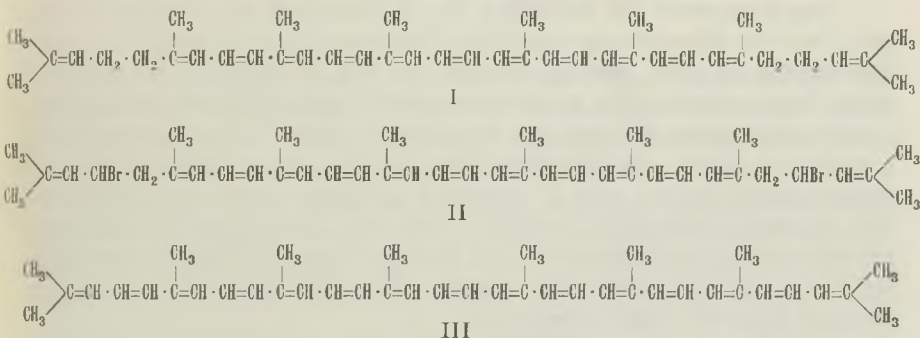


## 102. Dehydro-lycopin, ein Carotinoidfarbstoff mit 15 konjugierten Doppelbindungen

von P. Karrer und J. Rutschmann.

(16. V. 45.)

Durch Einwirkung von 2 Mol Bromsuccinimid auf 1 Mol Lycopin (I) ist es uns gelungen, den Tomatenfarbstoff zu dehydrieren und in Dehydro-lycopin (III) überzuführen. Die Reaktion dürfte sich in der Weise abspielen, dass zuerst ein Dibromderivat, etwa der Formel II entsteht, welches dann spontan 2 Mol Bromwasserstoff verliert und dabei III liefert. Die Tendenz zur Ausbildung des durchgehenden konjugierten Systems scheint die Abspaltung des Bromwasserstoffs zu erleichtern.



Dehydro-lycopin enthält 15 konjugierte Kohlenstoffdoppelbindungen und ist damit unter allen bekannten Polyenen dasjenige mit der höchsten Zahl von Doppelbindungen. Dementsprechend besitzt es auch das längstwellige Absorptionsspektrum. In Schwefelkohlenstoff liegen die Absorptionsmaxima im sichtbaren Spektralbereich bei 601, 557 und 520 m $\mu$ . Die Schwefelkohlenstofflösung des Dehydro-lycopins sieht violett aus; es ist das einzige bekannte Carotinoid, das in einem Lösungsmittel rein violette Farbe zeigt.

Auch seine übrigen Eigenschaften sind bemerkenswert. Es ist in den meisten Lösungsmitteln wie Benzin, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff nur spurenweise löslich; Alkohol wird auch in der Hitze gar nicht angefärbt. In heissem Pyridin löst sich die Verbindung etwas und kann daraus umkristallisiert werden, die Löslichkeit ist aber auch in Pyridin gering.

Das im auffallenden Licht dunkelviolett bis schwarz aussehende Krystallpulver lässt unter dem Mikroskop gradkantig umgrenzte,

vieleckige Blättchen erkennen, die bei genügend dünner Schichtdicke im durchfallenden Licht braun, sonst violettschwarz erscheinen.

Der Zersetzungspunkt des Farbstoffs liegt hoch. Erhitzt man ihn im evakuierten Schmelzpunktsröhrchen, so tritt oberhalb 200° allmählich Entfärbung ein, ohne dass die Verbindung zusammensintert oder schmilzt.

Dehydro-lycopin ist ausserordentlich autoxydabel. Bleibt es in Krystallform mit Luft in Berührung, so bleicht es innert weniger Tage aus, desgleichen eine Lösung des Farbstoffs. Diese leichte Oxydierbarkeit und Spuren einer bromhaltigen Beimengung sind die Ursache, dass die Analyse etwas zu niedrigen Kohlenstoffgehalt ergab. Ein aus Pyridin umkrystallisiertes und nachher im Hochvakuum bei 100° getrocknetes Präparat war nachher in Pyridin nur noch teilweise löslich, vielleicht als Folge eingetretener teilweiser Polymerisation.

Beachtenswert ist weiterhin die Eigenschaft des Dehydro-lycopins, bei der Einwirkung von etwas Zinkstaub und Eisessig auf seine Pyridinlösung sehr schnell (innert 20 Sek.) reduziert zu werden; diese Eigenschaft trifft man vornehmlich bei solchen Carotinoiden, deren konjugiertes System von 2 Carbonyl- oder Carboxylgruppen abgeschlossen wird. Im Torularhodin, welches nach neueren Untersuchungsergebnissen nur 1 Carboxyl enthält, hatten wir allerdings ein Pigment gefunden<sup>1)</sup>, welches von dem genannten Reduktionsmittel ebenfalls reduziert wird. Im Fall des Dehydro-lycopins scheinen stärker hydrierte Reduktionsstufen gebildet zu werden, denn die Lösung entfärbt sich weitgehend.

Mit Antimontrichloridlösung in Chloroform gibt Dehydro-lycopin eine ziemlich beständige Blaufärbung, deren Absorptionsspektrum eine scharfe Bande mit Maximum bei 472 m $\mu$  aufweist; von ca. 640 m $\mu$  ab findet Totalabsorption statt.

Der *Stiftung für wissenschaftliche Forschung an der Universität Zürich* danken wir für die Unterstützung dieser Untersuchung.

### Experimentelles.

200 mg Lycopin wurden mit 140 mg Bromsuccinimid in 20 cm<sup>3</sup> Tetrachlorkohlenstoff 2 Stunden am Rückflusskühler erwärmt. Dabei entwickelte sich etwas Bromwasserstoff. Nach dem Erkalten wurde abgenutscht, und der Niederschlag, bestehend aus Succinimid und dem neuen Farbstoff je zweimal mit Wasser, Methanol, Aceton und Petroläther ausgekocht. Dabei erhielt man 45 mg des rohen Dehydro-lycopins in Form eines schwarzen Krystallpulvers. Die Tetrachlorkohlenstofflösung enthielt noch geringe Mengen nicht in Reaktion getretenes Lycopin und vermutlich Bromierungsprodukte dieses Farbstoffs.

<sup>1)</sup> Helv. **26**, 2109 (1943).

Das Dehydro-lycopin haben wir aus ca. 100 cm<sup>3</sup> siedendem Pyridin umkrystallisiert. Nach dem Einengen der tiefvioletten Lösung im Vakuum auf wenige cm<sup>3</sup> krystallisierte der Farbstoff nach dem Erkalten aus.

|                                 |              |         |
|---------------------------------|--------------|---------|
| C <sub>40</sub> H <sub>52</sub> | Ber. C 90,16 | H 9,84% |
|                                 | Gef. „ 89,11 | „ 9,33% |

Absorptionsmaxima in:

|                      |     |     |             |
|----------------------|-----|-----|-------------|
| Schwefelkohlenstoff  | 601 | 557 | 520 m $\mu$ |
| Hexan . . . . .      | 542 | 504 | 476 m $\mu$ |
| Benzol . . . . .     | 570 | 531 | 493 m $\mu$ |
| Pyridin . . . . .    | 574 | 535 | 498 m $\mu$ |
| Chloroform . . . . . | 567 | 528 | 493 m $\mu$ |

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

### 103. Über Torularhodin II

von P. Karrer und J. Rutschmann.

(16. V. 45.)

Den vor einiger Zeit<sup>1)</sup> in einer roten Hefe, *Torula rubra*, entdeckten Carotinoidfarbstoff *Torularhodin* konnten wir weiter untersuchen. Durch eine verbesserte Aufarbeitungsart liess sich die Ausbeute an Farbstoff auf etwa 3—5 mg pro kg Hefebrei steigern.

Während es uns bisher nicht gelang, das freie Torularhodin völlig aschefrei darzustellen, war dies bei dem gut krystallisierten Methyl-ester leicht zu erreichen. Die Analysen des Methyl-esters sowie des (etwas Asche enthaltenden) Torularhodins machen für letzteres die Bruttoformel C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub> sehr wahrscheinlich; dabei ist allerdings zu betonen, dass ähnliche Formeln, z. B. C<sub>39</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>, nur wenig abweichende Kohlenstoff-Wasserstoff-Werte erfordern würden.

Torularhodin ist eine Monocarbonsäure und enthält ausser dem Carboxyl keine anderen Sauerstoff führenden Gruppen. Aus der Tatsache, dass das Pigment durch etwas Zinkstaub und Eisessig in Pyridin sehr schnell reduziert wird — also unter Bedingungen, die sonst nur zur Reduktion solcher Polyene genügen, deren konjugiertes System von Doppelbindungen durch zwei Carbonyl- oder Carboxylgruppen abgeschlossen wird — hatten wir s. Z.<sup>1)</sup> die Frage erwogen, ob Torularhodin ausser der Carboxylgruppe noch eine Ketogruppe enthalte. Dies ist, wie die weitere Untersuchung zeigte, nicht der Fall.

Der Farbstoff enthält sehr wahrscheinlich 12 konjugierte Kohlenstoffdoppelbindungen, die mit dem Carboxyl konjugiert sind. Mit diesem Chromophor stimmen auch die Absorptionsmaxima des Torularhodins überein. Nicht ganz ausschliessen kann man die Möglichkeit,

<sup>1)</sup> P. Karrer und J. Rutschmann, Helv. 26, 2109 (1943).

dass noch eine dreizehnte, nicht konjugierte Doppelbindung in der Molekel vorkommt; eine eindeutige Entscheidung durch die Mikrohydrierung ist schwierig, da der Unterschied in der Aufnahme von 12 bzw. 13 Mol  $H_2$  fast innerhalb die Fehlergrenzen der Methode fällt und eine isolierte Doppelbindung das Absorptionsspektrum auch nur um ca.  $10 m\mu$  beeinflussen könnte. Die übrigen Eigenschaften des Torularhodins finden sich in unserer ersten Mitteilung über dieses Pigment beschrieben.

Was die Konstitution des Torularhodins betrifft, so darf wohl vermutet werden, dass auch diese Carbonsäure wie andere natürlich vorkommende Polyencarbonsäuren (Crocetin, Bixin, Azafrin) als ein oxydatives Abbauprodukt eines Carotinoids mit 40 C-Atomen aufgefasst werden muss. Ungewiss ist noch die Frage, ob es sich vom Carotin- oder vom offenkettigen Lycopin-Typus ableitet.

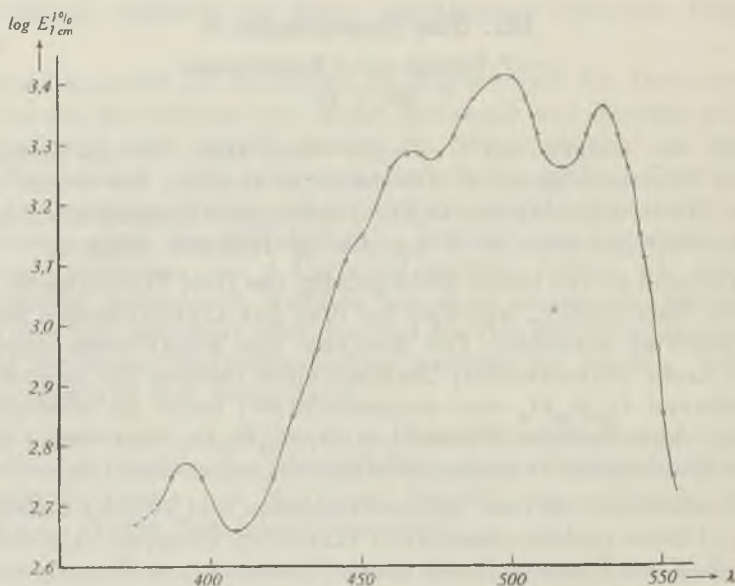


Fig. 1.

Torularhodin-methylester in Hexan.

Herrn Prof. Dr. H. Mooser (Hygiene-Institut der Universität Zürich) sprechen wir für die Aufzucht der *Torula rubra*-Kulturen unseren wärmsten Dank aus. Ferner danken wir der *Stiftung für wissenschaftliche Forschung an der Universität Zürich* für die Gewährung von Mitteln, durch welche die vorliegende Arbeit gefördert wurde.

### Experimenteller Teil.

Die Isolierung des Farbstoffes wurde gegenüber früher<sup>1)</sup> etwas modifiziert. Die Adsorption der Rohextrakte haben wir statt an Zinkcarbonat an Aluminiumoxyd vorgenommen. Die das Pigment enthaltende hellrote Zone wurde mit Äther und Methanol

<sup>1)</sup> Helv. **26**, 2109 (1943).



gewaschen und schliesslich mit Äther-Eisessig 10:1 eluiert. Durch diese Änderungen lässt sich die chromatographische Reinigung bedeutend kürzen und vereinfachen.

Die in der früheren Vorschrift angegebene Fällung des Farbstoffes als Natriumsalz fiel weg. Statt dessen wurde nun das nach der Adsorption in Methanol übergeführte Konzentrat in einer durch Evakuieren entlüfteten Ampulle eingeschmolzen und 2 bis 3 Wochen bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dabei krystallisierte der Farbstoff zusammen mit grösseren Mengen Fettsäuren aus. Letztere wurden durch Waschen mit Petroläther entfernt. Bei raschem Arbeiten blieb so der Farbstoff ungelöst und lag nach dem Auskochen mit Methanol und Petroläther schon ziemlich rein vor. Die Ausbeuten liessen sich durch die beschriebenen Änderungen auf ca. 3—5 mg pro kg Hefebrei steigern.

Trotz mehrmaligem Umkrystallisieren aus Benzol-Methanol konnte das freie Torularhodin nicht aschefrei erhalten werden. Doch zeigten die Analysen von 3 Präparaten mit verschiedenem Aschegehalt ziemlich gute Übereinstimmung:

|                   |  |                     |
|-------------------|--|---------------------|
| $C_{37}H_{48}O_2$ | Ber. C 84,66                             | H 9,24%             |
|                   | Gef. <sup>1)</sup> „ 84,66; 84,55; 84,88 | „ 9,37; 9,23; 9,74% |

Mikrohydrierung: 2,30 mg verbrauchten bei 18,6° und 732 mm 1,265 cm<sup>3</sup> Wasserstoff. Für 12 Doppelbindungen berechnen sich 1,310 cm<sup>3</sup>.

#### Torularhodin-methylester.

28 mg roher Farbstoff wurden in 20 cm<sup>3</sup> Benzol gelöst und mit 1,5 Mol Diazomethan in Äther versetzt. Nach 2 Stunden wurde im Vakuum verdampft und der Rückstand aus Benzol-Methanol umgelöst. Dunkelrote Nadelchen, Smp. 172—173° unkorrr.

|                   |              |        |                        |
|-------------------|--------------|--------|------------------------|
| $C_{38}H_{50}O_2$ | Ber. C 84,71 | H 9,36 | OCH <sub>3</sub> 5,75% |
|                   | Gef. „ 84,74 | „ 9,98 | „ 5,83%                |

Die Verbindung war aschefrei.

|                         |                     |     |     |             |
|-------------------------|---------------------|-----|-----|-------------|
| Absorptionsspektren in: | Schwefelkohlenstoff | 581 | 541 | 502 m $\mu$ |
|                         | Benzol              | 554 | 517 | 484 m $\mu$ |
|                         | Benzin              | 533 | 498 | 468 m $\mu$ |
|                         | Pyridin             | 560 | 519 | 485 m $\mu$ |
|                         | Alkohol             | 533 | 496 | 464 m $\mu$ |

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

## 104. Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus.

### 6. Die Funktion der Aminosäuren und Eiweisskörper als Effektoren des oxydativen Abbaues der Aminosäuren

von S. Edlbacher und O. Wiss.

(18. V. 45.)

In einer Reihe von Mitteilungen haben wir über den enzymatischen Abbau der Aminosäuren berichtet<sup>2)</sup> und gezeigt, dass bei Wahl geeigneter Versuchsbedingungen die optischen Antipoden der Aminosäuren diesen Abbau hemmen können. Diese antipodische Hemmung zeigt deutlich, dass zwischen dem Stoffwechsel der *l*- und *d*-Formen

<sup>1)</sup> Nach Abzug des Aschegehaltes.

<sup>2)</sup> Helv. 27, 1824, 1831 (1944).

Beziehungen bestehen, denen möglicherweise eine grosse physiologische Rolle zufällt. Schon in der letzten Mitteilung<sup>1)</sup> haben wir darauf hingewiesen, dass alle diese Ergebnisse, die wir bisher nur bei Verwendung von Organschnitten, Organbrei und nativen Extrakten erzielten, unter Anwendung von Reinenzymen geprüft werden müssen.

Wir haben nun in der vorliegenden Arbeit die von *O. Warburg* und *Christian*<sup>2)</sup> beschriebene *d*-Aminosäure-oxydase nach dem von *Negelein* und *Brömel*<sup>3)</sup> angegebenen Verfahren weitgehend gereinigt, indem wir diese Reinigung bis zur Spaltung des Symplexes in Protein und Coferment durchführten. In den meisten Fällen wurde als Coferment der über die Phenolextraktion gereinigte Hefekochsaft verwendet. In einzelnen Fällen jedoch gelangte das reine, krystallisierte Bariumsalz des Dinucleotids zur Anwendung. Es ergab sich dabei, dass das rohe Coferment aus Hefephenolextrakt und das reine Dinucleotid in gleicher Weise wirken. Lässt man nun eine konzentrierte Lösung der gereinigten, reaktivierten *d*-Aminosäure-oxydase mit *d*-Alanin reagieren, so wird die oxydative Desaminierung des *d*-Alanins durch verschiedene *l*-Aminosäuren antipodisch gehemmt. Die antipodische Hemmbarkeit ist somit nicht an die Gegenwart von Begleitstoffen geknüpft, sondern eine Eigentümlichkeit der reinen *d*-Aminosäure-oxydase. Lässt man jedoch die gereinigte *d*-Aminosäure-oxydase in geringer Konzentration auf *d*-Aminosäuren einwirken, so verwandelt sich der Hemmungseffekt durch zugesetzte andere Aminosäuren in eine Aktivierung. Es gelingt so, eine durch Verdünnung fast vollständig inaktive Lösung der *d*-Aminosäure-oxydase durch Zugabe anderer Aminosäuren zu ca. fünfzigfacher Aktivität zu steigern. Es zeigte sich weiter, dass der oxydative Abbau der *d*-Aminosäuren durch das verdünnte Reiferment nicht nur durch *l*-, sondern auch durch *d*-Aminosäuren aktiviert werden kann.

Da dieser Aktivierungseffekt der *d*-Aminosäure-oxydase nicht nur beim oxydativen Abbau des *d*-Alanins, sondern auch bei einer grossen Zahl anderer *d*-Aminosäuren eintritt, und da andererseits die Mehrzahl der *d*- und *l*-Aminosäuren als Aktivatoren wirken können, lässt sich das ganze Problem in den einfachen Satz zusammenfassen: Die *l*- und *d*-Aminosäuren sind positive oder negative Effektoren des oxydativen Abbaues der *d*-Aminosäuren. Es hängt nur von der Enzymkonzentration ab, ob eine Hemmung oder Aktivierung stattfindet. Über die physiologischen Konsequenzen dieser Tatsache wird am Schluss dieser Abhandlung noch gesprochen werden. Die einzelnen *l*- und *d*-Aminosäuren wirken verschieden stark als Akti-

<sup>1)</sup> Helv. **27**, 1824, 1831 (1944).

<sup>2)</sup> Bioch. Z. **298**, 150 (1938).

<sup>3)</sup> Bioch. Z. **300**, 225 (1939).

vatoren. Von allen untersuchten Aminosäuren erwiesen sich *l*- und *d*-Histidin bei weitem am wirksamsten.

Diese Untersuchungen wurden auch auf Amine ausgedehnt. Diese zeigen im allgemeinen keinen Aktivierungseffekt, nur durch Histamin liess sich die *d*-Aminosäure-oxydase zu beträchtlicher Aktivität steigern.

Einfache Peptide, sowie Peptone, Protamine und komplizierter zusammengesetzte Proteine erweisen sich auch als Effektoren. Weiterhin liess sich nachweisen, dass der Histidingehalt dieser Stoffe die Aktivierungsgrösse entscheidend beeinflusst.

Intraprotein gebundenes Histidin zeigt demnach dieselbe spezifische Wirkung wie die freie Aminosäure.

#### Methoden.

Als Ausgangsmaterial für gereinigtes Fermentprotein dienten Schweinenieren, da Hammelnieren nicht erhältlich waren. Die Präparation erfolgte nach der Vorschrift von *Negelein* und *Brömel*<sup>1)</sup>. Ursprünglich wurde die Präparation, ausgehend von Schweinenieren-Aceton-trockenpulver, die bis zur Abtrennung des Cofermentes getrieben wurde, täglich frisch vorgenommen. Später bereiteten wir uns in einem grösseren Ansatz ca. 3 g eines Dauerpräparates dieser Reinigungsstufe durch Trocknung bei 0° über Phosphor-pentoxyd im Vakuum. Im Verlauf von 3 Wochen war keine erhebliche Abnahme der Enzymaktivität festzustellen. Das Trockenpulver liess sich — während einer halben Stunde bei 38° mit Phosphatpuffer  $p_H = 8,0$  extrahiert — nur teilweise wieder auflösen. Von dem Rückstand wurde abzentrifugiert, so dass eine wasserklare Lösung resultierte. Den nativen Ratten-Nierenextrakt bereiteten wir wie früher durch Verreiben der frisch entnommenen Nieren mittels Seesand. Als Coferment diente durch Phenolextraktion gereinigter Hefeko-saft<sup>2)</sup> oder das reine Bariumsalz des Dinucleotids.

Zur Messung des Sauerstoff-Verbrauches und der Ammoniak-Bildung verwendeten wir die Methoden von *Warburg* und *Conway*, wie wir sie in früheren Mitteilungen beschrieben haben. Das Substrat, d. h. die *d*-Aminosäure wurde bei dem *Warburg*-Versuch nach einer Temperatur-Ausgleichsperiode von  $\frac{1}{4}$  Stunde eingekippt, während die Aktivierungssubstanz oder der Hemmkörper zu Beginn des Versuchs in den Hauptraum gegeben wurden. Die Gesamtfüssigkeit betrug in allen Fällen 3 cm<sup>3</sup>. Die Brenztraubensäure wurde nach der Salicylaldehyd-Methode nach *Straub*<sup>3)</sup> bestimmt.

#### Hemmung und Aktivierung der *d*-Alaninoxydase durch *l*-Leucin.

Die natürlichen Aminosäuren hemmen den *d*-Aminosäureabbau bei variierter Substratkonzentration und konstanter Reaktionsgeschwindigkeit immer um den gleichen Betrag, d. h. die Aktivitätskurve erleidet eine Parallelverschiebung, wie diese in der 5. Mitteilung<sup>4)</sup> beschrieben wurde. Daraus folgt, dass die prozentuale Hemmung des *d*-Aminosäure-Abbaues vor allem bei Verwendung kleiner Substratkonzentrationen in Erscheinung tritt. Unter geeigneten Bedingungen lässt sich so zeigen, dass der *d*-Alanin-Abbau bei Verwendung von gereinigtem Ferment auch durch sehr kleine *l*-Leucin-Konzentrationen (m/200) hemmbar ist.

<sup>1)</sup> Bioch. Z. **300**, 225 (1939).

<sup>2)</sup> Bioch. Z. **298**, 150 (1938).

<sup>3)</sup> Z. physiol. Ch. **244**, 117 (1936).

<sup>4)</sup> Helv. **27**, und zwar S. 1838 (1944).

Tabelle 1.

5 g Acetontrockenpulver wurden bis zur Ammoniumsulfat-Fällung verarbeitet und der Niederschlag in 22 cm<sup>3</sup> Phosphatpuffer gelöst. Davon wurde 1,5 cm<sup>3</sup> pro Ansatz eingefüllt, p<sub>H</sub> = 7,0, Versuchsdauer 10 Minuten.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | <i>l</i> -Leucin<br>Mol. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | Prozent<br>Hemmung |
|--------------------------|--------------------------|--|--------------------|
| m/200                    | —                        | 40   | —                  |
| m/200                    | m/50                     | 15   | 62%                |
| m/200                    | m/100                    | 21   | 48%                |
| m/200                    | m/200                    | 23   | 42%                |

Bei Verwendung kleinerer Enzymkonzentrationen hingegen verringert sich der Hemmungseffekt. Bei noch weiterer Verdünnung der Enzymlösung erscheint das *l*-Leucin als Hemmkörper inaktiv, um schliesslich in extrem verdünnten Enzymlösungen als Aktivator in Erscheinung zu treten, wie das aus Fig. 1 hervorgeht.

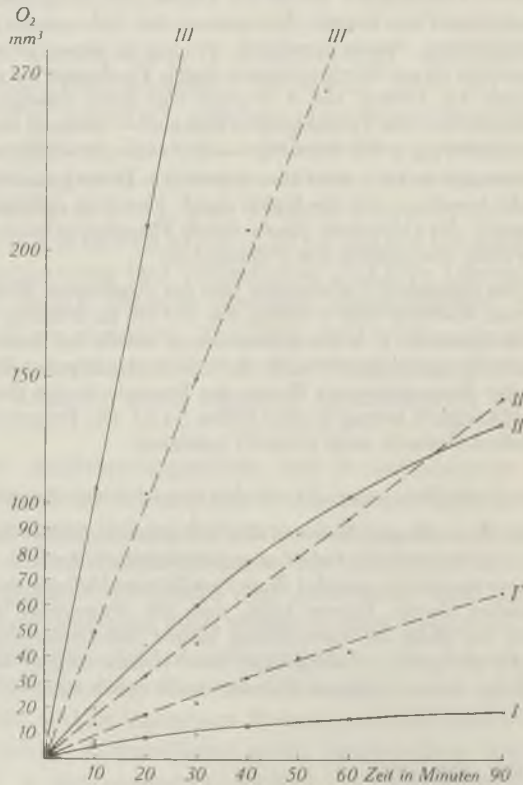


Fig. 1.

--- mit Leucin. — ohne Leucin.



Die Kurvenpaare I, II und III zeigen den *d*-Alaninabbau bei verschiedenen Enzymkonzentrationen mit und ohne *l*-Leucinzusatz. 5 g Acetontrockenpulver aus Schweineiere wurden bis zur Abtrennung des Cofermentes verarbeitet, und die letzte Fällung in 20 cm<sup>3</sup> Phosphatpuffer p<sub>H</sub> = 8 gelöst (= Lösung A). Die Reaktivierung des Enzyms erfolgte durch Zusatz des Cofermentes aus Hefephenolextrakt<sup>1)</sup>. Die *d*-Alanin-Endkonzentration betrug in allen Ansätzen m/50, die *l*-Leucin-Endkonzentration war immer m/40.

Enzymkonzentration I und I' = 0,125 cm<sup>3</sup> Lösung A + 0,0125 cm<sup>3</sup> Hefeextrakt.

Enzymkonzentration II und II' = 0,25 cm<sup>3</sup> Lösung A + 0,025 cm<sup>3</sup> Hefeextrakt.

Enzymkonzentration III und III' = 1,0 cm<sup>3</sup> Lösung A + 0,1 cm<sup>3</sup> Hefeextrakt.

Bei zeitlicher Beobachtung des Reaktionsablaufes zeigte sich, dass zugesetztes *l*-Leucin unter allen Bedingungen den *d*-Alaninabbau beeinflusst. Die Abbaukurven können wohl einzelne Parteien gemeinsam haben, der Reaktionsablauf ist jedoch grundlegend geändert.

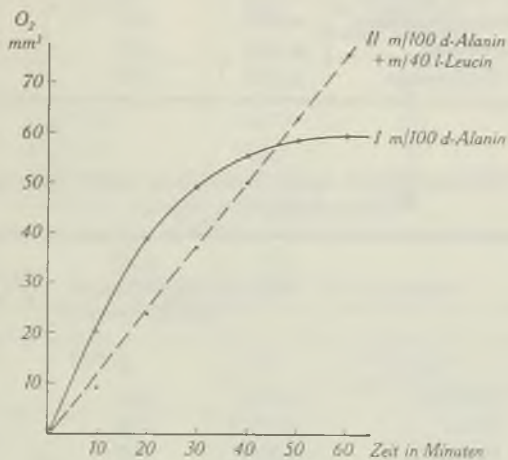


Fig. 2.

Kurve I der Fig. 2 zeigt den Abbau von m/100 *d*-Alanin. (Enzymkonzentration 0,18 cm<sup>3</sup> Lösung A + 0,018 cm<sup>3</sup> Hefeextrakt). Das Absinken der Reaktionsgeschwindigkeit kommt offensichtlich durch Erschöpfung des Enzyms zustande, da das Substrat in grossem Überschuss vorhanden ist. Zugesetztes *l*-Leucin beeinflusst den Reaktionsablauf so, dass der Abbau mit konstanter Reaktionsgeschwindigkeit verläuft (Kurve II, Fig. 2). Anfänglich resultiert eine Hemmung, die sich allmählich in eine Aktivierung umkehrt. *l*-Leucinzusatz wirkt sich also folgendermassen aus: Bei hoher Enzymkonzentration tritt Hemmung ein. Bei mittlerer Enzymkonzentration tritt zuerst Hemmung und später Aktivierung ein. Bei niedriger Enzymkonzentration tritt Aktivierung ein.

#### Aktivierung durch andere *l*-Aminosäuren.

In Erweiterung dieser Beobachtungen haben wir eine grosse Anzahl anderer *l*-Aminosäuren hinsichtlich ihrer Effektorenwirkung auf die *d*-Aminosäure-oxydase untersucht. Dabei zeigte sich, dass alle untersuchten *l*-Aminosäuren eine steigernde Wirkung auf die *d*-Alanin-oxydase ausüben (Tab. 2 a—g).

<sup>1)</sup> Helv. 26, 864 (1943).

**Tabelle 2.**

**a)**

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | Zusatz                   | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|--------------------------|-------|--|---|
| m/50                     | —                        | —     | 15   | —   |
| m/50                     | <i>l</i> -Valin          | m/100 | 89   | 74  |
| m/50                     | <i>l</i> -Leucin         | m/100 | 127  | 112   |
| m/50                     | <i>l</i> -Isoleucin      | m/100 | 80   | 65  |
| m/50                     | <i>l</i> -Phenylalanin   | m/100 | 86   | 71  |
| m/50                     | <i>l</i> -Asparaginsäure | m/100 | 264  | 249   |
| m/50                     | <i>l</i> -Glutaminsäure  | m/100 | 134  | 119   |
| m/50                     | Glykokoll                | m/100 | 122  | 107   |
| m/50                     | <i>l</i> -Tryptophan     | m/100 | 142  | 127   |

**b)**

Als Coferment wurde reines Bariumdinucleotid verwendet.

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | Zusatz              | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|---------------------|-------|--|---|
| m/50                     | —                   | —     | 5  | —   |
| m/50                     | <i>l</i> -Histidin  | m/100 | 340  | 335   |
| m/50                     | <i>l</i> -Lysin     | m/100 | 83   | 78  |
| m/50                     | <i>l</i> -Ornithin  | m/100 | 107  | 102   |
| m/50                     | <i>l</i> -Citrullin | m/100 | 127  | 122   |
| m/50                     | <i>l</i> -Arginin   | m/100 | 101  | 96  |

**c)**

Versuchsdauer: 2 Stunden.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | Zusatz                 | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|------------------------|-------|--|---|
| m/50                     | —                      | —     | 18   | —   |
| —                        | <i>l</i> -Cystin       | m/150 | 11   | —   |
| —                        | <i>l</i> -Tyrosin      | m/200 | 9  | —   |
| —                        | <i>l</i> -Dijodtyrosin | m/200 | 7  | —   |
| m/50                     | <i>l</i> -Cystin       | m/150 | 241  | 212   |
| m/50                     | <i>l</i> -Tyrosin      | m/200 | 139  | 112   |
| m/50                     | <i>l</i> -Dijodtyrosin | m/200 | 76   | 51  |

d)

Versuchsdauer: 2 Stunden.

| d-Alanin Mol. | Zusatz                 | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|---------------|------------------------|-------|--|---|
| m/50          | —                      | —     | 21   | —   |
| —             | <i>d, l</i> -Methionin | m/100 | 94   | —   |
| m/50          | <i>d, l</i> -Methionin | m/100 | 290  | 175   |

e)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| d-Alanin Mol. | Zusatz             | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|---------------|--------------------|-------|--|---|
| m/50          | —                  | —     | 15   | —   |
| —             | <i>l</i> -Prolin   | m/100 | 0  | —   |
| —             | <i>d, l</i> -Serin | m/100 | 4  | —   |
| m/50          | <i>l</i> -Prolin   | m/100 | 78   | 63  |
| m/50          | <i>d, l</i> -Serin | m/100 | 123  | 104   |

f)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| d-Alanin Mol. | Zusatz            | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|---------------|-------------------|-------|--|---|
| m/50          | —                 | —     | 14   | —   |
| —             | <i>l</i> -Cystein | m/100 | 8  | —   |
| m/50          | <i>l</i> -Cystein | m/100 | 130  | 108   |

g)

Versuchsdauer: 2 Stunden.

| d-Alanin Mol. | Zusatz                  | Mol. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbr.<br>abzüglich<br>Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbr.<br>durch<br>Aktivie-<br>rung<br>bedingt | mm <sup>3</sup><br>NH <sub>3</sub> -<br>Bildung<br>abzüglich<br>Leerwert | mm <sup>3</sup><br>NH <sub>3</sub> -<br>Bildung<br>Aktivie-<br>rung<br>bedingt |
|---------------|-------------------------|------|--|---|--|--|
| *m/100        | —                       | —    | 0  | —   | 10   | —  |
| * —           | <i>l</i> -Histidin      | m/50 | 3  | —   | — 46   | —  |
| *m/100        | <i>l</i> -Histidin      | m/50 | 489  | 486   | 603  | 639  |
| m/100         | —                       | —    | 0  | —   | — 3  | —  |
| —             | <i>l</i> -Glutaminsäure | m/50 | 5  | —   | — 17   | —  |
| m/100         | <i>l</i> -Glutaminsäure | m/50 | 235  | 230   | 274  | 294  |

\* Als Coferment wurde reines Bariumdinucleotid verwendet.

In einzelnen Versuchen haben wir statt des durch Phenolextraktion gereinigten Hefekochsaftes, pro Ansatz 10  $\gamma$  reines Bariumdinucleotid verwendet. Bei den einzelnen Versuchen findet sich ein entsprechender Vermerk. Es zeigte sich kein Unterschied bezüglich des Aktivierungseffektes.

Als Enzym wurde das oben beschriebene Trockenpräparat verwendet. Es wurden je 8 mg Pulver mit einem cm<sup>3</sup> Phosphatpuffer p<sub>H</sub> = 8,0 während einer halben Stunde bei 38° extrahiert. Pro Ansatz wurden 0,5 cm<sup>3</sup> Hefeextrakt zugegeben. In vielen Kontrollversuchen haben wir uns vergewissert, dass keine der untersuchten *l*-Aminosäuren unter den hier gewählten Bedingungen einen zusätzlichen Sauerstoff-Verbrauch bewirkte, wenn keine *d*-Aminosäure an der Reaktion beteiligt war. Aus Gründen der Platzersparnis haben wir nur einzelne dieser Versuche hier mitgeteilt.

Die Bestimmung des gebildeten Ammoniaks haben wir nur in einzelnen Versuchen durchgeführt. Pro Mol Sauerstoff-Verbrauch liess sich ein Mol Ammoniak nachweisen. Für den Desaminierungsvorgang allein wird pro Mol Ammoniak nur ½ Mol Sauerstoff verbraucht. Das oben angeführte Verhältnis erklärt sich durch die Abwesenheit der Katalase bei Verwendung gereinigter Enzymlösungen.

#### Aktivierung der *d*-Alaninoxydase durch *d*-Aminosäuren.

Die Wirksamkeit der *d*-Aminosäure-oxydase ist durch streng optische Spezifität ausgezeichnet. Es war deshalb von Interesse festzustellen, ob die Effektorenwirkung nur den optischen Antipoden, d. h. den natürlichen Formen der Aminosäuren zufalle. Es zeigte sich jedoch, dass die *d*-Aminosäuren in gleicher Weise wie ihre optischen Antipoden als Aktivatoren des *d*-Alaninabbaues wirken (Tab. 3).

Tabelle 3.

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin Mol. | Zusatz                   | Mol.  | mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub> -Verbrauch abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub> -Verbrauch d. Aktivierung bedingt |
|-----------------------|--------------------------|-------|--|--|
| m/50                  | —                        | —     | 15   | —  |
| —                     | <i>l</i> -Leucin         | m/100 | 0  | —  |
| —                     | <i>d</i> -Leucin         | m/100 | 86   | —  |
| —                     | <i>l</i> -Asparaginsäure | m/100 | 1  | —  |
| —                     | <i>d</i> -Asparaginsäure | m/100 | 51   | —  |
| —                     | <i>l</i> -Arginin        | m/100 | 1  | —  |
| —                     | <i>d</i> -Arginin        | m/100 | 3  | —  |
| m/50                  | <i>l</i> -Leucin         | m/100 | 115  | 100  |
| m/50                  | <i>d</i> -Leucin         | m/100 | 162  | 61   |
| m/50                  | <i>l</i> -Asparaginsäure | m/100 | 247  | 231  |
| m/50                  | <i>d</i> -Asparaginsäure | m/100 | 287  | 221  |
| m/50                  | <i>l</i> -Arginin        | m/100 | 73   | 57   |
| m/50                  | <i>d</i> -Arginin        | m/100 | 95   | 77   |

Enzym: vgl. Kommentar zu Tabelle 2.



Spezifische Wirkung des *l*- und *d*-Histidins.

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, erwies sich das *l*-Histidin als wirksamster Aktivator des *d*-Alaninabbaus. Die Fortführung dieser Untersuchungen ergab das auffallende Resultat, dass *l*-Histidin noch in äusserst geringer Konzentration wirksam ist. So gelingt es, durch Konzentrationen von m/100000 *l*-Histidin, d. h. mit ca. 1,5  $\gamma$  *l*-Histidin pro cm<sup>3</sup>, noch eine deutliche Aktivierung zu erzielen. Die unnatürliche Form des Histidins erwies sich in genau gleicher Weise wirksam. Keine der übrigen untersuchten Aminosäuren zeigte eine ähnliche spezifische Wirksamkeit. Zum grossen Teil erwiesen sie sich schon in m/1000-Konzentration als unwirksam (Tab. 4).

Tabelle 4.

Als Coferment wurde reines Bariumdinucleotid verwendet.

| <i>d</i> -Alanin Mol.     | <i>l</i> -Histidin Mol. | <i>d</i> -Histidin Mol. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|---------------------------|-------------------------|-------------------------|--|---|
| Versuchsdauer: 2 Stunden. |                         |                         |  |   |
| m/50                      | —                       | —                       | 19   | —   |
| —                         | m/100                   | —                       | 13   | —   |
| —                         | —                       | m/100                   | 50   | —   |
| m/50                      | m/100                   | —                       | 864  | 832   |
| m/50                      | —                       | m/100                   | 848  | 779   |
| Versuchsdauer: 1 Stunde.  |                         |                         |  |   |
| m/50                      | —                       | —                       | 14   | —   |
| —                         | —                       | m/12500                 | - 1  | —   |
| —                         | —                       | m/25000                 | 5  | —   |
| m/50                      | —                       | m/12500                 | 127  | 114   |
| m/50                      | —                       | m/25000                 | 84   | 65  |
| m/50                      | m/12500                 | —                       | 198  | 184   |
| m/50                      | m/25000                 | —                       | 88   | 74  |
| m/25                      | —                       | —                       | 12   | —   |
| m/25                      | —                       | m/50000                 | 64   | 52  |
| m/25                      | —                       | m/100000                | 40   | 28  |
| m/25                      | m/50000                 | —                       | 80   | 68  |
| m/25                      | m/100000                | —                       | 40   | 28  |

Enzym: vgl. Kommentar zu Tabelle 2.

Effektorenwirkung von Derivaten der Aminosäuren.

Im Zusammenhang mit Untersuchungen, die der Abklärung des Aktivierungsmechanismus dienen sollten, haben wir verschiedene Amine und andere Derivate der Aminosäuren untersucht. Keto- und Oxysäuren zeigten keinen aktivierenden Einfluss auf die *d*-Aminosäure-oxydase (Tab. 5a, b).

Tabelle 5.

a)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | Zusatz            | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|-------------------|-------|--|---|
| m/50                     | —                 | —     | 14   | —   |
| m/50                     | Ketoglutarsäure   | m/100 | 18   | 4   |
| m/50                     | Brenztraubensäure | m/100 | 16   | 2   |
| m/50                     | Oxalessigsäure    | m/100 | 16   | 2   |

b)

Versuchsdauer: 2 Stunden.

Als Coferment wurde reines Bariumdinucleotid verwendet.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | Zusatz                            | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|-----------------------------------|-------|--|---|
| m/50                     | —                                 | —     | 19   | —   |
| —                        | <i>l</i> -Histidin                | m/100 | 13   | —   |
| —                        | <i>l</i> -Imidazol-<br>milchsäure | m/100 | 7  | —   |
| m/50                     | <i>l</i> -Histidin                | m/100 | 864  | 832   |
| m/50                     | <i>l</i> -Imidazol-<br>milchsäure | m/100 | 85   | 59  |
| m/50                     | —                                 | —     | 21   | —   |
| —                        | <i>l</i> -Histidin                | m/100 | 5  | —   |
| —                        | <i>d</i> -Imidazol-<br>milchsäure | m/100 | 5  | —   |
| m/50                     | <i>l</i> -Histidin                | m/100 | 696  | 670   |
| m/50                     | <i>d</i> -Imidazol-<br>milchsäure | m/100 | 70   | 44  |
| m/100                    | —                                 | —     | 0  | —   |
| —                        | Milchsäure                        | m/50  | 13   | —   |
| m/100                    | Milchsäure                        | m/50  | 22   | 9   |

Enzym: vgl. Kommentar zu Tabelle 2.

Von den zahlreich untersuchten Aminen erwies sich nur das Histamin als wirksam. Wenn auch seine Effektorenwirkung bedeutend kleiner ist als diejenige des Histidins, so ist der Effekt doch eindeutig nachweisbar (Tab. 6).

Tabelle 6.

Als Coferment wurde reines Bariumdinucleotid verwendet.

Versuchsdauer: 2 Stunden.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | Zusatz                 | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|------------------------|-------|--|---|
| m/50                     | —                      | —     | 19   | —   |
| —                        | <i>l</i> -Histidin     | m/100 | 13   | —   |
| —                        | Histamin               | m/100 | 2  | —   |
| m/50                     | <i>l</i> -Histidin     | m/100 | 864  | 832   |
| m/50                     | Histamin               | m/100 | 407  | 386   |
| m/50                     | —                      | —     | 18   | —   |
| —                        | <i>l</i> -Tyrosin      | m/200 | 9  | —   |
| —                        | Tyramin                | m/200 | 14   | —   |
| m/50                     | <i>l</i> -Tyrosin      | m/200 | 139  | 112   |
| m/50                     | Tyramin                | m/200 | 8  | - 24  |
| m/50                     | —                      | —     | 20   | —   |
| —                        | <i>l</i> -Lysin        | m/100 | 17   | —   |
| —                        | Cadaverin              | m/100 | - 2  | —   |
| —                        | Arcain                 | m/100 | 4  | —   |
| —                        | Agmatin                | m/100 | - 4  | —   |
| —                        | Putrescin              | m/100 | 4  | —   |
| m/50                     | <i>l</i> -Lysin        | m/100 | 120  | 83  |
| m/50                     | Cadaverin              | m/100 | 3  | - 15  |
| m/50                     | Arcain                 | m/100 | 4  | - 12  |
| m/50                     | Agmatin                | m/100 | 5  | - 19  |
| m/50                     | Putrescin              | m/100 | 14   | - 10  |
| m/50                     | —                      | —     | 25   | —   |
| —                        | <i>l</i> -Alanin       | m/100 | - 3  | —   |
| —                        | Athylamin              | m/100 | - 2  | —   |
| m/50                     | <i>l</i> -Alanin       | m/100 | 199  | 177   |
| m/50                     | Äthylamin              | m/100 | 16   | - 7   |
| m/50                     | —                      | —     | 47   | —   |
| —                        | <i>l</i> -Phenylalanin | m/100 | 4  | —   |
| —                        | Phenyläthylamin        | m/100 | 1  | —   |
| —                        | <i>l</i> -Leucin       | m/100 | 4  | —   |
| —                        | <i>l</i> -Isoamylamin  | m/100 | 8  | —   |
| m/50                     | <i>l</i> -Phenylalanin | m/100 | 270  | 219   |
| m/50                     | Phenyläthylamin        | m/100 | 16   | - 32  |
| m/50                     | <i>l</i> -Leucin       | m/100 | 256  | 205   |
| m/50                     | Isoamylamin            | m/100 | 3  | - 52  |

Enzym: vgl. Kommentar zu Tabelle 2.

$\beta$ -Alanin zeigte keine aktivierende Wirkung auf die *d*-Aminosäure-oxydase:

**Tabelle 7.**

Versuchsdauer: 2 Stunden.

| <i>d</i> -Alanin Mol. | $\beta$ -Alanin Mol. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|-----------------------|----------------------|--|---|
| m/50                  | —                    | 18   | —   |
| —                     | m/100                | 7  | —   |
| m/50                  | m/100                | 14   | - 11  |

Enzym: vgl. Kommentar zu Tabelle 2.

Weiterhin haben wir methyl- und benzoylsubstituierte Aminosäuren auf ihre aktivierende Wirkung geprüft. Es zeigte sich, dass die Einführung einer Methylgruppe die Aktivität ganz erheblich herabsetzt, während die mit Benzoyl substituierten Aminosäuren sich als vollständig inaktiv erwiesen:

**Tabelle 8.**

a)

Als Coferment wurde reines Bariumdinucleotid verwendet.

Versuchsdauer: 2 Stunden.

| <i>d</i> -Alanin Mol. | Zusatz                     | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|-----------------------|----------------------------|-------|--|---|
| m/50                  | —                          | —     | 19   | —   |
| —                     | <i>l</i> -Histidin         | m/100 | 13   | —   |
| —                     | $\alpha$ -Benzoyl-histidin | m/100 | 5  | —   |
| m/50                  | <i>l</i> -Histidin         | m/100 | 864  | 832   |
| m/50                  | $\alpha$ -Benzoyl-histidin | m/100 | 22   | - 2   |

b)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin Mol. | <i>l</i> -Histidin Mol. | Methyl-<br>histidin<br>Mol. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|-----------------------|-------------------------|-----------------------------|--|---|
| m/50                  | —                       | —                           | 14   | —   |
| m/50                  | m/100                   | —                           | 341  | 327   |
| m/50                  | m/1000                  | —                           | 317  | 303   |
| m/50                  | —                       | m/100                       | 129  | 115   |
| m/50                  | —                       | m/1000                      | 24   | 10  |



c)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | Zusatz                   | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|--------------------------|-------|--|---|
| m/50                     | —                        | —     | 21   | —   |
| m/50                     | <i>l</i> -Asparaginsäure | m/100 | 258  | 237   |
| —                        | Benzoyl-asparaginsäure   | m/100 | 0  | —   |
| m/50                     | Benzoyl-asparaginsäure   | m/100 | 33   | 12  |

Enzym: vgl. Kommentar zu Tabelle 2.

Ohne aktivierenden Einfluss waren folgende Substanzen: Thyroxin, Harnstoff, Betainchlorid, Glycoeyamin, Urocaninsäure, Kreatin, Guanidin, Nicotylamid, Natriumchlorid.

Wirkungsweise der Peptide.

Peptide erwiesen sich im Prinzip in gleicher Weise aktiv wie die einzelnen Aminosäuren:

Tabelle 9.

a)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | <i>l</i> -Histidin<br>Mol. | Carnosin<br>Mol. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|----------------------------|------------------|--|---|
| m/50                     | —                          | —                | 14   | —   |
| m/50                     | m/1000                     | —                | 317  | 303   |
| m/50                     | m/10000                    | —                | 91   | 77  |
| m/50                     | —                          | m/1000           | 204  | 190   |
| m/50                     | —                          | m/10000          | 84   | 70  |

b)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | Zusatz        | Mol.  | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|---------------|-------|--|---|
| m/50                     | —             | —     | 14   | —   |
| —                        | Glycyl-glycin | m/100 | — 1  | —   |
| m/50                     | Glykokoll     | m/100 | 93   | 79  |
| m/50                     | Glykokoll     | m/50  | 173  | 159   |
| m/50                     | Glycyl-glycin | m/100 | 173  | 160   |

Enzym: vgl. Kommentar zu Tabelle 2.

Wirkungsweise der Protamine und anderer Proteine.

Untersuchungen hinsichtlich der aktivierenden Wirkung von Proteinen bestätigen die in Tabelle 9 angeführten Ergebnisse. Auch zu längeren Peptidketten vereinigte Aminosäuren zeigen die typische Effektorenwirkung. Weiterhin liess sich nachweisen, dass die Intensität der Wirkung vom Histidingehalt abhängig ist. Minimale Konzentrationen histidinhaltiger Eiweisskörper aktivieren dementsprechend in spezifischer Weise. Während die histidinfreien Protamine Clupein, Esocin, Coregonin, Scombrin nur bis m/1000-Konzentration aktivieren, aktiviert das histidinreiche Sturin bei viel niedrigeren Konzentrationen (unter m/5000) noch äusserst stark. Besonders sei auch auf die starke Wirkung des an Histidin reichen Globins und der Globinalbumose hingewiesen:

Tabelle 10.

a)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | <i>l</i> -Histidin<br>Mol. | Sturin<br>Konz. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|----------------------------|-----------------|--|---|
| m/25                     | —                          | —               | 39   | —   |
| m/25                     | m/100                      | —               | 460  | 421   |
| m/25                     | m/1000                     | —               | 449  | 410   |
| m/25                     | m/5000                     | —               | 377  | 338   |
| m/25                     | m/50000                    | —               | 117  | 78  |
| —                        | —                          | (m/100)         | 5  | —   |
| —                        | —                          | (m/1000)        | 5  | —   |
| —                        | —                          | (m/5000)        | 2  | —   |
| —                        | —                          | (m/50000)       | — 4  | —   |
| m/25                     | —                          | (m/100)         | 196  | 152   |
| m/25                     | —                          | (m/1000)        | 388  | 344   |
| m/25                     | —                          | (m/5000)        | 328  | 287   |
| m/25                     | —                          | (m/50000)       | 50   | 15  |

b)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | Sturin<br>Konz. | Scombrin<br>Konz. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|-----------------|-------------------|--|---|
| m/25                     | —               | —                 | 26   | —   |
| m/25                     | (m/500)         | —                 | 349  | 323   |
| m/25                     | (m/10000)       | —                 | 157  | 131   |
| m/25                     | (m/30000)       | —                 | 53   | 27  |
| m/25                     | —               | (m/500)           | 186  | 160   |
| m/25                     | —               | (m/10000)         | 42   | 16  |
| m/25                     | —               | (m/30000)         | 34   | 8   |

c)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin Mol. | Zusatz    | Konz.   | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|-----------------------|-----------|---------|--|---|
| m/25                  | —         | —       | 28   | —   |
| —                     | Coregonin | (m/100) | 4  | —   |
| m/25                  | Coregonin | (m/100) | 51   | 19  |
| —                     | Scombrin  | (m/100) | 0  | —   |
| m/25                  | Scombrin  | (m/100) | 263  | 235   |
| —                     | Esocin    | (m/100) | - 2  | —   |
| m/25                  | Esocin    | (m/100) | 56   | 30  |
| m/25                  | —         | —       | 27   | —   |
| —                     | Esocin    | (m/500) | 3  | —   |
| m/25                  | Esocin    | (m/500) | 49   | 19  |
| —                     | Coregonin | (m/500) | 3  | —   |
| m/25                  | Coregonin | (m/500) | 36   | 6   |

d)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin Mol. | Clupein Konz. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|-----------------------|---------------|--|---|
| m/25                  | —             | 39   | —   |
| —                     | (m/100)       | - 2  | —   |
| —                     | (m/1000)      | 0  | —   |
| —                     | (m/5000)      | - 4  | —   |
| —                     | (m/50000)     | 2  | —   |
| m/25                  | (m/100)       | 132  | 95  |
| m/25                  | (m/1000)      | 131  | 92  |
| m/25                  | (m/5000)      | 33   | - 2   |
| m/25                  | (m/50000)     | 28   | - 13  |

Enzym: vgl. Kommentar zu Tabelle 2.

Tabelle 11.

a)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin Mol. | Zusatz       | Konz.    | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|-----------------------|--------------|----------|--|---|
| m/25                  | —            | —        | 27   | —   |
| —                     | Seidenpepton | (m/500)  | 4  | —   |
| m/25                  | Seidenpepton | (m/500)  | 353  | 322   |
| m/25                  | —            | —        | 24   | —   |
| —                     | Seidenpepton | (m/5000) | - 6  | —   |
| m/25                  | Seidenpepton | (m/5000) | 249  | 231   |

b)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin Mol. | Globalalbumose Konz. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|-----------------------|----------------------|--|---|
| m/25                  | —                    | 42   | —   |
| —                     | (m/500)              | — 1  | —   |
| —                     | (m/5000)             | 0  | —   |
| —                     | (m/20000)            | 5  | —   |
| m/25                  | (m/500)              | 489  | 448   |
| m/25                  | (m/5000)             | 491  | 449   |
| m/25                  | (m/20000)            | 535  | 488   |

Enzym: vgl. Kommentar zu Tabelle 2.

Tabelle 12.

a)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin Mol. | Zusatz  | Konz.    | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|-----------------------|---------|----------|--|---|
| m/25                  | —       | —        | 27   | —   |
| m/25                  | Casein  | (m/500)  | 163  | 136   |
| —                     | Gliadin | (m/500)  | — 1  | —   |
| m/25                  | Gliadin | (m/500)  | 32   | 6   |
| m/25                  | —       | —        | 24   | —   |
| m/25                  | Casein  | (m/5000) | 37   | 13  |
| —                     | Gliadin | (m/5000) | — 6  | —   |
| m/25                  | Gliadin | (m/5000) | 42   | 24  |

b)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin Mol. | Globin*) Konz. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzügl. Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|-----------------------|----------------|--|---|
| m/25                  | —              | 50   | —   |
| —                     | (m/500)        | 9  | —   |
| —                     | (m/5000)       | 5  | —   |
| m/25                  | (m/500)        | 346  | 287   |
| m/25                  | (m/5000)       | 103  | 48  |

\*) Aus Rinderblut.

Enzym: vgl. Kommentar zu Tabelle 2.



Die angegebenen Konzentrationen der Protamine, Peptone und Proteine sind in folgender Weise zu interpretieren: Bei den histidinhaltigen Eiweisskörpern bezieht sich die angegebene Molarität auf den Histidingehalt. Die übrigen Eiweisskörper wurden, sofern das Molekulargewicht bekannt war, in gleicher molarer Konzentration zugesetzt, sonst wurde die dem histidinhaltigen Eiweisskörper entsprechende Konzentration verwendet.

Hinsichtlich der unter Tabelle 10 und 12 angeführten Ergebnisse handelt es sich lediglich um Resultate einiger orientierender Versuche. Es hat sich immerhin gezeigt, dass mehrere gleichzeitig zugesetzte Aminosäuren sich in komplexer Weise gegenseitig beeinflussen, und dass die Konzentrationsverhältnisse von entscheidender Bedeutung sind. Da sich daraus eine sehr grosse Anzahl von Kombinationsmöglichkeiten ergibt, werden weitere ausgedehnte Untersuchungen zur Abklärung dieser Zusammenhänge nötig sein.

Abhängigkeit der Aktivierungsgrösse von der *d*-Alanin-Konzentration.

Die Tatsache, dass Zusatz einer *d*-Aminosäure zur *d*-Aminosäure-oxydase bei Gegenwart einer *l*-Aminosäure eine Steigerung des Sauerstoff-Verbrauchs und der Ammoniak-Bildung bewirkt, beweist noch nicht, dass nur die *d*-Aminosäure vom Abbau betroffen wird. Der Steigerungseffekt minimaler Histidinkonzentrationen lässt sich jedoch nur durch deren Katalysatorwirkung erklären. In Analogie war deshalb anzunehmen, dass *l*-Aminosäuren, in grösserer Konzentration zugesetzt, in gleicher Weise als Katalysatoren wirken. Im gleichen Sinn sprechen auch Abbauprobe bei Zusatz verschiedener Konzentrationen von *d*-Alanin. Es zeigte sich nämlich, dass die Abbaugrösse in typischer Weise von der *d*-Alaninkonzentration abhängt. Ausserdem wird im folgenden Absatz gezeigt, dass beim Abbau von *d*-Alanin immer unter den gegebenen Bedingungen Brenztraubensäure entsteht, während beim Abbau von *d*-Leucin, welches durch Enzym abgebaut wird, das durch *l*-Alanin aktiviert wurde, keine Brenztraubensäure nachweisbar ist. Im Verein mit der oben erwähnten Tatsache, dass Spuren von Histidin den *d*-Aminosäureabbau zu aktivieren vermögen, lässt sich wohl schwerlich eine andere Deutung finden als die, dass die *d*-Aminosäure abgebaut wird, und die *l*-Aminosäure als Aktivator funktioniert.

Tabelle 13.

Versuchsdauer: 2 Stunden.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | <i>l</i> -Histidin<br>Mol. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>abzüglich<br>Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Verbrauch<br>d. Aktivierg.<br>bedingt | mm <sup>3</sup><br>NH <sub>3</sub> -Bildung<br>abzüglich<br>Leerwert | mm <sup>3</sup><br>NH <sub>3</sub> -Bildung<br>d. Aktivierg.<br>bedingt |
|--------------------------|----------------------------|---|--|--|---|
| —                        | m/300                      | 0   | —  | - 14   | —   |
| m/25                     | —                          | 130   | —  | 179  | —   |
| m/50                     | —                          | 38  | —  | 64   | —   |
| m/100                    | —                          | 16  | —  | 38   | —   |
| m/25                     | m/300                      | 508   | 378  | 566  | 401   |
| m/50                     | m/300                      | 324   | 286  | 394  | 344   |
| m/100                    | m/300                      | 186   | 170  | 227  | 203   |

Die Präparation des Enzyms erfolgte wie im Kommentar zu Fig. 1 beschrieben ist. Pro Ansatz wurde 0,18 cm<sup>3</sup> Proteinlösung und 0,036 cm<sup>3</sup> Hefeextrakt verwendet.

Nachweis der Ketonsäuren.

In einzelnen Fällen haben wir die Ketosäuren nachgewiesen. Wird die *d*-Aminosäure-oxydase in gereinigter Form verwendet, so wird die entstehende Ketosäure nach *Holleman* durch das bei der oxydativen Desaminierung entstandene Wasserstoffperoxyd zu der um ein C-Atom ärmeren Fettsäure decarboxyliert. Um die Ketosäuren nachweisen zu können, muss dementsprechend Katalase zugesetzt werden, welche das entstandene Wasserstoffperoxyd sofort zersetzt. Wir verwendeten als Katalase hämolysierte Ratten-Erythrocyten. Es zeigte sich aber, dass dadurch schon eine Aktivierung der *d*-Aminosäure-oxydase zustande kommt. Dieser Effekt war von vornherein zu erwarten, nachdem wir oben zeigen konnten, dass auch nur durch Globinzusatz der Abbau der *d*-Aminosäure stark gesteigert wird. Bei Zusatz von Katalase, *d*-Alanin und *l*-Histidin zur *d*-Aminosäure-oxydase liessen sich beträchtliche Mengen Brenztraubensäure nachweisen. Wurde jedoch der *d*-Leucinabbau durch *l*-Alanin aktiviert, so konnte keine Brenztraubensäure nachgewiesen werden. Wie die Verhältnisse liegen, wenn die Aktivierung durch eine *d*-Aminosäure erfolgt, muss in weiteren Untersuchungen abgeklärt werden:

Tabelle 14.

Katalasezusatz: Ein abgemessenes Volumen Ratten-Citratblut wurde dreimal mit dem zehnfachen Volumen *Ringer*-Lösung ausgewaschen. Das ursprüngliche Volumen wurde mit der fünfzehnfachen Puffermenge versetzt und das in der Tabelle angegebene Volumen verwendet. Enzym: Pro Ansatz wurde 0,18 cm<sup>3</sup> Proteinlösung und 0,036 cm<sup>3</sup> Hefe-Extrakt verwendet:

a)

Versuchsdauer: 2 Stunden.

| Katalase<br>cm <sup>3</sup> | <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | <i>l</i> -Histidin<br>Mol. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Ver-<br>brauch<br>abzüglich<br>Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Ver-<br>brauch<br>durch<br>Aktivie-<br>rung<br>bedingt | mm <sup>3</sup><br>NH <sub>3</sub> -<br>Bildung<br>abzüglich<br>Leerwert | mm <sup>3</sup><br>NH <sub>3</sub> -<br>Bildung<br>durch<br>Aktivie-<br>rung<br>bedingt | Pyruvinat<br>Mol. |
|-----------------------------|--------------------------|----------------------------|--|---|--|---|-------------------|
| 0,1                         | m/100                    | —                          | 110  | —   | 183  | —   | m/587             |
| 0,1                         | —                        | m/50                       | 4  | —   | 21   | —   | 0                 |
| 0,1                         | m/100                    | m/50                       | 271  | 157   | 415  | 211   | m/228             |

b)

Versuchsdauer: 2 Stunden.

| Katalase<br>cm <sup>3</sup> | <i>d</i> -Leucin<br>Mol. | <i>l</i> -Alanin<br>Mol. | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Ver-<br>brauch<br>abzüglich<br>Leerwert | mm <sup>3</sup><br>O <sub>2</sub> -Ver-<br>brauch<br>durch<br>Aktivie-<br>rung<br>bedingt | mm <sup>3</sup><br>NH <sub>3</sub> -<br>Bildung<br>abzüglich<br>Leerwert | mm <sup>3</sup><br>NH <sub>3</sub> -<br>Bildung<br>durch<br>Aktivie-<br>rung<br>bedingt | Pyruvinat<br>Mol. |
|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|--|---|--|---|-------------------|
| 0,1                         | m/50                     | —                        | 120  | —   | 184  | —   | 0                 |
| 0,1                         | —                        | m/100                    | 8  | —   | — 3  | —   | 0                 |
| 0,1                         | m/50                     | m/100                    | 175  | 47  | 264  | 83  | 0                 |

Aktivierung des Abbaues verschiedener *d*-Aminosäuren durch *l*-Histidin.

Die bisher beschriebenen Aktivierungsversuche wurden im wesentlichen am Beispiel des *d*-Alaninabbaues durchgeführt. Wir haben aber auch eine Anzahl anderer *d*-Aminosäuren in entsprechender Weise untersucht. Darüber werden wir in einer späteren Mitteilung berichten. Wir wollen lediglich die Tatsache vorwegnehmen, dass sich die *d*-Aminosäuren in zwei Gruppen einteilen lassen: Der Abbau der ersten Gruppe von *d*-Aminosäuren lässt sich durch andere Aminosäuren stark aktivieren, bei einer zweiten Gruppe ist der Aktivierungseffekt geringfügig oder nicht nachweisbar. Soweit sich die Verhältnisse beim gegenwärtigen Stand der Untersuchung überblicken lassen, finden sich in der ersten Gruppe die Monoamino-monocarbonsäuren, während die zweite Gruppe aus Vertretern der Monoamino-dicarbonsäuren und der basischen Aminosäuren besteht:

Tabelle 15.

a)

Versuchsdauer: 2 Stunden.

| <i>l</i> -Histidin Mol. | Zusatz                   | Mol. | mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub> -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub> -Verbrauch durch Aktivierung bedingt | mm <sup>3</sup> NH <sub>3</sub> -Bildung abzüglich Leerwert | mm <sup>3</sup> NH <sub>3</sub> -Bildung durch Aktivierung bedingt |
|-------------------------|--------------------------|------|--|---|---|--|
| —                       | <i>d</i> -Alanin         | m/50 | 21   | —   | 22  | —  |
| —                       | <i>d</i> -Valin          | m/50 | 11   | —   | 20  | —  |
| —                       | <i>d</i> -Leucin         | m/50 | 13   | —   | 20  | —  |
| —                       | <i>d</i> -Isoleucin      | m/50 | 7  | —   | 18  | —  |
| —                       | <i>d</i> -Phenylalanin   | m/50 | 8  | —   | 40  | —  |
| —                       | <i>d</i> -Histidin       | m/50 | 13   | —   | 12  | —  |
| —                       | <i>d</i> -Asparaginsäure | m/50 | 92   | —   | 112   | —  |
| —                       | <i>d</i> -Glutaminsäure  | m/50 | 13   | —   | 18  | —  |
| m/100                   | —                        | —    | 5  | —   | 6   | —  |
| m/100                   | <i>d</i> -Alanin         | m/50 | 696  | 670   | 917   | 889  |
| m/100                   | <i>d</i> -Valin          | m/50 | 519  | 503   | 834   | 808  |
| m/100                   | <i>d</i> -Leucin         | m/50 | 306  | 288   | 507   | 481  |
| m/100                   | <i>d</i> -Isoleucin      | m/50 | 805  | 793   | 1064  | 1040   |
| m/100                   | <i>d</i> -Phenylalanin   | m/50 | 559  | 546   | 744   | 698  |
| m/100                   | <i>d</i> -Histidin       | m/50 | 69   | 51  | 61  | 43   |
| m/100                   | <i>d</i> -Asparaginsäure | m/50 | 126  | 29  | —   | —  |
| m/100                   | <i>d</i> -Glutaminsäure  | m/50 | 24   | 6   | 9   | -15  |

b)

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>l</i> -Histidin Mol. | Zusatz            | Mol. | mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub> -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm <sup>3</sup> O <sub>2</sub> -Verbrauch d. Aktivierung bedingt |
|-------------------------|-------------------|------|--|--|
| —                       | <i>d</i> -Arginin | m/25 | 12   | —  |
| m/100                   | <i>d</i> -Arginin | m/25 | 31   | 19   |

Enzym: vgl. Kommentar zu Tabelle 2.

Aktivierung von Rohfermenten.

In einigen orientierenden Versuchen haben wir festgestellt, dass auch in ungereinigten Enzymlösungen die Aktivierung nachweisbar ist. Da in solchen Lösungen also Aminosäuren, Peptide und Proteine gleichzeitig auf das Enzym einwirken, kommt es zur Ausbildung komplizierter Gleichgewichte, die auch zur Hemmung der Enzymreaktion führen können. Es war deshalb von vornherein anzunehmen, dass bei Verwendung ungereinigter Enzymlösungen der Aktivierungseffekt in viel geringerem Masse in Erscheinung treten wird.

Tabelle 16.

Rattennieren wurden mit feinem Seesand verrieben, mit der fünffachen Menge Phosphatpuffer  $p_H = 8,0$  versetzt und zentrifugiert. Pro Ansatz wurde  $1\text{ cm}^3$  des Extraktes verwendet.

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | <i>l</i> -Histidin<br>Mol. | $\text{mm}^3$<br>$\text{O}_2$ -Verbrauch<br>abzüglich<br>Leerwert | $\text{mm}^3$<br>$\text{O}_2$ -Verbrauch<br>d. Aktivierg.<br>bedingt | $\text{mm}^3$<br>$\text{NH}_3$ -Bildung<br>abzüglich<br>Leerwert | $\text{mm}^3$<br>$\text{NH}_3$ -Bildung<br>d. Aktivierg.<br>bedingt |
|--------------------------|----------------------------|---|--|--|---|
| m/50                     | —                          | 113   | —  | 227  | —   |
| —                        | m/100                      | 8   | —  | — 1  | —   |
| m/50                     | m/100                      | 140   | 19   | 274  | 48  |

Tabelle 17.

Acetontrockenpulver von Schweinenieren wurde während einer halben Stunde bei  $38^\circ$  mit dem zwanzigfachen Volumen Phosphatpuffer  $p_H = 8$  extrahiert und davon  $0,3\text{ cm}^3$  pro Ansatz verwendet.

Versuchsdauer:  $2\frac{1}{2}$  Stunden.

| <i>d</i> -Alanin<br>Mol. | <i>l</i> -Histidin<br>Mol. | $\text{mm}^3$<br>$\text{O}_2$ -Verbrauch<br>abzüglich<br>Leerwert | $\text{mm}^3$<br>$\text{O}_2$ -Verbrauch<br>d. Aktivierung<br>bedingt |
|--------------------------|----------------------------|---|---|
| m/100                    | —                          | 11  | —   |
| —                        | m/40                       | 3   | —   |
| m/100                    | m/40                       | 50  | 36  |

Schliesslich haben wir in einigen Kontrollversuchen geprüft, ob die zugesetzten *l*-Aminosäuren anstelle des Cofermentes oder Apofermentes wirken könnten. Wie zu erwarten war, hat sich gezeigt, dass nur bei Gegenwart des spezifischen Cofermentes und Apofermentes das Enzym wirksam ist.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus den hier mitgeteilten Tatsachen ergibt sich, dass sich die verschiedenartigsten Aminosäuren beim oxydativen Abbau gegenseitig beeinflussen können. Wirkt das Ferment in hoher Konzentration, so beobachtet man sowohl beim Roh- als auch beim Reiferment die „antipodische Hemmung“, wie sie in den vorangegangenen Mitteilungen<sup>1)</sup> ausführlich beschrieben wurde. Wirkt das

<sup>1)</sup> Helv. 27, 1824, 1831 (1944).



Ferment jedoch in niedriger Konzentration, so beobachtet man nun eine eminente Aktivierung des oxydativen Abbaus der *d*-Aminosäuren. Diese Aktivierung wird nun sowohl durch *d*- als auch durch *l*-Aminosäuren bewirkt. Der Aktivierungseffekt ist umso grösser, je weiter die Reinigung der *d*-Aminosäure-oxydase getrieben ist. Man kann in Bezug auf diesen Aktivierungseffekt die einzelnen Aminosäuren in zwei Gruppen zusammenfassen:

Die erste Gruppe dieser Aminosäuren umfasst diejenigen, deren *l*-Formen durch Schnitte, Hackbrei und Extrakte nur in minimalem Masse abgebaut werden. Der Abbau der *d*-Formen dieser Aminosäuren ist nun durch *l*- und *d*-Aminosäuren äusserst stark aktivierbar. Zu dieser Gruppe gehören alle untersuchten Monoaminomonocarbonsäuren wie Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin.

Die zweite Gruppe der Aminosäuren umfasst solche, deren *l*-Formen durch sehr stark wirkende, spezifische Enzyme in den verschiedenen Organen abgebaut werden. Zu dieser gehören: *l*-Histidin (durch Histidase), *l*-Arginin (durch Arginase), *l*-Glutaminsäure (durch Glutaminsäure-dehydrase), *l*-Asparaginsäure, die durch ein Enzym abgebaut wird, welches sich höchst wahrscheinlich von den übrigen Aminosäure-oxydasen unterscheidet, wie der Eine von uns gemeinsam mit *H. Grauer* in der 2. Abhandlung<sup>1)</sup> durch die spezifische Hemmbarkeit nachgewiesen hat. Diese zweite Gruppe von Aminosäuren verhält sich so, dass der Abbau ihrer *d*-Formen durch die Gegenwart anderer *l*- und *d*-Aminosäuren wohl prinzipiell auch aktiviert werden kann, dass diese Aktivierung jedoch nur ganz minimal ist. Überraschenderweise wirken jedoch Aminosäuren dieser zweiten Gruppe als die stärksten Aktivatoren des Abbaues der *d*-Monoamino-monocarbonsäuren und zwar wirkt *l*- und *d*-Histidin am allerstärksten, so dass wenige Gamma dieser Aminosäure pro cm<sup>3</sup> genügen, um in manchen Fällen eine zwanzigfache Aktivierung herbeizuführen. Nach der Stärke des Aktivierungseffekts ordnen sie sich zu der folgenden Reihe: *l*- und *d*-Histidin → *l*- und *d*-Asparaginsäure → *l*- und *d*-Glutaminsäure → *l*- und *d*-Arginin.

