. Bachmann*, *W. Cole* und *A. L. Wilds*, *Am. Soc.* **62**, 825 (1940).

alkalischem Medium gab schliesslich das Cyclohepteno-2,3-pyridin (X) in guter Ausbeute<sup>1)</sup>.

Das Cyclohepteno-2,3-pyridin ist ein chinolinartig riechendes, farbloses Öl, welches durch krystalline Salze charakterisiert wurde. Es zeigte im U.V. das für Pyridin-Basen charakteristische Absorptionsspektrum mit einem Maximum bei 267 m $\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,6$ .

Durch Reduktion mit Natrium in abs. Alkohol wurde aus Cyclohepteno-2,3-pyridin das Cycloheptano-2,3-piperidin (XI) erhalten. Obwohl bei der Reduktion zwei Diastereomere entstehen können, gelang uns nur eines der beiden Diastereomeren in Form des Pikrates bzw. Pikrolonates zu isolieren.

Da das cis-Dekahydro-chinolin durch Kochen mit Salzsäure in das trans-Dekahydro-chinolin übergehen soll<sup>2)</sup>, versuchten wir, das erhaltene einheitliche Cycloheptano-2,3-piperidin auf ähnliche Weise umzulagern. Dasselbe blieb aber unter den Bedingungen, unter welchen das cis-Dekahydro-chinolin umgelagert wird, unverändert. Wegen der Verschiedenheit der sterischen Verhältnisse bei den beiden homologen bicyclischen Systemen, kann man jedoch daraus nicht entscheiden, ob es sich bei der isolierten Base um die cis- oder trans-Verbindung handelt.

Bemerkenswert ist die grosse Beständigkeit des Cyclohepteno-2,3-pyridins gegen dehydrierende Reagenzien. Die Verbindung erträgt ohne Änderung das Erhitzen mit Selen auf 400°, sowie mit Palladiumkohle auf 300°.

### Experimenteller Teil<sup>3)</sup>.

#### Cycloheptanon-(2)-carbonsäure-(1)-äthylester (V).

Zu einer mit Eis-Kochsalz gekühlten Natrium-äthylat-Lösung aus 13,5 g Natrium in 350 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol wurde während 1½ Stunden unter Rühren ein Gemisch von 59 g Cycloheptanon und 77 g Oxalsäure-diäthylester so rasch zugepöft, dass die Temperatur des Reaktionsgemisches – 8° bis – 6° betrug. Nach Beendigung des Zutropfens rührte man weitere 10 Stunden bei – 4° und liess dann 3 Tage bei dieser Temperatur stehen. Unter Kühlen wurde darauf das Gemisch vorsichtig mit vorgekühlter 2-n. Schwefelsäure angesäuert (Kongorot) und das ölige Produkt in Äther aufgenommen. Nach dem Eindampfen des mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschenen und mit Natriumsulfat getrockneten ätherischen Auszuges blieben 84,1 g des rohen Cycloheptanon-(2)-oxalylsäure-(1)-äthylesters zurück.

127,3 g des rohen Esters wurden unter Zugabe von 20 mg Borsäure vorsichtig in einem schwachen Wasserstrahlvakuum erhitzt. Bei 147° begann die Kohlenoxyd-Abspaltung. Die Temperatur wurde darauf während 6 Stunden langsam bis zur Beendigung der Gasentwicklung auf 172° erhöht. Durch Destillation des Rückstandes erhielt man 88,1 g (60% der Theorie) eines farblosen Öls vom Sdp.<sub>11 mm</sub> 122–126°. Bei der Wiederholung der Reaktion variierten die Ausbeuten zwischen 52–64% der Theorie, während ohne Zusatz von Borsäure nicht einmal die Hälfte davon erreicht werden konnte. Die thermische Spaltung, unter Zusatz von gepulvertem, weichem Glas<sup>4)</sup> (gepulverte Glasperlen) gab ebenfalls nur schlechte Ergebnisse.

<sup>1)</sup> Auf analogem Wege wurden von V. Prelog und S. Szpilfogel, Helv. 25, 1306 (1942), 2,5-Dialkyl-pyridine hergestellt.

<sup>2)</sup> G. R. Clemo, J. G. Cook und R. Raper, Soc. 1938, 1183.

<sup>3)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>4)</sup> Vgl. Anm. 3, S. 1855.

2-Amino-cyclohepten-(1)-carbonsäure-(1)-äthylester (VI).

Ein Gemisch aus 70 g Cycloheptanon-(2)-carbonsäure-(1)-äthylester und 35 g Ammoniumnitrat wurde während 48 Stunden mit trockenem, gasförmigem Ammoniak gesättigt und dann 20 Tage geschlossen aufbewahrt. Das Reaktionsprodukt schüttelte man erschöpfend mit Äther aus. Nach dem Abdestillieren des Äthers blieb ein krystalliner Rückstand zurück, welcher aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert wurde. Ausbeute 63 g (90,5% der Theorie). Zur Analyse wurde nochmals aus wässrigem Alkohol umgelöst und im Hochvakuum sublimiert, Smp. 61°.

3,650 mg Subst. gaben 8,760 mg CO<sub>2</sub> und 3,019 mg H<sub>2</sub>O  
 4,832 mg Subst. gaben 0,319 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (18°, 727 mm)  
 C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>O<sub>2</sub>N Ber. C 65,54 H 9,35 N 7,64%  
 Gef. „ 65,50 „ 9,26 „ 7,41%

4,6-Dioxy-cyclohepteno-2,3-pyridin-carbonsäure-(5)-äthylester (VII).

20 g 2-Amino-cycloheptan-(1)-carbonsäure-(1)-äthylester, 17,5 g Malonsäure-diäthylester und eine Natrium-äthylat-Lösung aus 2,7 g Natrium in 54 cm<sup>3</sup> Alkohol erhitzte man im Einschlussrohr 30 Stunden auf 110°. Das Reaktionsgemisch wurde mit 2-n. Salzsäure angesäuert (Kongorot) und der ausgeschiedene weisse, krystalline Niederschlag abgesaugt. Nach Umlösen aus Alkohol konnten 11 g (40% der Theorie) eines farblosen, krystallinen Produktes vom Smp. 213° erhalten werden. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

3,677 mg Subst. gaben 8,384 mg CO<sub>2</sub> und 2,187 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>O<sub>4</sub>N Ber. C 62,14 H 6,82%  
 Gef. „ 62,23 „ 6,65%

Das Filtrat wurde nach der Entfernung des rohen 4,6-Dioxy-cyclohepteno-2,3-pyridin-carbonsäure-(5)-äthylesters mit Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Durch die Fraktionierung des ätherischen Auszugs konnten 7 g (39% der Theorie) Cycloheptanon-(2)-carbonsäure-(1)-äthylester zurückgewonnen werden.

4,6-Dioxy-cyclohepteno-2,3-pyridin (VIII).

4,6-Dioxy-cyclohepteno-2,3-pyridin-carbonsäure-(5)-äthylester wurde mit einem Überschuss an 2-n. Salzsäure 24 Stunden unter Rückfluss gekocht und dann im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde zur Analyse mehrmals aus Alkohol umgelöst und im Hochvakuum sublimiert.

3,865 mg Subst. gaben 9,529 mg CO<sub>2</sub> und 2,426 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>O<sub>2</sub>N Ber. C 67,02 H 7,31%  
 Gef. „ 67,28 „ 7,02%

4,6-Dichlor-cyclohepteno-2,3-pyridin (IX).

Der zur Trockne eingedampfte Rückstand nach der Verseifung und Decarboxylierung von 12 g 4,6-Dioxy-cyclohepteno-2,3-pyridin-carbonsäure-(5)-äthylester wurde mit 30 g Phosphoroychlorid im Einschlussrohr 6 Stunden auf 185—190° erhitzt<sup>1)</sup>. Nach dem Erkalten versetzte man mit Eiswasser und Kaliumcarbonat-Lösung bis zur alkalischen Reaktion. Das ausgeschiedene Öl wurde in Äther aufgenommen, mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und destilliert. Ausbeute 9,8 g (95% der Theorie) eines farblosen Öls, welches zur Analyse nochmals fraktioniert wurde.

3,730 mg Subst. gaben 7,576 mg CO<sub>2</sub> und 1,682 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NCl<sub>2</sub> Ber. C 55,57 H 5,13%  
 Gef. „ 55,43 „ 5,05%

1) Durch Erhitzen auf 230° wurde der grösste Teil des Produktes verkohlt.

Cyclohepteno-2,3-pyridin (X).

Eine Lösung von 9,8 g 4,6-Dichlor-cyclohepteno-2,3-pyridin in 220 cm<sup>3</sup> Methanol wurde mit Natrium-methylat aus 8 g Natrium in 150 cm<sup>3</sup> Methanol versetzt und mit Raney-Nickel aus 5 g Legierung hydriert. Wasserstoffverbrauch: Ber. 2045 cm<sup>3</sup>, Gef. 2070 cm<sup>3</sup> (0°, 760 mm) einschliesslich der vom Katalysator verbrauchten Menge. Nach der Beendigung der Hydrierung destillierte man aus der vom Katalysator abfiltrierten angesäuerten Lösung das Methanol mit Wasserdampf ab. Der Rückstand wurde darauf mit Kaliumhydroxyd stark alkalisch gemacht und die Base mit Wasserdampf abdestilliert. Aus dem Destillat erhielt man das Cyclohepteno-2,3-pyridin durch Ausschütteln mit Äther und Destillation der mit Kaliumhydroxyd getrockneten ätherischen Auszüge, Sdp.<sub>11 mm</sub> 97—99°, Ausbeute 6,2 g (93% der Theorie). Zur Analyse wurde nochmals im Vakuum fraktioniert.

Das Cyclohepteno-2,3-pyridin ist ein farbloses chinolinartig riechendes Öl. Es zeigt in alkoholischer Lösung im U. V. ein Absorptionsmaximum bei 267 m $\mu$ , log  $\epsilon$  = 3,6.

$$d_4^{20} = 1,010; t = 20^\circ; n_D = 1,5362; n_D = 1,5404; n_B = 1,5517; n_\gamma = 1,5609$$

3,920 mg Subst. gaben 11,715 mg CO<sub>2</sub> und 3,104 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N	Ber. C 81,58	H 8,90%
Gef. „	81,56	„ 8,86%

Das Pikrat krystallisierte aus Methanol in gelben Prismen vom Smp. 130—131,5°<sup>1)</sup>.

3,937 mg Subst. gaben 7,350 mg CO<sub>2</sub> und 1,502 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub> N <sub>4</sub>	Ber. C 51,06	H 4,29%
Gef. „	50,95	„ 4,27%

Das Pikrolonat bildete nach Umlösen aus Methanol gelbe Prismen vom Smp. 178,5—180°<sup>1)</sup>.

3,598 mg Subst. gaben 7,660 mg CO<sub>2</sub> und 1,584 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> O <sub>5</sub> N <sub>5</sub>	Ber. C 58,38	H 5,15%
Gef. „	58,10	„ 4,92%

Das Hexachloroplatinat wurde aus Wasser umkrystallisiert. Orangefarbige Krystalle vom Smp. 198,5—200°<sup>1)</sup>.

4,513 mg Subst. gaben 5,615 mg CO<sub>2</sub>, 1,689 mg H<sub>2</sub>O und 1,250 mg Pt

C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> Cl <sub>6</sub> Pt	Ber. C 34,10	H 4,01	Pt 27,71%
Gef. „	33,95	„ 4,17	„ 27,70%

Dehydrierungsversuche: a) mit Palladium-Kohle. 1 g Cyclohepteno-2,3-pyridin wurde mit 0,5 g 5-proz. Palladium-Kohle 32 Stunden auf 300° im Einschlussrohr erhitzt. Aus dem Reaktionsgemisch konnten 0,62 g einer farblosen Base zurückgewonnen werden, deren krystalline Salze mit denjenigen des Ausgangsproduktes identisch waren.

b) mit Selen. 0,5 g Base wurde mit 2,5 g Selen 12 Stunden auf 400° erhitzt. Aus dem Reaktionsgemisch konnten 0,4 g Ausgangsprodukt zurückerhalten werden.

Cycloheptano-2,3-piperidin (XI).

Zu einer Lösung von 1,47 g Cyclohepteno-2,3-pyridin in 70 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol wurden 7 g Natrium rasch zugegeben. Nach dem Auflösen des Natriums säuerte man mit 2-n. Salzsäure an und destillierte den Alkohol ab. Aus dem Destillationsrückstand wurde die Base in Freiheit gesetzt, mit Äther ausgezogen, mit Kaliumhydroxyd getrocknet und im Kragenkolben bei 11 mm destilliert, Badtemperatur 125—130°, Ausbeute 1,13 g (74% der Theorie).

0,82 g der Base wurden in methanolischer Lösung in das Pikrolonat übergeführt. Nach dreimaligem Umlösen aus Methanol erhielt man 1,15 g eines Produktes vom konstanten Smp. 225—226°<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,710 mg Subst. gaben 7,836 mg CO<sub>2</sub> und 2,082 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>O<sub>5</sub>N<sub>5</sub> Ber. C 57,53 H 6,51%

Gef. „ 57,64 „ 6,28%

Das Pikrat schmolz nach Umlösen aus Methanol bei 146—147°<sup>1)</sup>.

3,850 mg Subst. gaben 7,076 mg CO<sub>2</sub> und 2,000 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>7</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 50,26 H 5,80%

Gef. „ 50,16 „ 5,81%

Umlagerungsversuch. 100 mg der über das Pikrolonat gereinigten Base wurden im Einschlussrohr mit 1 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure 12 Stunden auf 140° erhitzt. Aus dem Reaktionsprodukt erhielt man das Pikrolonat vom Smp. 225—226°, welches mit dem Pikrolonat des Ausgangsproduktes keine Schmelzpunktserniedrigung gab.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

## 221. Zur Kenntnis der Triterpene.

(91. Mitteilung<sup>2)</sup>)

### Umsetzungen in den Ringen A und B bei $\beta$ -Boswellinsäure

von L. Ruzicka, O. Jeger und W. Ingold.

(27. X. 44.)

Zu der Untergruppe der Triterpene vom  $\alpha$ -Amyrin-Typus gehören ausser dem  $\alpha$ -Amyrin die  $\beta$ -Boswellinsäure und die Ursolsäure. *Ruzicka* und *Wirz*<sup>3)</sup> haben in der  $\beta$ -Boswellinsäure die Carboxylgruppe in ein Methyl umgewandelt und so  $\alpha$ -Amyrin erhalten. Durch eine analoge Umwandlung konnte *Goodson*<sup>4)</sup> aus Ursolsäure ebenfalls  $\alpha$ -Amyrin gewinnen.

Über den Bau des Kohlenstoffgerüsts ist man beim  $\alpha$ -Amyrin noch nicht so genau orientiert, wie beim  $\beta$ -Amyrin, wo neben den Dehydrierungsergebnissen noch eine ganze Reihe von Oxydations- und Abbaureaktionen eine weitgehende Aufklärung ermöglichten.

Über die gegenseitige Lage des Hydroxyls und der Doppelbindung beim  $\alpha$ -Amyrin konnte auf Grund zweier Reaktionen eine vorläufige Auskunft erhalten werden. *Ewen*, *Gillam* und *Spring*<sup>5)</sup> teilten vor kurzem mit, dass das schon lange bekannte<sup>6)</sup>, durch Einwirkung von Phosphorperoxyd auf  $\alpha$ -Amyrin entstehende *l*- $\alpha$ -Amyradien zwei konjugierte, auf verschiedene Ringe verteilte Doppelbindungen aufweist (XVI). Ferner liefert das  $\alpha$ -Amyradienol bei der

<sup>1)</sup> Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

<sup>2)</sup> 90. Mitt., Helv. 27, 1532 (1944). <sup>4)</sup> Soc. 1938, 999.

<sup>3)</sup> Helv. 22, 448 (1939).

<sup>5)</sup> Soc. 1944, 28.

<sup>6)</sup> *Vesterberg*, B. 24, 3835 (1891).

gleichen Umsetzung ein  $\alpha$ -Amyratrien (XVII) mit drei konjugierten Doppelbindungen. Das  $\alpha$ -Amyradienol ist zuerst von *Jacobs* und *Fleck*<sup>1)</sup> durch Erhitzen des  $\alpha$ -Amyrin-acetats (Ic) mit Schwefel in Benzyl-acetat-Lösung, später von *Spring* und *Vickerstaff*<sup>2)</sup> durch Reduktion des  $\alpha$ -Amyrenonol-acetats (IIIb) mit Natrium und Alkohol und schliesslich von uns<sup>3)</sup> durch Umsetzung von Ic mit N-Brom-succinimid dargestellt worden. Die konjugierten Doppelbindungen des  $\alpha$ -Amyradienols liegen auf Grund des Absorptionsspektrums im U.V. in einem Ringe. Diese Tatsachen sind, wie schon *Ewen*, *Gillam* und *Spring*<sup>4)</sup> bemerkt haben, ausschlaggebend für die Unterbringung der Doppelbindung des  $\alpha$ -Amyrins zwischen den Kohlenstoffatomen 6 und 7.

In unserem Laboratorium sind seit längerer Zeit Arbeiten im Gange über Umsetzungen an der Doppelbindung und den funktionellen Gruppen bei den drei Vertretern des  $\alpha$ -Amyrin-Typus. Wir beginnen in dieser Arbeit mit der Mitteilung der dabei erzielten Resultate.

Nach *Simpson* und *Williams*<sup>5)</sup> liegt in der  $\beta$ -Boswellinsäure (Ia) eine  $\beta$ -Oxy-säure vor, die bei der Oxydation mit Chromsäure in das Nor- $\alpha$ -amyrenon  $C_{29}H_{46}O$  (II) abgebaut wird<sup>6)</sup>. *Simpson* und *Williams* beobachteten ferner, dass sich das Nor- $\alpha$ -amyrenon und der Acetyl-methylester Ib bei der Oxydation verschieden verhalten. Während der Acetyl- $\beta$ -boswellinsäure-methylester (Ib) ähnlich dem  $\alpha$ -Amyrin-acetat (Ic) ein  $\alpha, \beta$ -ungesättigtes Acetoxy-keton (IIIa) liefert, erhält man bei der weiteren Oxydation des Nor- $\alpha$ -amyrenons ein gesättigtes Diketon (IV).

Die Resultate der unlängst mitgeteilten Versuche der Einführung zusätzlicher Doppelbindungen bei den Triterpenen des  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin-Typus mit N-Brom-succinimid<sup>7)</sup> haben uns zur Übertragung dieser Methode<sup>8)</sup> auf die  $\beta$ -Boswellinsäure und ihre Nor-Produkte veranlasst. Bei der Umsetzung des Acetyl-methylesters Ib und des Nor-Ketons II erhält man in Übereinstimmung mit dem Verhalten des  $\alpha$ -Amyrin-acetats (Ic)<sup>7)</sup> den  $\Delta^{6,7;8,9}$ -2-Acetoxy- $\alpha$ -amyradien-23-säure-methylester (V) bzw. das Dienon (VI). Die beiden Verbindungen besitzen ein identisches U.V.-Absorptionsspektrum mit einem Maximum bei 281 m $\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,05$  (Fig. A, Kurve 1)<sup>9)</sup>.

1) J. Biol. Chem. **88**, 137 (1930).      2) Soc. **1937**, 250.

3) Helv. **26**, 1235 (1943).      4) Soc. **1944**, 28.      5) Soc. **1938**, 1712.

6) Die Autoren haben diesen Abbau vor der Überführung der  $\beta$ -Boswellinsäure in  $\alpha$ -Amyrin durchgeführt und das  $C_{29}$ -Nor-Keton als Nor- $\beta$ -boswellenon bezeichnet. Zur Vereinfachung der Nomenklatur benennen wir II und andere Umwandlungs-, bzw. Abbauprodukte der  $\beta$ -Boswellinsäure als  $\alpha$ -Amyrin-Derivate; für das Naturprodukt selbst wird aber die Bezeichnung  $\beta$ -Boswellinsäure beibehalten.      7) Helv. **26**, 1235 (1943).

8) *Ziegler* und Mitarb., A. **551**, 80 (1943).

9) Die in dieser Arbeit mitgeteilten U. V. Absorptionsspektren wurden in Dioxan aufgenommen.

Lässt man auf das durch Reduktion von II nach *Wolff-Kishner* gewonnene  $\Delta^{6,7}$ -23-Nor- $\alpha$ -amyren (VII) N-Brom-succinimid einwirken, so erhält man neben dem  $\Delta^{6,7;8,9}$ -23-Nor- $\alpha$ -amyradien (VIII) in ungefähr 10-proz. Ausbeute ein intensiv gelb-orange gefärbtes Brom-Derivat der ungefähren Zusammensetzung  $C_{29}H_{34}Br_6$ . Während die Verbindung VIII das gleiche U.V.-Absorptionsspektrum wie V und VI aufweist, besitzt das Brom-Derivat im U.V. eine Absorptionskurve mit Maxima bei 286, 351 und 398  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,20, 4,18$  bzw. 3,52 (Fig. A, Kurve 2).

Die Konstitutionsformeln dieser ohne Umlagerung entstehenden Diene (VI und VIII) haben zur Voraussetzung, dass am Kohlenstoffatom 9 des  $\alpha$ -Amyringerüsts im Gegensatz zum  $\beta$ -Amyrin keine Methylgruppe anwesend ist. Diese Forderung steht allerdings im Gegensatz zu gewissen Dehydrierungsergebnissen in der  $\alpha$ -Amyrin-Reihe<sup>1)</sup>. Da jedoch die bisherigen Dehydrierungen in der  $\alpha$ -Amyrin-Reihe an sich zu Widersprüchen führen, so müssen sie nochmals in aller Sorgfalt mit zuverlässig reinem Material wiederholt werden.

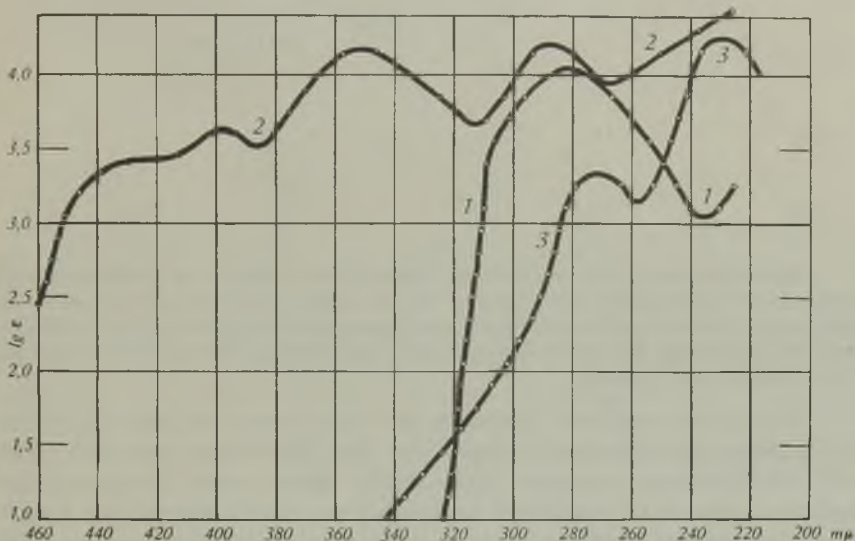
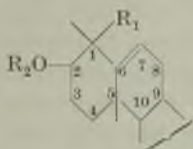


Fig. A.

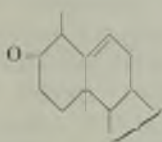
Kurve 1: Verbindungen V, VI und VIII.

Kurve 2:  $C_{29}H_{34}Br_6$  (?).

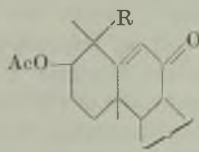
Kurve 3: Enol-friedelin-benzoat.



- Ia  $R_1 = COOH$   $R_2 = H$   
 Ib  $R_1 = COOCH_3$ ;  $R_2 = CH_3 \cdot CO$   
 Ic  $R_1 = CH_3$ ;  $R_2 = CH_3 \cdot CO$

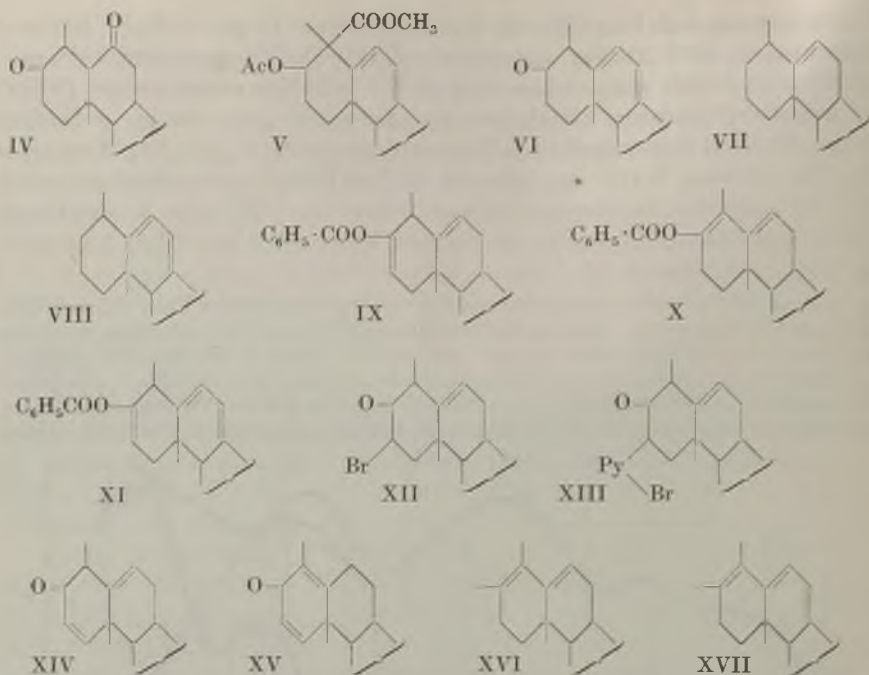


II



- IIIa  $R = COOCH_3$   
 IIIb  $R = CH_3$

<sup>1)</sup> *Spring und Vickerstaff, Soc. 1937, 249; Brunner, Hofer und Stein, M. 61, 293 (1932); 63, 79 (1933); Drake und Duval, Am. Soc. 58, 1687 (1936).*



Bemerkungen zu den Formeln. Die eine Methylgruppe am Kohlenstoffatom 1 und jene am Kohlenstoffatom 5 wurden bis jetzt nicht nachgewiesen; sie sind in Anlehnung an den Bau des Ringes A des  $\beta$ -Amyrins angenommen worden. Die Bezeichnung der Carboxyl-Gruppe der  $\beta$ -Boswellinsäure als Kohlenstoffatom 23 entspricht der üblichen Numerierung beim  $\beta$ -Amyrin.

Wir haben nun das Verhalten der Nor-Ketone II und VI bei der Umsetzung mit Benzoylchlorid in der Siedehitze geprüft. Das  $\Delta^{6,7}$ -23-Nor-2-oxo- $\alpha$ -amyren (II) liefert dabei zwei isomere Enolbenzoate, die auf Grund der verschiedenen Löslichkeiten in Aceton und Chloroform-Methanol-Gemisch getrennt werden konnten. Die beiden Isomeren besitzen im U.V. ein identisches Spektrum mit einem Maximum bei  $230\text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,34$  und einem Nebenmaximum bei  $273\text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,30$  (Fig. B, Kurve 1). Da das Enol-friedelinbenzoat<sup>1)</sup> genau die gleiche Absorption im U.V. aufweist (Fig. A, Kurve 3), so kommt für die beiden Enol-Benzoate<sup>2)</sup> aus II Formel IX und nicht Formel X in Betracht, die eine Konjugation ähnlich dem *l*- $\alpha$ -Amyradien (XVI) aufweist. Analog lieferte das Ketodien VI ein Enolbenzoat (XI), das im U.V. zwei Maxima bei  $232, 278\text{ m}\mu$   $\log \epsilon = 4,22, 4,10$  aufweist. (Fig. B, Kurve 2.)

<sup>1)</sup> Helv. 27, 972 (1944).

<sup>2)</sup> Der Unterschied könnte auf einer Stereoisomerie der Methylgruppe am Kohlenstoffatom 1 beruhen.



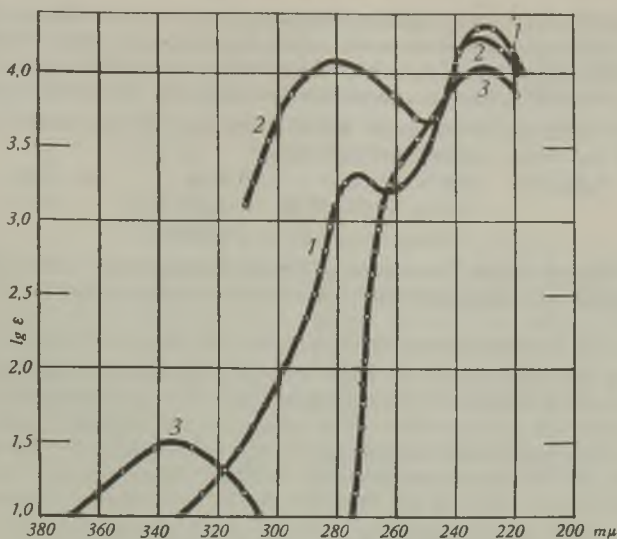


Fig. B.