Die Versuche mit verschiedenen Proteinen und Peptiden zeigen weiterhin, dass der Histidingehalt der einzelnen Proteine für die Aktivierung des oxydativen Abbaues der *d*-Monoamino-monocarbonsäuren integrierend ist. Sie zeigen also, dass nicht nur freie Aminosäuren den oxydativen Abbau der einfachen Aminosäuren entscheidend beeinflussen, sondern dass auch das intraprotein gebundene Histidin die gleiche Wirkung hat. Durch diese Beobachtung wird nun auch in anderer Hinsicht ein Ausblick eröffnet. Es ist wahrscheinlich, dass die von *F. Miescher* zuerst beobachtete Liquidation des Körpereiwisses bei der Protaminbildung durch derartige Phäno-

<sup>1)</sup> Helv. 27, 928 (1944).

mene gesteuert wird. Die spezifische Auswahl der Eiweissbausteine, die bei diesem Umbau von Körpereiwiss stattfindet, indem gewisse Aminosäuren dem oxydativen Abbau anheimfallen und andere, besonders die Hexonbasen, gespeichert werden, ist wahrscheinlich durch derartige Aktivierungsvorgänge erklärbar. Wenn z. B. im Protamin Clupein sich nur die Aminosäuren Arginin, Alanin, Serin, Valin und Prolin vorfinden, während *Steudel* und *Suzuki*<sup>1)</sup> in der Hoden-Zwischenflüssigkeit Leucin, Tyrosin, Lysin, Histidin, Cystein und Tryptophan fanden, so ist es wohl höchst wahrscheinlich, dass eine derartige spezifische Auswahl von Eiweissbausteinen durch ein Regulations-System bewirkt wird, welches im Prinzip auf der von uns beobachteten Effektorenwirkung einzelner Aminosäuren und Eiweisskörper beruht. Im speziellen müsste das natürlich noch untersucht werden.

Es ist weiterhin bemerkenswert, dass auch das Decarboxylierungsprodukt des Histidins, das Histamin, wie wir oben gezeigt haben, gegenüber allen anderen Aporrhegen eine Vorzugsstellung einnimmt, indem es das einzige biogene Amin ist, welches den oxydativen Abbau der *d*-Aminosäuren stark zu aktivieren vermag.

Alle diese Tatsachen drängen zu der Frage nach der Bedeutung der *d*-Aminosäure-oxydase für den Eiweissstoffwechsel. Die bisherigen Vorstellungen, die besonders durch die bekannten Arbeiten von *Kögl* und vieler anderer entwickelt wurden, setzen als biologische Funktion der *d*-Aminosäure-oxydase die Aufrechterhaltung der optischen Reinheit der Proteine. Auf Grund unserer Beobachtungen möchten wir hier aber noch auf eine weitere Möglichkeit hinweisen. Die gewaltige Aktivität der *d*-Aminosäure-oxydase im Gegensatz zu der minimalen Abbaugrösse der *l*-Monoamino-monocarbonsäuren hätte keinen physiologischen Sinn, wenn tatsächlich nur Spuren von *d*-Aminosäuren im Stoffwechsel auftreten würden. Wenn man aber die Annahme macht, dass der Abbau der Aminosäuren in der Weise erfolgt, dass durch ständige Aminierungen und Umaminierungen im Sinne von *F. Knoop*, sowie von *Braunstein* und *Kritzmann*<sup>2)</sup> der ganze Eiweiss-Stoffwechsel so stattfindet, dass der Abbau der Aminosäuren über die *d*-Formen geht, indem bei der Neubildung von Aminosäuren sich immer solche *d*-Formen intermediär bilden, so würden diese von uns mitgeteilten Beobachtungen eine Klärung über den Weg dieses Abbaues bringen. Dies ist natürlich zunächst nur eine Hypothese. Aber gewisse Andeutungen in den Arbeiten von *Braunstein* weisen darauf hin, dass die Umaminierungsreaktionen nicht streng optisch spezifisch verlaufen. Wir werden deshalb in dieser Hinsicht Untersuchungen durchführen.

<sup>1)</sup> Z. physiol. Ch. 127, 1 (1922).

<sup>2)</sup> Enzymol. 2, 129, 138 (1937), 7, 25 (1939).

Green<sup>1)</sup> berichtet über Versuche, die zur Isolierung einer löslichen *l*-Aminosäure-oxydase geführt haben. Da uns diese Arbeit nur im Referat zugänglich ist, können wir die Aktivität seines Enzyms nicht mit unseren Versuchen vergleichen. Auch sei hier in diesem Zusammenhang auf die interessanten Untersuchungen von A. Zeller<sup>2)</sup> hingewiesen, der im Schlangengift eine äusserst aktive Ophio-*l*-Aminosäure-oxydase gefunden hat. Es sei hier ausdrücklich hervorgehoben, dass wir nicht annehmen, dass im Säugergewebe gar keine spezifischen *l*-Aminosäure-oxydasen existieren. Die eminente Aktivität der *d*-Aminosäure-oxydase lässt sich aber zunächst nur mit der Vorstellung des von uns vermuteten Reaktions-Schemas erklären. Die Zeller'sche Ophio-*l*-Aminosäure-oxydase, die bei den Reptilien auftritt, stellt einen wichtigen Spezialfall eines Enzyms dar, der selbstverständlich nicht ohne weiteres mit den Stoffwechselfvorgängen im Säugerorganismus verglichen werden kann. Ihre grosse Aktivität zeigt, dass auf phylogenetischer und ökologischer Grundlage Enzymsysteme sich zu maximaler Leistungsfähigkeit entwickeln können.

Die beschriebene Effektorenwirkung gewisser Aminosäuren und Eiweisskörper eröffnet einen Weg zur Klärung der spezifisch-dynamischen Wirkung der Aminosäuren.

#### Zusammenfassung.

1. Es werden Versuche über die Hemmung und Aktivierung der *d*-Aminosäure-oxydase mitgeteilt.

2. Gereinigte *d*-Aminosäure-oxydase in niedriger Konzentration wird durch alle untersuchten *d*- und *l*-Aminosäuren aktiviert.

3. Die oxydative Desaminierung der *d*-Monoamino-monocarbonsäuren wird am stärksten durch *l*- und *d*-Histidin aktiviert und zwar wirkt diese Aminosäure schon in Gammakonzentration pro cm<sup>3</sup>.

4. Je weiter die Reinigung der *d*-Aminosäure-oxydase getrieben wird, desto stärker ist der Aktivierungseffekt.

5. Diejenigen Aminosäuren, deren *l*-Formen durch spezifische Enzyme abgebaut werden, wie Histidin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Arginin wirken entsprechend der angegebenen Reihenfolge als besonders starke Aktivatoren.

6. Proteine wirken ebenfalls als Aktivatoren der *d*-Aminosäure-oxydase. Je reicher an Histidin sie sind, desto stärker wirken sie.

Erl. Frieda Nebiker hat bei den Versuchen wertvolle Hilfe geleistet.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

<sup>1)</sup> J. Biol. Chem. **148**, 461 (1943).

<sup>2)</sup> Helv. **28**, 365 (1945).

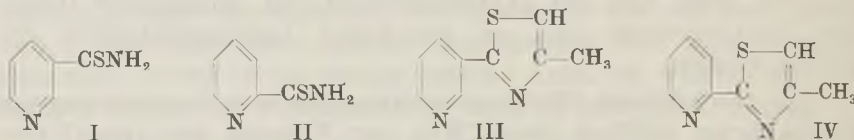


## 105. Über einige Verbindungen mit verketteten Thiazol-, Phenyl- und Pyridinringen

von P. Karrer und J. Schukri.

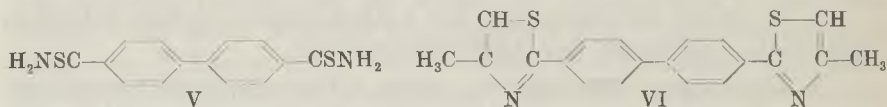
(26. V. 45.)

Im Zusammenhang mit früheren synthetischen Arbeiten auf dem Thiazolgebiet<sup>1)</sup> haben wir eine Reihe neuer Thiazolverbindungen synthetisiert, in denen der Thiazolring mit anderen Ringsystemen kombiniert ist. So wurden aus Nicotinsäure-thioamid (I) und  $\alpha$ -Picolinsäure-thioamid (II), die beide noch nicht beschrieben worden sind, und Chloraceton das 2- $[\beta$ -Pyridyl]-4-methyl-thiazol (III) und das 2- $[\alpha$ -Pyridyl]-4-methyl-thiazol (IV) erhalten.



Beide Verbindungen sind farblos, krystallisieren leicht und zeigen einen charakteristischen Geruch. Eine Lösung von IV lässt schon bei Tageslicht eine deutliche violette Fluoreszenz erkennen, die bei Zusatz von wenig Salzsäure oder Schwefelsäure stärker wird. Im Ultraviolettlicht fluoresciert die Lösung intensiv violett. — Lösungen der Verbindung III lassen nur im Ultraviolettlicht eine grünlich-blaue Fluoreszenz wahrnehmen.

Im weiteren wurde das Diphenyl-4,4'-dicarbonsäure-dithiodiamid (V) dargestellt und mit Chloraceton zum p,p'-[4,4'-Dimethyl-dithiazolyl-2,2']-diphenyl (VI) kondensiert.

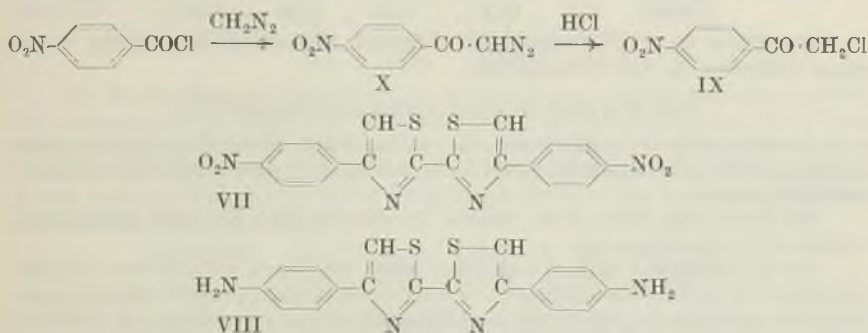


Dieses bildet farblose, glänzende Blättchen vom Smp. 208°. Das durch die verketteten 2 Thiazol- und 2 Phenyl-Kerne gebildete Chromophor ist nicht stark genug, um die Absorption in das Gebiet der sichtbaren Wellenlängen zu verschieben. Eine Lösung des p,p'-[4,4'-Dimethyl-dithiazolyl-2,2']-diphenyls in Alkohol zeigt im Tageslicht starke violette Fluoreszenz, die sich nach Zusatz von Salzsäure oder Schwefelsäure noch verstärkt. Im U.V.-Licht ist die violette Fluoreszenz sehr stark.

<sup>1)</sup> Helv. 27, 619, 624 (1944); 28, 315 (1945).



Schliesslich haben wir noch das 4,4'-[Di-p-nitrophenyl]-2,2'-dithiazolyl (VII) und das 4,4'-[Di-p-aminophenyl]-2,2'-dithiazolyl (VIII) dargestellt, in denen die Phenyl- und Thiazolkerne in anderer Art verkettet sind als in der Verbindung VI. Ausgangsprodukte für die Synthese von VII war das  $\omega$ -Chlor-p-nitro-acetophenon (IX), welches man aus p-Nitrobenzoylchlorid und Diazomethan über das  $\omega$ -Diazo-p-nitro-acetophenon (X) erhielt. Durch Kondensation von 2 Mol  $\omega$ -Chlor-p-nitro-acetophenon mit Rubeanwasserstoff bildete sich das 4,4'-[Di-p-nitrophenyl]-2,2'-dithiazolyl (VII). Diese Verbindung löst sich in konz. Schwefelsäure mit gelbgrüner Farbe; diese Lösung zeigt im Ultraviolettlcht starke blaugrüne Fluoreszenz.



Die Tetra-azoverbindung des 4,4'-[Di-p-aminophenyl]-2,2'-dithiazolyls (VIII) kuppelt mit Naphtionsäure zu einem roten, substantiven Disazofarbstoff, mit H-Säure (sauer) zu einem blau-violetten Farbstoff.

### Experimenteller Teil.

#### Nicotinsäure-thioamid (Formel I).

10,0 g Nicotinsäure-nitril<sup>1)</sup> werden in 20 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und 80 cm<sup>3</sup> alkoholisches Ammoniak zugesetzt. Hierauf sättigt man die Lösung mit Schwefelwasserstoff und lässt sie 1—2 Tage verschlossen bei Zimmertemperatur stehen. Hierbei scheidet sich das Nicotinsäure-thioamid als Krystallpulver aus. Es wird abgenutscht und aus Wasser oder Alkohol umkrystallisiert. Smp. 180—181°. Glänzende, gelbe Nadeln. Ausbeute 11,5 g.

#### Picolinsäure-thioamid (Formel II).

Diese Verbindung stellt man aus Picolinsäure-nitril in analoger Weise her wie das vorgeschriebene Nicotinsäure-thioamid. Sie bildet gelborange, feine Nadeln vom Smp. 137° (aus Alkohol krystallisiert). Ausbeute fast quantitativ.

|  |              |        |         |          |
|--|--------------|--------|---------|----------|
| $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{S}$ | Ber. C 52,16 | H 4,37 | N 20,29 | S 23,20% |
|  | Gef. „ 51,82 | „ 4,38 | „ 20,34 | „ 23,29% |

#### 2-[ $\beta$ -Pyridyl]-4-methyl-thiazol (Formel III).

1,0 g Nicotinsäure-thioamid wird in 3—4 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol gelöst und mit 1,0 g Chloraceton ca. 8—10 Stunden am Rückflusskühler zum Sieden erhitzt. Hierauf destilliert man den Alkohol im Vakuum ab und lässt den Rückstand in der Kälte stehen.

<sup>1)</sup> Ar. 240, 368 (1902).

Dabei scheidet sich das 2-[ $\beta$ -Pyridyl]-4-methyl-thiazol-hydrochlorid in gelblichen Krystallen aus, die man nach dem Absaugen aus wenig Alkohol umkrystallisiert. Farblose, feine Nadeln vom Smp. 198—199°. Die Verbindung ist in Wasser und Alkohol leicht löslich. Ausbeute 0,9 g.

|                        |               |         |          |           |
|------------------------|---------------|---------|----------|-----------|
| $C_9H_8N_2S \cdot HCl$ | Ber. C 50,82  | H 4,26  | N 13,17  | S 15,07%  |
| (212,5)                | Gef. ,, 50,74 | ,, 4,19 | ,, 12,27 | ,, 15,35% |

Aus diesem Hydrochlorid gewinnt man die 2-[ $\beta$ -Pyridyl]-4-methyl-thiazol-Base durch Auflösen von 1 g des Salzes in 2—3 cm<sup>3</sup> Wasser, Zusatz von fester Soda, Ausziehen mit Äther, Verdampfen der Ätherlösung und Destillation des Rückstandes. Dieser destilliert in einer Kugelhöhre unter 10 mm Druck bei 150—154° (Luftbadtemperatur) und erstarrt beim Abkühlen sofort. Zur weiteren Reinigung wird die Substanz zweimal aus Petroläther umkrystallisiert. Sie bildet farblose, feine Nadeln vom Smp. 42°.

|              |               |         |          |           |
|--------------|---------------|---------|----------|-----------|
| $C_9H_8N_2S$ | Ber. C 61,34  | H 4,57  | N 15,90  | S 18,20%  |
| (176,06)     | Gef. ,, 61,31 | ,, 4,45 | ,, 15,60 | ,, 18,61% |

Das Pikrat des 2-[ $\beta$ -Pyridyl]-4-methyl-thiazols krystallisiert aus Alkohol in hellgelben Blättchen, die bei 178° schmelzen.

#### 2-[ $\alpha$ -Pyridyl]-4-methyl-thiazol (Formel IV).

Das Hydrochlorid der Base wurde aus 1 g Picolinsäure-thioamid und 1 g Chloraceton in analoger Weise erhalten wie das vorstehend beschriebene Hydrochlorid des 2-[ $\beta$ -Pyridyl]-4-methyl-thiazols.

Die Verbindung bildet kleine farblose Nadeln vom Smp. 170—172° (aus Alkohol). Ausbeute 61% der Theorie.

Die 2-[ $\alpha$ -Pyridyl]-4-methyl-thiazol-Base erhält man durch Auflösen von 1 g Hydrochlorid in 5—7 cm<sup>3</sup> Wasser und Zusatz von Soda, wobei sie sich fest und farblos abscheidet. Man zieht mit Äther aus, verdampft das Lösungsmittel und krystallisiert den Rückstand zweimal aus Alkohol um. Zur weiteren Reinigung haben wir die Verbindung unter 10 mm Druck sublimiert (Sublimationstemperatur 140—145°) und schliesslich noch aus Aceton und aus Petroläther umkrystallisiert. Farblose Krystalle vom Smp. 84—84,5°.

|              |               |         |          |           |
|--------------|---------------|---------|----------|-----------|
| $C_9H_8N_2S$ | Ber. C 61,34  | H 4,57  | N 15,90  | S 18,20%  |
|              | Gef. ,, 61,38 | ,, 4,40 | ,, 15,72 | ,, 18,25% |

Das Pikrat, in ätherischer Lösung dargestellt und aus Alkohol umkrystallisiert, bildet lange, gelbe Säulen vom Smp. 139°.

#### Diphenyl-4,4'-dicarbonsäure-dithio-diamid (Formel V).

0,5 g 4,4'-Dicyan-diphenyl<sup>1)</sup> wurden in 30 cm<sup>3</sup> Alkohol in der Hitze gelöst und nach dem Erkalten mit 20 cm<sup>3</sup> Alkohol, der bei —5° mit Ammoniak gesättigt worden war, vereinigt. In diese Lösung leitete man während 4—5 Stunden bei 10° Schwefelwasserstoff ein und liess sie hierauf 3 Tage bei Raumtemperatur stehen. Das ausgeschiedene Dithioamid wurde abgesaugt, mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und aus wässrigem Pyridin umkrystallisiert. Gelbes Pulver vom Smp. 250°. Ausbeute 0,5 g.

#### p,p'-[4,4'-Dimethyl-dithiazolyl-2,2']-diphenyl (Formel VI).

1 g Diphenyl-4,4'-dicarbonsäure-dithio-diamid wurde in 30 cm<sup>3</sup> Alkohol in der Wärme gelöst und mit 7 cm<sup>3</sup> Chloraceton 8 Stunden unter Rückflusskühlung auf dem Wasserbad erhitzt. Dann destillierte man den Alkohol und das überschüssige Chloraceton im Vakuum ab und krystallisierte den Rückstand aus etwas verdünnter Essigsäure um. Zur weiteren Reinigung wurde das p,p'-[4,4'-Dimethyl-dithiazolyl-2,2']-diphenyl im Hochvakuum sublimiert (Sublimationstemperatur 155—165°) und schliesslich zweimal aus Benzol umkrystallisiert. Ausbeute 0,9 g.

Die Verbindung bildet farblose Blättchen vom Smp. 208°. Sie ist unlöslich in Wasser, schwer löslich in Alkohol und Äther, leichter löslich in Pyridin, Benzol und Eisessig.

<sup>1)</sup> Ferriss und Turner, Soc. 117, II, 1149 (1920).

Die Lösungen der Verbindung fluorescieren violett, besonders stark im Ultraviolett; Säurezusatz verstärkt die Fluorescenz.

|                      |              |        |        |          |
|----------------------|--------------|--------|--------|----------|
| $C_{20}H_{16}N_2S_2$ | Ber. C 68,94 | H 4,62 | N 8,04 | S 18,40% |
|                      | Gef. „ 68,85 | „ 4,82 | „ 8,36 | „ 18,50% |

Das Pikrat, in Benzollösung hergestellt und aus Pyridin mit geringem Wasserzusatz umkrystallisiert, ist gelb und schmilzt bei 235°.

$\omega$ -Chlor-p-nitro-acetophenon (Formel IX).

Die Lösung von 10 g p-Nitrobenzoylchlorid in Äther wurde in eine ätherische Lösung von 6—7 g Diazomethan bei 0° unter Rühren eingetropt. Das Reaktionsgemisch blieb bei —10° über Nacht stehen, wobei das Diazoketon ( $\omega$ -Diazo-p-nitro-acetophenon) auskrystallisierte; aus der Mutterlauge liessen sich nach dem Einengen weitere Mengen gewinnen. Die Verbindung wurde aus Ligroin oder Methanol umkrystallisiert. Ausbeute 10 g. Smp. 118°.

|                |              |        |          |
|----------------|--------------|--------|----------|
| $C_8H_5O_3N_3$ | Ber. C 50,25 | H 2,66 | N 21,98% |
|                | Gef. „ 50,20 | „ 2,79 | „ 21,75% |

Zur Umwandlung des Diazoketons in  $\omega$ -Chlor-p-nitro-acetophenon haben wir 10 g des ersteren in 80 cm<sup>3</sup> Eisessig in der Wärme gelöst und in diese Lösung 15 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure langsam eintropfen gelassen. Nach dem Nachlassen der Stickstoffentwicklung wurde das Gemisch 15 Minuten auf 30—40° erwärmt und hierauf in Wasser gegossen, worauf sich das Chlorketon in feinen Nadelchen ausschied. Aus Ligroin oder Methanol umkrystallisiert schmolz es bei 91°<sup>1)</sup>.

|                |              |        |        |           |
|----------------|--------------|--------|--------|-----------|
| $C_8H_6O_3NCl$ | Ber. C 48,12 | H 3,02 | N 7,02 | Cl 17,77% |
|                | Gef. „ 48,12 | „ 3,13 | „ 7,07 | „ 17,91%  |

4,4'-[Di-p-nitrophenyl]-2,2'-dithiazolyl (Formel VII).

2,0 g pulverisierter Rubeanwasserstoff wurden in ca. 50 cm<sup>3</sup> Alkohol in der Wärme gelöst und hierauf 8 g  $\omega$ -Chlor-p-nitro-acetophenon eingetragen. Beim Erwärmen löste sich letzteres auf. Man erhitzte die Flüssigkeit am Rückflusskühler zum Sieden, worauf sich nach ca. 1 Stunde das Kondensationsprodukt auszuschcheiden begann. Dieses wurde nach 8stündigem Kochen des Reaktionsgemisches heiss abgenutscht, mit Alkohol gewaschen und getrocknet. Durch weiteres Kochen der Mutterlaugen fallen neue Mengen 4,4'-[Di-p-nitrophenyl]-2,2'-dithiazolyl aus. Die Umkrystallisation der Verbindung erfolgte aus Acetessigsäure-äthylester. Sie bildet feine, gelbe Nadeln und schmilzt unter Zersetzung bei 310—312° (unkorr.). Ausbeute 5 g (73,5% der Theorie). Zur Analyse wurde bei 120° im Vakuum getrocknet.

|                         |              |        |         |          |
|-------------------------|--------------|--------|---------|----------|
| $C_{18}H_{10}O_4N_4S_2$ | Ber. C 52,68 | H 2,45 | N 13,65 | S 15,61% |
|                         | Gef. „ 52,64 | „ 2,56 | „ 13,70 | „ 16,24% |

Die Substanz löst sich in konz. Schwefelsäure mit gelbgrüner Farbe; die Lösung lässt bei Tageslicht schwache, unter der Ultraviolettlampe starke blaugrüne Fluorescenz erkennen.

4,4'-[Di-p-aminophenyl]-2,2'-dithiazolyl (Formel VIII).

10,0 g der Nitroverbindung wurden fein pulverisiert und mit 1½ Liter Eisessig in der Wärme behandelt, wobei ein kleiner Teil der Substanz ungelöst blieb. In diese Lösung gab man 10 g Eisenpulver. Beim Erwärmen auf etwa 50—60°, dauerndem Schütteln und tropfenweisem Zusatz von Salzsäure löste sich das Eisen langsam auf, während sich das Reduktionsprodukt ausschied. (Dauer der Reduktion 3—4 Stunden). Nach Be-

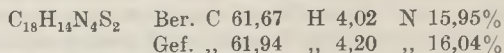
<sup>1)</sup> R. T. Dale und M. Nierenstein (B. 60, 1026 (1927)) geben an,  $\omega$ -Chlor-4-nitroacetophenon über das nicht beschriebene Diazoketon hergestellt zu haben und finden für die Verbindung den Smp. 107°. Dieser stimmt mit dem von uns beobachteten (91°) nicht überein.



endigung des Auflörens des Eisens saugte man die ausgefallene Verbindung ab, suspendierte sie in ca. 200 cm<sup>3</sup> Wasser und neutralisierte mit Natriumacetat, wobei ein Niederschlag ausfiel. Nach dem Erkalten wurde dieser abgesaugt, mit Wasser gut ausgewaschen und getrocknet.

Das so erhaltene rohe 4,4'-[Di-p-aminophenyl]-2,2'-dithiazolyl haben wir aus einer Mischung von Alkohol und Pyridin (1:1) umkrystallisiert. Smp. 272—275° (unter geringer Zersetzung). Ausbeute 7 g (82,2% der Theorie).

Zur Analyse wurde das Amin noch einmal aus Alkohol-Pyridin (1:1) umkrystallisiert und 4 Stunden bei 100° im Vakuum getrocknet.



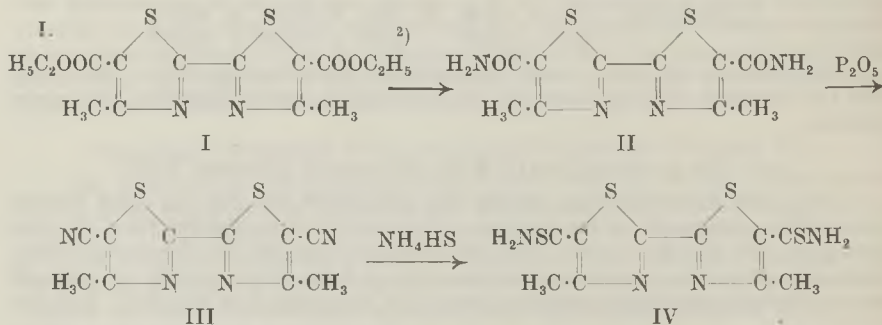
Zürich, Chemisches Institut der Universität.

### 106. Über zwei Tetrathiazolverbindungen

von P. Karrer und W. Graf.

(26. V. 45.)

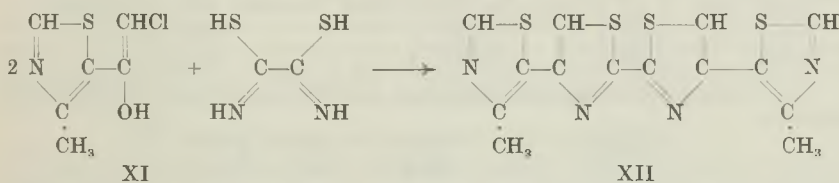
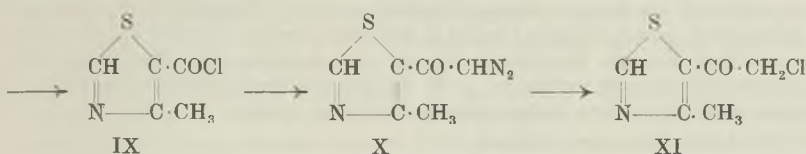
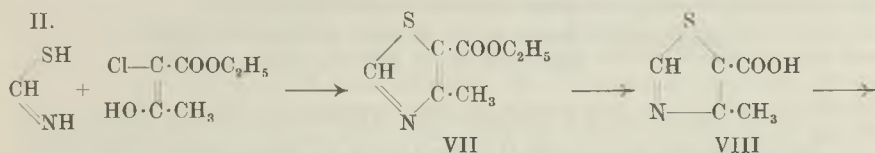
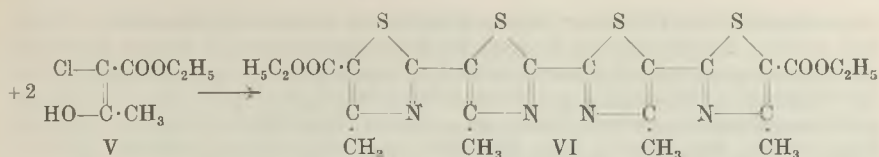
Die starken Fluorescenz- und die eigenartigen Halochromie-Erscheinungen, die wir bei verschiedenen Dithiazolylverbindungen feststellen konnten<sup>1)</sup>, liessen den Wunsch aufkommen, auch einige Tetrathiazolylverbindungen kennen zu lernen. Solche sind bisher in der Literatur nicht beschrieben worden. Als erste Beispiele dieser Verbindungsklasse synthetisierten wir das 4,4',4'',4'''-Tetramethyl-5,5'''-dicarbäthoxy-2-5,2-2,5-2-tetrathiazol (Formel VI) und das 4,4'''-Dimethyl-5-4,2-2,4-5-tetrathiazol (Formel XII). Die Herstellung erfolgte auf folgenden, durch die Formelbilder erläuterten Wegen:



<sup>1)</sup> P. Karrer, M. C. Sanz, Helv. 26, 1778 (1943); 27, 619 (1943). — P. Karrer, P. Leiser, W. Graf, Helv. 27, 624 (1944). — P. Karrer, F. Forster, Helv. 28, 315 (1945).

<sup>2)</sup> Helv. 27, 624 (1944).





Beide Tetrathiazol-Verbindungen besitzen gelbe Farbe, die Verbindung VI ist ockergelb, Substanz XII hellgelb. Ihre Lösungen zeigen starke Fluoreszenz, die Fluoreszenzerscheinungen sind aber nicht viel auffallender als bei Dithiazolverbindungen.

4,4',4'',4'''-Tetramethyl-5,5'''-dicarbäthoxy-2-5,2-2,5-2-tetrathiazol (VI) fluoresciert im Ultraviolettlicht in fester Form orange, in organischen Lösungsmitteln gelbgrün, in konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gelb bei gelber Halochromie. 4,4'''-Dimethyl-5-4,2-2,4-5-tetrathiazol (Formel XII) löst sich in konz. Schwefelsäure farblos; die Lösung fluoresciert blaugrün. In organischen Lösungsmitteln ist die Fluoreszenz bei gewöhnlichem Licht kaum sichtbar, unter der Ultraviolettlampe blauviolett.

### Experimenteller Teil.

#### 4,4'-Dimethyl-2,2'-dithiazolyl-5,5'-dicarbonsäure-diamid.

5 g pulverisierte 4,4'-Dimethyl-2,2'-dithiazolyl-5,5'-dicarbonsäure wurden mit 30 cm<sup>3</sup> Thionylchlorid am Rückflusskühler erhitzt und die sich anfangs bildenden Klumpen mechanisch zerdrückt. In ca. 6 Stunden war Lösung eingetreten. Aus dieser schieden sich beim Abkühlen die gut ausgebildeten Krystalle des Säurechlorids aus, die man nach dem Verdampfen des Thionylchlorids aus Benzol umkrystallisierte.

Zur Überführung in das Diamid wurde das Säurechlorid (5 g) in 150 cm<sup>3</sup> trockenem Benzol gelöst und in die heisse Flüssigkeit ein Strom trockenen Ammoniakgases eingeleitet. Nach wenigen Minuten begann sich ein Brei von Ammoniumchlorid und Diamid

auszuscheiden. Nach 15 Minuten langem Einleiten des Ammoniaks liess man die Flüssigkeit erkalten, nutschte nach 2 Stunden den Krystallbrei ab, wusch ihn zur Extraktion des Ammoniumchlorids mit Wasser gründlich aus und krystallisierte das zurückgebliebene 4,4'-Dimethyl-2,2'-dithiazolyl-5,5'-dicarbonsäure-diamid aus Pyridin um. Die gut ausgebildeten Krystalle scheinen Pyridin zu enthalten; beim Trocknen zerfallen sie in ein feines Pulver. Ausbeute 4 g, Smp. 300—301° unter beginnender Zersetzung (unkorr.). Die Verbindung konnte nicht ganz analysenrein erhalten werden.

|                         |              |        |         |          |
|-------------------------|--------------|--------|---------|----------|
| $C_{10}H_{10}O_2N_4S_2$ | Ber. C 42,5  | H 3,56 | N 19,87 | S 22,68% |
|                         | Gef. „ 41,59 | „ 3,69 | „ 19,16 | „ 21,44% |

4,4'-Dimethyl-5,5'-dicyano-2,2'-dithiazolyl (Formel III).

Zur Überführung des Diamids II in das Dinitril III wurde ersteres in kleinen Portionen mit der 2- bis 4-fachen Menge Phosphorpentoxyd 7 Stunden im Hochvakuum auf ca. 200° erhitzt, wobei sich das Dinitril in farblosem Zustand dicht hinter der erhitzten Zone abschied. Für die Reaktion haben wir eine einseitig zugeschmolzene Glasröhre von 22 mm Durchmesser verwendet, in die das gut zerriebene Gemisch der beiden Stoffe in einem möglichst weiten Präparatenglas eingeführt wurde.

Die Ausbeuten waren folgende:

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| 0,6 g Amid + 2,2 g $P_2O_5$ | → 0,25 g Nitril (Ausbeute 48% der Theorie) |
| 1,6 g „ + 3,1 g „           | → 0,7 g „ ( „ 50% „ „ )                    |
| 1,5 g „ + 3,3 g „           | → 0,6 g „ ( „ 46% „ „ )                    |

Der Schmelzpunkt der Verbindung liegt bei 284° (unkorr. im zugeschmolzenen Röhren).

|                   |              |        |          |
|-------------------|--------------|--------|----------|
| $C_{10}H_6N_4S_2$ | Ber. C 48,76 | H 2,46 | N 22,75% |
|                   | Gef. „ 48,35 | „ 2,54 | „ 23,01% |

4,4'-Dimethyl-5,5'-di-thiocarbamido-2,2'-dithiazolyl (Formel IV).

0,95 g des Dinitrils III wurden in einem Gemisch von 50 cm<sup>3</sup> Dioxan und 50 cm<sup>3</sup> Alkohol in der Wärme gelöst und in diese Mischung Ammoniumhydrogensulfid bis zur Sättigung eingetragen. Nach 12 Stunden kochte man die Flüssigkeit auf und sättigte sie vor dem Erkalten von neuem mit Ammoniumhydrogensulfid. 48 Stunden später wurde der gelbe Niederschlag abgenutscht, dreimal mit Schwefelkohlenstoff (zwecks Entfernung des Schwefels) ausgekocht, und hierauf aus einem Gemisch gleicher Teile Alkohol und Dioxan umkrystallisiert, wobei er orangerote Farbe annahm. Da die Untersuchung zeigte, dass er neben Di-thioamid erhebliche Mengen Carbonsäure enthielt, haben wir ihn mit kalter, 0,1-n. Natronlauge verrieben, das Ungelöste nach 3 Minuten abgenutscht, mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und schliesslich aus Dioxan-Alkoholgemisch umkrystallisiert. Schmelzpunkt unter Zersetzung ca. 235°.

|                      |              |               |
|----------------------|--------------|---------------|
| $C_{10}H_{10}N_4S_4$ | Ber. S 40,75 | Gef. S 39,98% |
|----------------------|--------------|---------------|

4,4',4'',4'''-Tetramethyl-5,5'''-dicarbäthoxy-2-5,2-2,5-2-tetrathiazol (Formel VI).

0,15 g des Di-thioamids (IV) wurden mit 3,9 g Chloracetessigester (Formel V) bis zu dessen Siedepunkt erhitzt. Der Beginn der Reaktion machte sich schon bei ca. 120° bemerkbar. Nachdem diese abgeflaut war, hielt man das dunkel gewordene Gemisch noch 1 Stunde bei 125—130°. Nach dem Abkühlen schieden sich Krystalle aus, die mit Äther gewaschen und zweimal aus Benzol umkrystallisiert wurden. Das so erhaltene 4,4',4'',4'''-Tetramethyl-5,5'''-dicarbäthoxy-2-5,2-2,5-2-tetrathiazol bildet ein ockergelbes Krystallpulver.

|                         |              |        |          |
|-------------------------|--------------|--------|----------|
| $C_{22}H_{22}O_4N_4S_4$ | Ber. C 49,41 | H 4,15 | N 10,48% |
|                         | Gef. „ 49,44 | „ 4,00 | „ 10,59% |

4-Methyl-thiazol-5-carbonsäure-äthylester (Formel VII).

Dieser Ester sowie die zugehörige Carbonsäure sind bekannt<sup>1)</sup>.

Das für die Synthese erforderliche Thioformamid wurde nach *Harrington* und *Moggridge*<sup>2)</sup>, aber unter Weglassung des langwierigen Reinigungsverfahrens, bereitet: Man schüttelte 151 g frisch destilliertes Phosphorpentasulfid mit 2 Liter wasserfreiem Äther und fügte in 2 Portionen 315 g Formamid hinzu. Anfangs erwärmte sich die Flüssigkeit und musste mit Wasser gekühlt werden. Hierauf schüttelte man das Reaktionsgemisch 2 Tage auf der Schüttelmaschine, wobei es sich in eine hellgelbe, honigartige Masse und eine klare, gelbe Lösung schied; letztere wurde abgegossen und der Rückstand noch 3mal durch tagelanges Schütteln mit Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherextrakte, die das Thioformamid enthalten, versetzte man nach der Konzentration auf 1 Liter mit 120 cm<sup>3</sup> Chloracetessigester. Die Lösung trübte sich sofort und schied ein schweres Öl aus. Sie wurde nun auf der Schüttelmaschine so lange geschüttelt, bis das Öl verschwunden war und sich farblose Krystalle des 4-Methyl-5-carbäthoxy-thiazol-hydrochlorides gebildet hatten. Die klare Lösung wurde von den Krystallen getrennt und stehen gelassen. Im Laufe einiger Tage schieden sich aus ihr weitere Mengen des Hydrochlorids in langen, farblosen Nadeln aus. Hierauf wusch man die gewonnenen Krystalle mit Äther und übergoss sie mit Wasser, wodurch sie unter Abscheidung eines Öles, des 4-Methyl-thiazol-2-carbonsäure-äthylesters, zersetzt wurden. Nach der Zugabe von 62 g krystallisierter Soda trennte man den Ester im Scheidetrichter ab, extrahierte die wässrige Schicht mit Äther, verdampfte das Lösungsmittel und destillierte die vereinigten Esterfraktionen unter 11 mm Druck. Nach einem Vorlauf destillierte der 4-Methyl-thiazol-5-carbonsäure-äthylester bei 106° und erstarrte in der Vorlage. Smp. 28°, in Übereinstimmung mit den Literaturangaben. Ausbeute 5,4%, bezogen auf das verwendete Formamid.

4-Methyl-thiazol-5-carbonsäure-chlorid (Formel IX).

Die Verseifung des vorherbeschriebenen Esters erfolgte mittels alkoholischer Natronlauge (50 g Ester in 50 cm<sup>3</sup> Alkohol und 200 cm<sup>3</sup> 6,5-proz. alkoholische Natronlauge, ½ Stunde gekocht). Nach dem Verdampfen des Alkohols, Auflösen des Rückstandes in wenig Wasser und Ansäuern mit Salzsäure fiel die 4-Methyl-thiazol-5-carbonsäure aus und wurde durch Umkrystallisation aus viel Alkohol gereinigt. Ausbeute 90% der Theorie. Die farblosen Krystalle sublimieren oberhalb 250°.

Zur Überführung in ihr Chlorid haben wir 10 g der Carbonsäure mit 120 g Thionylchlorid am Rückflusskühler gekocht. Nach ca. 2 Stunden war Lösung eingetreten. Hierauf wurde der Überschuss an Thionylchlorid im Vakuum entfernt, der Rückstand mit wenig eiskaltem Petroläther gewaschen und aus Petroläther umkrystallisiert. Das 4-Methyl-thiazol-5-carbonsäurechlorid besitzt einen an Benzoylchlorid erinnernden Geruch. Es ist in indifferenten organischen Lösungsmitteln leicht löslich.

[4-Methyl-thiazolyl-5]-chlormethyl-keton (Formel XI).

5 g 4-Methyl-thiazol-5-carbonsäurechlorid wurden in 300 cm<sup>3</sup> Äther gelöst und unter guter Eiskühlung und Schütteln 150 cm<sup>3</sup> 2,52-proz. ätherische Diazomethanlösung zuge tropft. Hierauf liess man die Lösung, aus der sich bereits einige Flocken des Diazoketons (Formel X) ausgeschieden hatten, über Nacht stehen und destillierte dann den Äther ab, wobei das Diazoketon als graue Kruste zurückblieb.

Dieses wurde mit einer auf 0° gekühlten Mischung von 60 cm<sup>3</sup> Eisessig und 60 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure übergossen. Unter starker Stickstoffentwicklung löste es sich dabei auf. Dann verdampfte man die Lösungsmittel im Vakuum unterhalb 50°; als Rückstand blieb eine feste, bräunliche Substanz, das rohe [4-Methyl-thiazolyl-5]-chlormethyl-keton. Man übergoss es mit wenig wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, zog mit Äther aus, destillierte das Lösungsmittel des Ätherextraktes ab und krystallisierte den Rückstand aus heissem Ligroin um. Aus der sich beim Erkalten trübenden Lösung schied sich das Keton in hellgelben, bis 1 cm langen Pyramiden aus, die an ihrer Basis ca. 1 mm dick waren. Smp. 76° (unkorr.). Das Chlorketon erzeugt Blasen auf der Haut und reizt zum Niesen.

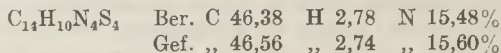
<sup>1)</sup> *Wohmann*, A. 259, 299 (1890).

<sup>2)</sup> *Soc.* 1939, 444.



4,4'''-Dimethyl-5-4,2-2,4-5-tetrathiazol (Formel XII).

0,2 g des vorbeschriebenen Chlorketons (XI) und 0,07 g Rubeanwasserstoff wurden in ca. 10 cm<sup>3</sup> Alkohol gekocht, bis dieser weggedampft war. Der Rückstand löste sich in wenig heissem Pyridin vollständig auf. Aus der mit Tierkohle behandelten Lösung krystallisierten nach dem Erkalten feine Nadeln des 4,4'''-Dimethyl-5-4,2-2,4-5-tetrathiazols, die wir aus einem Gemisch gleicher Teile Alkohol und Dioxan nochmals umkrystallisierten. So wurden sehr hellgelbe, watteartige Krystalle vom Smp. 238° erhalten.



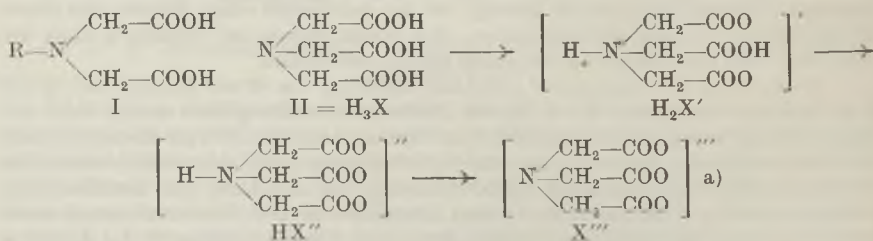
Zürich, Chemisches Institut der Universität.

107. Komplexe I. Über die Salzbildung der Nitrilotriessigsäure<sup>1)</sup>

von G. Schwarzenbach, E. Kampitsch und R. Steiner.

(26. V. 45.)

In den Jahren 1936—1940 ist in einer Reihe von Patenten<sup>2)</sup> die Anwendung solcher Aminocarbonsäuren geschützt worden, welche mindestens zwei Essigsäure-Reste an einen Aminstickstoff gebunden enthalten, und die somit Derivate der Imino-diessigsäure (I, R=H) sind. Die Alkalisalze dieser Substanzen sind deshalb bemerkenswert, weil es unter ihnen Vertreter gibt, welche sogar mit Erdalkaliionen in wässriger Lösung stabile Komplexe zu geben vermögen. Infolgedessen sind sie geeignet, um z. B. Calciumionen in irgendeiner Lösung so zu tarnen, dass diese nicht mehr nachgewiesen werden können mit Fällungsreagenzien. Natürliches Wasser kann also durch deren Zugabe enthärtet werden, ohne dass sich dabei irgendein Niederschlag bildet. Wegen dieser Eigenschaft sind die Alkalisalze der Nitrilo-triessigsäure (II) und der Äthylendiamin-tetraessigsäure unter den Namen Trilon A und Trilon B in den Handel gekommen, um in der Färberei, in der Druckerei, für photographische Entwickler usw. Verwendung zu finden.

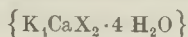


<sup>1)</sup> Vergl. den Hauptvortrag, Winterversammlung, der Schweiz. Chem. Gesellschaft, Bern. Febr. 1945. Referat. Schweiz. Chemiker-Zeitung 9 (1945).

<sup>2)</sup> C. 1937, II, 2050, 4475; C. 1938, I, 2150, 2996; C. 1940, I, 2100.



Die Komplexbildung von Trilon A und B mit den verschiedensten Metallen ist von *Pfeiffer*<sup>1)</sup> und *Brintzinger*<sup>2)</sup> und deren Mitarbeitern mit Hilfe der gewohnten präparativen Methoden studiert worden. Es wurde dabei gefunden, dass in den festen Salzen auf jedes Metallatom mindestens zwei Imino-diacetatreste kommen. Von der Nitrilo-triessigsäure z. B., deren Formel mit  $H_3X$  angedeutet sei, ist von *Pfeiffer* und *Offermann* das Calciumkomplexsalz



beschrieben worden, welches offenbar als Tetrakalium-di-nitrilo-calcicat bezeichnet werden muss, wenn wir für Nitrilo-triacetat den kürzeren Ausdruck „nitrilo“ verwenden.

Seit einer Reihe von Jahren haben wir uns ebenfalls mit Derivaten der Imino-diessigsäure beschäftigt und deren Komplexbildung studiert. In einer Serie von Artikeln sollen vorerst die Theorie der Komplexbildung und sodann eine reiche analytische Verwendung beschrieben werden. Die Komplexbildner seien dabei Komplexe genannt. In diesem ersten Artikel sei das Prinzip unserer Untersuchungsmethode an Hand der Nitrilo-triessigsäure erläutert.

Die Figg. 1 und 2 enthalten Neutralisationskurven der Nitrilo-triessigsäure. Auf der Ordinate sind die mit Hilfe der Wasserstoffelektrode gemessenen  $p_H$ -Werte und auf der Abszisse die Äquivalente zugegebener Base aufgetragen. Als solche diente Tetramethylammoniumhydroxyd, weil sich im Laufe der Untersuchung herausstellte, dass es Komplexe gibt (vor allem die Uramil-diessigsäure), welche sogar mit den Alkalimetallen stabile Komplexe zu liefern vermögen. Eine Komplexbildung mit dem Kation  $[(CH_3)_4N]^+$  ist nach den heutigen Kenntnissen hingegen ausserordentlich unwahrscheinlich, so dass man bei der Neutralisation mit Tetramethylammoniumhydroxyd die Bildung der freien Carboxylationen  $H_2X'$ ,  $HX''$ ,  $X'''$  studieren kann. Aus den Neutralisationskurven, die bei Gegenwart von Salzen verschiedener Metalle aufgenommen wurden, kann man dann die Natur der sich abspielenden Komplexbildungsvorgänge ersehen, sowie deren Gleichgewichte ableiten.

A stellt die Neutralisationskurve ohne jeglichen Zusatz dar. Man erkennt daraus, dass die Nitrilo-triessigsäure zwei stark saure Protonen enthält, während das dritte erst etwa bei  $p_H = 10$  abgegeben wird. Die rechnerische Auswertung (s. S. 837, Zeile 7) ergibt die fol-

<sup>1)</sup> *P. Pfeiffer* und *W. Offermann*, B. 75, 1 (1942); *P. Pfeiffer* und *H. Simons*, B. 76, 847 (1943).

<sup>2)</sup> *H. Brintzinger* und *G. Hesse*, Z. anorg. Chem. 249, 113, 299 (1942); *H. Brintzinger*, *H. Thiele* und *U. Müller*, Z. anorg. Chem. 251, 285 (1943); vgl. ferner: *W. Klemm* und *K. H. Raddatz*, Z. anorg. Chem. 250, 204 (1942); *W. Klemm*, Z. anorg. Chem. 252, 225 (1944).

genden Werte für die negativen Logarithmen der thermodynamischen Aciditätskonstanten:

$$p_{K_1} = 3,03,$$

$$p_{K_2} = 3,07,$$

$$p_{K_3} = 10,70$$

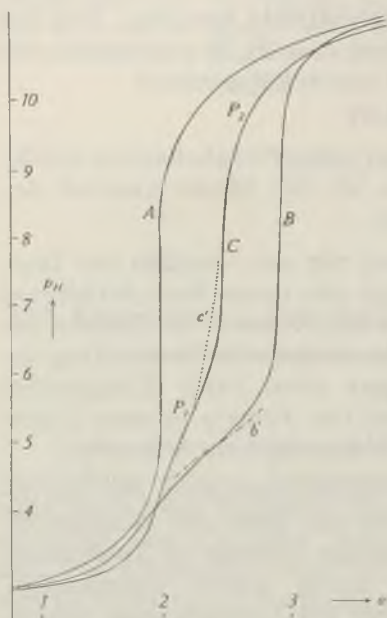


Fig. 1.

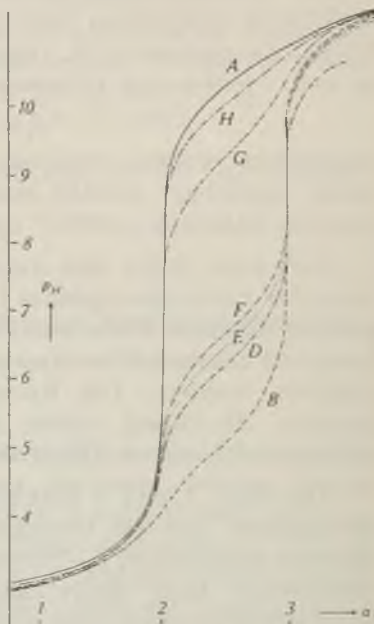


Fig. 2.

Neutralisationskurven der Nitrilo-triessigsäure, aufgenommen mit 0,1-n.Tetramethylammoniumhydroxyd als Titrationsflüssigkeit.  $a$  = Anzahl Äquivalente Base pro Formelgewicht Nitrilo-triessigsäure. Säurekonzentration  $c_s = 2,1 \times 10^{-3}$ . Kurve A: ohne Zusatz. Kurven B, D, E, F, G, H: unter Zusatz von Ca-, Mg-, Sr-, Ba-, Li-, Na-Chlorid in einer Konzentration von  $c = 1,7 \times 10^{-2}$ . Kurve C: unter Zusatz von  $\text{CaCl}_2$   $c = 1,05 \times 10^{-3}$ .

Diese Zahlen teilen uns etwas über die Struktur der Nitrilo-triessigsäure und ihrer Ionen mit. Vorerst ist es bemerkenswert, dass die beiden ersten Konstanten von fast derselben Grösse sind. Die beiden Konstanten einer zweiprotonigen Säure sollten sich um einen Faktor voneinander unterscheiden der mindestens 4 beträgt<sup>1)</sup>, d. h. die Differenz  $p_{K_2} - p_{K_1}$  sollte mindestens 0,6 sein. Man kann die Nitrilo-triessigsäure mit der Glutarsäure vergleichen, bei welcher ebenfalls zwei Carboxylgruppen durch eine Atomkette von drei Gliedern voneinander getrennt sind. Bei dieser beträgt der Unterschied der beiden  $p_{K}$ -Werte 1,14 Einheiten<sup>2)</sup>. Unser Befund, dass die beiden ersten Aciditätskonstanten der Nitrilo-triessigsäure von derselben Grösse sind, kann nur dadurch erklärt werden, dass wir an-

<sup>1)</sup> N. Bjerrum, Z. physikal. Ch. **106**, 219 (1923); G. Schwarzenbach, Z. physikal. Ch. [A] **176**, 133 (1936).

<sup>2)</sup> G. Schwarzenbach, Helv. **16**, 522 (1933).

nehmen, dass der Verlust des ersten Protons eine Strukturänderung des zurückbleibenden Ions zur Folge hat, indem zugleich ein zweites Proton den Platz wechselt, wobei es von der Carboxylgruppe an das einsame Elektronenpaar des zentralen Stickstoffatoms übersiedelt (s. Reaktionsgleichung a). Ein analoger Platzwechsel mit ähnlicher Ursache ist früher bei der schwefligen Säure angetroffen worden<sup>1)</sup>. Er rührt davon her, dass die Carboxylgruppe einen acidifizierenden, die ionogene Carboxylatgruppe hingegen den umgekehrten Einfluss ausübt. So wird die Basizität des Stickstoffatoms durch den Verlust des ersten Protons so stark erhöht, dass der Platzwechsel des Protons möglich wird. Durch diesen wird aber umgekehrt die dritte noch verbleibende Carboxylgruppe des Ions  $H_2X'$  acidifiziert, so dass diese von derselben Säurestärke wird wie eine der Carboxylgruppen der ursprünglichen Säure  $H_3X$ . Der Verlust des zweiten Protons ( $H_2X' \rightarrow HX''$ ) hat dann natürlich eine nochmalige Basizitätssteigerung des zentralen Stickstoffs zur Folge, was sich darin ausdrückt, dass das dort sitzende Proton schliesslich sehr fest haftet und somit der Wert von  $pK_s$  sehr klein wird. Die Nitrilo-triessigsäure ist also in erster Linie eine recht starke zweiprotonige Säure, die sich mit Methylrot als Indikator scharf titrieren lässt. Die dritte Säurestufe ist derart schwach ausgeprägt, dass das Tri-tetramethylammoniumsalz, und auch die Tri-alkalisalze, stark alkalisch reagieren.

Nimmt man die Aufnahme der Neutralisationskurven bei Gegenwart solcher Fremdsalze vor, deren Kation mit Imino-diacetaten Komplexe zu bilden vermag, so ändert sich ihre Gestalt vollkommen. Die Kurve B ist in Gegenwart überschüssigen Calciumchlorides aufgenommen worden. Während der im sauren Gebiet verlaufende Teil der Neutralisationskurve der beiden ersten Äquivalente Base durch die Gegenwart des Erdalkalisalzes nur wenig beeinflusst wird, tritt das dritte Proton nun nicht mehr bei  $p_H = 10$ , sondern bereits bei  $p_H = 5$  aus. Man kann diesen starken Salzeffekt sehr schön demonstrieren, indem man zur Nitrilo-triessigsäure etwa 2,5 Äquivalente  $\{KOH\}$  oder  $\{NaOH\}$  zugibt und zugleich einen Universalindikator. Ein Zusatz von Calciumchlorid ruft nun in der Flüssigkeit eine sehr starke Farbänderung hervor, indem der  $p_H$ -Wert um etwa 5 Einheiten absinkt.

Diese Erscheinung ist natürlich damit zu erklären, dass die neutral reagierenden Erdalkalitionen die starke Base  $X'''$  unter Komplexbildung binden, so dass sie aus der Lösung verschwindet. Gemäss der Zusammensetzung der von Pfeiffer<sup>2)</sup> isolierten Komplexsalze, wäre dieser Vorgang offenbar folgendermassen zu formulieren:



<sup>1)</sup> G. Schwarzenbach, *Helv.* **19**, 1043 (1936).

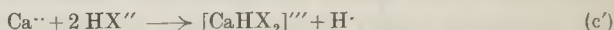
<sup>2)</sup> P. Pfeiffer und W. Offermann, *B.* **75**, 1 (1942); P. Pfeiffer und H. Simons, *B.* **76**, 847 (1943).



und der Vorgang der Entstehung der Wasserstoffionen zwischen den Abszissenpunkten 2 und 3 der Kurve B müsste lauten:



Die Anwendung des M. W. G. auf den Vorgang (b') (s. S. 838, Zeile 7) ergibt nun aber eine Funktion, welche keineswegs mit dem wirklichen Verlauf der Neutralisationskurve B übereinstimmt, nämlich die gestrichelt eingezeichnete Kurve b'. Dass die Gleichung (b') nicht den sich abspielenden Komplexbildungsvorgang beschreibt, geht auch aus der experimentellen Kurve C hervor. Diese ist dadurch entstanden, dass pro Mol Nitrilo-triessigsäure nur ein Zusatz von  $\frac{1}{2}$  Formelgewicht Calciumchlorid gemacht wurde. Man erkennt aus C sofort, dass zunächst durch diesen Zusatz pro Calcium zwischen  $p_{\text{H}}$  5 und 6 (Pkt. P<sub>1</sub>) nur ein Proton freigemacht wird, und nicht deren zwei, wie es von Gleichung (b') verlangt wird. Das zweite der beiden Protonen von (b') tritt erst bei  $p_{\text{H}} = 9-10$  (Pkt. P<sub>2</sub>) aus, was anzeigt, dass erst in diesem alkalischen Gebiet das Komplexion  $[\text{CaX}_2]''''$  aufzutreten beginnt. Man könnte auch daran denken, bei P<sub>1</sub> zunächst die Bildung eines sauren Komplexions anzunehmen und zu schreiben:

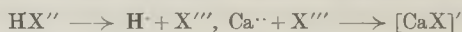


Auch diese Möglichkeit kann aber durch die Berechnung der  $p_{\text{H}}$ -Funktion nach Reaktionsgleichung (c') als nicht dem wirklichen Vorgang entsprechend ausgeschlossen werden. Diese Berechnung (s. S. 838, Zeile 17) liefert nämlich die Kurve c' der Fig. 1.

Man kann aber den wirklichen Verlauf der experimentellen Kurven B und C, erstere zwischen den Abszissenpunkten 2 und 3 und letztere zwischen 2 und  $2\frac{1}{2}$ , richtig voraus berechnen, wenn man die Komplexbildung folgendermassen formuliert:



Die Reaktion (b) ist somit der sich im  $p_{\text{H}}$ -Gebiet zwischen 5 und 6 abspielende Komplexbildungsvorgang. Er besteht einfach im Ersatz eines Protons durch ein Ca-Ion und lässt sich in die beiden folgenden Teile zerlegen:



Das Gleichgewicht des ersten dieser Teile ist durch  $p_{\text{K}}$  gegeben, und so kann man mit Hilfe dieses Wertes aus Punkten der Kurven B und C auch die Komplexbildungskonstante  $K_{\text{k}}$  berechnen:

$$K_{\text{k}} = \frac{(\text{CaX}')}{(\text{Ca}^{..}) \cdot (\text{X}''')} = 1,5 \times 10^{+8}$$

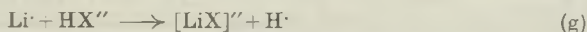
Die der Kurve B entsprechenden Neutralisationskurven, die unter Zusatz von Mg-, Sr-, Ba-, Li- und Na-Chlorid erhalten wurden, befinden sich in der Fig. 2. Aus ihnen wurde gleicherweise die Komplexbildungskonstante  $K_{\text{k}}$  berechnet und die Ergebnisse in Tabelle I zusammengestellt. Für die Details der Berechnung s. S. 838, Zeile 13 v. unten.



Tabelle I.

| Thermodynamische Gleichgewichtskonstanten $K_k$ des Komplexvorganges:<br>$Me^{+z} + X^{-3} \rightarrow [MeX]^{z-3}$ , gültig für $20^\circ$ , $X^{-3} = \text{Nitrilo-triacetat}$ |                      |                      |                      |                      |                      |                      |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Metallion   | Mg <sup>..</sup>     | Ca <sup>..</sup>     | Sr <sup>..</sup>     | Ba <sup>..</sup>     | Li <sup>.</sup>      | Na <sup>.</sup>      |
| $K_k$ . . .   | $1,0 \times 10^{+7}$ | $1,5 \times 10^{+8}$ | $5,4 \times 10^{+6}$ | $2,6 \times 10^{+6}$ | $1,9 \times 10^{+3}$ | $1,4 \times 10^{+2}$ |

Die Tabelle I enthält auch die beiden Alkalimetalle Li und Na. Bei Lithium ist die Komplexbildung so stark, dass es leicht gelingt nachzuweisen, dass sich auch hier das Metallion an die Stelle des Protons setzt:



indem durch Anwendung des M.W.G. andere Möglichkeiten mit Sicherheit ausgeschlossen werden können.

Bei Natrium ist die Komplexbildung weniger sicher nachzuweisen. Der Mittelpunkt des Puffergebietes der Kurve H liegt nur 0,27  $p_H$ -Einheiten unter demjenigen der Kurve A. Dem entspricht eine Komplexbildungskonstante von nur etwas über 100, so dass bei den angewandten Konzentrationen der Komplex schon weitgehend zerfallen ist. Trotzdem sind wir überzeugt, dass die Erniedrigung der Kurve H gegenüber A auf die Bildung eines Natriates zurückzuführen ist, und nicht nur auf der Erniedrigung der Aktivitätskoeffizienten durch den Salzzusatz beruht. Sowohl die Berechnung mit Hilfe des *Debye-Hückel'schen* Grenzgesetzes, als auch bei Gegenwart von Kaliumchlorid aufgenommene Neutralisationskurven, zeigen, dass der Einfluss des Salzzusatzes auf die Ionenaktivitäten einen wesentlich kleineren Effekt verursacht. Dann haben wir aber weiter in der Uramil-diessigsäure eine Substanz kennen gelernt, deren Komplexbildung mit Natrium über allen Zweifel erhaben ist.

Bekanntlich benötigt man zur Berechnung thermodynamischer Gleichgewichtskonstanten von Ionenreaktionen Aktivitätskoeffizienten, welche nicht hypothesenfrei gewonnen werden können. Deshalb werden bei den Dissoziationskonstanten von Säuren häufig nicht die thermodynamischen Werte, sondern die sog. Konzentrationskonstanten  $K^c$  angegeben, in deren Definitionsgleichung lauter Messwerte eingehen. Auch unsere Messwerte an der Komplexbildung kann man durch eine derartige Grösse beschreiben, die wir mit dem Zeichen  $K_{ac \cdot k}^c$  bezeichnen wollen, da es sich um eine gemischte Komplexbildungs-Aciditätskonstante handelt. Im Fall des Calciums ist es einfach die Konzentrations-Gleichgewichtskonstante der Reaktion (b) von folgender Bedeutung:

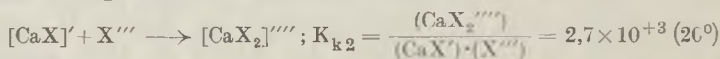
$$K_{ac \cdot k}^c = (H) \cdot \frac{[CaX']}{[Ca^{..}] \cdot [HX'']} = 5,96 \times 10^{-7} \quad (20^\circ, c = 1,7 \times 10^{-2})$$

Sie unterrichtet uns über die Acidität ( $H^+$ ) des Nitrilo-triacetat-ions  $HX''$  bei Gegenwart eines Überschusses eines Salzes mit einem komplexbildenden Kation von der Konzentration  $c$ . Die Werte dieser Konstanten, welche leicht aus den Kurven der Fig. 2 entnommen werden können, sind in der Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

| Konzentrations-Komplex-Aciditäts-Konstanten $K_{ac-k}^c$ , gültig für $20^\circ$ und eine Konzentration des Salzes mit dem komplexbildenden Ion von $c = 1,7 \times 10^{-2}$ |                       |                       |                       |                       |                       |                       |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Metallion  | Mg $\cdot\cdot$       | Ca $\cdot\cdot$       | Sr $\cdot\cdot$       | Ba $\cdot\cdot$       | Li $\cdot$            | Na $\cdot$            |
| $K_{ac-k}^c$   | $4,02 \times 10^{-5}$ | $5,96 \times 10^{-4}$ | $2,16 \times 10^{-5}$ | $1,43 \times 10^{-5}$ | $3,68 \times 10^{-8}$ | $6,25 \times 10^{-9}$ |

Die Kurve C der Fig. 1 zeigt weiter, dass das Calcium in Gegenwart von überschüssigem Nitrilo-triacetat noch einen höhern Komplex bildet und folgendes Gleichgewicht besteht:



Man erkennt dies daraus, dass der Pkt.  $P_2$  der Kurve C um  $0,49 p_H$ -Einheiten tiefer liegt als der Mittelpunkt des Puffergebietes der Kurve A. Es gelingt aus dieser Differenz, wiederum unter Anwendung des *Debye-Hückel'schen* Grenzgesetzes zur Ermittlung der Aktivitätskoeffizienten, auch die Gleichgewichtskonstante  $K_{k2}$  dieser höhern Komplexbildung zu berechnen (s. S. 839, Zeile 8). Diese Konstante hat bei  $20^\circ$  einen Wert von  $2,7 \times 10^{+3}$ , und ist somit rund 10000 mal kleiner als die erste Komplexbildungskonstante  $K_k$ .

Die Komplexionen  $[CaX_2]''''$  sind offenbar identisch mit denen, welche in den von *Pfeiffer*<sup>1)</sup> und *Offermann* dargestellten Salzen vorkommen. Wie diese Autoren angeben, lösen sich diese Komplexsalze in Wasser mit stark alkalischer Reaktion. Eine Überschlagsrechnung mit Hilfe der hier angegebenen Konstanten  $K_3$  und  $K_{k2}$  zeigt, dass in einer Lösung, welche  $10^{-3}$  Formelgewichte des Komplexsalzes  $\{K_4CaX_2\}$  im Liter enthält, das Ion  $[CaX_2]''''$  bereits zur Hälfte zerfallen ist und die Lösung wegen der Hydrolyse des Ions  $X'''$  einen  $p_H$ -Wert von 10,4 aufweist.

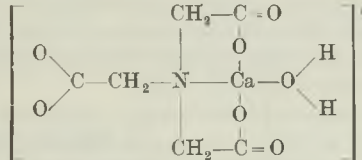
Diese Komplexbildung ist also gegenüber der ersten, die zu dem Ion  $[CaX]'$  führt, überaus schwach, und es ist deshalb merkwürdig, dass bisher keine Salze mit diesem einfacheren Ion beschrieben worden sind. *Pfeiffer* hat seine Salze aus stark alkalischer Lösung erhalten. Es ist uns nun leicht gelungen, unter etwas andern Versuchsbedingungen, die Salze von der folgenden Zusammensetzung zu erhalten:  $\{KCaX \cdot H_2O\}$ ,  $\{NaCaX \cdot H_2O\}$ ,  $\{KMgX \cdot H_2O\}$ ,  $\{NaMgX \cdot H_2O\}$ .

<sup>1)</sup> P. Pfeiffer und W. Offermann, B. 75, 1 (1942); P. Pfeiffer und H. Simons, B. 76, 847 (1943).

Das gut lösliche Kaliumcalciat zeigt in Lösung nur noch ganz schwach alkalische Reaktion, entsprechend einem  $p_H$ -Wert von etwa 8, wie es der festeren Bindung des basischen Ions  $X'''$  entspricht. Die Lösungen der beiden Magnesiate besitzen einen  $p_H$ -Wert von etwa 9,5.

Von besonderem Interesse unter diesen neuen Salzen ist das Natrium-nitrilo-calciat, weil es recht schwerlöslich ist, so dass es sich vielleicht für einen Natriumnachweis oder eine Natriumbestimmung eignet. In einem der Artikel von *Pfeiffer* wird angegeben, dass sich zur Herstellung der Calciumkomplexe der Nitrilo-triessigsäure vor allem die Kaliumsalze eignen würden. In der Tat bilden sich beim Zusammengeben von Calciumsalzen mit Nitrilo-triacetat in Gegenwart von Natrium stets schwerlösliche amorphe Fällungen. Es erwies sich, dass diese aus Natrium-mononitrilo-calciat bestehen, welches aus saurer Lösung auch ausgezeichnet krystallisiert erhalten werden kann.

Weiter muss auf den Wassergehalt der Mono-nitrilo-komplexe hingewiesen werden. Alle vier Salze halten ein Mol Wasser sogar bei  $100^\circ$  im Vakuum einer guten Wasserstrahlpumpe zurück. Das Wasser des Natriumcalciates wurde sogar bei  $100^\circ$  im Hochvakuum nicht abgegeben. Deshalb ist es wahrscheinlich, dass dieses Mol Wasser zur Koordinations-Sphäre des Erdalkalions gehört, so dass wir die folgende Struktur mit der Koordinationszahl 4 erhalten:



### Experimenteller und rechnerischer Teil.

#### A. Präparate.

Nitrilo-triessigsäure ist nach der alten Methode von *Eschweiler*<sup>1)</sup> über ihr Trinitril hergestellt worden. Aus 100 g 38-proz. Formaldehydlösung und 82 g {KCN} entstanden 11 g reine Triglykolamidsäure. Alle verwendeten Präparate sind dann viermal aus heissem Wasser umkrystallisiert worden. Nach mehrstündigem Trocknen bei  $100^\circ$  im Vakuum der Wasserstrahlpumpe entsprach das Produkt genau der Zusammensetzung  $C_6H_9O_6N$ .

Kalium-nitrilo-magnesiats  $\{KMgX \cdot H_2O\}$ . 2 g Nitrilo-triessigsäure wurden mit 2 g basischen Magnesiumcarbonat und 20 cm<sup>3</sup> Wasser gekocht und vom Überschuss des Carbonats abfiltriert. Wenn man nun das Filtrat mit Alkohol versetzt, fällt das Magnesiumsalz  $\{Mg_3X_2\}$  als Öl aus. Zu diesem wurde, nach Abgiessen der überstehenden Flüssigkeit, eine Lösung von nochmals 1 g Nitrilo-triessigsäure in 15 cm<sup>3</sup> n. KOH zugegeben, und die klare Mischung auf dem Wasserbad auf 10 cm<sup>3</sup> eingedampft. Bei Zufügen von Alkohol fallen nun wohl ausgebildete Nadeln, welche zweimal aus wenig Wasser umkrystallisiert und dann im Vakuum bei  $100^\circ$  getrocknet wurden.

|                                |             |        |                       |       |
|--------------------------------|-------------|--------|-----------------------|-------|
| $\{KMgC_6H_6O_6N \cdot H_2O\}$ | Ber. K 15,2 | Mg 9,5 | Nitrilo-triessigsäure | 70,8% |
|                                | Gef. „ 14,8 | „ 9,5  | „                     | 70,0% |

<sup>1)</sup> *H. Eschweiler*, A. 278, 233 (1893).



K und Mg wurden nach dem Veraschen gravimetrisch ermittelt. Zur Bestimmung des Gehaltes an Nitrilo-triessigsäure, wurde eine Einwaage von 30 mg mit 3 cm<sup>3</sup> 0,1-n. HCl und 2 cm<sup>3</sup> m. MgCl<sub>2</sub> versetzt und dann mit {(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>NOH} an der H<sub>2</sub>-Elektrode titriert. Man erhält so Kurve D, aus der der Nitrilosäuregehalt aus der zwischen den beiden Steilgebieten verbrauchten Menge Base berechnet werden kann.

Natrium-nitrilo-magnesiats {NaMgX·H<sub>2</sub>O}. Hier wurde genau so vorgegangen wie bei der Herstellung des Kaliumsalzes, nur dass die Lösung von {Mg<sub>3</sub>X<sub>2</sub>} mit dem Trinatriumsalz der H<sub>3</sub>X versetzt wurde. Mit Alkohol fallen ebenfalls gut ausgebildete Nadeln. Umkrystallisiert aus Wasser-Alkohol, getrocknet bei 100° im Vakuum.

|   |              |         |                             |
|---|--------------|---------|-----------------------------|
| {NaMgC <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> N·H <sub>2</sub> O} | Ber. Na 9,17 | Mg 9,70 | Nitrilo-triessigsäure 75,2% |
|   | Gef. „ 9,10  | „ 9,45  | „ 75,0%                     |

Beide Magnesiats lösen sich leicht in Wasser, wobei die Lösung (ca. 0,001-m.) etwa p<sub>H</sub> = 9,5 annimmt. Aus der Lösung fällt NaOH das Hydroxyd, Phosphat und Ammoniak {NH<sub>4</sub>MgPO<sub>4</sub>}, wogegen Soda keinen Niederschlag liefert.

Kalium-nitrilo-calciats {KCaX·H<sub>2</sub>O}. 6 g Nitrilo-triessigsäure (0,0315 Mol) wurden in 200 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, 4 g Calciumcarbonat zugegeben und 1 Stunde gekocht. Es gehen dabei 0,3 g in Lösung, so dass das Salz {CaHX} entsteht. Nun wurden 0,031 Mole {KOH} zugegeben und die leicht trübe Lösung vom p<sub>H</sub>-Wert 9 filtriert. Mit Alkohol entsteht sehr langsam ein feiner Niederschlag, der schlecht filtriert und schlecht krystallin ist. Auch durch Umfällen kann keine gute Krystallisation erreicht werden. Das Pulver wurde schliesslich im Vakuum bei 100° getrocknet und hatte dann folgende Zusammensetzung:

|                         |             |           |
|-------------------------|-------------|-----------|
| {KCaX·H <sub>2</sub> O} | Ber. K 13,7 | Ca 14,05% |
|                         | Gef. „ 14,2 | „ 14,5%   |

Das Salz löst sich leicht in Wasser. Mit Oxalat, Phosphat und nach längerem Stehen auch mit Carbonat können Niederschläge erhalten werden. Dieses Verhalten ist in Übereinstimmung mit den angegebenen Komplexbildungskonstanten. Auch Kochsalz erzeugt einen Niederschlag, nämlich {NaCaX·H<sub>2</sub>O}.

Natrium-nitrilo-calciats {NaCaX·H<sub>2</sub>O}. 3 g Nitrilo-triessigsäure wurden in 200 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, mit 2 g CaCO<sub>3</sub> versetzt, eine Stunde gekocht und die Lösung filtriert. Es waren dabei 1,6 g des Carbonates in Lösung gegangen. Zu der klaren Lösung, die einen p<sub>H</sub>-Wert von etwa 4 hatte, wurden 2 g {NaCl} zugefügt und hierauf 10 cm<sup>3</sup> 25-proz. NH<sub>3</sub>. Im Laufe einiger Stunden scheidet sich beim Stehen in der Kälte ein feinpulveriger, krystalliner Niederschlag aus, der in Wasser recht schwer löslich ist. Es wurde wiederum im Vakuum bei 100° getrocknet.

|                          |              |           |
|--------------------------|--------------|-----------|
| {NaCaX·H <sub>2</sub> O} | Ber. Na 8,54 | Ca 14,88% |
|                          | Gef. „ 8,65  | „ 15,0%   |

Bei 1stündigem Erwärmen auf 100° im Vakuum der Wasserstrahlpumpe trat kein Gewichtsverlust ein.

### B. Messungen.

Die Neutralisationskurven wurden mit Hilfe der Wasserstoffelektrode in einem Raumthermostaten bei 20° aufgenommen. Als Vergleichselektroden dienten Silber-Silberchlorid- und Kalomel-elektroden, welche mit einem {KCl}-haltigen Agar-Agar-Heber mit der Titrationsflüssigkeit verbunden waren. Um das Einzelpotential der Vergleichselektrode zusammen mit den Flüssigkeitspotentialen der verschiedenen Grenzflächen zu ermitteln, wurden fast jeden Tag auch Titrationskurven von Essigsäure aufgenommen, und die p<sub>H</sub>-Werte in deren Puffergebiet nach *McInnes*<sup>1)</sup> berechnet. Alle unsere p<sub>H</sub>-Messungen sind somit auf die von *Harned* und *Ehlers*<sup>2)</sup> angegebene Dissoziationskonstante der Essigsäure bezogen.

<sup>1)</sup> *McInnes, Belcher und Shedlowski*, Am. Soc. **60**, 1070 (1938).

<sup>2)</sup> *Harned und Ehlers*, Am. Soc. **54**, 130 (1932).



Die 0,1-n. Lösung von Tetramethylammoniumhydroxyd, welche als Masslösung diente, wurde durch Schütteln von Silberoxyd mit 0,1-n. Tetramethylammoniumbromid hergestellt. Sie lässt sich leichter als Alkalihydroxydlösungen vollkommen CO<sub>2</sub>-frei gewinnen, und erwies sich auch als gut beständig, indem sich der Titer im Laufe eines Monats nicht merklich änderte.

C. Berechnungen.

1. Die Gewinnung von p<sub>K1</sub> und p<sub>K2</sub> aus Kurve A. Zur Ermittlung der beiden ersten Aciditätskonstanten diente eine Neutralisationskurve, welche bei einer Säurekonzentration von c<sub>s</sub> = 8,7 × 10<sup>-4</sup> aufgenommen worden war, und zwar vor allem der Anfangspunkt mit dem Abszissenwert a = 0 und der Punkt nach Zugabe von einem Äquivalent Base, a = 1. Die p<sub>H</sub>-Werte betragen an diesen beiden Stellen 3,075 und 3,382 Für jeden dieser Punkte gelten nun die folgenden sechs Gleichungen:

$$I. [H_3X] + [H_2X'] + [HX''] = c_s; \quad II. [H_2X'] + 2[HX''] = \frac{(H^+)}{f_1} + a \cdot c_s;$$

$$III. \frac{[H_2X']}{[H_3X]} = \frac{K_1}{(H^+) \cdot f_1}; \quad IV. \frac{[HX'']}{[H_2X']} = \frac{K_2 \cdot f_1}{(H^+) \cdot f_2}$$

$$V. -\lg f_1 = 0,354 \cdot \sqrt{2 \cdot [H_2X'] + 6 \cdot [HX'']}; \quad VI. \lg f_2 = 4 \lg f_1$$

f<sub>1</sub> und f<sub>2</sub> bedeuten dabei die Aktivitätskoeffizienten für ein- und zweiwertige Ionen. Für beide Punkte zusammen stehen also 12 Gleichungen zur Verfügung, mit denen sich die 12 Unbekannten berechnen lassen, nämlich die drei Konzentrationen [H<sub>3</sub>X], [H<sub>2</sub>X'], [HX''] bei a = 0 und die entsprechenden Grössen bei a = 1, weiter f<sub>1</sub> und f<sub>2</sub> sowohl bei a = 0 als auch bei a = 1 und schliesslich die beiden Konstanten K<sub>1</sub> und K<sub>2</sub>. Die Lösungen wurden durch Näherungsmethoden angestrebt und schliesslich die folgenden Zahlen gefunden, welche den Gleichungen genügen. Die Konzentrationen in der 2., 3. und 4. Rubrik sind dabei noch mit dem Faktor 10<sup>-4</sup> zu multiplizieren.

|               | [H <sub>3</sub> X] | [H <sub>2</sub> X'] | [HX''] | f <sub>1</sub> | f <sub>2</sub> |   |
|---------------|--------------------|---------------------|--------|----------------|----------------|---|
| bei a = 0 . . | 3,04               | 2,50                | 3,12   | 0,96           | 0,85           | K <sub>1</sub> = 9,4 × 10 <sup>-4</sup> , K <sub>2</sub> = 8,4 × 10 <sup>-4</sup> |
| bei a = 1 . . | 0,95               | 2,31                | 5,40   | 0,93           | 0,80           |   |

Auch andern Punkten der experimentellen Kurve zwischen a = 0 und a = 2 genügen die beiden angegebenen Werte von K<sub>1</sub> und K<sub>2</sub> innerhalb der erzielten Genauigkeit.

2. Zur Berechnung von p<sub>K3</sub>-dienten die Punkte zwischen den Abszissenwerten 2 und 3, vor allem a = 2,5 und a = 2,75. In jedem dieser Punkte ist die ionale Stärke mit genügender Genauigkeit bekannt, so dass die Aktivitätskoeffizienten für 1-, 2- und 3-wertige Ionen berechnet werden können. Nun erhält man mit Hilfe von f<sub>1</sub> aus dem p<sub>H</sub>-Wert die Hydroxylionenkonzentration, und dann können die folgenden Gleichungen angewandt werden:

$$I. [HX''] + [X'''] = c_s; \quad II. [X'''] + [OH^-] = (a - 2) \cdot c_s$$

| a    | c <sub>s</sub> | p <sub>H</sub> | f <sub>1</sub> | f <sub>2</sub> | f <sub>3</sub> | [OH <sup>-</sup> ] | [HX''] | [X'''] | K <sub>3</sub>           |                          |
|------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------------|--------|--------|--------------------------|--------------------------|
| 2,50 | 22,0           | 10,27          | 0,89           | 0,64           | 0,36           | 2,10               | 13,1   | 8,9    | 2,00 × 10 <sup>-11</sup> | 1,92 × 10 <sup>-11</sup> |
| 2,75 | 22,0           | 10,58          | 0,89           | 0,62           | 0,34           | 4,3                | 9,6    | 12,4   | 1,84 × 10 <sup>-11</sup> |                          |

Aus dem Punkt  $a = 2,25$  wurde für  $K_3$  der etwas höhere Wert, nämlich  $2,90 \times 10^{-11}$  erhalten. Jedoch kommt diesem weniger Gewicht zu, da bei  $a = 2,75$  wegen der starken Hydrolyse das Verhältnis von  $(X'''):(HX'')$  bereits den ungünstig kleinen Wert von 0,17 annimmt, so dass  $K_3$  den Messfehlern stärker ausgesetzt ist.

3. Die Berechnung der Neutralisationskurven in salzhaltiger Lösung unter Zugrundelegen verschiedenartiger Komplexbildungsvorgänge.

a) Wenn die Komplexbildung nach Gleichung (b') vor sich gehen würde, so wären die Konzentrationen sämtlicher Reaktionsteilnehmer in jedem Punkte der Kurve zwischen  $a = 2$  und  $a = 3$  folgendermassen zu berechnen:  $c_s$  ist dabei wiederum die Konzentration der Nitrilo-triessigsäure und  $c$  die Salzkonzentration:

$$[CaX_2'''] = (a-2) \cdot c_s / 2; [HX''] = (3-a) \cdot c_s; [Ca^{..}] = c - (a-2) \cdot c_s / 2$$

Setzt man diese Grössen in das M. W. G. von (b') ein, so erhält man die folgende Funktion, wenn man wegen der angenähert konstanten ionalen Stärken die Aktivitätskoeffizienten in die Konstanten einbezieht:

$$P_H = \frac{1}{2} \lg \left[ \frac{a-2}{(3-a)^2 \cdot (2c + 2c_s - a c_s)} \right] + \text{konst.}$$

Diese Funktion ergibt graphisch dargestellt die Kurve b' der Fig. 1.

b) Wenn die Komplexbildung nach Gleichung (c') vor sich gehen würde, so müssten die folgenden Beziehungen gelten:

$$[CaHX_2'''] = (a-2) \cdot c_s; [HX''] = (5-2a) \cdot c_s; [Ca^{..}] = c - (a-2) \cdot c_s$$

und das M. W. G. liefert:

$$P_H = \lg \left[ \frac{a-2}{(5-2a)^2 \cdot (c + 2c_s + a c_s)} \right] + \text{konst.}$$

c) Die Auswertung der Reaktionsgleichung (b) schliesslich geschieht durch folgende Beziehungen:

$$[CaX'] = (a-2) \cdot c_s; [HX''] = (3-a) \cdot c_s; [Ca^{..}] = c - (a-2) \cdot c_s$$

und eingesetzt in das M. W. G.:

$$P_H = \lg \left[ \frac{a-2}{3c + 6c_s + a^2 c_s - 5a c_s - a c} \right] + \text{konst.}$$

d. h. die Funktion, welche graphisch aufgetragen mit den experimentellen Kurven B und C zusammenfällt.

4. Berechnung der thermodynamischen Komplexbildungskonstante  $K_K$ . Weil die Wasserstoffionenkonzentration stets klein ist gegenüber den Konzentrationen aller andern Ionen, gelten in jedem Punkte der Kurven der Fig. 2, zwischen den Abszissenwerten 2 und 3 die folgenden Beziehungen:

$$[MeX] = c_s(a-2) - [OH']; [HX''] = c_s \cdot (3-a) + [OH']; [Me] = c - [MeX]$$

$$(X''') = \frac{K_K \cdot [HX''] \cdot f_2}{(H')}$$

Die ionale Stärke ist während der Aufnahmen der Kurven der Fig. 2 fast konstant geblieben. So sind denn auch  $f_1$  und  $f_2$  konstant. Sie wurden nach dem Grenzgesetz berechnet. Dann erhält man mit Hilfe der mitgeteilten Gleichungen  $(X''')$ ,  $(MeX)$  und  $(Me)$ , welche in das M. W. G. einzusetzen sind. Die folgende Tabelle enthält die Resultate für einen  $a$ -Wert von 2,5.  $c$  beträgt stets  $1,7 \times 10^{-2}$  und  $c_s = 2,1 \times 10^{-3}$ . Der ionalen Stärke entsprechen:  $f_1 = 0,80$  und  $f_2 = 0,40$ .

| Metall | p <sub>H</sub> | (X''')                  | [MeX]                   | [Me]                    | K <sub>k</sub>         |
|--------|----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| Mg     | 6,19           | 1,3 × 10 <sup>-8</sup>  | 1,05 × 10 <sup>-3</sup> | 1,6 × 10 <sup>-2</sup>  | 1,0 × 10 <sup>+7</sup> |
| Ca     | 5,02           | 8,8 × 10 <sup>-10</sup> | 1,05 × 10 <sup>-3</sup> | 1,6 × 10 <sup>-2</sup>  | 1,5 × 10 <sup>+8</sup> |
| Sr     | 6,46           | 2,42 × 10 <sup>-8</sup> | 1,05 × 10 <sup>-3</sup> | 1,6 × 10 <sup>-2</sup>  | 5,4 × 10 <sup>+6</sup> |
| Ba     | 6,64           | 3,67 × 10 <sup>-8</sup> | 1,05 × 10 <sup>-3</sup> | 1,6 × 10 <sup>-2</sup>  | 2,6 × 10 <sup>+6</sup> |
| Li     | 9,23           | 1,99 × 10 <sup>-5</sup> | 9,7 × 10 <sup>-4</sup>  | 1,6 × 10 <sup>-2</sup>  | 1,9 × 10 <sup>+3</sup> |
| Na     | 10,00          | 1,29 × 10 <sup>-4</sup> | 4,3 × 10 <sup>-4</sup>  | 1,66 × 10 <sup>-2</sup> | 1,4 × 10 <sup>+2</sup> |

5. Berechnung der zweiten thermodynamischen Komplexbildungskonstante K<sub>k2</sub> für das Calcit aus Punkten der Kurve C. Vorerst wurden wiederum aus der sehr angenähert bekannten ionalen Stärke f<sub>1</sub>, f<sub>2</sub>, f<sub>3</sub> und f<sub>4</sub> berechnet, und dann aus dem p<sub>H</sub>-Wert bei a = a die Unbekannten [HX''], [CaX'], [X'''] und [CaX<sub>2</sub>'''] ermittelt:

$$\frac{[X''']}{[HX'']} = \frac{K_3 \cdot f_2}{(H^+)^2 f_3} ; [CaX'] + [CaX_2'''] = c,$$

$$[CaX'] + 2 \cdot [CaX_2'''] + [HX'] + [X'''] = c_s$$

$$[X'''] + [CaX_2'''] + [OH'] = (a - 2) \cdot c_s$$

Die folgende Tabelle unterrichtet über die Resultate beim Punkt P<sub>2</sub> der Kurve C (a = 2,75).

|                         |                         |                         |                         |                         |                         |                |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------|
| f <sub>1</sub>          | f <sub>2</sub>          | f <sub>3</sub>          | f <sub>4</sub>          | c                       | c <sub>s</sub>          | p <sub>H</sub> |
| 0,92                    | 0,71                    | 0,46                    | 0,25                    | 1,08 × 10 <sup>-3</sup> | 2,16 × 10 <sup>-3</sup> | 9,777          |
| [HX'']                  | [X''']                  | [CaX']                  | [CaX <sub>2</sub> ''']  | K <sub>k2</sub>         |                         |                |
| 6,14 × 10 <sup>-4</sup> | 1,14 × 10 <sup>-4</sup> | 7,14 × 10 <sup>-4</sup> | 3,66 × 10 <sup>-4</sup> | 2,68 × 10 <sup>+3</sup> |                         |                |

### Zusammenfassung.

1. Die Aciditätskonstanten der Nitrilo-triessigsäure werden angegeben und auf die verschiedenartige Konstitution der Säure und ihrer Anionen wird aufmerksam gemacht.

2. Die Komplexbildung der Nitrilo-triessigsäure mit den Erdalkalien wurde studiert. Sie besteht in erster Linie darin, dass das Erdalkaliumion an die Stelle eines Protons am zentralen Stickstoff tritt. Der Austritt dieses Protons bedingt interessante p<sub>H</sub>-Effekte, welche die Komplexbildungskonstanten zu messen gestatten.

3. Genau so wie die Erdalkaliumionen, verhalten sich auch Li und Na, von welchen die Komplexbildungskonstanten ebenfalls mitgeteilt werden.

4. Zwei Mono-nitrilo-calciate und zwei Mono-nitrilo-magnesiater wurden präparativ dargestellt.

5. Calcium, und wahrscheinlich in geringerem Masse auch die übrigen Erdalkalien, bilden noch einen labilen Dinitrilokomplex, in welchem auf ein Erdalkaliion zwei Nitrilo-triacetat-Reste kommen. Auch die Bildungskonstante dieses Komplexions wird angegeben.

Chem. Institut der Universität Zürich.

Chem. Fabrik Uetikon am See.

### 108. *d*-Altromethylose-3-methyläther.

Desoxyzucker, 6. Mitteilung<sup>1)</sup>

von C. A. Grob und D. A. Prins.

(29. V. 45.)

Für den in verschiedenen Glykosiden vorkommenden, von *Windaus* und *Hermans*<sup>2)</sup> zuerst isolierten Desoxyzucker Cymarose stellte *Elderfield*<sup>3)</sup> auf Grund von Abbaubersuchen die Strukturformel (XVIII) auf. Diese Formel durch eine eindeutige Synthese zu bestätigen war Zweck der vorliegenden Arbeit, doch konnte dieses Ziel noch nicht erreicht werden, da die Überführung des *d*-Altromethylose-3-methyläthers (XIV) in das Glykal Cymarosein (XVII) nach der bekannten Methode von *E. Fischer*<sup>4)</sup> auf unerwartete Komplikationen stieß, deren Abklärung äusserer Umstände halber einstweilen zurückgestellt werden muss. Wir beschreiben daher die Herstellung des in unserem Schema als Zwischenprodukt gedachten *d*-Altromethylose-3-methyläthers (XIV) und einige seiner Derivate.

Als Ausgangsmaterial diente 4,6-Benzyliden- $\alpha$ -methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (VIIIa), der nach *Robertson* und *Griffith*<sup>5)</sup> in guter Ausbeute durch Spaltung des 4,6-Benzyliden-2,3-anhydro- $\alpha$ -methyl-*d*-mannosids- $\langle 1,5 \rangle$  (VII) mit NaOCH<sub>3</sub> entsteht. Für die Bereitung von (VII) standen bisher zwei Wege offen. Nach *Robertson* und *Griffith*<sup>5)</sup> kann durch partielle Tosylierung von 4,6-

<sup>1)</sup> 5. Mitteilung, vgl. *E. Vischer*, *T. Reichstein*, *Helv.* **27**, 1332 (1944).

<sup>2)</sup> *A. Windaus*, *L. Hermans*, *B.* **48**, 979 (1915). Vgl. auch *W. A. Jacobs*, *J. Biol. Chem.* **88**, 519 (1930); *W. A. Jacobs*, *R. C. Elderfield*, ebenda **91**, 625 (1931); *I. D. Lamb*, *S. Smith*, *Soc.* **1936**, 444; *A. Stoll*, *W. Kreis*, *J. Renz*, *Helv.* **20**, 1493 (1937); *M. Hartmann*, *E. Schlittler*, *Helv.* **23**, 548 (1940).

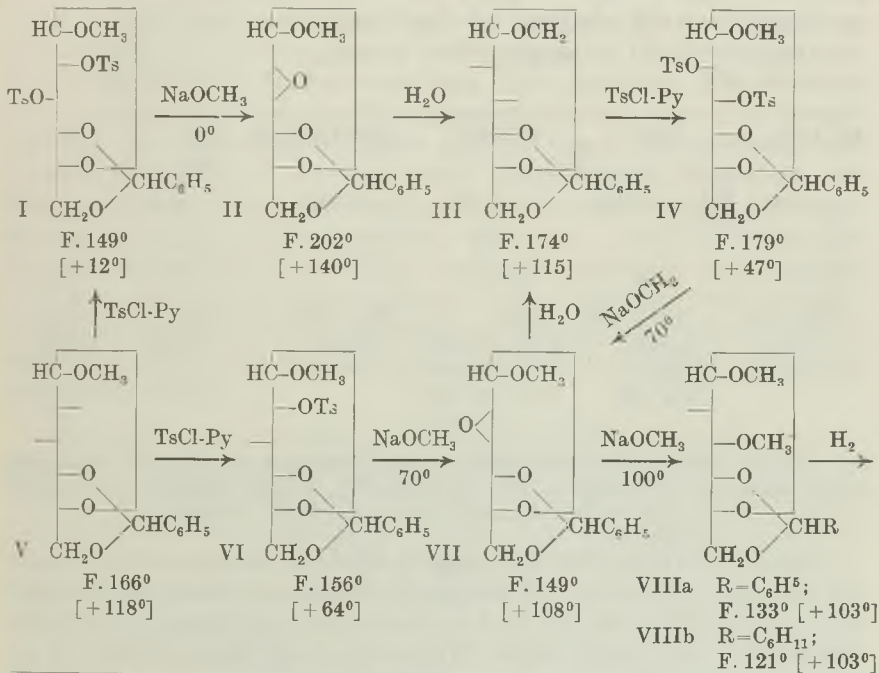
<sup>3)</sup> *R. C. Elderfield*, *J. Biol. Chem.* **111**, 527 (1935), vgl. auch *C. W. Shoppee*, *T. Reichstein*, *Helv.* **25**, 1611 (1942).

<sup>4)</sup> *E. Fischer*, *K. Zach*, *Sber. Preuss. Akad.* **1913**, 311; *E. Fischer*, *B.* **47**, 196 (1914).

<sup>5)</sup> *G. J. Robertson*, *C. F. Griffith*, *Soc.* **1935**, 1193.



Benzyliden- $\alpha$ -methyl-*d*-glykosid- $\langle 1,5 \rangle^1$  (V) das 2-Monosylat (VI) erhalten werden, das beim Kochen mit NaOCH<sub>3</sub> in Methanol glatt in (VII) übergeht<sup>2</sup><sup>3</sup>). Wegen der schlechten Ausbeuten an (VI) war jedoch bisher der Umweg über das Ditosylat (I)<sup>4</sup><sup>5</sup><sup>6</sup>) vorteilhafter, das in fast quantitativer Ausbeute bei der energischen Tosylierung von (V) entsteht und mit NaOCH<sub>3</sub> schon bei 0° in 4,6-Benzyliden-2,3-anhydro- $\alpha$ -methyl-*d*-allosid- $\langle 1,5 \rangle$  (II)<sup>2</sup><sup>6</sup>) übergeht. Dieser Stoff gibt bei der Spaltung mit NaOCH<sub>3</sub> den für unseren Zweck unerwünschten 2-Methyläther von (III)<sup>2</sup>, beim Kochen mit wässriger Kalilauge jedoch 4,6-Benzyliden- $\alpha$ -methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$  (III)<sup>6</sup><sup>7</sup>), das durch energische Tosylierung das Ditosylat (IV)<sup>7</sup>) liefert. Aus (IV) entsteht beim Verkochen mit methanolischem NaOCH<sub>3</sub> das gesuchte (VII)<sup>7</sup>). Obwohl für alle Stufen sorgfältig ausgearbeitete Bedingungen vorlagen, die durchwegs gute Ausbeuten gewährleisteten,



<sup>1</sup>) W. A. van Ekenstein, *J. J. Blanksma*, R. 25, 157 (1906); *J. C. Irvine, J. P. Scott*, Soc. 103, 575 (1913); *K. Freudenberg, H. Toepffer, C. C. Andersen*, B. 61, 1758, (1928)

<sup>2</sup>) *G. J. Robertson, C. F. Griffith*, Soc. 1935, 1193.

<sup>3</sup>) *D. S. Mathers, G. J. Robertson*, Soc. 1933, 1076. Vgl. auch *W. N. Haworth, E. L. Hirst, L. Panizzon*, Soc. 1934, 154; sowie *W. H. G. Lake, S. Peat*, Soc. 1938, 1417; 1939, 1069.

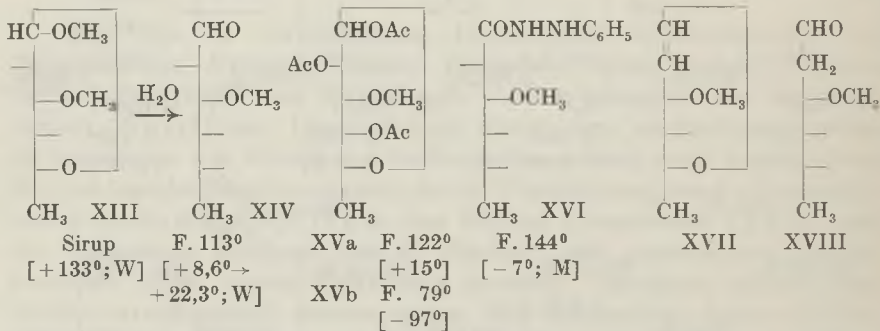
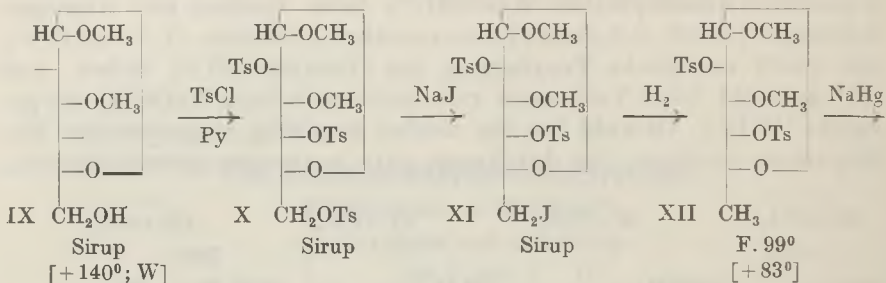
<sup>4</sup>) *H. Ohle, K. Spencker*, B. 61, 2387 (1928).

<sup>5</sup>) *D. S. Mathers, G. J. Robertson*, Soc. 1933, 696.

<sup>6</sup>) *N. K. Richtmyer, C. S. Hudson*, Am. Soc. 63, 1730 (1941).

<sup>7</sup>) *G. J. Robertson, W. Whitehead*, Soc. 1940, 321.

ist der Weg lang und mühsam. Die kürzlich mitgeteilte Verbesserung der partiellen Tosylierung von (V)<sup>1)</sup> erlaubt es, den viel einfacheren ersten Weg zu beschreiten, wobei sich aus (V) über (VI) etwa 60% (VII) gewinnen lässt. Das aus (VII) leicht erhältliche Altrosidderivat (VIIIa) gab bei der Druckhydrierung mit *Raney*-Nickel neben kristallisiertem 4,6-Hexahydro-benzyliden- $\alpha$ -methyl-*d*-altrosid- $\langle$ 1,5 $\rangle$ -monomethyläther-(3) (VIIIb) den sirupösen  $\alpha$ -Methyl-*d*-altrosid-3-methyläther (IX).



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehungen für Na-Licht, wenn nicht anders angegeben in Chloroform; M = Methanol; W = Wasser. Sonstige Abkürzungen: Ts = *p*-Toluolsulfonyl; Ac = Acetyl; Py = Pyridin.

Zur Entfernung der 6-ständigen Hydroxylgruppe wurde zuerst das amorphe 6-Monotosylat bereitet<sup>2)</sup>, dieses acetyliert, das Tosylat-acetat durch Erhitzen mit NaJ in Aceton ins acetylierte 6-Jodhydrin übergeführt und dieses durch Hydrierung mit *Raney*-Nickel in alkalischer Lösung<sup>3)</sup> und anschließende Verseifung in den  $\alpha$ -Methyl-*d*-altromethylosid- $\langle$ 1,5 $\rangle$ -monomethyläther-(3) (XIII) verwandelt. Sowohl das Endprodukt wie alle Zwischenstufen waren sirupös und die Ausbeute unbefriedigend; für die Stufen (IX)  $\rightarrow$  (XIII) betrug sie

<sup>1)</sup> H. R. Bolliger, D. A. Prins, *Helv.* **28**, 465 (1945).

<sup>2)</sup> Zur Methodik vgl. a) H. Ohle, E. Dickhäuser, *B.* **58**, 2593 (1925); b) J. W. Oldham, J. K. Rutherford, *Am. Soc.* **54**, 366 (1932); c) P. A. Levene, A. L. Raymond, *J. Biol. Chem.* **97**, 763 (1932).

<sup>3)</sup> Vgl. z. B. F. G. Young, R. C. Elderfield, *J. Org. Chem.* **7**, 247 (1942).

ca. 25%. Daher, und besonders wegen der zweifelhaften Reinheit des so bereiteten (XIII) zogen wir einen anderen Weg vor. (IX) wurde pertosyliert, das rohe Tritosylat (X) durch Erhitzen mit NaJ in Aceton in das 2,4-Ditosyl-6-jodhydrin (XI) übergeführt<sup>1)</sup> und dieses in rohem Zustand katalytisch entjodet. Der 2,4-Ditosyl- $\alpha$ -methyl-*d*-altromethylosid- $\langle 1,5 \rangle$ -methyläther-(3) (XII) liess sich in krystallisierter Form isolieren und durch reduktive Detosylierung<sup>2)</sup> in den reinen  $\alpha$ -Methyl-*d*-altromethylosid- $\langle 1,5 \rangle$ -methyläther-(3) (XIII) überführen. Die Totalausbeute (IX)  $\rightarrow$  (XIII) betrug nach dieser Methode ca. 60%.

Saure Hydrolyse von (XIII) gab den gesuchten *d*-Altromethylose-3-methyläther (XIV), der nach längerem Stehen krystallisierte. Der Zucker wurde aus wenig Aceton-Äther als Halbhydrat in farblosen Nadeln vom Smp. 111—113° und  $[\alpha]_D^{15} = +8,6^\circ \rightarrow 22,3^\circ$  (Wasser; 7 Min. resp. 6 Std.) gewonnen. Nach der positiven Mutarotation liegt offenbar die  $\beta$ -Form vor. Durch Sublimation im Hochvakuum lässt sich der wasserfreie Zucker vom Smp. 124° gewinnen. Zur weiteren Charakterisierung wurde das Phenylsazonoazone<sup>3)</sup> bereitet, sowie das Phenylhydrazid der zugehörigen Säure (XVI). Durch Acetylierung mit Acetanhydrid-Pyridin wurden zwei krystallisierte Triacetate erhalten, die sich durch Chromatographie trennen liessen. Die spez. Drehungen würden dafür sprechen, dass die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Formen der Pyranosereihe (XVa und XVb) vorliegen; dagegen spricht, dass sich eine gegenseitige Umwandlung durch Erwärmen mit Acetanhydrid-Zinkchlorid<sup>3)</sup> nicht herbeiführen liess: es wurden aus (XVb) lediglich amorphe Produkte erhalten, während (XVa) grössten Teils unverändert blieb.

Es wurde weiter versucht, (XIV) durch Eliminierung der 2-ständigen Hydroxylgruppe in Cymarose (XVIII) überzuführen, was bisher nicht gelang. Anwendung der bewährten Glykalmethode<sup>4)</sup> in der kürzlich beschriebenen Modifikation<sup>5)</sup> gab trotz sorgfältigen Arbeitens keine Spur des gesuchten Cymaroseens (XVII). Auf die möglichen Ursachen soll event. später eingegangen werden.

Wir danken Herrn Professor Dr. T. Reichstein für seine Anregungen und für seine wohlwollende Kritik. Der eine von uns (D. A. P.) dankt der CIBA AG. in Basel für die Gewährung eines Arbeitsstipendiums.

<sup>1)</sup> Für die grössere Reaktionsfähigkeit der 6-ständigen Tosyloxy-Gruppe gegenüber den ringständigen. vgl. J. W. Oldham, J. K. Rutherford, *J. Chem. Soc.* **54**, 366 (1932), sowie z. B. D. J. Bell, *Soc.* **1934**, 1177; D. J. Bell, E. Friedmann, S. Williamson, *Soc.* **1937**, 252.

<sup>2)</sup> K. Freudenberg, F. Brauns, *B.* **55**, 3238 (1922). Vgl. ferner P. A. Levene, *J. Compton, Am. Soc.* **57**, 2306 (1935) u. a.

<sup>3)</sup> C. S. Hudson, J. M. Johnson, *Am. Soc.* **37**, 1270, 1276 (1915).

<sup>4)</sup> E. Fischer, K. Zach, *Sber. Preuss. Akad.* **1913**, 311; E. Fischer, *B.* **47**, 196 (1914).

<sup>5)</sup> B. Iselin, T. Reichstein, *Helv.* **27**, 1146 (1944).



### Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert; Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ . Sofern nicht anders angegeben, wurden alle spez. Drehungen in  $\text{CHCl}_3$  bestimmt und die Analysenpräparate 2 Stunden im Hochvakuum bei 60–80° getrocknet.)

#### 4,6-Benzyliden- $\alpha$ -methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (VIIIa) aus (VII).

Dieses Produkt wurde nach *Robertson* und *Griffith*<sup>1)</sup> aus dem Anhydro-*d*-mannosid-Derivat (VII) im Autoklaven bei 100° in 80- bis 85-proz. Ausbeute erhalten. Smp. 132 bis 133°.  $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +103^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,75$ ).

Acetat von (VIIIa). Das mit Acetanhydrid und Pyridin aus (VIIIa) bereitete 2-Acetat krystallisierte aus Äther-Petroläther in langen verfilzten Nadeln vom Smp. 149°.

3,846 mg Subst. gaben 8,495 mg  $\text{CO}_2$  und 2,235 mg  $\text{H}_2\text{O}$   
 $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_7$  (338,35) Ber. C 60,34 H 6,55%  
 Gef. „ 60,28 „ 6,50%

Mesylat von (VIIIa). Aus (VIIIa) mit Mesylchlorid in Pyridin<sup>2)</sup>. Aus Methanol oder Chloroform-Petroläther feine Nadeln, die nach Umwandlung bei 125–127° (unter teilweisem Schmelzen und Wiedererstarren) bei 140–142° schmolzen.

3,644 mg Subst. gaben 6,832 mg  $\text{CO}_2$  und 1,891 mg  $\text{H}_2\text{O}$   
 3,661 mg Subst. verbr. 1,961  $\text{cm}^3$  0,01-n. KOH (*Preagl*)  
 $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{S}$  (374,34) Ber. C 51,33 H 5,92 S 8,56%  
 Gef. „ 51,13 „ 5,80 „ 8,59%

#### $\alpha$ -Methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (IX) und 4,6-Hexahydrobenzyliden- $\alpha$ -methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (VIIIb) aus (VIIIa).

7,1 g 4,6-Benzyliden- $\alpha$ -methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (VIIIa) wurden in Methanol suspendiert und mit einem aus 4 g *Raney*-Legierung frisch bereiteten Ni-Katalysator bei 120 Atm.  $\text{H}_2$ -Druck während 18 Stunden auf 60–70° erwärmt. Nach dieser Zeit war eine klare Lösung entstanden, die stark nach Toluol roch. Sie wurde abfiltriert und eingedampft. Der Rückstand wurde mit Wasser versetzt und die entstehende Emulsion mit Chloroform erschöpfend ausgezogen. Die vereinigten Chloroformauszüge wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Da der sirupöse, 2,2 g wiegende Rückstand nur schwer zur Krystallisation zu bringen war, wurde er chromatographiert. Mit Benzol-Äther-Gemischen (2:1 und 1:1) wurde das Produkt (VIIIb) eluiert. Es krystallisierte aus Äther-Pentan in Plättchen vom Smp. 132–133°, die aus der Schmelze in Rechtecken wiedererstarren. Das Hexahydro-Derivat (VIIIb) gab mit (VIIIa) eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung. Aus den gleichen Eluaten wurde eine Fraktion isoliert, die in Nadeln vom Smp. 120–121° krystallisierte, die im Gemisch mit (VIIIa) eine deutliche, mit (VIIIb) aber keine Schmelzpunktserniedrigung gaben. (VIIIb) tritt offenbar in 2 Krystallmodifikationen auf. Das gleiche Produkt vom Smp. 120–121° wird auch bei der Spaltung des 2-Tosylats von (VIIIb) (vgl. weiter unten) mit NaHg in Methanol erhalten. Seine spez. Drehung betrug  $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +102,9^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,575$ ).

3,775 mg Subst. gaben 8,262 mg  $\text{CO}_2$  und 2,857 mg  $\text{H}_2\text{O}$   
 3,164 mg Subst. verbr. 6,249  $\text{cm}^3$  0,02-n.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (*Zeisel-Vieböck*)  
 $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_6$  (302,36) Ber. C 59,58 H 8,67  $-\text{OCH}_3$  20,71%  
 Gef. „ 59,72 „ 8,47 „ 20,42%

<sup>1)</sup> G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193.

<sup>2)</sup> B. Helferich, A. Gnüchtel, B. 71, 712 (1938).



Der wässrige Auszug des aus (VIIIa) erhaltenen Hydrierungsproduktes hinterliess nach dem Eindampfen einen 3,75 g wiegenden farblosen, aus  $\alpha$ -Methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (IX) bestehenden Sirup, der für die Herstellung von (XII) sowie für einen Oxydationsversuch mit Natriumperjodat verwendet wurde. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{18} = +139,50 \pm 2^\circ$  ( $c = 3,01$  in  $H_2O$ ) (vgl. <sup>1)</sup>).

Acetat von (VIIIb). Aus (VIIIb) (Smp.  $121^\circ$ ) mit Acetanhydrid in Pyridin. Nadeln aus Äther-Pentan, die nach Sublimation bei  $146\text{--}147^\circ$  schmolzen. Dieses Acetat gab mit dem Acetat von (VIIIa) eine deutliche Erniedrigung des Schmelzpunktes.

Tosylat von (VIIIb). Aus (VIIIb) (Smp.  $121^\circ$ ) mit Tosylchlorid in Pyridin. Aus Äther-Pentan feine Nadeln vom Smp.  $128^\circ$ .

3,754 mg Subst. gaben 7,956 mg  $CO_2$  und 2,342 mg  $H_2O$   
 7,062 mg Subst. verbr. 3,040  $cm^3$  0,01-n. KOH (Pregl)  
 $C_{22}H_{32}O_8S$  (456,48) Ber. C 57,87 H 7,06 S 7,02%  
 Gef. „ 57,84 „ 6,98 „ 6,90%

Oxydation von (IX) mit  $NaJO_4$  <sup>2)</sup>.

3 Proben zu 20 mg (IX) wurden in 4  $cm^3$   $H_2O$  gelöst und 48, resp. 72 und 96 Stunden bei Raumtemperatur mit 2,4  $cm^3$  0,1-n.  $NaJO_4$ -Lösung stehen gelassen. Beim Zurücktitrieren mit 0,04-n.  $Na_2S_2O_3$ -Lösung betrug die Differenz gegenüber den Blindproben 0,1 bis 0,2  $cm^3$ . Es hatte also keine Oxydation stattgefunden. Zur Kontrolle wurden in ähnlicher Weise 4 Proben zu 24,75 mg aus (II) hergestelltem  $\alpha$ -Methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(2)<sup>1)3)</sup> oxydiert. In diesem Fall wurde genau 1 Äq. Sauerstoff verbraucht (Verbr.:  $5,9 \pm 0,1$   $cm^3$ . Ber.:  $5,95$   $cm^3$  0,04-n.  $Na_2S_2O_3$ ).

2,4-Ditosyl- $\alpha$ -methyl-*d*-altromethylosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (XII) aus (IX).

3,75 g reiner, wasserlöslicher  $\alpha$ -Methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (IX) wurden in 17,5  $cm^3$  Pyridin gelöst und nach Zugabe von 15 g Tosylchlorid 4 Tage bei Raumtemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde der Überschuss an Tosylchlorid durch Zugabe von 2  $cm^3$  Wasser und 1-stündiges Stehen zerstört, das Gemisch mit kalter 2-n. Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt und mit Äther extrahiert. Die Ätherlösung wurde neutral gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der sirupöse Rückstand (X) wog 10,7 g (88% d. Th.) und wurde in rohem Zustand mit 4 g Natriumjodid in 40  $cm^3$  Aceton im Bombenrohr während 16 Stunden auf  $80^\circ$  erhitzt. Das krystallin ausgeschiedene Natriumtosylat wurde abfiltriert und wog 2,8 g (90% d. Th.); das Filtrat wurde zur Trockne verdampft, in Äther aufgenommen, die ätherische Lösung mit Wasser, Natriumthiosulfat-Lösung, verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Der nach dem Verjagen des Lösungsmittels verbleibende amorphe Rückstand (XI) wog 9,5 g. Er wurde in 30  $cm^3$  Methanol gelöst und mit einem Nickelkatalysator unter Zugabe von methanolischer Natronlauge reduziert<sup>4)</sup>. Die Wasserstoffaufnahme betrug 340  $cm^3$  (Ber.: 340  $cm^3$ ). Nun wurde vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat mit Wasser versetzt, mit Kohlendioxyd neutralisiert, das Methanol im Vakuum

<sup>1)</sup> G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193.

<sup>2)</sup> Vgl. E. L. Jackson, C. S. Hudson, Am. Soc. 62, 958 (1940); N. K. Richtmyer, C. S. Hudson, Am. Soc. 62, 961 (1940).

<sup>3)</sup> Bei der Bereitung dieses Stoffes durch Aufspaltung des Oxydringes von (II) mit  $NaOCH_3$  wurden neben 70% 4,6-Benzyliden- $\alpha$ -methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -2-methyläther ca. 5–8% 4,6-Benzyliden- $\alpha$ -methyl-*d*-glykosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther isoliert (vgl. S. Peat, L. F. Wiggins, Soc. 1938, 1810), der bei  $150\text{--}151^\circ$  schmolz und mit dem von Bolliger und Prins beschriebenen Produkt<sup>5)</sup> identisch war (Mischprobe).

<sup>4)</sup> Vgl. z. B. F. G. Young, R. C. Elderfield, J. Org. Chem. 7, 247 (1942).

<sup>5)</sup> H. R. Bollinger, D. A. Prins, Helv. 28, 465 (1945).

verjagt und die verbleibende Suspension mit Äther ausgezogen. Der Ätherextrakt wurde noch mit Wasser gewaschen, dann über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in wenig Methanol aufgenommen und geimpft. Das in Nadeln krystallisierende Ditosylat (XII) wog 5,5 g und schmolz bei 95—96°. Eine Probe wurde aus Äther-Pentan umkrystallisiert, Smp. 99—100°. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{18} = +82,9^{\circ} \pm 3^{\circ}$  ( $c = 1,34$ ).

3,788 mg Subst. gaben 7,296 mg CO<sub>2</sub> und 1,889 mg H<sub>2</sub>O

2,608; 2,296 mg Subst. verbr. 3,337; 2,996 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Zeisel-Vieböck)

C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub> (500,44) Ber. C 52,78 H 5,64 -OCH<sub>3</sub> 12,40%

Gef. „ 52,56 „ 5,59 „ 13,23; 13,49%

Die Totalausbeute an (XII) betrug 61% berechnet auf (IX).

$\alpha$ -Methyl-*d*-altromethylosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (XIII) aus (XII).

Zu der Lösung von 7,2 g 2,4-Ditosyl- $\alpha$ -methyl-*d*-altromethylosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (XII) in 200 cm<sup>3</sup> Methanol wurden unter starkem Rühren 400 g 2,5-proz. NaHg in 10 Portionen eingetragen. Nach 7 Stunden wurde abdekantiert, mit CO<sub>2</sub> neutralisiert, eingedampft, und der Rückstand mit heissem Aceton ausgezogen. Beim Erkalten krystallisierten 4,75 g Prismen aus, die aus *p*-toluolsulfinsaurem Natrium bestanden. Eine Probe des Salzes wurde in die freie *p*-Toluolsulfinsäure<sup>1)</sup> übergeführt, die aus Äther-Petroläther in Nadeln vom Smp. 86—87° krystallisierte.

Das acetonische Filtrat wurde eingedampft, in 10 cm<sup>3</sup> absolutem Aceton aufgenommen und mit 30 cm<sup>3</sup> absolutem Äther versetzt, um anorganische und organische Salze auszufällen. Nach dem Filtrieren und Eindampfen verblieben 2,97 g eines farblosen Sirups, der im Hochvakuum destilliert wurde. Die Ausbeute an (XIII) betrug 2,5 g (91% d. Th.), Sdp.<sub>0,05 mm</sub> 87—88°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{20} = +133,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 3,07$  in Methanol). Zur Analyse wurde eine Probe im Block destilliert und im Vakuum eingeschmolzen. Vor dem Verbrennen wurde die im Schweinchen eingewogene Substanz während 12 Stunden über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> nachgetrocknet.

3,852 mg Subst. gaben 7,064 mg CO<sub>2</sub> und 2,920 mg H<sub>2</sub>O

1,475 mg Subst. verbr. 4,062 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Zeisel-Vieböck)

C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub> (192,21) Ber. C 49,99 H 8,39 -OCH<sub>3</sub> 32,30%

Gef. „ 50,06 „ 8,48 „ 32,26%

Eine Probe (XIII) wurde zur Kontrolle tosyliert, wobei das Ditosylat (XII) erhalten wurde (Mischprobe).

$\alpha$ -Methyl-*d*-altromethylosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (XIII) aus (IX) durch partielle Tosylierung.

4 g  $\alpha$ -Methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (IX) wurden mit 3,8 g Tosylchlorid in 15 cm<sup>3</sup> Pyridin-Chloroform (1:1) umgesetzt. Die übliche Aufarbeitung ergab 6 g (86% d. Th.) eines farblosen, glasigen Produktes, das in Pyridin-Acetanhydrid acetyliert wurde. Das isolierte, sirupöse Tosylat-acetat (6,7 g) wurde in 25 cm<sup>3</sup> Aceton gelöst und nach Zugabe von 5 g Natriumjodid im Bombenrohr 3 Stunden auf 80° erwärmt. Das ausgeschiedene Natriumtosylat wog 2,13 g (73% d. Th.), das sirupöse Jodhydrin-acetat 5,67 g. Es wurde wie weiter oben beschrieben katalytisch entjodet; die Wasserstoffaufnahme betrug nur 170 cm<sup>3</sup> (ca. 50% d. Th.). Die Aufarbeitung ergab 3,67 g eines fast farblosen, aber noch schwefelhaltigen Sirups, der mit NaHg in Methanol behandelt wurde, worauf das Produkt schwefelfrei war und noch 2,95 g wog. Es wurde reacctyliert und das 3,25 g schwere Rohacetat im Hochvakuum fraktioniert destilliert. Dabei wurden zur Hauptsache 2 Fraktionen erhalten, die erste wog 1,48 g und zeigte Sdp.<sub>0,03 mm</sub> 98—102°, die zweite wog 0,91 g, Sdp.<sub>0,03 mm</sub> 120—126°.

<sup>1)</sup> L. Gattermann, B. 32, 1141 (1899); E. Knoevenagel, J. Kenner, B. 41, 3818 (1908). Beilstein, Handbuch, Bd. XI, S. 9.

Die nieder siedende Fraktion vom Sdp.  $_{0.03 \text{ mm}} 98-102^{\circ}$  bestand aus dem Diacetat von (XIII). Die Ausbeute betrug 28% bezogen auf (IX). Zur Analyse wurde nochmals destilliert, Sdp.  $_{0.01 \text{ mm}} 97-98^{\circ}$ .  $n_D^{17} = 1,4520$ . Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{18} = +112^{\circ} \pm 3^{\circ}$  ( $c = 1,80$ ).

3,734 mg Subst. gaben 7,093 mg  $\text{CO}_2$  und 2,386 mg  $\text{H}_2\text{O}$   
 3,748 mg Subst. verbr. 8,060  $\text{cm}^3$  0,02-n.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (Zeisel-Vieböck).  
 $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_7$  (276,28) Ber. C 52,16 H 7,30  $-\text{OCH}_3$  22,46%  
 Gef. „ 51,84 „ 7,15 „ 22,24%

Die Verseifung dieses Diacetats mit Bariumhydroxyd lieferte in nahezu quantitativer Ausbeute reinen  $\alpha$ -Methyl-*d*-altromethylosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (XIII). Sdp.  $_{0.05 \text{ mm}} 86-88^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D^{14} = +132^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 2,86$  in Methanol).

Die höher siedende Fraktion vom Sdp.  $_{0.03 \text{ mm}} 120-126^{\circ}$  bestand hauptsächlich aus 2,4,6-Triacetyl- $\alpha$ -methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3), der nach Verseifung der Acetylgruppen wieder (IX) lieferte, das zur Bereitung von (XII) verwendet wurde. 4,9 g Triacetat vom Sdp.  $_{0.03 \text{ mm}} 120-126^{\circ}$  lieferten 3,62 g Ditosylat (XII) vom Smp.  $97^{\circ}$ ; Totalausbeute 72%.

*d*-Altromethylose-monomethyläther-(3) (XIV) aus (XIII).

2,47 g  $\alpha$ -Methyl-*d*-altromethylosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (XIII) wurden in 23,3  $\text{cm}^3$  0,75-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gelöst und während 4 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Die spez. Drehung war nach dieser Zeit konstant und betrug  $[\alpha]_D = +17,5^{\circ}$  ( $c = \text{ca. } 2,0$  in 0,15-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Die Lösung wurde mit Bariumcarbonat neutralisiert und filtriert. Das Filtrat hinterliess nach dem Eindampfen einen leicht gelblichen Sirup, der die spez. Drehung  $[\alpha]_D^{20} = +20^{\circ}$  ( $c = 1,6$  in  $\text{H}_2\text{O}$ ; 10 Minuten) zeigte und Fehling'sche Lösung stark reduzierte. Nach mehreren Monaten trat Krystallisation dieses Zuckersirups ein, der nach dem Vorliegen von Impfkristallen aus wenig Aceton-Äther ziemlich vollständig krystallisierte. Die so erhaltenen Krystalle des *d*-Altromethylose-monomethyläthers-(3) (XIV) stellten Prismen dar, die meistens bei  $108-110^{\circ}$  oder bei  $111-113^{\circ}$  schmolzen und Fehling'sche Lösung kräftig reduzierten. Nach der Analyse zu urteilen enthielten diese Krystalle Krystallwasser. Sie sind nicht hygroskopisch und verändern sich beim Aufbewahren im mit Korkzapfen verschlossenen Reagenzglas auch nach mehreren Monaten nicht. Der krystalline Zucker schmeckt sehr schwach süsslich mit etwas bitterlichem Nachgeschmack.

Die spez. Drehung der Krystalle vom Smp.  $111-113^{\circ}$  betrug:  $[\alpha]_D^{18} = +8,6^{\circ} \pm 3^{\circ}$  (7 Minuten)  $\rightarrow +22,3^{\circ} \pm 3^{\circ}$  (6 Stunden; konstant) ( $c = 0,584$  in  $\text{H}_2\text{O}$ ). Nach der positiven Mutarotation liegt die  $\beta$ -Form vor. Zur Analyse wurden die bei  $60^{\circ}$  im Hochvakuum getrockneten Krystalle vom Smp.  $111-113^{\circ}$  im Hochvakuum während 24 Stunden über  $\text{P}_2\text{O}_5$  im Schweinchen nachgetrocknet.

3,568 mg Subst. gaben 5,943 mg  $\text{CO}_2$  und 2,440 mg  $\text{H}_2\text{O}$   
 3,019 mg Subst. verbr. 4,694  $\text{cm}^3$  0,02-n.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (Zeisel-Vieböck)  
 $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_5$  (178,18) Ber. C 47,18 H 7,92  $-\text{OCH}_3$  17,42%  
 $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_5 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$  (187,19) „ 44,91 „ 8,08 „ 16,58%  
 Gef. „ 45,46 „ 7,65 „ 16,08%

Wurden die Krystalle vom Smp.  $108-110^{\circ}$  oder  $111-113^{\circ}$  langsam im Hochvakuum bei 0,01 mm Druck und  $108-115^{\circ}$  Badtemperatur sublimiert, und das teilweise krystalline Produkt aus Aceton-Petroläther umkrystallisiert, so wurden kleine Prismen erhalten, die nach einständigem Trocknen im Hochvakuum bei  $70-80^{\circ}$  bei  $124-125^{\circ}$  schmolzen. Es ist dies, wie aus der Analyse hervorgeht, die wasserfreie Form.

3,768 mg Subst. gaben 6,488 mg  $\text{CO}_2$  und 2,648 mg  $\text{H}_2\text{O}$   
 $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_5$  (178,18) Ber. C 47,18 H 7,92%  
 Gef. „ 46,99 „ 7,86%



Osazon. Das in üblicher Weise bereitete Phenylosazon schied sich nach längerem Stehen aus der Reaktionslösung krystallin ab. Nach Umkrystallisieren aus Äther wurde es in Form hellgelber Nadeln vom Smp. 144—146° erhalten. Aus der Schmelze krystallisierten beim weiteren Erhitzen einige Nadeln aus, die bei ca. 168° schmolzen. Nach den Analysenwerten zu urteilen enthalten auch bei 90° getrocknete und im Vakuum eingeschmolzene Präparate noch etwas Krystallwasser und event. Spuren von Krystalläther. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{10} = +31^{\circ} \pm 3^{\circ}$  (10 Minuten)  $\rightarrow -20^{\circ} \pm 3^{\circ}$  (48 Stunden, konstant) ( $c = 0,76$  in Methanol).

3,695<sup>1)</sup>; 3,778 mg Subst. gaben 8,613<sup>1)</sup>; 8,740 mg CO<sub>2</sub> und 2,387<sup>1)</sup>; 2,153 mg H<sub>2</sub>O  
 4,079; 2,698<sup>2)</sup> mg Subst. verbr. 3,859; 2,698<sup>2)</sup> cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Zeisel-Vieböck)  
 3,122<sup>2)</sup> mg Subst. gaben 0,419 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (20°, 717 mm)  
 C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub>N<sub>4</sub> (356,11) Ber. C 64,03 H 6,79 N 15,72 -OCH<sub>3</sub> 8,71%  
 C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub>N<sub>4</sub> · ½ H<sub>2</sub>O (365,12) Ber. „ 62,44 „ 6,90 „ 15,35 „ 8,50%  
 C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub>N<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O (374,13)  
 Ber. C 60,94 H 7,00 N 14,97 -OCH<sub>3</sub> 8,29%  
 Gef. „ 63,61<sup>1)</sup>; 62,97 „ 7,23<sup>1)</sup>; 6,37 „ 14,74<sup>2)</sup> „ 9,78; 9,86%<sup>2)</sup>

*d*-Altromethylose-monomethyläther-(3)-triacetat (XVa) und (XVb).

Aus krystallisiertem (XIV). 60 mg krystallisierter *d*-Altromethylose-monomethyläther-(3) (XIV) wurden über Nacht mit Acetanhydrid-Pyridin bei Zimmertemperatur acetyliert. Bei der Aufarbeitung wurden 65 mg sirupöses Acetat erhalten, das chromatographiert wurde (neutralisiertes Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). Mit Benzol-Petroläther-Gemischen (1:4 bis 1:1) wurde das Acetat (XVa) eluiert, das aus Äther-Pentan in Form rechteckiger Plättchen oder beidseitig zugespitzter breiter Prismen krystallisierte. Der Schmelzpunkt lag bei 121—122°, teilweise unter Umwandlung (Schmelzen und augenblickliches Wiedererstarren) bei 112—113°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{15} = +14,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,96$ ).

3,663 mg Subst. gaben 6,868 mg CO<sub>2</sub> und 2,184 mg H<sub>2</sub>O  
 3,504 mg Subst. verbr. 3,450 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Zeisel-Vieböck)  
 C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>8</sub> (304,29) Ber. C 51,31 H 6,62 -OCH<sub>3</sub> 10,20%  
 Gef. „ 51,17 „ 6,68 „ 10,18%

Mit Benzol:Äther-Gemischen (9:1 bis 1:1) wurde das Acetat (XVb) erhalten. Aus Äther-Pentan lange Prismen vom Smp. 79°. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{15} = -96,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,594$ ).

Zur Analyse wurde im Hochvakuum 2 Stunden bei Raumtemperatur getrocknet.

3,658 mg Subst. gaben 6,918 mg CO<sub>2</sub> und 2,224 mg H<sub>2</sub>O  
 2,945 mg Subst. verbr. 2,906 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Zeisel-Vieböck)  
 C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>8</sub> (304,29) Ber. C 51,31 H 6,62 -OCH<sub>3</sub> 10,20%  
 Gef. „ 51,62 „ 6,80 „ 10,20%

Die sirupösen Mutterlaugen dieser beiden krystallinen isomeren Triacetate waren beträchtlich.

Aus amorphen (XIV). Aus dem ursprünglich nur als Sirup erhaltenen *d*-Altromethylose-monomethyläther-(3) (XIV) wurden die beiden Acetate (XVa) und (XVb) ebenfalls neben beträchtlichen amorphen Fraktionen erhalten. So ergaben 5,6 g sirupöses Rohacetat 0,86 g (XVa) vom Smp. 122° und 0,99 g (XVb) vom Smp. 79°; nebst 2,31 g sirupöser Mutterlaugen von (XVa) (A) mit  $[\alpha]_D^{16} = +56^{\circ}$  ( $c = 2,38$ ) und 1,56 g sirupöser Mutterlaugen von (XVb) (B). Wie aus den Analysenresultaten hervorgeht, bestehen diese Mutterlaugen vorwiegend aus Isomerengemischen der Formel C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>8</sub>; die destillierten Analysenproben ergaben:

1) Vor der Verbrennung bei 60° im Hochvakuum nachgetrocknet.

2) Ohne Nachtrocknen.



|     |   |
|-----|---|
| (A) | 4,118 mg Subst. gaben 7,823 mg CO <sub>2</sub> und 2,365 mg H <sub>2</sub> O  |
|     | 3,221 mg Subst. verbr. 3,673 cm <sup>3</sup> 0,02-n. Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (Zeisel-Vieböck) |
| (B) | 3,740 mg Subst. gaben 7,088 mg CO <sub>2</sub> und 2,153 mg H <sub>2</sub> O  |
|     | 5,001 mg Subst. verbr. 5,485 cm <sup>3</sup> 0,02-n. Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (Zeisel-Vieböck) |
|     | C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O <sub>8</sub> (304,29) Ber. C 51,31 H 6,62 -OCH <sub>3</sub> 10,20%                |
|     | Gef. (A) „ 51,84 „ 6,43 „ 11,79%  |
|     | Gef. (B) „ 51,72 „ 6,44 „ 11,43%  |

Versuch zur Umlagerung von (XVb) in (XVa).

65 mg Triacetat (XVb) vom Smp. 79° wurden in 1 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid gelöst und nach Zugabe einer Spur frisch geschmolzenen Zinkchlorids  $\frac{1}{2}$  Stunde auf 100° erhitzt. Hierauf wurde im Vakuum fast zur Trockne verdampft, der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Äther ausgezogen. Die neutral gewaschene und getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Verdampfen 66 mg Sirup, der chromatographiert wurde. Mit Benzol-Petroläther (1:4 und 1:2) wurden 38 mg eines Sirups eluiert, der auch nach Impfen mit (XVa) nicht zur Krystallisation zu bringen war. Weitere Eluate mit Benzol und Benzol-Äther (4:1 und 2:1) lieferten noch 10 mg eines Sirups, aus dem mit Mühe einige Prismen vom Smp. ca. 70° erhalten werden konnten, die höchstwahrscheinlich mit dem Ausgangsmaterial identisch waren. Die geringe Menge verunmöglichte eine weitere Reinigung.

Versuch zur Umlagerung von (XVa).

80 mg Triacetat (XVa) vom Smp. 122° wurden wie oben beschrieben mit Acetanhydrid und einer Spur ZnCl<sub>2</sub> erhitzt. Die Aufarbeitung gab 65 mg eines Sirups, aus dem chromatographisch 45 mg kristallines Ausgangsmaterial in Form von Prismen und 6-eckigen Blättchen vom Smp. 110—111° erhalten wurden. Es ist dies eine zweite Krystallmodifikation des Triacetats (XVa), die sich durch Animpfen der Lösung mit der (stabileren) Modifikation vom Smp. 122° in diese überführen lässt. Die spez. Drehung des bei 110° schmelzenden Produktes betrug:  $[\alpha]_D^{15} = +13,6 \pm 3^\circ$  ( $c = 0,736$ ).

*d*-Altromethylonsäure-monomethyläther-(3)-phenylhydrazid (XVI) aus (XIV).

350 mg sirupöser *d*-Altromethylonse-monomethyläther-(3) (XIV) wurden in 3 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O gelöst, mit 0,1 cm<sup>3</sup> Br<sub>2</sub> (~ 310 mg, ~ 1,5 Mol) versetzt und die Mischung 70 Stunden bei Raumtemperatur im Dunkeln aufbewahrt. Hierauf wurde nach der von *Shoppée* und *Reichstein*<sup>1)</sup> beschriebenen Methodik aufgearbeitet und das sirupöse Produkt im Molekularkolben im Hochvakuum destilliert. Bei einer Badtemperatur bis zu 150° destillierten 86 mg eines schwach gelblich gefärbten Öls, während im Kolben ein 170 mg wiegender bräunlicher Rückstand verblieb.

Das Destillat war ätherlöslich und wurde mit 54 mg Phenylhydrazin (1 Mol) in ätherischer Lösung umgesetzt. Da sich nach 16 Stunden keine Krystalle gebildet hatten, wurde die Lösung eingedampft und der Rückstand während  $\frac{1}{2}$  Stunde auf 100° erwärmt. Das abgekühlte glasige Reaktionsprodukt wurde mit einigen Tropfen Methanol verrieben und dann mit Äther überschichtet. Nach 16 Stunden war Krystallisation eingetreten: verfilzte Nadeln, die abgenutscht wurden und bei 133—135° schmolzen. Wahrscheinlich lag ein Hydrat vor, denn nach Trocknen dieser Krystalle im Hochvakuum bei 130° Blocktemperatur schmolzen sie bei 144—145°. Die spez. Drehung der bei 144° schmelzenden Krystalle betrug:  $[\alpha]_D^{14} = -7,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,99$  in Methanol).

Zur Analyse wurde das bei 130° getrocknete Präparat verwendet.

|  |
|--|
| 3,731 mg Subst. gaben 7,528 mg CO <sub>2</sub> und 2,371 mg H <sub>2</sub> O   |
| 2,979 mg Subst. gaben 0,272 cm <sup>3</sup> N <sub>2</sub> (20°, 718 mm)   |
| 2,789 mg Subst. verbr. 2,941 cm <sup>3</sup> 0,02-n. Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (Zeisel-Vieböck)        |
| C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> (284,31) Ber. C 54,92 H 7,09 N 9,85 -OCH <sub>3</sub> 10,91% |
| Gef. „ 55,06 „ 7,11 „ 10,05 „ 10,90%   |

<sup>1)</sup> C. W. *Shoppée*, T. *Reichstein*, *Helv.* **25**, 1611 (1942).

Versuche zur Herstellung von Cymaroseen (XVII) aus (XVa und b).

a) Aus amorphem Acetatgemisch. Es wurden die weiter oben als (A) bezeichneten Mutterlaugen des Acetats (XVa) verwendet. 3,4 g dieser Mutterlaugen wurden unter genauer Einhaltung der von *Iselin* und *Reichstein*<sup>1)</sup> angegebenen Bedingungen glykalisiert. Die Aufarbeitung ergab einen Sirup, der im Hochvakuum destilliert wurde. Bei 120° Badtemperatur wurde eine Spur eines Öls erhalten, bei 140° Badtemperatur destillierten 2,62 g eines viskosen Sirups Sdp. <sub>0,01 mm</sub> 120—125°. Er reduzierte *Fehling'sche* Lösung kräftig beim Erwärmen.

Eine Probe dieses Sirups wurde reacctyliert und chromatographiert, wobei neben amorphen Anteilen die beiden krystallisierten Triacetate (XVa) und (XVb) Smp. 122°, resp. 79° isoliert wurden.

b) Aus krystallisiertem Triacetat (XVa). 950 mg Triacetat (XVa) vom Smp. 122° wurden unter Einhaltung der oben zitierten Bedingungen glykalisiert. Die Aufarbeitung ergab 645 mg Sirup Sdp. <sub>0,02 mm</sub> 100—102°. Er reduzierte *Fehling'sche* Lösung stark.

Bei der Verseifung dieses Produktes mit Ba(OH)<sub>2</sub> konnte kein Cymaroseen isoliert werden; das Produkt stellte ein in Aceton und Äther unlösliches braunes Harz dar.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

## 109. Über Kondensationen des Benzo-furoxans mit aromatischen Aminen zu Azopheninen.

(30. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte<sup>2)</sup>)

von *Paul Ruggli* und *Franz Buchmeier*.

(5. VI. 45.)

In früheren Arbeiten wurden p-Di-nitrosoverbindungen<sup>3)</sup> als gute Ausgangsmaterialien zur Darstellung auxochromloser Polyazoverbindungen erkannt, da sie sich beidseitig mit aromatischen Aminen (Anilin, Amino-azobenzol usw.) kondensieren lassen. Da das wenig bekannte und nur in geringer Menge zugängliche m-Di-nitrosobenzol<sup>4)</sup> bei ähnlichen Kondensationsversuchen verharzte, haben wir uns dem „o-Di-nitrosobenzol“ (I) zugewandt, das durch Oxydation von o-Nitranilin mit Natriumhypochlorit leicht zugänglich ist. Bezüglich seiner Struktur führen allerdings die bisherigen Arbeiten<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> *B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1146 (1944).*

<sup>2)</sup> Letzte Mitteilung *Helv. 28, 781 (1945).*

<sup>3)</sup> *P. Ruggli und Ch. Petitjean, Helv. 21, 711 (1938); P. Ruggli und M. Stäubli, Helv. 24, 1080 (1941); P. Ruggli und G. Bartusch, Helv. 27, 1371 (1944).*

<sup>4)</sup> *F. J. Alway und R. A. Gortner, B. 38, 1899 (1905).*

<sup>5)</sup> Es sind noch zwei andere (symmetrische) Formeln vorgeschlagen worden. *M. O. Forster und H. E. Fierz, Soc. 91, 1942 (1907); A. G. Green und F. M. Rowe, Soc. 103, 897 (1913); M. O. Forster und M. F. Barker, Soc. 103, 1918 (1913); D. L. Hammick, W. Edwardes und E. Steiner, Soc. 1931, II. 3308.* Die bereits von *Green* und *Rowe* dis-

eindeutig zu dem Schluss, dass man ihm die isomere Formel des Benzo-furoxans (II bzw. in heutiger Schreibweise III) zuerteilen muss. Wir schliessen uns dieser Auffassung an, weisen aber darauf hin, dass nach gewissen Beobachtungen auch die o-Dinitrosoform gelegentlich aufzutreten scheint<sup>1)</sup>. Wir haben daher geprüft, ob sich Benzo-furoxan (II) nach Art einer Di-nitrosoverbindung (I) mit aromatischen Aminen kondensieren lässt, wobei z. B. mit Anilin das auf anderem Wege in unserem Laboratorium dargestellte o-Disazobenzol<sup>2)</sup> entstehen könnte. Über die Einwirkung von aromatischen Aminen ist nur die Reaktion mit o-Phenylendiamin<sup>3)</sup> bekannt, das sich zu Diamino-phenazin oxydiert, während das „o-Dinitrosobenzol“ zu o-Chinon-dioxim hydriert wird, und sich bei Gegenwart von überschüssigem o-Phenylendiamin nochmals mit diesem zu Diamino-phenazin kondensiert.

Als wir versuchten, das Benzo-furoxan nach Art der früheren Kondensationen mit Anilin in Gegenwart von Eisessig oder Eisessig-Alkohol umzusetzen, trat auch beim Kochen keine Reaktion ein, ebensowenig beim Erhitzen mit Zinkchlorid oder bei kurzem Kochen mit reinem Anilin. Wir haben daher die Bedingungen schärfer gewählt und den Eisessig durch Salzsäure ersetzt, d. h. ein Gemisch von Anilin und Anilin-hydrochlorid ohne Lösungsmittel verwendet. Erwärmt man Benzo-furoxan (II) mit diesem Gemisch, so tritt oberhalb 145° eine lebhafte Reaktion unter Selbsterwärmung und teilweiser Zersetzung ein, die man durch Zutropfen einer Benzo-furoxan-Anilin-Lösung zum heissen Anilin-hydrochlorid-Anilin-Gemisch mässigen kann.

Wir erhielten einen roten, schön krystallisierten Körper der Summenformel  $C_{30}H_{24}N_4$ , der sich bei genauer Untersuchung als „Azophenin“ oder 2,5-Di-anilino-chinon-dianil (X) erwies. Diese Substanz wurde bereits von *C. Kimich*<sup>4)</sup> durch Erhitzen von p-Nitroso-phenol und Anilin-acetat und von *O. Fischer* und *E. Hepp*<sup>5)</sup>

kutierte und von *Forster* und *Barker* begründete Benzo-furoxan-Formel wurde durch physikalische Messungen von *G. Tappi* und *A. Demorra* bewiesen, *G.* **69**, 708 (1939); vgl. auch *M. Milone* und *G. Tappi*, *Atti X. Congr. int. Chim. Roma II*, 352 (1938); *G. Tappi*, *G.* **71**, 111 (1941). Weitere Literatur in der *Diss. F. Buchmeier*, Basel 1945.

<sup>1)</sup> Begründung: 1-Nitro-naphtyl-2-azid und 2-Nitro-naphtyl-1-azid geben dasselbe Naphto-furoxan; *M. O. Forster* und *H. E. Fierz*, *Soc.* **91**, 1947 (1907). Ebenso geben 4- und 5-Chlor-2-nitro-anilin dasselbe Chlor-benzo-furoxan; *A. G. Green* und *F. M. Rowe*, *Soc.* **103**, 899 (1913).