- Kurve 1: Enol-benzoat IX  
 Kurve 2: Enol-benzoat XI  
 Kurve 3: Verbindung XIV bzw. XV

Schliesslich berichten wir über die Bromierung des  $\Delta^{6,7}$ -23-Nor-2-oxo- $\alpha$ -amyrens (II) zum Brom-Keton XII, dessen Umsetzung mit Pyridin zum ( $\Delta^{6,7}$ -23-Nor-2-oxo- $\alpha$ -amyrenyl)-pyridinium-bromid (XIII) und die Einführung einer zusätzlichen Doppelbindung in den Stellungen 3,4 durch thermische Zersetzung von XIII. Das in guter Ausbeute entstehende Dienon gibt mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung, während das oben beschriebene Isomere VI eine starke braune Farbreaktion aufweist. Zwischen den beiden möglichen Formulierungen XIV und XV kann nach dem U.V.-Spektrum – Maximum bei 230  $m\mu$ ,  $\log \varepsilon = 4,02$  (Fig. B, Kurve 3) – nicht einwandfrei unterschieden werden. Doch ist auf Grund der bisher immer beobachteten Unbeweglichkeit der Doppelbindung zwischen den Kohlenstoffatomen 6 und 7 die Formel XIV die wahrscheinlichere.

Der *Rockefeller Foundation* in New York danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil<sup>1)</sup>.

#### Bromierung des $\Delta^{6,7}$ -23-Nor-2-oxo- $\alpha$ -amyrens (II).

390 mg Substanz werden in 25  $cm^3$  Eisessig warm gelöst und bei ca. 40° mit einer Lösung von 173 mg Brom (1,13 Mol) in 3  $cm^3$  Eisessig versetzt. Nach einigen Minuten beginnt sich ein krystalliner Niederschlag abzuscheiden, der nach  $\frac{1}{2}$ -stünd. Stehen abfiltriert und mit Eisessig und Methanol gewaschen wird. 400 mg farbloser Krystalle,

<sup>1)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert. Die spez. Drehungen wurden in Chloroform in einem Rohr von 1 dm Länge bestimmt.

die bei ungefähr 190° unter starker Zersetzung und Gasentwicklung schmelzen. In Chloroform gelöst gibt das Brom-keton mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde noch zweimal aus Chloroform-Methanol umgelöst und im Hochvakuum 14 Stunden bei 120° getrocknet. Analysiert wurden zwei verschiedene Präparate.

3,660; 3,689 mg Subst. gaben 9,502; 9,628 mg CO<sub>2</sub> und 2,996; 3,088 mg H<sub>2</sub>O  
5,394 mg Subst. gaben 2,088 mg AgBr

C <sub>29</sub> H <sub>45</sub> OBr	Ber. C 71,14	H 9,26	Br 16,32%
	Gef. „ 70,86; 71,22	„ 9,16; 9,37	„ 16,47%

[α]<sub>D</sub> = +91,5° (c = 1,070)

Beim Versuch, dieses Brom-keton (XII) mit Kaliumacetat in Benzol-Äthanol umzusetzen, wurde das Ausgangsprodukt quantitativ zurückgewonnen.

#### Umsetzung des Brom-ketons (XII) mit Pyridin.

100 mg Substanz werden mit 1 cm<sup>3</sup> Pyridin 2 Stunden am Rückfluss erhitzt und die Lösung nach Abkühlen auf Zimmertemperatur mit 4 cm<sup>3</sup> Methanol versetzt. Kurz danach scheidet sich ein krystalliner Niederschlag aus, der abgesaugt und mit Methanol gewaschen wird. Aus Chloroform-Essigester erhält man Nadeln, die sich bei langsamem Erhitzen des *Berl*-Blockes bei ungefähr 250° zersetzen (Hochvakuum). Analysiert wurde ein im Hochvakuum während 100 Stunden bei 110° getrocknetes Präparat.

3,603 mg Subst. gaben 8,671 mg CO<sub>2</sub> und 2,630 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>34</sub> H <sub>50</sub> ONBr · ½ CHCl <sub>3</sub>	Ber. C 65,94	H 8,10%
	Gef. „ 65,68	„ 8,17%

Es liegt das Δ<sup>6,7</sup>-23-Nor-2-oxo-α-amyrenyl-3-pyridiniumbromid (XIII) vor.

#### Thermische Zersetzung des Pyridiniumsalzes (XIII).

380 mg Substanz werden in einem Molekularkolben im Hochvakuum auf 240—245° erhitzt, wobei die Substanz langsam sublimiert. Das Sublimat wird in Äther gelöst und die ätherische Lösung mit 2-n. Schwefelsäure und dann mit Wasser gewaschen. Der neutrale, amorphe Rückstand (230 mg) wird in Petroläther (Sdp. 60—70°) gelöst und durch eine Säule aus 17 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) filtriert. Mit 180 cm<sup>3</sup> Petroläther-Benzol (6 : 1) werden 100 mg Substanz eluiert, die nach Bespritzen mit Aceton in Nadeln krystallisiert. Durch wiederholtes Umlösen aus Aceton erhält man bei 196—197° konstant schmelzende Krystalle, die mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung geben. Die Mischprobe mit dem bei 199—200° schmelzenden Δ<sup>6,7</sup>-23-Nor-2-oxo-α-amyren schmilzt bei 192—193°. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum bei 170° Blocktemperatur sublimiert.

3,746 mg Subst. gaben 11,678 mg CO<sub>2</sub> und 3,654 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> O	Ber. C 85,23	H 10,85%
	Gef. „ 85,07	„ 10,91%

[α]<sub>D</sub> = +157° (c = 0,822)

Es liegt das Δ<sup>3,4;6,7</sup>-23-Nor-2-oxo-α-amyradien (XIV), bzw. das Δ<sup>1,6;3,4</sup>-Isomere (XV) vor.

#### Umsetzung des Δ<sup>6,7</sup>-23-Nor-2-oxo-α-amyrens (II) mit Benzoylchlorid.

300 mg Substanz vom Smp. 198—200° wurden mit 1,5 g Benzoylchlorid während 2 Stunden am Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit 15 cm<sup>3</sup> 20-proz. Essigsäure versetzt und das überschüssige Benzoylchlorid durch kurzes Erwärmen auf 80° verseift. Das Reaktionsgemisch wird in Äther aufgenommen und die Lösung mit 2-n. Natronlauge und dann mit Wasser gewaschen. Nach dem Abdampfen des Äthers verbleiben 320 mg eines krystallinen Rückstandes, der aus Aceton umkrystallisiert wird. Nach dem ersten Umlösen erhält man 130 mg Blättchen, die bei 196—198° schmelzen und bei der Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial eine starke Schmelzpunkterniedri-

gung aufweisen. Nach noch zweimaligem Umkrystallisieren aus Aceton weist das Präparat einen konstanten scharfen Schmelzpunkt von 205—206° auf; mit Tetranitromethan gibt es eine Gelbfärbung, in konz. Schwefelsäure löst es sich farblos auf. Zur Analyse wurde während 20 Stunden im Hochvakuum bei 85° getrocknet.

3,630 mg Subst. gaben 11,168 mg CO<sub>2</sub> und 3,177 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>36</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 83,99 H 9,79%  
Gef. „ 83,96 „ 9,79%

[α]<sub>D</sub> = +86,5° (c = 0,648)

Es liegt das Δ<sup>2,3; 6,7</sup>-23-Nor-2-benzoyloxy-α-amyradien (IX) vor.

Die Mutterlauge des ersten Krystallsats wird stark eingengt und mit einigen Tropfen Wasser versetzt. Es scheiden sich dabei Nadelchen aus, die abgesaugt und mit wenig verd. Aceton (4:1) nachgewaschen werden; 140 mg vom Smp. 144—147°. Zur weiteren Reinigung wird wiederholt aus Chloroform-Methanol umkrystallisiert. Man erhält so Prismen vom Smp. 151—152°, die mit Tetranitromethan und konz. Schwefelsäure eine Gelbfärbung geben. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum während 14 Stunden bei 105° getrocknet.

3,668 mg Subst. gaben 11,299 mg CO<sub>2</sub> und 3,216 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>36</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 83,99 H 9,79%  
Gef. „ 84,06 „ 9,81%

[α]<sub>D</sub> = +92,5° (c = 1,275)

Reduktion des Δ<sup>6,7</sup>-23-Nor-oxo-α-amyrens (II) nach Wolff-Kishner<sup>1)</sup>.

15 g Substanz vom Smp. 197° werden in einer Lösung von 10 g Natrium in 100 cm<sup>3</sup> Äthylalkohol mit 10 g Hydrazinhydrat in einem Autoklaven 10 Stunden auf 200° erhitzt. Nach dem Erkalten scheiden sich 10,5 g Blättchen aus, die aus Benzol umkrystallisiert werden. Das Analysenpräparat wurde noch zweimal aus Hexan umgelöst bis zum konstanten Schmelzpunkt von 173—174°; mit Tetranitromethan gibt es eine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde im Hochvakuum 14 Stunden bei 100° getrocknet.

3,722 mg Subst. gaben 11,980 mg CO<sub>2</sub> und 4,088 mg CO<sub>2</sub>

C<sub>29</sub>H<sub>48</sub> Ber. C 87,80 H 12,20%  
Gef. „ 87,84 „ 12,29%

[α]<sub>D</sub> = +105,8° (c = 1,20)

Es liegt das Δ<sup>6,7</sup>-23-Nor-α-amyren (VII) vor.

Umsetzung des Δ<sup>6,7</sup>-23-Nor-α-amyrens (VII) mit N-Bromsuccinimid.

500 mg Substanz werden mit 645 mg 70-proz. N-Brom-succinimid (2,52 Atome Brom) in 40 cm<sup>3</sup> reinem Tetrachlorkohlenstoff 5 Stunden am Rückfluss erhitzt, wobei sich die Lösung tief rot verfärbt. Die kalte Lösung wird vom Succinimid abfiltriert und öfters mit verd. Natronlauge und verd. Schwefelsäure gewaschen. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels verbleiben 570 mg eines roten Öles, das in Petroläther (Sdp. 60° bis 70°) gelöst und durch eine Säule aus 17 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert wird.

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierter Substanz
1	80 cm <sup>3</sup> Petroläther . . . . .	340 mg farblose Nadeln
2—3	200 cm <sup>3</sup> Petroläther . . . . .	40 mg gelber Schaum
4—5	200 cm <sup>3</sup> Petroläther-Tetrachlorkohlenstoff 1:1 . . . . .	25 mg gelb-orange Prismen

<sup>1)</sup> Bearbeitet von W. Wirtz, Diss. E. T. H. Zürich 1942.

Mit Lösungsmitteln von steigendem Elutionsvermögen werden nur noch amorphe Fraktionen erhalten. Fraktion 1 liefert beim Umlösen aus Methanol bei 148° schmelzende Prismen, die mit Tetranitromethan eine Braunfärbung geben. Das Analysenpräparat wurde 10 Stunden im Hochvakuum bei 110° getrocknet.

3,748 mg Subst. gaben 12,123 mg CO<sub>2</sub> und 3,906 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>29</sub>H<sub>46</sub> Ber. C 88,25 H 11,75%  
Gef. „ 88,27 „ 11,66%

[α]<sub>D</sub> = +424° (c = 0,797); +418° (c = 0,665)

Es liegt das Δ<sup>6,7;8,9</sup>-23-Nor-α-amyradien (VIII) vor.

Die Fraktionen 4 und 5 des Chromatogramms werden aus Methanol umgelöst. Man erhält gelb-orange Prismen, die sich im Hochvakuum zwischen 227—230° zersetzen und mit Tetranitromethan<sup>1)</sup> und alkoholischer Eisen(III)-chloridlösung keine Farbreaktion geben. Das Analysenpräparat wurde 20 Stunden im Hochvakuum bei 90° getrocknet.

4,073 mg Subst. gaben 6,017 mg CO<sub>2</sub> und 1,427 mg H<sub>2</sub>O

2,586 mg Subst. gaben 3,318 mg AgBr

C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>Br<sub>6</sub> Ber. C 40,31 H 4,20 Br 55,49%  
C<sub>29</sub>H<sub>34</sub>Br<sub>6</sub> Ber. „ 40,40 „ 3,98 „ 55,62%  
Gef. „ 40,32 „ 3,92 „ 54,59%

Umsetzung des Δ<sup>6,7</sup>-23-Nor-2-oxo-α-amyrens mit N-Brom-succinimid.

200 mg Substanz werden mit 300 mg 70-proz. N-Brom-succinimid und 50 mg Bariumcarbonat in 20 cm<sup>3</sup> Tetrachlorkohlenstoff 4 Stunden gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung erhält man 240 mg eines amorphen Produktes, das in Petroläther (Sdp. 60—70°) gelöst und durch eine Säule aus 5 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) filtriert wird. Mit Petroläther werden 80 mg farbloser Substanz eluiert, die aus Methanol in Prismen kristallisieren. Das bei 180° scharf schmelzende Analysenpräparat gibt mit Tetranitromethan eine starke Braunfärbung; es wurde im Hochvakuum bei 170° Blocktemperatur sublimiert.

3,777 mg Subst. gaben 11,794 mg CO<sub>2</sub> und 3,670 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>O Ber. C 85,23 H 10,85%  
Gef. „ 85,21 „ 10,87%

[α]<sub>D</sub> = +315° (c = 0,945)

Es liegt das Δ<sup>6,7;8,9</sup>-23-Nor-2-oxo-α-amyradien (VI) vor.

Umsetzung des Δ<sup>6,7;8,9</sup>-23-Nor-2-oxo-α-amyradiens (VI) mit Benzoylchlorid.

200 mg Substanz vom Smp. 180° werden unter Feuchtigkeitsausschluss mit 1 g Benzoylchlorid 1 Stunde am Rückfluss erhitzt, wobei die Lösung sofort eine rote Farbe annimmt. Aufgearbeitet wird nach der oben für die analoge Umsetzung des Δ<sup>6,7</sup>-23-Nor-2-oxo-α-amyrens (II) angegebenen Vorschrift, wonach ungefähr 200 mg eines braunen Öls erhalten werden. Dieses wird in Petroläther (Sdp. 60—70°) gelöst und durch eine Säule aus 4 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) filtriert.

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierter Substanz
1	120 cm <sup>3</sup> Petroläther . . . . .	100 mg Prismen, Smp. ca. 125°
2	150 cm <sup>3</sup> Petroläther . . . . .	50 mg, Smp. 176—178°
3	150 cm <sup>3</sup> Petroläther . . . . .	30 mg, Smp. 168—170°

<sup>1)</sup> Dieser Befund ist wegen der Eigenfarbe der Substanz unsicher.

Die Fraktion 1 wird in Petroläther gelöst und nochmals durch eine Säule aus 4 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) filtriert, wobei die ersten und letzten Eluate (je ca. 15 mg) verworfen werden. Umkrystallisieren des mittleren Anteils aus wässrigem Aceton gibt Blättchen, die bei 145—147° schmelzen. Das Präparat zeigt mit Tetranitromethan eine starke Braunfärbung, in konz. Schwefelsäure löst es sich farblos auf. Zur Analyse wurde im Hochvakuum 21 Stunden über Phosphorpentoxyd bei 100° getrocknet.

3,566 mg Subst. gaben 10,968 mg CO<sub>2</sub> und 3,013 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>36</sub>H<sub>46</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 84,32 H 9,44%  
Gef. „ 83,94 „ 9,46%

Es liegt das Δ<sup>2,3; 6,7; 8,9</sup>-23-Nor-2-benzoyloxy-α-amyratrien (XI) vor.

Die Fraktionen 2 und 3 wurden noch nicht näher untersucht.

Umsetzung des Acetyl-β-boswellinsäure-methylesters (Ib) mit N-Brom-succinimid.

510 mg Substanz und 510 mg 70-proz. Brom-succinimid werden in 10 cm<sup>3</sup> Tetrachlorkohlenstoff 3 Stunden am Rückfluss erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung wird das amorphe Reaktionsprodukt in Petroläther (Sdp. 60—70°) gelöst und durch eine Säule aus 12 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) filtriert. Mit Tetrachlorkohlenstoff-Benzol-Gemisch (1 : 1) werden 440 mg farbloser Substanz eluiert, die aus Chloroform-Methanol umgelöst werden. Prismen vom Smp. 175°, welche mit Tetranitromethan eine starke Braunfärbung geben. Analysiert wurden zwei verschiedene Präparate, wovon eines im Hochvakuum 15 Stunden bei 100° getrocknet, das andere bei 165° Blocktemperatur sublimiert wurde.

3,646; 3,790 mg Subst. gaben 10,360; 10,774 mg CO<sub>2</sub> und 3,243; 3,345 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>33</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 77,60 H 9,87%  
Gef. „ 77,54; 77,58 „ 9,95; 9,87%  
[α]<sub>D</sub> = +338° (c = 0,937)

Es liegt der Δ<sup>6,7; 8,9</sup>-2-Acetoxy-α-amyradien-23-säure-methylester (V) vor.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

## 222. Steroide und Sexualhormone.

(105. Mitteilung<sup>1)</sup>)

### Über die Konfiguration des „cis“-Cholestan-triols-(3β, 5, 6)

von V. Prelog und E. Tagmann.

(27. X. 44.)

Durch Oxydation von Cholesterin-acetat mit Wasserstoffperoxyd in Eisessig<sup>2)</sup> oder durch Aufspaltung der beiden Cholesterin-oxyde<sup>3)</sup> entsteht Cholestan-triol (3β, 5, 6) mit den Hydroxyl-Gruppen an den Kohlenstoffatomen 5 und 6 in trans-Stellung (weiterhin als „trans“-

1) 104. Mitt. Helv. 27, 1544 (1944).

2) R. H. Piccard und J. Yates, Soc. 93, 1678 (1908).

3) Pl. A. Plattner und W. Lang, Helv. 27, 1872 (1944).

Triol bezeichnet). Ein zweites stereoisomeres Cholestan-triol-(3 $\beta$ ,5,6) mit cis-Stellung der Hydroxyl-Gruppen an den Kohlenstoffatomen 5 und 6 (weiterhin als „cis“-Triol bezeichnet) bildet sich durch Oxydation von Cholesterin mit Kaliumpermanganat<sup>1)</sup> oder mit Osmiumtetroxyd<sup>2)</sup>.

B. Ellis und V. A. Petrow<sup>3)</sup> teilten dem „trans“-Triol die Konfigurationsformel Ia und dem „cis“-Triol die Konfigurationsformel IIa mit folgender Begründung zu: a) Nach den Literaturangaben <sup>4)</sup> entstehen aus den stereoisomeren Triolen zwei verschiedene Cholestanol-(5)-dione-(3,6), woraus eine verschiedene Konfiguration am Kohlenstoffatom 5 folgt. b) Auf Grund des Verhaltens von Cholestan-diol-(5,6)-on-(3)-acetat, welches aus „trans“-Triol-6-monoacetat durch Oxydation entsteht, bei Bromierung und Oxydation wurde dieser Verbindung das Cholestan-Gerüst zugesprochen. Die Bromierung des erwähnten Ketons erfolgt am Kohlenstoffatom 2, und durch Oxydation erhält man daraus eine 2||3-Dicarbonsäure<sup>5)</sup>. Die Verbindung verhält sich demnach ebenso wie andere 3-Keto-Steroide mit den Ringen A und B in trans-Stellung, während analoge Verbindungen mit den Ringen A und B in cis-Stellung 4-Brom-Derivate liefern und durch Oxydation in 3||4-Dicarbonsäuren übergehen<sup>6)</sup>. Daraus folgt für das „trans“-Triol die Konfiguration eines Cholestan-triols-(3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ ) (Ia) und für das „cis“-Triol diejenige eines Koprostan-triols-(3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ ) (IIa)<sup>7)</sup>.

Die von Ellis und Petrow für das „trans“-Triol angenommene Konfiguration konnte durch Untersuchungen aus unserem Laboratorium bestätigt werden<sup>8)</sup>, dagegen zeigen folgende Versuche, dass die für das „cis“-Triol vorgeschlagene Konfiguration nicht richtig ist. Das „trans“-Triol-diacetat (Ib) geht nach V. A. Petrow, O. Rosenheim und W. W. Starling<sup>9)</sup> durch Behandlung mit Pyridin und Thionylchlorid in das  $\Delta^4$ -Cholestan-diol-(3 $\beta$ ,6 $\beta$ )-diacetat (IVb) über. Das „cis“-Triol-diacetat gibt nach unseren Versuchen unter den-

<sup>1)</sup> A. Windaus, B. **40**, 257 (1907).

<sup>2)</sup> M. I. Uschakow und A. I. Ljutenberg, C. **1939**, II. 4489; R. Criegee, B. Marchand und H. Wannowius, A. **550**, 130 (1942).

<sup>3)</sup> Soc. **1939**, 1078. „trans“-Triol wird von den englischen Autoren als Triol I und „cis“-Triol als Triol II bezeichnet.

<sup>4)</sup> R. H. Piccard und J. Yates, Soc. **93**, 1678 (1908).

<sup>5)</sup> Über die Bezeichnungen 2||3, 3||4 vgl. H. Sobotka, Chemistry of Steroids, London 1938, S. 164.

<sup>6)</sup> Vgl. aber R. E. Marker und Mitarb., Am. Soc. **61**, 3318 (1939). Es wird dabei weiter vorausgesetzt, dass die Hydroxyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 5 das Verhalten der Keto-Steroide bei Bromierung und Oxydation nicht ändert.

<sup>7)</sup> Im Gegensatz zu Ellis und Petrow lassen wir die Bezeichnungen  $\alpha$  und  $\beta$  in 5-Stellung wegfällen, da die Konfiguration an diesem Kohlenstoffatom bereits durch die Bezeichnung Cholestan, bzw. Koprostan, festgelegt ist.

<sup>8)</sup> Pl. A. Plattner und W. Lang, Helv. **27**, 1872 (1944).

<sup>9)</sup> Soc. **1938**, 679.

selben Bedingungen eine isomere Verbindung, welche, wie sich zeigte, die Konstitution des  $\Delta^4$ -Cholesten-diol-( $3\beta, 6\alpha$ )-diacetats (Vb) besitzt. Durch alkalische Verseifung konnte daraus das freie ungesättigte Diol (Va) erhalten werden, das mit Aceton und Aluminium-tert.-butylat oxydiert, ebenso wie das stereoisomere  $\Delta^4$ -Cholesten-diol-( $3\beta, 6\beta$ ) (IVa)<sup>1)</sup> aus „trans“-Triol, in das Cholestan-dion-(3,6) (VI) übergeht. Andererseits wurde das isomere ungesättigte Diol durch Acetanhydrid und Pyridin in der Kälte wieder in dasselbe Diacetat übergeführt, aus welchem es durch Verseifung entstanden war. Es kann sich demnach bei dem ursprünglichen Diacetat nicht um ein Enol-acetat eines Oxy-ketons gehandelt haben<sup>2)</sup>.

Auf Grund der von *Ellis* und *Petrow* angenommenen Konfiguration sollte aus beiden Triolen bei der Wasserabspaltung dasselbe  $\Delta^4$ -Cholesten-diol-( $3\beta, 6\beta$ ) (IVa) entstehen. Die Bildung des stereoisomeren  $\Delta^4$ -Cholesten-diols ( $3\beta, 6\alpha$ ) (Va) aus dem „cis“-Triol spricht dafür, dass die Konfiguration am Kohlenstoffatom 6 nicht, wie *Ellis* und *Petrow* annehmen, gleich ist, sondern verschieden sein muss. Daraus folgt aber, dass die Konfiguration am Kohlenstoffatom 5 bei beiden Triolen nicht verschieden, sondern gleich ist.

Dagegen sprechen jedoch die früheren Angaben über die Bildung zweier verschiedener Cholestan-ol-(5)-dione-(3,6) bei der Oxydation der stereoisomeren Triole mit Chromsäure. Wir wiederholten deshalb diese Reaktion und erhielten aus beiden Triolen ein und dasselbe Cholestan-ol-(5)-dion-(3,6) (VII) vom Smp.  $232^\circ$ . Die Bildung eines isomeren Produktes vom Smp.  $253^\circ$  konnten wir bei der Oxydation des „cis“-Triols nicht beobachten<sup>3)</sup>.

Falls man für das „trans“-Triol die Konfiguration eines Cholestan-triols-( $3\beta, 5, 6\beta$ ) (Ia) annimmt, kommt also nach unseren Versuchen dem „cis“-Triol nicht die Konfiguration eines Koprostan-triols-( $3\beta, 5, 6\beta$ ) (IIa), sondern die Konfiguration eines Cholestan-triols-( $3\beta, 5, 6\alpha$ ) (IIIa) zu.

Im Zusammenhang damit sei erwähnt, dass stereoisomere Triole mit cis- bzw. trans-Stellung der Hydroxyl-Gruppen an den Kohlenstoffatomen 5 und 6 auch aus anderen Stereoiden wie  $\Delta^5$ -Androsten-ol-( $3\beta$ )-on-(17) und  $\Delta^5$ -Pregnen-ol-( $3\beta$ )-on-(20) erhalten worden sind. In Analogie zu unseren Beobachtungen bei den Triolen aus Cholesterin erhielt *M. Ehrenstein*<sup>4)</sup> bei der Oxydation dieser stereoisomeren Verbindungspaare mit Chromtrioxyd stets nur ein und dasselbe dem Cholestan-ol-(5)-dion-(3,6) entsprechende Produkt. Der bisher an-

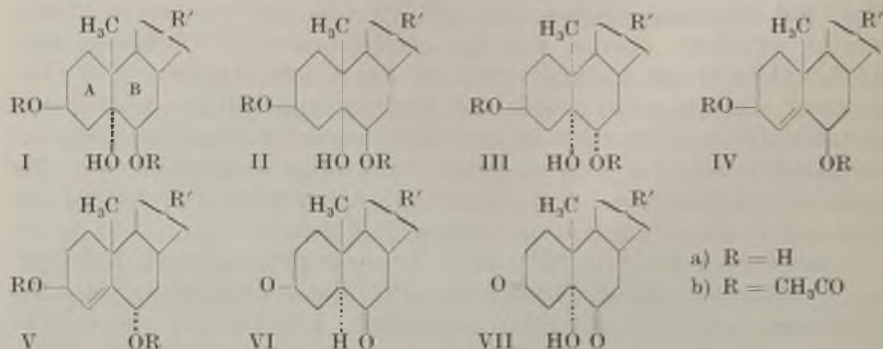
<sup>1)</sup> *A. Butenandt* und *E. Hausmann*, B. **70**, 1156 (1937).

<sup>2)</sup> Es entsteht z. B. bei der Pyrolyse von 5-Chlor-cholestan-diol-( $3\beta, 6\beta$ )-dibenzoat das Dibenzoat des sog. Diols von *Lettré*, für welches die Konstitution eines Enol-benzoates von Cholestan-ol-( $3\beta$ )-on-(6) bewiesen werden konnte, vgl. Soc. **1938**, 678.

<sup>3)</sup> Da die Produkte vom Smp.  $232^\circ$  und  $253^\circ$  unseres Wissens nie direkt verglichen wurden, könnte es sich um Polymorphie handeln.

<sup>4)</sup> *J. Org. Chem.* **4**, 506 (1939).

genommene, schwer verständliche Unterschied im Verhalten der sonst analogen Verbindungsreihen ist nach unseren Versuchen nicht vorhanden.



Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil<sup>1)</sup>.

Cholestan-triol-(3 $\beta$ ,5,6 $\alpha$ )-diacetat („cis“-Triol-diacetat IIIb)<sup>2)</sup>.

Zu 928 mg Cholesterin in 20 cm<sup>3</sup> absolutem Äther wurden 605 mg Osmiumtetroxyd in 100 cm<sup>3</sup> absolutem Äther und 0,5 cm<sup>3</sup> Pyridin zugegeben. Nach 7 Tagen verdampfte man den Äther im Vakuum und schüttelte den Rückstand 24 Stunden mit 46 cm<sup>3</sup> 0,1-n. Kalilauge und 2,5 g Mannit. Der gebildete hellgelbe krystalline Niederschlag wurde in Äther aufgenommen und nach Verdampfen des Äthers aus Essigester umgelöst. Ausbeute 815 mg Cholestan-triol-(3 $\beta$ ,5,6 $\alpha$ ) vom Smp. 236—238°.

810 mg des Triols wurden mit 2 cm<sup>3</sup> Pyridin und 2,5 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid über Nacht kalt acetyliert. Nach üblicher Aufarbeitung und zweimaligem Umlösen aus Methanol erhielten wir 760 mg Diacetat in derben Prismen vom Smp. 187—188°.

4<sup>4</sup>-Cholesten-diol-(3 $\beta$ ,6 $\alpha$ )-diacetat (Vb).

Zu einer Lösung von 760 mg Cholestan-triol-(3 $\beta$ ,5,6 $\alpha$ )-diacetat in 4 cm<sup>3</sup> trockenem Pyridin, welche auf 0° abgekühlt wurde, tropfte man unter Umschütteln 0,17 cm<sup>3</sup> reines Thionylechlorid zu. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0° 10 Minuten stehen gelassen, worauf mit 200 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt wurde. Nach 3-stündigem Stehen wurde der gebildete weisse Niederschlag abfiltriert, mit Wasser und wenig Methanol gewaschen und aus heissem Methanol umkrystallisiert. Ausbeute 645 mg farblose Nadeln vom Smp. 166—167° und 50 mg eines weniger reinen Produktes vom Smp. 159—161°. Zur Analyse wurde 48 Stunden bei 85° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{15} = +20,4^{\circ} + 2^{\circ} \quad (c = 1,519 \text{ in Chloroform})$$

3,638 mg Subst. gaben 10,215 mg CO<sub>2</sub> und 3,407 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>31</sub> H <sub>50</sub> O <sub>4</sub>	Ber. C	76,49	H	10,36%
	Gef. „	76,63	„	10,48%

4<sup>4</sup>-Cholesten-diol-(3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ) (Va).

240 mg des Diacetats wurden 2 Stunden mit 50 cm<sup>3</sup> 0,5-n. methanolischer Kalilauge am Rückfluss gekocht. Nach Verdünnen mit Wasser schüttelte man das Verseifungsprodukt mit Äther aus. Die ätherischen Auszüge wurden mit Wasser gewaschen, mit Na-

<sup>1)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>2)</sup> R. Criegee, B. Marchand und H. Wannowius, A. 550, 130 (1942).



triumsulfat getrocknet und zur Trockne verdampft. Den Rückstand krystallisierte man zweimal aus Methanol um, wonach er bei 175—178° schmolz. Zur Analyse wurde bei 0,005 mm und 145—150° sublimiert.

$$[\alpha]_D^{25} = +29^{\circ} \pm 2^{\circ} \quad (c = 0,957 \text{ in Chloroform})$$

3,194 mg Subst. gaben 9,418 mg CO<sub>2</sub> und 3,276 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 80,54 H 11,52%

Gef. „ 80,47 „ 11,48%

Die Verbindung gab keine Farbenreaktionen mit Tetranitromethan und Trichlor-essigsäure in Chloroform, während sie sich mit Antimontrichlorid in Chloroform rosa-rot färbte.

Nach Acetylierung mit Acetanhydrid und Pyridin in der Kälte wurde dasselbe Diacetat vom Smp. 166—167° erhalten, aus welchem das Diol durch Verseifung entstand.

#### Cholestan-dion-(3,6) (VI).

Ein Gemisch aus 250 mg  $\Delta^4$ -Cholesten-diol-(3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ), 45 cm<sup>3</sup> Benzol, 15 cm<sup>3</sup> trock. Aceton und 2,0 g Aluminium-tert.-butylat wurde 15 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach dem Entfernen der Lösungsmittel im Vakuum, versetzte man den Rückstand mit verdünnter Salzsäure und schüttelte das Gemisch mit Äther aus. Die ätherische Lösung wurde mit verdünnter Salzsäure, Natronlauge und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in Benzol gelöst und an 10 g Aluminiumoxyd (Aktivität III) chromatographiert. Das Produkt aus den Benzol-Eluaten schmolz nach Umlösen aus Methanol bei 169—171° und zeigte mit einem aus  $\Delta^4$ -Cholesten-diol-(3 $\beta$ ,6 $\beta$ ) auf analoge Weise erhaltenen Produkt keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde 22 Stunden bei 75° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{25} = +7,5^{\circ} \pm 2^{\circ} \quad (c = 1,064 \text{ in Chloroform})$$

3,648 mg Subst. gaben 10,817 mg CO<sub>2</sub> und 3,668 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 80,94 H 11,07%

Gef. „ 80,92 „ 11,25%

#### Cholestan-ol-(5)-dion-(3,6) (VII).

240 mg Cholestan-triol-(3 $\beta$ ,5,6 $\alpha$ ) („cis“-Triol) wurden in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit einer Lösung von 115 mg Chromtrioxyd in 2 cm<sup>3</sup> Wasser und 5 cm<sup>3</sup> Eisessig tropfenweise bei Zimmertemperatur versetzt. Nach 72-stündigem Stehen fügte man 5 cm<sup>3</sup> Methanol zu und schüttelte das mit Wasser verdünnte Gemisch mit Äther aus. Die ätherischen Auszüge wurden mit verdünnter Natronlauge und Wasser gründlich gewaschen und nach dem Trocknen mit Natriumsulfat zur Trockne verdampft. Der aus Chloroform-Methanol umgelöste Rückstand schmolz bei 232° (sintert ab 218°). Die Verbindung gab mit einem aus Cholestan-triol-(3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ ) („trans“-Triol) auf gleiche Weise erhaltenen Präparat keine Schmelzpunktserniedrigung. Bei einem weiteren Versuch erhielten wir durch Oxydation von 60 mg Cholestan-triol-(3 $\beta$ ,5,6 $\alpha$ ), welche genau nach den Angaben von *Windaus* durchgeführt wurde, wieder dasselbe Produkt. Die Verbindung konnte 30 Minuten mit Eisessig ohne Änderung des Schmelzpunktes gekocht werden. Durch Umkrystallisieren aus Chloroform-Benzin oder aus Eisessig änderte sich der Schmelzpunkt nicht. Die beiden aus „cis“- und „trans“-Triol erhaltenen Präparate zeigten das gleiche Drehungsvermögen. Zur Analyse wurde 30 Stunden bei 110—115° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{25} = -12,6^{\circ} \pm 3^{\circ} \quad (c = 0,635 \text{ in Dioxan})$$

3,704 mg Subst. gaben 10,551 mg CO<sub>2</sub> und 3,529 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 77,83 H 10,64%

Gef. „ 77,74 „ 10,66%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

## 223. Über Steroide und Sexualhormone.

(106. Mitteilung<sup>1)</sup>)Über die Konfiguration der beiden Cholesterin-oxyde und des „trans“-Cholestantriols-(3 $\beta$ , 5, 6)

von Pl. A. Plattner und W. Lang.

(27. X. 44.)

Die beiden stereoisomeren Cholesterin-oxyd-acetate (V bzw. VI) verhalten sich bei der Hydrierung mit Platin in Eisessig vollständig verschieden<sup>2</sup>). Das sog.  $\alpha$ -Oxyd-acetat (V) gibt dabei in fast quantitativer Ausbeute das 3 $\beta$ -Acetoxy-5-oxy-cholestan (III), während aus dem  $\beta$ -Oxyd-acetat (VI) neben Cholestan und Cholestanyl-acetat ein 3 $\beta$ -Acetoxy-6-oxy-cholestan erhalten wurde<sup>3</sup>). Da anzunehmen ist, dass die an C 5 bzw. C 6 stehenden Oxy-Gruppen dieser Hydrierungsprodukte noch die gleichen Haftstellen besetzen, welche sie in den ursprünglichen Oxyden inne hatten, also sterisch mit denselben übereinstimmen, so haben wir versucht, unsere Beobachtungen für eine Bestimmung der Konfiguration der Cholesterin-oxyde zu verwerten<sup>4</sup>).

Vorerst galt es, die Konfiguration des aus dem  $\beta$ -Oxyd-acetat (VI) erhaltenen 3 $\beta$ ,6-Diols festzulegen. Betrachtungen an den *Stuart*'schen Kalotten-Modellen<sup>5</sup>) zeigen, dass eine an C 6 in cis-Stellung zum Methyl (C 18) stehende Oxy-Gruppe sterisch bedeutend stärker gehindert erscheint als eine entsprechende Gruppe in trans-Stellung. Die Konfiguration 6-ständiger Hydroxyl-Gruppen sollte sich demnach aus der Verseifungsgeschwindigkeit der entsprechenden Acetate ableiten lassen. Die beiden an 6 stereoisomeren 6-Oxy-cholestanole-(3 $\beta$ ) wurden zu diesem Zwecke nach den Angaben der Literatur aus 6-Keto-cholestanyl-acetat hergestellt.

Das durch Reduktion mit Natrium und Alkohol erhältliche Diol<sup>6</sup>) (*Windaus*) bzw. sein Diacetat (II) besitzt zwei recht leicht und mit ähnlicher Geschwindigkeit verseifbare Acetyl-Gruppen. Partielle Verseifung zu einem Mono-acetat gelang in diesem Falle nicht.

<sup>1</sup>) 105. Mitt. Helv. 27, 1867 (1944).

<sup>2</sup>) Pl. A. Plattner, Th. Petrzilka und W. Lang, Helv. 27, 513 (1944).

<sup>3</sup>) Für die erwähnten Hydrierungsversuche wurde das von *Hattori* beschriebene stereochemisch reine  $\beta$ -Oxyd-acetat (Smp. 112—113°,  $[\alpha]_D = -1^{\circ}$ ) verwendet. In Bezug auf Herstellung und Eigenschaften dieser Verbindung konnten wir die von *Z. Hattori* [Chem. Abstr. 34, 7294 (1940)] erhobenen Befunde im wesentlichen bestätigen. Inzwischen ist eine Arbeit von *R. A. Baxter* und *F. S. Spring* (Soc. 1943, 613) zu unserer Kenntnis gelangt, welche sich ebenfalls mit dem  $\beta$ -Cholesterin-oxyd befasst. Die exp. Resultate stehen mit den von uns erhaltenen in bestem Einklang.

<sup>4</sup>) Vgl. Helv. 27, 516 (1944).

<sup>5</sup>) *H. A. Stuart*, Z. physikal. Ch. [B] 27, 350 (1934). Vgl. dazu auch *L. Ruzicka*, *M. Furter* und *M. W. Goldberg*, Helv. 21, 498 (1938).

<sup>6</sup>) *A. Windaus*, B. 50, 133 (1917).

Umgekehrt ist im Diacetat (IVc) des stereoisomeren  $3\beta,6$ -Diols (*Marker*)<sup>1)</sup> die in 6-Stellung befindliche Acetyl-Gruppe relativ schwer verseifbar. Die partielle Verseifung zum 6-Mono-acetat (IVa) liess sich präparativ leicht erreichen. Analoge Ergebnisse wurden auch durch Messung des Lauge-Verbrauchs bei Verseifungsversuchen unter identischen äusseren Bedingungen erzielt. Dem Diol vom Smp. 217° (*Windaus*) kommt demnach die Konfiguration eines  $3\beta,6\alpha$ -Dioxycholestans (vgl. II) zu, während das Diol vom Smp. 190° (*Marker*) das  $3\beta,6\beta$ -Dioxycholestan (IV) darstellt<sup>2)</sup>. Da das 3-Monoacetat (IVb) des letzteren Diols sich mit dem bei der Hydrierung des  $\beta$ -Cholesterin-oxyd-acetats erhaltenen Produkt als identisch erwies<sup>3)</sup>, so liegt also im  $\beta$ -Cholesterin-oxyd das  $3\beta$ -Oxy-5,6 $\beta$ -oxido-koprostan<sup>4)</sup> (vgl. VI) vor.

Interessant ist, dass demnach bei der katalytischen Hydrierung eine „*Walden'sche Umkehrung*“ am C-Atom 5 eintritt. Entsprechende Beobachtungen an anderen tertiären Oxyden scheinen nicht bekannt zu sein.

Dem  $\alpha$ -Cholesterin-oxyd kommt auf Grund obiger Überlegungen die Konstitution eines  $3\beta$ -Oxy-5,6 $\alpha$ -oxido-cholestans (vgl. V) zu. Für das Hydrierungsprodukt seines Acetats ist damit die früher<sup>5)</sup> gewählte Bezeichnung als  $3\beta$ -Acetoxy-5-oxy-cholestan (III) gesichert.

Diese Konfigurationszuteilung lässt sich unter Verwendung der sehr typischen spez. Drehungen auch auf die übrigen bekannten Oxyde vom gleichen Typus, d. h. auf die 5,6-Oxyde des trans-Dehydroandrosterons<sup>6)</sup>, des Pregnenolons<sup>7)</sup>, des 21-Oxy-pregnenolons<sup>8)</sup> u. a. ausdehnen.

Für die Zugehörigkeit des 3,5-Diols zur Cholestan-Reihe lassen sich auch noch andere Gründe anführen. So ist die 5-Oxy-Gruppe dieser Verbindung relativ leicht acetylierbar, während für ein 5-Oxy-koprostan-Derivat eine starke sterische Hinderung durch die Methyl-Gruppe (C 18) zu erwarten wäre. Im angeführten Sinne lässt sich auch die Beobachtung deuten, dass die  $3\beta$ -Oxy-5-acetoxy-Verbindung (IIIa) bei der Behandlung mit Tosyl-chlorid in recht guter Ausbeute direkt in Epi-cholesteryl-acetat (I) übergeht. Die

1) *R. E. Marker* und *J. Krueger*, *Am. Soc.* **62**, 79 (1940). Vgl. auch *V. Prelog* und *E. Tagmann*, *Helv.* **27**, 1880 (1944).

2) Die Indizes  $\alpha$  bzw.  $\beta$  drücken hier die tatsächliche sterische Konfiguration aus, indem die mit  $\alpha$  indizierten Gruppen unter, die mit  $\beta$  indizierten über der Projektionsebene stehen. Vgl. dazu *Helv.* **27**, 187, 753 (1944).

3) Vgl. *Helv.* **27**, 515 (1944). Die Identität wurde inzwischen durch Mischschmelzpunkt und Drehungsbestimmung sichergestellt.

4) Die Indizierung  $\beta$  in Stellung 5 fällt weg, da die sterische Konfiguration am C-Atom 5 bereits durch die Bezeichnung als Koprostan ausgedrückt ist.

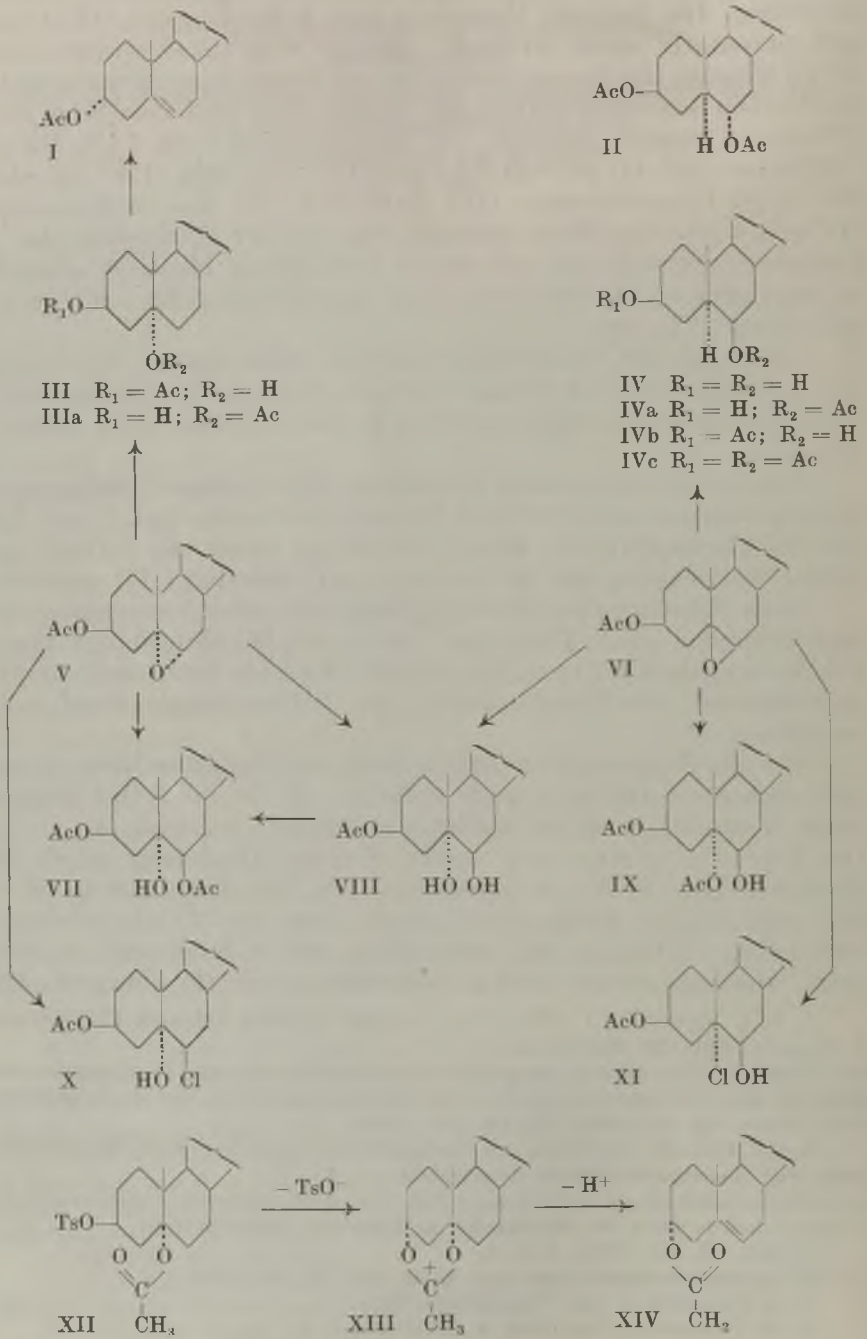
5) *Helv.* **27**, 514 (1944), Anm. 2.

6) Vgl. dazu *L. Ruzicka* und *A. C. Muhr*, *Helv.* **27**, 503 (1944).

7) *M. Ehrenstein*, *J. Org. Chem.* **6**, 908 (1941).

8) *M. Ehrenstein*, *J. Org. Chem.* **6**, 626 (1941).

— Substituenten über der Projektionsebene.  
 ..... Substituenten unter der Projektionsebene.



Reaktion erfolgt wohl im Sinne der Formulierung XII—XIV, die in Anlehnung an die bei 1,2-Glykolen bekannten Umsetzungen<sup>1)</sup> gewählt wurde. Die Wanderung der unterhalb der Projektionsebene liegenden Acetoxy-Gruppe zur Epi-Stellung an C 3 wird so verständlich.

Die im vorstehenden abgeleitete Konfiguration der beiden Cholesterin-oxyde steht in bester Übereinstimmung mit den bekannten Umsetzungen, insbesondere den Aufspaltungsreaktionen, dieser Verbindungen. *Z. Hattori*<sup>2)</sup> und später *R. A. Baxter* und *F. S. Spring*<sup>3)</sup> haben gezeigt, dass der Oxyd-Ring der  $\alpha$ -Verbindung durch Essigsäure bzw. Salzsäure in praktisch vollständig einheitlicher Weise zwischen dem C-Atom 6 und dem Brückensauerstoff aufgespalten wird. Es ist zu erwarten, dass dabei am C-Atom 6 *Walden'sche* Umkehrung eintritt, so dass den entstehenden Verbindungen Konfigurationen gemäss (VII bzw. X) zukommen müssen. Reine  $\beta$ -Cholesterin-oxyd-Derivate geben unter analogen Verhältnissen Verbindungen vom Typus (IX bzw. XI), die unter Aufspaltung des Oxyd-Ringes zwischen dem Oxyd-Sauerstoff und dem C-Atom 5 unter *Walden'scher* Umkehrung an C 5 entstehen. Es bilden sich demnach bei diesen Aufspaltungsreaktionen ausschliesslich in  $3\beta$ , 5 und  $6\beta$  substituierte Cholestan-Derivate. Der Nachweis, dass die aus  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Cholesterin-oxyd-acetat (V bzw. VI) durch Behandlung mit Essigsäure erhaltenen Diacetate (VII bzw. IX) Derivate ein und desselben Cholestantriols-( $3\beta, 5, 6\beta$ ) sind, scheint bis jetzt nicht mit voller Schärfe, insbesondere nicht unter Verwendung von reinem  $\beta$ -Oxyd, geführt worden zu sein. Wir haben deshalb die beiden Oxyd-acetate (V bzw. VI) durch Erhitzen mit Dioxan-Wasser aufgespalten und dabei erwartungsgemäss in beiden Fällen das gleiche 3-Mono-acetat (VIII) erhalten, welches in das schon öfters beschriebene 3,6-Diacetat (VII) vom Smp. 168,5° übergeführt werden konnte. Es ist erwähnenswert, dass letzteres sich leicht partiell zum 6-Mono-acetat verseifen lässt<sup>4)</sup>. Auch hier findet man also, analog zum  $3\beta, 6\beta$ -Diol-diacetat (IVc), eine geringere Verseifbarkeit der  $6\beta$ -Acetoxy-Gruppierung.

Unabhängig von der von *B. Ellis* und *V. A. Petrow*<sup>4)</sup> gegebenen Beweisführung gelangt man demnach auch von der gut begründeten Konfiguration der beiden Cholesterin-oxyde aus dazu, dem sog.  $\alpha$ -Cholestantriol<sup>5)</sup> oder Cholestantriol I<sup>4)</sup> die Konstitution eines  $3\beta, 5, 6\beta$ -Trioxy-cholestans zuzuweisen.

Wir danken der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

<sup>1)</sup> Annual Reports, **39**, 122 (1942).

<sup>2)</sup> *Z. Hattori*, Chem. Abstr. **34**, 7294 (1940).

<sup>3)</sup> *R. A. Baxter* und *F. S. Spring*, Soc. **1943**, 613.

<sup>4)</sup> Vgl. *B. Ellis* und *V. A. Petrow*, Soc. **1939**, 1078. Vgl. die 105. Mitt. dieser Reihe.

<sup>5)</sup> Vgl. *H. Sobolka*, The Chemistry of the Steroids, London 1938, p. 282.

### Experimenteller Teil<sup>1)</sup>.

6-Keto-cholestanol wurde nach den Angaben von Heilbron<sup>2)</sup> aus Cholesterin durch Nitrierung mit Salpetersäure, anschliessende Reduktion und Verseifung hergestellt. Smp. 148—149°.

Acetat: Das analysenreine Produkt schmolz bei 126—127°.

$[\alpha]_D = -15,2^{\circ}; -13,8^{\circ}$  ( $c = 1,231; 0,724$  in Chloroform)  
 3,790 mg Subst. gaben 10,861 mg CO<sub>2</sub> und 3,597 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{29}H_{48}O_3$  Ber. C 78,32 H 10,88%  
 Gef. „ 78,20 „ 10,62%

#### 3β, 6α-Diacetoxy-cholestan (II).

Die Hydrierung von 6-Keto-cholestanol mit Natrium und Alkohol wurde nach der Vorschrift von Windaus<sup>3)</sup> ausgeführt.

1,0 g 6 Keto-cholestanol vom Smp. 148—149° wurden in 300 cm<sup>3</sup> heissem, abs. Alkohol gelöst. Dann wurden unter gleichzeitigem Kochen auf dem Wasserbad in einer Stunde ca. 20 g metallisches Natrium, in Portionen von 1 g, zugefügt. Nach dem Erkalten wurde mit viel Wasser verdünnt und in Äther aufgenommen. Durch Waschen mit verd. Salzsäure und Wasser, Trocknen und Abdestillieren des Lösungsmittels wurde ein farblos, gallertiger Rückstand erhalten. Dieser wurde mit 10 cm<sup>3</sup> Pyridin und 20 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid über Nacht in der Kälte acetyliert. Dann wurde im Vakuum bei 40° zur Trockne verdampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und wie üblich aufgearbeitet. Zur Reinigung wurde an 30 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Alle mit Benzol und Äther erhaltenen Eluate krystallisierten aus Alkohol in Nadeln vom Smp. 103—107°. Ausbeute 950 mg. Zur Analyse wurde zweimal aus Alkohol umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt lag dann bei 107—108°. Dann wurde 60 Stunden bei 50° über Phosphor-pentoxyd im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = +39,4^{\circ}; +39,5^{\circ}$  ( $c = 0,986; 0,463$  in Chloroform)  
 3,671 mg Subst. gaben 10,236 mg CO<sub>2</sub> und 3,514 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{31}H_{52}O_4$  Ber. C 76,18 H 10,73%  
 Gef. „ 76,09 „ 10,71%

#### 3β, 6α-Dioxy-cholestan.

950 mg 3β,6α-Diacetoxy-cholestan (Smp. 103—107°) wurden mit 20 cm<sup>3</sup> 5-proz. methanolischer Kalilauge 1 Stunde am Rückfluss gekocht. Dann wurde mit Wasser verdünnt, in Äther aufgenommen und wie üblich gewaschen, getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Der krystallisierte Rückstand wog 760 mg. Durch Umkrystallisieren aus Alkohol wurden daraus 480 mg 3β,6α-Dioxy-cholestan vom Smp. 216—217° und durch weiteres Einengen noch 210 mg Substanz vom Smp. 213—215° erhalten.

Die partielle Verseifung, d. h. Verseifung nur einer der beiden Acetyl-Gruppen, gelang nicht. Schon durch 48-stündiges Stehen mit der für ein Mol Essigsäure berechneten Menge methanolischer 0,1-n. Kalilauge trat, teilweise wohl unter Umesterung, vollständige Verseifung zum Diol ein.

Ein Teil der reinsten Fraktion wurde noch zweimal aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt wurde dadurch nicht erhöht. Zur Analyse wurde 20 Stunden im Hochvakuum bei 120° getrocknet und anschliessend im Hochvakuum bei 210° sublimiert.

$[\alpha]_D = +38,0^{\circ}; +38,0^{\circ}$  ( $c = 0,605; 0,316$  in Chloroform)  
 3,828 mg Subst. gaben 11,283 mg CO<sub>2</sub> und 4,179 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{27}H_{48}O_2$  Ber. C 80,14 H 11,96%  
 Gef. „ 80,44 „ 12,22%

<sup>1)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

<sup>2)</sup> I. M. Heilbron, H. Jackson, E. R. H. Jones und F. S. Spring, Soc. 1938, 104.

<sup>3)</sup> A. Windaus, B. 50, 136 (1917).

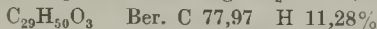
3 $\beta$ -Acetoxy-6 $\beta$ -oxy-cholestan (IVb).

Die Substanz wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von Marker<sup>1)</sup> hergestellt. 900 mg 6-Keto-cholestan-yl-acetat wurden in 90 cm<sup>3</sup> Feinsprit gelöst und mit 200 mg vorreduziertem Platinoxid hydriert. Die Hydrierung wurde nach Aufnahme von 50,9 cm<sup>3</sup> Wasserstoff (Ber. 51,1 cm<sup>3</sup>, 721 mm, 17,5<sup>o</sup>) abgebrochen. Das ausgefallene 3 $\beta$ -Acetoxy-6 $\beta$ -oxy-cholestan wurde durch Erwärmen gelöst und dann vom Katalysator abfiltriert. Der Rückstand war krystallin und wog 900 mg. Durch Umkrystallisieren aus Alkohol konnten 640 mg Diol-monoacetat vom Smp. 141—142<sup>o</sup> erhalten werden.

Ein Teil wurde noch einmal aus Alkohol umkrystallisiert, wodurch sich der Schmelzpunkt nicht erhöhte. Zur Analyse wurde 48 Stunden bei 90<sup>o</sup> im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D = -6,2^{\circ}; -6,4^{\circ} \text{ (c = 1,290; 0,863 in Chloroform)}$$

3,724 mg Subst. gaben 10,609 mg CO<sub>2</sub> und 3,774 mg H<sub>2</sub>O



Gef. ,, 77,74 ,, 11,34%

Durch Acetylieren der Mutterlauge konnten noch 160 mg 3 $\beta$ ,6 $\beta$ -Diacetoxy-cholestan vom Smp. 136—137<sup>o</sup> erhalten werden.

3 $\beta$ , 6 $\beta$ -Diacetoxy-cholestan (IVc).

440 mg 3 $\beta$ -Acetoxy-6 $\beta$ -oxy-cholestan (Smp. 141—142<sup>o</sup>) wurden, zusammen mit 1 cm<sup>3</sup> Pyridin und 10 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 1 Stunde auf dem Wasserbad erwärmt. Das Lösungsmittel wurde daraufhin am Vakuum abdestilliert und der Rückstand aus Aceton umkrystallisiert. Es wurden 350 mg 3 $\beta$ ,6 $\beta$ -Diacetoxy-cholestan vom Smp. 136—137<sup>o</sup> erhalten. Die reinste Fraktion wurde noch einmal aus Alkohol und einmal aus Aceton umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt stieg dabei auf 138—139<sup>o</sup>. Zur Analyse wurde 24 Stunden bei 90<sup>o</sup> im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D = -23,1^{\circ}; -23,5^{\circ} \text{ (c = 1,102; 0,762 in Chloroform)}$$

3,766 mg Subst. gaben 10,512 mg CO<sub>2</sub> und 3,627 mg H<sub>2</sub>O



Gef. ,, 76,17 ,, 10,78%

3 $\beta$ , 6 $\beta$ -Dioxy-cholestan (IV).

Die Substanz wurde am besten durch Hydrierung von 6-Keto-cholestanol mit Wasserstoff in Gegenwart von Platin in Alkohol hergestellt<sup>2)</sup>. Aus 260 mg 6-Keto-cholestanol vom Smp. 148—149<sup>o</sup> wurden 220 mg Diol vom Smp. 186—187<sup>o</sup> erhalten.

Ein Teil des Präparates wurde noch einmal aus Alkohol umkrystallisiert, wodurch der Schmelzpunkt auf 189—190<sup>o</sup> stieg. Zur Analyse wurde 24 Stunden bei 110<sup>o</sup> im Hochvakuum getrocknet (a) und anschliessend im Hochvakuum bei 185<sup>o</sup> sublimiert (b).

$$[\alpha]_D = +12,7^{\circ}; +13,8^{\circ} \text{ (c = 0,730; 0,580 in Chloroform)}$$

a) 3,700 mg Subst. gaben 10,818 mg CO<sub>2</sub> und 4,026 mg H<sub>2</sub>O



Gef. ,, 79,79 ,, 12,18%

b) 3,711 mg Subst. gaben 10,884 mg CO<sub>2</sub> und 3,980 mg H<sub>2</sub>O

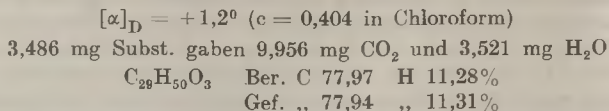
Gef. C 80,04 H 12,00%

3 $\beta$ -Oxy-6 $\beta$ -acetoxy-cholestan (IVa).