<sup>2)</sup> *P. Ruggli* und *J. Rohner*, *Helv.* **25**, 1533 (1942).

<sup>3)</sup> *Th. Zincke* und *Ph. Schwarz*, *A.* **307**, 35 (1899).

<sup>4)</sup> *B.* **8**, 1028 (1875).

<sup>5)</sup> *B.* **20**, 2479, 2480 (1887); **21**, 677 (1888); *M. Ikuta*, *A.* **243**, 284 (1888); *O. N. Witt*, *B.* **20**, 1538 (1887) erhielt Azophenin aus p-Amino-azobenzol, Anilin-hydrochlorid und Anilin. Er erwähnte die Bildung von Salmiak, betrachtete aber die Reaktion als reine Oxydation, was von *Fischer* und *Hepp* abgelehnt wurde.



durch längeres Erhitzen von p-Nitroso-diphenylamin mit Anilin und Anilin-hydrochlorid auf 100° erhalten.

Azophenin kann u. a. bei der Oxydation von Anilin mit Bleidioxid entstehen<sup>1)</sup>; es wird auch als mögliches Zwischenprodukt bei der Bildung von Anilinschwarz in Betracht gezogen. Es erhob sich daher die Frage, ob in unserem Falle das Benzo-furoxan bloss als Oxydationsmittel wirkt oder ob es selber in die Molekel eintritt. Der Versuch hat vorwiegend letzteres erwiesen. Ersetzt man nämlich das Benzo-furoxan durch 4-Brom-benzo-furoxan oder Naphtofuroxan, so bleibt die gewünschte Reaktion fast ganz aus; mit Brombenzo-furoxan wurde nur eine kleine Menge gewöhnliches Azophenin erhalten. Das Benzo-furoxan reagiert mithin als Stickstoff-Derivat eines o-Chinons und liefert den zentralen Kern zur Azophenin-Synthese. Analoge Kondensationen sind beim p-Chinon gut erforscht und wurden vielfach durch primäre 1,2-, 1,4- oder 1,6-Addition an die Doppelbindungen erklärt, indem die entstehenden substituierten Hydrochinone zu den entsprechend substituierten Chinonen oxydiert werden, wobei das noch nicht umgesetzte Chinon als Oxydationsmittel wirken kann. Ausgehend vom Benzo-furoxan (II bzw. III) kann man die Formeln IV bis X in Betracht ziehen. Die Addition von Anilin an eine Kerndoppelbindung (IV) ist vom p-Chinon her eine geläufige Vorstellung, ebenso die Wasserstoffverschiebung. Dass dabei die Substanz V entstehen kann, wird durch die bekannte Reduktion des Benzo-furoxans zu o-Chinon-dioxim belegt<sup>2)</sup>; auch die Wasserabspaltung zu VI kann erfahrungsgemäss schon bei 60° erfolgen<sup>3)</sup>. Das entstandene Anilino-furazan (VI) kann erneut Anilin anlagern (VII) und eine analoge Wasserstoffverschiebung zu VIII erleiden. Die folgende Verdrängung durch Anilinreste (Bildung von IX) verläuft analog einer Diphenylamin-Synthese, wobei allerdings neben Ammoniumchlorid auch Hydroxylamin-hydrochlorid entstehen sollte. Wir haben nur Ammoniumchlorid erhalten, doch wird Hydroxylamin-hydrochlorid durch heisses Anilin in Ammoniumchlorid, Stickstoff und Wasser gespalten. Das an verschiedenen Stellen der Reaktionsfolge auftretende Wasser destilliert ab. Als Nebenprodukte entstehen nicht untersuchte farbige Stoffe, die vermutlich in die Reihe der Indamine oder Induline gehören. Jedenfalls ergibt sich kein Anhaltspunkt für eine Di-nitroso-Form des Ausgangsmaterials;

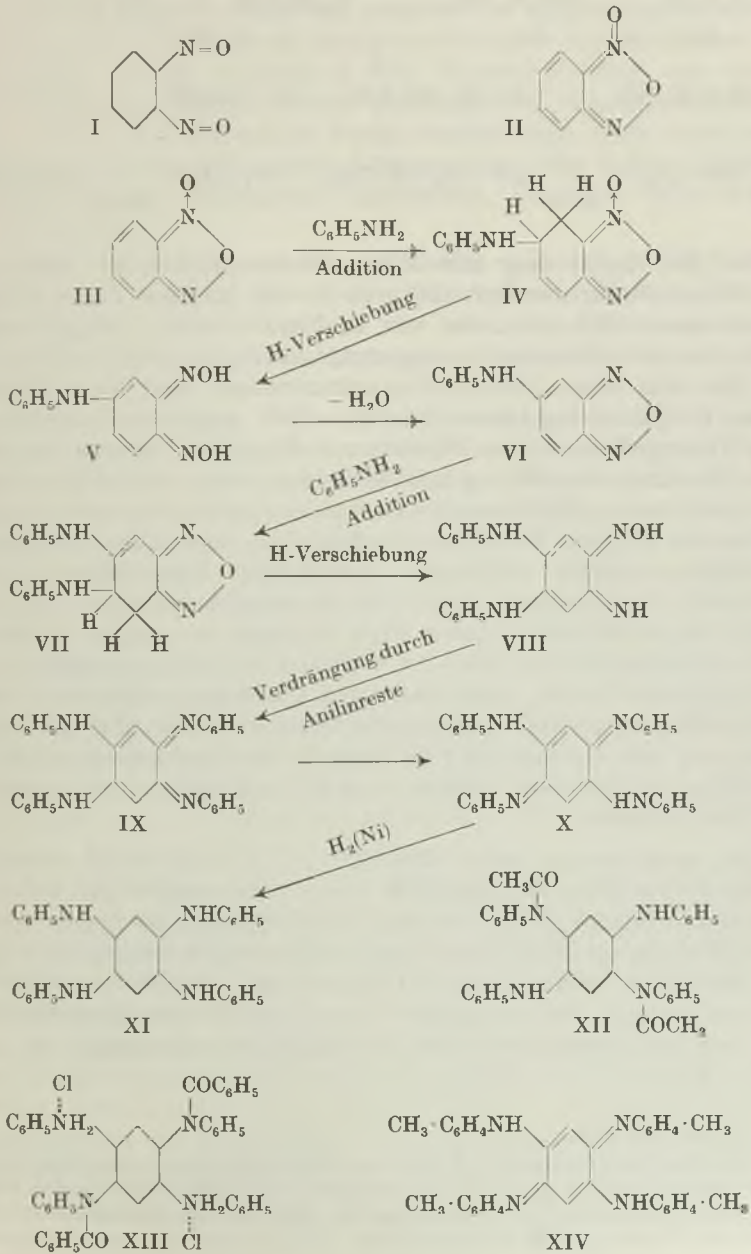
<sup>1)</sup> Die Bildung von Azophenin aus Anilin wurde auch bei der oxydativen Einwirkung von Graphit-oxyd und aktiver Kohle in Gegenwart von Sauerstoff beobachtet; A. H. Carter, L. Moulds und H. Riley, Soc. 1937, 1305; C. 1938, II, 510. Auch die Oxydation mit Jodsäure gibt etwas Azophenin. A. Ostrogowich und T. Silbermann, C. 1908, I, 266.

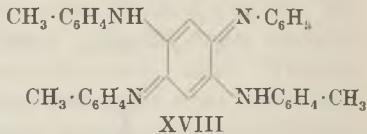
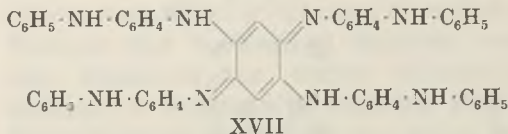
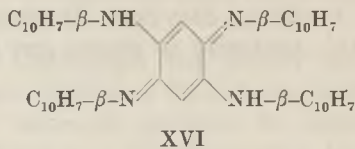
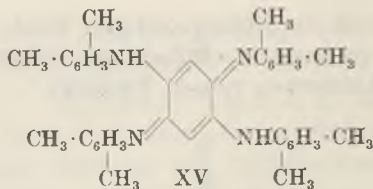
<sup>2)</sup> Th. Zincke und Ph. Schwarz, A. 307, 39 (1899); A. Hantzsch und W. H. Glover, B. 39, 4169 (1906); B. 40, 4346 (1907); A. G. Green und F. M. Rowe, Soc. 101, 2455 (1912).

<sup>3)</sup> Th. Zincke und Ph. Schwarz, A. 307, 40 (1899).



die Formel des Benzo-furoxans wird durch die Chinon-artigen Reaktionen bestätigt. Die neue Synthese ist präparativ einfach und führt mit 30 % Ausbeute zu einem gut kristallisierten reinen Produkt.





Bei der Hydrierung mit *Raney-Nickel* nimmt das Azophenin zwei Wasserstoffatome auf und geht in das farblose 1,2,4,5-Tetraanilino-benzol (XI) über, das von *O. Fischer* und *E. Hepp*<sup>1)</sup> durch Reduktion mit alkoholischer Ammoniumsulfid-Lösung im Rohr bei 140° mit dem Smp. 173—174° erhalten wurde. Der Schmelzpunkt unseres Präparats lag höher, bei 183—184°. Auch sonst fanden wir einige Divergenzen, indem *Fischer* und *Hepp* ihr Präparat in trockenem Zustande wochenlang haltbar fanden, während sich die weissen Plättchen unseres „Hydrazophenins“ an der Luft schon nach wenigen Minuten rot färbten. Diese Verschiedenheiten liessen sich aber durch die Existenz zweier verschieden beständiger Krystallformen aufklären und die Identität durch die Mischprobe belegen. Das aus Alkohol krystallisierte *Fischer-Hepp*-Präparat — dessen Schmelzpunkt wir ebenfalls bei 180—182° fanden — bildet tatsächlich beständige, lange Nadeln, geht aber nach Umlösen aus Dioxan-Benzin in sehr luftempfindliche quadratische Plättchen über. Wir hatten die Hydrierung aus Gründen der Löslichkeit von vornherein in Dioxan oder Essigester ausführen müssen und daher die gegen Luft empfindliche Form erhalten.

Die Acetylierung beider Produkte (XI) muss unter strengem Sauerstoffausschluss durchgeführt werden und ergibt ein Diacetyltetraanilino-benzol (XII), das mit 1 Mol Eisessig in langen silberglänzenden Nadeln krystallisiert und wochenlang beständig ist<sup>2)</sup>. Entfernt man den Eisessig durch Umlösen aus Alkohol, so wird die Substanz amorph. Bei alkalischer Verseifung der Acetylgruppen oxydiert sich das regenerierte Produkt (XI) fast momentan zu Azophenin (X).

<sup>1)</sup> B. 20, 2483 (1887).

<sup>2)</sup> Ein denkbarer Ringschluss, der zu einem Benzimidazol oder unter Einbeziehung des zusätzlichen Eisessigs zu einem di-acetylierten Benzimidazolinium-acetat führen könnte, würde eine grössere Abweichung von den Analysendaten ergeben und mit dem Ergebnis der Verseifung nicht übereinstimmen.

Erhitzt man Azophenin (X) mit Benzoylchlorid auf etwa 200°, so entwickelt sich Chlorwasserstoff und es entsteht neben grünen Farbstoffen ein farbloses Dibenzoyl-Derivat, das sich nach seinen Eigenschaften von der hydrierten Stufe, d. h. vom Tetra-anilino-benzol (XI) ableiten muss und zugleich die Eigenschaften eines Dihydrochlorids hat. Nach der Analyse erteilen wir ihm die Formel XIII. Ausserdem bindet es noch 2 Mol Krystall-Eisessig, die sich bei 160° vertreiben lassen, womit allerdings die Krystallstruktur verloren geht. Die Substanz ist wenig wasserlöslich, doch lassen sich in Eisessig, dem einzigen guten Lösungsmittel, die beiden Chlorionen quantitativ mit Silberacetat nachweisen. Die freie Base liess sich nicht isolieren.

Wird Benzo-furoxan mit p-Toluidin und dessen Hydrochlorid umgesetzt, so entsteht Tetra-p-methyl-azophenin (XIV)<sup>1)</sup>, das gleichfalls hydriert und in Analoga der oben beschriebenen Derivate (XI, XII, XIII mit p-Methylgruppen) übergeführt wurde. Mit o-Toluidin blieb die Reaktion aus, gelang aber wieder mit m-Xylidin. Auch das so erhaltene Octa-o,p-methyl-azophenin (XV) wurde den entsprechenden Reaktionen unterworfen. Sein Dihydro-Produkt (analog XI) liess sich wegen Behinderung durch die o-Substituenten nicht acetylieren. Ebenso blieb die Benzoylierung des Octamethyl-azophenins (XV) aus. Durch Umsetzung von Benzo-furoxan mit  $\beta$ -Naphthylamin wurde  $\beta$ -Naphthazophenin (XVI) erhalten, während mit  $\alpha$ -Naphthylamin Verharzung eintrat. Mit p-Amino-diphenylamin entstand das rotbraune Tetra-(p-anilino)-azophenin (XVII), das in Eisessig indigoblau, in Anilin purpurrot, in Toluol karminrot löslich ist und trotz seiner neun Diphenylamin-artig verketteten Kerne noch keine Ähnlichkeit mit Anilinschwarz zeigt, dem es ja auch in seiner Oxydationsstufe noch nicht entspricht. Immerhin gibt es ein blauschwarzes krystallisiertes Di-hydrochlorid, und die blaue Eisessiglösung gibt mit Natriumdichromat eine unlösliche schwarze Substanz, die dem Anilinschwarz vergleichbar ist.

Die Entstehung aller von uns dargestellter Azophenin-Abkömmlinge — besonders typisch das mit  $\beta$ -Naphthylamin erhaltene  $\beta$ -Naphthazophenin XVI — beweisen, dass der zentrale Benzolkern aus dem Benzo-furoxan stammt, dass dieses also nicht einfach als Oxydationsmittel gewirkt hat.

Zu Vergleichszwecken haben wir auch Präparate nach *Fischer* und *Hepp* dargestellt. Ihre Methode gestattet die Synthese ungleichmassig substituierter Azophenine, da das verwendete p-Nitrosodiphenylamin den Zentralkern und einen Seitenkern liefert, während die neu dazukommenden ev. substituierten Amine die drei wei-

<sup>1)</sup> C. *Kimich*, B. 8, 1031 (1875). Die Darstellung aus p-Nitroso-phenol und p-Toluidin-acetat wurde auch von O. *Fischer* und E. *Hepp* wiederholt.



teren Seitenkerne ergeben. So entsteht mit p-Toluidin nicht das von *Fischer* und *Hepp* vermutete (und durch unsere Synthese mit Benzo-furoxan leicht zugängliche) Tetra-p-methyl-azophenin (XIV), sondern Tri-p-methyl-azophenin (XVIII)<sup>1)</sup>, was wir durch Vergleich dieser Produkte und ihrer Hydrierungsprodukte sowie deren Acetyl-derivate beweisen konnten. Während dieser p-Toluidinkörper in guter Ausbeute entsteht, verliefen die Umsetzungen mit o-Toluidin und m-Xylidin nur in schlechter Ausbeute, was durch die Beeinträchtigung durch o-Substituenten erklärt wird. Die unsymmetrisch substituierten Azophenine schmelzen tiefer als die nach der Benzo-furoxan-Methode dargestellten symmetrischen Substanzen; während letztere scharf schmelzen, sintern erstere einige Grade unter dem Schmelzpunkt. Trotzdem sind sie nach unseren Analysen einheitlich, so dass keine Anhaltspunkte für eine nachträgliche Verdrängung der Gruppen vorliegen.

Alle Azophenine sind sehr schwache Basen, die sich in verdünnter Salzsäure nicht lösen; mit konz. Salzsäure färben sie sich oberflächlich dunkel, erhalten aber durch Waschen mit Wasser ihre ursprüngliche Farbe zurück. Nur in hydroxylfreien Lösungsmitteln lassen sich Mono-pikrate und Mono-pikrolonate von dunkelbrauner bis schwarzer Farbe darstellen, die beim Umkrystallisieren teilweise zerfallen. Die charakteristischen Lösungsfarben in kalter und heisser konz. Schwefelsäure sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

| Substanz                   | Formel | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> bei 20° | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> bei 300° |
|----------------------------|--------|--|---|
| Azophenin . . . . .        | X      | violett                                | blau <sup>2)</sup>                      |
| Tri-p-methyl-A. . . . .    | XVIII  | dunkel blauviolett                     | blaugrün                                |
| Tri-o-methyl-A. . . . .    | —      | rot                                    | blau                                    |
| Tetra-p-methyl-A. . . . .  | XIV    | dunkel blauviolett                     | blaugrün <sup>3)</sup>                  |
| Hexamethyl-A. . . . .      | —      | rotviolett                             | grün                                    |
| Octamethyl-A. . . . .      | XV     | rotviolett                             | grün                                    |
| β-Naphtazophenin . . . . . | XVI    | dunkelviolett                          | schmutzig braun                         |
| Tetra-p-anilino-A. . . . . | XVII   | purpurrot                              | grün bis blau                           |

### Experimenteller Teil.

#### Benzo-furoxan (II).

Die Substanz wurde von *E. Noelling* und *K. Kohn*<sup>4)</sup> und unabhängig von diesen von *Th. Zincke* und *Ph. Schwarz*<sup>5)</sup> aus o-Nitranilin über o-Nitro-diazobenzol-imid erhalten.

<sup>1)</sup> Die in der Literatur wiedergegebenen Stickstoffbestimmungen stimmen tatsächlich besser auf das Trimethyl-derivat; B. 20, 2480 (1887); A. 243, 286 (1888).

<sup>2)</sup> *C. Kimich*, B. 8, 1024 (1875); *Witt* und *Thomas*, Soc. 43, 115 (1883).

<sup>3)</sup> *C. Kimich*, B. 8, 1031 (1875).

<sup>4)</sup> Ch. Z. 18, 1095 (1894). <sup>5)</sup> A. 307, 36 (1899).



Viel vorteilhafter ist die direkte Oxydation des o-Nitranilins mit Natriumhypochlorit-lösung nach *A. G. Green* und *F. M. Rowe*<sup>1)</sup>. Wir haben Ansätze bis zu 50 g o-Nitranilin verarbeitet und von den beiden Möglichkeiten die Darstellung in alkoholischer Lösung bevorzugt; Ausbeute 90%.

#### Azophenin (X) aus Benzo-furoxan und Anilin.

In einem Kolben werden 10 g gepulvertes Anilin-hydrochlorid in 90 cm<sup>3</sup> Anilin unter ständigem Rühren und Erwärmen auf 150° gelöst. Darauf tropft man bei dieser Temperatur eine Lösung von 10 g Benzo-furoxan in 60 cm<sup>3</sup> Anilin mit einer Geschwindigkeit von 2 Tropfen pro Sekunde hinzu, wobei die Ölbadtemperatur 155—170°, die Innentemperatur 153—160° beträgt. Ist nach 20 Minuten alles eingetragen, so belässt man den Kolben noch 5 Minuten im heissen Bad, lässt über Nacht erkalten und kühlt im Eisschrank. Die abgesaugten, zunächst noch dunkel gefärbten Krystalle werden 4mal mit je 50 cm<sup>3</sup> Alkohol und schliesslich mit gekühltem Äther dekantiert, wobei 9,5 g rote Krystalle vom Smp. 220—230° hinterbleiben. Sie werden in 140 cm<sup>3</sup> Anilin bei 120° gelöst und heiss abgesaugt, wobei 2 g Ammoniumchlorid (rein 1,46 g) auf dem Filter bleiben. Dieses Salz kann praktisch schon vor der Behandlung mit Anilin entfernt werden, indem man die letzte Dekantierung mit wässrigem Alkohol vornimmt.

Die bei langsamem Erkalten des Anilins erhaltene Substanz wird wieder mit Alkohol und Äther gewaschen; Ausbeute 6,65 g Azophenin in granatrotten Nadeln mit violetterm Glanz. Der Schmelzpunkt liegt bei 239—240°, während die Literaturangaben zwischen 225° und 250° schwanken. Beim Umlösen aus Tetrachlorkohlenstoff, Benzol oder Benzoesäure-ester krystallisiert die Substanz in kleineren und helleren Blättchen.

|                   |              |        |          |
|-------------------|--------------|--------|----------|
| $C_{10}H_{24}N_4$ | Ber. C 81,79 | H 5,49 | N 12,72% |
|                   | Gef. „ 82,07 | „ 5,55 | „ 12,71% |

4-Brom-benzo-furoxan gab bei einem analogen Kondensationsversuch nur eine kleine Menge Krystalle von bromfreiem Azophenin. Naphto-furoxan gab auch bei längerer Versuchsdauer und höherer Temperatur nur violette Harze.

Mono-pikrat. Eine siedende Lösung von 0,1 g Substanz in 20 cm<sup>3</sup> absolutem Benzol wurde mit 7 cm<sup>3</sup> gesättigter benzolischer Pikrinsäure versetzt. Die braun gewordene Lösung setzt beim Erkalten 0,15 g schwarze glitzernde Kryställchen ab, die nach Waschen mit wenig Benzol bei 180° schmelzen. Hydroxylhaltige Lösungsmittel spalten das Pikrat rasch.

|                                 |              |        |          |
|---------------------------------|--------------|--------|----------|
| $C_{30}H_{24}N_4, C_6H_3O_7N_3$ | Ber. C 64,57 | H 4,06 | N 14,65% |
|                                 | Gef. „ 64,54 | „ 4,03 | „ 14,55% |

Mono-pikrolonat. Die Darstellung erfolgt in heisser benzolischer Lösung; beim Erkalten krystallisieren schwarzbraune feine Blättchen vom Smp. 207—208° unter Zersetzung.

|                                    |              |        |          |
|------------------------------------|--------------|--------|----------|
| $C_{10}H_{24}N_4, C_{10}H_8O_5N_4$ | Ber. C 68,96 | H 3,47 | N 16,08% |
|                                    | Gef. „ 68,64 | „ 3,67 | „ 15,87% |

#### 1,2,4,5-Tetra-anilino-benzol (XI).

0,5 g gepulvertes<sup>2)</sup> Azophenin (X) wurden in 25 cm<sup>3</sup> reinem Essigester oder Dioxan<sup>3)</sup> suspendiert mit *Raney-Nickel* bei Zimmertemperatur hydriert. In 30 Minuten wurden 29,5 cm<sup>3</sup> Wasserstoff, entsprechend einem Mol aufgenommen, wobei die Substanz farblos in Lösung ging. Nachdem im Stickstoffstrom der Katalysator abgesaugt war, liess sich mit Benzin das farblose Tetra-anilino-benzol in Blättchen vom Smp. 183—184° fällen,

<sup>1)</sup> Soc. 101, 2455 (1912).

<sup>2)</sup> Die feine Verteilung erfolgt am besten durch Lösen von 3 g Substanz in 45 cm<sup>3</sup> siedendem Anilin und langsames Eingiessen unter Rühren in 200 cm<sup>3</sup> kalten Alkohol.

<sup>3)</sup> Wir arbeiteten in Dioxan, da der Essigester zur Zeit unserer Versuche hydrierbare Verunreinigungen enthielt; reiner Essigester ist wegen seines niedrigeren Siedepunktes vorzuziehen.

die sich an der Luft rasch rot färbten. Wir haben die Substanz auch durch Reduktion mit Ammoniumsulfid in Alkohol-Toluol im Autoklaven bei 140° nach *Fischer* und *Hepp* dargestellt und in langen, gegen Luft mehrere Wochen beständigen Nadeln vom Smp. 180—182° erhalten, während die genannten Autoren 173—174° angeben. Sie haben anscheinend ihr Präparat nicht umkrystallisiert; in der Tat geht es hierbei teilweise in Azophenin über. Die Identifizierung beider Produkte erfolgte durch die Mischprobe und durch die Acetylierung.

**Diacetyl-Derivat (XII).** Die Acetylierung erfolgt zweckmässig anschliessend an die Hydrierung, indem man die farblose Hydrierlösung in Essigester mit heissem Essigsäure-anhydrid versetzt und im Stickstoffstrom den Essigester abdestilliert. Nach Zusatz der gleichen Menge Wasser und kurzem Erwärmen zur Zerlegung des Anhydrids scheidet sich etwas Azophenin aus, das nach Aufkochen mit Tierkohle mit dieser heiss abfiltriert wird. Das farblose Filtrat wird mit mehr heissem Wasser versetzt und langsam erkalten gelassen, wobei sich feine farblose bis silberglänzende Nadeln des Diacetyl-derivats abscheiden. Nach Umkrystallisieren aus verdünntem Eisessig liegt der Schmelzpunkt bei 263—264°, anschliessend Violettfärbung und Zersetzung. Die Substanz enthält 1 Mol Krystall-Eisessig; entfernt man diesen durch Umlösen aus Alkohol, so erhält man nur ein amorphes Pulver.

4,214; 3,429 mg Subst. gaben 11,434; 9,276 mg CO<sub>2</sub> und 2,196; 1,790 mg H<sub>2</sub>O  
 4,610; 3,887 mg Subst. gaben 0,382; 0,325 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (15°, 734 mm; 16,5°, 734 mm)  
 C<sub>34</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>COOH Ber. C 73,70 H 5,84 N 9,55%  
 Gef. „ 74,00; 73,82 „ 5,83; 5,84 „ 9,49; 9,52%

Die Verseifung gelingt durch Erwärmen mit 10-proz. alkoholischem Kaliumhydroxyd auf dem Wasserbad. Schon nach wenigen Minuten färbt sich die Lösung rot und scheidet alsbald Azophenin aus; Smp. 238—240° aus Benzoessäure-ester.

#### Reaktion des Azophenins mit Benzoylchlorid (XIII).

In einem Schliffkolben mit Steigrohr wurden 5 g Azophenin (X) mit 10 cm<sup>3</sup> Benzoylchlorid im Ölbad auf 200—220° (Badtemp.) erhitzt. Schon in der Kälte trat teilweise Lösung mit roter Farbe ein, die sich beim Erwärmen vertiefte und über Braun schliesslich in Dunkelgrün überging. Bei 200° begann eine gleichmässige langsame Chlorwasserstoffentwicklung. Nachdem die Masse eine Stunde auf 220° erhitzt war, liess man erkalten, verrührte mit 50 cm<sup>3</sup> Alkohol und saugte das Pulver ab. Die zunächst noch blaugrün gefärbte Substanz wurde über Nacht im Vakuum über Calciumchlorid getrocknet und ergab 3,4 g Rohprodukt, das dreimal aus je 25 cm<sup>3</sup> Eisessig umkrystallisiert wurde. Die erhaltenen derben spiessigen Nadeln sind farblos, werden aber an der Luft in einigen Monaten grau. Der Zersetzungspunkt liegt gegen 400°. Die Substanz ist ein Di-hydrochlorid und enthält noch 2 Mol Krystall-Eisessig.

4,496; 4,958 mg Subst. gaben 11,205; 12,384 mg CO<sub>2</sub> und 2,190; 2,242 mg H<sub>2</sub>O  
 3,401; 5,509 mg Subst. gaben 0,201; 0,322 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (19°, 735 mm; 16°, 743 mm)  
 7,935 mg Subst. gaben 2,662 mg AgCl  
 C<sub>44</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>, 2 HCl, 2 CH<sub>3</sub>COOH

Ber. C 68,24 H 5,25 N 6,63 Cl 8,39%  
 Gef. „ 68,01; 68,16 „ 5,45; 5,06 „ 6,68; 6,75 „ 8,30%

Die Krystalle verwittern schon auf dem Wasserbad langsam unter Abgabe von Eisessig, rascher bei 120° (Geruch). 63,41 mg Subst. verloren im Stickstoffstrom in 4 Stunden bei 160° 9,13 mg Eisessig; Ber. für 2 Mol Eisessig 9,02 mg.

3,982 mg Subst. gaben 10,644 mg CO<sub>2</sub> und 1,880 mg H<sub>2</sub>O  
 4,417; 3,726 mg Subst. gaben 0,316; 0,264 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (20°, 732 mm; 19°, 735 mm)  
 5,869 mg Subst. gaben 2,370 mg AgCl

C<sub>44</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>, 2 HCl Ber. C 73,02 H 5,01 N 7,74 Cl 9,79%  
 Gef. „ 72,94 „ 5,28 „ 8,03; 8,01 „ 9,98%

Das Präparat ist nun amorph, aus andern Lösungsmitteln nicht umkrystallisierbar, wohl aber aus Eisessig, wobei es wieder 2 Mol Krystall-Eisessig aufnimmt.

Weitere Versuche wurden mit der Eisessig enthaltenden Verbindung ausgeführt. Die Eisessig-Lösung gibt mit wässrigem Silbernitrat einen Silberchloridniederschlag. Die feste Substanz färbt beim Schütteln mit wässrigem Ammoniak und Äther letzteren rot, ohne eine nennenswerte Menge Base abzugeben. Ähnlich verhält sich die Substanz gegen Natronlauge; in letzterem Falle färbt sie sich gelb.

Verhalten gegen Silberacetat in Eisessig. 0,5 g Substanz gaben mit 0,2 g Silberacetat in heissem Eisessig sofort eine Fällung von 2 Mol Silberchlorid. Das gelbe Filtrat, das beim Verdunsten einer Probe ein gelbes krystallisiertes Acetat gab, wurde mit Wasser und Ammoniak versetzt und ausgeäthert. Die rote Ätherlösung hinterliess beim Verdunsten weisse Kryställchen neben rotem Harz, das durch heissen Benzoesäure-ester weggelöst wurde. Die weissen Nadelchen schmolzen nach Waschen mit Petroläther oberhalb 360° unter Rotfärbung; ihre Analyse ergab einen grösseren Sauerstoffgehalt.

Tetra-p-methyl-azophenin (XIV)<sup>1)</sup>.

6,6 g p-Toluidin-hydrochlorid wurden in 60 g geschmolzenem p-Toluidin unter Rühren und Erwärmen auf 150—160° gelöst, worauf man aus einem geheizten Tropftrichter langsam eine Lösung von 6,6 g Benzo-furoxan in 40 g erwärmtem p-Toluidin zutropfte. Nach beendigter Zugabe liess man auf 80° abkühlen und verrührte mit 50 cm<sup>3</sup> Alkohol. Die nach vollständigem Erkalten abfiltrierte dunkle Substanz wurde wiederholt mit Alkohol und Äther dekantiert und hinterliess 8 g dunkelrote Krystalle, die aus der 250-fachen Menge Benzol oder schöner aus der 10-fachen Menge Anilin unter langsamem Erkalten umkrystallisiert wurden; Smp. 259—260°. Je nach der Krystallgrösse wechselt die Farbe zwischen Hellrot und Dunkelrot.

5,321; 4,773 mg Subst. gaben 16,072; 14,450 mg CO<sub>2</sub> und 3,129; 2,849 mg H<sub>2</sub>O  
3,719; 2,374 mg Subst. gaben 0,365; 0,242 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (15°, 744 mm; 22°, 730 mm)

C<sub>34</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 82,22 H 6,49 N 11,28%  
Gef. „ 82,38; 82,57 „ 6,58; 6,67 „ 11,34; 11,33%

Hydrierung. In gleicher Weise wie bei der Hydrierung des einfachen Azophenins wurden von 3 g durch Umfällung fein verteiltem Tetramethyl-Derivat (XIV) in 100 cm<sup>3</sup> reinem Essigester in Gegenwart von Raney-Nickel 155 cm<sup>3</sup> Wasserstoff in 95 Minuten aufgenommen; für 1 Mol berechnen sich 150 cm<sup>3</sup>. Schon während der Hydrierung schieden sich reichlich weisse Nadeln aus, die durch Erwärmen wieder gelöst und nach Absaugen des Katalysators im Stickstoffstrom zur Krystallisation gebracht worden. Ausbeute 2,8 g 1,2,4,5-Tetra-p-toluidino-benzol (analog XI) vom Smp. 188—189°. Diese Substanz war noch unbekannt und wird nach dem Fischer-Hepp-Verfahren nicht erhalten. Die ursprünglich weissen Nadeln bleiben auch unter Stickstoff nur wenige Tage unverändert; sie färben sich orange.

4,829; 3,411 mg Subst. gaben 14,505; 10,248 mg CO<sub>2</sub> und 2,874; 2,073 mg H<sub>2</sub>O  
2,896; 3,194 mg Subst. gaben 0,286; 0,312 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (21°, 741 mm; 18°, 743 mm)

C<sub>34</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 81,89 H 6,87 N 11,23%  
Gef. „ 81,97; 81,99 „ 6,66; 6,80 „ 11,18; 11,20%

Diacetyl-Derivat (analog XII) des Hydrierungsproduktes. Zu 50 cm<sup>3</sup> Essigsäureanhydrid, die unter Stickstoff auf 120° erwärmt wurden, setzte man in kleinen Portionen 2 g Tetra-toluidino-benzol, das sich sogleich löste. Man hielt noch 15 Minuten bei dieser Temperatur und liess erkalten. Nach Zerlegung mit 100 cm<sup>3</sup> heissem Wasser und Erwärmen auf dem Wasserbad filtrierte man eine kleine Menge rotes Oxydationsprodukt (XIV) ab und erhielt bei langsamem Erkalten 1,6 g Diacetyl-Derivat in langen seidigen silbergrauen Nadeln vom Smp. 278—279° (Dunkelfärbung ab 120°) unter anschliessender Zersetzung. Auch dieses Produkt krystallisiert mit einem Mol Krystall-Eisessig.

<sup>1)</sup> Die Substanz ist im *Beilstein* (Bd. 14, 142; dort Lit.) erwähnt, aber die Einheitlichkeit der Produkte von *Fischer* und *Hepp* ist zweifelhaft, wie weiter unten gezeigt wird. *C. Kimich* hat die Substanz jedoch in Händen gehabt, wenn auch nicht ganz rein.



Noch besser verfährt man analog der Acetylierung des Hydrierungsproduktes des gewöhnlichen Azophenins, indem man die Hydrierlösung sofort acetyliert. Das so erhaltene Präparat diente zur Analyse.

4,230 mg Subst. gaben 11,590 mg CO<sub>2</sub> und 2,594 mg H<sub>2</sub>O  
 3,947 mg Subst. gaben 0,289 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (17°, 744 mm)  
 C<sub>38</sub>H<sub>38</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>COOH Ber. C 74,74 H 6,59 N 8,72%  
 Gef. ,, 74,73 ,, 6,86 ,, 8,44%

Das Mono-pikrat von XIV wird aus der heissen benzolischen Lösung mit Pikrinsäure erhalten. Violettschwarze, schillernde, prismatische Plättchen vom Smp. 170—171° (Zersetzung).

3,891 mg Subst. gaben 0,441 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (17°, 742 mm)  
 C<sub>34</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub> Ber. N 13,51 Gef. N 13,03%

Das Pikrolonat von XIV wurde analog dargestellt und bildet spießige, grün-schwarze, metallisch glänzende Nadeln vom Smp. 188—189° (Zersetzung).

C<sub>34</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>5</sub>N<sub>4</sub> Ber. N 14,73 Gef. N 14,44%

#### Reaktion des Tetramethyl-azophenins (XIV) mit Benzoylchlorid.

Die Ausführung der Reaktion erfolgte wie beim gewöhnlichen Azophenin und ergab ein analoges Präparat (Formel analog XIII mit je einer p-Methylgruppe in den 4 Anilinkernen). Die Formel entspricht also dem Dibenzoyl-Derivat des reduzierten Ausgangsmaterials mit 2 Mol HCl und 2 Mol Eisessig.

C<sub>48</sub>H<sub>42</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>, 2 HCl, 2 CH<sub>3</sub>COOH Ber. C 69,40 H 5,81 N 6,23 Cl 7,88%  
 Gef. ,, 69,39 ,, 5,61 ,, 6,10 ,, 7,64%

Durch vierstündiges Erhitzen im Stickstoffstrom auf 160° erhielt man die eisessig-freie amorphe Form, die manchmal noch Pseudomorphosen bildet. Der entwichene Eisessig entsprach 2,00 Mol. Die Totalanalyse des verbleibenden Produktes stimmte auf die Formel C<sub>48</sub>H<sub>42</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>, 2 HCl. Letztere Substanz zersetzte sich in der Gegend von 400°.

#### Octa-o,p-methyl-azophenin (XV).

6,6 g m-Xylidin-hydrochlorid in 30 cm<sup>3</sup> m-Xylidin wurden wie beim vorigen Präparat mit 6,6 g Benzo-furoxan in 10 cm<sup>3</sup> m-Xylidin umgesetzt und die Krystalle mit Alkohol und Äther dekantierend gewaschen. Die Lösungen in diesem Ansatz sind zur Ersparnis von Xylidin etwas konzentrierter gewählt, was ein langsames Zutropfen erfordert. Die Ausbeute von 4 g wurde aus Benzoesäure-ester umkrystallisiert und nach Waschen mit Alkohol und Äther im Vakuum getrocknet; Smp. 240—241°.

4,273; 4,465 mg Subst. gaben 12, 960; 13,600 mg CO<sub>2</sub> und 2,820; 2,916 mg H<sub>2</sub>O  
 3,425 mg Subst. gaben 0,309 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (18°, 743 mm)  
 C<sub>38</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 82,57 H 7,29 N 10,14%  
 Gef. ,, 82,72; 82,82 ,, 7,38; 7,30 ,, 10,35%

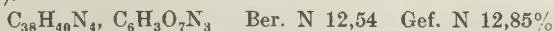
Die Hydrierung von 3 g erfolgte in 100 cm<sup>3</sup> reinem Essigester, wie beim Azophenin beschrieben. Nach rascher Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff kommt die Reaktion zum Stillstand. Da die Substanz bereits in der Reaktionslösung in farblosen Nadeln auskrystallisiert, bringt man sie durch Erhitzen wieder in Lösung und filtriert den Katalysator ab. Nach erfolgter Krystallisation wird abgesaugt. Infolge Beständigkeit gegen Luft und Schwerlöslichkeit ist ein Aufbewahren unter Stickstoff sowie ein Eindampfen nicht erforderlich. Nach Umlösen aus Essigester erhält man 2,4 g 1,2,4,5-Tetra-(o,p-xylidino)-benzol (analog XI) in verfilzten, rein weissen Nadeln vom Smp. 186—187° unter Rotfärbung.

4,928 mg Subst. gaben 14,848 mg CO<sub>2</sub> und 3,435 mg H<sub>2</sub>O  
 2,981 mg Subst. gaben 0,259 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (16°, 748 mm)  
 C<sub>38</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 82,27 H 7,63 N 10,10%  
 Gef. ,, 82,18 ,, 7,80 ,, 10,01%

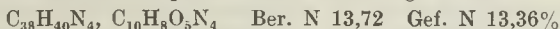
Eine Acetylierung oder Benzoylierung gelingt hier nicht.



Das in benzolischer Lösung dargestellte Pikrat von (XV) bildet kurze, spiessige, schwarze Nadelchen mit grünlichem Schimmer vom Smp. 148—149° (beginnende Zersetzung ab 140°).

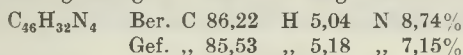


Das Pikrolonat von (XV) bildet grünstichig schwarze, rhomboedrische, metallisch glänzende Kryställchen vom Smp. 181° unter Zersetzung.



$\beta$ -Naphthazophenin (2,5-Di- $\beta$ -naphthylamino-chinon-di- $\beta$ -naphthyl, XVI).

7 g  $\beta$ -Naphthylamin und 2 g seines Hydrochlorids wurden mit 2 g Benzo-furoxan innig vermischt und im weiten Reagenzglas unter Rühren zum Schmelzen erwärmt, wobei man unter weiterem Rühren vorsichtig auf 105—110° erhitze. Die Masse färbte sich dunkel. Nachdem man diese Temperatur 15 Minuten beibehalten hatte, liess man erkalten und kochte die Masse mit 50 und 25 cm<sup>3</sup> wässrigem Alkohol aus. Das Ungelöste bestand aus 1 g violetten, verfilzten Nadeln, die aus 200 cm<sup>3</sup> Benzol umkrystallisiert wurden; Smp. 242—243°. Die haarfeinen Krystalle sind so lang, dünn und verfilzt, dass das Krystallisat trotz der grossen Menge Lösungsmittel eine steife Masse bildet, die beim Umkehren des Gefässes nicht ausfliesst. Wegen der reibungselektrischen Eigenschaften war die Analyse schwierig und gab etwas zu niedrige Werte.



Die Hydrierung in Essigester ergab eine rote, dann braune und schliesslich grüne Lösung, wobei 1 Mol Wasserstoff aufgenommen wurde. Aus der unter Stickstoff filtrierten und im Vakuum eingedunsteten Lösung wurde nur ein violettes Harz erhalten. Beim Umlösen aus siedendem Benzol trat wieder vollständige Dehydrierung und Rückbildung des Ausgangsmaterials ein.

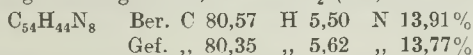
Tetra-(p-anilino)-azophenin (XVII).

Eine Mischung von 0,1 g gepulvertem Benzo-furoxan (II) mit 1 g p-Amino-diphenylamin und 0,1 g p-Amino-diphenylamin-hydrochlorid wurde unter Rühren mit dem Thermometer vorsichtig im Paraffinbad erhitzt. Bei 105° setzte eine Reaktion ein, welche die Innentemperatur rasch auf 150° erhöhte. Nach Abkühlen auf 80° wurde mit 10 cm<sup>3</sup> Alkohol aufgeköcht, heiss abgesaugt und zweimal mit 5 cm<sup>3</sup> heissem Alkohol nachgespült. Der ungelöste dunkelbraunrote Rest wog nach Trocknen auf dem Wasserbad 0,1 g.

10 solche Portionen (1 g) wurden gemeinsam aus 60 cm<sup>3</sup> siedendem Toluol und anschliessend aus 80 cm<sup>3</sup> Benzol umkrystallisiert. Man erhielt 0,7 g dunkel rotbraune, spindelförmige Plättchen vom Smp. 214—215°, die sich in Eisessig mit indigoblaue Farbe lösten. Heisses Anilin löste mit purpurroter, Toluol oder Benzol mit karminroter Farbe.

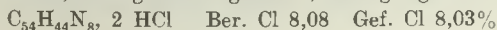
4,388 mg Subst. gaben 12,920 mg CO<sub>2</sub> und 2,204 mg H<sub>2</sub>O

2,597 mg Subst. gaben 0,318 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (20°, 733 mm)



Wässrige 10-proz. Salzsäure löst wenig mit hellblauer Farbe, während heisse alkoholische Salzsäure mit dunkelroter Farbe löst und beim Erkalten blautichig schwarze, glänzende Plättchen eines Hydrochlorids gibt. Zur Darstellung des letzteren wurden 0,1 g unter Erwärmen in einer Mischung von 15 cm<sup>3</sup> Benzol und 15 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und nach Filtration mit 8 cm<sup>3</sup> gesättigter alkoholischer Salzsäure versetzt, wobei die dunkelrote Lösung momentan dunkelgrün wurde. Auf Zusatz von 30 cm<sup>3</sup> Äther trat Krystallisation ein. Nach Stehen und Kühlen wurden 0,08 g Kryställchen des Di-hydrochlorids erhalten, die sich zwischen 200 und 240° zersetzen. Zur Analyse wurde das mit Äther gewaschene Präparat im Vakuum über Schwefelsäure und Kaliumhydroxyd getrocknet.

7,011 mg Subst. gaben 2,275 mg AgCl



Synthesen nach **O. Fischer** und **E. Hepp**.

Tri-p-methyl-azophenin (XVIII).

10 g p-Nitroso-diphenylamin-hydrochlorid wurden mit 50 g p-Toluidin vier Stunden auf dem Wasserbad erwärmt und nach Zusatz von 50 cm<sup>3</sup> Alkohol heiss abgesaugt. Der Filtrerrückstand wurde mehrmals mit Alkohol und zuletzt mit wenig Äther dekantiert und auf dem Wasserbad getrocknet. Die erhaltenen 8 g Rohprodukt gaben nach Umkrystallisieren aus 80 cm<sup>3</sup> siedendem Anilin und anschliessend aus 320 cm<sup>3</sup> Benzol 6 g feine, rostrote Nadeln von Trimethyl-azophenin (XVIII) vom Smp. 230—232° (Sintern bei 227°).

3,502; 3,875 mg Subst. gaben 10,553; 11,694 mg CO<sub>2</sub> und 1,965; 2,283 mg H<sub>2</sub>O  
3,406; 2,941 mg Subst. gaben 0,354; 0,305 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (17°, 724 mm; 20°, 725 mm)

C<sub>33</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 82,12 H 6,27 N 11,61%  
Gef. ,, 82,23; 82,32 ,, 6,28; 6,52 ,, 11,65; 11,52%

Hydrierung zu 1,2,4,5-Anilino-tri-p-toluidino-benzol (analog Formel XI). 0,5 g Trimethyl-azophenin (XVIII) nahmen in 25 cm<sup>3</sup> Essigester in 8 Minuten 1 Mol Wasserstoff auf. Nach Filtration und Eindampfen unter Stickstoff krystallisierten beim Erkalten 0,4 g in feinen weissen Nadeln vom Smp. 144—145°, die auch unter Stickstoff in wenigen Stunden zerfallen und sich verfärben. Die Substanz unterscheidet sich durch die grosse Schmelzpunktsdifferenz vom entsprechenden Tetra-methyl-derivat, das bei 188—189° schmilzt.

3,602; 4,812 mg Subst. gaben 10,809; 14,428 mg CO<sub>2</sub> und 2,137; 2,851 mg H<sub>2</sub>O  
3,260; 2,715 mg Subst. gaben 0,334; 0,277 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (19°, 728 mm; 20°, 731 mm)

C<sub>33</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 81,78 H 6,66 N 11,56%  
Gef. ,, 81,89; 81,82 ,, 6,64; 6,63 ,, 11,48; 11,43%

Das Di-acetylderivat (analog XII) schmilzt bei etwa 270°, beginnt sich aber schon vorher zu verfärben und zu zersetzen.

C<sub>37</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>COOH Ber. C 74,50 H 6,41 N 8,91%  
Gef. ,, 74,20 ,, 6,66 ,, 8,62%

Die Reaktion des Tri-p-methyl-azophenins (XVIII) mit Benzoylchlorid verlief wie üblich. Das in farblosen Nadelchen aus Eisessig krystallisierende Produkt enthält 2 Mol Krystall-Eisessig und zersetzt sich gegen 400°. Die Formel ist analog der von Substanz XIII.

4,487 mg Subst. gaben 11,346 mg CO<sub>2</sub> und 2,326 mg H<sub>2</sub>O  
3,606 mg Subst. gaben 0,205 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (19°, 736 mm)  
6,212 mg Subst. gaben 1,937 mg AgCl

C<sub>47</sub>H<sub>40</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>; 2 HCl; 2 CH<sub>3</sub>COOH Ber. C 69,15 H 5,69 N 6,33 Cl 8,01%  
Gef. ,, 69,00 ,, 5,80 ,, 6,44 ,, 7,70%

Auch hier liess sich der Krystall-Eisessig durch mehrstündiges Erhitzen im Stickstoffstrom auf 160—180° vertreiben, wobei der Gewichtsverlust 2,04 Mol Eisessig entsprach.

Tri-o-methyl-azophenin (Formel analog XVIII).

Das analog aus p-Nitroso-diphenylamin-hydrochlorid und o-Toluidin dargestellte Produkt bildet braunrote Krystallaggregate vom Smp. 192—194° (Sintern ab 175°) aus siedendem Benzoesäure-ester. Die Bildung violetter Indulin-artiger Farbstoffe als Hauptprodukt ist hier sehr auffällig.

C<sub>33</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 82,12 H 6,27 N 11,61%  
Gef. ,, 82,36 ,, 6,34 ,, 11,50; 11,53%

Die Hydrierung zum 1,2,4,5-Anilino-tri-o-toluidino-benzol ergibt hellgelbliche Nadelchen aus Alkohol (ohne Stickstoffatmosphäre); Smp. 129—130° unter Rotfärbung.

C<sub>33</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 81,78 H 6,66 N 11,56%  
Gef. ,, 81,93 ,, 6,96 ,, 11,50%

Hexa-o,p-methyl-azophenin.

Durch sechsständiges Erhitzen von 5 g p-Nitroso-diphenylamin-hydrochlorid und 25 g m-Xylidin auf dem Wasserbad wurden in der üblichen Weise 2,9 g Rohprodukt erhalten, die nach Umlösen aus 30 cm<sup>3</sup> Benzoesäure-ester 2,2 g rote Plättchen vom Smp. 233—234° (Sintern bei 220°) ergaben.

|  |              |        |          |
|--|--------------|--------|----------|
| C <sub>36</sub> H <sub>36</sub> N <sub>4</sub> | Ber. C 82,41 | H 6,92 | N 10,68% |
|  | Gef. „ 82,55 | „ 6,94 | „ 10,48% |

Die Hydrierung in Essigester ergab feine weisse Nadelchen des 1,2,4,5-Anilino-tri-m-xylidino-benzols vom Smp. 185—186° unter Rotfärbung (Stickstoff unnötig).

|  |              |        |          |
|--|--------------|--------|----------|
| C <sub>36</sub> H <sub>38</sub> N <sub>4</sub> | Ber. C 82,09 | H 7,27 | N 10,64% |
|  | Gef. „ 82,31 | „ 7,61 | „ 10,48% |

Universität Basel, Anstalt für organische Chemie.

110. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe.

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

Oxydation von Desoxycholsäure-methylester-diacetat mit Chromsäure.

II. Einige Umwandlungsprodukte des Ätiocholandiols-(3 $\alpha$ ,12 $\beta$ )-ons-(17)

von H. Reich.

(9. VI. 45.)

Vor einiger Zeit wurde die Oxydation von 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Diacetoxycholansäure-methylester mit Chromtrioxyd beschrieben<sup>2)</sup>, die zu einer Reihe verschiedener Abbauprodukte führte. Aus den neutralen Anteilen der Oxydation gelang es, nach Abtrennung von viel unverändertem Ausgangsmaterial und alkalischer Verseifung in geringer Menge drei Stoffe zu isolieren. Es waren dies 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-pregnanon-(20), 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-ätiocholanon-(17) und ein „ketonfreier“ Stoff, dessen Konstitutionsaufklärung später beschrieben wird. Die Oxydation mit Chromsäure wurde nunmehr mit einer wesentlich grösseren Menge<sup>3)</sup> wiederholt und die Aufarbeitung genau wie früher beschrieben durchgeführt. Durch fraktionierte Trennung mit Hilfe von Girard's Reagens T wurden je ca. 0,1 % rohes Dioxy-pregnanon („1-Ketone“) und rohes Dioxy-ätiocholanon („2-Ketone“) sowie 0,22 % „ketonfreie Anteile“ erhalten. Im folgenden berichte ich über einige Umwandlungen des Dioxy-ätiocholanons, von dem mir jetzt ca. 1,8 g Rohprodukt zur Verfügung standen. Die Reinigung dieses Materials erfolgte über das gut krystallisierende Diacetat (I), von dem noch das Oxim bereitet wurde. Die Verseifung gelang bereits mit 4-proz.

<sup>1)</sup> 70. Mitt. vgl. J. von Euw, A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 1287 (1944).

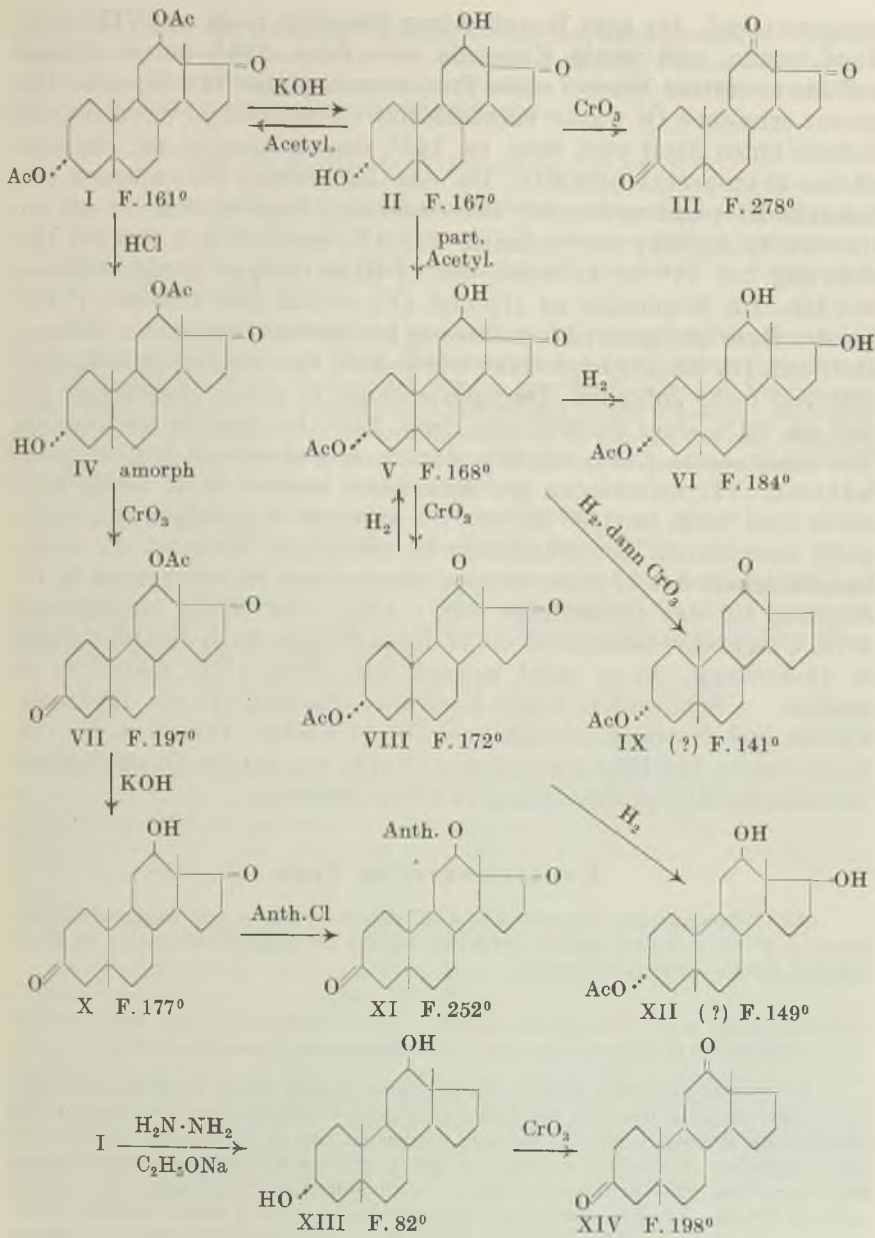
<sup>2)</sup> H. Reich, T. Reichstein, Helv. 26, 2102 (1943).

<sup>3)</sup> Diese Oxydation wurde entgegenkommenderweise von der Ciba Basel durchgeführt, wofür auch hier verbindlichst gedankt sei.

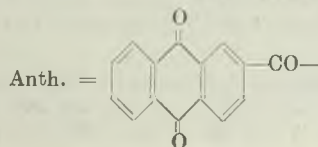


methylalkoholischer Kalilauge bei Zimmertemperatur und lieferte das reine Diolon (II) vom Smp. 167°, das durch Oxydation mit Chromtrioxyd in Ätiocholan-trion-3,12,17 (III) übergeht, einen Stoff, der gut krystallisiert, aber verhältnismässig schwer analysenrein zu erhalten ist. Er wurde durch sein Trioxim charakterisiert. Ein Versuch, in (III) eine Doppelbindung in 4,5-Stellung einzuführen, blieb ohne Erfolg. Zwar wurde durch Behandlung mit 1 Mol Brom ein Brom-Derivat erhalten, doch gab dieses beim Verkochen mit Pyridin zur Hauptsache ein wasserlösliches Produkt, das nicht isoliert wurde. Das Triketon (III) ist erwartungsgemäss gegen Alkali empfindlich. Nach 2-stündigem Kochen mit 5-proz. methylalkoholischer Kalilauge waren zur Hälfte Säuren entstanden, während sich aus dem Neutralteil nur wenig Ausgangsmaterial isolieren liess. Mit 1-proz. methylalkoholischer Salzsäure wird das Diacetat (I) partiell verseift. Das 12-Monoacetat (IV) konnte zwar nicht zur Krystallisation gebracht werden, lieferte aber mit Chromtrioxyd 12 $\beta$ -Acetoxy-ätiocholandion-(3,17) (VII), das gut krystallisierte, ebenso wie das daraus durch alkalische Verseifung erhältliche Ätiocholan-ol-(12 $\beta$ )-dion-(3,17) (X). Dieses entstand auch in geringer Menge aus dem Diolon (II), wenn bei der Oxydation eine nicht ausreichende Menge Chromtrioxyd verwendet wurde. Mit Anthrachinon- $\beta$ -carbonsäurechlorid wurde (X) in den bei 252° schmelzenden Anthrachinon- $\beta$ -carbonester (XI) übergeführt, der sich im Gegensatz zu früher beschriebenen analogen Verbindungen<sup>1)</sup> thermisch nicht spalten liess. Durch Destillation im Hochvakuum wurde fast nur unverändertes Ausgangsmaterial erhalten, während im Wasserstrahlvakuum die Hauptmenge der Substanz in amorphe Zersetzungsprodukte überging. Durch partielle Acetylierung wurde aus dem Diolon (II) in leidlicher Ausbeute das 3-Monoacetat (V) erhalten, das durch Oxydation mit Chromtrioxyd in 3 $\alpha$ -Acetoxy-ätiocholandion-(12,17) (VIII) überging. Von dem isomeren Stoff (VII) ist dieses deutlich verschieden. Schliesslich wurden noch Versuche zur Hydrierung der 17-Keto-Gruppe ausgeführt, deren Ergebnisse jedoch ganz verschieden waren von den bei anderen 17-Keto-Steroiden erzielten. Das Diacetat (I) nimmt bei der Hydrierung mit Pt in Eisessig bei Zimmertemperatur keinen Wasserstoff auf. Nach 20-stündiger Hydrierung bei 83° wurden aus dem Reaktionsprodukt 66% Ausgangsmaterial und sehr wenig Krystalle vom Smp. 166° isoliert, deren Menge zur Untersuchung nicht ausreichend war. Das Monoacetat (V) liess sich bei Zimmertemperatur ebenfalls nicht hydrieren. Durch 20-stündige Hydrierung bei 75° wurden nach chromatographischer Trennung drei Stoffe erhalten: ein Öl, das nicht zur Krystallisation zu bringen war, etwa 25% Aus-

<sup>1)</sup> A. Lardon, T. Reichstein, *Helv.* **27**, 713 (1944). — J. von Euw, A. Lardon, T. Reichstein, *Helv.* **27**, 821 (1944).



Ac = CH<sub>3</sub>CO—



gangsmaterial, das zum Beweis seiner Identität noch zu (VIII) oxydiert wurde, und wenig Krystalle vom Smp. 184°, deren Analyse auf die erwartete Formel eines Triol-monoacetats (VI) stimmte. Das zuerst erhaltene Öl wurde ebenfalls mit Chromtrioxyd oxydiert und lieferte einen Stoff vom Smp. ca. 141°, dessen Analyse auf ein Ätiocholan-ol-on-acetat stimmte. Da das 3 $\alpha$ -Acetoxy-ätiocholanon-(17) bekannt ist<sup>1)</sup> und wesentlich tiefer schmilzt, kann es sich nur um das isomere 3 $\alpha$ -Acetoxy-ätiocholanon-(12) (IX) handeln, d. h. bei der Hydrierung bei 75° ist teilweise die 17-Keto-Gruppe herausreduziert worden. Im Gegensatz zu (I) und (V) nimmt das Diketon (VIII) bei der Hydrierung mit Pt in Eisessig bei Zimmertemperatur Wasserstoff auf. Im Reaktionsprodukt wurde kein unverändertes Ausgangsmaterial mehr gefunden. Dagegen enthielt es etwas Monoacetat (V) und ca. 50 % eines Stoffes vom Smp. 149°, bei dem es sich um ein Triolmonoacetat (XII) handeln dürfte, das aber von dem oben erwähnten (VI) verschieden ist. Ausserdem wurden noch wenig Krystalle vom Smp. ca. 118° isoliert, die zu einer endgültigen Reinigung nicht ausreichten. Bemerkenswert ist immerhin, wie stark die Reaktionsfähigkeit der 17-Keto-Gruppe durch einen Substituenten in 12-Stellung (in der Reihenfolge =O, -OH, -OCOCH<sub>3</sub>) herabgesetzt wird. Umgekehrt beeinflusst die 17-Keto-Gruppe auch die OH-Gruppe in 12-Stellung, da es nicht gelingt, den Ester (XI) thermisch zu spalten. — Schliesslich wurde noch das Diacetat (I) mit Hydrazinhydrat und Natrium-äthylat nach *Wolff-Kishner* reduziert. Es entstand das 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-ätiocholan (XIII), das bei der Oxydation mit Chromsäure Ätiocholan-dion-3,12 (XIV) lieferte.

### Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ . Wenn nichts anderes vermerkt, wurden die Analysensubstanzen im Hochvakuum bei 85–120° getrocknet.)

Aufarbeitung und Trennung der bei der Oxydation von Desoxycholsäure-methylester-diacetat entstandenen Neutralprodukte.

Als Ausgangsmaterial dienten die neutralen Anteile aus 2 g Desoxycholsäure-methylester-diacetat, die nach der früher gegebenen Vorschrift gewonnen waren<sup>2)</sup>. Das ätherfeuchte Material wurde im Vakuum getrocknet und in 2 Portionen aus Methanol umkrystallisiert. Insgesamt wurden so 247 g Desoxycholsäure-methylester-diacetat zurückgewonnen. Die Mutterlaugen (443 g) wurden alkalisch verseift und lieferten 9,4 g neutrale Anteile. Aus den alkalischen Lösungen konnten 230 g Desoxycholsäure abgetrennt werden, ferner 3,43 g Lactone. Durch Trennung mit *Girard's* Reagens T wurden aus den Neutralteilen 2,205 g „1-Ketone“, 1,84 g „2-Ketone“ und 4,29 g „ketonfreie

<sup>1)</sup> G. C. Butler, G. F. Marrian, J. Biol. Chem. **124**, 237 (1938). — J. K. Wolfe, L. F. Fieser, H. B. Friedgood, Am. Soc. **63**, 582 (1941).

<sup>2)</sup> H. Reich, T. Reichstein, Helv. **26**, 2102 (1943).



Anteile“ erhalten<sup>1)</sup>. Die „2-Ketone“ wurden zunächst mit Äther gewaschen, dann aus Aceton-Hexan umkrystallisiert. Das so erhaltene 3( $\alpha$ ),12( $\beta$ )-Dioxy-ätiocholanon-17 schmolz bei 144° und nach Wiedererstarren bei 161—164°. Die Mutterlaugen wurden acetyliert und das Diacetat chromatographisch gereinigt.

3( $\alpha$ ),12( $\beta$ )-Diacetoxy-ätiocholan-on-17 (I).

Aus Äther-Petroläther und verdünntem Methanol umkrystallisiert. Sternförmige, dicke Prismen vom Smp. 160—161°.  $[\alpha]_D^{17} = +177,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,936$  in Aceton).

19,400 mg Subst. (kurz im Hochvakuum bei 60° getrocknet) zu 1,0020 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +3,44^\circ \pm 0,01^\circ$ .

Oxim. 20 mg 3( $\alpha$ ),12( $\beta$ )-Diacetoxy-ätiocholanon-17 (I) in 2 cm<sup>3</sup> Methanol mit 30 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 60 mg Natriumacetat in 0,2 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 45 Stunden stehen gelassen, dann noch 2 Stunden gekocht. Methanol im Vakuum entfernt, Wasser zugegeben und ausgeäthert. Ätherlösungen neutral gewaschen, getrocknet und eingeengt. Auf Zusatz von Petroläther Krystalle, die bei 0,01 mm und 150° sublimiert wurden. Nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther mikrokristallines Pulver vom Smp. 99—102°. Im Hochvakuum bei 45° getrocknet.

3,371 mg Subst. gaben 0,118 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (725 mm; 22°)

C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>O<sub>5</sub>N (405,52) Ber. N 3,46; Gef. N 3,86%

Nebenprodukt. Bei der Chromatographie des 3( $\alpha$ ),12( $\beta$ )-Diacetoxy-ätiocholanons-17 wurde vor diesem ein Stoff von der Säule heruntergelöst, der nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther bei 169—171° schmolz und eine positive Tetranitromethanprobe zeigte (Ausbeute insgesamt 34 mg).

3,590 mg Subst. gaben 10,016 mg CO<sub>2</sub> und 2,967 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub> (330,45) Ber. C 76,32 H 9,15%

Gef. „ 76,14 „ 9,25%

Nach Analyse, Schmelzpunkt und Mischprobe handelt es sich um *t*-Dehydro-androsteron-acetat. Bei der Hydrierung wurden 1,8 Mol Wasserstoff aufgenommen. Die Verseifung lieferte *t*-Dehydro-androsteron (aus Hexan und verdünntem Methanol umkrystallisiert) vom Smp. 141—142°. Die Anwesenheit dieses Stoffes dürfte einer zufälligen Verunreinigung zuzuschreiben sein.

Ätiocholan-diol-3( $\alpha$ ),12( $\beta$ )-on-17 (II).

21,5 mg Diacetat (I) wurden mit 12,35 mg KOH in 0,315 cm<sup>3</sup> Methanol 45 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Mit Wasser verdünnt, CO<sub>2</sub> eingeleitet, Methanol abgesaugt und ausgeäthert. Ätherlösungen mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Rückstand in wenig Aceton gelöst und bis zur Trübung mit Hexan versetzt. Krystalle nach 8 Tagen mit Petroläther gewaschen. Bei ca. 140° Umwandlung in feine Nadeln, die bei 166—167° schmelzen. Weniger reine Präparate zeigen einen doppelten Schmelzpunkt von 144°/166°. — In einem anderen Versuch wurden 209 mg Diacetat wie oben verseift. Das Rohprodukt lieferte aus Äther nach Animpfen und 2-tägigem Stehen 94 mg Krystalle vom Smp. 165,5—168°. Die Mutterlauge (66 mg) krystallisierte ebenfalls und schmolz bei 164,5—168°.

Ätiocholan-trion-3,12,17 (III).

108,6 mg Ätiocholan-diol-3( $\alpha$ ),12( $\beta$ )-on-17 (II) in 3,6 cm<sup>3</sup> Eisessig mit 3,6 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt (= 2 Mol CrO<sub>3</sub>). Nach 4, 8 und 23 Stunden jeweils

<sup>1)</sup> Die Konstitutionsaufklärung der „ketonfreien Anteile“ erfolgt in einer späteren Mitteilung.

noch 0,36 cm<sup>3</sup> CrO<sub>3</sub>-Lösung zugegeben. Nach 25 Stunden wie gewöhnlich aufgearbeitet. (Zum Ausschütteln diene eine Mischung von Benzol und Äther). Rohprodukt 87 mg, das über 3 g Aluminiumoxyd (standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert wurde. Das Triketon liess sich mit Benzol, Benzol-Äther und reinem Äther eluieren und zeigte Schmelzpunkte zwischen 274 und 284°. Eine Probe wurde aus Chloroform-Petroläther umkrystallisiert, bei 0,01 mm und 170° sublimiert und nochmals aus Benzol-Petroläther umkrystallisiert. Smp. 276—280° (schwache Zersetzung).  $[\alpha]_D^{20} = +231,6 \pm 2^\circ$  ( $c = 0,890$  in Chloroform).

8,913 mg Subst. (kurz im Hochvakuum bei 75° getrocknet) zu 1,0020 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  
 $\alpha_D^{19} = +2,06^\circ \pm 0,01^\circ$ .

3,654 mg Subst. gaben 10,016 mg CO<sub>2</sub> und 2,840 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>3</sub> (302,40) Ber. C 75,46 H 8,67%

Gef. ,, 75,48 ,, 8,70%

Verwendet man zur Oxydation eine nicht ausreichende Menge Chromsäure, so wird als Nebenprodukt Ätiocholan-ol-12(β)-dion-3,17 (X) vom Smp. 175—177° (vgl. weiter unten) erhalten, das bei der Chromatographie nach dem Triketon eluiert wird.

Trioxim. 14,1 mg Triketon in 2 cm<sup>3</sup> Methanol mit 50 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 100 mg Natriumacetat in 0,2 cm<sup>3</sup> Wasser 2½ Stunden gekocht. Mit Wasser versetzt, Methanol im Vakuum entfernt, Krystalle abgesaugt und getrocknet. Aus Aceton-Petroläther umkrystallisiert. Smp. ca. 200°, weisses Krystallpulver.

3,890 mg Subst. gaben 9,135 mg CO<sub>2</sub> und 2,873 mg H<sub>2</sub>O

2,101 mg Subst. gaben 0,219 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (17°; 727 mm)

C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub> · ½H<sub>2</sub>O (356,46) Ber. C 64,02 H 8,48 N 11,79%

Gef. ,, 64,09 ,, 8,26 ,, 11,74%

Bei 2-stündigem Kochen des Triketons mit 5-proz. methylalkoholischer Kalilauge entstehen zu gleichen Teilen Säuren und Neutralstoffe. Aus den letzteren konnte nur eine kleine Menge Triketon zurückgewonnen werden. Die Säuren wurden methyliert und gaben sehr wenig Krystalle vom Smp. 100—108°.

Bromierung. 84,2 mg Triketon in 1 cm<sup>3</sup> Eisessig vorsichtig mit 0,567 cm<sup>3</sup> einer Lösung von 314 mg Brom in 3,9 cm<sup>3</sup> Eisessig (= 1 Mol Brom) versetzt. Bei 28° im Vakuum zur Trockne gedampft, Rückstand in Chloroform-Äther gelöst und Lösung neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Nach Waschen mit Äther 82,8 mg Krystalle vom Smp. 184—186° (Zers.). Bei 5-stündigem Kochen mit 1 cm<sup>3</sup> Pyridin wurden aus dem Brom-keton nur 6,3 mg ätherlösliche Substanz erhalten.

#### 12(β)-Acetoxy-ätiocholan-dion-3,17 (VII).

191,3 mg 3(α),12(β)-Diacetoxy-ätiocholan-on-17 (I) wurden mit 6 cm<sup>3</sup> 1-proz. methylalkoholischer Salzsäure 15 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Im Vakuum bei 25° eingedampft, Rückstand in Äther aufgenommen, Lösung neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Da sich das 12(β)-Acetoxy-ätiocholan-ol-3(α)-on-17 (IV) nicht zur Krystallisation bringen liess, wurde das Rohprodukt in 2,45 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit 2,45 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessiglösung versetzt. Nach 4½ Stunden noch 1 cm<sup>3</sup> Chromsäurelösung zugegeben, nach 22 Stunden wie üblich aufgearbeitet. Neutralprodukt 149,7 mg, das über 4,5 g Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Aus den mit Benzol-Petroläther 1:1, Benzol und Benzol-Äther (bis 4:1) erhaltenen Fraktionen liessen sich Krystalle gewinnen, die bei 0,02 mm und 150° sublimiert und aus Aceton-Hexan umkrystallisiert wurden. Smp. 197—198,5°.

3,786 mg Subst. gaben 10,086 mg CO<sub>2</sub> und 2,944 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> (346,45) Ber. C 72,80 H 8,73%

Gef. ,, 72,70 ,, 8,70%

Ätiocholan-ol-12( $\beta$ )-dion-3,17 (X).

140,5 mg 12( $\beta$ )-Acetoxy-ätiocholan-dion-3,17 (VII) wurden mit 45,3 mg KOH in 1,15 cm<sup>3</sup> Methanol 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Wasser zugegeben, CO<sub>2</sub> eingeleitet, Methanol im Vakuum entfernt und ausgeäthert. Ätherlösungen mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. 117,4 mg Rückstand, der auf Zusatz von Äther krystallisiert. Nach Waschen mit Äther Prismen vom Smp. 175,5—177,5°.

Ätiocholan-ol-12( $\beta$ )-dion-3,17-anthrachinon- $\beta$ -carbonester (XI).

115,6 mg Ätiocholan-ol-12( $\beta$ )-dion-3,17 (X) wurden durch Abdampfen mit absolutem Toluol getrocknet, in 1 cm<sup>3</sup> Pyridin gelöst, mit der Lösung von 125 mg Anthrachinon- $\beta$ -carbonsäurechlorid in 1 cm<sup>3</sup> absolutem Toluol versetzt und 3 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Mit 20 cm<sup>3</sup> Äther verdünnt, filtriert, Rückstand mit Äther und Benzol gewaschen und Filtrate im Vakuum eingedampft. Rückstand in Chloroform-Äther aufgenommen und Lösung mit Salzsäure, Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Rückstand (190 mg) über 5,7 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit Benzol wurden wenig Krystalle vom Smp. 144—146,5° eluiert, dann folgte mit Benzol, Benzol-Äther und Äther der Anthrachinoncarbonester, der bei 0,005 mm und 240° sublimiert und aus Aceton-Petroläther umkrystallisiert wurde. Gelbe Blättchen vom Smp. 250,5—252,5°.

3,609 mg Subst. gaben 10,027 mg CO<sub>2</sub> und 2,060 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>34</sub>H<sub>34</sub>O<sub>6</sub> (538,61) Ber. C 75,81 H 6,36%

Gef. „ 75,82 „ 6,39%

Aus einer mit Chloroform-Methanol eluierten Fraktion wurden noch Krystalle vom Smp. 174,5—177° (Ausgangsmaterial?) gewonnen.

Thermische Zersetzung. 118 mg Anthrachinoncarbonester wurden wie früher beschrieben<sup>1)</sup> bei 0,4—0,3 mm und 290—305° Badtemperatur unter Durchleiten von CO<sub>2</sub> während 1 Stunde destilliert. Der Kolbeninhalt wurde in Chloroform-Äther gelöst und die Lösung neutral gewaschen. Rückstand 114,2 mg. Durch Chromatographie wurden daraus 83,4 mg = ca. 70% unverändertes Ausgangsmaterial erhalten. Dieses wurde nun im Wasserstrahlvakuum 1 Stunde auf 330—350° erhitzt (CO<sub>2</sub>!). Nach der Aufarbeitung wie oben 47,5 mg Neutralprodukt, das über 1,5 g Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Die meisten Fraktionen lieferten nur gelbes Öl, das nicht krystallisierte. Aus einer Fraktion wurden sehr wenig Krystalle vom Smp. 108—110° isoliert, deren Menge zur Analyse jedoch nicht ausreichte.

3( $\alpha$ )-Acetoxy-ätiocholan-ol-12( $\beta$ )-on-17 (V).

251 mg 3( $\alpha$ ),12( $\beta$ )-Diacetoxy-ätiocholan-on-17 (I) wurden mit 143,5 mg KOH in 3,6 cm<sup>3</sup> Methanol wie oben verseift. Rohprodukt 195 mg. Dieses wurde im Hochvakuum getrocknet und mit 1 cm<sup>3</sup> absolutem Benzol und 0,08 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid (= 1,33 Mol) unter Feuchtigkeitsausschluss 4 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Im Vakuum eingedampft, Rückstand in Äther aufgenommen, Lösung neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Die chromatographische Trennung über 6 g Aluminiumoxyd lieferte mit Benzol wenig Diacetat (I), mit Benzol sowie Benzol-Äther (bis 3:2) das gesuchte 3-Monoacetat (V) und mit Äther, Äther-Chloroform und Chloroform-Methanol 52,5 mg rohes Dioxyketon = 27%. Das 3-Monoacetat wurde bei 0,01 mm und 170° sublimiert und aus Aceton-Hexan umkrystallisiert. Sehr feine Nadeln vom Smp. 167,5—168,5°. Ausbeute 122,8 mg = 55%.

<sup>1)</sup> A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 713 (1944). — J. von Euw, A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 821 (1944).



3,770 mg Subst. gaben 9,979 mg CO<sub>2</sub> und 3,116 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub> (348,47) Ber. C 72,38 H 9,26%

Gef. ,, 72,23 ,, 9,25%

### 3(α)-Acetoxy-ätiocholan-dion-3,17 (VIII).

19,3 mg 3(α)-Acetoxy-ätiocholan-ol-12(β)-on-17 (V) wurden in 0,28 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit 0,28 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessiglösung versetzt. 15½ Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen; Chromsäure nicht verbraucht. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde ein Rohprodukt erhalten, das aus Äther-Petroläther in zu Büscheln vereinigten derben Nadeln vom Smp. 172—172,5<sup>o</sup> krystallisierte. Bei der Chromatographie liess es sich mit Benzol eluieren. Eine Probe wurde bei 0,01 mm und 180<sup>o</sup> sublimiert und nochmals aus Aceton-Hexan umkrystallisiert. Smp. unverändert.

3,726 mg Subst. gaben 9,902 mg CO<sub>2</sub> und 2,916 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> (346,45) Ber. C 72,80 H 8,73%

Gef. ,, 72,52 ,, 8,76%

### Hydrierung von 3(α),12(β)-Diacetoxy-ätiocholan-on-17 (I).

94,6 mg Diacetat (I) vom Smp. 160—161<sup>o</sup> wurden in 3 cm<sup>3</sup> Eisessig mit 22,5 mg Platinoyd bei Zimmertemperatur hydriert. Nach der Reduktion des Katalysators erfolgte die Wasserstoffaufnahme nur sehr langsam. Nach 15 Stunden wurde filtriert, das Filtrat eingedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und die Lösung neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Zur besseren Trennung eventuell entstandener Isomerer wurde das Rohprodukt durch 4-stündiges Erwärmen mit 0,05 cm<sup>3</sup> Benzoylchlorid in 1 cm<sup>3</sup> absolutem Benzol und 0,05 cm<sup>3</sup> Pyridin benzoiliert. Nach dem Neutralwaschen betrug das im Hochvakuum getrocknete Reaktionsprodukt 140 mg. Es wurde über 4,2 g Aluminiumoxyd chromatographisch getrennt. Mischungen von Benzol-Petroläther sowie Benzol eluieren nur unverändertes Ausgangsmaterial vom Smp. 159—160<sup>o</sup> (nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther und Methanol-Wasser).  $[\alpha]_D^{17} = +178,9^o \pm 2^o$  (c = 2,079 in Aceton).

20,834 mg Subst. (kurz im Hochvakuum bei 70<sup>o</sup> getrocknet) zu 1,0020 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;

$$\alpha_D^{17} = +3,72^o \pm 0,03^o.$$

Andere krystallisierte Stoffe konnten nicht aufgefunden werden.

In einem zweiten Versuch wurden 157,9 mg Diacetat (I) in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig mit 56,8 mg Platinoyd hydriert. Nach Reduktion des Katalysators wurde im Verlauf von 1 Stunde auf 77<sup>o</sup> erwärmt und die Temperatur 21 Stunden auf ca. 80<sup>o</sup> gehalten. Die Wasserstoffaufnahme betrug nach dem Abkühlen 9,35 cm<sup>3</sup> = annähernd 1 Mol. Das wie oben aufgearbeitete Reaktionsprodukt wurde über 4,8 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit Benzol-Petroläther und Benzol wurden 66% unverändertes Ausgangsmaterial eluiert, mit Benzol-Äther ein Stoff vom Smp. 164,5—166,5<sup>o</sup>, dessen Menge jedoch nicht zur Analyse ausreichte.

### Hydrierung von 3(α)-Acetoxy-ätiocholan-ol-12(β)-on-17 (V).

58,9 mg 3-Monoacetat (V) wurden mit 19,6 mg Platinoyd in 3 cm<sup>3</sup> Eisessig hydriert. Nach Aufnahme der für den Katalysator berechneten Menge (4,2 cm<sup>3</sup>) blieb die Wasserstoffaufnahme stehen. Die Lösung wurde dann etwa 20 Stunden auf 75<sup>o</sup> erwärmt, das Platin nach dem Abkühlen abfiltriert, das Filtrat eingedampft, in Äther aufgenommen und neutral gewaschen. Die Chromatographie über 1,8 g Aluminiumoxyd lieferte mit Benzol-Petroläther 28 mg Öl, mit reinem Benzol 15 mg (= ca. 25%) Ausgangsmaterial und mit Benzol-Äther (1:1) 6 mg Krystalle vom Smp. ca. 180<sup>o</sup>. Diese wurden bei 0,01 mm

und 190° sublimiert und aus Methanol-Wasser umkrystallisiert. Feine Nadeln vom Smp. 183—184°.

3,728 mg Subst. gaben 9,771 mg CO<sub>2</sub> und 3,312 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub> (350,48) Ber. C 71,96 H 9,78%

Gef. ,, 71,52 ,, 9,94%

Anscheinend handelt es sich um ein 3(α)-Acetoxy-ätiocholan-diol-12(β),17 (VI).

Die 15 mg Ausgangsmaterial wurden zur sicheren Identifizierung wie oben beschrieben mit Chromsäure oxydiert und gaben das 3(α)-Acetoxy-ätiocholan-dion-12,17 (VIII) vom Smp. 173°.

Die zuerst erhaltenen öligen Anteile (28 mg) wurden ebenso oxydiert und lieferten nur Neutralprodukt, das über 1 g Aluminiumoxyd chromatographisch gereinigt wurde. Aus den mit Benzol-Petroläther erhaltenen Fraktionen liessen sich Krystalle gewinnen, die bei 0,007 mm und 145° sublimiert und aus verdünntem Methanol umkrystallisiert wurden. Feine Nadeln vom Smp. 141—142°.

3,695 mg Subst. gaben 10,202 mg CO<sub>2</sub> und 3,207 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub> (332,47) Ber. C 75,86 H 9,70%

Gef. ,, 75,35 ,, 9,71%

Bei der Hydrierung ist also ein Sauerstoffatom herausreduziert worden. Da der nach der Oxydation erhaltene Stoff mit 3(α)-Acetoxy-ätiocholan-on-17 nicht identisch ist, kann es sich nur um 3(α)-Acetoxy-ätiocholan-on-12 (IX) handeln.

Hydrierung von 3(α)-Acetoxy-ätiocholan-dion-3,17 (VIII).

35,5 mg Diketon (VIII) wurden mit 10,7 mg Platinoxid in 1,5 cm<sup>3</sup> Eisessig hydriert. Nach 6 Stunden betrug die Wasserstoffaufnahme etwa 1 Mol. Die vom Platin abfiltrierte Lösung wurde eingedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und die Lösung neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie über 1,1 g Aluminiumoxyd. Mit Benzol und Benzol-Äther 9:1 wurden 10 mg eines Stoffes eluiert, der nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther bei 167—168° schmolz und sich mit dem Monoacetat (V) als identisch erwies. Die mit Benzol-Äther 2:3 und mit reinem Äther eluierten Fraktionen lieferten nach Sublimation im Hochvakuum bei 170° und Umkrystallisieren aus Aceton-Hexan 17,5 mg = ca. 50% Prismen vom Smp. 148—149°.

Zur Analyse wurde 1 Stunde bei 0,02 mm und 105° getrocknet und unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum geschmolzen.

3,764 mg Subst. gaben 9,788 mg CO<sub>2</sub> und 3,266 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub> (350,48) Ber. C 71,96 H 9,78%

Gef. ,, 70,96 ,, 9,71%

Trotz der nicht gut stimmenden Analyse dürfte es sich bei diesem Stoff um ein 3(α)-Acetoxy-ätiocholan-diol-12,17 (XII) handeln.

Reduktion von 3(α),12(β)-Diacetoxy-ätiocholan-on-17 (I) nach  
Wolff-Kishner.

46,5 mg Diacetat (I) wurden mit 0,2 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und einer Lösung von 40 mg Natrium in 1,6 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol in einem evakuierten Bombenrohr 15 Stunden auf 180° erhitzt. Dann wurde mit 20 cm<sup>3</sup> Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Salzsäure und Wasser gewaschenen Ätherlösungen hinterliessen nach Trocknen und Abdampfen 28,5 mg Rückstand, der nach 3-tägigem Stehen mit Petroläther krystallisierte. Nach Sublimation bei 0,01 mm und 150° und Umkrystallisieren aus

Aceton-Hexan wurden Krystalle vom Smp. 82° (Hydrat?) erhalten. Zur Analyse wurde 1 Stunde bei 0,01 mm und 60° getrocknet und unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum geschmolzen.

3,494 mg Subst. gaben 9,882 mg CO<sub>2</sub> und 3,519 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>19</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> (292,45) Ber. C 78,03 H 11,03%

Gef. ,, 77,18 ,, 11,27%

Oxydation. 19,2 mg Ätiocholan-diol-3(α),12(β) (XIII) wurden in 0,66 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit 0,66 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessiglösung versetzt. Nach 22 Stunden wurde die grünlich-braun gefärbte Lösung wie üblich aufgearbeitet, wobei zum Ausschütteln eine Mischung von Benzol und Äther diente. Das Rohprodukt wurde aus Aceton-Hexan umkrystallisiert und lieferte feine lange Nadeln vom Smp. 189—192,5°. Nach Sublimation bei 0,005 mm und 140° und nochmaligem Umkrystallisieren aus Benzol-Petroläther 1:9 betrug der Smp. 193—196°.

3,662 mg Subst. gaben 10,557 mg CO<sub>2</sub> und 3,266 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub> (288,41) Ber. C 79,12 H 9,78%

Gef. ,, 78,67 ,, 9,98%

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

## 111. Etude critique des réactifs des cations.

### 16. Réactifs des cations du scandium

par P. Wenger et R. Duckert

(Collaboratrice Mlle Y. Ruseoni).

(16 VI 45)

Dans l'étude que nous avons faite des réactifs des ions des terres rares et de l'yttrium, nous n'avons pas pris en considération les ions du scandium qui se rattachent à ce groupe (voir les études précédentes<sup>1</sup>)).

Nous complétons donc nos recherches, en suivant les mêmes principes critiques que précédemment et en nous référant au Premier Rapport de la Commission Internationale des Réactions et Réactifs analytiques nouveaux ainsi qu'à la bibliographie des années 1937 à 1944.

<sup>1</sup>) Helv. 28, 274 et 539 (1945).



1. Réactifs des ions du scandium dont nous ne recommandons pas l'emploi.

| N°         | Réactifs  | Auteurs                               | Pas sensibles | Trop généraux | Réagissent avec les ions du même groupe Y... , Ce... , Th... | Réactifs utilisables, mais de moindre intérêt |
|------------|---|---------------------------------------|---------------|---------------|--|---|
| Sc... 1*)  | Hydrogénosulfate de potassium . . . . .   | W. Geilmann . . . . .                 |               |               | +  |   |
| Sc... 3    | Acide oxalique . . . . .  | W. Geilmann . . . . .                 |               |               | +  |   |
| Sc... 6    | Aurintricarboxylate d'ammonium (aluminon) . . . . .   | R. B. Corey et H. W. Rogers . . . . . |               | +             |  |   |
| Sc... 7**) | Pentahydroxy-3,5,7,2',4'-flavone (morine) . . . . .   | G. Beck . . . . .                     |               |               |  | +   |
| Sc... 8    | Tétrahydroxy-1,2,5,8-anthraquinone (quinizarine) . . . . .                                  | G. Beck . . . . .                     |               |               | +  |   |
| Sc... 9    | Dihydroxy-1,2-anthraquinonesulfonate-3 de sodium (alizarinesulfonate-3 de sodium) . . . . . | G. Beck . . . . .                     | +             |               |  | +   |

\*) Ces numéros ont été adoptés dans le Premier Rapport de la Commission des Réactifs.

\*\*\*) Les réactifs n° 7, 8 et 9 ne figurent pas dans le Premier Rapport de la Commission des Réactifs.

2. Réactifs des ions du scandium dont nous recommandons l'emploi.

| N°                                       | Réactifs   | Bibliographie | Caractéristiques de la réaction           | Sensibilité (Limite de perceptibilité) | Limite de dilution                           | Spécificité  |
|--|--|---------------|---|--|--|--|
| 1. Microscope (M).                       |  |               |   |  |  |  |
| Sc...12                                  | Nitrate d'hexaminocobalt(III)<br>(nitrate lutécobaltique)<br>+ fluorure de sodium<br>$(NO_3)_3[Co(NH_3)_6]$<br>+ $FN_3$<br>Nitrate d'hexaminocobalt solide<br>Fluorure de sodium saturé dans<br>$H_2O$ | 1             | III*<br>20°<br>↓ □ j                      | 5[M] <sup>0,01</sup>                   | 1:2 × 10 <sup>3</sup><br>10 <sup>-3,30</sup> | n. ○ ou n. *: Al, Zr,<br>Th..., alcalino-ter-<br>reux, alcalins.<br>Sensibilité diminuée<br>par: Fe, Cr, Zn,<br>Mn, Co, Ni<br>*: Terres rares, Th,<br>Be   |
| 2. Micro- et macro-éprouvettes (C et D). |  |               |   |  |  |  |
| Sc...11                                  | Cochenille<br><br>Teinture de cochenille commer-<br>ciale  | 2             | II-III<br>$(CH_3CO_2H)$<br>100°<br>↓ □ bl | 100[D] <sup>5</sup>                    | 1:5 × 10 <sup>4</sup><br>10 <sup>-4,70</sup> | n. ○ ou n. *: Pb, Cd,<br>Nb, Ta, Al, Cr, Ce,<br>Terres rares, Y, Be,<br>Th..., Zn, Mn, Co,<br>Ni, alcalino-<br>terreux et alcalins<br>Sensibilité diminuée<br>par: Fe...<br>○ ou *: Ag, Hg, Cu,<br>Sn, Au, V, O <sub>2</sub> U...,<br>Zr, Ti, F' |

\*) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.

ABREVIATIONS.

|  |               |
|--|---------------|
| C: micro-éprouvette  | II: acide     |
| D: macro-éprouvette  | III: neutre   |
| M: microscope  |               |
| 20°: température à laquelle la<br>réaction doit être faite |               |
| ↓: précipité   | □: coloration |
| bl: bleu   | j: jaune      |

exemple: ↓ □ bl = précipité bleu

○: 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>)

1:100 000 = limite de dilution.

BIBLIOGRAPHIE.

1) *G. Beck*, *Mikrochim. Acta* **2**, 9 (1937).

2) *G. Beck*, *Mikroch.* **27**, 47 (1939).

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

112. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

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

3,12-Dioxy-20-*iso*-bisorcholansäuren

von *M. Sorkin* und *T. Reichstein*.

(18. VI. 45.)

Vor kurzem<sup>2</sup>) stellten wir eine Säure her, von der wir vermuteten, dass es sich um 3α,12α-Dioxy-20-*iso*-bisorcholansäure (XXIV) handelte. Im folgenden wird die Bereitung der isomeren 3α,12β-Dioxy-20-*iso*-bisorcholansäure (XII) beschrieben und der Konstitutionsbeweis für beide Säuren erbracht. Es sind damit alle vier theoretisch möglichen 3,12-Dioxy-bisorcholansäuren bekannt, die sich durch Raumisomerie in 12- und 20-Stellung voneinander unterscheiden.

Nach *Wieland* und Mitarb.<sup>3</sup>) lässt sich Bisorcholansäure-äthylester (nicht aber die freie Säure) durch Kochen mit Natriumäthylat

<sup>1</sup>) 33. Mitteilung, vgl. *R. Grand*, *T. Reichstein*, *Helv.* **28**, 344 (1945).

<sup>2</sup>) *M. Sorkin*, *T. Reichstein*, *Helv.* **27**, 1631 (1944).

<sup>3</sup>) *H. Wieland*, *O. Schlichting*, *R. Jacobi*, *Z. physiol. Ch.* **161**, 80 (1926).



in die 20-*iso*-Bisnorcholansäure ( $\beta$ -Säure) umlagern. In analoger Weise konnten wir aus 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-bisnorcholansäure-methylester (VIII)<sup>1)</sup> in guter Ausbeute die 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-bisnorcholansäure (XII) erhalten, die sich durch fraktionierte Krystallisation von (VII) trennen lässt. Ihr Methylester (XIII) krystallisiert nur mit Pyridin, doch schmilzt der Komplex unscharf. Zur Charakterisierung ist das scharf schmelzende Methylester-diacetat (XIV) geeigneter. (XII) entstand ferner fast quantitativ durch Hydrierung von (XXII)<sup>2)</sup> mit PtO<sub>2</sub> in Eisessig und anschließende milde Verseifung. Merkliche Mengen der 20-*iso*-Säure (XII) werden neben viel (VII) bereits bei der Verseifung von (VIII) mit KOH in Methanol gebildet<sup>3)</sup>. Auch die früher als Nebenprodukt bei der Verseifung des Methylesters (XXIX) erhaltene 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -20-*iso*-Bisnorcholansäure (XXIV) wird präparativ vorteilhaft aus (XXVIII) mit Natriummethylat oder -äthylat gewonnen. (XII) und (XXIV) besitzen gleich gebaute Seitenketten, denn durch Dehydrierung ihrer Methylester (XIII) und (XXV) wird derselbe, bereits früher beschriebene 3,12-Diketo-20-*iso*-bisnorcholansäure-methylester (XX) erhalten.

Für den definitiven Struktur- und Konfigurationsbeweis<sup>4)</sup> wurden alle vier Ester (VIII), (XIII), (XXV) und (XXVIII) durch Umsetzung mit Phenyl-magnesium-bromid in die Diphenylcarbinole (IV), (XV), (XXI) und (XXXII) übergeführt, von denen (IV) bereits bekannt<sup>5)</sup> war und die alle vier in krystallisierter Form erhalten wurden. Anschliessend wurde danach gestrebt, die freien Carbinole oder ihre Acetate durch Wasserabspaltung in die entsprechenden Diphenyl-äthylene (V etc.) überzuführen, wobei das Asymmetrie-Zentrum C<sub>20</sub> aufgehoben wird. Zwei Carbinole, die sich lediglich durch Raumisomerie in 20-Stellung voneinander unterscheiden, müssen jeweils ein identisches Diphenyl-äthylen geben. Wegen gewisser Komplikationen, die sich besonders bei der 12 $\alpha$ -Reihe ergaben, werden diese Reaktionen erst weiter unten besprochen. Einfacher gelang die Verknüpfung der Dioxy-carbinole durch ihre vorherige Dehydrierung mit CrO<sub>3</sub>. Zwei verschiedene

<sup>1)</sup> J. Sawlewicz, Roczniki Chemii 18, 755 (1938); C. 1939, II, 2074.

<sup>2)</sup> M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 27, 1631 (1944).

<sup>3)</sup> Ähnliche Beobachtungen vgl. A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 713 (1944). Bisnorcholansäure-ester liefern bei Verseifung mit KOH in Methanol offenbar stets merkliche Mengen 20-*iso*-Säure, während die Umlagerung mit Natriumalkoholat fast vollständig verläuft. Das Gleichgewicht stellt sich also rasch ein und liegt stark auf der Seite der 20-*iso*-Form.

<sup>4)</sup> Es ist zwar naheliegend, anzunehmen, dass die Alkoholbehandlung lediglich räumliche Umkehrung in  $\alpha$ -Stellung zur -COOR-Gruppe, also an C<sub>20</sub> verursacht. Zu bedenken ist aber, dass Wieland (l. c.) aus Bisnorcholansäure ( $\alpha$ -Säure) nicht nur wie erwähnt die  $\beta$ -Säure, sondern via Dimethylcarbinole und CrO<sub>3</sub>-Oxydation noch eine  $\gamma$ -,  $\delta$ - und  $\varepsilon$ -Säure, also total 5 Isomere erhielt. Auch bei Isomerisierung in 17-Stellung sind theoretisch nur vier Isomere zu erwarten.

<sup>5)</sup> T. Reichstein, E. von Arx, Helv. 23, 747 (1940).

Dioxy-carbinole, die sich nur durch Raumisomerie in 12-Stellung voneinander unterscheiden, die also gleiche Seitenketten besitzen, sollten bei der Dehydrierung mit  $\text{CrO}_3$  ein identisches Diketo-carbinol liefern. Dies wurde bestätigt, indem (X) aus (IV) und aus (XXXII) entsteht, und analog wird (XVII) sowohl aus (XV) als aus (XXI) erhalten. Wenn (X) und (XVII) sich nur noch durch Raumisomerie in 20-Stellung voneinander unterscheiden, sollten beide bei der Wasserabspaltung dasselbe Diketo-äthylen-Derivat (XI) geben. Auch dies wurde bestätigt, womit der gewünschte Strukturbeweis bereits erbracht ist. Es mag noch erwähnt werden, dass sich Dehydrierungen mit  $\text{CrO}_3$  nur bei den Carbinolen (wie IV) glatt durchführen lassen. Bei den Äthylenderivaten (wie III, vgl. weiter unten) scheinen sich Reaktionen an der Doppelbindung abzuspielen, denn auch (II), das keine dehydrierbare HO-Gruppe enthält, wird von  $\text{CrO}_3$  in Eisessig angegriffen. Es entsteht ein nicht krystallisierender Stoff, der nach partieller Verseifung mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in wässrigem Methanol ein krystallisiertes Produkt lieferte, dessen Analysenwerte gut auf die Formel  $\text{C}_{40}\text{H}_{52}\text{O}_5$  passen, aber auch mit  $\text{C}_{38}\text{H}_{48}\text{O}_5$  verträglich sind. Da anzunehmen ist, dass die Acetoxy-Gruppe in 3-Stellung verseift ist, würde die  $\text{C}_{40}$ -Formel auf den Eintritt von 2 Acetylgruppen deuten, die  $\text{C}_{38}$ -Formel auf Eintritt von einer Acetylgruppe und 1 Atom Sauerstoff. Die Reaktion soll womöglich später noch untersucht werden.

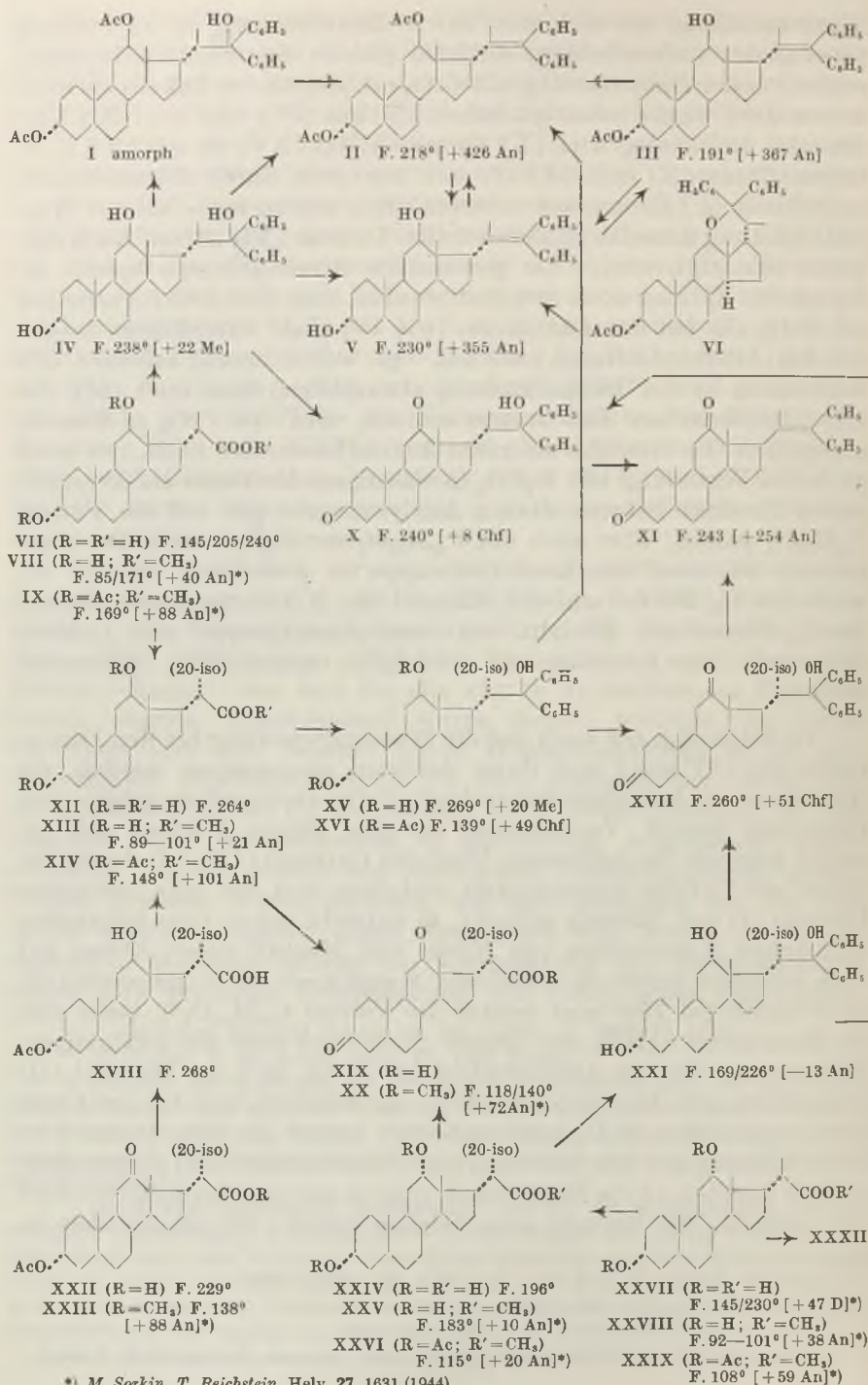
Im folgenden soll noch auf die Wasserabspaltung bei den Dioxy-carbinolen (IV etc.) und ihren Acetaten eingegangen werden, die teilweise etwas komplizierter verläuft, dafür aber gewisse präparative Bedeutung besitzt. Veranlassung für eine genaue Prüfung gab zunächst folgende Beobachtung. Wird das Carbinol (IV) <sup>1)</sup> <sup>2)</sup> durch Erhitzen mit Pyridin-Acetanhydrid acetyliert und das rohe (amorphe) Diacetat (I) mit Eisessig gekocht, so entsteht neben dem bekannten (II), dessen Konstitution von *Hoehn* und *Mason*<sup>1)</sup> durch Abbau mit Ozon bewiesen wurde, in reichlicher Menge noch ein Nebenprodukt<sup>3)</sup>. Es schmilzt bei  $192^\circ$  und besitzt die Formel  $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{O}_3$ <sup>4)</sup>, stellt also ein Monoacetat (III?) dar. Dieser Stoff wird aber bei 3-stündigem Erhitzen mit Pyridin-Acetanhydrid nur zu ca. 30% ins Diacetat (II) übergeführt. Die Hauptmenge bleibt unverändert, und bei der Chromatographie über  $\text{Al}_2\text{O}_3$  wird er *leichter* eluiert als (II). Dieses Verhalten schien gegen das Vorliegen eines Monoacetats (III) zu sprechen, und wir dachten an die Möglichkeit, dass es sich um das isomere Oxyd (VI) handelt. Die Bildung eines solchen Oxyds (VI) stände aber im

<sup>1)</sup> *W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. 60, 1493 (1938).*

<sup>2)</sup> *T. Reichstein, E. v. Arx, Helv. 23, 747 (1940).*

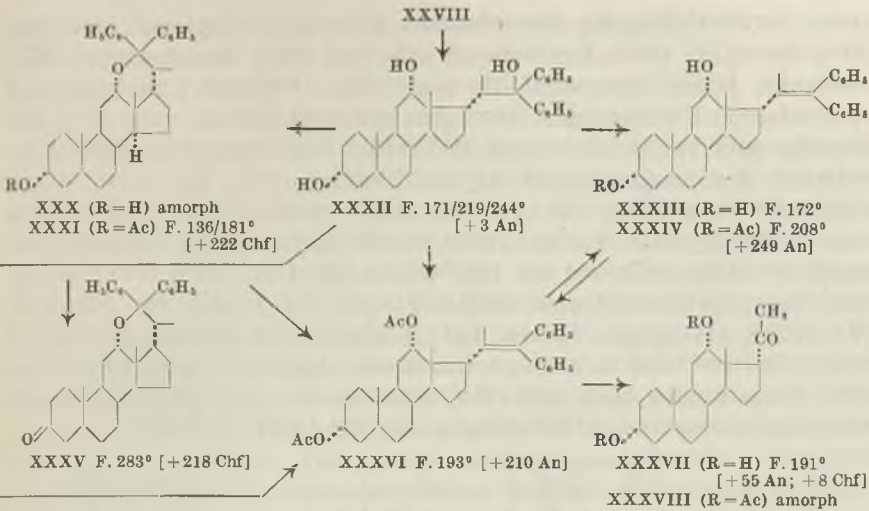
<sup>3)</sup> *P. Hegner, T. Reichstein, Helv. 26, 715 (1943).*

<sup>4)</sup> Die früher<sup>3)</sup> mitgeteilten Verbrennungswerte stimmen gut auf diese Formel.



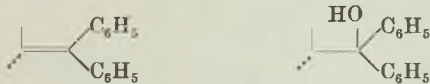
\* M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 27, 1631 (1944).





Formulierung der 20-*iso*-Verbindungen wie früher, *M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 27, 1631 (1944)*. Ac = CH<sub>3</sub>CO  
 Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehungen für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an:  
 An = Aceton; Chf = Chloroform; D = Dioxan; Me = Methanol.

Widerspruch zur kürzlich abgeleiteten Konfiguration der Säure (VII)<sup>1</sup>), da sich der 6-gliedrige Oxydring ohne Umlagerung an C<sub>12</sub> oder C<sub>17</sub> aus räumlichen Gründen nur unter sehr grosser Spannung bilden kann. Ein Versuch, die Entscheidung zwischen den Formeln (III) und (VI) auf oxydativem Wege zu erbringen, führte zu keinem eindeutigen Resultat, da das genannte Produkt mit CrO<sub>3</sub> in Eisessig ein schwer trennbares Gemisch lieferte<sup>2</sup>). Eine eindeutige Entscheidung brachte jedoch die Aufnahme des U.V.-Absorptionsspektrums. Als Modelle dienten (II) und (IV), deren Konstitution gesichert ist und die entsprechend dem unterschiedlichen Bau der absorbierenden Systeme



zwei deutlich verschiedene Kurven (A und B vgl. Abbildung) lieferten<sup>3</sup>).

Der Stoff vom Smp. 192° absorbiert nun genau wie (II) (Kurve mit A identisch), besitzt somit Formel (III), denn ein Oxyd (VI) müsste ein Spektrum wie (IV) aufweisen. Auch die spez. Drehung des Stoffes vom Smp. 192° ist mit Formel (III) gut verträglich, und

<sup>1</sup>) *M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 27, 1631 (1944)*.

<sup>2</sup>) Da ihm in Wirklichkeit Formel (III) zukommt, ist dies nach den genannten Resultaten bei der Einwirkung von CrO<sub>3</sub>-Eisessig auf (II) leicht verständlich.

<sup>3</sup>) U. V.-Absorptionsspektren ganz analog gebauter Stoffe, die diese zwei Systeme enthalten, sind inzwischen von *L. Ruzicka, W. Huber, O. Jeger, Helv. 28, 195 (1945)* veröffentlicht worden.

unter Berücksichtigung der schweren Acetylierbarkeit von (III) und (IV), der (III) seine Entstehung auf dem oben angedeuteten Weg verdankt, lassen sich auch die folgenden, teilweise präparativ gut brauchbaren Umsetzungen zwanglos erklären. Kocht man (IV) mit Eisessig oder behandelt es mit HCl-Äther bei Zimmertemperatur, so entsteht das ausgezeichnet krystallisierende (V), das auch durch alkalische Verseifung von (II) und (III) erhältlich ist. Acetylierung von (V) mit Pyridin-Acetanhydrid bei 18° liefert in fast quantitativer Ausbeute (III), während bei 100° neben viel (III) auch (II) gebildet wird. In ausgezeichneter Ausbeute entsteht (II) jedoch aus (III) oder (V) durch eintägiges Stehen mit Acetanhydrid-Eisessig-Borfluorid bereits bei 18° und in etwas schlechterer Ausbeute auch direkt aus (IV). Ganz analog lässt sich (XV) glatt in (V) oder (II) überführen, was einen zusätzlichen Strukturbeweis für (XII) darstellt.

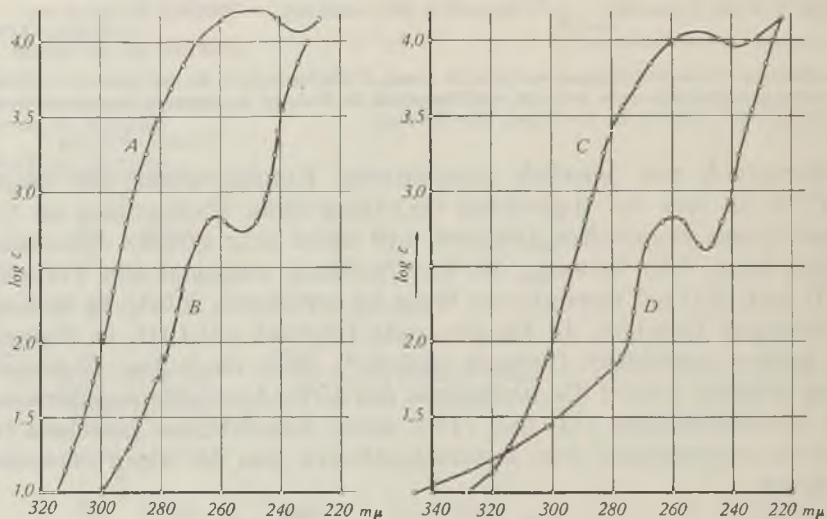


Fig. 1.

Kurve A = (II) in Hexan  
 Kurve B = (IV) in Alkohol  
 Eine mit A identische Kurve  
 gaben: (III) in Hexan  
 und (V) in Alkohol

Kurve C = (XXXIV) in Alkohol  
 Kurve D = (XXXI) in Alkohol  
 Die Kurve von (XXXVI) in Alkohol ist prak-  
 tisch mit C identisch

Unter teilweiser Berücksichtigung dieser Beobachtungen wurde auch die Acetylierung und Wasserabspaltung bei den zwei Carbinolen (XXI) und (XXXII) der 12 $\alpha$ -Reihe durchgeführt, wobei wir nur (XXXII) genauer untersuchten. Wurde (XXXII) mit Pyridin-Acetanhydrid heiss acetyliert und das rohe Acetylierungsgemisch mit Eisessig verkocht, so resultierte ein Gemisch, aus dem sich durch Chromatographie 2 isomere, krystallisierte Stoffe isolieren liessen, denen wir die Formeln (XXXI) und (XXXIV) zuschreiben. Die Zu-

ordnung wurde wieder durch Aufnahme der U.V.-Absorptionsspektren erbracht. (XXXI) gab Kurve D, die mit B fast übereinstimmt, und (XXXIV) lieferte Kurve C, die ganz ähnlich wie A verläuft. Hier ist die Bildung des Oxyds (XXXI) aus räumlichen Gründen leicht möglich. In Übereinstimmung mit dieser Formulierung liess sich (XXXI) durch alkalische Verseifung in ein amorphes Oxyoxyd (XXX) überführen, das von  $\text{CrO}_3$  in Eisessig glatt zum kryst. Keto-oxyd (XXXV) dehydriert wurde, während Diphenyl-äthylene (z. B. II und III), wie oben erwähnt, von  $\text{CrO}_3$ -Eisessig weiter angegriffen werden. (XXXI), (XXXII) und (XXXIV) gaben mit Acetanhydrid-Eisessig-Borfluorid bei  $18^\circ$  das Diacetat (XXXVI), das erwartungsgemäss in gleicher Weise auch aus (XXI) entstand. Der Oxydring in (XXXI) wird von  $\text{BF}_3$ -Acetylierungsgemisch somit leicht aufgespalten. Die Konstitution von (XXXVI) wurde durch Abbau mit Ozon gesichert. Das dabei entstehende amorphe Diacetoxyketon (XXXVIII) gab bei alkalischer Verseifung das kryst. Pregnandiol-( $3\alpha,12\alpha$ )-on-(20) (XXXVII) und eine kleine Menge 17-iso-Pregnan-diol-( $3\alpha,12\alpha$ )-on-(20), das in bekannter Weise<sup>1)</sup> durch die Einwirkung von Alkali auf (XXXVII) entstanden sein dürfte. (XXXVII) ging bei Dehydrierung mit  $\text{CrO}_3$  ins bekannte Pregnantrion-(3,12,20)<sup>2)</sup> über, während das 17-iso-Pregnan-diol-( $3\alpha,12\alpha$ )-on-(20) in gleicher Weise das noch unbekannte 17-iso-Pregnantrion-(3,12,20) lieferte. Dieser Stoff liess sich auch aus dem Gleichgewichtsgemisch isolieren, das durch kurzes Kochen des „normalen“ Pregnantrions-(3,12,20) mit KOH in Methanol erhalten wurde. Wie in anderen Fällen<sup>3)</sup> zeigten die zwei 17-iso-Ketone gegenüber den stabilen Formen eine starke Linksverschiebung der Drehung. Mit diesen Umsetzungen ist ein zusätzlicher Strukturbeweis für (XXIV) erbracht.

Wir möchten noch auf den sehr grossen Unterschied der spez. Drehungen (über  $200^\circ$ ) bei den zwei Diacetaten (II) und (XXXVI) aufmerksam machen. Bei den entsprechenden Diphenyl-äthylenen mit freier HO-Gruppe in 12-Stellung (III) und (XXXIV) ist er wesentlich kleiner (ca.  $120^\circ$ ) und bei den Diphenyl-carbinolen (IV) und (XXXII) bzw. (XV) und (XXI) nur noch von ähnlicher Grössenordnung, wie dies bei raumisomeren 12-Oxy-Verbindungen früher<sup>4) 5)</sup> gefunden wurde.

<sup>1)</sup> A. Butenandt, L. Mamoli, B. **68**, 1847 (1935); A. Butenandt, G. Fleischer, B. **70**, 96 (1937).

<sup>2)</sup> T. Reichstein, E. von Arx, Helv. **23**, 747 (1940); A. Katz, T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **19**, 231 (1944), u. zw. S. 240.

<sup>3)</sup> Vgl. <sup>1)</sup> sowie A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé, H. Paul, B. **72**, 1112 (1939); C. W. Shoppee, Helv. **28**, 925 (1940).

<sup>4)</sup> B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. **25**, 918 (1942); V. Wenner, T. Reichstein, Helv. **27**, 965 (1944).

<sup>5)</sup> M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. **26**, 2097 (1943); **27**, 1631 (1944).



Wir danken Herrn Professor *L. Ruzicka*, Zürich, für die Ausführung von Ultraviolett-Absorptionsspektren und der *Ciba*, Basel, für die Überlassung von Bisnor-desoxycholsäure.

### Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ . Die Substanzproben für Analyse und Drehung wurden, wenn nichts anderes erwähnt, 2 Stunden im Hochvakuum bei 80—90° getrocknet. (Schweinch) bedeutet, dass die unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum getrocknete Substanz im Schweinch eingewogen wurde. Für alle  $\text{CrO}_3$ -Dehydrierungen wurde gegen  $\text{CrO}_3$  beständiger Eisessig verwendet.)

#### 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-20-*iso*-bisorcholansäure (XXIV) (Präparative Methode).

0,1 g 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-bisorcholansäure-methylester (XXVIII)<sup>1)</sup> wurden durch Abdampfen mit Toluol getrocknet, mit der Lösung von 0,5 g Natrium in 5 cm<sup>3</sup> abs. Methanol versetzt u. 10 Min. unter  $\text{H}_2\text{O}$ -Ausschluss gekocht. Dann 1 cm<sup>3</sup>  $\text{H}_2\text{O}$  zugetropft u. noch 10 Min. gekocht. Nach Zusatz von 50 cm<sup>3</sup>  $\text{H}_2\text{O}$  gab Ausschütteln mit Äther nur 2 mg Neutrales. Alkalische Lösung mit  $\text{HCl}$  angesäuert u. mit viel Äther ausgeschüttelt. Waschen mit Wasser, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  u. Einengen gab Krystalle. Aus Chloroform 75 mg Tetraeder. Smp. 196—199°. Aus der Mutterlauge liessen sich ca. 10 mg normale Säure (XXVII) vom Smp. 141/223—231° gewinnen.

#### 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-bisorcholansäure (XII).

a) Aus (VIII). 6,8 g 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-bisorcholansäure-methylester (VIII)<sup>2)</sup> vom Smp. 171—172° wurden durch Abdampfen mit Benzol getrocknet und mit der Lösung von 5 g Natrium in 100 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol 1 Std. gekocht. Aufarbeitung gab 140 mg Neutrales u. 6,4 g rohe Säure. Fraktionierte Krystallisation aus viel Äther-Petroläther gab 3,1 g Nadeln, Smp. 254—258°, Mutterlauge aus Eisessig-Wasser noch eine kleine Menge. Reine Säure aus Chloroform-Petroläther, Smp. 264—266°. Mischprobe mit (VII) vom Smp. 205—207° schmolz bei 184—258°. Kochen von (VIII) mit  $\text{NaOCH}_3$  während 10 Min. wie oben bei (XXIV) beschrieben gab ein gleiches Resultat. Die Trennung von (XII) und (VII) mit kleinen Substanzmengen ist schwierig. Verseifen von (VIII) mit heisser methanolischer  $\text{KOH}$  lieferte ein Gemisch, aus dem sich durch mühsame fraktionierte Krystallisation ca. 85% (VII) u. 11% (XII) isolieren liessen.

b) Aus (XXII). 23 mg 3 $\alpha$ -Acetoxy-12-keto-20-*iso*-bisorcholansäure (XXII)<sup>1)</sup> vom Smp. 225—227° in 1 cm<sup>3</sup> Eisessig 5 Std. mit 40 mg  $\text{PtO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  bei 17° hydriert. Aufnahme von 8,7 cm<sup>3</sup>  $\text{H}_2$  (ber. 8,5 cm<sup>3</sup>). Filtration, Einengen im Vakuum u. Zusatz von  $\text{H}_2\text{O}$  gab 22 mg in Benzol leicht lösliche Nadeln (XVIII), Smp. 268—271°. Sie wurden in 2 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit 60 mg  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in 0,6 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt u. 15 Std. bei 17° stehen gelassen. Aufarbeitung gab 15 mg in Benzol schwer lösliche Nadeln (XII) vom Smp. 262 bis 265°. Mischprobe mit Präparat nach a) ebenso. Auch die Methylester erwiesen sich nach Mischprobe als identisch.

#### 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-bisorcholansäure-methylester (XIII).

100 mg 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-bisorcholansäure (XII) vom Smp. 264—266° in überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung gelöst u. 10 Min. stehen gelassen. Die mit  $\text{HCl}$ , Sodalösung u.  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschene u. über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknete Ätherlösung hinterliess 105 mg Ester. Nur aus Pyridin oder Pyridin-Wasser umkrystallisierbar. Ausb. 80 mg farblose, dünne Nadeln mit Krystallpyridin, Smp. 86—101°. Zur Bestimmung der spez. Drehung wurde das Pyridin durch viermaliges Abdampfen mit Benzol vertrieben u. der Rückstand im Hochvakuum bei 70° getrocknet.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +20,9^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,482$  in Aceton).

14,81 mg Subst. zu 0,9995 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_{\text{D}}^{20} = +0,31^\circ \pm 0,02^\circ$

<sup>1)</sup> *M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 27, 1631 (1944).*

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

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 120° geschmolzen (Schweinchen).

3,507 mg Subst. gaben 9,376 mg CO<sub>2</sub> und 3,165 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. „ 72,97 „ 10,10%

Der Ester (VIII) krystallisiert aus Pyridin nur schlecht und zeigt eine um 20° höhere Drehung.

3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Diacetoxy-20-*iso*-bisorcholansäure-methylester (XIV).

0,3 g 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-bisorcholansäure (XII) vom Smp. 264—266° wurden wie oben methyliert u. der rohe Methylester (XIII) mit 0,6 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin u. 0,6 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 3 Std. auf 100° erhitzt. Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Äther, Neutralwaschen, Trocknen u. Eindampfen gab 0,35 g gelbliches Harz. Aus Äthanol-Petroläther nach 2 Wochen Krystalle. Dann aus Methanol 300 mg farblose Nadeln, Smp. 148—149°,  $[\alpha]_D^{25} = +101,4^{\circ} \pm 1^{\circ}$  (c = 2,306 in Aceton).

23,045 mg Subst. zu 0,9995 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{25} = +2,35^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,701 mg Subst. gaben 9,484 mg CO<sub>2</sub> und 3,032 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>O<sub>6</sub> (462,61) Ber. C 70,10 H 9,15%  
Gef. „ 69,92 „ 9,17%

Die Mischprobe mit dem bei 169—170° schmelzenden Ester (IX) schmolz bei 125—145°.

3,12-Diketo-20-*iso*-bisorcholansäure-methylester (XX) aus (XIII).

30 mg 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-bisorcholansäure-methylester (XIII) (Pyridinverbindung) wurden durch Abdampfen mit Benzol vom Pyridin befreit, in wenig Eisessig gelöst, mit 1,2 cm<sup>3</sup> 2,5-proz. CrO<sub>2</sub>-Eisessig-Lösung versetzt u. 1 1/2 Std. bei 17° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung<sup>1)</sup> gab 24 mg neutrales Rohprodukt, aus Methanol 19 mg Tetraeder, Smp. 117—119°, hierauf Umwandlung in Platten, 2. Smp. 140—141°. Diketo-ester (XX) aus (XXV)<sup>1)</sup> sowie Mischprobe ebenso. Drehung u. Analyse wurden früher angegeben<sup>1)</sup>.

[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (IV)<sup>2)</sup>.

Das nach Reichstein u. von Arx<sup>2)</sup> bereitete Präparat zeigte Smp. 238—239° und  $[\alpha]_D^{16} = +21,6^{\circ} \pm 3^{\circ}$  (c = 0,8802 in Methanol).

8,797 mg Subst. zu 0,9995 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{16} = +0,19^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$ .

Das U. V.-Absorptionsspektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben.

[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XV).

440 mg durch Abdampfen mit Benzol getrockneter 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-bisorcholansäure-methylester (XIII) wurden in 15 cm<sup>3</sup> abs. Benzol gelöst, in eine siedende Phenyl-magnesiumbromid-Lösung (aus 0,5 g Mg-Spänen, 2,5 cm<sup>3</sup> Brombenzol und 20 cm<sup>3</sup> abs. Äther) eingetragen u. nach Abdestillieren des Äthers 4 Std. unter Rückfluss u. H<sub>2</sub>O-Ausschluss auf 100° erhitzt. Nach Zerlegen mit ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung wurde mit viel Äther ausgeschüttelt. Die mit Eis + verd. HCl, NaOH u. H<sub>2</sub>O gewaschene u. über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Ätherlösung hinterliess 1,46 g Eindampfrückstand, der nach viermaligem Ausreiben mit Petroläther 490 mg mikrokristallines Pulver gab. Dieses wurde 2 Std. mit 1 g KOH in 10 cm<sup>3</sup> Methanol gekocht. Der neutral verbliebene Anteil (450 mg) gab aus Chloroform-Äther 430 mg farbloses mikrokristallines Pulver, Smp. 268—271°,  $[\alpha]_D^{16} = +19,7^{\circ} \pm 5^{\circ}$  (c = 0,228 in Methanol).

11,17 mg Subst. zu 4,988 cm<sup>3</sup>; l = 2 dm;  $\alpha_D^{10} = +0,09^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

<sup>1)</sup> M. Sorokin, T. Reichstein, Helv. 27, 1631 (1944).

<sup>2)</sup> T. Reichstein, E. von Arx, Helv. 23, 747 (1940). — Statt -ternorcholanyl-(20) ziehen wir die etwas kürzere Bezeichnung -pregnyl-(20) vor.

Zur Analyse im Hochvakuum bei 110° getrocknet (Schweinchen).

3,691 mg Subst. gaben 10,972 mg CO<sub>2</sub> und 3,069 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>34</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub> (502,71) Ber. C 81,23 H 9,22%

Gef. ,, 81,12 ,, 9,30%

[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Diacetoxy-20-*iso*-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XVI).

100 mg [3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XV) vom Smp. 268 bis 271°, 0,4 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin u. 0,2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid wurden 3 Std. auf 100° erhitzt. Aufarbeitung wie bei (XIV) lieferte 118 mg Rohprodukt. Kryst. nach 2 Wochen in Äther-Methanol. Umkryst. aus Äther-Methanol gab 70 mg kleine farblose Blöcke, Smp. 139 bis 141°,  $[\alpha]_D^{16} = +49,3^{\circ} \pm 3^{\circ}$  ( $c = 1,135$  in Chloroform).

11,510 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +0,56^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,769 mg Subst. gaben 10,740 mg CO<sub>2</sub> und 2,913 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>38</sub>H<sub>50</sub>O<sub>5</sub> (586,78) Ber. C 77,78 H 8,59%

Gef. ,, 77,76 ,, 8,65%

3 $\alpha$ -Acetoxy-12 $\beta$ -oxy-bisnorcholansäure-methylester<sup>1)</sup> (vereinfachte Methode).

Der als Zwischenprodukt für die Gewinnung von (XXVIII) benötigte Ester liess sich etwas einfacher als früher beschrieben<sup>1)</sup> wie folgt bereiten. 10 g trockener 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-bisnorcholansäure-methylester (VIII)<sup>2)</sup>, 10 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin u. 10 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid wurden 1 Std. auf 55° erwärmt. Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform-Äther, Waschen mit HCl, Soda u. Wasser, Trocknen u. Eindampfen gab 11,2 g Rückstand. Daraus durch Umkrystallisieren aus Chloroform-Aceton-Äther 7 g (= 63%) Monoacetat vom Smp. 197—199°, das bei der Dehydrierung mit CrO<sub>3</sub> 6,9 g 3 $\alpha$ -Acetoxy-12-keto-ester<sup>1)</sup> vom Smp. 171—173° lieferte.

[3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XXXII).

4,5 g trockener 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-bisnorcholansäure-methylester (XXVIII)<sup>3)</sup> vom Smp. 92—101° wurden wie bei (XV) beschrieben umgesetzt. Das Rohprodukt (9 g) gab nach Verseifung u. dreimaligem Umfällen aus Äther-Petroläther 5,12 g farbloses Pulver mit Doppelschmelzpunkt 150°/200—215°. Der Stoff liess sich nur durch Umfällen reinigen. Eine Probe war nach Umfällen aus Benzol-Petroläther, Methanol-Wasser u. Äther-Petroläther mikrokristallin. Smp. 171—173° unter Umwandlung in feine Nadeln vom Smp. 218—220°, dann Rekrystallisation zu breiten Nadeln vom Smp. 244—247°.  $[\alpha]_D^{13} = +3,3^{\circ} \pm 1^{\circ}$  ( $c = 2,151$  in Aceton).

21,496 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{13} = +0,07^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,122 mg Subst. gaben 9,236 mg CO<sub>2</sub> und 2,629 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>34</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub> (502,71) Ber. C 81,23 H 9,22%

Gef. ,, 80,73 ,, 9,42%

[3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-20-*iso*-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XXI).

0,5 g 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-20-*iso*-bisnorcholansäure-methylester (XXV)<sup>4)</sup> vom Smp. 183 bis 184° wurden wie oben mit Phenyl-magnesiumbromid erhitzt. Das Rohprodukt (1,25 g) gab nach zweimaligem Umfällen aus Äther-Petroläther 635 mg farbloses mikrokristallines Pulver mit Doppel-Smp. 169—172°/221°. Langsame Abscheidung aus Benzol-Petroläther gab 440 mg kleine Prismen, Smp. 226—229°.  $[\alpha]_D^{14} = -13,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,480$  in Aceton).

14,788 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{14} = -0,20^{\circ} \pm 0,03^{\circ}$

<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> M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 27, 1631 (1944).

<sup>4)</sup> M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 27, 1631 (1944). Präparativ wird (XXIV) am besten aus (XXVIII) mit NaOCH<sub>3</sub> analog wie (XII) gewonnen. Ausbeute 75%.



Zur Analyse 6 Std. im Hochvakuum bei 100° getrocknet (Schweinchen).

3,747 mg Subst. gaben 10,268 mg CO<sub>2</sub> und 2,794 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>34</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub> (502,71) Ber. C 81,23 H 9,22%  
Gef. „ 80,66 „ 9,00%

[3,12-Diketo-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (X).

a) Aus (IV). 300 mg [3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (IV) vom Smp. 237—239° wurden ohne zu wärmen in 3 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 2,5 cm<sup>3</sup> 5-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt u. 1½ Std. bei 20° stehen gelassen. Nach Zusatz von Wasser mit Äther ausgeschüttelt u. die mehrmals mit Wasser und Sodalösung gewaschene u. über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Lösung eingedampft (290 mg). Aus Aceton-Methanol 255 mg quadratische oder rhombische Platten, aus Äther-Petroläther Würfel, Smp. 240—242°,  $[\alpha]_D^{16} = +7,8^{\circ} \pm 3^{\circ}$  ( $c = 0,902$  in Chloroform).

9,151 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +0,07^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,548 mg Subst. gaben 10,572 mg CO<sub>2</sub> und 2,635 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>34</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub> (498,66) Ber. C 81,88 H 8,49%  
Gef. „ 81,32 „ 8,31%

Der Stoff ist gut löslich in Chloroform, schwer in Alkohol, Aceton u. Äther.

b) Aus (XXXII). 80 mg [3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XXXII) (nicht ganz reines Präparat vom Smp. 160—167°/216—218°) wurden wie oben oxydiert. Gleiche Aufarbeitung gab 80 mg Rohprodukt, das sich als Gemisch erwies u. chromatographisch über 4 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> getrennt wurde. Benzol-Äther (9:1) eluierte 31 mg. Aus Chloroform-Äther 25 mg Prismen vom Smp. 236—241°, Mischprobe mit (X) aus (IV) ebenso. Die erst mit Äther eluierbaren Anteile (39 mg) gaben aus Chloroform-Äther 28 mg Nadeln (aus Benzol-Methanol quadratische Platten) vom Smp. 282—284°, Mischprobe mit Ketoxyd (XXXV) ebenso. (Möglicherweise enthielt das nicht ganz reine Ausgangsmaterial bereits etwas Oxyd (XXX)).

[3,12-Diketo-20-*iso*-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XVII).

a) Aus (XV). 200 mg [3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XV) vom Smp. 268—271° wurden wie oben oxydiert. Das Rohprodukt gab aus Chloroform-Äther 140 mg rechteckige Plättchen vom Smp. 260—263°.  $[\alpha]_D^{16} = +50,6^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 0,968$  in Chloroform)

9,861 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +0,49^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,667 mg Subst. gaben 10,996 mg CO<sub>2</sub> und 2,733 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>34</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub> (498,66) Ber. C 81,88 H 8,49%  
Gef. „ 81,83 „ 8,34%

Der Stoff ist schwer löslich in Alkohol, Aceton u. Äther, leicht in Chloroform.

b) Aus (XXI). 50 mg [3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-20-*iso*-pregnyl-(20)]-diphenyl-carbinol (XXI) vom Smp. 226—229° wurden wie oben oxydiert. Das Rohprodukt (40 mg) gab aus Äther-Petroläther 35 mg rechteckige Platten vom Smp. 260—263°. Mischprobe mit Präparat a) ebenso.

1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -dioxy-ätiocolanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (V)<sup>1)</sup>.

a) Aus (II). 200 mg 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -diacetoxy-ätiocolanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (II)<sup>2)</sup> wurden mit 1 g KOH in 3 cm<sup>3</sup> Methanol 15 Minuten gekocht. (II) ging

<sup>1)</sup> Der Stoff kann einfacher als 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-22,22-diphenyl-bisnorcholen-(20) bezeichnet werden. Wir benutzen die kompliziertere Benennungsart, weil daraus leichter ersichtlich ist, dass es sich um ein Diphenyl-äthylenderivat handelt.

<sup>2)</sup> W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. 60, 1493 (1938).

allmählich in Lösung u. (V) schied sich in Nadeln ab. Nach Zusatz von Wasser wurde mit Äther ausgeschüttelt u. die gewaschene u. getrocknete Lösung eingedampft. Aus Methanol-Wasser sowie aus Chloroform-Petroläther 170 mg Nadeln, Smp. 230—231°.  $[\alpha]_D^{16} = +354,90 \pm 3^0$  ( $c = 0,9608$  in Aceton).

9,603 mg Subst. zu 0,9995 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +3,41^0 \pm 0,02^0$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 100° getrocknet (Schweinchen).

3,821 mg Subst. gaben 11,774 mg CO<sub>2</sub> und 3,063 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>34</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub> (484,69) Ber. C 84,25 H 9,15%

Gef. „ 84,09 „ 8,97%

Das Spektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben.

b) Aus (III). 100 mg 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ -acetoxy-12 $\beta$ -oxy-ätiocolanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (III)<sup>1</sup>) vom Smp. 192—194° wurden wie bei a) verseift. Ausbeute 85 mg Nadeln, Smp. 229—231°. Mischprobe ebenso.

c) Aus (IV). 43 mg [3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (IV) vom Smp. 232—236° wurden mit 1 cm<sup>3</sup> Eisessig eine Stunde gekocht. Eindampfen gab 40 mg Rohprodukt, das nach zweimaligem Umkrystallisieren bei 229—231° schmolz. Mischprobe ebenso. Mit Äther-HCl wie bei d) gelingt die H<sub>2</sub>O-Abspaltung bereits bei Zimmertemperatur.

d) Aus (XV). 40 mg [3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-pregnyl-(20)]-diphenyl-carbinol (XV) vom Smp. 268—271° wurden mit 4 cm Äther und 4 cm<sup>3</sup> konz. HCl versetzt und geschwenkt. Bevor noch das Carbinol ganz in Lösung gegangen war, begann die Abscheidung von (V) in langen Nadeln. Aufarbeitung nach 1 Std. gab 34 mg Rohprodukt, daraus 15 mg Krystalle, Smp. 228—231°, Mischprobe mit Analysenpräparat ebenso. Kochen mit Eisessig gibt dasselbe Produkt.

1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ -acetoxy-12 $\beta$ -oxy-ätiocolanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (III) aus (V).

100 mg 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -dioxy-ätiocolanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (V) vom Smp. 229—231° wurden in 0,3 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin u. 0,2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 6 Std. bei 18° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 105 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Methanol 80 mg farblose Würfel, Smp. 191—192°. Mischprobe mit dem früher<sup>1</sup>) analysierten Präparat ebenso.  $[\alpha]_D^{16} = +366,90 \pm 2^0$  ( $c = 1,431$  in Aceton).

14,302 mg Subst. zu 0,9995 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +5,13^0 \pm 0,02^0$ .

Die Mischprobe von (II)+(III) schmolz bei 167—216°. Das Spektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben.

1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -diacetoxy-ätiocolanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (II)<sup>2</sup>).

a) Aus (III). 100 mg 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ -acetoxy-12 $\beta$ -oxy-ätiocolanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (III) vom Smp. 190—192° wurden in 1 cm<sup>3</sup> Eisessig, 1 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid u. 0,1 cm<sup>3</sup> BF<sub>3</sub>-Äther-Komplex gelöst u. 20 Std. bei 18° stehen gelassen. Aufarbeitung gab 108 mg Rohprodukt, aus Petroläther 103 mg Würfel, Smp. 216—218° (Mischprobe). Eine chromatographierte analysenreine Probe schmolz bei 218—219° u. zeigte  $[\alpha]_D^{16} = +426,2^0 \pm 2^0$  ( $c = 0,9550$  in Aceton).

9,545 mg Subst. zu 0,9995 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +4,07^0 \pm 0,02^0$

U. V.-Absorptionsspektrum vgl. theoret. Teil.

b) Aus (V). 100 mg 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -dioxy-ätiocolanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (V) vom Smp. 229—231° genau wie oben behandelt gaben 100 mg Würfel (aus Petroläther), Smp. 215—217°, Mischprobe ebenso.

<sup>1</sup>) P. Hegner, T. Reichstein, Helv. 26, 715 (1943).

<sup>2</sup>) W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. 60, 1493 (1938).

c) Aus (IV). 100 mg [3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (IV) vom Smp. 237—239° wurden wie oben behandelt. Aus Eisessig-Methanol 58 mg Würfel, Smp. 211—215° (Mischprobe).

d) Aus (XV). 100 mg [3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XV) vom Smp. 268—271° wurden ebenfalls wie oben umgesetzt. Aus Eisessig-Methanol 65 mg Würfel, Smp. 198—205°. Nach Umkryst. 210—214° (Mischprobe).

Acetylierung von (V) mit Acetanhydrid-Pyridin bei 100°.

50 mg 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -dioxy-ätiocholanyl-(17)]-2',2'-diphenyläthylen (V) vom Smp. 229—231° wurden mit 0,2 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin u. 0,1 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 3 Std. auf 100° erhitzt. Aufarbeitung gab 60 mg Rohprodukt, das über 2 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde. Benzol-Petroläther (1:1) eluierte 42 mg Substanz, aus Petroläther 35 mg reines (III), Smp. 191—192° (Mischprobe). Die mit Äther eluierbaren Anteile (16 mg) gaben aus Eisessig-Methanol 13 mg reines Diacetat (II), Smp. 217—219° (Mischprobe).

1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ -acetoxy-12 $\beta$ -oxy-ätiocholanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (III) und 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -diacetoxy-ätiocholanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (II) und Nebenprodukt aus (XV).

0,4 g [3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-20-*iso*-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XV) vom Smp. 268 bis 271° wurden mit 0,8 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 0,8 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 3 Std. auf 100° erhitzt und das in üblicher Weise isolierte Rohprodukt 1½ Std. mit 4 cm<sup>3</sup> Eisessig unter Rückfluss gekocht. Eindampfen im Vakuum gab 0,4 g gelbliches Harz, das über 15 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographisch getrennt wurde. Benzol-Petroläther (1:1) eluierte 200 mg; aus Petroläther 150 mg Würfel, Smp. 190—192°; Mischprobe mit (III) ebenso. Die mit Benzol-Äther (9:1) eluierbaren Anteile (180 mg) erwiesen sich als Gemisch und wurden nochmals sorgfältig chromatographiert. Die leichter eluierbaren Anteile gaben aus Eisessig-Methanol u. aus Petroläther ca. 50 mg Würfel vom Smp. 215°, nach Mischprobe identisch mit (II). Die wenig schwerer eluierbaren Anteile kryst. aus Pentan od. aus Eisessig in einseitig zugespitzten Prismen, Smp. 191—193°.

3,704 mg Subst. gaben 10,468 mg CO<sub>2</sub> und 2,812 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>33</sub>H<sub>50</sub>O<sub>5</sub> (586,78) Ber. C 77,78 H 8,59%

Gef. „ 77,13 „ 8,50%

Die Analyse stimmt somit annähernd auf ein Carbinol-diacetat. Die Mischproben mit (II) und (III) gaben Schmelzpunktserniedrigungen.

Einwirkung von CrO<sub>3</sub>-Eisessig auf 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -diacetoxy-ätiocholanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (II).

103 mg 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -diacetoxy-ätiocholanyl-(17)]-2',2'-diphenyl-äthylen (II) vom Smp. 217—219° wurden in 2,5 cm<sup>3</sup> 3,3-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung 3 Std. bei 18° stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab 92 mg Neutralprodukt als farbloses Harz, das über 3 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde. Benzol-Petroläther (3:1) eluierte 60 mg amorphe Substanz. Mit Benzol-Äther (9:1) liessen sich weitere 30 mg Krystallisierbares ablösen, die zur Hauptsache Ausgangsmaterial (II) enthielten. Die amorphe Hauptfraktion (60 mg) wurde zur Verseifung mit 2 cm<sup>3</sup> Methanol, 30 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 0,3 cm<sup>3</sup> Wasser 18 Std. stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung u. Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther gab 33 mg flache Nadeln, Smp. 271—273°. Zur Analyse wurde 3 Std. bei 0,1 mm u. 110° getrocknet (Schweinchen).

3,680 mg Subst. gaben 10,580 mg CO<sub>2</sub> und 2,803 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>38</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub> (584,76) Ber. C 78,05 H 8,27%

C<sub>40</sub>H<sub>52</sub>O<sub>6</sub> (612,82) Ber. „ 78,39 „ 8,56%

Gef. „ 78,46 „ 8,52%



1'-Methyl-1'-[3, 12-diketo-ätiocholanyl-(17)]-2', 2'-diphenyl-äthylen (XI).

a) Aus (X). 50 mg [3,12-Diketo-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (X) vom Smp. 239 bis 241° wurden mit 2 cm<sup>3</sup> Eisessig 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Eindampfen im Vakuum, Neutralwaschen usw. u. Kryst. aus Äther-Petroläther gab 41 mg Nadeln, aus Methanol Rhomben, Smp. 243—245°.  $[\alpha]_D^{16} = +254,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,0186 in Aceton).

10,181 mg Subst. zu 0,9995 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{16} = +2,56^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,543 mg Subst. gaben 11,048 mg CO<sub>2</sub> und 2,664 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>O<sub>2</sub> (480,66) Ber. C 84,95 H 8,39%

Gef. „ 85,10 „ 8,41%

Die Mischprobe von (X) u. (XI) gibt keine Schmelzpunktserniedrigung.

b) Aus (XVII). 50 mg [3,12-Diketo-20-iso-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XVII) vom Smp. 260—263° wie oben behandelt gaben aus Äther-Petroläther 37 mg Nadeln, aus Methanol Rhomben, Smp. 241—245°, Mischprobe mit Präparat nach a) ebenso.

3α-Acetoxy-12α, 22-oxydo-22, 22-diphenyl-bisnorecholan (XXXI) und 1'-Methyl-1'-[3α-acetoxy-12α-oxy-ätiocholanyl-(17)]-diphenyl-äthylen (XXXIV) aus (XXXII).

(XXXI). 3 g [3α,12α-Dioxy-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XXXII) vom Smp. 150°/200—215° wurden mit je 3 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und Acetanhydrid 1 Std. auf 60° erwärmt u. das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt mit 10 cm<sup>3</sup> Eisessig 1½ Std. unter Rückfluss gekocht. Eindampfen im Vakuum gab 3,52 gelbliches Harz, das über 140 g alkalifreiem Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>1</sup>) chromatographisch getrennt wurde. Vorsichtiges Eluieren mit Petroläther-Benzol (bis 20% Benzolgehalt) gab 1,35 g rohes Oxyd (XXXI). Aus Pentan farblose quadratische Platten, Smp. 125—135° (unter Blasenbildung). Aus Benzol-Methanol 1,15 g quadratische Blättchen, bei 136—137° zu zäher Flüssigkeit schmelzend. Aus Äthanol Smp. 181—183°. Mischprobe des letzteren mit (XXXIV) (vom Smp. 208 bis 209°) schmilzt bei 180—206°, also ohne Schmelzpunktserniedrigung.  $[\alpha]_D^{16} = +222,0^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,189 in Chloroform).

12,061 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{16} = +2,64^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde eine aus Benzol-Methanol umkryst. Probe nach üblicher Trocknung unmittelbar vor der Verbrennung im Vakuum geschmolzen.