100 mg 3 $\beta$ ,6 $\beta$ -Diacetoxy-cholestan wurden in einer Lösung von 250 mg Kalilauge in 50 cm<sup>3</sup> Methanol 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Dann wurde mit Wasser verdünnt und in Äther aufgenommen. Nach der üblichen Aufarbeitung blieben 90 mg eines farblosen Öls zurück, das aus Methanol in Nadeln krystallisierte. Durch einmaliges Umkrystallisieren aus Methanol wurden 70 mg rohes 3 $\beta$ -Oxy-6 $\beta$ -acetoxy-cholestan erhalten (Smp. 100—120<sup>o</sup>). Das Präparat wurde noch zweimal umkrystallisiert, wodurch der Schmelz-

<sup>1)</sup> R. E. Marker und J. Krueger, Am. Soc. 62, 79 (1940).

punkt auf den konstanten Wert von 124—125° stieg. Zur Analyse wurde 20 Stunden bei 60° im Hochvakuum getrocknet.



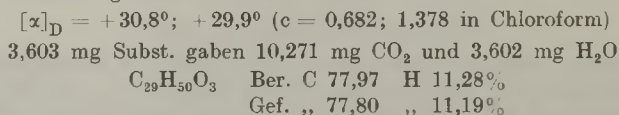
Dass das 3β,6β-Diacetoxy-cholestan weitaus schwerer verseifbar ist als das 3β,6α-Diacetoxy-cholestan zeigen auch folgende Versuche.

3β,6α-Diacetoxy-cholestan, Smp. 107—108°  
 22,800 mg Subst. wurden mit 11 cm<sup>3</sup> 0,02-n. alkohol. KOH 1 Stunde gekocht, Verbrauch  
 0,938 cm<sup>3</sup> 0,1-n. KOH  
 Ber. Äq.-Gew. 244 Gef. Äq.-Gew. 243

3β,6β-Diacetoxy-cholestan, Smp. 138—139°  
 24,600 mg Subst. wurden mit 11 cm<sup>3</sup> 0,02-n. alkohol. KOH 1 Stunde gekocht, Verbrauch  
 0,560 cm<sup>3</sup> 0,1-n. KOH  
 Gef. Äq.-Gew. 439

#### 3β-Oxy-5-acetoxy-cholestan (IIIa).

400 mg 3β,5-Diacetoxy-cholestan<sup>1)</sup> vom Smp. 139—140° wurden mit 1,4 g Kalilauge und 50 cm<sup>3</sup> Methanol durch Stehen bei Zimmertemperatur verseift. Hierauf wurde das Reaktionsgemisch mit verdünnter Salzsäure angesäuert, in Äther und Wasser aufgenommen und wie üblich aufgearbeitet. Der krystallisierte Rückstand wog 360 mg und schmolz nach Umkrystallisieren aus Aceton-Wasser unscharf zwischen 130 und 160°. Durch chromatographische Trennung konnten ca. 40 mg unverändertes 3β,5-Diacetoxy-cholestan zurückgewonnen werden. Die mit Äther-Chloroform 1:1 eluierten Fraktionen wogen zusammen 290 mg und schmolzen bei 156—158°. Das Präparat wurde zweimal aus wässrigem Alkohol umkrystallisiert, wodurch der Schmelzpunkt auf den konstanten Wert von 158—159° stieg. Zur Analyse wurde 48 Stunden bei 100° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet.



Umwandlung von 3β-Oxy-5-acetoxy-cholestan in Epi-cholesteryl-acetat (I) mit p-Toluolsulfosäure-chlorid.

500 mg 3β-Oxy-5-acetoxy-cholestan wurden in 20 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin gelöst. Dazu wurden 500 mg frisch destilliertes p-Toluolsulfosäure-chlorid gegeben und die Lösung 1—2 Stunden am Rückfluss gekocht. Bei der Aufarbeitung des Ansatzes durch Aufnehmen in Wasser und Äther und anschließende Chromatographie konnte Epi-cholesteryl-acetat vom Smp. 84—85° isoliert werden. Da die Anwesenheit von unverändertem Tosylchlorid die Reinigung des Produktes jedoch empfindlich stört, so wurde in späteren Versuchen folgende Variante der Aufarbeitung gewählt, wobei bis 70% an Epi-cholesterin erhalten werden konnten.

Der Ansatz wurde am Vakuum zur Trockne verdampft und der braun gefärbte Rückstand mit 50 cm<sup>3</sup> 5-proz. methanolischer Kalilauge zur Verseifung 2 Stunden auf dem Wasserbad gekocht. Nach dem Eindampfen auf ca. 25 cm<sup>3</sup> wurde mit Wasser verdünnt und in Äther aufgenommen. Das durch die übliche Aufarbeitung erhaltene stark gefärbte, aber krystallisierte Rohprodukt (450 mg) wurde in Benzol gelöst und an 20 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Äther-Chloroform 5:1 eluierte Fraktion (360 mg) wurde zweimal aus Alkohol umkrystallisiert, worauf ihr Schmelzpunkt bei

<sup>1)</sup> Pl. A. Plattner, Th. Petrzilka und W. Lang, Helv. 27, 518 (1944).



140,5—141° lag. Die Substanz zeigte mit Cholesterin eine deutliche Schmelzpunkts-  
erniedrigung, wogegen der Mischschmelzpunkt mit einem Epi-cholesterin-Präparat keine  
Erniedrigung ergab. Mit Tetranitromethan war eine positive Reaktion feststellbar. Mit  
Digitonin gab die Substanz keine Fällung. Zur Analyse wurde 18 Stunden bei 100°  
im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = -43,0^\circ; -44,5^\circ$  ( $c = 0,500; 1,527$  in Chloroform)  
3,604 mg Subst. gaben 11,045 mg CO<sub>2</sub> und 3,898 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O Ber. C 83,87 H 11,99%  
Gef. „ 83,64 „ 12,10%

Epi-cholesteryl-acetat. Das so hergestellte Epi-cholesterin (Smp. 139—141°)  
wurde mit Pyridin-Acetanhydrid (1:1) in der Kälte acetyliert. Der Schmelzpunkt des  
Acetats lag bei 84—85°. Mit einem authentischen Epi-cholesteryl-acetat-Präparat gab  
die Substanz keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde aus Aceton um-  
krystallisiert und über Nacht bei 50° im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = -12,8^\circ; -12,3^\circ$  ( $c = 0,351; 0,284$  in Chloroform)  
3,748 mg Subst. gaben 11,145 mg CO<sub>2</sub> und 3,788 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 81,25 H 11,29%  
Gef. „ 81,15 „ 11,31%

#### Hydrierung zu Epi-cholestanol.

Versuche zur Hydrierung des Epi-cholesteryl-acetats gaben keine einheitlichen  
Produkte, dagegen konnte das Epi-cholesterin selbst nach Marker<sup>1)</sup> katalytisch zu Epi-  
cholestanol hydriert werden.

200 mg Epi-cholesterin (Smp. 140—141°) wurden in 50 cm<sup>3</sup> Äther gelöst und mit  
200 mg vorreduziertem Platinoxid über Nacht hydriert. Das Hydrierungsprodukt gab  
mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung mehr und erwies sich auch bei der chromato-  
graphischen Prüfung als einheitliches Epi-cholestanol (Smp. 184—185°). Mit einem Epi-  
cholestanol-Präparat ändern Ursprungs ergab die Substanz keine Schmelzpunkts-  
erniedrigung. Zur Analyse wurde zweimal aus Alkohol umkrystallisiert und 12 Stunden im  
Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D = +22,8^\circ$  ( $c = 0,395$  in Chloroform)  
3,570 mg Subst. gaben 10,888 mg CO<sub>2</sub> und 4,005 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O Ber. C 83,43 H 12,45%  
Gef. „ 83,23 „ 12,54%

#### Aufspaltung von $\alpha$ -Cholesterin-oxyl-acetat mit Dioxan-Wasser.

300 mg  $\alpha$ -Cholesterin-oxyl-acetat vom Smp. 96—97° wurde in einer Mischung von  
8 cm<sup>3</sup> Dioxan und 2,5 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst. Die Lösung wurde im Einschlussrohr nach  
Zugabe einiger Siedesteinchen<sup>2)</sup> 6 Tage auf 150—160° erhitzt. Hierauf wurde am Vakuum  
zur Trockne eingedampft und der krystallisierte Rückstand chromatographiert. Die mit  
Äther-Chloroform 1:1 erhaltenen Eluate schmolzen roh bei 204—206°. Durch zwei-  
maliges Umkrystallisieren aus Methanol erhöhte sich der Schmelzpunkt auf 207—208°.

Die gleiche Verbindung (Smp. 209—209,5°) konnte auch bei der chromatographischen  
Trennung des Oxyd-Gemisches, das durch Oxydation von Cholesteryl-acetat mit Benzoe-  
persäure erhalten wird, isoliert werden. Es liegt das  $\beta$ -Acetoxy-5,6 $\beta$ -dioxy-cholestan  
vor. Zur Analyse wurde 12 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

$[\alpha]_D = -17,5^\circ$  ( $c = 0,942$  in Chloroform)  
3,712; 3,566 mg Subst. gaben 10,214; 9,810 mg CO<sub>2</sub> und 3,639; 3,498 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 75,28 H 10,89%  
Gef. „ 75,09; 75,07 „ 10,97; 10,98%

<sup>1)</sup> R. E. Marker, Th. S. Oakwood und H. M. Crooks, Am. Soc. 58, 482 (1936).

<sup>2)</sup> In Abwesenheit der Siedesteinchen (Tonteller) konnte unter den angegebenen  
Bedingungen keine Aufspaltung erzielt werden.

Die durch Aufspaltung des  $\alpha$ -Cholesterin-oxyl-acetats mit wässrigem Dioxan erhaltene Verbindung ist damit identisch. Durch Mischung resultierte keine Schmelzpunktserniedrigung. Die Drehungen sind ebenfalls identisch.

$$[\alpha]_D = -19,1^0 \quad (c = 1,177 \text{ in Chloroform})$$

Aufspaltung von  $\beta$ -Cholesterin-oxyl-acetat mit Dioxan-Wasser.

350 mg  $\beta$ -Cholesterin-oxyl-acetat vom Smp. 112—113° wurden in 8 cm<sup>3</sup> Dioxan und 2,5 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst. Die Lösung wurde während 6 Tagen, unter Zugabe einiger Siedesteinchen, im Einschlussrohr auf 150—160° erhitzt. Dann wurde im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand chromatographiert.

Die mit Äther-Chloroform 1:1 erhaltenen Eluate schmolzen roh bei 205—206°. Durch Umkrystallisieren aus Methanol stieg der Schmelzpunkt auf 207—208°.

$$[\alpha]_D = -19,7^0 \quad (c = 1,601 \text{ in Chloroform})$$

Der Mischschmelzpunkt mit dem durch Aufspaltung des  $\alpha$ -Cholesterin-oxyl-acetates erhaltenen Cholestan-triol-(3 $\beta$ , 5, 6 $\beta$ )-3-monoacetat zeigte keine Erniedrigung.

3 $\beta$ , 6 $\beta$ -Diacetoxy-5-oxy-cholestan.

500 mg 3 $\beta$ , 5, 6 $\beta$ -Cholestan-triol-3-monoacetat wurden zusammen mit 5 cm<sup>3</sup> Pyridin und 10 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid über Nacht stehen gelassen. Dann wurde am Vakuum zur Trockne eingedampft. Aus dem Rückstand (550 mg) konnten durch Umkrystallisieren aus Methanol 450 mg Substanz vom Smp. 164—165° erhalten werden. Zur Analyse wurde nochmals aus Methanol umkrystallisiert und 24 Stunden im Hochvakuum bei 90° getrocknet. Smp. 166°.

$$[\alpha]_D = -44,9^0; -47,5^0 \quad (c = 0,724; 1,013 \text{ in Chloroform})$$

3,650 mg Subst. gaben 9,869 mg CO<sub>2</sub> und 3,392 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>31</sub>H<sub>52</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 73,76 H 10,39%

Gef. „ 73,79 „ 10,40%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

## 224. Steroide und Sexualhormone.

(107. Mitteilung<sup>1)</sup>).

### Über Koprostan-diol-(3 $\beta$ , 6 $\beta$ ) und Koprostan-dion-(3, 6)

von V. Prelog und E. Tagmann.

(27. X. 44.)

Während die Hydrierung von  $\Delta^4$ -Cholesten-diol-(3 $\beta$ , 6 $\beta$ )-diacetat mit Platinoxid-Katalysator in Eisessig uneinheitlich unter Bildung von Cholestan, Cholestan-ol-(3) und Cholestan-diol-(3 $\beta$ , 6 $\beta$ ) verläuft<sup>2</sup>), erhielten wir durch Hydrierung von freiem  $\Delta^4$ -Cholesten-diol-(3 $\beta$ , 6 $\beta$ ) in alkoholischer Suspension in guter Ausbeute ein gesättigtes Diol.

<sup>1</sup>) 106. Mitt. Helv. 27, 1872 (1944).

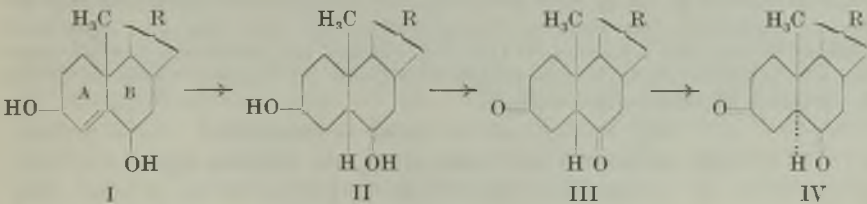
<sup>2</sup>) O. Rosenheim und W. W. Starling, Soc. 1937, 383; V. A. Petrow, O. Rosenheim und W. W. Starling, Soc. 1938, 679.

Wie die folgende Zusammenstellung zeigt, ist diese Verbindung von den beiden bekannten Cholestan-diolen-(3 $\beta$ ,6) verschieden.

	Smp.	$[\alpha]_D$
Cholestan-diol-(3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ) <sup>1)</sup> . . . . .	216—217°	+ 38°
Cholestan-diol-(3 $\beta$ ,6 $\alpha$ )-diacetat <sup>1)</sup> . . . . .	107—108°	+ 39,5°
Cholestan-diol-(3 $\beta$ ,6 $\beta$ ) <sup>1)</sup> . . . . .	189—190°	+ 13°
Cholestan-diol-(3 $\beta$ ,6 $\beta$ )-diacetat <sup>1)</sup> . . . . .	138—139°	- 23,5°
Neues Diol . . . . .	198—200°	+ 24°
Diacetat des neuen Diols . . . . .	137—139°	+ 13°

Es war naheliegend, anzunehmen, dass es sich bei dem neuen gesättigten Diol um das bisher unbekannte Koprostan-diol-(3 $\beta$ ,6 $\beta$ ) (II) handelt, was auch durch Oxydation mit Chromsäure, welche zum Koprostan-dion-(3,6) (III) führte, bestätigt werden konnte. Das Koprostan-dion-(3,6) schmilzt ähnlich wie das Cholestan-dion-(3,6) (IV), zeigt aber mit diesem eine starke Schmelzpunktserniedrigung und unterscheidet sich von ihm besonders durch sein Drehungsvermögen. Beim Erhitzen mit Säuren lagert es sich leicht in das Cholestan-dion-(3,6) um und verhält sich demnach analog wie die von *A. Windaus* untersuchte Cholan-dion-(3,6)-säure<sup>2)</sup> (Dehydro-hyo-desoxy-cholsäure), welche unter gleichen Bedingungen in die Allo-cholan-dion-(3,6)-säure übergeht. Besonders schön kommt die Analogie der beiden Verbindungspaare beim Vergleich der Drehungen zum Vorschein.

	$[\alpha]_D$	$[M]_D$	$\Delta[M]_D$
Cholan-dion-(3,6)-säure <sup>2)</sup> . . . . .	- 65,9°	- 256°	} 256°
Allo-cholan-dion-(3,6)-säure <sup>2)</sup> . . . . .	$\pm 0$	$\pm 0$	
Koprostan-dion-(3,6) . . . . .	- 57°	- 228°	} 258°
Cholestan-dion-(3,6) <sup>3)</sup> . . . . .	+ 7,5°	+ 30°	



1) Vgl. *Pl. A. Plattner und W. Lang*, *Helv.* **27**, 1872 (1944).

2) *A.* **447**, 233, 244 (1926).

3) *V. Prelog und E. Tagmann*, *Helv.* **27**, 1867 (1944).

Die erwähnten Umsetzungen erlauben in einfacher Weise und mit guten Ausbeuten, ausgehend vom Cholesterin, die 3,6-substituierten Derivate der Koprostan-Reihe herzustellen<sup>1)</sup>.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil<sup>2)</sup>.

#### Koprostan-diol-(3 $\beta$ ,6 $\beta$ ) (II).

70 mg  $\Delta^4$ -Cholesten-diol-(3 $\beta$ ,6 $\beta$ )<sup>3)</sup> wurden heiss in 40 cm<sup>3</sup> Feinsprit gelöst und rasch auf Zimmertemperatur abgekühlt, wobei ein Teil der Substanz in feinen Krystallen ausfiel. Die Suspension wurde mit 10 cm<sup>3</sup> Feinsprit zum Katalysator aus 5 mg vorhydriertem Platinoyd gespült und in Wasserstoffatmosphäre 28 Stunden geschüttelt. Wasserstoffverbrauch ber. 3,9 cm<sup>3</sup>, gef. 4,0 cm<sup>3</sup> (0°, 760 mm). Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung dampfte man im Vakuum ein. Das aus Essigester in langen feinen Nadeln krystallisierende Koprostan-diol-(3 $\beta$ ,6 $\beta$ ) schmolz nach dreimaligem Umlösen konstant bei 198—200° und zeigte mit dem Cholestan-diol-(3 $\beta$ ,6 $\beta$ ) eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde ein aus Methanol umgelöstes Produkt im Hochvakuum bei 0,01 mm zwischen 150—155° sublimiert.

$$[\alpha]_D^{21} = +24,2^{\circ} \pm 3^{\circ} \quad (c = 0,786 \text{ in Chloroform})$$

3,718 mg Subst. gaben 10,882 mg CO<sub>2</sub> und 4,010 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>27</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	Ber. C	80,14	H	11,96%
	Gef. „	79,87	„	12,07%

Diacetat. 25 mg des Diols wurden mit 2,5 cm<sup>3</sup> trockenem Pyridin und 2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid über Nacht bei Zimmertemperatur acetyliert. Den nach dem Verdampfen des überschüssigen Pyridins und Acetanhydrids verbleibenden Rückstand löste man aus Methanol um. Das Produkt bildete nach viermaligem Umkrystallisieren feine Blättchen vom Smp. 137—139°. Zur Analyse wurde 24 Stunden bei 85° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{20} = +13,3^{\circ} \pm 3^{\circ} \quad (c = 0,751 \text{ in Chloroform})$$

3,720 mg Subst. gaben 10,350 mg CO<sub>2</sub> und 3,532 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>21</sub> H <sub>52</sub> O <sub>4</sub>	Ber. C	76,18	H	10,73%
	Gef. „	75,93	„	10,62%

#### Koprostan-dion-(3,6) (III).

40,3 mg Koprostan-diol-(3 $\beta$ ,6 $\beta$ ) in 8 cm<sup>3</sup> Eisessig wurden mit einer Lösung von 25 mg Chromtrioxyd in 1 cm<sup>3</sup> Wasser und 5 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt und bei Zimmertemperatur 16 Stunden stehen gelassen. Die überschüssige Chromsäure wurde mit Methanol reduziert und das Reaktionsgemisch in Wasser gegossen. Das Oxydationsprodukt schüttelte man mit Äther aus. Die ätherischen Auszüge wurden mit Wasser, verdünnter Natriumcarbonatlösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne verdampft. Das erhaltene Koprostan-dion-(3,6) löste man aus verdünntem Methanol dreimal um, wonach es bei 170—174° schmolz. Die Verbindung gab mit Cholestan-dion-(3,6) eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde bei 75° im Hochvakuum 24 Stunden getrocknet.

$$[\alpha]_D^{18} = -57^{\circ} \pm 8^{\circ} \quad (c = 0,262 \text{ in Chloroform})$$

2,930 mg Subst. gaben 8,664 mg CO<sub>2</sub> und 2,879 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	Ber. C	80,94	H	11,07%
	Gef. „	80,70	„	11,00%

<sup>1)</sup> Vgl. die entsprechenden Versuche von *M. F. C. Page*, *Soc.* **1943**, 438.

<sup>2)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>3)</sup> *Soc.* **1938**, 679.

Überführung von Koprostan-dion-(3,6) in Cholestan-dion-(3,6) (IV).

10 mg reines Koprostan-dion-(3,6) wurden in 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig, dem ein Tropfen konz. Salzsäure zugefügt war, am Rückfluss 45 Minuten gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde darauf mit Wasser versetzt und mit Äther ausgezogen. Nach dem Verdampfen des mit Wasser und verdünnter Natriumcarbonat-Lösung gewaschenen ätherischen Auszuges blieb ein krystalliner Rückstand zurück, welcher aus Methanol umgelöst wurde. Die erhaltenen feinen Nadeln schmolzen bei 169—171°, zeigten ein  $[\alpha]_D^{17} = +10^{\circ} \pm 4^{\circ}$  (c = 0,517 in Chloroform) und gaben mit dem Cholestan-dion-(3,6) keine Schmelzpunkts-erniedrigung.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

## 225. Über Steroide und Sexualhormone.

(108. Mitteilung<sup>1)</sup>)

### $\Delta^{20,22}$ -3 $\beta$ , 5, 6 $\beta$ , 21-Tetraoxy-nor-allo-cholensäure-lacton-(23 $\rightarrow$ 21)

von L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und H. Heusser.

(27. X. 44.)

Der Steroid-Kern der natürlichen herzwirksamen Glykoside ist meist mehrfach mit Hydroxylen besetzt. Es lag daher nahe, die Synthesen digitaloider Aglucone, mit denen wir uns seit einiger Zeit befassen, in dieser Richtung systematisch auszubauen, nachdem die wichtigsten einfachen Typen mit einem einzigen Hydroxyl in Stellung 3 bereitet worden waren<sup>2)</sup>.

Die Herstellung eines solchen polyhydroxylierten Aglucons ist bereits in einer früheren Mitteilung<sup>3)</sup> beschrieben worden. Es wurde dort die dreifach hydroxylierte Cholsäure als Ausgangsmaterial verwendet. Bei der Synthese, über die wir hier berichten, wird im Gegensatz dazu das fertige  $\Delta^{5,6;20,22}$ -3 $\beta$ , 21-Dioxy-nor-choladiensäure-lacton-(23  $\rightarrow$  21)<sup>4)</sup> nachträglich hydroxyliert.

Das Acetat (I) des erwähnten Lactons reagiert erwartungsgemäss nur mit 1 Mol Benzopersäure. Es wird ausschliesslich die  $\Delta^{5,6}$ -Doppelbindung angegriffen, während die Doppelbindung im konjugierten System der Lacton-Seitenkette sich als vollständig reaktionsträge erweist. In Analogie zum Verhalten des Cholesterins und ähnlich gebauter Steroide werden gleichzeitig die beiden mög-

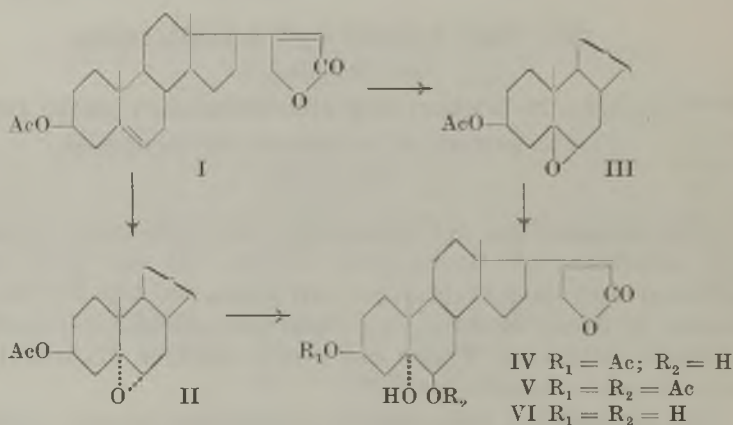
<sup>1)</sup> 107. Mitt. Helv. 27, 1880 (1944).

<sup>2)</sup> Vgl. die 89. Mitt. dieser Reihe, Helv. 26, 2274 (1943).

<sup>3)</sup> L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und H. Heusser, Helv. 27, 186 (1944).

<sup>4)</sup> L. Ruzicka, T. Reichstein und A. Fürst, Helv. 24, 76 (1941).

lichen stereoisomeren 5,6-Oxyde gebildet. Das in grösserer Menge entstandene  $\alpha$ -Oxyd-acetat (II) liess sich aus dem Gemisch durch Krystallisation abtrennen. Aus den Mutterlaugen wurde das  $\beta$ -Oxyd-acetat (III) durch Chromatographieren an Aluminiumoxyd gewonnen. In Übereinstimmung mit den Erfahrungen beim Cholesterin<sup>1)</sup> und beim trans-Dehydro-androsteron<sup>2)</sup> findet sich die  $\beta$ -Verbindung im leichter eluierbaren Anteil des Gemisches. Sicherer als durch diese Beobachtung lässt sich die konfigurative Zuordnung zu den Oxyden des Cholesteryl-acetats auf Grund der typischen spez. Drehungen vornehmen (vgl. Tabelle). Die vor kurzem festgelegten Konfigurationen der Cholesterin-oxyde<sup>3)</sup> lassen sich in dieser Weise auch auf die neuen Lacton-oxyd-acetate übertragen. Die  $\alpha$ -Verbindung (II) (Smp. 201,5<sup>0</sup>) leitet sich von der 3 $\beta$ ,5,6 $\alpha$ -Trioxy-allo-nor-cholansäure (Cholestan-Typus), die  $\beta$ -Verbindung (III) (Smp. 215,5<sup>0</sup>) von der 3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -Trioxy-nor-cholansäure (Koprostan-Typus) ab.





Bei der hydrolytischen Aufspaltung des Oxyd-Ringes mit Dioxan-Wasser entsteht aus beiden Verbindungen (II und III) ein und dasselbe  $\Delta^{20,22}$ -3 $\beta$ -Acetoxy-5,6 $\beta$ ,21-trioxy-nor-allo-cholensäure-lacton-(23 $\rightarrow$ 21) (IV). Die Identität der beiden erhaltenen Präparate folgt aus Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und spez. Drehung und wurde weiter durch getrennte Überführung beider in ein identisches 3,6-Diacetat (V) erhärtet. Damit werden in willkommener Weise die kürzlich<sup>1)</sup> an den Cholesterin-oxyd-acetaten gemachten Beobachtungen bestätigt. Auch die Drehungsverschiebungen verlaufen in der Cholesterin-Reihe gefundenen weitgehend parallel (vgl. Tabelle).

<sup>1)</sup> Pl. A. Plattner, Th. Petzilka und W. Lang, *Helv.* **27**, 519 (1944).

<sup>2)</sup> L. Ruzicka und A. C. Muhr, *Helv.* **27**, 507 (1944).

<sup>3)</sup> Pl. A. Plattner und W. Lang, *Helv.* **27**, 1872 (1944).

			Differenz	
I	$\Delta^{5,6}$ -3 $\beta$ -Acetoxy- . . . . .	- 59,0 <sup>0</sup>	- 42,5 <sup>0</sup> <sup>1)</sup>	16,5 <sup>0</sup>
II	3 $\beta$ -Acetoxy-5,6 $\alpha$ -oxido- . . . . .	- 64,5 <sup>0</sup>	- 46,0 <sup>0</sup> <sup>2)</sup>	18,5 <sup>0</sup>
III	3 $\beta$ -Acetoxy-5,6 $\beta$ -oxido- . . . . .	- 17,5 <sup>0</sup>	- 1,0 <sup>0</sup> <sup>2)</sup>	16,5 <sup>0</sup>
IV	3 $\beta$ -Acetoxy-5,6 $\beta$ -dioxy- . . . . .	- 36,5 <sup>0</sup>	- 18,5 <sup>0</sup> <sup>3)</sup>	18,5 <sup>0</sup>

Alle Drehungen sind in Chloroform gemessen.

Durch Verseifung mit Salzsäure-Methanol liess sich das gesuchte dreifach hydroxylierte Lacton (VI) leicht erhalten. Es besitzt bereits eine gewisse, wenn auch noch sehr geringe Wasserlöslichkeit.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der (*Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil<sup>4)</sup>.

Oxydation von  $\Delta^{5,6,20,22}$ -3 $\beta$ -Acetoxy-21-oxy-nor-choladiensäure-lacton-(23  $\rightarrow$  21)<sup>5)</sup> (I) mit Benzopersäure.

4,38 g des Acetyl-lactons (I) wurden in 40 cm<sup>3</sup> absolutem Chloroform gelöst und bei -10<sup>0</sup> mit einer Lösung von 1,82 g (= 1,2 Äquivalenten) Benzopersäure in 26,3 cm<sup>3</sup> Chloroform versetzt. Der Ansatz wurde 24 Stunden bei dieser Temperatur sich selbst überlassen, wonach die Titration einen Verbrauch von 0,98 Äquivalenten Persäure ergab. Das Reaktionsgemisch wurde in Äther aufgenommen und durch Ausschütteln mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser von sauren Bestandteilen befreit. Nach Trocknen und Abdampfen der Lösungsmittel verblieb ein kristallisierter Rückstand von 4,46 g, der ein Gemisch der beiden stereoisomeren Oxyde darstellt.

a)  $\alpha$ -Oxyd-acetat;  $\Delta^{20,22}$ -3 $\beta$ -Acetoxy-5,6 $\alpha$ -oxido-21-oxy-*allo*-nor-cholensäure-lacton-(23  $\rightarrow$  21) (II).

Das obige Rohprodukt (4,46 g) wurde viermal aus Essigester umkristallisiert und lieferte 1,58 g  $\alpha$ -Oxyd, feine Nadeln vom Smp. 200—201,5<sup>0</sup>. Zur Analyse wurde noch zweimal aus Essigester-Hexan umkristallisiert, wobei der Schmelzpunkt auf 202—203<sup>0</sup> stieg, und anschliessend 12 Stunden im Hochvakuum bei 100<sup>0</sup> über Phosphorpentoxyd getrocknet. Der *Legal*-Test ist positiv.

$$[\alpha]_D^{25} = -64,4^0 \quad (c = 1,303 \text{ in Chloroform})$$

3,750 mg Subst. gaben 9,956 mg CO<sub>2</sub> und 2,774 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>25</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 72,43 H 8,27%

Gef. „ 72,45 „ 8,28%

b)  $\beta$ -Oxyd-acetat;  $\Delta^{20,22}$ -3 $\beta$ -Acetoxy-5,6 $\beta$ -oxido-21-oxy-nor-cholensäure-lacton-(23  $\rightarrow$  21) (III).

Die Mutterlauge aus der Krystallisation des oben beschriebenen  $\alpha$ -Oxyd-acetats (II) wurden vereinigt und eingedampft. Das erhaltene Gemisch (3,14 g) wurde nach der

<sup>1)</sup> A. 548, 27 (1941).

<sup>2)</sup> Helv. 27, 513, 514 (1944).

<sup>3)</sup> Helv. 27, 1872 (1944).

<sup>4)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

<sup>5)</sup> L. Ruzicka, T. Reichstein und A. Fürst, Helv. 24, 76 (1941).

Durchlaufmethode an 100 g Aluminiumoxyd chromatographisch zerlegt. Die mit Petroläther-Benzol 1:3 erhaltenen Eluate ergaben nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Hexan 655 mg reines  $\beta$ -Oxyd-acetat (III) in Form feiner Blättchen. Smp. 213,5—215,5°. Das Präparat wurde zur Analyse noch einmal aus Aceton-Hexan umkrystallisiert und anschliessend 48 Stunden bei 95° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Der *Legal*-Test ist positiv.

$$[\alpha]_D^{25} = -17,5^{\circ} \quad (c = 1,368 \text{ in Chloroform})$$

3,722 mg Subst. gaben 9,862 mg CO<sub>2</sub> und 2,769 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>25</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	Ber. C	72,43	H	8,27%
	Gef. „	72,31	„	8,32%

Die Benzol-Eluate lieferten anschliessend 1,185 g unscharf schmelzender Gemische der beiden isomeren Oxyde und schliesslich noch 360 mg des oben beschriebenen  $\alpha$ -Oxyd-acetats (II) vom Smp. 200—202°.

$\Delta^{20,22}$ -3 $\beta$ -Acetoxy-5,6 $\beta$ ,21-trioxy-nor-allo-cholensäure-lacton-(23  $\rightarrow$  21) (IV).

Je 170 mg des  $\alpha$ - bzw. des  $\beta$ -Oxyd-acetats (II bzw. III) wurden, in 8 cm<sup>3</sup> Dioxan und 2,5 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, 7 Tage im Einschlussrohr auf 155° erhitzt<sup>1)</sup>. Anschliessend wurde im Vakuum zur Trockne verdampft und an je 6 g Aluminiumoxyd chromatographisch gereinigt. Die mit Äther und Äther-Aceton (8:2) erhaltenen Eluate (160 bzw. 165 mg) ergaben nach je dreimaligem Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser 100 bzw. 105 mg feine Nadeln vom Smp. 250—251,5°. Die beiden Präparate zeigten im Mischschmelzpunkt keine Erniedrigung und besaßen innerhalb der Fehlergrenzen identische spezifische Drehungen.

3 $\beta$ -Acetoxy-5,6 $\beta$ -dioxy-lactone aus

$$\alpha\text{-Oxyd; } [\alpha]_D^{22} = -37,2^{\circ}; -36,2^{\circ} \quad (c = 0,853; 0,815 \text{ in Chloroform})$$

$$\beta\text{-Oxyd; } [\alpha]_D^{22} = -36,5^{\circ}; -35,5^{\circ} \quad (c = 0,813; 0,961 \text{ in Chloroform})$$

Zur Analyse wurde das aus dem  $\alpha$ -Oxyd-acetat erhaltene Präparat noch zweimal aus Essigester-Hexan umkrystallisiert, wobei der Schmelzpunkt nur unbedeutend, auf 251,5—252°, stieg. Anschliessend wurde 16 Stunden bei 100° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Der *Legal*-Test ist positiv.

3,846 mg Subst. gaben 9,794 mg CO<sub>2</sub> und 2,941 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>25</sub> H <sub>36</sub> O <sub>6</sub>	Ber. C	69,42	H	8,39%
	Gef. „	69,50	„	8,56%

$\Delta^{20,22}$ -3 $\beta$ ,6 $\beta$ -Diacetoxy-5,21-dioxy-nor-allo-cholensäure-lacton-(23  $\rightarrow$  21) (V).

65 mg bzw. 45 mg der Präparate von 3 $\beta$ -Acetoxy-5,6 $\beta$ -dioxy-lacton (IV), erhalten aus dem  $\alpha$ - bzw. dem  $\beta$ -Oxyd-acetat (II und III), wurden mit je 5 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid und 5 cm<sup>3</sup> Pyridin 16 Stunden bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Anschliessend wurden die Ansätze im Vakuum zur Trockne verdampft und die krystallisierten Rückstände, in Aceton gelöst, durch wenig Aluminiumoxyd filtriert. Nach fünf- bzw. viermaligem Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser wurden 40 bzw. 30 mg feine Nadeln vom Smp. 237—238° erhalten. Die beiden Präparate gaben im Mischschmelzpunkt keine Erniedrigung und zeigten innerhalb der Fehlergrenzen identische spezifische Drehungen.

<sup>1)</sup> Die Anwesenheit eines kleinen Stückchens gebrannten Tons (Siedestein aus Tonteller) scheint für das Eintreten der Aufspaltung unerlässlich. Bei Ansätzen ohne Siedesteine wurde unter den angegebenen Bedingungen nur unverändertes Ausgangsmaterial zurückerhalten.



3 $\beta$ , 6 $\beta$ -Diacetoxy-5-oxy-lactone aus

$\alpha$ -Oxyd;  $[\alpha]_D^{22} = -77,8^{\circ}$ ;  $-76,5^{\circ}$  ( $c = 0,659$ ;  $0,909$  in Chloroform)

$\beta$ -Oxyd;  $[\alpha]_D^{22} = -77,3^{\circ}$ ;  $-75,5^{\circ}$  ( $c = 0,689$ ;  $0,602$  in Chloroform)

Zur Analyse wurde das aus dem  $\beta$ -Oxyd-acetat (III) erhaltene Präparat 48 Stunden bei  $100^{\circ}$  im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Der *Legal*-Test ist positiv.

3,741 mg Subst. gaben 9,357 mg CO<sub>2</sub> und 2,756 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>O<sub>7</sub> Ber. C 68,33 H 8,07%

Gef. ,, 68,26 ,, 8,24%

$\Delta^{20,22}$ -3 $\beta$ , 5, 6 $\beta$ , 21-Tetraoxy-nor-allo-cholensäure-lacton-(23  $\rightarrow$  21) (VI).

200 mg  $\Delta^{20,22}$ -3 $\beta$ -Acetoxy-5, 6 $\beta$ , 21-trioxy-nor-allo-cholensäure-lacton-(23  $\rightarrow$  21) (IV) wurden in 20 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit 20 cm<sup>3</sup> einer 8-proz. methanolischen Salzsäure-Lösung versetzt und bei Zimmertemperatur 18 Stunden sich selbst überlassen. Nach dem Einengen im Vakuum wurde der krystallisierte Rückstand durch Zusatz von Chloroform und Abdampfen desselben von den letzten Resten Salzsäure befreit. Anschliessend wurde aus Methanol-Wasser umkrystallisiert. Das Präparat fällt in feinen Blättchen aus, die einen unscharfen Zersetzungspunkt zwischen  $256$ — $265^{\circ}$  aufweisen und 1 Mol Krystallwasser enthalten, das auch bei längerem Erhitzen auf  $100^{\circ}$  im Vakuum nicht abgegeben wird. Ausbeute 180 mg. Zur ersten Analyse wurde noch zweimal aus Methanol-Wasser umkrystallisiert, wobei sich der Zersetzungspunkt nicht mehr änderte und anschliessend 48 Stunden bei  $100^{\circ}$  im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

$[\alpha]_D^{25} = -27,6^{\circ}$  ( $c = 0,738$  in Feinsprit)

3,645 mg Subst. gaben 9,063 mg CO<sub>2</sub> und 2,781 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>·H<sub>2</sub>O Ber. C 67,62 H 8,88%

Gef. ,, 67,83 ,, 8,54%

Zur zweiten Analyse wurde zweimal aus Methanol-Essigester umkrystallisiert, wobei das Präparat in groben Rhomboedern ohne Krystalllösungsmittel erhalten wurde. Getrocknet wurde 66 Stunden bei  $60^{\circ}$  im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd. Diese von Krystalllösungsmittel freie Form weist einen Schmelzpunkt von  $255$ — $259^{\circ}$  (u. Zers.) auf, zersetzt sich aber bereits bei längerem Erhitzen auf über  $100^{\circ}$ . Der *Legal*-Test ist positiv.

3,534 mg Subst. gaben 9,144 mg CO<sub>2</sub> und 2,731 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 70,74 H 8,78%

Gef. ,, 70,61 ,, 8,65%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von den HH. W. Manser und W. Ingold ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

## 226. Über eine neue *l*-Aminosäure-oxydase<sup>1)</sup>

(1. Mitteilung)

von E. A. Zeller und A. Maritz.

(27. X. 44.)

In Schlangengiften lassen sich zahlreiche Fermente nachweisen, die zu einem beträchtlichen Teil die Ursache der Giftigkeit bilden. Bis jetzt wurden nur Enzyme der Gruppe der Hydrolasen, wie Proteasen, Peptidasen, Phosphatidasen, Phosphatasen, Cholinesterase usw.<sup>2)</sup>, bekannt. Eine Ausnahme bildet ein Hämoglobin zu Methämoglobin oxydierendes Enzym<sup>3)</sup>. Nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung aber wird diese Reaktion sehr wahrscheinlich nicht durch ein Ferment *sui generis*, sondern durch eine sogenannte Sekundäroxydation bewirkt. In unserer Mitteilung wird ein in verschiedenen Schlangengiften vorkommendes, zu den Desmolasen gehörendes Ferment beschrieben, das eine ganze Reihe von (natürlichen) *l*-Aminosäuren, insbesondere Monoamino-monocarbonsäuren, oxydativ desaminiert. Von den bisher bekannten *l*-Aminosäure-oxydasen zeichnet es sich durch eine aussergewöhnliche Aktivität und durch seine freie Löslichkeit aus und stellt deshalb ein überaus geeignetes Material dar, um die Spezifität und den Reaktionsverlauf des enzymatischen Abbaues natürlicher Aminosäuren zu studieren. Darüber hinaus kann es für den quantitativen Nachweis von kleinen Mengen von *l*-Aminosäuren, *l*-Peptiden, *l*-Peptidasen und von äusserst geringen Katalase-Aktivitäten verwendet werden.

In der vorliegenden Publikation werden hauptsächlich Versuche mit dem Gift der *Vipera aspis* L. beschrieben. In einer späteren Mitteilung werden die Ergebnisse der analogen Untersuchungen an Gift weiterer *Vipera*-Arten (*V. libetina*, *V. latastei*), am Kobra- und am Lanzenschlangengift zur Darstellung gelangen. Soweit es sich um die *l*-Aminosäure-oxydase handelt, ergaben auch diese Gifte genau die gleichen Resultate wie das Aspisgift<sup>4)</sup>.

<sup>1)</sup> Ausschnitte aus dem hier publizierten Material wurden am 8. 7. 44 an der 25. Tagung des Schweiz. Vereins der Physiologen und Pharmakologen (*E. A. Zeller*, *Helv. physiol. acta*, **2**, C 33 (1944)) und am 3. 9. 44 an der 124. Tagung der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft (*E. A. Zeller* und *A. Maritz*, *Verhandl. Schweiz. med.-biologische Gesellschaft*, im Druck) vorgetragen.

<sup>2)</sup> Zusammenfassung: *C. H. Kellaway*, *Animal Poisons*, *Annual Rev. Biochem.* **8**, 541 (1939).

<sup>3)</sup> *E. E. Dunn*: *J. Pharmacol. exp. Therap.* **50**, 386, 393 (1934).

<sup>4)</sup> Für die Überlassung von Giftpräparaten sprechen wir den Herren Priv.-Doz. Dr. H. Bloch, Prof. Dr. H. Hediger, Direktor des Basler Zoologischen Gartens, P. Seiler und C. Stemmler-Morath unsern besten Dank aus. Ohne die grossen Mengen von Aspisgift, die uns von Herrn Seiler zur Verfügung gestellt wurden, wäre die weitgehende Analyse der neuen Fermentreaktion nicht möglich gewesen.

## 1. Experimentelle Ermittlung der Reaktionsgleichungen.

### I. Sauerstoffverbrauch.

In der Gegenwart von Aspisgift nehmen unter geeigneten Reaktionsbedingungen mehrere *l*-Aminosäuren rasch Sauerstoff auf, bis annähernd 1 Mol Sauerstoff pro Molekel Substrat erreicht wird. Die Substrate, wie *l*-Tyrosin, Derivate des *l*-Tyrosins und Tryptophan, bewirken einen Sauerstoffverbrauch, der etwas über diesen Wert hinausgeht (Tabelle 1 und 9), während dieses mit Substraten mit kleiner Oxydationsgeschwindigkeit wie *l*-Valin nicht erreicht wird, offenbar deshalb, weil das Enzym während der langen Versuchsdauer teilweise inaktiviert wird.

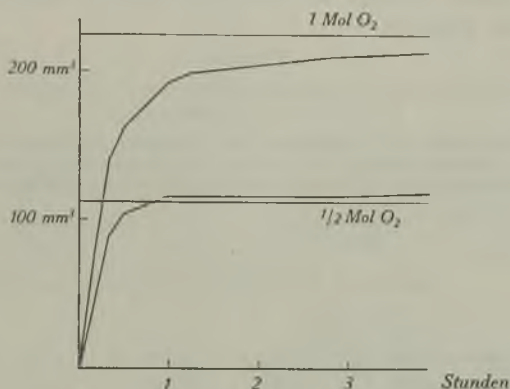


Fig. 1.

Oxydation von Phenylalanin bei Gegenwart und Abwesenheit von hämolytierten Erythrocyten.

Frisches Aspisgift 1 mg, Phenylalanin  $10^{-5}$  Mol, gewaschene Erythrocyten  $10^{-3}$  cm<sup>3</sup>, Gesamtvolumen 2,5 cm<sup>3</sup>.

Wenn den Ansätzen gewaschene Erythrocyten oder andere Katalasequellen zugesetzt werden, so hört der Sauerstoffverbrauch schon bei einem Atom Sauerstoff pro Mol Substrat auf (Fig. 1). Ist dieser Wert erreicht, so verläuft die Kurve horizontal, während in den Gefäßen ohne diesen Zusatz die Oxydation langsam dem Endwert zustrebt.

Die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme ist aussergewöhnlich gross. Unter günstigen Bedingungen kann 1 mg getrocknetes Aspisgift in einer Stunde eine Sauerstoffaufnahme bis über 2100 mm<sup>3</sup> bewirken (Tabelle 10), was dem mehr als zehnfachen bis tausendfachen Wert für die bisher bekannten *l*-Aminosäure-oxydasen entspricht.

### II. Ammoniakbildung.

Die Oxydation der Aminosäure mit Hilfe des Aspisgiftes ist ausnahmslos mit einer Ammoniakbildung verknüpft. Wenn unter den üblichen Versuchsbedingungen ein Mol Sauerstoff pro Mol Substrat verbraucht worden ist, dann liegt der gesamte Amino-Stickstoff als Ammoniak vor. In vielen Fällen ist die oxydative Desaminierung

schon vollständig, bevor ein Mol Sauerstoff erreicht worden ist (Tabelle 1). Wenn die Oxydation in Gegenwart von Erythrocyten durchgeführt wird, die im allgemeinen ein Weiterschreiten des Sauerstoffverbrauches über 0,5 Mol verhindern, so wird trotzdem eine völlige Ablösung der Aminogruppe erreicht. Es ist somit 1 Atom Sauerstoff notwendig, um 1 Mol Ammoniak in Freiheit zu setzen, wie dies auch für andere oxydative Desaminierungen gilt, beispielsweise für den früher von dem einen von uns untersuchten enzymatischen Abbau von Di- und Poly-aminen<sup>1)</sup>. Dieses Verhältnis von 1 Atom Sauerstoff zu 1 Mol Ammoniak kann wohl grösser als 1 werden, wenn die Oxydation weitergeht, während eine Unterschreitung dieses Wertes in sehr zahlreichen Versuchen nie beobachtet werden konnte.

Tabelle 1.

Sauerstoffverbrauch und Ammoniakbildung in Gegenwart und Abwesenheit von Erythrocyten.

Der Sauerstoffverbrauch ist in Atomen, die Ammoniakbildung in Molen angegeben. Substratmenge:  $10^{-5}$  Mol., Erythrocyten  $0,1 \text{ cm}^3$ .

Substrat	Gift	O <sub>2</sub> -Verbrauch		NH <sub>3</sub> -Bildung		Atome O Mol NH <sub>3</sub>	
		ohne Eryth.	mit Eryth.	ohne Eryth.	mit Eryth.	ohne Eryth.	mit Eryth.
<i>l</i> -Phenylalanin	V. aspis	$1,45 \times 10^{-5}$	$1,02 \times 10^{-5}$	$1,02 \times 10^{-5}$	$0,99 \times 10^{-5}$	1,42	1,03
<i>l</i> -Leucin	V. aspis	2,00	1,03	0,95	1,06	2,11	0,97
<i>l</i> -Tyrosin	V. libet.	2,35	1,43	1,07	1,02	2,01	1,40

### III. Bildung von Carbonylverbindungen.

Wie die oxydative Desaminierung der *d*-Aminosäuren scheint auch der Abbau der *l*-Aminosäuren durch Aspispgift zu  $\alpha$ -Ketonsäuren zu führen. Wenn den Versuchsansätzen Dinitrophenylhydrazin zugesetzt wird, bildet sich ein starker gelbroter Niederschlag. In Lösungen von Aminosäuren, die längere Zeit der Wirkung des Giftes ausgesetzt waren, lässt sich ein solcher Niederschlag nicht mehr erzeugen, wohl aber, wenn die Reaktion in Gegenwart von Erythrocyten sich vollzog.

Das Abbauprodukt von *l*-Phenylalanin lässt sich aus saurer Lösung mit Äther extrahieren und dem Äther mit Sodalösung wieder entziehen. Nachdem es wieder in Äther übergeführt und der Äther abgedampft worden ist, gibt es den erwähnten Niederschlag mit Dinitrophenylhydrazin. Auf Zusatz von Lauge löst sich der Niederschlag unter Bildung einer braunroten Farbe auf, deren Intensität im Stufenphotometer leicht gemessen werden kann<sup>2)</sup>. Als Vergleichssubstanz diente synthetische Phenylbrenztraubensäure.

<sup>1)</sup> E. A. Zeller, Helv. 21, 880 (1938).

<sup>2)</sup> Diese Methode, die eine Modifikation derjenigen von L. Penrose und J. H. Quastel, Biochem. J. 31, 266 (1937), darstellt, wurde für die Bestimmung von Phenylbrenztraubensäure im Harn von Patienten mit Oligophrenia phenylpyruvica ausgearbeitet und wird an anderer Stelle genauer beschrieben.

Auf diese Weise konnte gezeigt werden, dass das Abbauprodukt von 182 mg *l*-Phenylalanin 126 mg Phenylbrenztraubensäure entsprach (70% Ausbeute).

Tabelle 2.

Sauerstoffverbrauch und Bildung von Carbonylverbindungen. Frisches Aspispgift 1 mg, Phenylalanin  $10^{-5}$  Mol. Gesamtvolumen 2,5 cm<sup>3</sup>. Menge der gewaschenen Erythrocyten in Volumina der ursprünglichen Blutmenge angegeben.

Erythrocyten	Verbrauch Sauerstoffatome	Niederschlagsbildung mit Dinitrophenylhydrazin
0 cm <sup>3</sup>	$1,79 \times 10^{-5}$	—
0,1 cm <sup>3</sup>	0,95	++
0,01 cm <sup>3</sup>	0,90	+
0,001 cm <sup>3</sup>	0,95	—

Die präparative Isolierung der Reaktionsprodukte verschiedener Aminosäuren ist im Gange. Als vorläufige Mitteilung sei hier angeführt, dass sich nach dem Abbau von Phenylalanin in der eben erwähnten Weise ein Hydrazon gewinnen lässt, das nach Schmelzpunkt 159—160,5°, Mischschmelzpunkt 163—164° mit einem synthetischen Präparat 169° und nach seinem Löslichkeits- und Sublimationsverhalten sich als identisch mit dem Hydrazon der Phenylbrenztraubensäure erwies<sup>1)</sup>.

#### IV. Bildung von Kohlendioxyd.

In gewöhnlichen Ansätzen, in denen 1 Mol Sauerstoff pro Mol Substrat verbraucht worden ist, lassen sich beträchtliche Mengen von Kohlendioxyd nachweisen. Das geschieht mit Hilfe von je 2 Manometergefäßen, die in genau gleicher Weise mit Fermentlösung und Substrat beschickt werden, von denen aber das eine nicht wie sonst üblich Lauge zur Absorption von Kohlendioxyd enthält. Die Druckunterschiede der parallelen Ansätze entsprechen bei Berücksichtigung der Absorptions-Koeffizienten von Kohlendioxyd und Sauerstoff der Menge des gebildeten Kohlendioxyds (Fig. 2). Auf diese Weise liessen sich beim Leucin nach 2 Stunden 44%, beim Phenylalanin nach 16 Stunden 77% des Kohlendioxyds erfassen, das durch die vollständige Decarboxylierung der Aminosäure entstehen müsste. Wenn den Enzymlösungen gewaschene Erythrocyten zugesetzt werden, so ist die Druckabnahme in den Gefäßen mit und ohne Lauge innerhalb der Fehlerbreiten der Methode vollkommen identisch. Es bildet sich in diesem Fall somit kein Kohlendioxyd.

#### V. Bildung von Wasserstoffperoxyd.

Bei der oxydativen Desaminierung von *d*-Aminosäuren<sup>2)</sup>, von Mono-aminen<sup>3)</sup> und von Di- und Poly-aminen<sup>4)</sup> bildet sich Peroxyd, das mit seiner Wirkung auf leicht oxydierbare Substrate, wie Äthanol, erkannt werden kann (sogenannte Sekundäroxydation). Dasselbe

<sup>1)</sup> E. A. Zeller, Helv. 26, 1614 (1943). (Schmelzpunkt des Phenylhydrazons nach Erlenmeyer (A. 271, 137 (1892) 160—161°).

<sup>2)</sup> D. Keilin und E. F. Hartree, Proc. Roy. Soc. 119, 114 (1936).

<sup>3)</sup> M. L. C. Hare, Biochem. J. 22, 968 (1928).

<sup>4)</sup> E. A. Zeller, Helv. 21, 880 (1938).

gilt für die *l*-Aminosäure-oxydase des Schlangengifts. Nur ist hier der Zusatz eines besonderen Sauerstoffakzeptors nicht nötig, weil ein Reaktionsprodukt, die  $\alpha$ -Ketonsäure, an dessen Stelle tritt. Es liegen die gleichen Verhältnisse wie bei der gereinigten, katalasefreien *d*-Aminosäure-oxydase vor, die *d*-Alanin in Essigsäure, Kohlendioxyd und Ammoniak umwandelt, während ungereinigte *d*-Aminosäure nur Brenztraubensäure entstehen lässt<sup>1)</sup>. Da auch das Schlangengift vollständig frei von Katalase ist, kommt es unter Bildung von Kohlendioxyd und unter Verbrauch eines weitem Atoms Sauerstoff zu einer Oxydation des Reaktionsproduktes. Dadurch wird verständlich, dass in Gegenwart von Katalase (Erythrocyten) der Sauerstoffverbrauch im allgemeinen auf die Hälfte herabgesetzt und die Kohlendioxyd-Bildung verhindert wird, während die Ammoniakentwicklung keine Beeinflussung erfährt, wie in den vorangehenden Abschnitten schon gezeigt wurde. Ein Zusatz von Katalase bewirkt somit eine tiefgreifende Änderung der durch das Schlangengift katalysierten Abbaureaktion der *l*-Aminosäuren. Es ist auf diese Weise die Katalase erkennbar, die in den Erythrocyten von  $10^{-6}$  cm<sup>3</sup> Menschenblut enthalten ist (Tabelle 3). Mit den üblichen Methoden der Katalasebestimmung können Mengen, die in  $10^{-3}$  cm<sup>3</sup> Blut enthalten sind, erfasst werden.

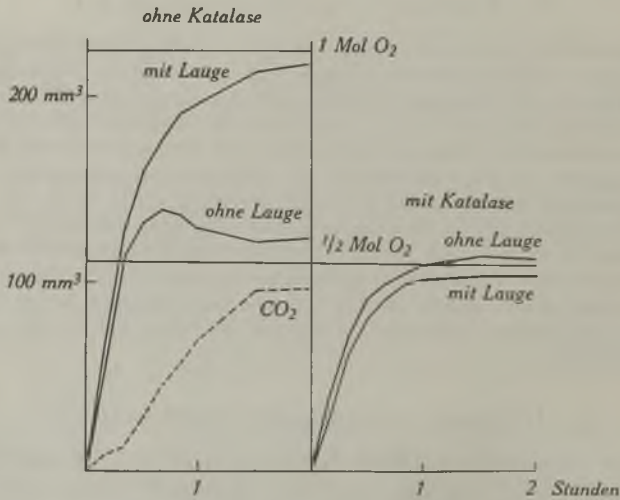


Fig. 2.

Kohlendioxydbildung bei Gegenwart und Abwesenheit von Erythrocyten. Trockenes Aspisgift 1 mg, Leucin  $10^{-6}$  Mol, gewaschene Erythrocyten 0,1 cm<sup>3</sup>. Ausgezogene Kurve: Sauerstoffverbrauch in mm<sup>3</sup>, gestrichelte Kurve: Kohlendioxydbildung in mm<sup>3</sup>.

<sup>1)</sup> E. Negelein und H. Brömel, Bioch. Z. **300**, 225 (1939).

Tabelle 3.

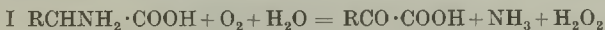
Beeinflussung des Sauerstoffverbrauchs durch Erythrocyten.  
Frisches Aspisgift 1 mg, Phenylalanin  $10^{-5}$  Mol, Versuchsdauer 2 Stunden.

Erythrocyten	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	Sauerstoffatome
0	215	$1,92 \times 10^{-5}$
0,1	114	1,02
0,01	111	0,99
0,001	115	1,03
0,0001	159	1,42
0,00001	178	1,59
0,000001	203	1,81

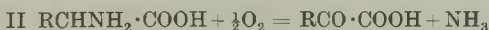
Das Peroxyd lässt sich qualitativ auch direkt mit Phenolphthalin<sup>1)</sup> und mit Kaliumjodid und Stärke nach Säurezusatz nachweisen. Hämoglobin wird nach längerer Inkubationszeit braun, was wohl auf die Methämoglobinbildung zurückzuführen ist<sup>2)3)</sup>. Diese Beobachtung bietet möglicherweise eine Erklärung für die in der Einleitung erwähnte Oxydation von Hämoglobin zu Methämoglobin durch Schlangengift. So findet sich im Gift der indischen Kobra, das Hämoglobin oxydiert, eine Protease und eine Peptidase<sup>4)</sup> und, wie wir nachweisen konnten, die eben von uns beschriebene *l*-Aminosäure-oxydase (Tabelle 10). Es ist deshalb immer mit einer teilweisen Umwandlung des in den Versuchslösungen vorhandenen Eiweisses in Aminosäuren und mit der Oxydation derselben durch die Oxydase zu rechnen, wobei Peroxyd entstehen muss, das sekundär Methämoglobin bildet. Damit in Einklang steht die Feststellung, dass die Hämoglobin-Oxydation erst nach einigen Stunden Inkubationszeit eintritt<sup>5)</sup>. Es sind somit alle Voraussetzungen für die Deutung der Methämoglobin-Entstehung als einer Sekundäroxydation und damit nicht als einer besonderen Fermentreaktion vorhanden. In ähnlicher Weise wurde vor kurzem die für *Aspergillus* postulierte und auch, wie wir eben anführten, im Schlangengift nachweisbare „Jodid-oxydase“ auf eine Sekundär-oxydation zurückgeführt<sup>6)</sup>. In diesem Falle ist es die Oxydation von Glucose zu Gluconsäure, die zur Peroxyd-Bildung und zur Oxydation des Jodids führt.