3,116 mg Subst. gaben 9,372 mg CO<sub>2</sub> und 2,483 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>36</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub> (526,72) Ber. C 82,09 H 8,80%

Gef. „ 82,08 „ 8,92%

U. V.-Absorptionsspektrum vgl. theoret. Teil.

(XXXIV). Die weiteren mit Petroläther-Benzol (1:1) erhaltenen Eluate (0,9 g) gaben aus Pentan 0,3 g farblose Blöcke, Smp. 208—209°,  $[\alpha]_D^{25} = +248,8^{\circ} \pm 3^{\circ}$  (c = 0,7678 in Aceton).

7,674 mg Subst. zu 0,9995 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{25} = +1,91^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,757 mg Subst. gaben 11,238 mg CO<sub>2</sub> und 3,020 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>36</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub> (526,72) Ber. C 82,09 H 8,80%

Gef. „ 81,63 „ 8,99%

U. V.-Absorptionsspektrum vgl. theoret. Teil.

Die weiteren mit Benzol-Äther sowie mit Chloroform eluierten Anteile (1,2 g) kristallisierten nicht u. wurden zusammen mit den Mutterlaugen von (XXXI) und (XXXIV) mit BF<sub>3</sub> in (XXXVI) übergeführt.

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

3 $\alpha$ -Oxy-12 $\alpha$ , 22-oxydo-22, 22-diphenyl-bisnorcholan (XXX).

150 mg 3 $\alpha$ -Acetoxy-12 $\alpha$ , 22-oxydo-22, 22-diphenyl-bisnorcholan (XXXI) vom Smp. 136—137° (aus Benzol-Methanol) wurden mit der Lösung von 150 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 1 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O u. 5 cm<sup>3</sup> Methanol 1½ Std. unter Rückfluss gekocht. Die Substanz war erst nach 30 Minuten gelöst. Zusatz von Wasser, Entfernung des Methanols im Vakuum, Ausschütteln mit Äther u. Eindampfen der über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Lösung gab 122 mg Oxy-oxyd (XXX) als farbloses Harz, das auch nach Chromatographie nicht krystallisierte. Es liess sich dabei einheitlich mit Petroläther-Benzol (1:3) vom Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ablösen.

3-Keto-12 $\alpha$ , 22-oxydo-22, 22-diphenyl-bisnorcholan (XXXV).

122 mg Oxy-oxyd (XXX) (amorph) wurden mit 2,5 cm<sup>3</sup> 3-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung 1 Std. bei 18° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 115 mg Rohprodukt, das sofort krystallisierte. Aus Benzol-Petroläther quadratische Platten u. aus Benzol-Methanol hexagonal begrenzte Säulen; Smp. 283—284°,  $[\alpha]_D^{17} = +218,1^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 0,9905 in Chloroform).

10,045 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +2,16^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,712 mg Subst. gaben 11,506 mg CO<sub>2</sub> und 2,935 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>34</sub>H<sub>42</sub>O<sub>2</sub> (482,68) Ber. C 84,60 H 8,77%

Gef. „ 84,59 „ 8,85%

1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -diacetoxy-ätiocholanyl-(17)]-2', 2'-diphenyl-äthylen (XXXVI).

a) Aus (XXXII). 1,35 g [3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -Dioxy-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XXXII) vom Smp. 150°/200—215° wurden mit je 3 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und Acetanhydrid 3 Std. auf 100° erhitzt und das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Reaktionsprodukt mit 10 cm<sup>3</sup> Eisessig 4 Std. auf 100° erwärmt. Eindampfen im Vakuum gab 1,62 g gelbliches Harz. Es wurde in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 5 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid und 0,2 cm<sup>3</sup> Borfluorid-Äther-Komplex versetzt und 16 Std. bei 18° stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab 1,58 g leicht gelbliches Harz. Aus Äther-Methanol 0,8 g hexagonal begrenzte Nadeln, Smp. 193 bis 195°. Die Mutterlauge gab nach Chromatographie noch weitere Mengen.  $[\alpha]_D^{14} = +210,0^{\circ} \pm 1,5^{\circ}$  (c = 2,186 in Aceton).

21,845 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{14} = +4,59^{\circ} \pm 0,03^{\circ}$

3,750 mg Subst. gaben 11,030 mg CO<sub>2</sub> und 2,833 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>35</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub> (568,76) Ber. C 80,24 H 8,51%

Gef. „ 80,27 „ 8,45%

U. V.-Absorptionsspektrum vgl. theoret. Teil.

b) Aus (XXI). 250 mg [3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -Dioxy-20-iso-pregnyl-(20)]-diphenylcarbinol (XXI) vom Smp. 226—229° wurden wie bei a) behandelt und gaben 160 mg reines (XXXVI) vom Smp. 193—195° (aus Methanol). Mischprobe ebenso.

c) Aus (XXXI). 370 mg 3 $\alpha$ -Acetoxy-12 $\alpha$ , 22-oxydo-22, 22-diphenyl-bisnorcholan (XXXI) vom Smp. 136—137° wurden mit je 2 cm<sup>3</sup> Eisessig und Acetanhydrid sowie 0,2 cm<sup>3</sup> BF<sub>3</sub>-Äther-Komplex 24 Std. bei 18° stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab bereits als erstes Krystallinat 240 mg (XXXVI) vom Smp. 192—195° (Mischprobe).

d) Aus (XXXIV). 27 mg 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ -acetoxy-12 $\alpha$ -oxy-ätiocholanyl-(17)]-diphenyl-äthylen (XXXIV) vom Smp. 208—209° wurden wie bei c) behandelt. Rohprodukt 29 mg, daraus 25 mg Krystalle, Smp. 193—195° (Mischprobe).

e) Aus diversen Mutterlauen. 220 mg Material (Mutterlauen sowie amorphe Chromatographiefraktionen von der Bereitung von (XXXI) und (XXXIV) aus (XXXII)) gaben nach Behandlung mit BF<sub>3</sub>-Eisessig-Acetanhydrid 220 mg Rohprodukt, aus Methanol 150 mg Nadeln, Smp. 192—195° (Mischprobe).

1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -dioxy-ätiocolanyl-(17)]-diphenyl-äthylen (XXXIII).

140 mg Diacetat (XXXVI) vom Smp. 193—195° wurden mit 1 g KOH in 1 cm<sup>3</sup> Wasser und 5 cm<sup>3</sup> Methanol 10 Min. gekocht. Aus Methanol-Wasser, dann aus Äther-Petroläther 100 mg Nadeln, Smp. 172—173°.

1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ -acetoxy-12 $\alpha$ -oxy-ätiocolanyl-(17)]-diphenyl-äthylen-  
(XXXIV) aus (XXXIII).

32 mg 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -dioxy-ätiocolanyl-(17)]-diphenyl-äthylen (XXXIII) vom Smp. 172—173° wurden mit je 0,2 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und Acetanhydrid 16 Std. bei 18° stehen gelassen. Aufarbeitung gab 25 mg Krystalle, Smp. 206—208°, Mischprobe mit (XXXIV) ebenso.

Pregnandiol-(3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ )-on-(20) (XXXVII) und 17-*iso*-Pregnandiol-(3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ )-on-(20).

Durch die Lösung von 1,65 g 1'-Methyl-1'-[3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -diacetoxy-ätiocolanyl-(17)]-diphenyl-äthylen (XXXVI) vom Smp. 192—195° in 30 cm<sup>3</sup> Chloroform wurde 1 1/2 Std. bei -10° trockener ozonisierter Sauerstoff (ca. 100 cm<sup>3</sup> pro Minute, mit ca. 4% O<sub>3</sub>) geleitet. Nach Eindampfen im Vakuum wurde in 10 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 1 g Zinkstaub versetzt und ca. 10 Min. unter Umschwenken auf 50° erwärmt, bis Kaliumjodid-Stärkepapier nicht mehr gebläut wurde. Nach Filtration und Waschen mit Äther wurde im Vakuum eingengt, in Äther gelöst, die Lösung mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Aus den Sodauszügen wurden 60 mg saure Anteile erhalten.

Das neutrale Reaktionsgemisch (1,6 g) wurde mit 30 cm<sup>3</sup> Methanol, 3 cm<sup>3</sup> Eisessig und 2,4 g Girard's Reagens T<sup>1</sup>) 1 Std. bei 20° stehen gelassen, kurz aufgeköcht, auf -10° gekühlt, in einem Guss mit der Mischung von 50 g Eis und 70 cm<sup>3</sup> Wasser, das genau 99% der zur Neutralisation des Eisessigs erforderlichen Menge NaOH enthält, versetzt und sofort 3mal mit auf -10° gekühltem Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösungen wurden mit wenig H<sub>2</sub>O gewaschen, getrocknet und eingedampft und gaben 850 mg „Ketonfreies“. Die wässrigen Anteile und Waschwasser wurden mit konz. HCl bis zur kongosäuren Reaktion versetzt, im Vakuum bei 20° vom Methanol möglichst befreit und mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Sodalösung und H<sub>2</sub>O gewaschene und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Ätherlösung gab beim Eindampfen 600 mg rohes Diacetoxy-keton (XXXVIII). Die 850 mg ketonfreien Anteile gaben nach nochmaliger Ozonisierung noch 34 mg Säuren und 250 mg rohes Keton (XXXVIII), total 850 mg.

Die 850 mg rohes Diacetoxy-keton (XXXVIII) wurden 2 Std. mit 0,8 g K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 8 cm<sup>3</sup> Wasser und 16 cm<sup>3</sup> Methanol gekocht und gaben 690 mg Neutralprodukt, das zur Reinigung über 20 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde. Die mit Benzol-Äther sowie die zwei ersten mit abs. Äther eluierten Fraktionen (350 mg) gaben amorphe oder schlecht schmelzende Gemische. Aus den weiteren mit reinem Äther sowie mit Äther-Chloroform abgelösten Anteilen (120 mg) wurden durch Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 60 mg normales Keton (XXXVII) in quadratischen Platten erhalten, Smp. 191—192°;  $[\alpha]_D^{20} = +55,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,087 in Aceton), bzw.  $[\alpha]_D^{21} = +8,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,575 in Chloroform).

11,021 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup> (Aceton);  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{20} = +0,60^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

15,995 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup> (Chloroform);  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{21} = +0,13^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde 6 Std. im Hochvakuum bei 100° getrocknet (Schweinchen).

3,598 mg Subst. gaben 9,937 mg CO<sub>2</sub> und 3,313 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub> (334,48) Ber. C 75,40 H 10,25%

Gef. „ 75,36 „ 10,30%

Die Mischprobe mit dem fast gleich schmelzenden Ausgangsmaterial (XXXVI) schmolz bei 165—190°.

<sup>1</sup>) A. Girard, G. Sandulesco, Helv. 19, 1095 (1936).



Alle bei der ersten Chromatographie erhaltenen Mischfraktionen sowie die Mutterlauge von (XXXVII) (total 540 mg) wurden mit 0,5 g KOH in 1 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O und 5 cm<sup>3</sup> Methanol 20 Min. gekocht und das neutrale Reaktionsprodukt (400 mg) nochmals sorgfältig über 15 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die mit abs. Benzol und Benzol-Äther (3:2) eluierten Anteile (180 mg) waren amorph. Vier mit Benzol-Äther (1:1) abgelöste Fraktionen (110 mg) gaben aus Chloroform-Äther 35 mg

17-*iso*-Pregnandiol-(3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ )-on-(20), quadratische Plättchen, Smp. 231 bis 233°;  $[\alpha]_D^{15} = -46,2^{\circ} \pm 3^{\circ}$  ( $c = 0,865$  in Chloroform).

8,776 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{15} = -0,40^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,788 mg Subst. gaben 10,478 mg CO<sub>2</sub> und 3,531 mg H<sub>2</sub>O (Schweinchen)

C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub> (334,48) Ber. C 75,40 H 10,25%  
Gef. „ 75,49 „ 10,34%

Die weiteren mit Benzol-Äther (1:1) sowie mit Chloroform erhaltenen Eluate (110 mg) gaben aus Chloroform-Äther noch 75 mg reines (XXXVII) vom Smp. 191—192°, Totalausbeute 135 mg.

Pregnan-trion-(3, 12, 20)<sup>1)2)</sup> aus (XXXVII).

30 mg Pregnan-diol-(3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ )-on-(20) (XXXVII) vom Smp. 191—192° wurden in 2 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit 0,5 cm<sup>3</sup> 5-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt, wobei sofort eine Fällung auftrat, die erst bei kurzem Wärmen auf 60° in Lösung ging. Nach 1-stündigem Stehen bei 20° gab die Aufarbeitung 26 mg Neutralsubstanz. Aus Aceton 18 mg rhombisch begrenzte Platten, Smp. 204—206°. Mischprobe mit authentischem Material<sup>1)</sup> ebenso.

17-*iso*-Pregnan-trion-(3, 12, 20).

a) Aus 17-*iso*-Pregnandiol-(3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ )-on-(20).

23 mg 17-*iso*-Pregnandiol-(3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ )-on-(20) vom Smp. 228—231° wurden genau wie oben oxydiert. Das neutrale Reaktionsprodukt (17 mg) wurde über 1 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Merck) chromatographiert. Die mit Benzol und Benzol-Äther (3:1) eluierbaren Anteile gaben aus Äther-Petroläther 8 mg farblose Nadeln vom Smp. 152—153°. Die Mischprobe mit dem nach b) bereiteten Vergleichsmaterial gab keine Schmelzpunkterniedrigung.

b) Aus „normalem“ Pregnan-trion-(3, 12, 20).

0,67 g Pregnan-trion-(3, 12, 20) vom Smp. 200—202° wurden mit 15 cm<sup>3</sup> 5-proz. methanolischer KOH 10 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von Wasser wurde mit Äther ausgeschüttelt, gewaschen getrocknet und eingedampft. Aus Chloroform-Äther krystallisierten 0,5 g Ausgangsmaterial. Die Mutterlauge gaben bei der fraktionierten Krystallisation aus Äther-Petroläther lange feine Nadeln des neuen Produkts, die sich von den festeren Klötzchen des Ausgangsmaterials abschwemmen liessen. Die verbleibende Mutterlauge gab nach chromatographischer Trennung noch 35 mg reines *iso*-Keton. Ausbeute total 77 mg Nadeln, Smp. 152—153°,  $[\alpha]_D^{20} = +58,0^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,242$  in Aceton).

12,596 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{20} = +0,72^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde im Vakuum kurz geschmolzen.

3,648 mg Subst. gaben 10,186 mg CO<sub>2</sub> und 2,983 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub> (330,45) Ber. C 76,32 H 9,15%  
Gef. „ 76,20 „ 9,15%

Die Mischprobe mit dem bei 200—202° schmelzenden Ausgangsmaterial schmolz bei 138—152°. Die spez. Drehung des „normalen“ Triketons beträgt  $[\alpha]_D^{13} = +168,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (Aceton)<sup>2)</sup>.

Die Mikroanalysen sowie die Aufnahmen der Ultraviolett-Absorptionsspektren wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung W. Manser) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

<sup>1)</sup> T. Reichstein, E. v. Arx, Helv. 23, 747 (1940).

<sup>2)</sup> A. Katz, T. Reichstein, Pharm. acta Helv. 19, 231 (1944), und zwar S. 240.

113. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe.

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

Oxydation von Desoxycholsäure-methylester-diacetat mit Chromsäure.

III. Untersuchung der „ketonfreien“ Anteile

von H. Reich.

(18. VI. 45.)

Bei der Oxydation von Desoxycholsäure-methylester-diacetat mit Chromsäure werden aus den neutralen Anteilen 3( $\alpha$ ),12( $\beta$ )-Dioxy-pregnan-on-(20), 3( $\alpha$ ),12( $\beta$ )-Dioxy-ätiocolan-on-(17) und ein weiterer Stoff erhalten, der nicht mit *Girard's* Reagens reagiert und dessen Menge etwa so gross ist wie die der beiden Ketone zusammen<sup>2)</sup>. Er krystallisiert aus Benzol-Petroläther in feinen Nadeln, die bei 141° schmelzen, und lässt sich chromatographieren und im Hochvakuum sublimieren. Die Analyse stimmte auf eine Formel  $C_{24}H_{36}O_3$ , doch ergab die Molekulargewichtsbestimmung eines Derivates, dass dem Stoff die Formel  $C_{16}H_{24}O_2$  zukommt. Im U.V.-Absorptionsspektrum zeigt er ein Maximum bei 237 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,07$ ) (vgl. Figur 1), was auf das Vorhandensein einer  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Keto-

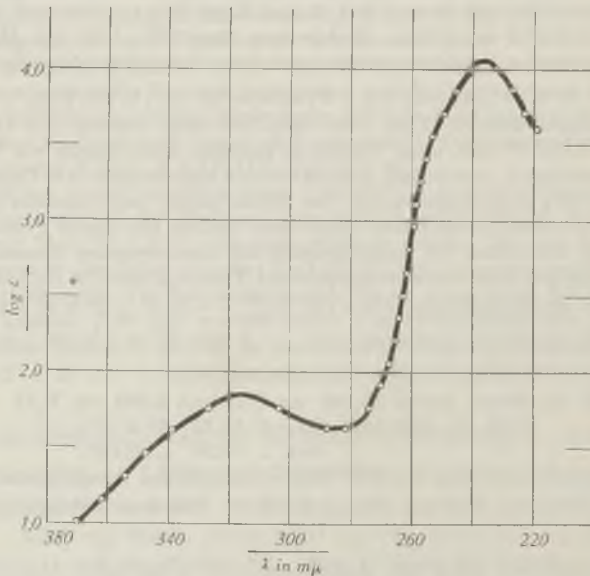


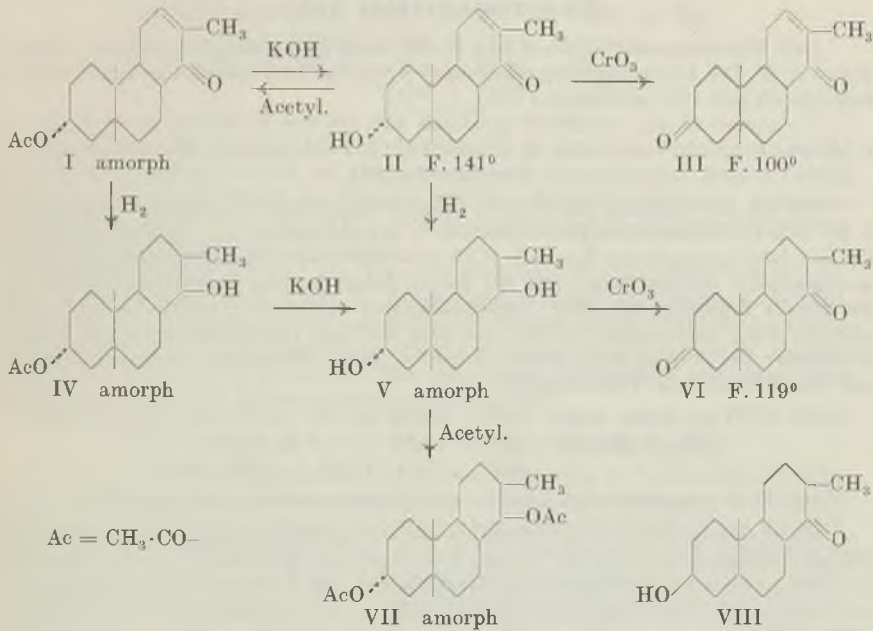
Fig. 1.

II ( $C_{16}H_{24}O_2$ ) in Alkohol

<sup>1)</sup> 71. Mitteilung vgl. H. Reich, Helv. 28, 863 (1945).

<sup>2)</sup> H. Reich, T. Reichstein, Helv. 26, 2102 (1943); 28, 863 (1945).

gruppe hinweist, und da der Stoff bei der Trennung mit *Girard's* Reagens ausschliesslich aus den „ketonfreien“ Anteilen isoliert wird, muss man annehmen, dass die Ketogruppe sterisch stark gehindert ist. Dementsprechend reagiert sie auch nicht mit Semicarbazid-acetat in der Kälte. Auf Grund dieser Befunde kommt dem neuen Stoff vermutlich die Formel (II) zu, die auch mit den im folgenden beschriebenen Umwandlungen in bestem Einklang steht. Ein ähnlicher Stoff, das 2,13-Dimethyl-perhydro-phenanthrol-(7)-on-(1) (VIII) wurde früher durch oxydativen Abbau von  $\beta$ -Ergosterol gewonnen<sup>1</sup>).



Mit Hydroxylaminacetat liefert (II) ein Oxim, das jedoch nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Ebenso wenig krystallisierten das Acetat (I) und das Benzoat. Bei der Verseifung von (I) wurde das Keton (II) zurückerhalten. Dagegen lieferte (II) ein krystallisiertes Mono-dinitrobenzoat. Zur weiteren Strukturaufklärung wurde das amorphe Acetat (I) mit Platin in Eisessig hydriert, das amorphe Hydrierungsprodukt (IV) zu (V) verseift und dieses zum gesättigten Diketon (VI) oxydiert. Derselbe Stoff (VI) entstand auch durch Hydrierung von (II) und anschliessende Oxydation und wurde durch ein Mono-semicarbazon charakterisiert. Das Oxim von (VI) liess sich nicht krystallisieren. Das amorphe Diol (V) lieferte ein Acetat (VII) (?), das ebenfalls nicht krystallisierte, aber ein gut krystallisierendes Bis-dinitrobenzoat. Während das Acetat (I) von Chrom-

<sup>1</sup>) T. Achtermann, Z. physiol. Ch. 225, 141 (1934).



säure nicht angegriffen wird, geht (II) bei der Oxydation in ein ungesättigtes Diketon (III) über, aus dem sich ein Mono-semicarbazon gewinnen liess. Das Oxim von (III) zeigte einen Stickstoffgehalt, der zwischen dem eines Mono- und dem eines Dioxims lag. Ich glaube, dass damit die Konstitution von (II) weitgehend wahrscheinlich gemacht ist. Meines Wissens sind derartige Abbauprodukte mit 16 C-Atomen bei der Oxydation anderer Steroide ausser der des genannten  $\beta$ -Ergostenols bisher noch nicht aufgefunden worden.

### Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ . Die Analysensubstanzen wurden 1 Std. im Hochvakuum bei Temperaturen zwischen 50 und 100° getrocknet.)

2,13-Dimethyl-1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14-dodekahydro-phenanthrol-  
(7 $\alpha$ )-on-(1) (II).

Die bei der Trennung mit *Girard's* Reagens erhaltenen „ketonfreien“ Anteile (aus 2 kg Desoxycholsäure-methylester-diacetat)<sup>1)</sup> krystallisierten auf Zusatz von Äther. Die mit Äther gewaschenen Krystalle (1,15 g) wurden über 34,5 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol und mit Benzol-Äther eluierten Fraktionen lieferten alle die gleiche Substanz, die nach Umkrystallisieren aus Aceton-Hexan bei 141—142° schmolz. Nach Sublimation bei 0,04 mm und 160° und Umkrystallisieren aus Benzol-Petroläther 1:4 wurden feine Nadeln erhalten. Smp. unverändert. Tetranitromethan- und *Zimmermann'sche* Probe negativ.

3,642; 3,772 mg Subst. gaben 10,291; 10,655 mg CO<sub>2</sub> und 3,175; 3,262 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{16}H_{24}O_2$  (248,35) Ber. C 77,37 H 9,74%  
 Gef. „ 77,11; 77,09 „ 9,76; 9,68%

Das U. V.-Absorptionsspektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben.

Oxim. 40 mg (II) in 4 cm<sup>3</sup> Methanol mit 100 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 200 mg Natriumacetat in 0,4 cm<sup>3</sup> Wasser 3 Std. gekocht. Mit Wasser versetzt, Methanol im Vakuum entfernt und ausgeäthert. Ätherlösungen mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt liess sich nicht zur Krystallisation bringen. Stickstoffprobe positiv.

Semicarbazon. 51,5 mg (II) in 1 cm<sup>3</sup> Methanol mit der filtrierten Lösung von 100 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 150 mg Natriumacetat in 2 cm<sup>3</sup> Methanol 21 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Zugabe von Wasser Krystalle abgesaugt, gewaschen und getrocknet. Unverändertes Ausgangsmaterial vom Smp. 138—140°.

Mono-dinitrobenzoat. 20 mg (II) in 2 cm<sup>3</sup> abs. Benzol und 0,8 cm<sup>3</sup> Pyridin mit der Lösung von 150 mg 3,5-Dinitrobenzoyl-chlorid in 2 cm<sup>3</sup> abs. Benzol 10 Min. gekocht. Mit viel Äther verdünnt, filtriert, Filtrat gewaschen, getrocknet und abgedampft. Rückstand krystallisiert auf Zusatz von Äther: rechteckige Blättchen, die sich bei 100° in opake Tafeln vom Smp. 194° umwandeln. Nach Umkrystallisieren aus Aceton-Petroläther und Aceton-Methanol-Wasser 22,3 mg sehr feine Nadeln vom Smp. 193—194°. Die Substanz lässt sich im Hochvakuum bei 185° sublimieren.

3,798 mg Subst. gaben 8,687 mg CO<sub>2</sub> und 2,073 mg H<sub>2</sub>O  
 3,111 mg Subst. gaben 0,184 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (719 mm; 18°)  
 $C_{23}H_{26}O_7N_2$  (442,46) Ber. C 62,43 H 5,92 N 6,33%  
 Gef. „ 62,42 „ 6,11 „ 6,56%

<sup>1)</sup> H. Reich, T. Reichstein, Helv. 28, 863 (1945).

2,13-Dimethyl-1,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14-dodekahydro-phenanthrol-  
(7 $\alpha$ )-on-(1)-acetat (I) und -benzoat.

484 mg (II) mit 2 cm<sup>3</sup> Pyridin und 1 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid 4 Std. auf 70° erwärmt. Im Vakuum zur Trockne gedampft, Rückstand in Äther aufgenommen und Ätherlösung neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Rohprodukt über 18 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit 7mal je 100 cm<sup>3</sup> Petroläther wurden 0, 51, 60, 57, 29, 17, 21 mg Substanz eluiert. Es folgten mit 3mal je 100 cm<sup>3</sup> Benzol-Petroläther-Mischungen Mengen von 43, 51 und 69 mg. Die Fraktionen 11 und 12 (mit 50 und 100 cm<sup>3</sup> Benzol) lieferten 45 und 53 mg und die 13. mit 100 cm<sup>3</sup> Benzol-Äther 18 mg Substanz. Keine der 13 Fraktionen liess sich zur Krystallisation bringen. Eine Probe der 4. Fraktion (Petroläther) wurde analysiert.

3,818 mg Subst. gaben 10,250 mg CO<sub>2</sub> und 3,088 mg H<sub>2</sub>O

|   |              |         |
|---|--------------|---------|
| C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub> (290,39) | Ber. C 74,44 | H 9,03% |
| C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub> (332,42) | Ber. „ 72,26 | „ 8,49% |
|   | Gef. „ 73,26 | „ 9,05% |

Anscheinend handelt es sich um eine Mischung von Mono- und Diacetat.

Verseifung. 60 mg öliges Acetat (I) (Fraktion 3, siehe oben) mit 1 cm<sup>3</sup> 4-proz. methylalkohol. Kalilauge 18 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Braune Lösung mit Wasser versetzt, Methanol im Vakuum entfernt, Krystalle abgesaugt, gewaschen und getrocknet. Rohr Smp. 137—140°, nach Umkrystallisieren aus Benzol-Petroläther 140,5—141°; Mischprobe mit (II) ebenso.

Obige Krystalle in 0,5 cm<sup>3</sup> abs. Benzol und 0,1 cm<sup>3</sup> Pyridin gelöst, mit 0,1 cm<sup>3</sup> Benzoylchlorid versetzt, über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen und 1 Std. auf 75° erhitzt. Im Vakuum zur Trockne gedampft, Rückstand mit 1 cm<sup>3</sup> Methanol und 1 cm<sup>3</sup> Pyridin ½ Std. auf dem Wasserbad erhitzt, wieder zur Trockne gedampft, in Äther aufgenommen und neutral gewaschen. Die getrocknete Ätherlösung hinterliess einen Rückstand, der nicht zur Krystallisation zu bringen war.

2,13-Dimethyl-perhydro-phenanthren-dion-(1,7) (VI).

a) Aus (I). 57,9 mg öliges Acetat (I) (aus den Fraktionen 5—7, siehe oben) wurden in 3 cm<sup>3</sup> Eisessig mit 21 mg Platinoxid hydriert. Nach 2 Std. betrug die Wasserstoffaufnahme 13,45 cm<sup>3</sup> (ber. für den Katalysator 4,4 cm<sup>3</sup>, für 2 Mol H<sub>2</sub> 10,3, bzw. 9,0 cm<sup>3</sup>). Lösung vom Platin abfiltriert, Filtrat im Vakuum zur Trockne gedampft, Rückstand in Äther gelöst und Lösung neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. 55,1 mg Öl, das nicht krystallisierte (IV). Mit 1 cm<sup>3</sup> 4-proz. methylalkohol. Kalilauge 23 ½ Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Mit 0,3 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt, CO<sub>2</sub> eingeleitet, im Vakuum stark eingengt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Lösungen mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. 47 mg Öl, das nicht zur Krystallisation zu bringen war (V). In 0,62 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit 0,62 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt. Nach 1 Std. nochmals 0,62 cm<sup>3</sup>, nach 4 Std. noch 0,75 cm<sup>3</sup> Chromsäurelösung zugegeben. Nach 23 Std. wie üblich aufgearbeitet. Chromsäure nicht verbraucht; keine Säuren! Neutralprodukt 42,8 mg, krystallisiert beim Stehen mit Aceton. Krystalle und Mutterlauge über 650 mg Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Petroläther-Gemischen eluierten Fraktionen wurden vereinigt, bei 0,02 mm und 130° sublimiert und aus Methanol-Wasser umkrystallisiert. Feine Nadeln vom Smp. 119,5—121° (Analyse siehe unter b)).

Oxim. 21,4 mg (VI) (Rohprodukt) in 2 cm<sup>3</sup> Methanol mit der Lösung von 50 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 100 mg Natriumacetat in 0,2 cm<sup>3</sup> Wasser 3 Std. gekocht. Aufarbeitung wie bei dem Oxim von (II). Das Rohprodukt liess sich nicht krystallisieren.

b) Aus (II). 205 mg (II) (bei 0,005 mm und 150° sublimiert) wurden mit 36,1 mg Platinoxid in 6 cm<sup>3</sup> Eisessig hydriert. Nach knapp 4 Std. betrug die Wasserstoffaufnahme 49,15 cm<sup>3</sup> (berechnet für den Katalysator 7,5 cm<sup>3</sup>, für 2 Mol H<sub>2</sub> 42 cm<sup>3</sup>). Lösung vom Platin abfiltriert, im Vakuum zur Trockne gedampft, Rückstand in Äther gelöst, Lösung neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Rohprodukt 208 mg, nicht krystallisiert

(V). (Acetat und Bis-dinitrobenzoat siehe weiter unten!). 184,3 mg (V) zur Nachverseifung mit 3 cm<sup>3</sup> 4-proz. methylalkohol. Kalilauge und 6 cm<sup>3</sup> Methanol 14 Std. stehen gelassen. Aufarbeitung wie unter a). 182,5 mg nachverseiftes Produkt. 72,5 mg davon in 1 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit 1 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt. Nach 3 Std. noch 1 cm<sup>3</sup> Chromsäurelösung zugegeben, nach 21 Std. wie üblich aufgearbeitet. Da alle Chromsäure aufgebraucht war, wurde mit 1 cm<sup>3</sup> Eisessig und 1 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung nachoxydiert (18 Std. Zimmertemperatur). Rohprodukt 54,2 mg, kristallisiert spontan. Zur Reinigung über 1,6 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Petroläther-Gemischen eluierten Fraktionen wurden zusammen bei 0,02 mm und 120° sublimiert und aus verd. Methanol umkristallisiert. Feine Prismen vom Smp. 119—120,5°.

3,720 mg Subst. gaben 10,549 mg CO<sub>2</sub> und 3,259 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub> (248,35) Ber. C 77,37 H 9,74%

Gef. „ 77,39 „ 9,80%

Semicarbazon. 23,5 mg (VI) in 0,5 cm<sup>3</sup> Methanol mit der filtrierten Lösung von 50 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 75 mg Natriumacetat in 1 cm<sup>3</sup> Methanol 17 1/2 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Wasser zugegeben, Methanol im Vakuum entfernt, Krystalle abgesaugt, gewaschen und getrocknet. Nach Umkristallisieren aus Methanol Smp. 204—205° (Zers.).

3,058 mg Subst. gaben 0,382 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (718 mm; 21°)

C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub> (305,42) Ber. N 13,76 Gef. N 13,70%

### 2,13-Dimethyl-perhydro-phenanthren-diol-(1,7 $\alpha$ )-diacetat (VII) (?)

24,5 mg rohes Hydrierungsprodukt von (II) (siehe oben unter b)) wurden mit 1 cm<sup>3</sup> Pyridin und 0,5 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid 4 Std. auf 70° erwärmt. Das in üblicher Weise isolierte Rohprodukt (VII) (?) liess sich nicht zur Krystallisation bringen.

Bis-dinitrobenzoat von 2,13-Dimethyl-perhydro-phenanthren-diol-(1,7) (V).

76 mg nachverseiftes Hydrierungsprodukt von (II) (siehe oben unter b)) in 6 cm<sup>3</sup> abs. Benzol und 2,5 cm<sup>3</sup> Pyridin mit der Lösung von 450 mg 3,5-Dinitrobenzoyl-chlorid in 6 cm<sup>3</sup> abs. Benzol 10 Min. gekocht. Aufarbeitung wie beim Dinitrobenzoat von (II). Das Rohprodukt wurde aus Aceton und Aceton-Methanol umkristallisiert und lieferte prismatische Blättchen vom Smp. 277,5—279°, die sich im Hochvakuum nicht sublimieren liessen.

3,723 mg Subst. gaben 7,661 mg CO<sub>2</sub> und 1,567 mg H<sub>2</sub>O

2,926 mg Subst. gaben 0,236 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (21°; 717 mm)

C<sub>30</sub>H<sub>32</sub>O<sub>12</sub>N<sub>4</sub> (640,60) Ber. C 56,24 H 5,04 N 8,75%

Gef. „ 56,16 „ 4,71 „ 8,83%

### 2,13-Dimethyl-1,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14-dodekahydro-phenanthren-dion-(1,7) (III).

a) 100 mg (II) (bei 0,01 mm und 135° sublimiert) wurden in 1,34 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit 1,34 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt. Nach 15-stündigem Stehen wurde aufgearbeitet und das Rohprodukt noch zweimal genau gleich oxydiert (20 1/2 und 22 1/2 Std. Zimmertemperatur). Keine Säuren, Neutralprodukt 82 mg. Auf Zusatz von Petroläther Krystalle vom rohen Smp. 95—98,5°. Zur Reinigung wurden Krystalle und Mutterlauge über 2,5 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Das gesuchte Diketon (III) liess sich mit Benzol-Petroläther-Gemischen und Benzol eluieren und wurde aus Äther-Petroläther umkristallisiert. Nach Sublimation bei 0,02 mm und 120° und erneutem Umkristallisieren aus verd. Methanol wurden Prismen vom Smp. 100—101° erhalten.

3,634 mg Subst. gaben 10,378 mg CO<sub>2</sub> und 2,900 mg H<sub>2</sub>O

0,541 mg Subst. in 20,826 mg „Campherpräparat“ gaben  $\Delta = 4,1^{\circ}$

C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub> (246,34) Ber. C 78,01 H 9,00% Mol.-Gew. 246,3

Gef. „ 77,93 „ 8,93% „ „ 240,2



Oxim. 38,7 mg (III) in 3 cm<sup>3</sup> Methanol mit der Lösung von 75 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 150 mg Natriumacetat in 0,3 cm<sup>3</sup> Wasser 3 Std. gekocht. Nach Zusatz von Wasser und leichtem Einengen Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Smp. ca. 150° (Zers.). Nach Umkrystallisieren aus verd. Methanol wurde ein mikrokrySTALLINES Pulver vom Smp. 105—110° (Hydrat?) erhalten.

3,160 mg Subst. gaben 0,211 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (718 mm; 18°)

C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>O<sub>2</sub>N (251,35) Ber. N 5,57%

C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub> (266,37) Ber. „ 10,52%

Gef. „ 7,40%

Der Analyse nach handelt es sich um ein Gemisch von Mono- und Dioxim.

b) 163 mg Acetat (I) wurden mit 36 mg Chromtrioxyd oxydiert, doch blieb die Lösung während 16 Std. braun gefärbt. Das Rohprodukt (145 mg) wurde dann mit 2,8 cm<sup>3</sup> 4-proz. methylalkohol. Kalilauge verseift (18 Std. Zimmertemperatur) und lieferte 117 mg rohes (II). 80,6 mg chromatographisch gereinigtes (II) wurden in 1,08 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit 1,08 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt. Nach 3½ Std. wurden nochmals 1,08 cm<sup>3</sup> Chromsäurelösung zugegeben. Nach weiteren 19 Std. lieferte die übliche Aufarbeitung und chromatographische Reinigung 41,1 mg Krystalle vom Smp. 99—100°.

Semicarbazon. 19,4 mg (III) in 0,5 cm<sup>3</sup> Methanol mit der filtrierten Lösung von 40 mg Semicarbazidhydrochlorid und 60 mg Natriumacetat in 1 cm<sup>3</sup> Methanol 18 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Wasser zugegeben und im Vakuum eingengt. Krystalle abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Nach Umkrystallisieren aus verd. Methanol mikrokrySTALLINES Pulver vom Smp. ca. 128° (bei langsamem Erhitzen).

2,227; 2,760 mg Subst. gaben 0,243; 0,304 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (732; 718 mm; 17°)

C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub> (303,40) Ber. N 13,85 Gef. N 12,37; 12,25%

Die Mikroanalysen, die Molekulargewichtsbestimmung und die Aufnahme des U.V.-Absorptionsspektrums wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule Zürich (Leitung W. Manser) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

#### 114. Dr. Dr. h. c. Gadiant Engi

(22. VI. 45.)

In den Abendstunden des 19. Mai ist Herr Dr. Gadiant Engi, der erste Vize-Präsident und frühere Delegierte des Verwaltungsrates der CIBA Aktiengesellschaft von schwerem Leiden erlöst worden. Sein Hinschied bedeutet nicht nur einen überaus schweren Verlust für das Unternehmen, dem er in 40-jähriger Tätigkeit seine beruflichen Fähigkeiten in reichstem Masse zur Verfügung gestellt hatte, sondern auch die schweizerische chemische Industrie und die gesamte schweizerische Wirtschaft haben eine bedeutende Persönlichkeit verloren. Die schweizerischen Hochschulen beklagen den Verlust eines aufrichtigen Freundes und Gönners.

Der Werdegang Dr. Engi's soll nachstehend in aller Kürze in Erinnerung gerufen werden. Er wurde am 13. Dezember 1881 in der bündnerischen Kantonshauptstadt geboren. Seine Familie war in

Chur und Tschierschen heimatberechtigt. Nach dem Besuch der Churer Kantonsschule hat er an der Chemischen Abteilung des Eidg. Polytechnikums in den Jahren 1899–1903 studiert und seine Ausbildung an der Universität Genf in den Jahren 1903–04 durch die Doktorpromotion und eine Assistententätigkeit abgeschlossen. Die Professoren *C. Graebe* und *F. Ullmann* haben dem jungen Chemiker das Rüstzeug für seine erfolgreiche Tätigkeit als Forscher mit auf den Weg gegeben.

Am 15. September 1904 ist Dr. Engi in die Dienste der Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel eingetreten, er hat diesem Unternehmen während 40 Jahren die Treue gehalten und ihm sein Bestes gegeben. In den ersten Jahren entfaltete er eine reiche erfinderische Tätigkeit auf dem Gebiete der indigoïden Küpenfarbstoffe, er hat dasselbe der schweizerischen Teerfarbenindustrie recht eigentlich erschlossen. In rascher Folge reihte sich Erfindung an Erfindung, eine stattliche Anzahl von bahnbrechenden Patenten legt Zeugnis ab von dieser fruchtbaren Tätigkeit. Die neu ausgearbeiteten Produkte kamen als CIBA-Farbstoffe auf den Markt und haben den Namen der Basler Gesellschaft in den kontinentalen und überseeischen Absatzgebieten zu vermehrter Geltung gebracht.

Im Zusammenhang mit dieser erfinderischen Tätigkeit wurden Dr. Engi die Patentfragen der Firma anvertraut und damit wuchs er mehr und mehr hinein in die wissenschaftliche Betreuung der übrigen Arbeitsgebiete, wobei seine geistige Beweglichkeit, sein gesunder Optimismus, sein unermüdlicher Arbeitswille und seine seltene Verantwortungsfreude eine bedeutende Ernte einbringen konnten.

Seine Verdienste fanden die Anerkennung der Geschäftsleitung und der Verwaltung, im Jahre 1914 wurde er zum Prokuristen, 1916 zum Vize-Direktor und 1918 zum Direktor ernannt.

Mit den Jahren weitete sich der Aufgabenkreis. Neben der Leitung der wissenschaftlichen Abteilungen musste Dr. Engi auch die Oberleitung der technischen Betriebe der schweizerischen Werke der CIBA in Basel, Kleinhüningen und Monthey, sowie der Auslandswerke in St. Fons (Frankreich) und Pabianice (Polen) übernehmen. An der technischen Entwicklung der Gemeinschaftswerke der Basler Interessengemeinschaft (*Ciba, Geigy, Sandoz*) in Clayton (England), Cincinnati (U.S.A.) und Seriate (Italien) hat er massgebende und bleibende Verdienste erworben.

Diese an Erfolgen reiche Entwicklung gipfelte in der Ernennung Dr. Engi's zu einem Delegierten des Verwaltungsrates im Jahre 1924 und vier Jahre später zu dessen Vize-Präsidenten.

Die hervorragenden Dienste, die Dr. Engi innerhalb und ausserhalb seines eigentlichen Wirkungskreises der Wissenschaft, Technik und Volkswirtschaft zuteil werden liess, erfuhren durch eine Reihe

von Ehrungen besondere Auszeichnungen. So wurde er 1929 zum Doktor der technischen Wissenschaften ehrenhalber der Eidg. Technischen Hochschule und 1931 zum Dr. phil. honoris causa der Universität Basel ernannt.

Er wurde Ehrenmitglied der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft, der Society of Chemical Industry in London und der Société de Chimie Industrielle in Paris. Vom Internationalen Verein der Chemiker-Koloristen wurde ihm die goldene Medaille verliehen.

In steigendem Masse wurde Dr. Engi als bedeutender Industrieller und Wirtschaftsführer anerkannt und zur Mitarbeit von verschiedenen Gesellschaften und Institutionen herangezogen. Während einer Reihe von Jahren präsidierte er die Schweizerische Gesellschaft für Chemische Industrie, den Verband Basler Chemischer Industrieller und den Basler Volkswirtschaftsbund. In der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft wirkte er von 1918–1944 als Schatzmeister. Er war ferner Mitglied des Conseil de la Chimie Suisse, des Stiftungsrates der Eidg. Volkswirtschaftsstiftung zur Förderung schweizerischer Volkswirtschaft durch wissenschaftliche Forschung, des Kuratoriums des Jubiläumsfonds der E.T.H. 1930, der Gesellschaft zur Förderung der Forschung auf dem Gebiete der Technischen Physik an der E.T.H., der Gesellschaft zur Förderung des betriebswissenschaftlichen Instituts an der E.T.H. und der beratenden Kommission der Eidg. Materialprüfungs- und Versuchsanstalt.

Gekrönt wurden seine Bemühungen um die Förderung der wissenschaftlichen Institute an der E.T.H. durch die 1942 erfolgte Wahl zum Mitglied des Schweizerischen Schulrates, der obersten Leitung der Eidg. Technischen Hochschule. Die bedeutende und verdienstvolle Gesellschaft ehemaliger Studierender an der E.T.H. hatte Dr. Engi in ihren Ausschuss berufen.

Auch um die Organisation der industriellen Kriegswirtschaft hat sich Dr. Engi Verdienste erworben, er hat bis 1944 die Gruppe II der Sektion für Chemie und Pharmazeutika des Kriegs-, Industrie- und Arbeits-Amtes mit grosser Sachkenntnis und Gewissenhaftigkeit geleitet.

Den sozialen Problemen hat Dr. Engi das grösste Verständnis entgegengebracht, es sei an seine verdienstvolle Tätigkeit im Verwaltungsrat der SUVA und als Vorstandsmitglied des Zentralverbandes schweiz. Arbeitgeber-Organisationen erinnert.

Die Schweizerische Handelskammer hat es sich nicht entgehen lassen, sich die Kenntnisse und Erfahrungen Dr. Engi's durch die 1929 erfolgte Aufnahme in ihr Gremium zu sichern.

Ausserdem stellte Dr. Engi seine Mitarbeit den Verwaltungsräten verschiedener Firmen der chemischen Industrie im In- und Ausland, in denen Interessen der CIBA vertreten waren, zur Verfügung, wie auch eine Reihe von schweizerischen Industrie-Unter-



nehmungen an ihn herantraten, um sich seine Mitwirkung in ihren Verwaltungsräten zu sichern. Diese Mandate bedeuteten für ihn nicht nur eine Auszeichnung, sondern eine ernste Verpflichtung, die ihn das entgegengebrachte Vertrauen durch aktive Mitarbeit vergelten liess.

Die Erfüllung der vielgestaltigen Aufgaben war nur möglich unter äusserster Konzentration all seiner Kräfte, die ihm bis vor wenigen Jahren in reichstem Masse dienstbar waren. Seine glücklichen Anlagen machten auf seine Mitarbeiter und Untergebenen, aber auch auf Fernstehende einen nachhaltigen Eindruck. Die volle Hingabe an die übernommenen Aufgaben und Pflichten war Vorbild für seine Mitarbeiter, die es diesen möglich machte, mit bescheideneren Kräften ihr Bestes zu geben. Dr. Engi hat es verstanden, im Unternehmen eine Atmosphäre der Arbeitsfreude und der vertrauensvollen Zusammenarbeit auf wissenschaftlichem und technischem Gebiete zu schaffen, die es ermöglichte, manch schwieriges Problem zu einem erfolgreichen Ende zu führen.

Die freundliche, korrekte und versöhnliche Eigenart Dr. Engi's liess ihn den Weg zu jedem Charakter finden und bedeutete eine grosse Erleichterung im gegenseitigen Verkehr. Er war jeder wohlbegründeten Ansicht zugänglich und hat jedem berechtigten Anliegen sein Interesse entgegengebracht. Jedermann erkannte bald, dass man es nicht nur mit einem nüchternen und rechnenden Geschäftsmanne zu tun hatte, sondern mit einem gütigen und wohlwollenden Menschen, der immer Zeit fand, sich um das persönliche Ergehen des Einzelnen in geradezu freundschaftlicher Weise zu kümmern. Diese menschliche Seite hat ihm viel dankbare Sympathien geschaffen, die über seinen Tod hinaus das gute Andenken wach zu halten vermögen.

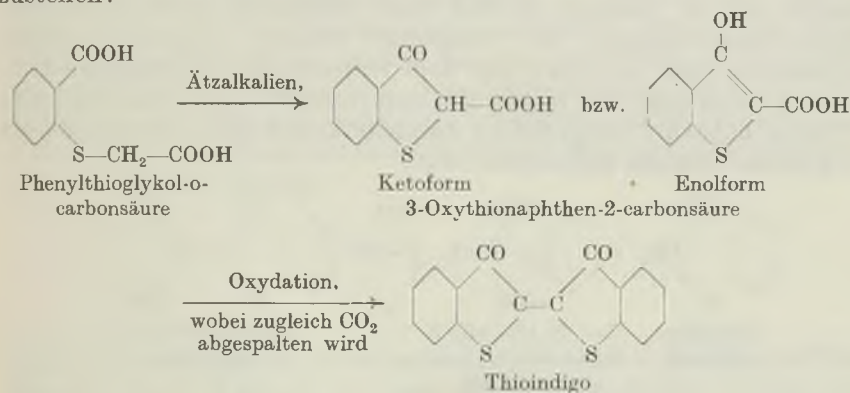
Es konnte nicht ausbleiben, dass das Übermass von Arbeit und Verpflichtungen die Kräfte Dr. Engi's verbrauchten, und mit tiefem Bedauern hat es seine Umgebung erlebt, wie er durch fortschreitende Krankheit mehr und mehr behindert wurde. Betrübten Herzens ist er im vergangenen Jahr von der aktiven Geschäftsleitung und von einer Reihe der übernommenen Verpflichtungen zurückgetreten. Trotz grösster Schonung und aufopferndster Pflege hat sich das Schicksal nicht mehr aufhalten lassen, und so ist er am Pfingstsamstag allzu früh dahingegangen. Seine Persönlichkeit wurde an der Abdankung in der Kirche in Reihen von verschiedenen Rednern in schönster Weise gewürdigt, bevor seine irdische Hülle im Riehener Friedhof zur letzten Ruhe bestattet wurde. Allen, die Dr. Engi kannten und schätzten, wird er unvergesslich bleiben durch das Licht, das von seiner Persönlichkeit ausstrahlte.

*M. Isler.*

## 115. Die wissenschaftlichen Arbeiten Dr. Engi's.

(22. VI. 45.)

Dr. Engi's Initiative zeigte sich schon kurz nach seinem Eintritt in die CIBA: Als 23-jähriger Chemiker schlug er im Jahre 1905 der Geschäftsleitung die Bearbeitung des Gebietes der Küpenfarbstoffe vor. Dies geschah unter dem unmittelbaren Eindruck der Arbeiten von *Friedländer*, dem es im gleichen Jahre gelungen war, ausgehend von der Phenylthioglykol-o-carbonsäure durch Einwirkung von Ätzalkalien und Oxydation der dabei gebildeten 3-Oxythionaphthen-2-carbonsäure, den Thioindigo nach folgendem Reaktionsschema herzustellen:

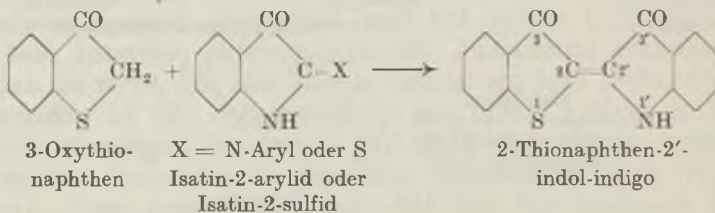


Schon die ersten Versuche führten Dr. Engi zum Erfolg. Er erhitzte Phenylthioglykol-o-carbonsäure in Gegenwart aromatischer Nitrokohlenwasserstoffe und gelangte dabei ohne Trennung der Kondensations- und Oxydationsreaktion, also in einer Stufe, zum Thioindigo<sup>1)</sup>, was eine wesentliche Vereinfachung gegenüber dem zwei-stufigen Verfahren von *Friedländer* bedeutete. Bei der hohen Reaktionstemperatur hatte sich unter Wasser- und Kohlendioxydabspaltung 3-Oxythionaphthen (Thioindoxyl) gebildet, das durch den aromatischen Nitrokohlenwasserstoff zum Farbstoff oxydiert worden war. Damit hatte Dr. Engi ein neues und elegantes Verfahren zur Herstellung des *Friedländer'schen* Thioindigo gefunden. Dieser Farbstoff wurde von der CIBA unter der Bezeichnung Cibarosa B in den Handel gebracht. Das neue Verfahren war allgemeiner Anwendung fähig; so führte es beispielsweise bei Verwendung von 5-Chlor-1-phenylthioglykol-2-carbonsäure als Ausgangsprodukt zu dem 6,6'-Dichlor-thioindigo, einem echten rosafärbenden Farbstoffe,

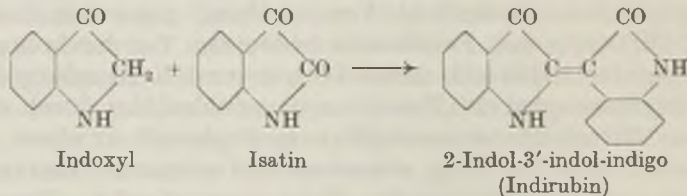
<sup>1)</sup> D.R.P. 187 586.

der die Bezeichnung Cibarot B erhielt. Wenn dabei auch etwas geringere Farbstoffausbeuten erhalten wurden als bei dem durch obiges Reaktionsschema erläuterten Verfahren von *Friedländer*, so war die neue Synthese für die CIBA doch von grosser Bedeutung; denn mit einem Schlage wurde ihr das Gebiet der Farbstoffe der Thioindigoreihe eröffnet.

Kurze Zeit darauf folgte eine grundlegende Erfindung Dr. Engi's. Phenylthioglykol-o-carbonsäure wurde in molekularem Verhältnis mit gewissen Isatinderivaten, wie z. B. Isatin-2-arylid oder Isatin-2-sulfiden, in Gegenwart von aromatischen Nitrokohlenwasserstoffen erhitzt, wobei sich ein vom Thioindigo abweichender blauer Farbstoff bildete. Das gleiche Produkt liess sich auch durch Kondensation von 3-Oxythionaphthen mit Isatin-2-arylid und Isatin-2-sulfiden erhalten<sup>1)</sup>. Bei der Verwendung von Phenylthioglykol-o-carbonsäure musste also in Analogie zu dem oben erwähnten neuen Engi'schen Herstellungsverfahren für Thioindigo vorerst 3-Oxythionaphthen entstanden sein, das dann mit dem Isatinderivat in Reaktion trat. Die Untersuchung des neuen Küpenfarbstoffes ergab, dass er einen 2-Thionaphthen-2'-indol-indigo darstellt und dementsprechend nach folgendem Schema entstanden war:



Ein derartiger Reaktionsverlauf konnte nicht ohne weiteres erwartet werden. Aus den Arbeiten *Adolf von Baeyer's* ging nämlich hervor, dass sich bei der Kondensation von Indoxyl mit Isatin das Indirubin nach folgendem Schema bildet:



Bei dieser Kondensation beteiligt sich also die in 3-Stellung befindende Carbonylgruppe des Isatins an der Reaktion.

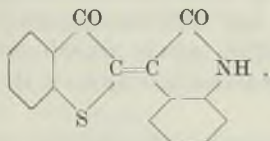
Trotzdem der 2-Thionaphthen-2'-indol-indigo wegen seiner ungenügenden Affinität zur Faser kaum technisches Interesse beanspruchen konnte, war die von Dr. Engi beobachtete Reaktion doch

<sup>1)</sup> D.R.P. 190 292, 190 293.

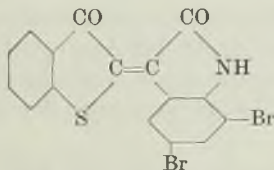


von grosser Bedeutung; denn einerseits bildete der 2-Thionaphthen-2'-indol-indigo, wie weiter unten gezeigt werden wird, das Ausgangsprodukt für wertvolle neue Farbstoffe, und andererseits war das neue Verfahren durch seine allgemeine Anwendungsmöglichkeit eine überaus wichtige Grundlage für die spätere Entwicklung des Gebietes der indigoiden Küpenfarbstoffe. Noch heute ist man in weitaus den meisten Fällen auf dieses Verfahren angewiesen, wenn man sich die Herstellung asymmetrischer indigoider Küpenfarbstoffe der 2,2'-Reihe zur Aufgabe stellt; zahlreiche wichtige Handelsfarbstoffe verdanken dieser Reaktion ihr Dasein.

Von grosser Wichtigkeit war die von Dr. Engi im Anschluss an die Darstellung des 2-Thionaphthen-2'-indol-indigo gemachte Beobachtung, dass durch Einführung von Halogenen in Küpenfarbstoffe der thioindigoiden Reihe oft erhebliche Änderungen im Farbton erzielt und die übrigen Eigenschaften, besonders die Affinität zur pflanzlichen Faser und die Waschechtheit, verbessert werden. Die Halogenierung geschah in der Weise, dass die Farbstoffe in Gegenwart von indifferenten Lösungs- bzw. Suspensionsmitteln, wie z. B. Nitrobenzol oder Eisessig, mit Halogenen behandelt wurden. Vorerst halogenierte Dr. Engi das Kondensationsprodukt aus 3-Oxythionaphthen und Isatin<sup>1)</sup> der Formel



einen Farbstoff, der von *Friedländer* gefunden und dessen Herstellung von der Firma *Kalle & Cie.* zum Patent angemeldet worden war. *Kalle* brachte den 2-Thionaphthen-3'-indol-indigo unter der Bezeichnung Thioindigoscharlach in den Handel. Bei der Einwirkung von Brom auf den 2-Thionaphthen-3'-indol-indigo erhielt Dr. Engi einen wertvollen gelbstichigen roten Küpenfarbstoff von sehr guten Echtheitseigenschaften. Der gleiche Farbstoff bildete sich auch durch Kondensation von 3-Oxythionaphthen mit 5,7-Dibromisatin<sup>2)</sup>, sodass dessen Konstitution als diejenige eines 5,7-Dibrom-3-indol-2'-thionaphthen-indigos der Formel



bewiesen war. Der derart hergestellte Farbstoff wurde unter dem Namen *Cibarot G* in den Handel gebracht.

<sup>1)</sup> D.R.P. 191 097.

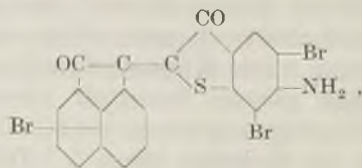
<sup>2)</sup> F.P. 9288, Zusatz zu F.P. 372 627.

Die Übertragung des beim 2-Thionaphthen-3'-indol-indigo angewendeten Halogenierungsverfahrens auf den bereits beschriebenen, wohl theoretisch interessanten, praktisch aber unbedeutenden 2-Thionaphthen-2'-indol-indigo, wobei verschiedene Mengen Brom zur Anwendung kamen, erwies sich als sehr fruchtbar<sup>1)</sup>. Es wurden gleich drei neue Küpenfarbstoffe erhalten, die sich lediglich durch den Gehalt an Halogen voneinander unterscheiden. Sie zeichnen sich gegenüber dem Ausgangsprodukte durch einen anderen Farbton, verbesserte Echtheiten sowie insbesondere durch bedeutend gesteigerte Affinität zur Faser aus. Das monobromierte Produkt, der 5-Brom-2-indol-2'-thionaphthen-indigo, ist ein Grau, während der 5,5'-Dibrom-2-indol-2'-thionaphthen-indigo sowie der 5,5',7-Tribrom-2-indol-2'-thionaphthen-indigo in violetten Tönen färben.

Diese drei Farbstoffe wurden unter den Bezeichnungen Cibagrau G, Cibaviolett 3B und Cibaviolett B wertvolle Handelsprodukte. Die Konstitutionen und insbesondere auch die Eintrittsstelle der Bromatome konnten später durch Synthese dieser Farbstoffe aus den entsprechenden bromierten Komponenten nach dem grundlegenden Engi'schen Verfahren zur Herstellung von 2-Thionaphthen-2'-indol-indigo sichergestellt werden.

Die Einführung von Brom in Thioindigo<sup>2)</sup> ergab als besonders wertvolles Produkt den 5,5'-Dibromthioindigo, der sich durch seinen klaren bordeauxroten Ton sowie durch sehr gute Waschechtheit auszeichnet und der als Cibabordeaux B in den Handel gebracht wurde.

Die Halogenierung und insbesondere Bromierung des Kondensationsproduktes aus Acenaphthenchinon und 6-Aminothioindoxyl bzw. 6-Aminothioindoxyl-carbonsäure<sup>3)</sup> führte zu einem orangen Farbstoff der Formel



der die Bezeichnung Cibaorange G erhielt. Der Farbstoff weist neben allgemein guten Echtheiten insbesondere auch eine sehr befriedigende Chlorechtheit auf, trotz der Anwesenheit einer Aminogruppe; der die Chlorunechtheit bedingende basische Charakter dieser Aminogruppe erfährt durch die Nachbarschaft der beiden Bromatome eine starke Abschwächung.

Die vorzüglichen Resultate, die Dr. Engi bei der Halogenierung der Küpenfarbstoffe der thioindigoiden Reihe erzielt hatte, führten

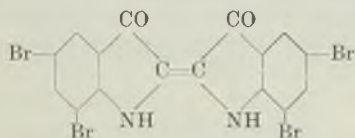
<sup>1)</sup> D.R.P. 191 098.

<sup>2)</sup> D.R.P. 225 132, 230 308.

<sup>3)</sup> F.P. 14 590, Zusatz zu F.P. 372 627.

ihn dazu, nach weiterer Auswertung seines Halogenierungsverfahrens zu suchen. Dabei zog er in erster Linie den Indigo selbst, sowie gewisse seiner Derivate in den Kreis der Untersuchungen, trotzdem bereits bekannt war, in Indigo nach einer Reihe von Methoden Halogen einzuführen; es waren dabei bereits Mono- und Dibromindigo erhalten worden, die wohl gewisse bessere Eigenschaften gegenüber dem Indigo aufweisen, aber nie zu grösserer Bedeutung gelangten. Dr. Engi's Optimismus sollte Recht behalten. Als er auf Indigo Brom in Gegenwart von aromatischen Nitrokohlenwasserstoffen als Suspensions- bzw. Lösungsmittel einwirken liess<sup>1)</sup>, bildeten sich in glatter Reaktion neue Bromsubstitutionsprodukte des Indigos. Je nach der Menge des verwendeten Broms und je nach den Reaktionsbedingungen entstanden in quantitativer Ausbeute und zugleich in grosser Reinheit Tri- sowie Tetrabromindigo, zwei Farbstoffe, die gegenüber dem Indigo und seinen bisher bekannten Mono- und Dibromderivaten überraschende und wesentliche Vorteile aufweisen. Besonders der tetrabromierte Indigo ist ein Farbstoff von grösstem Werte; er zeigt eine sehr gute Affinität zur Faser, bedeutend bessere Wasch-, Chlor- und Lichtechtheit sowie einen viel schöneren, leuchtenderen Farbton. Der Tribromindigo erhielt den Namen Cibablau B, während der Tetrabromindigo unter der Bezeichnung Cibablau 2B in den Handel gebracht wurde. Das Cibablau 2B war nicht nur damals das wichtigste Derivat des Indigos, sondern ist noch heute, also bald vierzig Jahre nach seiner Erfindung, einer der wichtigsten blauen Farbstoffe überhaupt.

Die Konstitution des Cibablau 2B wie auch anderer bromierter Indigos wurde einerseits von *Grandmougin* sowie andererseits von der CIBA ermittelt, und zwar durch oxydativen Abbau; dabei bildet sich z. B. aus dem Cibablau 2B das damals schon bekannte 5,7-Dibromisatin, sodass sich für diesen Farbstoff die Formel eines 5,5',7,7'-Tetrabromindigos



ergibt.

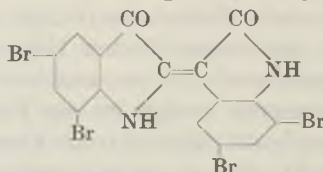
Die ausserordentlichen Erfolge, zu denen die Bromierung von Indigo führte, veranlassten Dr. Engi, auf ähnlichem Wege Mono- und Polychlorindigos, sowie die verschiedensten Chlorbromderivate, wie Dibrom-monochlor-, Tribrom-monochlor-, Monobrom-dichlor- und Dibrom-dichlorindigo herzustellen<sup>2)</sup>; die erhaltenen Produkte zeigen jedoch gegenüber dem 5,5',7-Tribromindigo und dem 5,5',7,7'-Tetrabromindigo keine besonderen Vorteile.

<sup>1)</sup> D.R.P. 193 438.

<sup>2)</sup> D.R.P. 193 971, 195 085, 198 816, 208 471, 209 078, 215 747.

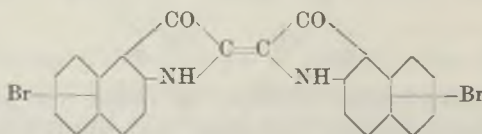


Das Engi'sche Bromierungsverfahren ergab aber nicht nur bei seiner Anwendung auf den Indigo vorzügliche Resultate, sondern es führte auch bei der Übertragung auf gewisse seiner Derivate zu interessanten Ergebnissen. Bei der Einwirkung von Brom auf das technisch wertlose Indirubin traten je nach den Versuchsbedingungen 2 bis 4 Atome Brom in die Molekel ein, sodass Di-, Tri- und Tetrabromindirubine erhalten wurden<sup>1)</sup>; von diesen Polybromindirubinen zeichnet sich namentlich das Tetrabromderivat, das unter dem Namen Cibaheliotrop B in den Handel gebracht wurde, durch seinen Farbton sowie seine sehr guten Echtheitseigenschaften aus. Der gleiche Farbstoff konnte auch durch Kondensation von 5,7-Dibromindoxyl bzw. 5,7-Dibromindoxyl-2-carbonsäure mit 5,7-Dibromisatin erhalten werden<sup>2)</sup>, sodass dem Cibaheliotrop B die folgende Formel zukommt:

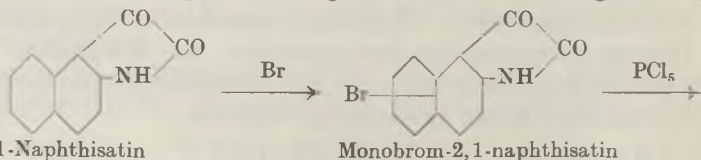


Die Halogenierung bzw. die Bromierung des 6,6'-Diaminoindigos<sup>3)</sup> führte zu einem braunen Küpenfarbstoff von guten Echtheiten. Er stellt ein Gemisch von 5,5',7-Tribrom-6,6'-diaminoindigo mit 5,5',7,7'-Tetrabrom-6,6'-diaminoindigo dar und kam als Cibabraun R in den Handel. Ähnlich wie das Cibaorange G weist auch dieser Farbstoff eine befriedigende Chlorechtheit auf, da auch hier der basische Charakter der beiden Aminogruppen durch die Nachbarschaft der Bromatome abgeschwächt wird.

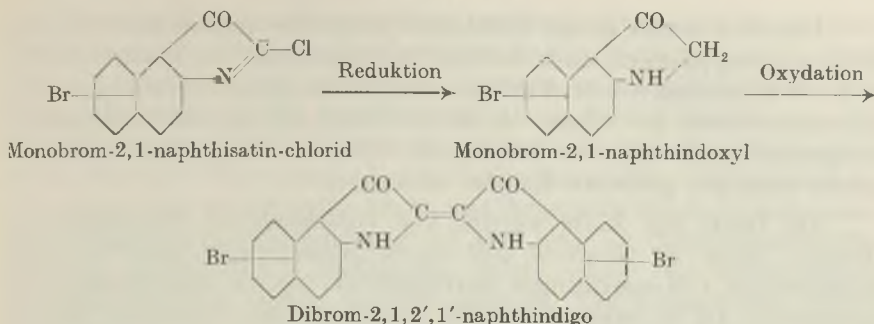
In diesem Zusammenhang soll auch die Herstellung des ersten echten, grünen Küpenfarbstoffes, des Cibagrün G, erwähnt werden. Cibagrün G ist ein Dibromderivat des 2,1,2',1'-Naphthindigos; es zeigt im Gegensatz zu dem halogenfreien Produkte eine sehr gute Affinität zur pflanzlichen Faser. Der Farbstoff, der übrigens auch durch Bromierung des 2,1,2',1'-Naphthindigos erhältlich ist, besitzt die Formel



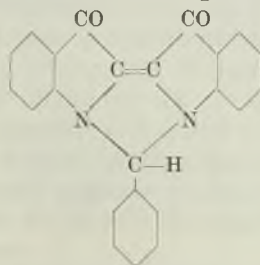
und wurde von Dr. Engi nach folgendem Schema dargestellt<sup>4)</sup>:



<sup>1)</sup> D.R.P. 192 682.    <sup>2)</sup> D.R.P. 203 437.    <sup>3)</sup> D.R.P. 221 531.    <sup>4)</sup> D.R.P. 193 970.



Ebenfalls auf dem Gebiete der indigoiden Farbstoffe und doch in einer wesentlich anderen Richtung als die bisherigen Erfindungen liegen die sowohl vom rein wissenschaftlichen als auch vom technischen Gesichtspunkte aus interessanten Forschungen, die Dr. Engi mit seinem Mitarbeiter Dr. *Fröhlich* durchführte. Sie liessen auf Indigo und dessen Halogenderivate aromatische Säurehalogenide oder ähnlich wirkende Produkte in Gegenwart von Katalysatoren sowie gewissen Lösungsmitteln einwirken<sup>1)</sup>. Als aromatisches Säurehalogenid kam insbesondere Benzoylchlorid, als Katalysator Kupfer und als Lösungsmittel Nitrobenzol zur Anwendung, wenn auch nach den Angaben der Patentschrift statt Benzoylchlorid Benzotrichlorid, statt Kupfer beispielsweise Kobalt, Nickel, Quecksilber sowie Metallsalze und statt Nitrobenzol verschiedene andere Lösungsmittel verwendet werden können. Ausgehend vom Indigo führte dieses Verfahren zu einem rein gelb färbenden Küpenfarbstoff, ein Resultat, das umsomehr überraschen musste, als bereits bekannt war, dass bei der Einwirkung von Benzoylchlorid auf Indigo ohne Mitverwendung von Katalysatoren ein nicht verküpfbares braunes Produkt sich bildet. Dieser Körper ist chlorhaltig, während sich der neue Küpenfarbstoff als chlorfrei erwies. Die Art und Weise der Entstehung des gelben Küpenfarbstoffes, der die Bezeichnung Indigogelb 3G erhielt, ist bis heute nicht aufgeklärt und dementsprechend auch die Konstitution dieses Farbstoffes noch nicht bekannt. Die Analyse sowie die Molekulargewichtsbestimmung führten Dr. Engi dazu, dem Indigogelb 3G die folgende Formel zu geben:



<sup>1)</sup> D.R.P. 259 145.

Daneben wurde in der CIBA aber auch eine andere Konstitution in Erwägung gezogen, nach der das Indigogelb 3 G ein Anthrachinon-derivat darstellen würde. Für diese Annahme sprach insbesondere die intensive Farbe der Küpe, die in der Regel für die anthrachinoiden Küpenfarbstoffe charakteristisch ist, während die indigoiden Farbstoffe schwach gefärbte Küpen aufweisen.

Im Laufe der Jahre wurden von verschiedenen Forschern, wie *Posner, Hope, de Diesbach* und deren Mitarbeitern zum Teil sehr ausgedehnte Untersuchungen durchgeführt, um die Konstitution des Indigogelb 3 G zu ergründen. Die dabei erzielten Resultate führten zur Diskussion verschiedener Formeln; keine erwies sich jedoch als haltbar, sodass als wesentliches Ergebnis dieser Forschungen lediglich festzuhalten ist, dass das Indigogelb 3 G sicherlich kein einfaches Derivat des Indigos darstellt, sondern dass es der Klasse der anthrachinoiden Küpenfarbstoffe zugeteilt werden muss. Von grosser Bedeutung für diese Schlussfolgerung waren die Resultate der Untersuchungen *Posner's* beim oxydativen Abbau des Indigogelb 3 G; denn dabei erhielt er Phthalsäure, und damit war erwiesen, dass in der Molekel des Indigogelb 3 G ein Benzolkern mit zwei orthoständigen Kohlenstoffatomen in direkter Bindung stehen musste, eine Forderung, der die obige Formel nicht gerecht wird, die aber im Anthrachinon erfüllt ist.