## VI. Reaktionsgleichungen.

Die hier mitgeteilten Daten lassen sich wohl am einfachsten in den folgenden Gleichungen zusammenfassen:



Diese Gleichung I ist bei der Beeinflussung der Reaktion durch Katalase durch die folgende zu ersetzen:



Wenn aber das Peroxyd durch Katalase nicht zerstört wird, wirkt es teilweise im Sinne von Gleichung Ia, wobei ausdrücklich betont sei, dass noch andere Oxydationswirkungen des Peroxyds

<sup>1)</sup> O. Schales, B. 71, 477 (1938).

<sup>2)</sup> F. Bernheim, M. L. C. Bernheim und A. G. Gillaspie, J. Biol. Chem. 114, 657 (1936).

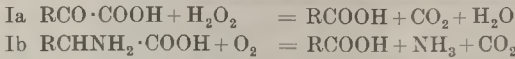
<sup>3)</sup> E. A. Zeller, Helv. 21, 880 (1938).

<sup>4)</sup> B. N. Ghosh und S. S. De, J. Soc. Chem. Ind. 13, 627 (1936).

<sup>5)</sup> E. E. Dunn, l. c.

<sup>6)</sup> A. A. Pearce, Biochem. J. 34, 1493 (1940).

wahrscheinlich sind. Bei der Kombination von Gleichung I und Ia kommen wir zur Gleichung Ib, die ebenfalls nur eine beschränkte Geltung besitzt:



2. Charakterisierung der *l*-Aminosäure-oxydation als Fermentreaktion.

Das im Aspis- und in anderen Schlangengiften vorhandene Agens, das die Oxydation der Aminosäuren katalysiert, ist sehr hitzeempfindlich, da es schon durch kurzfristige Erhitzung (Aufkochen) auf 100° inaktiviert wird. Langdauernde Dialyse setzt die Wirksamkeit des Giftes nur wenig herab (Tabelle 4).

Tabelle 4.

Dialyseversuch mit Aspisgift.

Frisches Aspisgift 1 mg, Dialyse gegen Phosphatpuffer, Leucin 10<sup>-5</sup> Mol, Gesamtvolumen 2,5 cm<sup>3</sup>.

Alter der Giftlösung Std.	Behandlung der Giftlösung	Q <sub>O<sub>2</sub></sub>
24	nicht dialysiert	630
48	nicht dialysiert	630
	dialysiert	580
72	nicht dialysiert	610
	dialysiert	550

Der Abbau der *l*-Aminosäure ist von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig. Das Optimum ist ziemlich flach und liegt etwas oberhalb des Neutralpunktes. Unterhalb p<sub>H</sub> 6 und oberhalb p<sub>H</sub> 8 erfolgt ein rascher Abfall der Aktivität (Tabelle 5).

Tabelle 5.

p<sub>H</sub>-Abhängigkeit der Leucin-Oxydation.

Frisches Aspisgift 1 mg, Leucin 10<sup>-5</sup> Mol, Gesamtvolumen 2,5 cm<sup>3</sup>. Einstellung des p<sub>H</sub> durch m/15 Phosphatpuffer.

p <sub>H</sub>	Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	p <sub>H</sub>	Q <sub>O<sub>2</sub></sub>
4,5	0	7,2	540
5,3	60	7,6	486
6,2	288	8,3	36
6,8	462		

Obwohl eine Fermentreaktion nie eine Reaktion erster Ordnung sein kann, entspricht die Kurve ihres Reaktionsverlaufes häufig der einer solchen<sup>1)2)</sup>. Das gilt auch für die *l*-Aminosäure-oxydase des

<sup>1)</sup> D. van Slyke, *Advances in Enzymology, The Kinetics of Hydrolytic Enzymes and Their Bearing on Methods for Measuring Enzyme Activity*, 2, 33 (1943).

<sup>2)</sup> E. A. Zeller, B. Schär und S. Staehlin, *Helv.* 22, 837 (1939).



Schlangengifts, sofern die Reaktion in Gegenwart von Katalase sich abspielt (Gleichung II). In diesem Falle bestünde somit die Möglichkeit, den Abbau durch die Konstante der monomolekularen Reaktion zu charakterisieren.

Tabelle 6.

Verlauf der durch Aspisgift katalysierten Leucinoxydation.

Frisches Aspisgift 1 mg, Leucin  $10^{-5}$  Mol, 0,1 cm<sup>3</sup> Erythrocyten, Gesamtvolumen 2,5 cm<sup>3</sup>.

Zeit	mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	$c = \frac{1}{t} \cdot \lg \frac{a}{a-x}$
10	35	0,0162
20	68	0,0203
30	85	0,0206
40	97	0,0219
50	102	0,0210
60	107	0,0225
90	111	0,0228

Die Abbaugeschwindigkeit der *l*-Aminosäure ist von der Substratkonzentration abhängig und steigt mit zunehmender Konzentration an, bis sie nach Überschreiten einer optimalen Konzentration deutlich wieder abfällt (Fig. 3). Diese Erscheinung einer optimalen Substratkonzentration wurde bisher mit *l*-Leucin, *l*-Phenylalanin, *l*-Tryptophan und *l*-Histidin festgestellt.

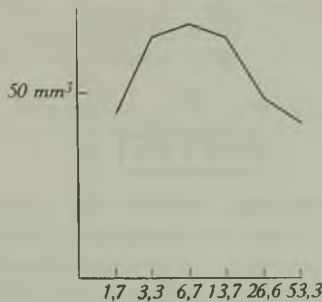


Fig. 3.

Substratkonzentration und Oxydationsgeschwindigkeit.

Frisches Aspisgift 0,5 mg, Gesamtvolumen 3 cm<sup>3</sup>, Abszisse: Leucinkonzentration in milli-Mol, Ordinate: mm<sup>3</sup>, Sauerstoffverbrauch nach 20 Minuten.

Das Auftreten eines Substratoptimums lässt auf eine doppelte Bindung zwischen Ferment und Substrat, wie beispielsweise bei der Diamin-oxydase<sup>1)</sup> und bei der *l*-Cholinesterase<sup>2)</sup>, schliessen. Das Modell für die Enzym-Substratbindung der *l*-Aminosäure-oxydase ist somit das gleiche wie für die beiden erwähnten Fermente, das in den angegebenen Publikationen zur Darstellung gelangte und deshalb hier nicht noch einmal angeführt wird.

<sup>1)</sup> E. A. Zeller, Helv. 23, 1418 (1940).

<sup>2)</sup> E. A. Zeller und A. Bissegger, Helv. 26, 1619 (1943).

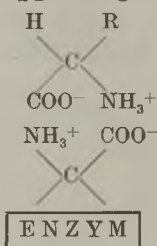
### 3. Inhibitoren des *l*-Aminosäuren-Abbaues.

Zur weiteren Charakterisierung des enzymatischen Abbaues der *l*-Aminosäuren durch Schlangengifte wurde dieser mit mehreren der üblichen Fermentinhibitoren geprüft. Von den negativen Ergebnissen seien nur die mit Kaliumcyanid und Semicarbazid angeführt. Das erstere bewirkte auch bei einer 0,01-m. Konzentration keine Hemmung der Oxydation und Desaminierung von Leucin. Es wurde bei diesen Versuchen nicht die gewöhnliche Lauge zur Absorption von Kohlendioxyd in den Manometergefäßen verwendet, sondern die *Krebs*'schen Cyanid-Lauge-Mischungen, die den gleichen Blausäure-Dampfdruck wie die Versuchslösung aufweisen<sup>1)</sup>). Auch 0,033-m. Semicarbazid beeinflusste die Oxydation nicht (Leucin) oder nur in sehr geringem Ausmasse (Phenylalanin). Durch den negativen Ausfall dieser beiden Hemmungsreaktionen unterscheidet sich das neue Ferment sehr wesentlich von der Diamin-oxydase, der es sonst in vieler Hinsicht sehr ähnlich ist<sup>2)</sup>.

Die Affinität der *d*-Aminosäuren zu dem Ferment ist so klein, dass keine Hemmung des Abbaues der *l*-Aminosäure durch Zusatz von *d*-Aminosäuren eintritt. Es kann somit hier nicht wie beim Histidinabbau von einer „antipodischen“ Hemmung<sup>4)</sup> gesprochen werden.

#### Hemmung durch aromatische Sulfosäuren.

Aus den Versuchen über das Substratoptimum wurde geschlossen, dass zwischen Ferment und Substrat eine doppelte Bindung eingegangen wird. Die nächstliegende Annahme ist die einer salzartigen Verbindung der beiden geladenen Gruppen des Substrates mit einer  $\alpha$ -Aminosäure-Gruppierung des Enzyms.



Wenn diese Anschauung richtig ist, dann müsste die  $\text{NH}_3^+$ -Gruppe des Enzyms durch aromatische Sulfosäuren, die mit der Aminogruppe von Aminosäuren schwerlösliche Salze geben<sup>5)</sup>, blockiert und das Substrat müsste vom Ferment verdrängt werden. Das ist tatsächlich der Fall. Mit einer grösseren Zahl von solchen Sulfosäuren wurden ausnahmslos Hemmungen sehr verschiedenen Grades erzielt. So verminderte 4-Nitrodiphenylamin-sulfosäure den Leucinabbau noch in einer Konzentration von  $7 \times 10^{-5}$ -m. zu 21%. Eine kleine Auswahl der untersuchten Sulfosäuren ist in der Tabelle 7 vereinigt.

<sup>1)</sup> H. A. Krebs, Biochem. J. **29**, 1620 (1935).

<sup>2)</sup> E. A. Zeller, Helv. **21**, 880 (1938).

<sup>3)</sup> E. A. Zeller, Diamin-Oxidase, Advances in Enzymology **2**, 93 (1942).

<sup>4)</sup> S. Edlbacher und H. Baur, Z. physiol. Ch. **270**, 176 (1941).

<sup>5)</sup> D. G. Doherty, W. H. Stein und M. Bergmann, J. Biol. Chem. **135**, 487 (1940).



Tabelle 9.

Enzymatischer Abbau von *l*-Aminosäuren durch Aspisgift.

Trockenes Gift 0,25 mg, Gesamtvolumen 2,5—3 cm<sup>3</sup>. Neben Q<sub>O</sub> ist der gesamte Sauerstoffverbrauch (nach 3 und mehr Stunden) und die am Schluss der Versuche gebildete Ammoniakmenge angegeben, die letztere in Prozenten des Gesamt-Amino-Stickstoffes. Die Zahlen stammen nicht aus einer einzigen Versuchsserie, so dass die Zahlenwerte nur angenähert das gegenseitige Verhältnis der Oxydationsgeschwindigkeit wiedergeben.

Substrat	Konzentration	Q <sub>O</sub> .	Gesamtverbrauch an Sauerstoffatomen	NH <sub>3</sub> -Bildung in % des NH <sub>2</sub> -N
<i>l</i> -Alanin . . . . .	10 × 10 <sup>-5</sup> Mol	30	0,94 × 10 <sup>-5</sup>	7%
<i>l</i> -Valin . . . . .	1 × 10 <sup>-5</sup>	71	0,79	40%
<i>l</i> -Isoleucin . . . . .	10 <sup>-5</sup>	162	1,58	76%
<i>l</i> -Leucin . . . . .	10 <sup>-5</sup>	612	1,76	94%
<i>l</i> -Cystein . . . . .	10 <sup>-5</sup>	68	1,19	54%
<i>l</i> -Cystein ohne Gift . .	10 <sup>-5</sup>	46	0,42	14%
<i>l</i> -Cystin . . . . .	10 <sup>-5</sup>	42	1,02	64%
<i>l</i> -Methionin . . . . .	10 <sup>-5</sup>	390	1,88	85%
<i>l</i> -Arginin . . . . .	10 <sup>-5</sup>	26	0,82	52%
<i>l</i> -Phenylalanin . . . . .	10 <sup>-5</sup>	780	1,92	100%
<i>l</i> -Tyrosin . . . . .	10 <sup>-5</sup>	402	1,51	79%
<i>l</i> -Nitrotyrosin . . . . .	2 × 10 <sup>-5</sup>	129	2,71	47%
<i>l</i> -Dijodtyrosin . . . . .	1 × 10 <sup>-5</sup>	135	1,84	60%
<i>l</i> -Dibromtyrosin . . . . .	10 <sup>-5</sup>	216	2,46	85%
<i>l</i> -Dioxyphenylalanin . .	10 <sup>-5</sup>	294	2,02	84%
<i>l</i> -Dioxyphen. ohne Gift.	10 <sup>-5</sup>	0	1,87	18%
<i>l</i> -Histidin . . . . .	4 × 10 <sup>-5</sup>	78	0,71	19%
<i>l</i> -Tryptophan . . . . .	1 × 10 <sup>-5</sup>	540	1,97	94%

Bisher konnte eine Oxydation oder Desaminierung folgender Aminosäuren und Derivate nicht gefunden werden: *l*-Ornithin, *l*-Lysin, *l*-Prolin, *l*-Oxyprolin, *l*-Glutaminsäure, *l*-Asparaginsäure, *l*-Asparagin, *d, l*-Serin, *d, l*-Thyroxin, Glykokoll, Sarkosin, Hippursäure,  $\beta$ -Alanin, Kynurensäure, Glycyl-*l*-leucin, Glycyl-*l*-tyrosin, *l*-Leucyl-glycin und Glycyl-glycin.

Bei solchen Untersuchungen über die Spezifität scheint es sehr wichtig zu sein, bei negativem Ausfall einer Reaktion diese mit verschiedenen Substratkonzentrationen zu wiederholen. So konnte zuerst bei *l*-Alanin in den üblichen Versuchsansätzen kein Abbau festgestellt werden. Als aber die Konzentration gesteigert wurde, trat eine deutliche Oxydation und Desaminierung ein. Die Abbaugeschwindigkeit nimmt in der Reihe der aliphatischen Aminosäuren mit kürzer werdenden Kettenlängen sehr stark ab (vgl. Tabelle 9). Wir untersuchten deshalb die wichtigsten, durch Schlangengift nicht oxydierbaren Aminosäuren; Glykokoll, *l*-Ornithin, *l*-Lysin, *l*-Asparagin über einen grösseren Konzentrationsbereich von 0,8 × 10<sup>-3</sup>-m. bis 33 × 10<sup>-3</sup>, *l*-Oxyprolin über den Bereich von 0,7 × 10<sup>-3</sup>-m. bis 5,3 × 10<sup>-3</sup>-m., ohne eine Reaktion erzwingen zu können. Beim *l*-Prolin wurde das p<sub>H</sub> zwischen 6,6 und 7,8 variiert. Die Versuche mit *l*-Alanin wurden mit einem aus Wasser umkrystallisierten Produkt durchgeführt.

Eine Sonderstellung nehmen *l*-Histidin und *l*-Arginin ein, die beiden einzigen oxydierbaren Aminosäuren, die keine Monoamino-monocarbonsäuren sind. Die Oxydation tritt nur sehr langsam nach einer Inkubationsperiode auf. *l*-Histidin wurde zur Reinigung mit 2,5-Dichlorbenzol-sulfosäure gefällt und mit Pyridin wieder zerlegt<sup>1)</sup>. Eine Änderung

<sup>1)</sup> D. G. Doherty c. s., l. c.

des Verhaltens gegenüber dem Schlangengift war nicht feststellbar. Diese beiden Substrate besitzen trotz ihrer geringen Oxydationsgeschwindigkeit eine messbare Affinität zur Aminosäure-oxydase, die dann zutage tritt, wenn die Aminosäuren einem Ansatz, der Leucin oxydativ desaminiert, zugesetzt werden. *l*-Arginin verminderte die Geschwindigkeit der Leucinoxydation um 18%, *l*-Histidin um 33%. Da *d*-Histidin über den Konzentrationsbereich von  $0,8 \times 10^{-3}$ -m. bis  $33 \times 10^{-3}$  nicht die geringste Oxydier- und Desaminierbarkeit aufwies, kann der Abbau von *l*-Histidin nicht auf einer unspezifischen Reaktion beruhen.

Die Spezifität lässt sich zusammenfassend durch den Ausschluss der Monoamino-dicarbonensäuren, der reinen Diamino-monocarbonensäuren, der Aminosäuren mit substituierter  $\text{NH}_2$ -Gruppe und der Aminosäuren mit nicht  $\alpha$ -ständiger Aminogruppe festlegen. Es werden die *l*-Formen sämtlicher untersuchten optisch aktiven Monoamino-monocarbonensäuren und die beiden zweibasischen Aminosäuren *l*-Histidin und *l*-Arginin angegriffen.

### Optische Spezifität.

Eine oxydative Desaminierung von *d*-Leucin, *d*-Histidin (vgl. voranstehender Abschnitt), *d*-Phenylalanin und *d*-Valin konnte nie nachgewiesen werden, auch wenn die Substratkonzentration sehr hoch gewählt wurde. Die Affinität dieser *d*-Formen zum Ferment ist so gering, dass sie sich nicht nachweisen liess, sogar als die zehnfache Menge zu der entsprechenden *l*-Form zugesetzt wurde. Die Abbau-geschwindigkeit konnte selbst durch diesen Überschuss an *d*-Form nicht beeinflusst werden.

Bei einem Handelspräparat von *d*-Leucin wurde zunächst ein Abbau gefunden. Durch eine ähnliche Umfällung, wie sie beim Histidin beschrieben wurde, erhielten wir ein Produkt, das vom Schlangengift nicht mehr angegriffen wurde. Nach der Grösse des Ausschlages waren 2% einer *l*-Form in der ursprünglichen Aminosäure enthalten. Der Nachweis einer so kleinen Menge an *l*-Aminosäure in der *d*-Aminosäure ist nur möglich, weil die letztere, wie erwähnt, eine äusserst geringe Affinität zum Ferment aufweist. Diese Eigenschaft der *l*-Aminosäure-oxydase des Schlangengifts macht diese möglicherweise zu einem geeigneten Agens, die optische Reinheit von Aminosäuren, die aus Naturprodukten isoliert wurden, zu prüfen.

### 5. Einheitlichkeit der *l*-Aminosäure-oxydase.

In Anbetracht der grossen Zahl der Substrate der *l*-Aminosäure-oxydase des Schlangengifts musste die Frage der Einheitlichkeit dieses Fermentes gründlich geprüft werden, auch wenn, wie in der vorliegenden Arbeit, in Hunderten von Ansätzen, in denen das Substrat immer wieder variiert wurde, kein einziges Resultat erhalten werden konnte, das für die Vielheit des Enzyms spräche. Es wurde daher eine grössere Zahl von Konkurrenzversuchen angestellt, in

denen zwei Substrate für sich allein und, in einem parallel laufenden Ansatz, miteinander dem Substrat beigesetzt wurden. In allen Fällen trat eine deutliche Konkurrenz zutage (Tabelle 10).

Tabelle 10.

Konkurrenzversuche mit verschiedenen Substraten.

Alle Versuche wurden mit Aspisgift durchgeführt, mit Ausnahme von \*\*, das mit Kobragift zur Reaktion kam.

Ver- suchs- dauer	Substrat 1		Substrat 2		Q <sub>O<sub>2</sub></sub> <sup>1</sup>	Q <sub>O<sub>2</sub></sub> <sup>2</sup>	Q <sub>O<sub>2</sub></sub> <sup>1,2</sup>
10'	<i>l</i> -Leucin	10 <sup>-5</sup> Mol	<i>l</i> -Phenylalanin	10 <sup>-5</sup> Mol	420	342	162
10'	<i>l</i> -Tryptophan	10 <sup>-5</sup> Mol	<i>l</i> -Phenylalanin	10 <sup>-5</sup> Mol	504	348	324
60'	<i>l</i> -Leucin*	4 × 10 <sup>-5</sup> Mol	<i>l</i> -Tyrosin	10 <sup>-5</sup> Mol	140	144	126
10'	<i>l</i> -Leucin	10 <sup>-5</sup> Mol	<i>l</i> -Tryptophan	2,5 × 10 <sup>-5</sup> Mol	1776	1728	1728
60'	<i>l</i> -Leucin	10 <sup>-5</sup> Mol	<i>l</i> -Cystein	10 <sup>-5</sup> Mol	376	36	312
20'	<i>l</i> -Isoleucin	10 <sup>-5</sup> Mol	<i>l</i> -Methionin	10 <sup>-5</sup> Mol	96	324	330
20'	<i>l</i> -Isoleucin	10 <sup>-5</sup> Mol	<i>l</i> -Tyrosin		96	288	330
20'	<i>l</i> -Methionin	10 <sup>-5</sup> Mol	<i>l</i> -Tyrosin		324	288	342
10'	<i>l</i> -Tryptophan**	2 × 10 <sup>-5</sup> Mol	<i>l</i> -Tyrosin	0,25 × 10 <sup>-5</sup> Mol	2110	960	1320

\* Dieser Versuch verlief in Gegenwart von Erythrocyten.

Konkurrenzversuche werden allgemein als zuverlässiges Hilfsmittel betrachtet, um die Frage der Einheitlichkeit oder Verschiedenheit einer Fermentreaktion zu klären. Doch besitzen sie keine absolute Beweiskraft, weil Konkurrenzerscheinungen zwischen zwei Systemen denkbar sind, die ja aus mehreren miteinander verkoppelten Fermenten zusammengesetzt sind, von denen eines oder mehrere Teilfermente beiden Fermentketten gemeinsam sind. Gerade beim Abbau der *l*-Aminosäuren im tierischen Organismus kommen solche Koppelungen häufig vor<sup>1)</sup>.

Um diese noch bestehende Unsicherheit zu beseitigen, zogen wir die oben angeführte Eigenschaft der Fermentreaktion heran, durch überoptimale Substratkonzentration gehemmt zu werden. Es wurden zwei Substrate, von denen jedes für sich allein in den Vergleichsansätzen schon in der optimalen oder etwas überoptimalen Konzentration vorlag, gemeinsam der Giftlösung zugesetzt, wodurch also im ganzen die optimale Konzentration wesentlich überschritten würde, sofern es sich um ein und dasselbe Ferment handelte. Tatsächlich war die resultierende Reaktionsgeschwindigkeit kleiner als in jedem der beiden Ansätze, die nur ein einziges Substrat enthielten. (Tabelle 10, erste drei Versuche.) Nach dem Stande der heutigen Kenntnisse lassen sich diese Versuche wohl nur durch den Abbau der verschiedenen *l*-Aminosäuren durch ein und dasselbe Ferment erklären.

<sup>1)</sup> S. Edlbacher und H. Grauer, Helv. 27, 928 (1944).

Da es sich bei der in dieser Arbeit beschriebenen *l*-Aminosäure-oxydase um ein wohl charakterisiertes Ferment handelt, das in fünf verschiedenen Schlangengiften mit Sicherheit nachgewiesen wurde, wird für diese, aus Gründen der Vereinfachung, die vorläufige Bezeichnung *Ophio-l*-aminosäure-oxydase vorgeschlagen.

### Experimentelles.

Die meisten der hier verwendeten Methoden wurden schon in früheren Arbeiten über die Diamin-oxydase<sup>1)</sup> und über eine chemische Schwangerschaftsbestimmung<sup>2)</sup> beschrieben, so dass hier einige kurze Hinweise genügen.

Das frisch gewonnene Viperngift wurde in den früheren Versuchen sogleich in Phosphatpuffer aufgelöst, während es später zuerst im Exsikkator in der Kälte getrocknet wurde. Es löst sich in Wasser und Phosphatpuffer vollkommen klar auf. In den meisten Fällen war nicht einmal eine Dialyse notwendig, da die Sauerstoff- und Ammoniakleerwerte äusserst gering waren. Diese wurden in allen Fällen von den Ergebnissen der Hauptversuche subtrahiert. Die Reaktion wurde immer in einem Phosphatpuffer von  $p_H$  7.2 durchgeführt, sofern nicht andere Wasserstoffionenkonzentrationen angegeben werden.

Die Sauerstoff- und Kohlendioxydmessung geschah in üblicher Weise im Warburg-Apparat, die Ammoniakbestimmung genau nach der Vorschrift von Conway<sup>3)</sup>. Die dazu verwendete Horizontalbürette wurde etwas abgeändert, insbesondere durch das Anbringen eines Schlifves in dem zum Vorratsgefäss führenden Glasrohr, wodurch die Handlichkeit des Apparates verbessert wurde.

Als Katalasequelle benützten wir Erythrocyten von Mensch und Ratte. Das defibrinierte Blut wurde zentrifugiert und die Erythrocyten dreimal auf der Zentrifuge mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Sie wurden dann mit der Wassermenge hämolytisiert, die dem ursprünglichen Blutvolumen entsprach. Die weiteren Verdünnungen wurden mit Phosphatpuffer ausgeführt. Alle Angaben beziehen sich auf das ursprüngliche Blutvolumen. Sämtliche Konzentrationsangaben beziehen sich auf das Gesamtvolumen.

### Zusammenfassung.

1. Es wird ein neues, im Wasser leicht lösliches Ferment im Gift von *Vipera aspis* beschrieben, das alle untersuchten *l*-Formen der optisch aktiven Monoamino-monocarbonsäuren mit freier Aminogruppe mit Ausnahme von *d, l*-Serin und die Diamino-monocarbonsäuren *l*-Histidin und *l*-Arginin oxydativ desaminiert.

2. Zur Ablösung von einem Mol Ammoniak ist 1 Atom Sauerstoff notwendig. Es entstehen weiterhin bei der Abbaureaktion Ketonensäuren und Kohlendioxyd.

3. Bei Gegenwart von Katalase wird die Sauerstoffproduktion auf die Hälfte herabgesetzt und die Kohlendioxydbildung verhindert.

4. Durch Variation der Wasserstoffionen- und der Substratkonzentration werden ausgeprägte Reaktionsoptima erhalten.

5. Mehrere aromatische Sulfosäuren üben auf den *l*-Aminosäureabbau eine starke hemmende Wirkung aus.

<sup>1)</sup> E. A. Zeller, *Helv.* **24**, 539 (1941): 10. Mitteilung über den enzymatischen Abbau von Polyaminen.

<sup>2)</sup> E. A. Zeller, *Schweiz. med. Wschr.* **71**, 1349 (1941): 4. Mitteilung zur Methodik der fermentchemischen Schwangerschaftsbeurteilung und -diagnose.

<sup>3)</sup> E. J. Conway, *Micro-Diffusion Analysis and Volumetric Error*, New York 1940.

6. Durch Kombination des Konkurrenzversuchs mit der überoptimalen Substratkonzentration wird die Untersuchung der Frage der einfachen oder multiplen Fermentnatur verfeinert und auf das vorliegende Ferment, für das die Bezeichnung *Ophio-l-amino-säureoxydase* vorgeschlagen wird, angewandt.

Aktiengesellschaft *Aligena*,  
Wissenschaftliche Laboratorien Basel.

---

## Protokoll

der Generalversammlung der Schweiz. Chemischen Gesellschaft  
am 3. September 1944, im Hotel Margna in Sils-Baselgia.

---

Eröffnung der Sitzung durch den Vizepräsidenten Herrn Prof. Dr. *H. Goldstein* um  
8.20 Uhr.

### A. Geschäftlicher Teil.

#### Traktanden:

1. Protokoll der Sitzung vom 26. Februar 1944 in Bern. Das in den „*Helvetica Chimica Acta*“ [27, 811—813 (1944)] publizierte Protokoll wird genehmigt.

2. Festsetzung des Ortes für die Winterversammlung 1945. Als Ort für die Winterversammlung wird vom Vorstand Bern vorgeschlagen und von der Generalversammlung angenommen. Als Datum kommt der 25. Februar oder der 4. März in Frage.

3. Festsetzung der Mitgliederbeiträge und des Abonnementspreises der „*Helvetica Chimica Acta*“ für 1945. Der Vorschlag des Vorstandes lautet auf Beibehaltung der Beiträge und des Abonnementspreises von 1944. Er wird von der Generalversammlung angenommen.

4. Bericht des Präsidenten des Redaktionskomitees. Herr Prof. *Fichter* berichtet kurz über die letzte Entwicklung der „*Helvetica Chimica Acta*“. Die Schwierigkeiten für die Redaktion bestehen nach wie vor darin, dass aus finanziellen Gründen ein allzu starkes Anschwellen der Zeitschrift verhindert werden muss, während andererseits das Niveau auf keinen Fall gedrückt werden darf. Nach dem Kriege wird die Abonnentenzahl sicher beträchtlich ansteigen, was diese Schwierigkeit weitgehend beheben dürfte.

5. Mitteilungen des Präsidenten des „*Conseil de la Chimie Suisse*“. Herr Prof. *E. Briner* berichtet, dass die Arbeit in den internationalen Kommissionen und damit auch die vermittelnde Tätigkeit des „*Conseil*“ zur Zeit wegen des Krieges auf ein Minimum beschränkt ist. Sobald es die Weltlage erlaubt, wird der „*Conseil de la Chimie Suisse*“ seine Dienste wieder zur Verfügung stellen.

6. Allfälliges. Nichts.

Schluss der Geschäftssitzung 8.30 Uhr.

### B. Wissenschaftlicher Teil.

Von 7 angemeldeten Referenten waren 4 am Erscheinen verhindert. In dankenswerter Weise konnte noch Herr Prof. *Ruzicka* in letzter Minute mit einer Mitteilung einspringen.



1. *K. Huber* (Bern): Über die Farbe anodisch erzeugter Zinkoxyddeckschichten.
2. *K. Miescher* (Basel): Konstitution und Totalsynthese hochwirksamer Abkömmlinge östrogenen Hormone.
3. *E. Jaag* (Biel): Die quantitative Bestimmung der Wasch- und Bleichkraft von Waschmitteln.
4. *L. Ruzicka* (Zürich): Zur Stereochemie des Veilchenalkohols und des Veilchenaldehyds.

Schluss der Sitzung ca. 11.00 Uhr.

Der Vizepräsident:

sig. *H. Goldstein*.

Der Sekretär:

sig. *H. Nitschmann*.

Bern, den 3. September 1944.

## Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie.

### Art und Umschreibung der Stipendien.

Die Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie mit Sitz in Basel bezweckt die Vertiefung der wissenschaftlichen Ausbildung junger, besonders tüchtiger Hochschulabsolventen, welche das Doktorexamen bestanden haben, sowie die wirtschaftliche Unterstützung von Forschern, welche sich der akademischen Laufbahn widmen wollen, auf dem Gebiete der physikalischen, anorganischen, organischen, analytischen und biologischen Chemie. Die Stipendiaten sollen die Möglichkeit erhalten, unabhängig von wirtschaftlichen Bedingungen ihre Ausbildung zu vervollkommen.

Zu diesem Zweck vergibt die Stiftung an Chemiker, welche sich nach abgeschlossener Hochschulbildung und Erwerbung des Doktorgrades weiterer wissenschaftlicher Arbeit im In- oder Ausland auf den Gebieten der physikalischen, anorganischen, organischen, analytischen oder biologischen Chemie widmen wollen, ein- oder mehrjährige Stipendien. Diese dienen zur Bestreitung des Lebensunterhaltes und allfälliger Reisekosten sowie zur ganzen oder teilweisen Kostendeckung von Versuchen und Publikationen.

Ein Jahresstipendium beträgt in der Regel Fr. 6000.— und wird dem Stipendiaten in Monatsraten zur Verfügung gestellt. Je nach den Kosten für Lebenshaltung, Reisen und Versuche liegt es im Ermessen des Vorstandes, die jährliche Stipendiumsumme zu erhöhen oder zu erniedrigen. Dabei sind allfällige andere Einnahmen und die Familienverhältnisse des Stipendiaten angemessen zu berücksichtigen.

Nach Ablauf des Stipendiums ist der Stipendiat völlig frei in der Wahl seiner beruflichen Betätigung.

### Bewerbung.

Die Bewerbung um ein Stipendium erfolgt durch Vorschlag seitens zweier Paten. Direkte Gesuche von Bewerbern werden nicht entgegengenommen.

Paten können sein: Professoren und Dozenten der naturwissenschaftlichen Fakultäten der Universitäten Basel, Bern, Fribourg, Genève, Lausanne, Neuchâtel und Zürich, der entsprechenden Abteilungen der E.T.H. und die Mitglieder des Stiftungsrates.

Es können nur Stipendiaten in Vorschlag gebracht werden, die nachstehende Bedingungen erfüllen:

- a) Schweizerbürger
- b) abgeschlossenes Chemie- oder Pharmaziestudium
- c) bestandenenes Doktorexamen
- d) Unabhängigkeit von der Privatindustrie.

Die Paten richten ihre Vorschläge an den Präsidenten des Stiftungsrates unter Beilage

1. von zwei ausführlichen Gutachten
2. der erforderlichen Studiaausweise
3. eines Lebenslaufes
4. eines Leumundzeugnisses
5. einer Erklärung des Kandidaten, dass er keinerlei Bindungen zur Privatindustrie besitzt und sich verpflichtet, für die Dauer des Stipendiums keine solchen einzugehen.

Die Bewertung der Qualitäten des Kandidaten hinsichtlich Eignung zu wissenschaftlicher Arbeit, Gesinnung und Würdigkeit ist Sache der beiden Paten. Sie übernehmen in dieser Beziehung der Stiftung gegenüber die Verantwortung.

Bei der Einreichung der Bewerbung bezeichnet sich einer der Paten als erster Pate. Er reicht einen Arbeitsplan für den Stipendiaten ein, aus welchem das erstrebte Ziel und die Verwendung des Stipendiums klar hervorgehen müssen.

#### Leitung der Arbeit des Stipendiaten.

Der Vorstand entscheidet nach vorgenommener Prüfung der Gesuche über Höhe und Dauer der Stipendien sowie allfällig an ihre Erteilung geknüpfte Bedingungen. Er kann auch eine Auswahl geeigneter Kandidaten durch Prüfung oder Wettbewerb treffen.

Der erste Pate übernimmt für die Dauer des Stipendiums die Aufsicht über die Tätigkeit seines Stipendiaten. Sofern dieser nicht unter seiner direkten Leitung arbeitet, hält sich der Pate durch regelmässige Berichterstattung über den Fortgang der Arbeit auf dem laufenden.

Der Stipendiat ist ausserdem verpflichtet, durch Vermittlung seines ersten Paten dem Stiftungsrat alle sechs Monate einen ausführlichen Bericht über seine Tätigkeit einzureichen.

#### Ausbildungsorte.

Als Ausbildungsorte sind zugelassen:

- a) alle Hochschullaboratorien und -institute des In- und Auslandes, an denen wissenschaftlich-chemisch gearbeitet wird;
- b) weitere wissenschaftliche Laboratorien oder Institute des In- und Auslandes, die zur Erfüllung des genehmigten Arbeitsplanes geeignet sind.

Unter Umständen können auch Stipendien für bestimmte Forschungen ausserhalb wissenschaftlicher Institutionen gewährt werden.

#### Einreichungstermine für Bewerbungen.

Bewerbungen sind bis 31. Dezember oder 30. Juni einzureichen. Die Stipendien beginnen 3 Monate später, d. h. ab 1. April oder 1. Oktober.

Massgebend für die Durchführung der Stipendienerteilung ist das Reglement der Stiftung. Es kann vom Sekretariat der Schweizerischen Gesellschaft für Chemische Industrie, Bern, Theodor-Kochergasse 4, gegen Einsendung von Fr. 1.— bezogen werden.

Zusammensetzung des Vorstandes:

Präsident:	Prof. Dr. <i>P. Karrer</i> , Zürich
Vizepräsident:	Prof. Dr. <i>A. Guyer</i> , Zürich
Schatzmeister:	Dir. Dr. <i>R. C. Vetter</i> , Basel
	Prof. Dr. <i>E. Briner</i> , Genève
	Prof. Dr. <i>P. Casparis</i> , Bern
	Prof. Dr. <i>H. de Diesbach</i> , Fribourg
	Prof. Dr. <i>W. Kuhn</i> , Basel
	Dir. Dr. <i>H. Leemann</i> , Basel
	Dir. <i>E. Schenker</i> , Basel
	Dir. Dr. <i>R. Tobler</i> , Basel
	<i>vacat</i>

Basel, im November 1944.

# HELVETICA CHIMICA ACTA

## VOLUMEN XXVII

MCMXLIV

### AUTORENREGISTER — TABLE DES AUTEURS TAVOLA DEGLI AUTORI

- ABELIN, I., Zur Kenntnis des Cholesterinstoffwechsels der Nebenniere und dessen Beeinflussung durch das Schilddrüsenhormon, 293.
- AHL, A., und REICHSTEIN, T., Partieller Hofmann'scher Abbau des Emetins sowie seine Dehydrierung zu Emetamin, 366.
- ALMASY, F., Über Ionenkonzentrationsgradienten und ihre biochemische Bedeutung. IV. Mitteilung. 1590.
- BACHMANN, P., v. NAVES, Y. R.
- BALOG, PAUL, s. PAULI, WOLFGANG.
- BARBLAN, F., BRANDENBERGER, E., und NIGGLI, P., Geregelte und ungeregelte Strukturen von Titanaten und Ferriten und geregelte Umwandlungen der  $TiO_2$ -Modifikationen, 88.
- BARTUSCH, GERD, s. RUGGLI, PAUL.
- BERNFELD, P., DE TRAZ, CL., et GAUTIER, CH., Recherches sur l'amidon. XXVII. Prescription pour la préparation de glucose-1-phosphate, 843.
- BERNHARD, KARL, und STEINHAUSER, HEIDI, Fettstoffwechsel-Untersuchungen mit Deuterium als Indikator. III. Lipidsynthese bei Inanition, 207.
- BERNHARD, KARL, STEINHAUSER, HEIDI, und MATTHEY, A., Fettstoffwechsel-Untersuchungen mit Deuterium als Indikator. IV. Fettbildung aus Eiweiss bei Albino-Ratten, 1134.
- BERNOULLI, PETER, und BLOCH, HUBERT, Über den Esterase-Gehalt verschiedener Pneumokokken-Typen, 362.
- BESSO, Z., v. WENGER, PAUL-E.
- BEYERMANN, H. C., s. PRELOG, V.
- BISCHOFF, G., WEBER, O., und ERLLENMEYER, H., Strukturchemische Untersuchungen XI. Zur Kenntnis des reaktiven Verhaltens von Di-thio-amiden gegenüber Tribrom-triacetyl-benzol, 947.
- BISCHOFF, G., s. ERLLENMEYER, H.
- BLANK, F., s. HARDEGGER, E.
- BLOCH, HUBERT, ERLLENMEYER, H., und FURGER, H. P., Über den Stoffwechsel von Tuberkelbazillen. 1. Mitteilung. Wachstumsversuche mit synthetischem Glycerin, 414.
- BLOCH, HUBERT, s. BERNOULLI, PETER.
- BOER, A. G., s. RUZICKA, L.
- BOISSONNAS, CH. G., Le calcul des équilibres chimiques et ses progrès récents; Errata 1016.
- BOISSONNAS, CH. G., et CRUCHAUD, MAX, Influence de la température sur la chaleur de formation des mélanges. Système tétrachlorure de carbone-benzène, 994.
- BOSSARDT, ALFRED, A., s. ERLLENMEYER, H.
- BOSSHARD, WERNER, Über invertseifenartige Desinfektionsmittel aus der Reihe des 8-Oxychinolins und des 1-Oxynaphthalins, 1736.
- BRANDENBERGER, E., s. BARBLAN, F.
- BRANDT, FRITZ, s. RUGGLI, PAUL.
- BRAUCHLI, H., s. PRELOG, V.
- BRINER, E., et KNODEL, CH., Sur la décomposition thermique du sulfate de calcium en présence de vapeur d'eau, 1406.
- BRÜLL, J., s. v. HALBAN, H.
- BUCHER, H., s. PLATTNER, PL. A.
- BUCHMANN, P., s. ERLLENMEYER, H.
- BÜCHLER, W., s. ERLLENMEYER, H.

- BURKHARDT, G., s. FLATT, R.  
 CAMERINO, B., s. KARRER, P.  
 CHARDONNENS, LOUIS, et HEINRICH, PETER, Sur l'aptitude réactionnelle du groupement méthylique VIII. Formations d'anilides par l'action des nitroso-dérivés sur des composés à groupement méthylique actif, 321.  
 CHODAT, FERNAND, et DUPARC, GERMAINE, Action de la sulfo-urée sur les polyphénol-oxydases. Son effet sur le noircissement et la respiration des pommes de terre, 334.  
 CHRISTOFFEL, C., s. KARRER, P.  
 CRUCHAUD, MAX, v. BOISSONNAS, CH. G.  
 CUENIN, HANS, s. RUGGLI, PAUL.  
 DAHN, HANS, s. RUGGLI, PAUL.  
 DHÉRÉ, CHARLES, A propos de l'électro-dialyse, 1079.  
 DRUEY, J., Sulfathiazole soluble à réaction neutre, 1776.  
 DUCKERT, ROGER, v. WENGER, PAUL.  
 DUPARC, GERMAINE, v. CHODAT, FERNAND.  
 EDLBACHER, S., und GRAUER, H., Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus. I. *l*-Alanin, 151.  
 EDLBACHER, S., und GRAUER, H., Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus. II. Über die Spezifität der „*l*-Aminosäure-oxydase“, 928.  
 EDLBACHER, S., und WISS, O., Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus. 3. Über den oxydativen Abbau der Aminosäuren im Gehirn, 1060.  
 EDLBACHER, S., und WISS, O., Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus. 4. Über den oxydativen Abbau der Aminosäuren im Gehirn, 1824.  
 EDLBACHER, S., und WISS, O., Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus. 5. Die antipodische Hemmung des Aminosäure-Abbaues, 1831.  
 ENGEL, B. G., s. RUZICKA, L.  
 ERLENMEYER, H., und BISCHOFF, G., Strukturchemische Untersuchungen IX. Zur Kenntnis des Adipinsäure-di-thioamids, 412.  
 ERLENMEYER, H., BOSSARDT, ALFRED A., und THEILHEIMER, W., Vergleichende Flotationsversuche mit Fettsäuren und  $\alpha$ -Oxyfettsäuren als Sammler, 1429.  
 ERLENMEYER, H., BUCHMANN, P., und SCHENKEL, H., Über Derivate von Thiazol-carbonsäuren, 1432.  
 ERLENMEYER, H., BÜCHLER, W., und LEHR, H., Strukturchemische Untersuchungen XII. Über Thiazolderivate aus dem Dithioamid der Benzol-1,4-dicarbonensäure, 969.  
 ERLENMEYER, H., und THEILHEIMER, W., Über Flotationsversuche mit 8-Oxychinolin als Sammler. VII. Die fraktionierte Flotation als Methode zur Charakterisierung fester Stoffe, 1315.  
 ERLENMEYER, H., s. BISCHOFF, G.  
 ERLENMEYER, H., s. BLOCH, HUBERT.  
 ERLENMEYER, H., s. LEHR, H.  
 ERLENMEYER, H., s. SCHENKEL, H.  
 ERLENMEYER, H., s. THEILHEIMER, W.  
 v. EULER, H., HÖGGER, B., KARRER, P., SALOMON, H., und RÜCKSTUHL, H., Tetrahydro-nicotinsäure und Hexahydro-nicotinsäure als Wachstumsfaktoren bei *Staphylococcus aureus* und *Bacillus Proteus vulgaris*, 382; Erratum, 820.  
 v. EULER, H., und KARRER, P., Hexahydro-*p*-aminobenzoensäure als Antagonist der Sulfanilsäure, 1697.  
 VON EUW, J., LARDON, A., und REICHSTEIN, T., Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe. (68. Mitteilung.) Pregnandiol-(3 $\alpha$ ,11 $\alpha$ )-on-(20) und Pregnandiol-(3 $\beta$ ,11 $\alpha$ )-on-(20), 821.  
 VON EUW, J., LARDON, A., und REICHSTEIN, T., Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe. 70. Mitteilung. Teilsynthese des Corticosterons, 1287.  
 VON EUW, J., und REICHSTEIN, T., Über Gallensäuren und verwandte Stoffe. 32. Mitteilung. 17-*iso*-Ätio-allo-cholansäure, 1851.  
 FEITKNECHT, W., Über die Löslichkeitsprodukte der Oxyde und des Hydroxyds von Kupfer und über die Löslichkeit von Kupferhydroxyd in Natronlauge, 771.  
 FEITKNECHT, W., und HELD, F., Über die Hydroxychloride des Magnesiums, 1480.  
 FEITKNECHT, W., und HELD, F., Über Magnesium-Aluminiumdoppelhydroxyd und -Hydroxydoppelchlorid, 1495.  
 FEITKNECHT, W., und LENEL, H. W., Über die anodische Passivierung von Kupfer in verdünnter Natronlauge, 775.  
 FELDER, E., s. SCHWARZENBACH, G., FIERZ-DAVID, H. ED., Zur Kenntnis des Dehydrothio-*p*-toluidins, 1; Erratum, 548.

- FIERZ, H. E., s. JADASSOHN, W.  
 FLATT, R., und BURKHARDT, G., Untersuchungen über Mischkrystallbildung in Lösungen. II. Die Systeme  $KCl + NH_4Cl + H_2O$ ,  $KBr + NH_4Br + H_2O$ ,  $KCl + KBr + H_2O$  und  $NH_4Cl + NH_4Br + H_2O$  bei 25°, 1605.  
 FLATT, R., und BURKHARDT, G., Untersuchungen über Mischkrystallbildung in Lösungen. III. Die Bildung ternärer Mischkrystalle im System  $K^+ + NH_4^+ + Cl^- + Br^- + H_2O$ , 1611.  
 FLATT, R., und SOMMER, F., Titrationsen mit Chrom(II)-Salzlösungen. II. Die chromatometrische Bestimmung von Wolfram und Uran, 1518.  
 FLATT, R., und SOMMER, F., Titrationsen mit Chrom(II)-Salzlösungen. III. Die chromatometrische Bestimmung von Eisen, Kupfer, Titan, Vanadium, Chrom, Molybdän und Wolfram in Gemischen, 1522.  
 FLATT, R., WILHELM, J., und BURKHARDT G., Untersuchungen über Mischkrystallbildung in Lösungen. I. Die Gewinnung homogener Mischkrystalle, 1600.  
 FREY, CHRISTOPH, s. RUPE, HANS.  
 FREY, G., s. TREADWELL, W. D.  
 FREY, H., s. MEYSTRE, CH.  
 FURGER, H. P., s. BLOCH, HUBERT.  
 FURRER, M., s. RUZICKA, L.  
 GAUTIER, CH., v. BERNFELD, P.  
 GIROD, EML, s. RUGGLI, PAUL.  
 GOLDSTEIN, HENRI, et HUSER, GÉRALD, Synthèses dans la classe des carbazines VII, 616.  
 GOLDSTEIN, HENRI, et PREITNER, GASTON, Contribution à l'étude des dérivés nitrés et nitro-aminés de l'acide o-chloro-benzoïque, 612.  
 GOLDSTEIN, HENRI, et PREITNER, GASTON, Contribution à l'étude des dérivés nitro-aminés de l'acide o-bromo-benzoïque, 888.  
 GOLDSTEIN, HENRI, et VIAUD, PIERRE, Contribution à l'étude de l'acide 5, 8-dichloro-2-naphtoïque et de la 5, 8-dichloro-2-naphtylamine, 883.  
 GRAF, W., s. KARRER, P.  
 GRAUER, H., s. EDLBACHER, S.  
 GUEX, W., s. LEHR, H.  
 GUYER, A., und PIECHOWICZ, T., Lösungsgleichgewichte in wässrigen Systemen. (4. Mitteilung). Das System  $CO_2-NH_3-H_2O$  bei 20—50°, 858.  
 HADORN, H., s. NITSCHMANN, HS.  
 HAEGEL, JEAN, Sur la mobilité des molécules étrangères dissoutes dans le caoutchouc, 1669.  
 HAENNY, CH., PAUL DUTOIT 1873 (81X)—1944 (7 I), 1414.  
 HAHN, V., s. PRELOG, V.  
 v. HALBAN, H., und BRÜLL, J., Über die genaue Ermittlung der Dissoziationskonstanten mittelstarker Säuren mit Hilfe von Indikatoren, 1719.  
 v. HALBAN, H., und WIELAND, K., Über eine Eichsubstanz für spektrographische Absorptionsmessungen, 1032.  
 v. HALBAN, H., s. KELLER, H.  
 HALLER, ROBERT, Über Alizarate. IV. Mitteilung, 344.  
 HARDEGGER, E., PLATTNER, PL. A., und BLANK, F., Über Steroide und Sexualhormone (98. Mitteilung). Herstellung des  $\beta$ -(trans-p-Oxy-cyclohexyl)- $\Delta^{\alpha,\beta}$ -butenolids, 793.  
 HARDEGGER, E., s. PLATTNER, PL. A.  
 HARDEGGER, E., s. RUZICKA, L.  
 HEINRICH, PETER, v. CHARDONNENS, LOUIS.  
 HELD, F., s. FEITKNECHT, W.  
 HEUSSER, H., s. PLATTNER, PL. A.  
 HEUSSER, H., s. RUZICKA, L.  
 HINDEN, W., s. PRELOG, V.  
 HOFFMANN, K., und SCHELLENBERG, H., N-Substituierte 2-(Amino-methyl)-indene und -indane, 1782.  
 HÖGGER, B., s. v. EULER, H.  
 HUBER, K., Studien zur Chemie und zur Struktur anodisch erzeugter Niederschläge und Deckschichten. 3. Mitteilung. Über die Farbe anodisch erzeugter Zinkoxydschichten, 1443.  
 HULSTKAMP, J., s. PLATTNER, PL. A.  
 HUSER, GÉRALD, v. GOLDSTEIN, HENRI.  
 INGOLD, W., s. RUZICKA, L.  
 ISELIN, B., und REICHSTEIN, T., 2-Desoxy-l-fucose. Desoxyzucker, 3. Mitteilung, 1200.  
 ISELIN, B., und REICHSTEIN, T., Krystallisierte 2-Desoxy-l-rhamnose (2-Desoxy-l-chinovose). Desoxyzucker, 2. Mitteilung, 1146.  
 ISELIN, B., und REICHSTEIN, T., Synthese der d-Digitoxose. Desoxyzucker, 4. Mitteilung, 1203.  
 ISELIN, ERNST, s. RUGGLI, PAUL.  
 ISLER, HANS, Über tricyclische 1,4-Oxazin-Derivate, 1756.  
 JADASSOHN, W., FIERZ, H. E., und PFANNER, E., Die Wirkung von Oestron auf die Zitze des weiblichen Meerschweinchens, 1161.  
 JADASSOHN, W., FIERZ, H. E., und VOLLENWEIDER, H., Untersuchungen über die Hemmung der durch Histamin be-

- wirkten Kontraktion und der anaphylaktischen Reaktion durch Iminokörper 1384.
- JEANLOZ, R., *Recherches sur l'amidon XXVIII. Le glycogène de levure natif*, 1501.
- JEANLOZ, R., *Recherches sur l'amidon XXIX. Dosages des sucres méthyles avec groupe alcoolique primaire libre*, 1509.
- JEGER, O., NORZYMSKI, J., und RUZICKA, L., *Zur Kenntnis der Triterpene (90. Mitteilung). Über ein Oxydationsprodukt C<sub>32</sub>H<sub>46</sub>O<sub>5</sub> aus Acetyl- $\beta$ -amyrin und zwei isomere Oxydationsprodukte C<sub>33</sub>H<sub>46</sub>O<sub>7</sub> aus Acetyl-oleanolsäure-methylester und Acetyl-glycyrrhetinsäure-methylester*, 1532.
- JEGER, O., s. RUZICKA, L.
- JUCKER, E., s. KARRER, P.
- KARRER, P., und CHRISTOFFEL, C., *Einige weitere 2-[p-Nitrophenyl]-4-alkyl-oxazolone-5*, 622.
- KARRER, P., und JUCKER, E., *Partialsynthese eines Carotinoidfarbstoffs mit dem chromophoren System des Capsanthins*, 1588.
- KARRER, P., und JUCKER, E., *Über Carotinoide aus Blüten des Besenginsters (Sarothamnus scoparius). Chrysanthemaxanthin*, 1585.
- KARRER, P., und JUCKER, E., *Vorläufige Mitteilung über ein neues Carotinoid aus Orangenschalen: Citroxanthin*, 1695.
- KARRER, P., und KEHRER, F., *Über Thiophanverbindungen IV*, 142.
- KARRER, P., KELLER, R., und SZÖNYI, G., *Einwirkungsprodukte des Azobenzol-4-carbonsäure-chlorids auf  $\alpha$ -Aminocarbonsäuren und deren Ester; Erratum*, 820.
- KARRER, P., KELLER, R., und USTERI, E., *Über Thiophanverbindungen V*, 237.
- KARRER, P., und KIESO, A., *Über Thiophanverbindungen VIII. Einige Derivate des Thiophanon-3*, 1285.
- KARRER, P., und KRAMER, HANS, *Lycopersen, ein isoprenhomologer Kohlenwasserstoff des Squalens mit 40 C-Atomen*, 1301.
- KARRER, P., KUGLER, A., und SIMON, H., *Über optisch aktive Tocolle und Abbauprodukte des Phytols und Phytadiens*, 1006.
- KARRER, P., und LEISER, P., *Über einige Thiochromanderivate mit Tocopherolstruktur*, 678.
- KARRER, P., LEISER, P., und GRAF, W., *Über 2,2'-Dithiazolylverbindungen*, 624.
- KARRER, P., und RENTSCHLER, H., *Ein Tocol mit bicyclischer Seitenkette*, 1297.
- KARRER, P., und RUCKSTUHL, H., *Umsetzungsprodukte des Arecolins (N-Methyl-tetrahydro-nicotinsäure-methylester) mit Ammoniak*, 1698.
- KARRER, P., und RUTSCHMANN, J., *Beitrag zur Kenntnis der Carotinoide aus Oscillatoria rubescens*, 1691.
- KARRER, P., und RUTSCHMANN, J., *Über Auroxanthin. II. Mitteilung*, 320.
- KARRER, P., und RUTSCHMANN, J., *Über Violaxanthin, Auroxanthin und andere Pigmente der Blüten von Viola tricolor*, 1684.
- KARRER, P., und SANZ, M. C., *Synthese und Konstitution des Vitachroms*, 619.
- KARRER, P., und SCHMID, H., *Über das Thiophan-3-on*, 116.
- KARRER, P., und SCHMID, H., *Über Thiophanverbindungen II*, 124.
- KARRER, P., und SCHMID, H., *Über Thiophanverbindungen VI. Reduktionsprodukte von Thiophanon-3-derivaten*, 1275.
- KARRER, P., und SCHMID, H., *Über Thiophanverbindungen VII. N-Acetylamino-thiophanon-3-carbonsäure-2-äthylester*, 1280.
- KARRER, P., SIMON, H., und ZBINDEN, E., *Optisch aktives  $\alpha$ -Phyllochinon (Vitamin K<sub>1</sub>)*, 317.
- KARRER, P., SIMON, H., und ZBINDEN, E., *Über optisch aktives Phytol. II. Mitteilung*, 313.
- KARRER, P., USTERI, E., und CAMERINO, B., *Über blutgerinnungshemmende Stoffe II*, 1422.
- KARRER, P., s. v. EULER, H.
- KAUTER, C., s. RUZICKA, L.
- KEHLSTADT, HANS LOUIS, *Über Kondensationen mit Michler's Keton (Farbstoffbildungen)*, 685.
- KEHRER, F., s. KARRER, P.
- KELLER, H., und v. HALBAN, H., *Über die Photochemie des Tetrabenzoyl-äthylens III*, 1253.
- KELLER, H., und v. HALBAN, H., *Über eine Modifikation der mikro-kryoskopischen Molekulargewichts-Bestimmung nach Rast*, 1439.
- KELLER, H., und v. HALBAN, H., *Zur Methodik der lichtelektrischen Extinktionsmessung II*, 702.
- KELLER, R., s. KARRER, P.
- KIESO, A., s. KARRER, P.
- KLARER, W., und URECH, E., *Über Oxyalkyl- bzw. Halogenalkyl-formamidine und -imidazoline*, 1762.
- KNECHT, KARL, s. RUGGLI, PAUL.