Die Halogenierung und insbesondere Bromierung des Indigogelb 3 G nach dem von Dr. Engi bei indigoiden Farbstoffen allgemein angewendeten Verfahren<sup>1)</sup> ergab auch in diesem Falle günstige Resultate; sie führte zu dem Cibagelb G, einem Dibromderivat, das sich gegenüber dem Indigogelb 3 G durch einen röteren, kräftigeren Farbton und vor allem durch bessere Echtheiten auszeichnet.

Bei der Übertragung des grundlegenden Verfahrens zur Herstellung von Indigogelb 3 G auf den 2-Thionaphthen-2'-indol-indigo und dessen Halogenderivate<sup>2)</sup> wurden weitere neue Küpenfarbstoffe erhalten, die aber gegenüber den von Dr. Engi bereits gefundenen Farbstoffen keine besonderen Vorzüge aufweisen.

Eine eigenartige, ebenfalls nicht aufgeklärte Reaktion vollzog sich bei der Einwirkung gewisser Reduktionsmittel, wie Natriumhydrogensulfid oder Natriumdithionit, auf die halogenierten Farbstoffe der Indigogelbgruppe in Gegenwart geeigneter Verdünnungsmittel, wie Alkohol, und in Abwesenheit von Ätzalkalien<sup>3)</sup>. Unter diesen Bedingungen fand keine Überführung der Farbstoffe in die bekannten Leukoverbindungen statt, sondern es wurden neue Küpenfarbstoffe erhalten, die in echten orangen Tönen färben. Ein Vertreter dieser Farbstoffgruppe kam als Cibagelb 5 R in den Handel.

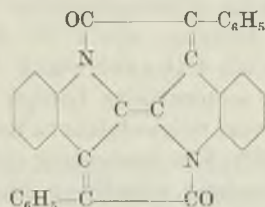
1) D.R.P. 246 837.

2) D.R.P. 270 334.

3) D.R.P. 257 973.



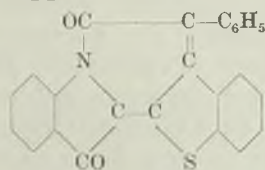
Weitere Erfolge stellten sich ein, als Dr. Engi das zur Herstellung von Indigogelb 3 G dienende Verfahren in der Weise abänderte, dass die aromatischen durch aromatisch-aliphatische Säurehalogenide, wie Phenylelessigsäurechlorid, ersetzt wurden und kein Katalysator mehr zur Anwendung kam<sup>1)</sup>. Überraschenderweise hatten die dabei erhaltenen Produkte den Charakter von Küpenfarbstoffen völlig verloren; auf Grund ihrer leuchtenden Farbe und ihrer teilweise hervorragenden Echtheitseigenschaften erwiesen sie sich aber als Pigmentfarbstoffe wertvoll. Einer dieser Farbstoffe wurde unter der Bezeichnung Lackrot B Ciba in den Handel gebracht. Die Konstitution dieser Farbstoffe und insbesondere des aus Indigo erhaltenen Lackrot B Ciba konnte aufgeklärt werden. Dr. Engi stellte fest, dass im Gegensatz zum Indigogelb 3 G, bei dessen Entstehung nach der von ihm angenommenen Formel ein Mol Indigo auf ein Mol Benzoylchlorid in Reaktion getreten war, das Lackrot B Ciba sich durch Einwirkung von zwei Mol Phenylelessigsäurechlorid auf ein Mol Indigo gebildet hatte, sodass dem Lackrot B Ciba die folgende Formel



zugeschrieben wurde. Die Richtigkeit dieser Formel konnte später von *Posner* bestätigt werden.

Die Halogenierung der Farbstoffe der Lackrot B Ciba-Gruppe<sup>2)</sup> bewirkte eine Verschiebung des Farbtones nach Blau; dabei wurde die auffallende Beobachtung gemacht, dass in Abweichung von den bisherigen Erfahrungen mit steigendem Halogengehalt die Lichtechtheit abnimmt.

Bei der Übertragung des Verfahrens zur Herstellung von Lackrot B Ciba auf die Farbstoffe der Gruppe des 2-Thionaphthen-2'-indol-indigos<sup>3)</sup> stellte Dr. Engi fest, dass ein Mol 2-Thionaphthen-2'-indol-indigo mit einem Mol Phenylelessigsäurehalogenid sich umsetzt und dass dabei wieder Küpenfarbstoffe entstehen. Für den einfachsten Vertreter dieser Gruppe konnte die folgende Formel

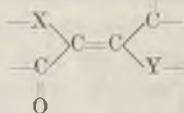


<sup>1)</sup> D.R.P. 260 243, 254 684.

<sup>2)</sup> D.R.P. 254 622.

<sup>3)</sup> D.R.P. 263 470.

festgelegt werden. Die Tatsache, dass dieser Farbstoff die typischen Eigenschaften eines Küpenfarbstoffes noch besitzt, erklärt sich daraus, dass wenigstens die eine der beiden im Ausgangsprodukt vorliegenden Carbonylgruppen vorhanden und die für indigoide Küpenfarbstoffe typische Gruppierung mit den konjugierten Doppelbindungen



erhalten geblieben ist.

Die Einwirkung von Säurehalogeniden auf Indigo und analoge Farbstoffe hatte, von technischen Gesichtspunkten aus betrachtet, insbesondere gelbe bis orange Küpenfarbstoffe zum Resultate; diese bildeten eine wertvolle Bereicherung der von Dr. Engi bereits gefundenen braunen, roten, violetten, grauen, blauen und grünen Küpenfarbstoffe. Noch fehlte aber ein Schwarz. Dieses Problem löste Dr. Engi dadurch, dass er einerseits alkaliunlösliche Kondensationsprodukte aus Naphthazarin und Aminien, wie z. B. Anilin und p-Phenylen-diamin, herstellte<sup>1)</sup>, die als Cibaschwarz G und R in den Handel kamen, und dass er andererseits Indigo bzw. indigoide Küpenfarbstoffe in Gegenwart von Schwefelsäure der Einwirkung von Oxydationsmitteln unterwarf<sup>2)</sup>. Ein besonders reines Schwarz wurde bei der Oxydation des Indirubins erhalten; dieses Schwarz erhielt die Bezeichnung Indigoschwarz B.

Wenn auch nach der Erfindung dieser zahlreichen Küpenfarbstoffe sowie der Ausarbeitung und Betriebseinführung der Herstellungsverfahren, die unter Mitwirkung verschiedener Mitarbeiter durchgeführt wurden, Dr. Engi's Betätigung im Laboratorium infolge der Übernahme anderer Aufgaben immer mehr eingeschränkt und schliesslich ganz aufgegeben werden musste, blieb doch seine Begeisterung für die Forschung erhalten. An bedeutenden Erfindungen, die im Laufe der Jahre aus den Laboratorien der CIBA hervorgegangen sind, hat Dr. Engi durch direkte oder indirekte Anregung massgebenden Anteil. In dieser Beziehung verdienen besondere Erwähnung Entwicklungsarbeiten auf dem Gebiete der komplexen Metallverbindungen, die u. a. zu der wertvollen Klasse der Neolanfarbstoffe führten. Dr. Engi war der eigentliche Schöpfer dieser Farbstoffklasse dadurch, dass er die Eignung der komplexen Chromverbindungen von lackbildende Gruppen enthaltenden Monoazofarbstoffen zum Färben der tierischen Faser<sup>3)</sup> erkannte. Mit der Schaffung der Neolanfarbstoffe wurde ein altes Problem der Wollfärberei weitgehend gelöst. Sie gestatten, Wolle aus saurem Bade ohne Nachbehandlung mit

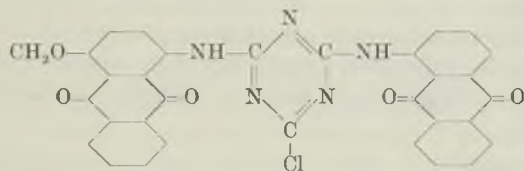
<sup>1)</sup> F.P. 464 464, 465 900.

<sup>2)</sup> D.R.P. 280 649.

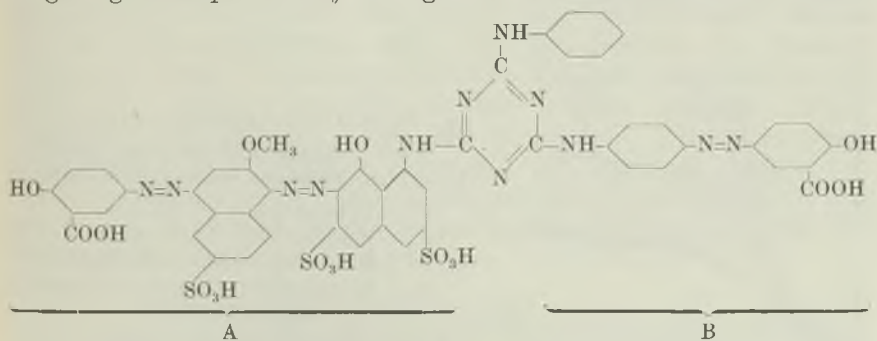
<sup>3)</sup> D.R.P. 416 379, A.P. 1 227 406.

Salzen der Chromsäure und damit unter grösster Schonung des Fasermaterials in sehr echten Tönen zu färben.

Weiter ist auf die durch Dr. Engi angeregte Verwendung von Cyanurhalogeniden zum Aufbau von Farbstoffen hinzuweisen. Mit den Cyanurhalogeniden hatte der Synthetiker Körper zur Verfügung, die ungezählte Möglichkeiten zum Aufbau neuer Farbstoffe boten; denn in den Cyanurhalogeniden können nicht nur alle drei Halogenatome mit dem gleichen, z. B. Aminogruppen enthaltenden Körper, in Reaktion gebracht werden, sondern es gelingt auch, die Umsetzung stufenweise vorzunehmen, sodass im Endresultat die einzelnen Halogenatome des Cyanurhalogenids durch unter sich verschiedene Reste von Aminen ersetzt sind. In Auswertung dieser Reaktion gelang es, die Klasse der Cibanonfarbstoffe durch wertvolle neue Küpenfarbstoffe zu bereichern. Als Beispiel für einen den Rest des Cyanurchlorids enthaltenden Cibanonfarbstoff sei das in orangen Tönen färbende Produkt der Formel



erwähnt, das durch Umsetzung von 1 Mol Cyanurchlorid mit 1 Mol 1-Amino-anthrachinon sowie 1 Mol 1-Amino-4-methoxy-anthrachinon entsteht. Die Verwendung der Cyanurhalogenide zur Herstellung von Farbstoffen hat auch in der Azoreihe, und zwar insbesondere bei den verschiedenen Gruppen der direkten Baumwollazofarbstoffe, wie z. B. bei den Chlorantinfarbstoffen, zu sehr schönen Erfolgen geführt. So gelang es beispielsweise, einen grünfärbenden Farbstoff der Formel



dadurch zu erhalten, dass der blaue Amino-azofarbstoff A mit Cyanurchlorid, das gebildete Produkt hierauf mit dem gelben Amino-azofarbstoff B kondensiert und dann das dritte Chloratom des Cyanurchlorids durch die Phenylaminogruppe ersetzt wurde.

R. Tobler.



### 116. Ein neuer Ausgleichs-Entwickler mit Pyrogallol

von Friedrich Bürki.

(22. VI. 45.)

Vor einiger Zeit habe ich einen Entwickler aus Pyrogallol, Kaliumpyrosulfit  $K_2S_2O_5$  (Kaliummetabisulfit) und Natriumhydroxyd beschrieben<sup>1)</sup>, der ein bemerkenswert hohes Ausgleichsvermögen besitzt. Auf meine Veranlassung untersuchte *Urs Ostwalt*<sup>2)</sup> die entwickelnden Eigenschaften von Lösungen, die nur Pyrogallol und Natriumsulfit, aber kein Alkali enthalten, und zeigte, dass man damit ein latentes Bild in 20 bis 30 Minuten herrufen kann. Die so erhaltenen Negative weisen nicht nur einen guten Ausgleich der Helligkeitsunterschiede auf, sondern besitzen auch ein auffallend feines Silberkorn.

Um die Entwicklungszeit abzukürzen, versuchte ich einen Zusatz von Trinatriumphosphat, dessen Rolle als Alkali in einer weiteren Arbeit<sup>3)</sup> von uns untersucht worden war. Folgende Vorschrift bewährte sich am besten:

| Lösung I              |                     | Lösung II                             |                     |
|-----------------------|---------------------|---------------------------------------|---------------------|
| Wasser . . . . .      | 100 cm <sup>3</sup> | Wasser . . . . .                      | 300 cm <sup>3</sup> |
| Pyrogallol . . . . .  | 6 g                 | Trinatriumphosphat (kryst.) . . . . . | 10 g                |
| $K_2S_2O_5$ . . . . . | 6 g                 |                                       | 10 g                |

Zum Gebrauch mischt man von Lösung I 10 cm<sup>3</sup>, von Lösung II 90 cm<sup>3</sup>  
Dauer der Entwicklung bei 18° zirka 6 Minuten.

Die ausgleichende Wirkung dieses Entwicklers wird durch die Gradationskurven (Figur 1) bewiesen.

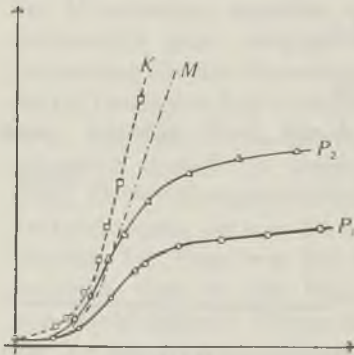


Fig. 1.

Gradationsvergleich zwischen:  
Pyro-Ausgleichsentwickler nach *Bürki*,  
Metol ohne Alkali und Brenzcatechin-Pottasche

$P_1$  = Pyroentwickler 6 Minuten.

$P_2$  = Pyroentwickler 12 Minuten.

M = Metol ohne Alkali 12 Minuten.

K = Brenzcatechin-Pottasche 5 Minuten.  
(als Kontrolle).

Platte: Perutz Reproduktionsplatte Hart.

Physikalisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

<sup>1)</sup> Photogr. Korrespondenz 71, 24 (1935).

<sup>2)</sup> „Camera“ 1935, 185.

<sup>3)</sup> Helv. 22, 30 (1939).

## 117. Über die Wechselwirkung von Serumproteinen und Hefenucleinsäuren

von Ch. Wunderly.

(22. VI. 45.)

Es darf heute als erwiesen gelten, dass die Ribose-Nucleo-Proteine bei der Proteinsynthese und dem Gewebewachstum von besonderer Wichtigkeit sind. So wurden sie gefunden in vielen sich selbst vermehrenden, filtrierbaren Virusarten, zahlreich in rasch wachsenden Zellen von Embryonen, Tumoren und regenerierendem Gewebe. Dabei sind im Chromatin hauptsächlich Thymonucleinsäuren, weshalb *Pollister* und *Mirsky*<sup>1)</sup> vorgeschlagen haben, diese als Chromonucleinsäuren zu bezeichnen. Im Cytoplasma hingegen sind Hefenucleinsäuren vorherrschend, doch wurden sie von *Claude*<sup>2)</sup> auch in sekretorischen Drüsenzellen, Mikrosomen und Mitochondrien, somit in geformten Zellbestandteilen festgestellt. Im Nucleoprotein ist der Phosphorsäurerest in salzartiger Bindung entweder mit den basischen OH-Gruppen (bei einbasischen Aminosäuren wie Serin) oder mit den basischen =NH- und NH<sub>2</sub>-Gruppen (bei Hexonbasen wie Arginin und Histidin) verknüpft. Diese Bindung wird dort besonders stark, wo Proteine mit gehäuft basischen Bausteinen vom Histon- und erst recht vom Protamintyp vorliegen; es ist dies der Fall in Chromosomen (*Dittmar*)<sup>3)</sup>, in Pneumokokken (*Thompson* und *Dubos*)<sup>4)</sup> sowie Streptokokken (*Sevag*, *Lackman* und *Smolens*)<sup>5)</sup>. Die Nucleoproteide machen in den erwähnten Bakterien 4—10% vom Trockengewicht aus. Da andererseits in den Gewebeproteinen die sauren Bausteine, wie in erster Linie die Glutaminsäure, überwiegen, so liegt hier weniger die Möglichkeit vor zu salzartiger Bindung von Nucleinsäuren.

Für die vorliegende Arbeit standen 3 Hefenucleinsäuren zur Verfügung, nämlich Adenosin-3-phosphorsäure (Hefe-adenylsäure, Mononucleotid)<sup>6)</sup>, ein Hefenucleinsäurepräparat von *Merck* mit der Zusammensetzung C<sub>29</sub>H<sub>42</sub>O<sub>23</sub>N<sub>13</sub>P<sub>3</sub> (Trinucleotid) sowie eine Hefenucleinsäure<sup>6)</sup> von der Formel C<sub>38</sub>H<sub>49</sub>O<sub>29</sub>N<sub>15</sub>P<sub>4</sub> (Tetranucleotid). Die Zusammensetzung der beiden Polynucleotide nach Komponenten sei offen gelassen, denn es hat sich gezeigt, dass diese abhängt von der Art des Ausgangsmaterials sowie der Aufarbeitung. So konnten *Tipson* und *Levene*<sup>7)</sup> in einem englischen Präparat von Hefenucleinsäure keine Guanin-Uracil-Komponente finden, dagegen stets in Präparaten der Firmen *Merck* und *Boehringer*. Von den obigen 3 Substanzen wurde geprüft, inwiefern sie durch ihre Lösung im Blutserum die kolloiden Zustandsgrößen desselben verändern und was daraus abgeleitet werden kann für die Bindungsart zwischen Serumproteinen und Nucleinsäuren.

<sup>1)</sup> *Pollister* und *Mirsky*, *Nature* **152**, 692 (1943).

<sup>2)</sup> *Claude*, *Science* **97**, 451 (1943) — *J. exp. Medicine* **77**, 345 (1943); **80**, 19 (1944).

<sup>3)</sup> *Dittmar*, *Z. Krebsforsch.* **53**, 107 (1942).

<sup>4)</sup> *Thompson* und *Dubos*, *J. Biol. Chem.* **125**, 65 (1938).

<sup>5)</sup> *Sevag*, *Lackman* und *Smolens*, *J. Biol. Chem.* **124**, 425 (1938).

<sup>6)</sup> Wurden von der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co.* (Basel) freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

<sup>7)</sup> *Tipson* und *Levene*, *J. Biol. Chem.* **127**, 105 (1939).

## Löslichkeit der Hefenucleinsäuren in Wasser, NaCl physiol. und Blutserum.

Dazu wurde gravimetrisch in Doppelversuchen geprüft, wieviel löslich ist in 20 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O dest. und in 20 cm<sup>3</sup> NaCl physiol.; sowie in je 10 cm<sup>3</sup> Blutserum (Pferd) kolorimetrisch die Nucleinsäure bestimmt (die Methode ist nachstehend angegeben).

**Tabelle 1.**

| Hefenucleinsäure:      | Mol.<br>Gew. | Löslichkeit in:          |                       |                        |
|------------------------|--------------|--------------------------|-----------------------|------------------------|
|                        |              | H <sub>2</sub> O<br>mg % | NaCl<br>0,85%<br>mg % | Blut-<br>serum<br>mg % |
| Mono-nucleotid . . . . | 347          | 58                       | 10                    | 1440                   |
| Tri- „ . . . .         | 1033         | 47                       | 19                    | 2170                   |
| Tetra- „ . . . .       | 1303         | 37                       | 23                    | 1830                   |

Die ausgesprochen verschiedene Löslichkeit in H<sub>2</sub>O und Blutserum weist deutlich darauf hin, dass es sich hier um eine Peptisation durch die kolloiden Serumproteine handelt. Da das Peptisationsvermögen eines Serum abhängt von der Grösse der inneren Grenzflächen seiner Proteinaggregate, ist es in erster Linie durch den Albumingehalt bedingt. Von den Albuminen ist bekannt, dass sie in vivo auf die Globulinteilchen eine aufteilende Wirkung ausüben und dadurch an Stelle relativ weniger, aber grosser Globulinteilchen deren viele von kleinerer Grösse zur Folge haben; mit dieser Dispersitätszunahme geht eine entsprechende Grenzflächenvergrösserung Hand in Hand. Wir konnten zeigen, wie bei ausgesprochen albuminarmen Sera vom Nephrosekranken das Peptisationsvermögen für Cholesterin herabgemindert ist (*Wuhrmann und Wunderly*)<sup>1)</sup>. Um die Lösung von Hefenucleinsäuren im Pferdeserum noch besser zu kennzeichnen, wurde die Trübung der Lösungen im *Pulfrich*-Stufenphotometer von *Zeiss* mit Einrichtung zur Trübungsmessung bestimmt und ebenso die Viskosität im *Ostwald*-Viskosimeter. Während die Trübung in erster Linie von der durchschnittlichen Grösse der Proteinteilchen und nur wenig von deren Hydratation und Form abhängt, sind es hauptsächlich die beiden letzteren Eigenschaften, welche die Viskosität bedingen; dieselbe ist nahezu unabhängig von der Teilchengrösse, solange die Teilchenform annähernd sphäroid ist, was bei den Serumproteinen zutrifft.

Das Pferdeserum hatte einen Gesamteiweissgehalt von 6,22% und ein spez. Gewicht von 1,0263. Die Peptisation 1-proz. Lösungen ist nach 2—3 Stunden beendet; um gesättigte Lösungen zu erhalten, wurden je 5 cm<sup>3</sup> Serum über 0,15 g Nucleinsäure für 24 Stunden bei 18° stehen gelassen. Da für die Peptisation die *Ostwald*'sche Bodenkörperregel gilt, muss die Ausgangsmenge überall dieselbe sein. Vom ungelösten Rückstand wurde vorsichtig dekantiert.

<sup>1)</sup> *Wuhrmann und Wunderly, Gastroenterologia* **69**, 121 (1944).



Tabelle 2.

| Hefenucleinsäure                          | Abs.<br>Trübung<br>$\times 10^{-2}$ | Rel.<br>Viskosität<br>$\lambda_{12}^{\circ}$ |
|---|-------------------------------------|--|
| Pferdeserum . . . . .                     | 2,00                                | 1,55   |
| do. + 1% Mononucleotid . . . . .          | 5,44                                | 1,57   |
| do. + 1% Trinucleotid . . . . .           | 2,39                                | 1,63   |
| do. + 1% Tetranucleotid . . . . .         | 2,95                                | 1,64   |
| Pferdeserum + gesättigt an Mononucleotid. | 24,13                               | 1,59   |
| do. + „ „ Trinucleotid .                  | 6,34                                | 1,67   |
| do. + „ „ Tetranucleotid.                 | 5,89                                | 1,65   |

Einzig das Mononucleotid bringt eine beachtliche Teilchenvergrößerung zustande, während die Hydratation und Teilchenform davon kaum messbar beeinflusst werden. Dieser Vorgang erinnert an die Bemerkung von *Pedersen*<sup>1)</sup>, wonach Nucleinsäuren primäre Proteinaggregate zu koppeln vermögen. Da in unserem Falle durch die Koppelung die Viskosität nicht erhöht wird, muss man annehmen, dass die Aggregation allseitig verläuft und wiederum ein sphäroides Teilchen zur Folge hat. Nachdem das verwendete Serum einen Proteingehalt von 6,22% besitzt, wird das Verhältnis von Protein zu Nucleinsäure in den 1-proz. Lösungen wie 1:6,22, in gesättigten Lösungen bei der Mononucleinsäure wie 1:4,44, bei der Trinucleinsäure wie 1:2,96 und bei der Tetranucleinsäure wie 1:3,46. *Kelley*<sup>2)</sup> findet das Verhältnis von Protein zu Nucleinsäure in Sarkomgewebe wie 1:15,3, in Carcinomgewebe wie 1:9,85 und in Thymusgewebe der Ratte wie 1:5,9. Unsere gesättigten Sole sind somit wesentlich konzentrierter wie die physiologisch im Gewebe gefundenen Mengen, während die 1-proz. Sole den Verhältnissen in vivo ziemlich nahe kommen.

Nachdem die verwendeten Tri- und Tetranucleotide bei Zimmertemperatur nicht messbar reagieren, wurde versucht, ob eine Wärmebehandlung dies erreichen lässt. Dazu wurden normale Pferdesera, welche 1% der erwähnten Nucleinsäuren gelöst enthielten, während 48 Std. bei 37° steril bebrütet; Trübung und Viskosität blieben jedoch unverändert. Dasselbe ist der Fall, wenn man solche 1-proz. Nucleinsäure/Serum-Lösungen für 15 Min. auf 56° erwärmt. Wird Pferdeserum bis auf 65° erhitzt, so bildet sich als Folge der teilweisen Denaturierung eine schwerer lösliche, merklich hydrophobe Komponente. *v. d. Scheer* und Mitarb.<sup>3)</sup> fanden auf Grund der Elektrophorese, dass dieses Protein mit derselben Geschwindigkeit im elek-

<sup>1)</sup> *Pedersen*, Proc. Roy. Soc. (London) 1939, 170.

<sup>2)</sup> *Kelley*, J. Biol. Chem. 110, 113, 119, 141 (1935); 127, 55, 73 (1939).

<sup>3)</sup> *v. d. Scheer*, *Wyckoff* und *Clarke*, J. Immun. 40, 39 (1941).

trischen Felde wandert wie  $\beta$ -Globulin. Vergleichen wir die Denaturierung eines Pferdeserum bei  $65^{\circ}$  mit einem solchen, in dem 1% Tri- oder Tetranucleotid gelöst sind, so treten in den letzteren Röhrchen schon nach wenigen Minuten starke Trübungen auf; nach 15 Min. sind sie fest erstarrt, während Pferdeserum noch die Zähigkeit von gequollener Gelatine aufweist. Wir leiten daraus ab, dass die Hefenucleinsäuren imstande sind, die Denaturation zu beschleunigen.

#### Labilitätsindex.

Mit Hinsicht auf die spätere Verwendung bei pathophysiologisch veränderten Sera wurde nachfolgende Methode zur Prüfung der Serumlabilität entwickelt. Es war die Absicht, zwei der wichtigsten kolloiden Zustandsgrößen, die Säureempfindlichkeit und Fällungsbereitschaft, in einfacher Weise zu charakterisieren und die Ergebnisse zu einem neuen Begriff, dem Labilitätsindex, zu vereinigen. Nachdem im Serum ein stetsfort wechselndes Gemisch von Proteinen vorliegt, die ihrerseits verschiedene isoelektrische Punkte aufweisen, kann man nicht von einem I.E.P. des Serums sprechen. Dagegen gelingt es mit Serum-Verdünnungen, in einer Acetatpufferreihe nephelometrisch den Punkt mit der grössten Trübung zu kennzeichnen; dazu tragen wir in einem Koordinatensystem als Ordinaten diese Trübungen auf und als Abszissen die zugehörigen  $p_H$ -Werte; durch geeignete Interpolation findet man den  $p_H$ -Wert, welcher zum Trübungsmaximum gehört. Um diesen ausgezeichneten Punkt der Unstabilität zu erhalten, ist es bei den Sera von Mensch, Pferd und Rind notwendig, den  $p_H$ -Bereich von 6,1–4,4 zu prüfen; da somit alle in Betracht kommenden  $p_H$ -Werte auf der sauren Seite des Neutralpunktes liegen, nennen wir es die Messung der Säureempfindlichkeit. Werden später einmal Histone auf diese Weise geprüft, mit einem I.E.P. bei  $p_H$  8,5, so kann daraus eine Alkaliempfindlichkeit werden, denn die Lage der maximalen Trübung wird massgeblich beeinflusst von den I.E.P. der quantitativ vorherrschenden Proteine.

Als zweiten Faktor bestimmen wir die Fällungsbereitschaft des Serums; dazu benützen wir als Trübungsreagens eine Lösung von 10% Trichloressigsäure in 1,5-proz. Uranylacetat. Die Trichloressigsäure ist ein bekanntes Eiweissfällungsmittel, welches durch die Mischung mit Uranylacetat auch Polynucleinsäuren quantitativ fällt. Dagegen werden Mononucleotide, wie die Adenosin-phosphorsäure, bei den vorliegenden geringen Konzentrationen nicht gefällt. Es liegt hier eine Trennmöglichkeit vor, ähnlich jener für Proteine und Polypeptide. Dort werden beide Stoffklassen durch Trichloressigsäure niedergeschlagen, während durch Phosphorwolframsäure nur die eigentlichen Proteine gefällt werden; aus der Differenz des Stickstoffgehaltes der Filtrate lässt sich der Polypeptidgehalt berechnen.

Um die Fällungsbereitschaft zu kennzeichnen, messen wir die Trübungen, wie sie mit 4 abgestuften Serumverdünnungen und dem Trübungsreagens entstehen. Tragen wir die 4 Trübwerte als Ordinate, die zugehörigen Serumkonzentrationen als Abszisse auf, so müssen die 4 Punkte auf einer Geraden liegen, wenn im Messvorgang die Voraussetzungen des Gesetzes von *Rayleigh* erfüllt sind. An dieser Geraden ist das Charakteristische ihr Neigungswinkel  $\alpha$  mit der x-Achse. Nun ist  $\text{tg } \alpha$  bestimmt durch das Verhältnis der beiden Seiten des rechtwinkligen Dreiecks, wie sie gebildet werden durch die Differenzen der Trübungen einerseits, der Konzentrationen andererseits. Als Differenz der Ordinatenlängen wählen wir die Serumkonzentrationen  $0,04 \text{ cm}^3$  und  $0,10 \text{ cm}^3$ . Den Abstand dieser beiden Konzentrationen auf der x-Achse bezeichnen wir als 1. Dadurch wird  $\text{tg } \alpha$  gleich der Differenz der Trübwerte dieser Konzentrationen. Der Labilitätsindex setzt sich demnach zusammen aus dem  $\text{p}_H$ -Wert der maximalen Säureempfindlichkeit, sowie dem  $\text{tg}$  des Neigungswinkels der Geraden, wie sie durch die Fällungsbereitschaft bestimmt wird.

**Methodik:**

a) Säureempfindlichkeit.

$0,4 \text{ cm}^3$  Serum oder Serum/Nucleinsäurelösungen werden mit je  $1,6 \text{ cm}^3$  NaCl verdünnt. Je  $0,1 \text{ cm}^3$  von diesen Verdünnungen werden mit  $1 \text{ cm}^3$  Acetat-Puffergemisch nach *Michaelis* und  $9 \text{ cm}^3$   $\text{H}_2\text{O}$  gut gemischt und für 15' stehen gelassen; darauf Trübungsmessung im Stufenphotometer von *Zeiss* mit Lichtfilter  $L_2$  und der Vergleichshelligkeit 4. Für die Messung werden die Sole in die  $26 \text{ mm}$ -Bechergläser aus geblasenem Spezialglas gegossen. Auf diese Weise erhält man im  $\text{p}_H$ -Bereich  $6,1$ — $4,4$  folgende absoluten Trübungen, sowie deren Maxima:

**Tabelle 3.**

|                         | $\text{p}_H$ -Werte       |                           |                           |                           |                           |                           | $\text{p}_H$ der<br>Max.<br>Trübung |
|-------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------------------|
|                         | $6,1$<br>$\times 10^{-2}$ | $5,8$<br>$\times 10^{-2}$ | $5,3$<br>$\times 10^{-2}$ | $5,0$<br>$\times 10^{-2}$ | $4,7$<br>$\times 10^{-2}$ | $4,4$<br>$\times 10^{-2}$ |                                     |
| Pferdeserum, normal . . | 5,11                      | 6,56                      | 7,56                      | 5,67                      | 3,11                      | 1,11                      | 5,38                                |
| do. + 1% Mononucleotid  | 6,22                      | 6,89                      | 7,22                      | 5,22                      | 2,67                      | 1,00                      | 5,35                                |
| do. + 1% Trinucleotid . | 5,78                      | 10,90                     | 17,90                     | 20,90                     | 21,80                     | 20,01                     | 4,78                                |
| do. + 1% Tetranucleotid | 8,45                      | 14,01                     | 19,79                     | 20,21                     | 18,13                     | 14,23                     | 5,11                                |

b) Fällungsbereitschaft.

$0,2 \text{ cm}^3$  Serum oder Serum/Nucleinsäurelösungen werden verdünnt mit  $2 \text{ cm}^3$  NaCl phys. und  $5 \text{ cm}^3$   $\text{H}_2\text{O}$ . In die Trübungsansätze kommen je  $0,04$ ,  $0,06$ ,  $0,08$  und  $0,10 \text{ cm}^3$  dieser Verdünnungen, dazu je  $0,4 \text{ cm}^3$  Trübungsreagens (s. v.) und soviel Wasser, dass das Volum der Ansätze  $1,8 \text{ cm}^3$  ausmacht. Nach 30' wird die Trübung gemessen in der Mikroküvette mit dem Fassungsvermögen von  $1 \text{ cm}^3$ .

Beispielsweise wird vom Pferde-Serum der  $\text{tg } \alpha$  gefunden durch die Subtraktion von  $13,12$  weniger  $5,67$ . Diese Differenz ist gleich der Grösse der Gegenkathete, während die dem Winkel anliegende



Tabelle 4.

|                          | Serum-Verdünnung im Trübungsansatz |                      |                      |                      | tg $\alpha$ |
|--------------------------|------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-------------|
|                          | 0,04 cm <sup>3</sup>               | 0,06 cm <sup>3</sup> | 0,08 cm <sup>3</sup> | 0,10 cm <sup>3</sup> |             |
|                          | $\times 10^{-2}$                   | $\times 10^{-2}$     | $\times 10^{-2}$     | $\times 10^{-2}$     |             |
| Pferde-Serum, normal . . | 5,67                               | 8,11                 | 10,56                | 13,12                | 7,45        |
| do. +1% Mononucleotid    | 5,67                               | 8,11                 | 10,56                | 13,12                | 7,45        |
| do. +1% Trinucleotid .   | 6,22                               | 8,67                 | 11,67                | 16,01                | 9,79        |
| do. +1% Tetranucleotid   | 6,00                               | 9,11                 | 12,57                | 14,68                | 8,68        |

Dreiecksseite gleich 1 gesetzt wird. Die Ergebnisse von Tab. 3 und 4 zusammengestellt, ergeben den Labilitätsindex. Er ist für Pferde-Serum 5,38/7,45, wenn 1% Mononucleotid zugemischt werden, 5,35/7,45, wenn 1% Trinucleotid, 4,78/9,79 und schliesslich mit 1% Tetranucleotid 5,11/8,68. Die grösste Abweichung ergibt somit die *Merck'sche* Hefenucleinsäure, deren Serumlöslichkeit auch als am grössten gefunden wurde. Dagegen verändert das Mononucleotid den Labilitätsindex nicht merklich.

Nephelogramme.

Da die Methodik schon mehrfach beschrieben wurde (*Wunderly*)<sup>1)</sup> können wir gleich zu den Ergebnissen Stellung nehmen, wie sie auf Fig. 1 abgebildet sind.

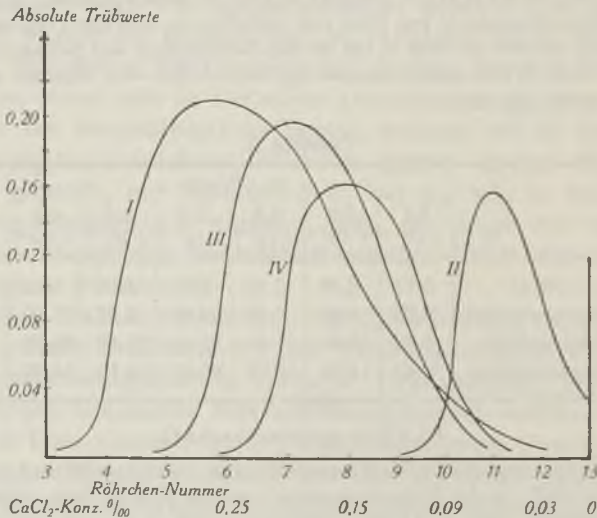


Fig. 1.

- Kurve I: Pferdeserum
- „ II: do. mit 1% Mononucleotid
- „ III: do. „ 1% Trinucleotid
- „ IV: do. „ Tetranucleotid

<sup>1)</sup> *Wunderly*, Helv. 25, 498 (1942); *Wuhrmann und Wunderly*, Helv. med. act. Suppl. Bd. X (1943).

Die Zumischung der Hefenucleinsäuren verschiebt den Schwellenwert der Flockungsgrenze nach rechts, jedoch verschieden stark. Während beim Trinucleotid die Verschiebung nur 1 Röhrchen, beim Tetranucleotid 2 Röhrchen beträgt, ist der Schwellenwert beim Mononucleotid gleich um 6 Röhrchen verschoben. Hier gibt sich die Dispersitätsabnahme, welche schon aus Tab. 2 hervorgeht, daran zu erkennen, dass deutlich kleinere  $\text{CaCl}_2$ -Konzentrationen zur Hitzeokoagulation notwendig sind.

### Das Dissolutionsvermögen für Victoriablau B.

Aus Tab. 3 geht hervor, wie die Hefenucleinsäuren das  $p_H$  der maximalen Trübung mehr oder weniger stark nach dem sauren Gebiet verschieben. Es musste deshalb von Interesse sein, zu prüfen wie diese Serum/Nucleinsäure-Lösungen die Dissolution des basischen Diphenyl-naphtyl-methanfarbstoffes Victoriablau B beeinflussen.

Die Technik hierzu haben wir in dieser Zeitschrift beschrieben (*Wunderly*<sup>1</sup>). Um die Peptisationskurven durch 4 Punkte festzulegen, messen wir in 4 Ansätzen die Serum-Verdünnungen 1:200, 1:100, 1:75 und 1:50. Einzig bei den Lösungen des Mononucleotides ergeben sich beim Verdünnen Trübungen; diese sind so fein dispers, dass sie selbst die harten Filter Nr. 602 von *Schleicher* und *Schüll* passieren und einen kolorimetrischen Vergleich verunmöglichen. Der Gesamtproteingehalt des verwendeten Pferdeserums war 6,22%; E ist die im Stufenphotometer mit Filter S 61 und in 20 mm Küvetten gemessene Extinktion; diejenige der Ausgangsfarbstofflösung wird als 100 bezeichnet und die Extinktionen der Filtrate in Prozenten davon angegeben. Die Konzentration D des Farbstoffes im Filtrat entnehmen wir einer vorher angelegten Eichkurve und dividieren sie durch die g% Gesamtprotein G des Serum. Die Peptisationskurven werden erhalten, wenn wir die Quotienten D/G als Ordinate, die zugesetzten Serummengen (Peptisator) als Abszisse auftragen.

Tabelle 5.

| Peptisator               | Serum, resp. Serumlösung<br>cm <sup>3</sup> | Victoria-blau-sol<br>von 1 mg%<br>cm <sup>3</sup> | H <sub>2</sub> O<br>cm <sup>3</sup> | E     | %  | D/G  |
|--------------------------|---|---|-------------------------------------|-------|----|------|
| Pferdeserum              | 0,06  | 5   | 6,94                                | 0,135 | 45 | 3,81 |
|                          | 0,12  | 5   | 6,88                                | 0,169 | 56 | 4,61 |
|                          | 0,16  | 5   | 6,84                                | 0,178 | 59 | 4,80 |
|                          | 0,24  | 5   | 6,76                                | 0,198 | 66 | 5,32 |
| do. + 1% Tri-nucleotid   | 0,06  | 5   | 6,94                                | 0,160 | 53 | 4,32 |
|                          | 0,12  | 5   | 6,88                                | 0,205 | 68 | 5,55 |
|                          | 0,16  | 5   | 6,84                                | 0,230 | 79 | 6,20 |
|                          | 0,24  | 5   | 6,76                                | 0,281 | 93 | 7,51 |
| do. + 1% Tetra-nucleotid | 0,06  | 5   | 6,94                                | 0,158 | 53 | 4,26 |
|                          | 0,12  | 5   | 6,88                                | 0,226 | 76 | 6,07 |
|                          | 0,16  | 5   | 6,84                                | 0,241 | 85 | 6,52 |
|                          | 0,24  | 5   | 6,76                                | 0,270 | 90 | 7,26 |

Noch besser als die D/G-Quotienten zeigen die graphisch aufgetragenen Peptisationskurven die vergrößerte Bindungsfähigkeit

<sup>1</sup> *Wunderly*, Helv. 25, 1053 (1941) — Z. exp. Med. 110, 273 (1942).

des Serum für basisches Victoriablau, wenn Polynucleotide darin gelöst wurden.

Die analytische Bestimmung von Nucleinsäuren und Serumproteinen nebeneinander.

Um die Sättigungskonzentration der 3 untersuchten Hefenucleinsäuren im Serum zu messen und mit Hinsicht auf anschließende Versuche mit geformten Blutbestandteilen, war es notwendig, die analytischen Grundlagen zu schaffen, für eine Bestimmung der Nucleinsäuren und der Serumproteine nebeneinander. Um die Konzentration der ersteren zu messen, wurde die Orcin-Reaktion für Pentosen in der Ausführung von *Bial*<sup>1)</sup> gewählt.

Hierzu werden 1 g Orcin in 500 cm<sup>3</sup> 25-proz. HCl gelöst und mit 25 Tropfen 10-proz. Eisen(III)-chloridlösung versetzt. Nun werden mit dem Pferdeserum sowie den Serum/Nucleinsäure-Lösungen mit NaCl phys. Verdünnungen hergestellt von 1:40, 1:60 und 1:80. Von diesen werden je 0,1 cm<sup>3</sup> mit 0,9 cm<sup>3</sup> NaCl phys. versetzt und mit 2 cm<sup>3</sup> Orcin-Reagens sorgfältig gemischt. Nachdem die Röhren (Doppelversuch) für 15' im siedenden Wasserbad gestanden haben, lässt man 30' abkühlen und misst im Stufenphotometer mit Lichtfilter S 69 in 5 mm Küvetten. Als Vergleichsflüssigkeit dient 1 cm<sup>3</sup> NaCl phys. + 2 cm<sup>3</sup> Orcin-Reagens. Um die Messgenauigkeit der Methode zu prüfen, wurden in drei Serumproben je 0,3%, 0,4% und 0,5% *d*-Xylose gelöst und vergleichend mitgemessen. Nachfolgend die gemessenen Extinktionen:

Tabelle 6.

|                                       | Verdünnungen |        |        |
|---------------------------------------|--------------|--------|--------|
|                                       | 1 : 40       | 1 : 60 | 1 : 80 |
| Pferdeserum, normal . . . . .         | 0,012        | 0,011  | 0,010  |
| do. + 1% Mononucleotid . . . . .      | 0,146        | 0,119  | 0,096  |
| do. + 1% Trinucleotid . . . . .       | 0,092        | 0,077  | 0,062  |
| do. + 1% Tetranucleotid . . . . .     | 0,094        | 0,080  | 0,065  |
| do. + 0,3% <i>d</i> -Xylose . . . . . | 0,120        | 0,096  | 0,071  |
| do. + 0,4% <i>d</i> -Xylose . . . . . | 0,138        | 0,112  | 0,088  |
| do. + 0,5% <i>d</i> -Xylose . . . . . | 0,158        | 0,129  | 0,106  |

Tragen wir die Ergebnisse in einem Koordinatensystem auf, so liegen die entsprechenden Punkte auf einer Geraden und beweisen damit, dass die Voraussetzungen des Beer'schen Gesetzes erfüllt sind. Die kleine Extinktion welche aus Serum allein resultiert, wird entsprechend in Rechnung gestellt; da diese Grösse von Serum zu Serum etwas schwankt, muss sie in jedem Falle nachgeprüft werden. Der gefundene Gehalt des Mononucleotides an Pentose stimmt mit dem berechneten Gehalt gut überein, dagegen fallen die Konzentrationen der Polynucleotide zu niedrig aus. Hier wird es notwendig für jede eine besondere Eichkurve aufzustellen. Bei exakt ausgeführten Doppelversuchen finden wir den Fehler der Reproduktionsgenauigkeit kleiner als  $\pm 3\%$ . Als untere Grenze der noch gut messbaren Konzentration finden wir für das Mononucleotid und die *d*-Xylose 0,125 mg% im Ansatz, für die Polynucleotide 0,200 mg%.

<sup>1)</sup> *Bial*, s. *Bernhauer*, Grundzüge d. Chemie u. Biochemie der Zuckerarten (Berlin 1933).



Von den zahlreichen Eiweissbestimmungsmethoden konnten für unsere Zwecke nur diejenigen in Betracht fallen, welche mit Nucleinsäuren keine messbare Reaktion zeigen. In der Folge zeigte sich, dass die Farbreaktionen auf Tryptophan diese wünschenswerten Eigenschaften besitzen. Die Ausführung nach *Strepkov* und *Mavlianov*<sup>1)</sup> mit Vanillin und H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ergab Werte, welche nicht hinreichend reproduzierbar waren. Dagegen befriedigte die Bestimmung nach *Sullivan* und Mitarb.<sup>2)</sup> in der Ausführung von *Shaw* und *Mac Farlane*<sup>3)</sup> mit p-Dimethylamino-benzaldehyd vollauf.

Dazu werden das Pferdeserum wie die Serum/Nucleinsäure-Lösungen erst 1:20 mit NaCl phys. verdünnt. Von diesen Verdünnungen werden in 4 Röhrchen (Doppelversuch) je 0,1, 0,2, 0,3 und 0,4 cm<sup>3</sup> pipettiert. Darauf werden je 10 cm<sup>3</sup> Aldehyd-Reagens zufließen gelassen und ferner soviel NaCl phys., dass das Volumen stets 11 cm<sup>3</sup> ausmacht. Das Reagens hat folgende Zusammensetzung: zu 99 cm<sup>3</sup> 17,5-proz. HCl werden 1 cm<sup>3</sup> einer 5-proz. Lösung von p-Dimethylamino-benzaldehyd in 10-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gegeben. Diese Protein/HCl/Aldehyd-Mischungen werden für 24 Stunden bei 37° in den Thermostat gestellt; darauf 3 Tropfen 3-proz. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zugegeben und zur Entwicklung der Farbe 30' stehen gelassen. Anschliessend die Messung der Extinktion im Stufenphotometer mit Lichtfilter S 61 in 20 mm Küvetten Vergleichsflüssigkeit ist Wasser. Nachfolgend die Extinktionen:

Tabelle 7.

| Serum-Proteingehalt 7,75%         | Ansätze mit cm <sup>3</sup> Serum-Verdünnung |       |       |       |
|-----------------------------------|--|-------|-------|-------|
|                                   | 0,1  | 0,2   | 0,3   | 0,4   |
| Pferdeserum, normal . . . . .     | 0,070  | 0,106 | 0,144 | 0,181 |
| do. + 1% Mononucleotid . . . . .  | 0,070  | 0,108 | 0,146 | 0,178 |
| do. + 1% Trinucleotid . . . . .   | 0,071  | 0,105 | 0,145 | 0,180 |
| do. + 1% Tetranucleotid . . . . . | 0,071  | 0,107 | 0,148 | 0,178 |
| do. + 0,3% Xylose . . . . .       | 0,070  | 0,105 | 0,144 | 0,182 |

Daraus folgt, dass die Reaktionsfärbungen mit Aldehyd im Konzentrationsintervall von 3,5–14,1 mg% Serumprotein dem *Beer*'schen Gesetze folgen; Zusätze von je 0,45–1,82 mg% Hefenucleinsäuren oder von 0,135–0,546 mg% *d*-Xylose beeinflussen das Ergebnis nicht. Damit ist gezeigt, dass es mit den angegebenen Farbreaktionen gelingt, in Lösungen von Nucleinsäure in Serum die Einzelkomponenten quantitativ zu bestimmen, wenn man die richtigen Verdünnungen wählt und sich Eichkurven anlegt. Auf diese Weise wurde auch die Sättigungskonzentration von Serum für die drei untersuchten Hefenucleinsäuren gemessen.

Eine Übersicht der verschiedenen Messvorgänge, wie sie in vorliegender Arbeit benutzt werden, um die Wechselwirkung von Serumproteinen und Hefenucleinsäuren zu charakterisieren, zeigt uns, dass

<sup>1)</sup> *Strepkov* und *Mavlianov*, Bull. Biol. Med. exp. URSS 6, 242 (1938).

<sup>2)</sup> *Sullivan*, *Milone* und *Everitt*, J. Biol. Chem. 125, 471 (1938).

<sup>3)</sup> *Shaw* und *Mac Farlane*, J. Biol. Chem. 132, 387 (1940).

kaum eine eigentliche salzartige Bindung zustande kommt; viel eher ist anzunehmen, dass die Proteine an der Oberfläche der Nucleinsäureteilchen lyophile Schichten bilden. Dadurch wird die Peptisation der letzteren ermöglicht, ohne dass deswegen die Kolloidstruktur des Serums sich wesentlich ändert. Kommt es zu einer Hitzedenaturation dieser lyophilen Schichten, wie bei dem viertelstündigen Kochen der Nephelogramm-Methodik, dann verlieren sie teilweise ihre solvatierende Funktion und lassen den hydrophoben Charakter der Hefenucleinsäuren hervortreten.

### Zusammenfassung.

Es wird die Wechselwirkung beschrieben von Adenosin-3-phosphorsäure sowie von zwei Hefenucleinsäuren auf die Proteine von Pferdeserum. Zur Charakterisierung wird die Löslichkeit gemessen, die Viskosität, die Säureempfindlichkeit und Fällungsbereitschaft, die Nephelogramme aufgestellt sowie das Dissolutionsvermögen mit Victoriablau geprüft. Die Lösung der drei Nucleinsäuren im Serum wird als Kolloidpeptisation erklärt; ihre Wechselwirkung mit den Serumproteinen, selbst bei Körpertemperatur, ist gering. Für salzartige Bindung liegen keine Anzeichen vor.

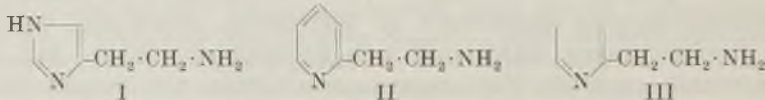
Medizin. Universitätsklinik, Zürich.

### 118. Zur Kenntnis des $\beta$ -(4-Thiazolyl)-äthylamin

von H. Erlenmeyer und Marcel Müller.

(22. VI. 45.)

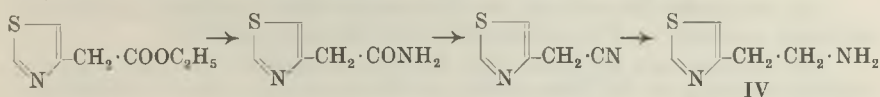
Histamin (I) und  $\beta$ -(2-Pyridyl)-äthylamin (II)<sup>1)</sup>, die beide zur Reihe der heterocyclischen Äthylamine mit dem Profil III gehören, zeigen nach den Angaben der Literatur eine ähnliche biologische



Wirkung. Unbekannt ist in der Reihe der, zum Histamin isosteren, Verbindungen noch das  $\beta$ -(4-Thiazolyl)-äthylamin (IV), für das wir uns im Zusammenhang mit Studien über die Ähnlichkeit aromatischer heterocyclischer Verbindungen interessierten.

<sup>1)</sup> L. A. Walter, W. H. Hunt und R. J. Fosbinder, Am. Soc. **63**, 2771 (1941), s. a. Löffler, B. **37**, 161 (1904); **38**, 3330 (1905).

Im folgenden berichten wir über eine Synthese dieser Verbindung, die, vom Thiazol-4-essigsäure-ester ausgeht.



Thiazol-4-essigsäure-amid.

13,12 g Thiazol-4-essigsäure-äthylester, dargestellt nach den Angaben von *H. Erlenmeyer* und *Ch. Morel*<sup>1)</sup>, werden mit 10 cm<sup>3</sup> einer wässrigen Lösung von Ammoniak — hergestellt durch Sättigung bei —15° — versetzt. Das System zeigt zu Beginn zwei Flüssigkeitsschichten. Man lässt einige Tage bei 0° unter öfterem Durchschütteln stehen. Nach 4—6 Tagen verschwindet die Grenzfläche zwischen den beiden Schichten, und es beginnen sich Krystalle abzuscheiden. Nach 13 Tagen filtriert man ab. Die Krystallmasse wird mit 30 cm<sup>3</sup> Petroläther ausgekocht. Aus dem Petroläther gewinnt man 0,65 g unveränderten Thiazol-4-essigsäure-äthylester zurück. Die Ausbeute an Thiazol-4-essigsäure-amid beträgt 9,5 g. Smp. 122—123°.

3,038 mg Subst. gaben 0,539 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (23°, 743 mm)  
 C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>ON<sub>2</sub>S Ber. N 19,71 Gef. N 20,00%

Thiazol-4-essigsäurenitril.

7,88 g Thiazol-4-essigsäure-amid werden mit 8 g Phosphorpenoxyd innig verrieben und der Destillation im Hochvakuum unterworfen. Bei einem Druck von 0,08 mm und einer Ölbadtemperatur von 105° beginnt das Reaktionsgemisch aufzuschäumen und sich zu verfärben. Bei einer Badtemperatur von ca. 150° destilliert bei 114° ein Öl über, das in der gekühlten Vorlage zu Krystallen erstarrt. Die Ausbeute an Thiazol-4-essigsäurenitril beträgt 40—50%. Smp. 30°. Die Verbindung lässt sich als Pikrat (Smp. 105—106°) charakterisieren.

6,283 mg Subst. gaben 8,63 mg CO<sub>2</sub> und 1,12 mg H<sub>2</sub>O  
 1,463 mg Subst. gaben 0,262 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 730 mm)  
 C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>S·C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> Ber. C 37,38 H 1,99 N 19,83%  
 Gef. „ 37,48 „ 1,99 „ 19,90%

β-(4-Thiazoly)-äthylamin.

4,25 g Thiazol-4-essigsäurenitril werden in 40 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol, welcher vorher bei 0° mit getrocknetem Ammoniak gesättigt worden ist, aufgelöst. Die Lösung wird mit 2 g *Raney-Nickel* (alkoholfeucht gewogen) versetzt. Man beginnt die Hydrierung bei Zimmertemperatur mit einem Druck von ungefähr 115 Atm. Im Verlaufe von 1½ Stunden wird die Temperatur auf 75° gesteigert und noch weitere 2 Stunden geschüttelt. Die resultierende, bräunlich gefärbte Lösung wird vom Katalysator abgetrennt. Es ist dabei, wie auch bei den nachfolgenden Operationen darauf zu achten, dass man unter CO<sub>2</sub>-Ausschluss arbeitet, um die Bildung von störenden Carbonaten zu verhindern. Der Katalysator wird noch dreimal mit je 15 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol ausgewaschen. Von den vereinigten Auszügen wird der Alkohol zum grössten Teil abdestilliert und der Rückstand der Destillation im Vakuum unterworfen. Bei 11 mm destilliert das β-(4-Thiazoly)-äthylamin zwischen 117—119° als farbloses Öl über.

Für Analysen wurden das bei 191—192° schmelzende Pikrat und das bei 188—191° schmelzende Hydrochlorid dargestellt.

4,270 mg Subst. gaben 5,48 mg CO<sub>2</sub> und 0,93 mg H<sub>2</sub>O  
 2,480 mg Subst. gaben 0,415 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (18°, 732 mm)  
 C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>S·C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> Ber. C 34,80 H 2,41 N 19,11%  
 Gef. „ 35,00 „ 2,44 „ 18,91%

<sup>1)</sup> *H. Erlenmeyer* und *Ch. Morel*, *Helv.* **25**, 1073 (1942).



3,404 mg Subst. gaben 0,422 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (18°, 734 mm)  
 C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>S · 2 HCl Ber. N 13,94 Gef. N 14,05%

Die biologische Untersuchung der Verbindung<sup>1)</sup> ergab, dass das β-(4-Thiazolyl)-  
 äthylamin qualitativ im Wirkungscharakter dem Histamin ähnlich ist.

Wir möchten auch an dieser Stelle dem Kuratorium der *Ciba- und J. Brodbeck-  
 Sandreuter-Stiftung* für die Unterstützung der Untersuchungen unseren verbindlichsten  
 Dank sagen.

Universität Basel, Anstalt für anorganische Chemie.

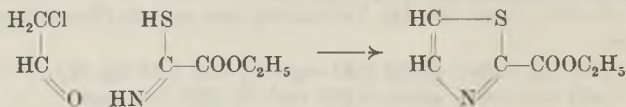
### 119. Zur Kenntnis der Thiazol-2-carbonsäure

von H. Erlenmeyer, R. Marbet und H. Schenkel.

(22. VI. 45.)

In früheren Mitteilungen sind die Eigenschaften der Thiazol-5-  
 carbonsäure<sup>2)</sup> und der Thiazol-4-carbonsäure<sup>3)</sup> beschrieben worden.  
 Im folgenden berichten wir über die Synthese der letzten noch mög-  
 lichen Monocarbonsäure des Thiazols, der Thiazol-2-carbonsäure.

Der Weg zur Darstellung war bereits durch die Synthese der  
 4-Methyl-thiazol-2-carbonsäure<sup>4)</sup> im Prinzip vorgezeichnet.



Die schwefelhaltige Reaktionskomponente für eine solche Syn-  
 these, den Mono-thiooxamidsäure-äthylester, erhält man am besten  
 durch Erwärmen einer Lösung von 50 g Oxamidsäure-äthylester in  
 150 g Benzol mit einem Gemisch von 50 g Phosphorpentasulfid und  
 75 g Kaliumsulfid. Man gewinnt auf diese Weise 40 g von einem Roh-  
 produkt, das zur Reinigung noch aus Alkohol umkrystallisiert wird.

#### Thiazol-2-carbonsäure-äthylester.

5 g Chloracetaldehyd und 6 g Mono-thiooxamidsäure-äthylester werden mit 10 g  
 Essigsäure-anhydrid versetzt und auf dem Wasserbad erwärmt. Die Reaktion tritt plötz-  
 lich unter starkem Aufsieden nach ca. 3 Minuten ein. Zur Vervollständigung der Umsetzung  
 erwärmt man noch eine Stunde. Nach dem Abkühlen wird die doppelte Menge an Wasser  
 zugefügt und dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Von der getrockneten ätherischen Lösung  
 wird der Äther abdestilliert und der Rückstand im Vakuum fraktioniert. Bei 15 mm geht  
 der Thiazol-2-carbonsäure-äthylester mit einem Siedepunkt von 117—120° als ein gelbes  
 Öl über, das in der Vorlage erstarrt. Ausbeute 3—4 g. Aus 30-proz. Äthanol umkrystalli-

<sup>1)</sup> Die Prüfung, die im biologischen Laboratorium der *Ciba Aktiengesellschaft*  
 durchgeführt wurde, möchten wir auch hier bestens verdanken.

<sup>2)</sup> H. Erlenmeyer und H. v. Meyenburg, *Helv.* **20**, 204 (1937).

<sup>3)</sup> H. Erlenmeyer und Ch. Morel, *Helv.* **25**, 1073 (1942).

<sup>4)</sup> H. Schenkel, R. Marbet und H. Erlenmeyer, *Helv.* **27**, 1437 (1944).

siert erhält man farblose Nadeln, die sich in heissem Wasser, in Alkohol und in Äther sehr leicht lösen. Smp. 48°.

7,415 mg Subst. gaben 0,595 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (25°, 740 mm)

6,130 mg Subst. gaben 9,27 mg BaSO<sub>4</sub>

C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>NS Ber. N 8,91 S 20,39%

Gef. „ 8,94 „ 20,77%

#### Thiazol-2-carbonsäure.

Zur Verseifung des Thiazol-2-carbonsäure-äthylesters werden 5 g in 5 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und rasch mit 20 cm<sup>3</sup> einer 10-proz. alkoholischen Lösung von KOH versetzt. Nach etwa 3 Sekunden tritt plötzlich Erwärmung ein und der ganze Inhalt erstarrt zu einem Krystallbrei. Das isolierte und getrocknete Kaliumsalz löst man in möglichst wenig Wasser und versetzt tropfenweise mit konz. HCl. Die Thiazol-2-carbonsäure fällt hierbei in weissen Flocken aus. Zur Reinigung wird sie mit einer Lösung von Kaliumcarbonat aufgenommen und nochmals mit konz. HCl gefällt. Die Thiazol-2-carbonsäure schmilzt bei 102° unter CO<sub>2</sub>-Abgabe. Sie ist löslich in kaltem Wasser und Alkohol. Beim Erwärmen der Lösungen erfolgt Zersetzung unter CO<sub>2</sub>-Entwicklung.

95,0 mg Subst. verbrauchten 7,25 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH

C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>NS Ber. Äquiv.-Gew. 129,1 Gef. Äquiv.-Gew. 131,0

#### Thiazol-2-carbonsäure-amid.

Eine alkoholische Lösung des Thiazol-2-carbonsäure-esters wird mit wässrigem oder alkoholischem Ammoniak versetzt. Nach längerem Stehen scheiden sich Krystalle aus. Thiazol-2-carbonsäure-amid ist leicht löslich in heissem Wasser und in Alkohol. Aus Wasser umkrystallisiert erhält man farblose Nadeln vom Smp. 118°.

2,786 mg Subst. gaben 0,533 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (25°, 744 mm)

C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>ON<sub>2</sub>S Ber. N 21,86 Gef. N 21,50%

Universität Basel, Anstalt für anorganische Chemie.

## 120. Etude critique des réactifs des cations.

### 17. Réactifs des cations du béryllium

par Paul Wenger et Roger Duckert.

(Collaboratrice Mlle Y. Ruseoni.)

(26 VI 45)

L'étude que nous donnons ici est la suite de celles déjà publiées dans ce même périodique ces dernières années<sup>1)</sup>.

Nous avons établi une liste de réactifs à étudier par nos recherches bibliographiques concernant tout particulièrement les années 1937 à 1943 qui complètent le „Tableau des Réactifs“ publié par la Commission Internationale des Réactions et Réactifs analytiques nouveaux (Premier Rapport de la Commission).

Nous ne revenons pas sur les principes critiques qui nous ont conduits dans notre étude puisqu'ils ont déjà été indiqués en détail dans nos études précédentes.

<sup>1)</sup> Voir les études précédentes: Helv. 28, 291, 539, 872 (1945).

*1. Réactifs des ions du béryllium dont nous ne recommandons pas l'emploi.*

| N°                     | Réactifs   | Auteurs   | Pas sensibles | Trop généraux | Réagissent avec les ions du même groupe (Al <sup>+++</sup> , Fe <sup>+++</sup> , Ca <sup>++</sup> , ....) | Réactifs utilisables, mais de moindre intérêt |
|------------------------|--|---|---------------|---------------|---|---|
| Be <sup>++</sup> 1*)   | Sulfate de potassium . . . . .                             | H. Reinsch . . . . .                              | +             |               |   |   |
| Be <sup>++</sup> 2     | Acide phosphomolybdique + acide nitrique . . . . .         | T. Gaspar y Arnal . . . . .                       |               | +             | +   |   |
| Be <sup>++</sup> 5     | Oxalate de potassium . . . . .                             | H. Behrens . . . . .                              |               | +             |   |   |
| Be <sup>++</sup> 6     | Hexaméthylentétramine (urotropine) . . . . .               | R. Vivario et M. Wagenaar . . . . .               |               | +             |   |   |
| Be <sup>++</sup> 8     | Éthylxanthogénate de potassium . . . . .                   | E. M. Chamot et C. W. Mason . . . . .             |               | +             |   |   |
| Be <sup>++</sup> 9     | Malonate de potassium . . . . .                            | H. S. Booth et S. G. Frary . . . . .              | +             |               |   |   |
| Be <sup>++</sup> 12    | Acide hexachloroplatinique(IV) . . . . .                   | Behrens-Kley . . . . .                            |               |               | +   | +   |
| Be <sup>++</sup> 13    | Aurintricarboxylate d'ammonium (aluminon) . . . . .        | L. P. Hammett et C. T. Soltory . . . . .          |               |               | +   |   |
| Be <sup>++</sup> 14    | Acétate de sodium et d'uranyle . . . . .                   | Behrens-Kley . . . . .                            |               |               | +   |   |
| Be <sup>++</sup> 17    | Cureumine . . . . .  | I. M. Kolthoff . . . . .                          |               |               | +   |   |
| Be <sup>++</sup> 18    | Hexanitrodiphénylamine-sodium (aurantia) . . . . .         | O. G. Scheinzig . . . . .                         |               |               | +   |   |
| Be <sup>++</sup> 21    | Nitrate de chrome(III) . . . . .                           | D. Migliacci et C. Crayetta . . . . .             |               | +             |   |   |
| Be <sup>++</sup> 22    | Nitrate de cobalt(II) . . . . .                            | C. R. Fresenius . . . . .                         |               | +             |   |   |
| Be <sup>++</sup> 26    | Pentahydroxy-3,5,7,2',4'-flavone (morine) . . . . .        | H. L. J. Zermatten . . . . .                      |               |               | +   | +   |
| Be <sup>++</sup> 28    | Dihydroxy-5,8-naphthoquinone-1,4 (naphthazarine) . . . . . | J. V. Dubsky et E. Krametz . . . . .              |               |               | +   | +   |
| Be <sup>++</sup> 29    | Alcannine + éthylènediamine . . . . .                      | Brunner . . . . .                                 |               |               | +   | +   |
| Be <sup>++</sup> 30**) | Molybdate d'ammonium . . . . .                             | G. Kramer . . . . .                               |               |               | +   |   |
| Be <sup>++</sup> 31    | Acide acétique . . . . .                                   | A. A. Benedetti-Pichler et W. F. Spikes . . . . . |               |               |   | +   |

\*) Ces numéros ont été adoptés dans le Deuxième Rapport de la Commission Internationale des Réactions et Réactifs analytiques nouveaux.



\*\*\*) Les deux derniers réactifs ne figurent pas dans le Deuxième Rapport.



2. Réactifs des ions du beryllium dont nous recommandons l'emploi.

| N°                                 | Réactifs   | Bibliographie | Caractéristiques de la réaction         | Sensibilité (Limite de perceptibilité) | Limite de dilution                      | Spécificité   |
|------------------------------------|--|---------------|---|--|---|---|
| 1. Microscope (M).                 |  |               |   |  |   |   |
| Be... 7                            | <p><i>Pentanedione-2,4</i><br/>(<i>acétylacétone</i>)</p> $\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CO} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3-\text{CO} \end{array}$ <p>Acétylacétone pure</p>   | 1—2           | <p>III*)<br/>20—60°<br/>↓w</p>          | 0,1 [M] <sup>0,01</sup>                | 1 : 10 <sup>5</sup><br>10 <sup>-5</sup> | <p>n. O ou n. * : Ag, Cu, Pb, Sn, Pd, Pt, Se, Te, Mo, W, Nb, Ta, Al, Fe, Cr, U, Terres rares, Ce, Y, Ti, Zr, Th, Tl, Zn, Mn, Co, Ni, alcalino-terreux, alcalins<br/>Spécifique</p>  |
| 2. Touche sur plaque à godets (A). |  |               |   |  |   |   |
| Be... 25                           | <p><i>Tétrahydroxy-1,2,5,8-anthraquinone</i> (<i>quinizarine</i>)<br/>+ <i>éthylènediamine</i></p> <p>quinizarine à 1% dans C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH<br/>1 cm<sup>3</sup> éthylène-diamine pour 10 cm<sup>3</sup></p> $\begin{array}{c} \text{HO} \quad \text{O} \quad \text{OH} \\   \quad   \quad   \\ \text{---} \text{---} \text{---} \\   \quad   \quad   \\ \text{HO} \quad \text{O} \quad \text{OH} \end{array}$ <p>H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub></p> | 3—11          | <p>III—IV<br/>NaOH<br/>20°<br/>↓□bl</p> | 0,3 [A] <sup>0,03</sup>                | 1 : 10 <sup>5</sup><br>10 <sup>-5</sup> | <p>n. O ou n. * : Hg<sup>++</sup>, Bi, Cd, Sn, Pd, Pt, Se, Te, Nb, Ta, Al, Ti, Zn, alcalino-terreux, alcalins<br/>Sensibilité diminuée par : Ag, Hg<sub>2</sub><sup>++</sup>, As, Sb, Au, Rh, Ir, Mo, W, Fe, U, Mn, Co<br/>* : Cu, V, Terres rares, Ce, Y, Ti, Zr, Th, Mg</p> |

\*) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.

| N <sup>o</sup>                               | Réactifs  | Bibliographie | Caractéristiques de la réaction              | Sensibilité (Limite de perceptibilité) | Limite de dilution                      | Spécificité   |
|--|---|---------------|--|--|---|---|
| <b>3. Touche sur papier filtre (B).</b>      |   |               |  |  |   |   |
| Be... 27                                     | <p><i>p</i>-Nitrobenzène-azo-méthyl-2'-di-hydroxy-4',6'-benzène<br/>(<i>p</i>-nitrobenzène-azo-orsinol)</p>  <p>Solution à 0,025 % dans NaOH N</p>   | 12—13         | III—IV*<br>NaOH<br>20 <sup>o</sup><br>↓ □ or | 0,3[B] <sup>0,03</sup>                 | 1 : 10 <sup>5</sup><br>10 <sup>-5</sup> | n, O ou n.* : Hg <sup>++</sup> , Bi, Cd, As, Sb, Sn, Au, Rh, Pd, Ir, Pt, Se, Te, Mo, W, V, Nb, Ta, Al, Fe, Cr, U, Ce <sup>+++</sup> , Terres rares, Y, Ti, Zr, Th, Tl, alcalino-terreux, alcalins<br>Sensibilité diminuée par : Ag, Hg <sub>2</sub> <sup>++</sup> , Pb, Mn, Ni, Mg<br>O ou * : Cu, Zn, Co |
| <b>4. Micro- et macro-épreuves (C et D).</b> |   |               |  |  |   |   |
| Be... 25                                     | <p>Tétrahydroxy-1,2,5,8-anthraquinone (quinizarine) + éthylènediamine</p> <p>quinizarine à HO O OH<br/>1 % dans C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH + 1 cm<sup>3</sup> éthylène-diamine pour 10 cm<sup>3</sup></p>  <p>+ H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub></p> | 3—11          | III—IV<br>NaOH<br>20 <sup>o</sup><br>↓ □ bl  | 5[D] <sup>5</sup>                      | 1 : 10 <sup>6</sup><br>10 <sup>-6</sup> | Voir plus haut  |

\*) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.

ABREVIATIONS.

(Adoptées par la «Commission Internationale des Réactifs»)

|                     |  |
|---------------------|--|
| A: godet            | III: neutre  |
| B: papier filtre    | IV: alcalin  |
| C: micro-éprouvette | 20°: température à laquelle<br>doit être faite la réaction |
| D: macro-éprouvette | □: coloration  |
| M: microscope       | or: orange   |
| ↓: précipité        |  |
| w: blanc            |  |
| bl: bleu            |  |

exemple: ↓ □ bl = précipité bleu

○: réaction identique

n. ○: ne réagit pas (permet de discriminer)

\*: gêne la réaction

n. \*: réagit mais sans amener de perturbation

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: 100000 = limite de dilution.

BIBLIOGRAPHIE.