- KNODEL, CH., v. BRINER, E.  
 KOEHLIN, B., und REICHSTEIN, T., Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe. 67. Mitteilung. Versuche zur Bereitung von Ätiocholandioldi-(3 $\alpha$ ,12 $\beta$ )-on-17 durch systematischen Abbau, 549.  
 KRAMER, HANS, s. KARRER, P.  
 KUGLER, A., s. KARRER, P.  
 KUHN, HANS, s. KUHN, WERNER.  
 KUHN, WERNER, und KUHN, HANS, Wanderungsdoppelbrechung von Fadenmolekelionen im elektrischen Feld, 493.  
 KUHN, W., und ROMETSCH, R., Untersuchungen über optisch aktive Diphenylverbindungen I (Problemstellung und experimentelle Ergebnisse), 1080.  
 KUHN, WERNER, und ROMETSCH, R., Untersuchungen über optisch aktive Diphenylverbindungen II. (Deutung von Rotationsdispersion und Zirkulardichroismus; Vergleich mit theoretischen Ansätzen), 1346.  
 KUHN, WERNER, s. WEIL, K.  
 LÄUGER, P., Über neue, sulfogruppenhaltige Mottenschutzmittel, 71.  
 LÄUGER, P., MARTIN, H., und MÜLLER, P., Über Konstitution und toxische Wirkung von natürlichen und neuen synthetischen insektentötenden Stoffen, 892.  
 LANG, W., s. PLATTNER, PL. A.  
 LARDON, A., und REICHSTEIN, T., Über Gallensäuren und verwandte Stoffe (29. Mitteilung). Derivate der Bisnor-desoxycholsäure und der 3 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -Dioxybisnor-cholensäure, 713.  
 LARDON, A., s. VON EUW, J.  
 LEHR, H., und ERLÉNMEYER, H., Strukturchemische Untersuchungen X. Zur Kenntnis des reaktiven Verhaltens von Di-thio-amiden aliphatischer Dicarbonsäuren, 489.  
 LEHR, H., GÜEX, W., und ERLÉNMEYER, H., Strukturchemische Untersuchungen XIII. Zur Kenntnis des Malonsäure-dithio-amids, 970.  
 LEHR, H., s. ERLÉNMEYER, H.  
 LEISER, P., s. KARRER, P.  
 LENEL, H. W., s. FEITKNECHT, W.  
 LUTZ, K., s. SCHWARZENBACH, G.  
 MAEDER, ARTHUR, s. RUGGLI, PAUL.  
 MABBET, R., s. SCHENKEL, H.  
 MARITZ, A., s. ZELLER, E. A.  
 MARTIN, H., s. LÄUGER, P.  
 MATTHEY, A., s. BERNHARD, KARL.  
 MAUDERLI, B., MOSER, E., und TREADWELL, W. D., Zur Thermodynamik der Reduktion von Magnesiumoxyd mit Kohle und Calciumcarbid, 105.  
 MAUDERLI, B., s. TREADWELL, W. D.  
 MEYER, A., s. SEEBECK, E.  
 MEYER, KURT H., et DE TRAZ, CL., Recherches sur l'amidon. XXVI. Sur la phosphorylase de pommes de terre, 840.  
 MEYER, KURT H., et VAN DER WYK, A. J. A., Propriétés des polymères en solution XVII. Analyse thermodynamique de systèmes binaires à un composant caténiforme, 845.  
 MEYSTRE, CH., FREY, H., WETTSTEIN, A., und MIESCHER, K., Über Steroide (39. Mitteilung). Ein einfacher Abbau der Gallensäuren-Seitenkette zur Methylketonstufe, 1815.  
 MEYSTRE, CH., und MIESCHER, K., Über Steroide (35. Mitteilung). Zur Darstellung von Saccharidderivaten der Steroide, 231.  
 MEYSTRE, CH., und MIESCHER, K., Über Steroide (36. Mitteilung). Zur Darstellung von Saccharidderivaten der Steroide, 1153.  
 MIESCHER, K., Über Steroide (37. Mitteilung). Konstitution und Synthese hochwirksamer Abkömmlinge östrogenen Hormone, 1727.  
 MIESCHER, K., s. MEYSTRE, CH.  
 MOSER, E., s. MAUDERLI, B.  
 MOSIMANN, H., und SIGNER, R., Über den Einfluss des hydrostatischen Druckes auf die Sedimentationsgeschwindigkeit in der Ultrazentrifuge, 1123.  
 MÜLLER, P., s. LÄUGER, P.  
 MÜLLER, P. B., Chromatographische Trennung von Vitamin A-Alkohol, Vitamin A-Ester und  $\beta$ -Carotin und ihre spektrophotometrische bzw. stufenphotometrische Bestimmung. 1. Mitteilung, 443.  
 MÜLLER, P. B., Zur kalorimetrischen Standardisierung der Aktivität von Adsorptionsmitteln für die chromatographische Analyse unter besonderer Berücksichtigung des Aluminiumoxyds 2. Mitteilung, 404.  
 MÜLLER, P. H., s. RUZICKA, L.  
 MÜLLER, P. H., s. SCHINZ, H.  
 MÜLLER, P. H., s. SEIDEL, C. F.  
 MUHR, A. C., s. RUZICKA, L.  
 NAVES, Y. R., Etudes sur les matières végétales volatiles XXVII. Présence de *d,l*-triméthyl-1.1.3-cyclopentanone-(4) dans l'essence de menthe pouliot (*Mentha Pulegium* L.), 51.  
 NAVES, Y. R., Etudes sur les matières volatiles XXX. Application de la formylation sélective du bornéol, de l'octanol (3) et de l'alcool benzylique, en présence de linalol et ses esters, à l'analyse des huiles essentielles, 942.

- NAVES, Y. R., Etudes sur les matières végétales volatiles XXXI. Sur l'isolement des huiles essentielles dissoutes dans les eaux de distillation, 1103.
- NAVES, Y. R., Etudes sur les matières végétales volatiles XXXII. Sur l'évaluation des alcools des huiles essentielles, en présence de cinéol, par acétylation, 1626.
- NAVES, Y. R., Hydrogénolyse des esters benzyliques au contact des catalyseurs au nickel, 261; Erratum, 820.
- NAVES, Y. R., et BACHMANN, P., Etudes sur les matières végétales volatiles XXVIII. Absorption dans l'ultra-violet et spectres *Raman* d'ionones et de substances voisines, 97.
- NAVES, Y. R., et BACHMANN, P., Etudes sur les matières végétales volatiles XXIX. Isolement d'un isomère tricyclique des ionones, 645.
- NAVES, Y. R., et BACHMANN, P., Réponse à *L. Palfray*, 626.
- NIGGLI, P., s. BARBLAN, F.
- NITSCHMANN, HS., und HADORN, H., Die Umsetzung des Caseins mit Formaldehyd. V. Über das Verhalten der  $\epsilon$ -Aminogruppen des Lysins und der Peptidgruppen, 299; Errata, 820.
- NORYMBERSKI, J., s. JEGER, O.
- NORYMBERSKI, J., s. RUZICKA, L.
- NOWACKI, W., Zur Krystalstruktur einiger Sterine und verwandter Verbindungen. I. Desoxy-corticosteron-acetat, 1622.
- PALFRAY, L., Rectification, 626.
- PANIZZO, LEANDRO, La preparazione di piridil- e piperidil-arilacetoneitrili e di alcuni prodotti di trasformazione (Parte Ia), 1748.
- PATAKI, J., s. PLATTNER, PL. A.
- PATAKI, J., s. RUZICKA, L.
- PAULI, WOLFGANG, RUSSE, EDUARD, und BALOG, PAUL, Aufbau und zeitliche Reaktionen eines hochgereinigten Schwefelsols, 585.
- PETRZILKA, PH., s. PLATTNER, PL. A.
- PFANNER, E., s. JADASSOHN, W.
- PLECHOWICZ, T., s. GUYER, A.
- PLATTNER, PL. A., Zur Kenntnis des Kohlenstoffringes (35. Mitteilung). Über die Herstellung von Cyclo-undecan aus Benzo-suberan, 801.
- PLATTNER, PL. A., BUCHER, H., und HARDEGGER, E., Über Steroide und Sexualhormone (103. Mitteilung). Über den sterischen Verlauf der Hydrierung von Doppelbindungen in 17, 20-Stellung der Steroide, 1177.
- PLATTNER, PL. A., und HEUSSER, H., Über Steroide und Sexualhormone (97. Mitteilung). Über Beziehungen zwischen Konstitution und optischer Drehung in der Cholsäure-Reihe, 748.
- PLATTNER, PL. A., und HULSTKAMP, J., Zur Kenntnis des Kohlenstoffringes (33. Mitteilung). Über die Herstellung von Cyclodecandion-(1,6) aus Dekalin, 211.
- PLATTNER, PL. A., und HULSTKAMP, J., Zur Kenntnis des Kohlenstoffringes (34. Mitteilung). Über Cyclodecan, einige Cyclodecan-Derivate und die beiden 9,10-Diamino-dekalin, 220.
- PLATTNER, PL. A., und LANG, W., Über Steroide und Sexualhormone (106. Mitteilung). Über die Konfiguration der beiden Cholesterin-oxyde und des „trans“-Cholestantriols-(3 $\beta$ , 5, 6), 1872.
- PLATTNER, PL. A., und PATAKI, J., Über Steroide und Sexualhormone (104. Mitteilung). (23  $\rightarrow$  12)-Lactone der Nordesoxycholsäure-Reihe, 1544.
- PLATTNER, PL. A., PETRZILKA, PH., und LANG, W., Über Steroide und Sexualhormone (94. Mitteilung). Einführung einer Hydroxyl-Gruppe in Stellung 5 des Sterinskeletts durch Hydrierung von 5,6- bzw. 4,5-Oxido-Verbindungen, 513.
- PLATTNER, PL. A., und RONCO, A., Über die Acetylierung von 1,2-Dimethylnaphthalin, 400.
- PLATTNER, PL. A., und WERNER, L., Zur Kenntnis der Sesquiterpene (64. Mitteilung). Über die Anlagerung von Acetylen-dicarbon säure-ester, Azodicarbon säure-ester und Maleinsäure-anhydrid an Caryophyllen, 1010.
- PLATTNER, PL. A., s. HARDEGGER, E.
- PLATTNER, PL. A., s. RUZICKA, L.
- PORRET, D., Cinétique de la réaction entre la chlorhydrine de l'éthylène et l'hydroxyde de sodium et de la réaction inverse, 1321.
- POSTERNAK, THÉODORE, Recherches dans la série des cyclites VII. Sur la cyclite des moules (mytilite) et sur quelques substances voisines, 457.
- PREITNER, GASTON, v. GOLDSTEIN, HENRI.
- PRELOG, V., HAHN, V., BRAUCHLI, H., und BEYERMANN, H. C., Über Alkyl-( $\beta$ -oxy- $\beta$ -aryl-äthyl)-sulfide und Dialkyl-( $\beta$ -aryl-äthyl)-sulfonium-salze, 1209.
- PRELOG, V., und HINDEN, W., Über Cyclohepteno-2,3-pyridin, 1854.
- PRELOG, V., und TAGMANN, E., Steroide und Sexualhormone (105. Mitteilung). Über die Konfiguration des „cis“-Cholestan-triols-(3 $\beta$ , 5, 6), 1867.



- PRELOG, V., und TAGMANN, E., Steroide und Sexualhormone (107. Mitteilung). Über Koprostan-diol-(3 $\beta$ ,6 $\beta$ ) und Koprostan-dion-(3,6), 1880.
- PRELOG, V., und RUZICKA, L., Untersuchungen über Organextrakte (5. Mitteilung). Über zwei moschusartig riechende Steroide aus Schweinetestes-Extrakten, 61.
- PRELOG, V., RUZICKA, L., und STEINMANN, F., Untersuchungen über Organextrakte (6. Mitteilung). Über die Isolierung von Chimyl-alkohol (*d*- $\alpha$ -Hexadecyl-glyceryläther) aus Testes-Extrakten und seine Identität mit „Testriol“, 674.
- PRELOG, V., RUZICKA, L., und WIELAND, P., Steroide und Sexualhormone (90. Mitteilung). Über die Herstellung der beiden moschusartig riechenden  $\Delta^{16}$ -Androstenole-(3) und verwandter Verbindungen, 66.
- PRELOG, V., und SZPILFOGEL, S., Steroide und Sexualhormone (92. Mitteilung). Über die stereoisomeren Dihydro-solanidine, 390.
- PRELOG, V., und WIELAND, P., Über die Spaltung der Träger'schen Base in optische Antipoden, ein Beitrag zur Stereochemie des dreiwertigen Stickstoffs, 1127.
- PRELOG, V., und ZALÁN, E., Über China-Alkaloide (5. Mitteilung). Über die Konfiguration der asymmetrischen Kohlenstoffatome 3, 4 und 8 der China-Alkaloide, 535.
- PRELOG, V., und ZALÁN, E., Über China-Alkaloide (6. Mitteilung). Über die Konfiguration von (-)-3-Methyl-4-äthylhexan, 545.
- PRELOG, V., und ZALÁN, E., Über die Synthese von *d,l*-Heliotridan (1-Methylpyrrolizidin), 531.
- PRELOG, V., s. RUZICKA, L.
- REICHERT, ROLF, Quantitative Bestimmung des Gesamtlipoidgehaltes von Naturstoffen, 961.
- REICHSTEIN, T., s. AHL, A.
- REICHSTEIN, T., s. VON EUW, J.
- REICHSTEIN, T., s. ISELIN, B.
- REICHSTEIN, T., s. KOEHLIN, B.
- REICHSTEIN, T., s. LARDON, A.
- REICHSTEIN, T., s. SEEBECK, E.
- REICHSTEIN, T., s. SORKIN, M.
- REICHSTEIN, T., s. VISCHER, E.
- REICHSTEIN, T., s. WENNER, V.
- RENTSCHLER, H., s. KARRER, P.
- REY, ED., s. RUZICKA, L.
- RINGIER, B. H., Über stickstoffhaltige Derivate der Methionsäure, 1790.
- RINGNES, P., s. RUZICKA, L.
- ROHNER, F., Natrium-Spurenbestimmung durch Lösungsspektralanalyse, 572.
- ROHNER, F., Spektralanalytische Natrium-Spurenbestimmung in Reinstaluminium, 268.
- ROMETSCH, R., s. KUHN, WERNER.
- RONCO, A., s. PLATTNER, PL. A.
- ROUVÉ, A., v. STOLL, M.
- RUCKSTUHL, H., s. v. EULER, H.
- RUCKSTUHL, H., s. KARRER, P.
- RUGGLI, PAUL, und BARTUSCH, GERD, Über *p*-Dinitroverbindungen, ihre Molekulargröße und ihre Kondensation mit aromatischen Aminen (26. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte), 1371.
- RUGGLI, PAUL, und BRANDT, FRITZ, Über ein neues lineares Benzo-dipicolin, das 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolin (51. Mitteilung über Stickstoff-Heterocyclen), 274.
- RUGGLI, PAUL, und CUENIN, HANS, Über Pyridyl-isatogen (52. Mitteilung über Stickstoff-Heterocyclen), 649.
- RUGGLI, PAUL, und DAHN, HANS, Über die säureamidartige Selbstkondensation der 1,3,5-Amino-sulfo-benzoesäure (3. Mitteilung über Sulfo-carbonsäuren) 867.
- RUGGLI, PAUL, und DAHN, HANS, Zur Charakterisierung der 1,3,5-Aminosulfo-benzoesäure und ähnlicher Aminosulfo-carbonsäuren (4. Mitteilung über Sulfo-carbonsäuren), 1116.
- RUGGLI, PAUL, und GIROD, EMIL, Eine neue Synthese des 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolins (Benzo-dipicolins) und hydrierter Derivate (54. Mitteilung über Stickstoff-Heterocyclen), 1464.
- RUGGLI, PAUL, und ISELIN, ERNST, Über die Hydrazo-Verbindungen aus *p*-Disazobenzol (27. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte), 1711.
- RUGGLI, PAUL, und KNECHT, KARL, Über *m*-Phenylendi-glykol (53. Mitteilung über Stickstoff-Heterocyclen), 1108.
- RUGGLI, PAUL, und MAEDER, ARTHUR, Die Enol-lacton-Spaltung: Eine neue Methode zur Darstellung von  $\beta$ -Keton- und  $\beta,\beta'$ -Diketonsäure-estern, die zugleich 1,4-Diketone sind (3. Mitteilung über Ketone, Ketonensäuren und Enol-lactone), 436.
- RUGGLI, PAUL, und SCHMIDLIN, JULIUS, Zur Frage der Cyclopentan-1,3-dione (4. Mitteilung über Ketone, Ketonensäuren und Enol-lactone), 499.

- RUPE, H., Die Schweizerische Chemische Gesellschaft in den Jahren 1901—1941, 1225.
- RUPE, HANS, und FREY, CHRISTOPH, Ein neuer Übergang vom Campher zum Homocampher, 627.
- RUSCONI, YVONNE, v. WENGER, PAUL.
- RUSSER, EDUARD, s. PAULI, WOLFGANG.
- RUTSCHMANN, J., s. KARRER, P.
- RUZICKA, L., BOER, A. G., und REY, ED., Zur Kenntnis der Triterpene (86. Mitteilung). Über das Birkenteeröl, 183.
- RUZICKA, L., HARDEGGER, E., und KAUTER, C., Über Steroide und Sexualhormone (101. Mitteilung). Über die  $\Delta^{5,16}$ - $3\beta$ -Oxy-ätiocoladiensäure und einige ihrer Umwandlungsprodukte, 1164.
- RUZICKA, L., JEGER, O., und INGOLD, W., Zur Kenntnis der Triterpene (91. Mitteilung). Umsetzungen in den Ringen A und B bei  $\beta$ -Boswellinsäure, 1859.
- RUZICKA, L., JEGER, O., und NORYMBERSKI, J., Zur Kenntnis der Triterpene (89. Mitteilung). Abbau des Hederageins zur  $C_{26}$ -Stufe, 1185.
- RUZICKA, L., JEGER, O., und RINGNES, P., Zur Kenntnis der Triterpene (88. Mitteilung). Über Friedelin und Cerin, 972.
- RUZICKA, L., und MUHR, A. C., Steroide und Sexualhormone (93. Mitteilung). Über die Hydrierung der beiden Oxyde von trans-Dehydro-androsteron-acetat, 503.
- RUZICKA, L., PLATTNER, PL. A., und ENGEL, B. G., Zur Kenntnis der Erythrophleum-Alkaloide (7. Mitteilung). Über  $\beta$ -Dialkylamino-äthylester und  $\beta$ -Dialkylamino-äthylamide einiger Gallensäuren, 1553.
- RUZICKA, L., PLATTNER, PL. A., und FURRER, M., Über Steroide und Sexualhormone (95. Mitteilung). Herstellung von 2-Keto-,  $2\alpha$ -Oxy- und  $2\beta$ -Oxy-cholestan, 524.
- RUZICKA, L., PLATTNER, PL. A., und FURRER, M., Über Steroide und Sexualhormone (96. Mitteilung). Über Umwandlungsprodukte des 2-Acetoxy-cholestans-(3), 727.
- RUZICKA, L., PLATTNER, PL. A., und HEUSSER, H., Steroide und Sexualhormone (91. Mitteilung). Über  $\beta'$ -[ $3\alpha, 7\alpha, 12\beta$ -Trioxy-nor-cholanyl-(23)]- $\Delta^{\alpha, \beta'}$ -butenolid, ein Homologes der digitaloiden Aglucone, 186.
- RUZICKA, L., PLATTNER, PL. A., und HEUSSER, H., Über Steroide und Sexualhormone (102. Mitteilung). Über Homologe der digitaloiden Aglucone mit einer Methyl-Gruppe in  $\alpha$ -Stellung des Lacton-Ringes, 1173.
- RUZICKA, L., PLATTNER, PL. A., und HEUSSER, H., Über Steroide und Sexualhormone (108. Mitteilung).  $\Delta^{20,22}$ - $3\beta, 5, 6\beta, 21$ -Tetraoxy-nor-allo-cholensäure-lacton-(23  $\rightarrow$  21), 1883.
- RUZICKA, L., PLATTNER, PL. A., und PATAKI, J., Über Steroide und Sexualhormone (99. Mitteilung). Synthese des 12-Epi-14-desoxy-digoxigenins, 988.
- RUZICKA, L., PRELOG, V., und TAGMANN, E., Steroide und Sexualhormone (100. Mitteilung). Über die Epimerisierung der beiden 7-Oxy-cholesterin-diacetate am Kohlenstoffatom 7, 1149.
- RUZICKA, L., REY, ED., und MUHR, A. C., Zur Kenntnis der Triterpene (87. Mitteilung). Über verschiedene Umwandlungsprodukte des Lanosterins, 472.
- RUZICKA, L., SCHINZ, H., und MÜLLER, P. H., Zur Kenntnis der Sesquiterpene (62. Mitteilung). Ein neuartiger Sesquiterpenkohlenwasserstoff aus dem Blätteröl von *Cedrus atlantica* Manetti, 195.
- RUZICKA, L., SCHINZ, H., und SUSZ, B.-P., Veilchenriechstoffe (14. Mitteilung). Zur Stereoisomerie von Hexen-(3)-ol-(1), Nonadien-(2,6)-al-(1) und Nonadien-(2,6)-ol-(1), 1561.
- RUZICKA, L., s. JEGER, O.
- RUZICKA, L., s. PRELOG, V.
- SALOMON, H., s. v. EULER, H.
- SANZ, M. C., s. KARRER, P.
- SHELLENBERG, H., s. HOFFMANN, K.
- SCHENKEL-RUDIN, H., und M., Zur Bildung schwerlöslicher Metallsalze bei Oxyverbindungen von Stickstoff-Heterocyclen, 1456.
- SCHENKEL, H., MARBET, R., und ERLENMEYER, H., Zur Kenntnis der 4-Methylthiazol-2-carbonsäure, 1437.
- SCHENKEL, H., s. ERLENMEYER, H.
- SCHENKEL-RUDIN, M., s. SCHENKEL-RUDIN, H.
- SCHINZ, H., und MÜLLER, P. H., Zur Kenntnis der Sesquiterpene (61. Mitteilung). Synthese eines aliphatischen Sesquiterpenalkohols mit unregelmässiger Isoprenkette, 57.
- SCHINZ, H., s. RUZICKA, L.
- SCHINZ, H., s. SEIDEL, C. F.,
- SCHMID, H., Notiz über keimungshemmende Stoffe, 1197.
- SCHMID, H., Über Thiophanverbindungen III, 127.
- SCHMID, H., s. KARRER, P.
- SCHMIDLIN, JULIUS, s. RUGGLI, PAUL.

- SCHOFFER, W. H., La biotine, l'aneurine et le méso-inositol, facteurs de croissance pour *Eremothecium Ashbyi* Guillermond. La biosynthèse de la riboflavine, 1017.
- SCHOFFER, W. H., Recherches sur la spécificité d'action de la méso-inosite, facteur de croissance de microorganismes, 468.
- SCHULER, WERNER, Gonadotropes Hormon und Hohenstoffwechsel (II. Mitteilung), 1796.
- SCHWARZENBACH, G., und FELDER, E., Acidität und Enolisierungstendenz, 1701.
- SCHWARZENBACH, G., und FELDER, E., Bestimmung von Keto-Enol-Gleichgewichten in Wasser, 1044.
- SCHWARZENBACH, G., LUTZ, K., und FELDER, E., Die Absorptionsspektren der allereinfachsten „Farbstoffe“, 576.
- SCHWARZENBACH, G., und SULZBERGER, R., Über die Alkalinität starker Lösungen der Alkalihydroxyde, 348.
- SEEBECK, E., MEYER, A., und REICHSTEIN, T., Die Identifizierung der vermeintlichen *l*-Idose von *Ohle* und *v. Vargha* als 3,6-Anhydro-*d*-glucose, 1142.
- SEEBECK, E., und REICHSTEIN, T., Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe (69. Mitteilung). Einwirkung von Bleitetra-acetat auf Cholestenon, 948.
- SEIDEL, C. F., MÜLLER, P. H., und SCHINZ H., Zur Kenntnis der Sesquiterpene (63. Mitteilung). Über die Alkohole, Kohlenwasserstoffe und Oxyde der Sesquiterpenreihe aus französischem Lavendelöl, 738.
- SEIDEL, C. F., SCHINZ, H., und MÜLLER, P. H., Zur Kenntnis des Lavendelöls (3. Mitteilung). Über die Monoterpenalkohole und die in veresterter Form vorkommenden Säuren des französischen Lavendelöls, 663.
- SHOPPEE, C. W., Die Umlagerung von 17-Oxy-20-keto-steroiden V. 17a-Methyl-D-homo-ätiocolan und einige Derivate, 8.
- SHOPPEE, C. W., Diginin. 3. Mitteilung. Abbau des Diginigenins zu einem Kohlenwasserstoff Diginan C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>, 246.
- SHOPPEE, C. W., Diginin und Diginigenin, 4. Mitteilung, 426.
- SIGNER, R., s. MOSIMANN, H.
- SIMON, H., s. KARRER, P.
- SOMMER, F., s. FLATT, R.
- SORKIN, M. und REICHSTEIN, T., Über Gallensäuren und verwandte Stoffe. 31. Mitteilung. Lactone aus 3α,12α-Dioxy-bisnor-cholansäure. Versuch zur Abklärung der räumlichen Lage der Seitenkette in natürlichen Sterinen und Steroiden, 1631.
- STEINHAUSER, HEIDI, s. BERNHARD, KARL.
- STEINMANN, F., s. PRELOG, V.
- STOLL, M., et ROUVÉ, A., Contribution à l'étude des combinaisons carbocycliques (36e communication). Etudes sur la décomposition de sels d'acides polyméthylène-α, ω-dicarboniques, 1570.
- STOLL, M., et ROUVÉ, A., Etude des réactions secondaires de l'ozonolyse d'une liaison éthylénique, 950.
- SÜLLMANN, H., Über die Wirkung der Lipoxydase auf die Oxydation von Eläostearinsäure, 789.
- SULZBERGER, R., s. SCHWARZENBACH, G.
- SULZBERGER, R., s. URECH, P.
- SUSZ, B.-P., s. RUZICKA, L.
- SZPILFOGEL, S., s. PRELOG, V.
- TAGMANN, E., s. PRELOG, V.
- TAGMANN, E., s. RUZICKA, L.
- THEILHEIMER, W., und ERLNMEYER, H., Flotationsversuche mit Pegmatit, 1428.
- THEILHEIMER, W., und ERLNMEYER, H., Über Flotationsversuche mit Flußspat, 1319.
- THEILHEIMER, W., und ERLNMEYER, H., Über Flotationsversuche mit 8-Oxychinolin als Sammler, VI., 1313.
- THEILHEIMER, W., s. ERLNMEYER, H.
- TREADWELL, W. D., EMIL BAUR 1873 bis 1944, 1302.
- TREADWELL, W. D., und FREY, G., Über die Analyse von Messing durch Vakuumdestillation, 42.
- TREADWELL, W. D., und MAUDERLI, B., Zur Kenntnis der Entropiewerte in homologen Reihen salzartiger fester Körper, 567.
- TREADWELL, W. D., s. MAUDERLI, B.
- DE TRAZ, CL., v. BERNFELD, P.
- DE TRAZ, CL., v. MEYER, KURT H.
- URECH, E., s. KLARER, W.
- URECH, P., und SULZBERGER, R., Beitrag zur Kenntnis der Aluminiumchlorid-Äther-Komplexverbindungen, 1328.
- URECH, P., und SULZBERGER, R., Polarographische Natriumbestimmung in Aluminium und Aluminiumlegierungen, 1074.
- USTERI, E., s. KARRER, P.
- VIAUD, PIERRE, v. GOLDSTEIN, HENRI.
- VISCHER, E., und REICHSTEIN, T., Synthese des 2-Desoxy-*d*-chinovose-3-methyl-äthers (*d*-Oleandrose). Desoxyzucker. 5. Mitteilung, 1332.
- VOLLENWEIDER, H., s. JADASSOHN, W.

- WEBER, O., s. BISCHOFF, G.
- WEIL, K., und KUHN, WERNER, Untersuchungen über den optischen Reinheitsgrad von Aminosäuren in natürlichen Eiweißstoffen, 1648.
- WENGER, PAUL-E., et BESSO, Z., A propos de la microanalyse des silicates. Analyse d'une porcelaine de Chine du 18e siècle, 1038.
- WENGER, P., BESSO, Z., et DUCKERT, R., L'éthylxanthate de potassium, réactif analytique. Séparation du cuivre d'avec le nickel, 291.
- WENGER, PAUL, et DUCKERT, ROGER, Etude critique des réactifs des cations. 11. Réactifs des cations du fer (Collaboratrice Mlle Y. RUSCONI), 757.
- WENGER, P., et DUCKERT, R., Etude critique des réactifs des cations. 12. Réactifs des cations et des anions du chrome (Collaboratrice Mlle Y. RUSCONI), 1839.
- WENGER, PAUL, RUSCONI, YVONNE, et DUCKERT, ROGER, Une nouvelle réaction pour l'identification du cérium, 1479.
- WENNER, V. und REICHSTEIN, T., Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe. 66. Mitteilung. Umsetzungen des Androstanol-(3 $\beta$ )-ons- (17) mit Propargylalkohol und weitere Umformungen des entstehenden Acetylderivates, 24.
- WENNER, V., und REICHSTEIN, T., Über Gallensäuren und verwandte Stoffe (30. Mitteilung). Vereinfachte Methode zur Bereitung von 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-ätiocolansäure, 965.
- WERNER, L., s. PLATTNER, PL. A.
- WETTSTEIN, A., Über Steroide (38. Mitteilung. Zur Herstellung von 16-Methylprogesteron und verwandten Verbindungen, 1803.
- WETTSTEIN, A., s. MEYSTRE, CH.
- WIELAND, K. s. v. HALBAN, H.
- WIELAND, P., s. PRELOG, V.
- WILHELM, J., s. FLATT, R.
- WISS, O., s. EDLBACHER, S.
- WUNDERLY, CH., Studien zur Messung des cellularen Faktors, 417.
- VANDERWYK, A. J. A., v. MEYER, KURT H.
- ZALAN, E., s. PRELOG, V.
- ZBINDEN, E., s. KARRER, P.
- ZELLER, E. A., und MARITZ, A., Über eine neue l-Aminosäure-oxydase (1. Mitteilung), 1888.
- ZIMMERMANN, J., Triterpene und Pigmente in Blüten und Früchten, 332.

---

Fasc. I (1. II. 44), pag. 1—236.

Fasc. II (15. III. 44), pag. 237—548.

Fasc. III (2. V. 44), pag. 549—820.

Fasc. IV (15. VI. 44), pag. 821—1016.

Fasc. V (1. VIII. 44), pag. 1017—1224.

Fasc. VI (16. X. 44), pag. 1225—1584.

Fasc. VII (1. XII. 44), pag. 1585—1904.

---