- 1) V. Caglioti, Rend. Accad. sci. Napoli **34**, 4 (1927); C. **1927**, II, 1739; Abstr. **1928**, 1300. Mikroch. **7**, 142 (1929).
- 2) A. Combes, C. r. **119**, 1221 (1894).
- 3) H. Fischer, Z. anal. Ch. **73**, 54 (1928).
- 4) I. M. Kolthoff, Am. Soc. **50**, 393 (1928).
- 5) G. Rienäcker, Z. anal. Ch. **88**, 29 (1932).
- 6) Th. Grosset, Ann. Soc. sci. Bruxelles [B] **53**, 16 (1933); C. **1933**, II, 94; Abstr. **1933**, 2902.
- 7) J. V. Dubsy et E. Krametz, Mikroch. **20**, 57 (1936).
- 8) W. Fischer, W. Dietz, K. Brüniger et H. Grieneisen, Angew. Ch. **49**, 726 (1936).
- 9) A. A. Benedetti-Pichler et W. F. Spikes, Mikroch. **21**, 268 (1937).
- 10) F. Feigl, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, 249 (1938).
- 11) P. Wenger et G. Gutzeit, Manuel de Chimie analytique qualitative minérale, 453 (1933).
- 12) A. S. Komarowsky et N. S. Poluektoff, Mikroch. **14**, 315 (1933/1934).
- 13) F. Feigl, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, 250 (1938).

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

121. Etude critique des réactifs des cations.

18. Réactifs des cations du zirconium

par Paul Wenger et Roger Duckert. (Collaboratrice Mlle Y. Rusconi.)

(26 VI 45)

Nous terminons cette série d'études<sup>1)</sup> — commencée en 1941 — par la publication de ce travail concernant le zirconium.

Nous nous sommes référés, comme précédemment, au Premier Rapport de la Commission Internationale des Réactions et Réactifs analytiques nouveaux, qui donne une liste importante de réactifs, que nous avons complétée par nos recherches bibliographiques portant sur les années 1937—1943.

Nous nous sommes inspirés des principes critiques déjà exposés dans toutes nos études précédentes.

<sup>1)</sup> Helv. **28**, 925 (1945) et études précédentes.



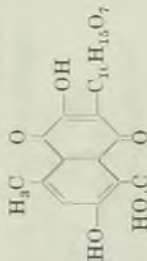
1. Réactifs des cations du zirconium dont nous ne recommandons pas l'emploi.

| N°          | Réactifs  | Auteurs   | Pas sensibles | Réagissent avec les cations du même groupe (Th <sup>IV</sup> , Al <sup>III</sup> , Ti <sup>IV</sup> , ...) | Réactifs utilisables, mais de moindre intérêt |
|-------------|---|---|---------------|--|---|
| Zr... 4*)   | Hydrogène-oxalate de potassium . . . . .                    | <i>Behrens-Kley</i> . . . . .                       |               |  | +   |
| Zr... 5     | Acide nitro-3-phénylarsinique . . . . .                     | <i>F. Pavelka</i> . . . . .                         | +             |  |   |
| Zr... 10    | Pyrogallolaldéhyde . . . . .                                | <i>H. Kaserer</i> . . . . .                         |               | +  |   |
| Zr... 11    | Nitroso-1-naphtol-2 . . . . .                               | <i>I. Bellucci et G. Savoia</i> . . . . .           |               | +  | +   |
| Zr... 12    | Nitroso-2-naphtol-1 . . . . .                               | <i>I. Bellucci et G. Savoia</i> . . . . .           |               | +  |   |
| Zr... 13    | Acide picrique . . . . .                                    | <i>F. Steidler</i> . . . . .                        |               | +  |   |
| Zr... 14    | Acétylacétone + carbonate de sodium . . . . .               | <i>G. von Hevusy et M. Logstrup</i> . . . . .       | +             |  |   |
| Zr... 15    | Gallocyanine . . . . .                                      | <i>F. Pavelka</i> . . . . .                         |               | +  |   |
| Zr... 16    | Tétrahydroxy-1,2,5,8-anthraquinone (quinizarine) . . . . .  | <i>A. S. Komarowsky et I. M. Korenman</i> . . . . . |               | +  |   |
| Zr... 17    | Hexanitrodiphénylamine-sodium (aurantia) . . . . .          | <i>O. G. Scheinzigis</i> . . . . .                  |               | +  |   |
| Zr... 25    | Dihydroxy-1,2-anthraquinone (alizarine) . . . . .           | <i>F. Pavelka</i> . . . . .                         |               | +  | +   |
| Zr... 26    | Curcumine + nitroso-1-naphtol-2 . . . . .                   | <i>F. Steidler</i> . . . . .                        | +             |  |   |
| Zr... 29    | Acides alcoylarsiniques . . . . .                           | <i>F. Feigl et collaborateurs</i> . . . . .         |               | +  |   |
| Zr... 31**) | Pentahydroxy-3,5,7,2',4'-flavone (morine) . . . . .         | <i>G. Beck</i> . . . . .                            | +             |  | +   |
| Zr... 32    | Acide gallique . . . . .                                    | <i>F. M. Semiakin</i> . . . . .                     |               | +  |   |
| Zr... 33    | Chlorhydrate de morphine . . . . .                          | <i>F. M. Semiakin</i> . . . . .                     |               | +  |   |
| Zr... 34    | Acide hydroxy-2-méthyl-5-azobenzène-sulfonique-4' . . . . . | <i>W. I. Kusnetzow</i> . . . . .                    |               | +  |   |

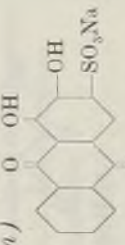
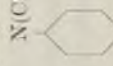
\*) Ces numéros ont été adoptés dans le Deuxième Rapport de la Commission des Réactifs.

\*\*) Les 4 derniers réactifs ne figurent pas dans le « Deuxième Rapport ».

2. Réactifs des cations du zirconium dont nous recommandons l'emploi.

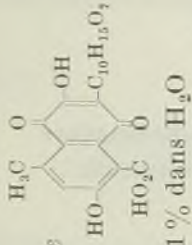
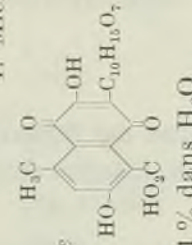
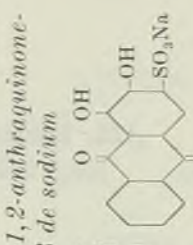
| N°         | Réactifs   | Bibliographie | Caractéristiques de la réaction | Sensibilité (Limite de perceptibilité) | Limite de dilution                             | Spécificité  |
|------------|--|---------------|---------------------------------|--|--|--|
| Zr.... 1   | Chlorure de rubidium +<br>fluorure d'ammonium<br><br>ClRb + FNH <sub>4</sub><br><br>Sels solides   | 1             | III*)<br>20—60°<br>↓w           | 1,5[M] <sup>0,01</sup>                 | 1 : 6 × 10 <sup>3</sup><br>10 <sup>-3,78</sup> | n, O ou n. * : Bi, Cd, As, Sb, Au, Rh, Pd, Pt, W, V, Al, Cr, U, Be, Ti, Zn, Co, Ni, alcalino-terreux, alcalins<br>Sensibilité diminuée par : Ag, Hg, Cu, Pb, Sn, Se, Te, Mo, Nb, Ta, Terres rares, Ce, Ti, Th, Mn<br>* : Fe...   |
| Zr..... 27 | Acide carminique<br><br><br><br>Solution à 1 % dans H <sub>2</sub> O | 2—3           | I CIH<br>20°<br>↓ □ v           | 1 [A] <sup>0,03</sup>                  | 1 : 3 × 10 <sup>4</sup><br>10 <sup>-4,48</sup> | n, O ou n. * : Ag, Hg, Cu, Pb, Bi, Cd, As, Sb, Sn, Au, Rh, Pd, Ir, Pt, Se, Te, Mo, W, V, Ta, Al, Fe, Cr, U, Terres rares, Ce... , Y, Th, Ti, Zn, Mn, Co, Ni, alcalino-terreux, alcalins<br>Sensibilité diminuée par : Nb, Ce... , Be, Sc<br>* : Ti, F', SO <sub>4</sub> '', PO <sub>4</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-<br>téristiques<br>de<br>la réaction | Sensibilité<br>(Limite de<br>percep-<br>tibilité) | Limite<br>de<br>dilution                       | Spécificité   |
|----------------------------------|---|---------------|--|---|--|---|
| Zr.....24                        | Dihydroxy-1,2-anthraquinone-<br>sulfonate-3 de sodium<br>(albizarine-sulfonate<br>de sodium) <br>Solution à 1 % dans H <sub>2</sub> O | 4             | I CIH*)<br>20°<br>↓ □ r                    | I [A] <sup>10,03</sup>                            | 1 : 3 × 10 <sup>4</sup><br>10 <sup>-4,48</sup> | n. O ou n. * : Ag, Hg, Pb,<br>Bi, Cd, As, Sb, Sn, Au, Rh,<br>Pd, Ir, Pt, Se, Te, Mo, W, V,<br>Nb, Ta, Al, Fe, Cr, Terres<br>rares, Ce... , Y, Tl, Zn, Mn,<br>Co, Ni, alcalino-terreux, al-<br>calins<br>Sensibilité diminuée par:<br>Cu, U, Ce... , Tl, Th, Be,<br>Tl... , Sc                                   |
| 3. Touche sur papier filtre (B). |   |               |  |   |  |   |
| Zr.....28                        | Acide diméthylamino-4-<br>phénylazo-phénylglycine-4'<br><br>Solution à 2 % dans CIH 10N  | 5—7           | II CIH<br>50—60°<br>□ br-or                | 0,3 [B] <sup>10,03</sup>                          | 1 : 10 <sup>6</sup><br>10 <sup>-5</sup>        | n. O ou n. * : Ag, Hg, Cu,<br>Pb, Bi, Cd, As, Sb, Sn, Au,<br>Rh, Pd, Ir, Pt, Se, Te, V,<br>Nb, Ta, Al, Fe, Cr, U, Terres<br>rares, Ce, Y, Th, Be, Tl, Sc,<br>Zn, Mn, Co, Ni, alcalino-<br>terreux, alcalins<br>Sensibilité diminuée par:<br>Mo, W, Tl après masquage<br>par O <sub>2</sub> H <sub>2</sub> à 30% |

\*) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.



| N°                                    | Réactifs  | Bibliographie | Carac-<br>téristiques<br>de<br>la réaction | Sensibilité<br>(Limite de<br>percep-<br>tibilité) | Limite<br>de<br>dilution                       | Spécificité    |
|---------------------------------------|---|---------------|--|---|--|----------------|
| Zr.....27                             | <p align="center">  <br/> <i>Acide carminique</i><br/>           Solution à 1 % dans H<sub>2</sub>O         </p>  | 2—3           | I CIH*<br>20°<br>□V                        | 3[B] <sup>0,03</sup>                              | 1 : 10 <sup>4</sup><br>10 <sup>-4</sup>        | Voir plus haut |
| 4. Micro- et macro-épreuves (C et D). |   |               |  |   |  |                |
| Zr.....27                             | <p align="center">  <br/> <i>Acide carminique</i><br/>           Solution à 1 % dans H<sub>2</sub>O         </p>  | 2—3           | I CIH<br>20°<br>↓□V                        | 50[D] <sup>5</sup>                                | 1 : 10 <sup>5</sup><br>10 <sup>-5</sup>        | Voir plus haut |
| Zr.....24                             | <p align="center">  <br/> <i>Dihydroxy-1,2-anthraquinone-sulfonate-3 de sodium (alizarine-sulfonate-3 de sodium)</i><br/>           Solution à 1 % dans H<sub>2</sub>O         </p> | 4             | I CIH<br>20°<br>↓□r                        | 100[D] <sup>5</sup>                               | 1 : 5 × 10 <sup>4</sup><br>10 <sup>-4,70</sup> | Voir plus haut |

\* ) Voir les signes conventionnels et les abréviations à la fin de l'article.

ABREVIATIONS.

(Adoptées par la « Commission Internationale des Réactifs ».)

|                     |  |
|---------------------|--|
| A: godet            | I: fortement acide   |
| B: papier filtre    | II: acide  |
| C: micro-éprouvette | III: neutre  |
| D: macro-éprouvette | 20°: température à laquelle<br>doit être faite la réaction |
| M: microscope       | □: coloration  |
| ↓: précipité        | v: violet  |
| w: blanc            | br: brun   |
| r: rouge            | or: orange   |

exemple: ↓ □ r = précipité rouge

n. ○: ne réagit pas (permet de discriminer)

\*: gêne la réaction

n. \*: réagit mais sans amener de perturbation

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: 100000 = limite de dilution

BIBLIOGRAPHIE

- 1) Behrens-Kley, Mikrochemische Analyse, 2e édition, Leipzig 1921, p. 113.
- 2) F. Pavelka, Mikroch. **8**, 345 (1930).
- 3) F. Feigl, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, 3e édition, Leipzig 1938, p. 257.
- 4) J. H. de Boer, Chem. Weekb. **21**, 404 (1924).
- 5) F. Feigl, P. Krumholz et E. Rajmann, Mikroch. **9**, 395 (1931).
- 6) F. Feigl, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, 3e édition, Leipzig 1938, p. 255.
- 7) P. Wenger et G. Gutzeit, Manuel de Chimie analytique qualitative minérale, Genève 1933, p. 455.

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

122. Konstitution der Dibenzal-*d*-idonsäure

von E. Seebeck, E. Sorkin und T. Reichstein.

(28. VI. 45.)

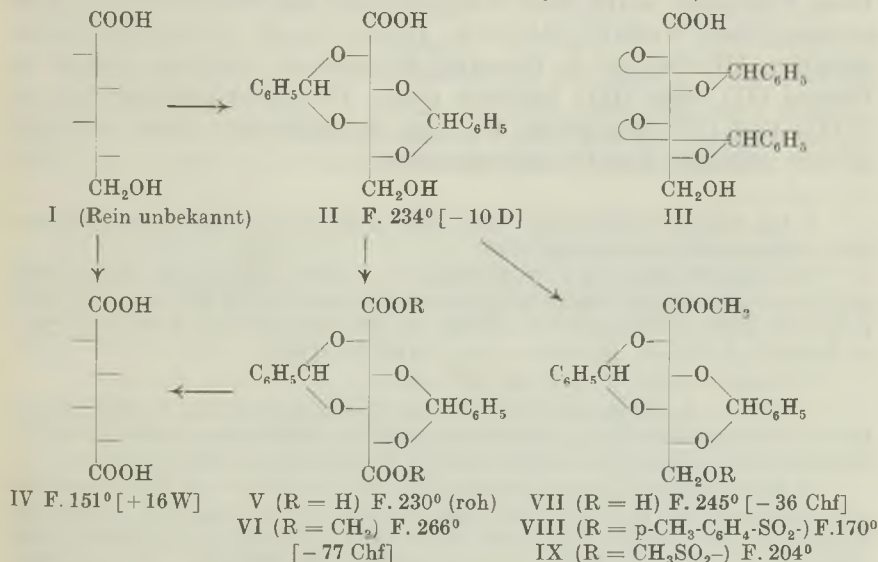
Die aus *d*-Idonsäure (I)<sup>1)</sup> mit Benzaldehyd leicht erhältliche Dibenzal-*d*-idonsäure<sup>2)</sup> ist wegen ihrer Schwerlöslichkeit und guten Krystallisierbarkeit für die Charakterisierung von *d*-Idonsäure öfters benützt worden, doch war ihre Konstitution bisher unsicher. Wie sich aus folgenden Umsetzungen ergibt, enthält Dibenzal-*d*-idonsäure eine freie Carboxyl- sowie eine freie primäre Hydroxylgruppe, sodass

<sup>1)</sup> E. Fischer, I. W. Fay, B. **28**, 1975 (1895), dort als *l*-Idonsäure bezeichnet.

<sup>2)</sup> W. A. van Ekenstein, C. A. Lobry de Bruyn, R. **18**, 306 (1899); W. A. van Ekenstein, J. J. Blanksma, R. **27**, 1 (1908).

nur die Formeln (II) und (III) für sie in Frage kommen. Da Benzaldehyd, wenn ihm die Möglichkeit geboten wird, mit 1,2- oder 1,3-ständigen HO-Gruppen zu reagieren, fast stets die letzteren bevorzugt, glauben wir, dass (II) richtig ist, ohne (III) ausschliessen zu können. Unter demselben Vorbehalt formulieren wir auch die weiteren Derivate entsprechend (II). Analog gebaut ist auch Dimethylen-*l*-idonsäure<sup>1</sup>).

*Micheel* und *Kraft*<sup>2</sup>) glaubten bei der Benzalierung von *d*- und *l*-Idonsäure jeweils zwei Isomere erhalten zu haben, die zwar dieselbe Drehung, aber etwas verschiedene Schmelzpunkte zeigten. Wir bereiteten Dibenzal-*d*-idonsäure direkt aus dem Bariumsalz der *d*-Idonsäure statt aus dem bisher verwendeten Natriumsalz, sonst in üblicher Weise. Das Rohprodukt zeigte einen unscharfen Schmelzpunkt, wie von *Micheel* und *Kraft* beschrieben, enthielt aber nicht zwei isomere Säuren, sondern neben der einheitlichen Säure stets eine kleine Menge (ca. 5%) einer hochschmelzenden, neutralen Verunreinigung, die sich durch Umkrystallisieren schwer ganz entfernen liess, aber beim Aufnehmen in Lauge ungelöst zurückblieb. Aus der filtrierten alkalischen Lösung wurde mit HCl sofort eine scharf schmelzende Säure gefällt, die bei der Methylierung mit Diazomethan einen einheitlichen, schwer löslichen Methylester (VII) lieferte.



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundeten Werte der spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Chf = Chloroform; D = Dioxan; W = Wasser.

<sup>1</sup>) W. N. Haworth, W. G. M. Jones, M. Stacey, L. F. Wiggins, Soc. 1944, 61; W. G. M. Jones, L. F. Wiggins, Soc. 1944, 363.

<sup>2</sup>) F. Micheel, K. Kraft, Z. physiol. Ch. 222, 235 (1933).



Aus dem Methylester (VII) bereiteten wir ein mikrokrystallines Tosylat (VIII) und ein gut krystallisierendes Mesylat (IX). Da es beim Erhitzen von (VIII) und (IX) mit NaJ in Aceton auch bei 120° nicht gelang, die Sulfoxyreste gegen Jod auszutauschen<sup>1)</sup>, glaubten wir zunächst, dass sie nicht an einer primären HO-Gruppe haften könnten<sup>2)</sup>. Dass dies doch der Fall ist, zeigte die Oxydation von (II) mit KMnO<sub>4</sub> in alkalischer Lösung. Wir erhielten dabei eine gut krystallisierende Dicarbonsäure, die durch einen sehr gut krystallisierenden Dimethylester charakterisiert wurde. Die Analysen zeigten, dass der Säure die Zusammensetzung C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub> zukommt, dass sie somit aus (II) ohne C-Verlust entstanden ist und daher die Formel (V) besitzen muss. Dies liess sich weiter bestätigen. *d*-Idonsäure wurde mit HNO<sub>3</sub> in *d*-Idozuckersäure<sup>3)</sup> übergeführt, die wir in krystallisierter Form<sup>4)</sup> gewinnen konnten. Sie wurde durch ein krystallisiertes, etwas hygroskopisches Derivat charakterisiert, das beim Erwärmen ihres rohen Lactons mit Phenylhydrazin entsteht und nach den Analysenergebnissen wahrscheinlich das Phenylhydrazinsalz des Mono-phenylhydrazids darstellt. Die hydrolytische Spaltung von (V) mit verdünnter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> lieferte ebenfalls kryst. *d*-Idozuckersäure, die wieder durch das genannte Phenylhydrazinderivat charakterisiert wurde. Beide Präparate waren nach Schmelzpunkt und Mischprobe mit dem authentischen Material identisch. Damit ist die Anwesenheit einer primären HO-Gruppe in Dibenzal-*d*-idonsäure bewiesen, sodass sie Formel (II) oder (III) besitzen muss. Die Reaktionsträgheit von (VIII) und (IX) gegenüber NaJ ist als Ausnahme einer recht allgemein gültigen Regel<sup>5)</sup> bemerkenswert.

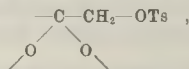
<sup>1)</sup> Das Tosylat (VIII) lieferte dabei überraschenderweise den freien Methylester (VII), während (IX) unverändert blieb.

<sup>2)</sup> Vgl. die Übersicht von J. W. H. Oldham, J. K. Rutherford, Am. Soc. **54**, 366 (1932). Mesylester sollen mit NaJ leichter reagieren als Tosylester. Vgl. B. Helferich, A. Gnüchtel, B. **71**, 712 (1938); B. Helferich, H. Jochinke, B. **73**, 1049 (1940) u. B. **74**, 719 (1941); B. Helferich, H. Dressler, R. Griebel, J. pr. [2] **153**, 285 (1939).

<sup>3)</sup> E. Fischer, I. W. Fay, B. **28**, 1975 (1895).

<sup>4)</sup> K. Rehorst, A. Naumann, B. **77**, 28 (1944) erwähnen, dass ihnen die Bereitung von kryst. *d*-Idozuckersäure gelang und künden eine entspr. Mitteilung an. Obwohl diese bisher nicht erschien, haben wir auf eine weitere Untersuchung der Säure verzichtet.

<sup>5)</sup> Bereits früher ist gezeigt worden, dass die Tosylester von  $\alpha$ -Diaceton-fructose und Diaceton-sorbose nicht oder nur äusserst schwer mit NaJ reagieren, trotzdem der Tosylrest an einer primären HO-Gruppe haftet. Vgl. P. A. Levene, R. S. Tipson, J. Biol. Chem. **120**, 607 (1937); H. Müller, T. Reichstein, Helv. **21**, 263 (1938). Die für die Hemmung verantwortliche Gruppierung



also ein benachbartes, doppelt mit O verbundenes C-Atom ist aber in (VIII) und (IX) nicht enthalten.

### Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ . Substanzproben zu Analyse und Drehung wurden, wo nichts anderes erwähnt, 2 Std. im Hochvakuum bei  $80\text{--}90^\circ$  getrocknet.)

#### 2,3,4,5-Dibenzal-*d*-idonsäure (II)<sup>1)2)</sup>.

14,5 g Brucialsalz der *d*-Idonsäure<sup>3)</sup> vom Smp.  $186\text{--}187^\circ$  wurden in  $75\text{ cm}^3$  heissem Wasser gelöst, mit der Lösung von 6,3 g  $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  (= 0,8 Mol.) in heissem Wasser versetzt und das ausfallende Brucin nach dem Erkalten mit Chloroform ausgeschüttelt. Die trübe wässrige Lösung wurde im Vakuum von Chloroform befreit, mit  $\text{CO}_2$  neutralisiert und heiss filtriert. Das im Vakuum zum dünnen Sirup eingedickte Filtrat wurde mit Alkohol gefällt. Das abgenutschte, mit Alkohol gewaschene und im Vakuum getrocknete amorphe Bariumsals wog 6,3 g<sup>4)</sup>.

4,4 g Bariumsals, 4,4 g frisch dest. Benzaldehyd und  $24\text{ cm}^3$  bei  $0^\circ$  gesättigte Salzsäure wurden zuerst manuell sehr kräftig geschüttelt, wobei schon nach kurzer Zeit ein Krystallbrei entstand, und hierauf noch 12 Std. auf der Maschine. Dann wurde mit Eiswasser verdünnt, abgenutscht, mit Wasser gewaschen und das feuchte Rohprodukt in ca.  $200\text{ cm}^3$  2-proz. KOH aufgenommen, wobei ca. 0,18 g Neutralprodukt vom Smp.  $210\text{--}240^\circ$  (Zers.) ungelöst blieben, von dem abfiltriert wurde. Das klare Filtrat wurde bei  $0^\circ$  mit konz. HCl bis zur kongosäuren Reaktion versetzt, die ausfallende Säure abgenutscht, mit Eiswasser gewaschen und im Vakuum über KOH getrocknet. Umkrystallisieren aus Methanol gab 3,6 g farblose Nadeln, Smp. bis zur letzten Fraktion  $234\text{--}236^\circ$ . Ein Isomeres wurde nicht gefunden.  $[\alpha]_{\text{D}}^{14} = -10,8^\circ \pm 5^\circ$  ( $c = 0,185$  in Methanol);  $[\alpha]_{\text{D}}^{14} = -9,7^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,360$  in Dioxan).

4,640 mg Subst. zu  $2,505\text{ cm}^3$  (Methanol);  $l = 2\text{ dm}$ ;  $\alpha_{\text{D}}^{14} = -0,04^\circ \pm 0,02^\circ$

9,070 mg Subst. zu  $2,5197\text{ cm}^3$  (Dioxan);  $l = 2\text{ dm}$ ;  $\alpha_{\text{D}}^{14} = -0,07^\circ \pm 0,02^\circ$

*Van Ekenstein* und *Lobry de Bruyn*<sup>1)</sup> fanden Smp.  $215^\circ$  und  $[\alpha]_{\text{D}} = -5^\circ$  ( $c = 0,4$  in Methanol) (übersättigte Lösung ?). *Micheel* und *Kraft*<sup>2)</sup> fanden Smp.  $227^\circ$  und  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -57,8^\circ$  ( $c = 1,00$  in ?) (Falls kein Kommafehler vorliegt, muss ein besonderes Lösungsmittel benützt worden sein, mit dem sich 1-proz. Lösungen bereiten lassen.)

#### 2,3,4,5-Dibenzal-*d*-idonsäure-methylester (VII).

1 g Dibenzal-*d*-idonsäure (II) vom Smp.  $234\text{--}236^\circ$  in  $300\text{ cm}^3$  Chloroform wurde mit überschüssiger Diazomethanlösung 2 Std. stehen gelassen. Neutralwaschen, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , starkes Einengen und vorsichtiger Methanolzusatz in der Wärme (zur Vermeidung gallertiger Abscheidung) gab 1 g farblose verfilzte Nadeln, Smp.  $245\text{--}247^\circ$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{14} = -35,5^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,549$  in  $\text{CHCl}_3$ ).

13,827 mg Subst. zu  $9,5197\text{ cm}^3$ ;  $l = 2\text{ dm}$ ;  $\alpha_{\text{D}}^{14} = -0,39^\circ \pm 0,03^\circ$

3,752 mg Subst. gaben 8,926 mg  $\text{CO}_2$  und 1,890 mg  $\text{H}_2\text{O}$

3,758 mg Subst. verbr.  $2,785\text{ cm}^3$  0,02-n.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (*Zeisel-Vieböck*)

$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_7$  (386,38) Ber. C 65,27 H 5,74  $-\text{OCH}_3$  8,03%

Gef. „ 64,92 „ 5,64 „ 7,66%

Der Ester ist in Chloroform mässig, in Methanol, Äther und Benzol schwer löslich und scheidet sich leicht gallertig ab.

<sup>1)</sup> *W. A. van Ekenstein, C. A. Lobry de Bruyn, R. 18, 306 (1899)*; *W. A. van Ekenstein, J. J. Blanksma, R. 27, 1 (1908)*.

<sup>2)</sup> *F. Micheel, K. Kraft, Z. physiol. Ch. 222, 235 (1933)*.

<sup>3)</sup> *E. Fischer, I. W. Fay, B. 28, 1975 (1895)*; *I. U. Nef, A. 403, 204 (1914)*, bes. 267.

<sup>4)</sup> *K. Rehorst, A. Naumann, B. 77, 28 (1944)* beschreiben ein kryst. Bariumsals der *d*-Idonsäure mit  $2\text{ H}_2\text{O}$ .

6-Tosyl-2,3,4,5-dibenzal-*d*-idonsäure-methylester (VIII).

0,3 g Dibenzal-*d*-idonsäure-methylester (VII) in 4 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin mit 0,18 g *p*-Toluolsulfochlorid in 5 cm<sup>3</sup> abs. Chloroform 16 Std. bei 18° stehen lassen. Dann mit 0,3 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O 2 Std. stehen gelassen, CHCl<sub>3</sub> im Vakuum entfernt und Pyridinlösung mit Wasser gefällt. Gallertiger Niederschlag scharf abgenutscht, mit H<sub>2</sub>O gewaschen, im Vakuum getrocknet und zweimal aus Chloroform-Petroläther umgefällt. Smp. 170—173°.

3,710 mg Subst. verbr. 0,741 cm<sup>3</sup> 0,02-n. KJO<sub>3</sub> (S-Best. nach *Bürger*<sup>1)</sup>)

C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>S (476,56) Ber. S 6,73 Gef. S 6,40%

Umsetzung mit NaJ: Je 100 mg (VIII) und NaJ wurden mit 1 cm<sup>3</sup> Aceton eingeschmolzen und 5 Std. auf 100° erhitzt. Es schieden sich nur wenige Krystalle Natriumtosylat aus. Übliche Aufarbeitung (Neutralwaschen in CHCl<sub>3</sub>) gab S-freien Methylester (VII) (Mischprobe).

6-Mesyl-2,3,4,5-dibenzal-*d*-idonsäure-methylester (IX).

0,1 g Dibenzal-*d*-idonsäure-methylester (VII) vom Smp. 245—247° in 2 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin bei 0° mit 0,1 g CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>Cl in 2 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin versetzt und 16 Std. bei 18° stehen gelassen. Nach Zusatz von 0,2 g Eis wurde noch 2 Std. stehen gelassen, im Vakuum eingedampft, in CHCl<sub>3</sub> aufgenommen, mit verd. HCl, Sodalösung und H<sub>2</sub>O gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingeeengt. Zusatz von Äther gab Nadeln vom Smp. 203—206°. Aus Aceton-Äther Smp. 204—206°. Mischprobe mit (VII) gibt Depression.

3,848 mg Subst. gaben 7,986 mg CO<sub>2</sub> und 1,833 mg H<sub>2</sub>O

7,410 mg Subst. verbr. 3,215 cm<sup>3</sup> 0,01-n. KOH (S-Best. nach *Pregl*)

C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>O<sub>5</sub>S (464,47) Ber. C 56,89 H 5,21 S 6,90%

Gef. ,, 56,64 ,, 5,33 ,, 6,95%

Umsetzung mit NaJ: 50 mg (IX) und 50 mg NaJ wurden mit 1 cm<sup>3</sup> Aceton eingeschmolzen und 5 Std. auf 100° erhitzt. Die übliche Aufarbeitung gab nur Ausgangsmaterial. Ebenso verlief ein Versuch bei 120°, während bei höherer Temperatur Zersetzung eintrat.

2,3,4,5-Dibenzal-*d*-idozuckersäure (V).

0,1 g Dibenzal-*d*-idonsäure (II) vom Smp. 234—236° und 0,1 g KOH wurden in 3 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O gelöst, mit 4 cm<sup>3</sup> 5-proz. KMnO<sub>4</sub>-Lösung versetzt und bei 18° stehen gelassen. Nach einer Stunde war noch nicht alles KMnO<sub>4</sub> verbraucht<sup>2)</sup>. Es wurden 2 Tropfen Methanol zugegeben und der Braunstein durch Erwärmen auf 50° koaguliert und abfiltriert. Das Filtrat gab bei 0° mit konz. HCl feine Nadeln. Abgenutscht, mit H<sub>2</sub>O gewaschen und im Vakuum getrocknet. 65 mg, Smp. 230—233°. Wiederholung mit 0,9 g (II) gab 0,59 g Rohkrystalle, Smp. 223—230°.

Dimethylester (VI). 0,59 g rohe Säure (V) wurden in heissem Methanol gelöst, abgekühlt und mit ätherischer Diazomethanolösung versetzt. Es fielen sofort farblose Nadeln aus, Smp. 266—267°. Sublimation im Molekularkolben bei 0,02 mm und 250° Badtemperatur sowie Umkrystallisieren aus Benzol-Petroläther gab 0,3 g analysenreines Produkt, Smp. unverändert.  $[\alpha]_D^{14} = -77,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 0,582$  in Chloroform).

14,666 mg Subst. zu 2,5197 cm<sup>3</sup>;  $l = 2$  dm;  $\alpha_D^{14} = -0,90^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,844 mg Subst. gaben 8,984 mg CO<sub>2</sub> und 1,873 mg H<sub>2</sub>O

2,986 mg Subst. verbr. 4,294 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (*Zeisel-Vieböck*)

C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub> (414,40) Ber. C 63,76 H 5,35 -OCH<sub>3</sub> 14,98%

Gef. ,, 63,75 ,, 5,45 ,, 14,87%

<sup>1)</sup> *K. Bürger*, Z. angew. Ch. **54**, 479 (1941); **55**, 245 (1942).

<sup>2)</sup> Sonst muss noch etwas zugegeben werden, doch ist dies ein Zeichen, dass die Reaktion schlecht verlaufen ist. Bei einem Versuch wurde sogar überhaupt keine (V), sondern nur Benzoesäure erhalten.



*d*-Idozuckersäure (IV)<sup>1)</sup> und Phenylhydrazin-Derivat.

a) Aus (I). 2,1 g amorphes<sup>2)</sup> *d*-Idonsäurelacton (aus 3 g Bariumsalz mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zerlegt) wurden wie bei Taloschleimsäure beschrieben<sup>3)</sup> mit HNO<sub>3</sub> oxydiert und ins Calciumsalz verwandelt. Die zuerst ausfallenden Calciumsalze waren rein weiss und reduzierten Fehling'sche Lösung nicht. Die später ausfallenden gelblichen reduzierten und wurden aus viel heissem Wasser durch starkes Einengen umkrystallisiert, worauf sie ebenfalls rein waren. Totalausbeute 1,3 g reines Salz<sup>1)</sup>.

890 mg Calciumsalz wurden in wenig heissem Wasser suspendiert und mit der genau erforderlichen Menge Oxalsäure heiss zerlegt. Die filtrierte farblose Lösung (enthielt eben noch nachweisbare Spuren Ca<sup>++</sup>) wurde im Vakuum zum dünnen Sirup eingedampft, dieser rasch in Aceton aufgenommen, filtriert und das Filtrat im Vakuum vollständig eingedampft (600 mg). Auf Zusatz von wenig Aceton nach wenigen Minuten 100 mg farblose Krystalle vom Smp. 142—148°. Zweimaliges Umkrystallisieren aus Aceton gab kleine Körner, Smp. 151—154°,  $[\alpha]_D^{14} = +15,6^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 1,024$  in H<sub>2</sub>O nach 10 Minuten).

25,36 mg Subst. zu 2,505 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{14} = +0,16^\circ \pm 0,03^\circ$

Die Drehung änderte sich beim Stehen bei ca. 14° wie folgt:  $[\alpha]_D^{14} = +12,8^\circ$  (1 Std.),  $+12,0^\circ$  (5 Std.),  $+10,3^\circ$  (24 Std.),  $+8,7^\circ$  (2,3 Tage),  $+3,2^\circ$  (7 Tage),  $-1,5^\circ$  (14 Tage),  $-4,9^\circ$  (20 Tage),  $-6,8^\circ$  (38 Tage),  $-9,2^\circ$  (65 Tage).

3,794 mg Subst. gaben 4,875 mg CO<sub>2</sub> und 1,642 mg H<sub>2</sub>O

19,50 mg Subst. verbr. bei 0° 18,45 cm<sup>3</sup> 0,01-n. Ba(OH)<sub>2</sub>

C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>8</sub> (210,14) Ber. C 34,27 H 4,79% Äquiv.-Gew. 105

Gef. „ 35,07 „ 4,84% „ 104

80 mg der im Hochvakuum bei 60° getrockneten Mutterlauge obiger Krystalle, 140 mg (3 Mol.) reines Phenylhydrazin und 1 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol wurden 2 Std. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt, wobei die Hauptmenge Alkohol abdestillierte. Beim Erkalten 80 mg hygroskopische Körner. Nach 4maligem Umkrystallisieren aus Alkohol-abs. Äther zerflossen die Krystalle an der Luft nur noch langsam. Zur Drehung bei 50° im Hochvakuum getrocknet, Smp. 104—107°,  $[\alpha]_D^{13} = -30,9^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,874$  in abs. Alkohol).

8,867 mg Subst. zu 1,014 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{13} = -0,27^\circ \pm 0,02^\circ$

3,049 mg Subst. (exsikkatortrocken) gaben 0,328 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (17°; 730 mm)

3,644 mg Subst. (exsikkatortrocken) 4 Std. im Hochvakuum bei 60° getrocknet, im Schweinchen eingewogen; Gew.-Verlust = 0,150 mg

C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>N<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O (426,43) Ber. N 13,18 H<sub>2</sub>O 4,22%

Gef. „ 12,18 „ 4,12%

3,494 mg Subst. (bei 60° getr.) gaben 6,753 mg CO<sub>2</sub> und 1,728 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>N<sub>4</sub> (408,41) Ber. C 52,91 H 5,93

Gef. „ 52,71 „ 5,54

b) Aus (VI). 0,29 g Dibenzal-*d*-idozuckersäure-dimethylester (VI) vom Smp. 266—267° wurden mit 0,5 g Ba(OH)<sub>2</sub> · 8 H<sub>2</sub>O in 5 cm<sup>3</sup> Methanol 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Hierauf wurde mit 2-proz. wässriger H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bis zur kongosauren Reaktion versetzt und weitere 4 Std. gekocht, wobei Benzaldehydgeruch auftrat. Die H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurde nun genau mit Ba(OH)<sub>2</sub> gefällt, das BaSO<sub>4</sub> über ein mit einer Spur Kohle gedichtetes Filter abgenutscht und das Filtrat, das eine eben nachweisbare Spur Ba<sup>++</sup> enthielt, im Vakuum auf 3 cm<sup>3</sup> eingedampft und wie bei a) ins Calciumsalz übergeführt. Ausbeute 0,1 g Calciumsalz. Zerlegen mit Oxalsäure gab 60 mg rohe *d*-Idozuckersäure + Lacton.

<sup>1)</sup> E. Fischer, I. W. Fay, B. 28, 1975 (1895).

<sup>2)</sup> K. Rehorst, A. Naumann, B. 77, 28 (1944) beschreiben ein krystallisiertes *d*-Idonsäurelacton.

<sup>3)</sup> M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 19, 105 (1936).

Daraus mit Aceton 15 mg Krystalle, Smp. 149—151°. Mischprobe mit Analysenpräparat nach a) ebenso. Die Mutterlaugen gaben mit Phenylhydrazin erhitzt Krystalle vom Smp. 103—107°. Mischprobe mit Phenylhydrazin-Derivat nach a) ebenso.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

### 123. Krystallisiertes *d*-Idose-benzylmercaptal

von *E. Sorkin* und *T. Reichstein*.

(28. VI. 45.)

Rohe, nach *Fischer* und *Fay*<sup>1)</sup> bereitete *d*-Idose wurde in üblicher Weise mit *p*-Bromphenylhydrazin, *p*-Nitrophenylhydrazin, *o*-Nitrophenylhydrazin, Diphenylhydrazin sowie mit Benzylmercaptan umgesetzt. Die Hydrazinderivate krystallisierten auch nach 1-jährigem Stehen (in einer Spur Methanol gelöst und eingeschmolzen) bei 0° nicht, hingegen gab das Benzylmercaptal nach einem Jahr plötzlich Krystalle<sup>2)</sup>. Nun wurde die auf neuem Wege<sup>3)</sup> bereitete rohe *d*-Idose ebenfalls ins Benzylmercaptal übergeführt, das beim Impfen leicht krystallisierte. Es bildet farblose Nadeln vom Smp. 38—40° und  $[\alpha]_D^{19} = +139,1^{\circ}$  (Chloroform). Damit ist erstmals ein kryst. Derivat der *d*-Idose aufgefunden worden, das sich relativ leicht bereiten und wieder in den freien Zucker überführen lässt. Die Spaltung führten wir nach der Methode von *Wolfrom*<sup>4)</sup> genau unter den von *Richtmyer* und *Hudson*<sup>5)</sup> für die Zerlegung des *d*-Altrose-benzylmercaptals angegebenen Bedingungen durch und erhielten die freie *d*-Idose in analysenreinem Zustand als farblosen Sirup mit der spez. Drehung  $[\alpha]_D^{17} = +13,7^{\circ}$  (Wasser). Für ein aus dem kryst. *d*-Idose-pentaacetat gewonnenes Präparat wurde kürzlich<sup>6)</sup> ein fast gleicher Wert gefunden.

#### Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze  $\pm 2^{\circ}$ )

#### *d*-Idose-benzylmercaptal.

2 g trockenes, amorphes Gemisch von *d*-Idose und *d*-Idosan<sup>7)</sup>, aus dem letzteres durch Krystallisation möglichst abgetrennt war, wurden mit 2 cm<sup>3</sup> bei —15° gesättigter

1) *E. Fischer, I. W. Fay, B. 28, 1975 (1895).*

2) Diese Versuche wurden von *Hrn. E. Seebeck* angesetzt.

3) *E. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 1 (1945).*

4) *M. L. Wolfrom, Am. Soc. 51, 2188 (1929).*

5) *N. K. Richtmyer, C. S. Hudson, Am. Soc. 57, 1716 (1935).*

6) *E. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 662 (1945).*

7) *E. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 1 (1945).*

Salzsäure, 3,2 cm<sup>3</sup> Benzylmercaptan und 0,2 g gepulvertem, wasserfreiem ZnCl<sub>2</sub> versetzt und 10 Min. energisch geschüttelt<sup>1)</sup>. Die homogene Lösung wurde mit Eiswasser versetzt und mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Sodalösung und Wasser gewaschene und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Chloroformlösung hinterliess beim Eindampfen im Vakuum 3,1 g Rohprodukt. Aus Methanol-Äther bei -10° nach Impfen 1,3 g farblose Nadeln, Smp. 38—40°. Aus der Mutterlauge beim Einengen noch etwas Krystalle derselben Reinheit.  $[\alpha]_D^{20} = +139,10 \pm 1^{\circ}$  ( $c = 1,502$  in Chloroform).

15,238 mg Subst. zu 1,014 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{19} = +2,09^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum kurz geschmolzen (Verlust 5,4%).

3,554 mg Subst. gaben 7,595 mg CO<sub>2</sub> und 2,055 mg H<sub>2</sub>O

3,313 mg Subst. verbr. 6,129 cm<sup>3</sup> 0,01-n. KOH (S-Bestimmung nach Pregl)

C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> (378,41) Ber. C 58,51 H 6,38 S 15,62%

Gef. ,, 58,33 ,, 6,47 ,, 15,56%

Bereitung der Impfkristalle. Eine Probe roher, nach *Fischer* und *Fay* (l. c.) bereiteter *d*-Idose wurde analog ins Benzylmercaptan übergeführt und dieses mit wenig Methanol eingeschmolzen bei -10° aufbewahrt. Nach ca. 1 Jahr trat plötzlich Krystallisation ein. Aufarbeitung wie oben gab Nadeln, Smp. 38—40°; Mischprobe ebenso.

#### *d*-Idose aus *d*-Idose-benzylmercaptal.

1,23 g *d*-Idose-benzylmercaptal vom Smp. 38—40° und 2,5 g CdCO<sub>3</sub> wurden in eine Lösung von 1,628 g Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> in 86 cm<sup>3</sup> Wasser eingetragen und 3 Std. bei 50° kräftig gerührt. Nach Abkühlen wurde vom Niederschlag abgesaugt, das Filtrat mit Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> geschüttelt und über ein mit Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> gedichtetes Filter abgenutscht. Das Cl'-freie Filtrat wurde kurz mit H<sub>2</sub>S behandelt und durch ein mit wenig gewaschener Kohle gedichtetes Filter abgesaugt. Die farblose, Cl'- und Ag'-freie Lösung wurde im Vakuum eingedampft und der verbleibende farblose Sirup mit wenig Methanol verflüssigt und mit viel abs. Alkohol verdünnt. Von ausgefallenen Flocken abfiltriert, Filtrat eingedampft, Rückstand in abs. Alkohol gelöst und die erneut filtrierte Lösung eingedampft. Der leicht gelbliche Sirup wurde nun noch in Wasser gelöst, die Lösung über eine Spur gewaschene Kohle filtriert, eingedampft und im Hochvakuum bei 50° getrocknet.

Ausbeute 530 mg farbloser Sirup,  $[\alpha]_D^{17} = +13,7^{\circ} \pm 1,5^{\circ}$  ( $c = 2,470$  in Wasser ohne Mutarotation<sup>2)</sup>).

24,701 mg Subst. zu 1,000 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +0,34^{\circ} \pm 0,03^{\circ}$

Zur Analyse wurde 3 Tage im Vakuum über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,268 mg Subst. gaben 4,810 mg CO<sub>2</sub> und 2,023 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (180,15) Ber. C 40,00 H 6,71%

Gef. ,, 40,17 ,, 6,93%

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

#### Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

<sup>1)</sup> Vgl. analoge Vorschrift von *O. Th. Schmidt*, *E. Wernicke*, A. 556, 179 (1944). Dieses Verfahren gibt merklich bessere Ausbeuten als das übliche mehrstündige Schütteln ohne ZnCl<sub>2</sub> und mit mehr HCl.

<sup>2)</sup> *E. Sorkin*, *T. Reichstein*, Helv. 28, 662 (1945) fanden für *d*-Idose aus Pentaacetat  $[\alpha]_D^{13} = +15,8^{\circ} \pm 1^{\circ}$ .



## 124. Zur Kenntnis der Triterpene.

(98. Mitteilung<sup>1)</sup>).

### Abbau des Lupeols in den Ringen A und B zu einer C<sub>26</sub>-Tricarbonsäure

von L. Ruzicka, O. Jeger und W. Huber.

(28. VI. 45.)

Vor kurzem zeigten wir, dass beim  $\alpha$ -Amyrenonol<sup>1)</sup> und dem aus der Sumaresinolsäure zugänglichen 13,28-Lacton der 2,13-Dioxy-7-oxo-oleanan-28-säure<sup>2)</sup> die Wasserabspaltung mit Phosphor-pentachlorid zur Retropinakolinumlagerung und Ringverengung führt. Nach der Umformung der ursprünglichen, der Hydroxylgruppe benachbarten quaternären Gruppierung konnten die Ringe A und B der Sumaresinolsäure durch Oxydation geöffnet werden, wobei eine Tetrasäure mit 26 Kohlenstoffatomen entsteht. Im folgenden berichten wir über den analogen Abbau des Lupanols<sup>3)</sup> (Dihydro-lupeol).

Bei der Umsetzung des Lupanols C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>O (Teilformel I) mit Phosphor-pentachlorid erhält man einen als  $\gamma$ -Lupen bezeichneten Kohlenwasserstoff C<sub>30</sub>H<sub>50</sub><sup>4)</sup>, dem wir auf Grund der Resultate dieser Arbeit die Teilformel II zuschreiben.

Bei der Oxydation mit Osmiumtetroxyd liefert II ein gesättigtes Diol (III), das bei weiterer Umsetzung mit Blei(IV)-acetat in das Keton C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O (IV) übergeht. Als leicht flüchtiges Produkt der Reaktion wurde in ca. 70-proz. Ausbeute Aceton über das 2,4-Dinitro-phenylhydrazon nachgewiesen. Bei der Oxydation des  $\gamma$ -Lupens mit Chromsäure in Eisessiglösung bei 80° erhält man eine einbasische Säure C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>O<sub>5</sub>, die beim Kochen mit 0,1-n. alkoholischem Kaliumhydroxyd 3 Mol Alkali verbraucht. Die 5 Sauerstoffatome der Verbindung C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>O<sub>5</sub> sind darnach als eine Carboxyl- und eine Dicarbonsäure-anhydrid-Gruppe charakterisiert. Von den zwei zur Diskussion stehenden Formeln Va und Vb ziehen wir, aus Analogiegründen, die erste vor, da wir für das analoge Abbauprodukt des Hederagenins und der Sumaresinolsäure eine der Verbindung Va entsprechende Gruppierung streng bewiesen haben<sup>5)</sup>.

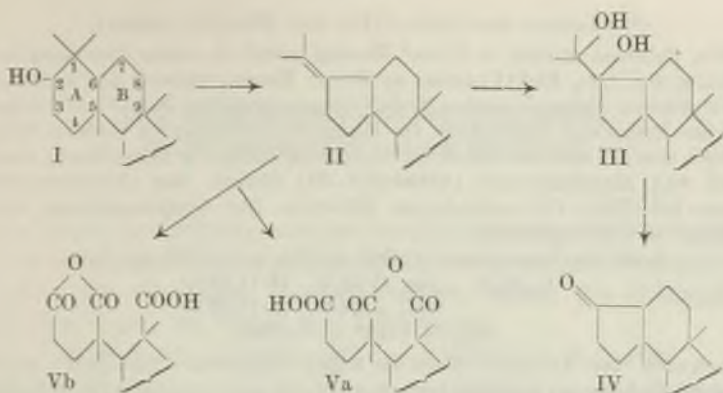
<sup>1)</sup> 97. Mitt. Helv. **28**, 767 (1945).

<sup>2)</sup> Helv. **28**, 380 (1945).

<sup>3)</sup> Ruzicka, Huyser, Pfeiffer und Seidel, A. **471**, 39 (1929).

<sup>4)</sup> Der Kohlenwasserstoff wurde zuerst von Heilbron, Kennedy und Spring, Soc. **1938**, 329 dargestellt. Die Autoren geben den Smp. 197—199° an. Wir stellten fest, dass  $\gamma$ -Lupen in offener Kapillare unscharf schmilzt, im Hochvakuum dagegen den scharfen Smp. von 212—213° zeigt.

<sup>5)</sup> Helv. **28**, 380 (1945).



Die durchgeführten Umsetzungen, welche zu der Verbindung Va führten, schliessen die Anwesenheit einer angulären, durch Dehydrierung nicht erfassbaren Methylgruppe am Kohlenstoffatom 6 des Lupeols aus. Va ist ein leicht zugängliches und für weitere Abbaureaktionen – u. a. zur direkten Erfassung der am Kohlenstoffatom 5 (Teilformel I) zu erwartenden Methylgruppe – geeignetes Ausgangsmaterial.

Der Rockefeller Foundation in New York danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil<sup>1)</sup>.

#### Einwirkung von Phosphorpentachlorid auf Lupanol.

Gearbeitet wurde in Anlehnung an die Vorschrift von Heilbron, Kennedy und Spring<sup>2)</sup> Aus Chloroform-Methanol erhält man bei 212–213° schmelzende Prismen (Hochvakuum).

$C_{30}H_{50}$  Ber. C 87,73 H 12,27%

Gef. „ 87,66 „ 12,35%

$[\alpha]_D = -12,2^\circ$  ( $c = 0,987$ )

#### Oxydation des $\gamma$ -Lupens (II) mit Osmiumtetroxyd zum Diol (III).

Zu einer Lösung von 2,6 g  $\gamma$ -Lupen in 200 cm<sup>3</sup> absolutem Äther werden 1,6 g Osmiumtetroxyd zugegeben. Nach 14 Tagen wird der Äther abgedampft und der Rückstand in 20 cm<sup>3</sup> Benzol und 20 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und mit 3,2 g Mannit und mit einer Lösung von 2 g Kaliumhydroxyd in 5 cm<sup>3</sup> Wasser und 10 cm<sup>3</sup> Alkohol versetzt. Das Gemisch wird 2 Stunden am Rückfluss erhitzt, nach der Aufarbeitung das Diol (2,7 g) in Benzol gelöst und durch eine Säule aus 80 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) filtriert. Mit 1600 cm<sup>3</sup> Äther werden 2,6 g des Diols erhalten. Aus Äther erhält man gegen Tetranitromethan gesättigte Blättchen, die zwischen 135–142° sintern, dann fest werden und schliesslich bei 164–165° scharf schmelzen. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet.

3,650 mg Subst. gaben 10,606 mg CO<sub>2</sub> und 3,757 mg H<sub>2</sub>O

$C_{30}H_{52}O_2 \cdot \frac{1}{2} H_2O$  Ber. C 79,40 H 11,77%

Gef. „ 79,30 „ 11,52%

$[\alpha]_D = -13,6^\circ$  ( $c = 0,737$ )

<sup>1)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert. Die spez. Drehungen wurden in Chloroform in einem Rohr von 1 dm Länge bestimmt.

<sup>2)</sup> Soc. 1938, 329.

Oxydation des Diols (III) mit Blei(IV)-acetat.

1,19 g Substanz werden in 27 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, in einem Destillierkolben mit einer Lösung von 1,4 g Blei(IV)-acetat in 33 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt und 6 Stunden bei 25° stehen gelassen. Darnach werden 10 cm<sup>3</sup> Wasser zugegeben und 10 cm<sup>3</sup> Essigsäure in zwei gleichen Fraktionen abdestilliert. Die Essigsäure wird dann im Vakuum weitgehend eingedampft und der neutrale Anteil der Oxydation (1,05 g) in Benzollösung durch eine Säule aus 40 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) filtriert. Aus Chloroform-Methanol erhält man bei 173,5—174° schmelzende Blättchen. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum bei 150° sublimiert.

3,680 mg Subst. gaben 11,369 mg CO<sub>2</sub> und 3,790 mg H<sub>2</sub>O

|                                   |        |       |   |        |
|-----------------------------------|--------|-------|---|--------|
| C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O | Ber. C | 84,31 | H | 11,53% |
|                                   | Gef. „ | 84,31 | „ | 11,52% |

$[\alpha]_D = +107^\circ$  ( $c = 0,730$ )

Nachweis des Acetons. Nach der früher angegebenen Vorschrift<sup>1)</sup> erhält man aus der ersten Fraktion des Destillats (vgl. oben) 60—65 mg des bei 123—125° schmelzenden Aceton-2,4-dinitro-phenylhydrazons. Bei der Berücksichtigung einer gleichzeitig durchgeführten Blindprobe<sup>2)</sup> errechnet sich die Ausbeute an Aceton zu ungefähr 70% der Theorie.

Das bei 128° schmelzende Analysenpräparat des Aceton-2,4-dinitro-phenylhydrazons wurde dreimal aus Methanol umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 70° 60 Stunden getrocknet.

3,754 mg Subst. gaben 6,254 mg CO<sub>2</sub> und 1,427 mg H<sub>2</sub>O

|  |        |       |   |       |
|--|--------|-------|---|-------|
| C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> | Ber. C | 45,38 | H | 4,23% |
|  | Gef. „ | 45,45 | „ | 4,26% |

Oxydation des  $\gamma$ -Lupens (II) mit Chromsäure zu Va.

In drei gleichen Ansätzen wird je 1 g Substanz in 50 cm<sup>3</sup> Eisessig bei 80° suspendiert und mit einer Lösung von 2 g Chromtrioxyd in 1,5 cm<sup>3</sup> Wasser und 12 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt. Das Oxydationsmittel wird rasch verbraucht und die Substanz gleichzeitig gelöst. Nach 40 Minuten wird die überschüssige Chromsäure mit Methanol zerstört, die Lösung in angesäuertes Wasser gegossen und der Niederschlag in Äther aufgenommen. Die drei Ansätze werden nun gemeinsam aufgearbeitet. Mit 15-proz. Kaliumhydrogencarbonatlösung entzieht man der ätherischen Lösung 0,90, mit 2-n. Sodalösung 0,63 und mit 2-n. Kallialauge 0,20 g Säuren. Nach dem Abdampfen des Äthers verbleiben 0,72 g amorphe, neutrale Oxydationsprodukte.

Die aus dem Kaliumhydrogencarbonat- und dem Soda-Auszug gewonnenen Säuren krystallisieren beim Bespritzen mit Äther in Nadeln, die bei 255—260° schmelzen und bei der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigung geben. Durch Umlösen aus Methylenchlorid-Äther und Äther erhält man bei 268—270° (Hochvakuum) schmelzende Krystalle. Analysiert wurden zwei verschiedene, im Hochvakuum bei 80° getrocknete Präparate.

3,666; 3,720 mg Subst. gaben 9,707; 9,816 mg CO<sub>2</sub> und 3,053; 3,164 mg H<sub>2</sub>O

6,659 mg Subst. wurden in 25 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und mit 0,01-n. Kalialauge kalt titriert. Verbraucht wurden 2,158 cm<sup>3</sup> 0,01-n. KOH.

4,672 mg Subst. wurden mit 0,1-n. alkohol. KOH 15 Stunden gekocht und mit 0,1-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zurücktitriert. Verbrauch: 0,306 cm<sup>3</sup> 0,1-n. KOH.

|  |        |              |   |             |                  |        |             |        |
|--|--------|--------------|---|-------------|------------------|--------|-------------|--------|
| C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>5</sub> | Ber. C | 72,19        | H | 9,32 %      | Mol.-Gew. (Tit.) | 432,58 | (Verseifg.) | 144,19 |
|  | Gef. „ | 72,26; 72,01 | „ | 9,35; 9,52% | „                | 382    | „           | 152,6  |

$[\alpha]_D = -68^\circ$  ( $c = 0,932$ )

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der  
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

<sup>1)</sup> Helv. 23, 770 (1945).

<sup>2)</sup> Vgl. die genaue Beschreibung in Helv. 28, 770 (1945).

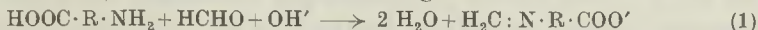


## 125. Zur Kenntnis der Formoltitration

von W. D. Treadwell und Jon Bergsland.

(29. VI. 45.)

Die Säureverstärkung, welche die Zwitterionen der Aminocarbonsäuren beim Zusatz von Formaldehyd aufweisen, hat *Soerensen*<sup>1)</sup>, der Begründer der wichtigen Formoltitration, durch die Bildung einer *Schiff*'schen Base, im Sinne der Gleichung:



zu erklären versucht, wobei die Säureverstärkung in einer Schwächung der basischen Eigenschaften des Stickstoffatoms durch die Bildung der Methylenverbindung bestehen soll. Ausser den Methylenverbindungen, welche *Schiff*<sup>2)</sup> aus Lösungen von Aminosäuren mit Formaldehyd isoliert hat, sind noch verschiedene andere Additionsprodukte aus solchen Gemischen isoliert worden, so z. B. von *Franzen* und *Fellner*<sup>3)</sup>, von *Krause*<sup>4)</sup> und von *Bergmann* und Mitarbeitern<sup>5)</sup>. Je nach der Herstellungsart enthalten diese Verbindungen 1—3 Molekeln Formaldehyd pro Aminosäure. Die bei der Formoltitration auftretende spontane Säureverstärkung hat nun reversibeln Charakter, denn sie wird durch einen steigenden Überschuss an Formaldehyd bis zu einer gewissen Grenze gefördert und kann durch Verdrängung des Formaldehyds durch einen indifferenten Gasstrom wieder teilweise rückgängig gemacht werden. Es sollte daher bei der Formulierung der Säureverstärkung die Anlagerung des Formaldehyds an die Aminosäure durch eine lockere Bindung mit geringer Aktivierungsenergie gekennzeichnet sein, was bei den unpolaren Bindungen der Methylengruppe in der *Schiff*'schen Base nicht der Fall sein kann.

*Levy*<sup>6)</sup> fand bei der Auswertung seiner Formoltitrationenkurven, dass die Monoaminosäuren 1 und 2 Molekeln Formaldehyd anzulagern vermögen. In den eben zitierten präparativen Ergebnissen sah er eine Stütze für seine Folgerungen. Die erwähnten Formol-Aminosäureverbindungen sind nun manchmal zur Deutung der Säureverstärkung bei der Formoltitration herangezogen worden, ohne genügende Berücksichtigung des Umstandes, dass sie bei wesentlich anderen Versuchsbedingungen erhalten worden sind, als sie bei einer Formoltitration bestehen.

<sup>1)</sup> Bioch. Z. 7, 45 (1907).

<sup>2)</sup> A. 310, 25 (1900); 319, 59 (1901); 325, 348 (1902).

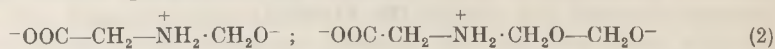
<sup>3)</sup> J. pr. [2] 95, 299 (1917).

<sup>4)</sup> B. 51, 136, 542, 1556 (1918); 52, 1211 (1919).

<sup>5)</sup> Z. physiol. Ch. 131, 18 (1923); B. 57, 662 (1924); Z. physiol. Ch. 145, 194 (1925).

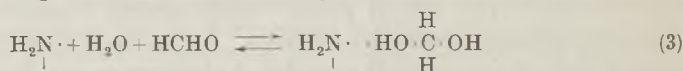
<sup>6)</sup> J. Biol. Chem. 99, 767 (1932—33).

*Tomiyama*<sup>1)</sup> entnimmt aus seinen Versuchen über das Gleichgewicht bei der Formoltitration, dass zunächst 1 Molekel Formaldehyd von der Aminosäure gebunden wird. Bei höherer Formaldehydkonzentration sollen analog gebaute Polyformylanionen im Sinne der folgenden Formel gebildet werden:

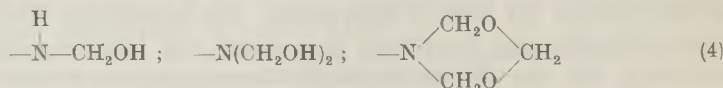


*Wadsworth* und *Pangborn*<sup>2)</sup> untersuchten die Einwirkung von Formaldehyd auf Aminosäuren in schwach alkalischer Lösung und fanden bei längerer Reaktionszeit (im Verlauf von mehreren Wochen bei 39° C), dass stabile Verbindungen entstehen, die gegen Methon in saurer Lösung weitgehend beständig sind. Die Autoren nehmen an, dass aus einem lockeren Additionsprodukt zunächst ein labiles chemisches Zwischenprodukt entsteht, welches dann langsam in die stabile, von Methon kaum mehr angreifbare Verbindung übergeht. *Levy* und *Silbermann*<sup>3)</sup> lehnen auf Grund des Verhaltens von Asparagin in Formaldehydlösung die Formulierung einer Methylenverbindung nach *Schiff* und die Bildung eines Diformylanions im Sinne von *Tomiyama* ab.

Um eine in drei Reaktionsstufen erfolgende Anlagerung des Formaldehyds an die Aminogruppe, im Sinne von *Wadsworth* und *Pangborn*, formelmässig auszudrücken, könnte man denken, dass sich zunächst ein Monohydrat des Formaldehyds im Sinne des folgenden reversibeln Gleichgewichtes locker anlagert:



Besonders wahrscheinlich erscheint uns dann weiter die Anlagerung des Formaldehyds in seiner Enolform an die Aminogruppe, wie sie schon von *Balson* und *Lawson*<sup>4)</sup> vorgeschlagen worden ist. An eine primäre Aminogruppe können so 1 und 2 Molekeln Formaldehyd sehr leicht angelagert werden. Unter Wasserabspaltung kann dann auch noch eine dritte Molekel hinzutreten, unter Bildung der folgenden Additionsprodukte:



*E. Baur*<sup>5)</sup> versuchte das Gleichgewicht zwischen Formaldehyd und Aminosäure in wässriger Lösung mit Hilfe von Gefrierpunktmessungen und Löslichkeitsbestimmungen zu ermitteln. Bei der

<sup>1)</sup> J. Biol. Chem. **111**, 51 (1935).

<sup>2)</sup> J. Biol. Chem. **116**, 423 (1936).

<sup>3)</sup> J. Biol. Chem. **118**, 723 (1937).

<sup>4)</sup> Biochem. J. **30**, 1257 (1936).

<sup>5)</sup> Helv. **23**, 233 (1940); **24**, 1018 (1941).

Löslichkeitsmethode wurde gesättigte Glycin- resp. Alaninlösung mit Formaldehyd versetzt und die Zunahme in der Löslichkeit der Aminosäure mit dem Formaldehyd (A·F) bestimmt. So wurden die folgenden Gleichgewichtskonstanten erhalten:

$$K = (A \cdot F) / (F)(A) = 0,804 \text{ (Mittel) für A = Glykokoll}$$

$$K = (A \cdot F) / (F)(A) = 0,12 \quad \text{für A = Alanin.}$$

Baur nimmt an, dass der Komplex A·F aus der Methinverbindung gemäss Gleichung 1 besteht, was jedoch aus reaktionskinetischen Gründen wenig wahrscheinlich ist. In den Titrationskurven der Komplexe mit Lauge sollte sich der grosse Unterschied der obigen K-Werte in einer grösseren Verzerrung bei der Titrationskurve des Alanins bemerkbar machen, was jedoch nicht der Fall ist.

Wir haben daher versucht, uns über die Bindungsverhältnisse des Formaldehyds an Aminosäuren in wässriger Lösung durch einige weitere Versuche zu orientieren.

Extraktionsversuch mit Äther: Eine Lösung von 40 cm<sup>3</sup>, die 20 cm<sup>3</sup> 0.1-m. Glykokoll und 10 cm<sup>3</sup> 0,8-m. Formaldehyd enthielt, welche mit Natronlauge genau neutralisiert war, wurde in der Apparatur von Fig. 1 gleichförmig mit Äther extrahiert.

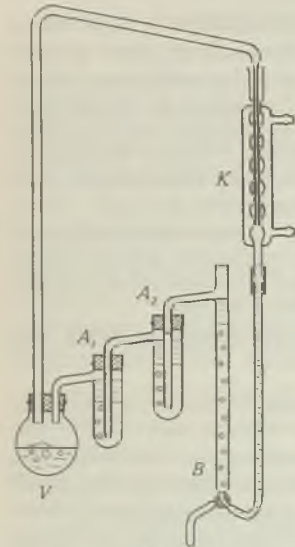


Fig. 1.  
Extraktionsapparat.

Zu dem Zweck wurde die Lösung in die Bürette B gefüllt. Aus dem Kolben V wurde der Äther über den Rückflusskühler K der Bürette zugeführt und so eine gleichmässige Extraktion der Lösung bewerkstelligt. Sowie die Äthersäule im Kühlerrohr genügend hoch war, perlten feine Äthertröpfchen durch die Bürette B empor. In dem Waschgefäss A<sub>2</sub> wurde der mitgeführte Formaldehyd durch eine Hydrogensulfidlösung, in dem Waschgefäss A<sub>1</sub> wurde mitgeführtes Schwefeldioxyd in Natronlauge zurückgehalten. Von Zeit zu Zeit wurden der Bürette geeignete Proben entnommen und der Formaldehyd darin nach der Cyanidmethode bestimmt. Zum Vergleich wurde eine analoge Versuchsreihe, jedoch ohne Zusatz von Aminosäure, ausgeführt. In der folgenden Tabelle 1 sind die entsprechenden Zahlen der Blindversuche in Klammern beigefügt.

Tabelle 1.

| Formaldehyd extrahiert nach | 0 Stunden | 0%   | ( 0%)  |
|-----------------------------|-----------|------|--------|
|                             | 2         | 83,3 | (79,3) |
|                             | 4         | 97   | (97,5) |
|                             | 6         | 100  | (100)  |

Wie man sieht, wird die Extraktion des Formaldehyds durch Äther nicht merklich gehemmt.

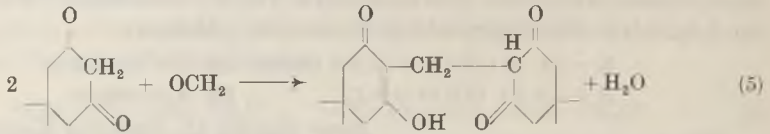
Versuche zur Fällung des nicht gebundenen Formaldehyds durch Methon<sup>1)</sup>: Dem Vorschlag von Wadsworth und Pangborn<sup>2)</sup> folgend, wurde die Bindung

<sup>1)</sup> Vorländer, Z. anal. Ch. 77, 241 u. 322 (1929); Ionescu und Bodea, Bl. [4] 47, 1408 (1930).

<sup>2)</sup> J. Biol. Chem. 116, 425 (1936).



des Formaldehyds mit Aminosäure durch Fällung des frei gebliebenen Anteils messend verfolgt. In Blindversuchen wurde zunächst die zur quantitativen Fällung des Formaldehyds mit Methon nach der Gleichung:



nötige Zeit ermittelt. Hierzu wurden Proben von 2,47 mg Formaldehyd in 5 cm<sup>3</sup> Wasser bei p<sub>H</sub> = 4,5 mit 25 cm<sup>3</sup> gesättigter Methonlösung verschieden lang stehen gelassen, dann abfiltriert und mit wenig Wasser gewaschen. Der Niederschlag wurde dann in 6 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst, mit wenig Wasser verdünnt und nun unter Verwendung der Glaselektrode mit 0,05-n. NaOH titriert<sup>3)</sup>, wobei die phenolische Gruppe neutralisiert wird. Die Ergebnisse wurden gemäss der Löslichkeit des Niederschlages (100 cm<sup>3</sup> Wasser von Zimmertemperatur lösen 1 mg Formaldimedon, entsprechend 0,01027 mg Formaldehyd) korrigiert. Nach 10-stündiger Wartezeit war quantitative Fällung erreicht.<sup>1)</sup>

Zur Vorsicht wurde bei den folgenden Versuchen der Dimedonniederschlag erst nach 24 Stunden abfiltriert. Durch die Titration mit der Glaselektrode konnte eine Genauigkeit von ca. 0,5% erreicht werden. Bei Titration auf Phenolphthalein erscheint wegen des Alkoholgehaltes der Lösung der Endpunkt merklich zu spät.

Es wurde nun das Verhalten von Glykokoll, Serin, Histidin und Lysin gegenüber Formaldehyd untersucht.

Hierfür wurden je 2,5 Millimole Aminosäure mit wenig Wasser in ein Becherglas gebracht, mit 10 cm<sup>3</sup> 0,25-m. Phosphatpuffer vom p<sub>H</sub> = 8 versetzt, dann 7,5 cm<sup>3</sup> 1-m. Formaldehydlösung (f = 1,028) zugefügt. Hierauf wurde die Lösung mit 1-n. NaOH unter Verwendung der Glaselektrode genau auf p<sub>H</sub> = 8 eingestellt, mit Wasser in einen 50 cm<sup>3</sup> Messkolben gespült und zur Marke aufgefüllt. Diese Proben wurden nun in einem Thermostaten verschiedene Zeiten auf 39° C gehalten. Aliquote Proben von 5 cm<sup>3</sup> wurden zunächst auf 100 cm<sup>3</sup> verdünnt und 5 cm<sup>3</sup> hiervon unter Berücksichtigung der oben angegebenen Wartezeit mit je 25 cm<sup>3</sup> gesättigter Methonlösung gefällt und der Niederschlag mit 0,02-n. NaOH, unter Benützung der Glaselektrode titriert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2.

| Aminosäure | Wartezeit vor der Filtration | Mol CH <sub>2</sub> O/Mol Ams. gef. |
|------------|------------------------------|-------------------------------------|
| Serin      | 72 Stunden                   | 0                                   |
|            | 13 ½ Tage                    | 0,0056                              |
|            | 31 „                         | 0,0936                              |
| Glykokoll  | 5 Stunden                    | 0                                   |
|            | 30 „                         | 0,108                               |
|            | 18 Tage                      | 0,576                               |
|            | 32 „                         | 0,700                               |
| Histidin   | 26 ½ Stunden                 | 1,00                                |
|            | 14 Tage                      | 1,29                                |
|            | 32 „                         | 1,31                                |
| Lysin      | 72 Stunden                   | 1,72                                |
|            | 17 ½ Tage                    | 2,09                                |
|            | 31 „                         | 2,21                                |

<sup>1)</sup> Weitere Einzelheiten siehe bei J. Bergslund, Diss. E.T.H. (1944).

Weitaus am langsamsten in der Reihe reagiert das Serin mit dem Formaldehyd. Die hemmende Wirkung gegenüber dem ca. 7mal schneller reagierenden Glykokoll scheint durch die Hydroxylgruppe des Serins bewirkt zu werden. *Wadsworth* und *Pangborn*<sup>1)</sup> haben kleinere Reaktionsgeschwindigkeiten beobachtet, weil sie mit kleineren Formaldehydkonzentrationen gearbeitet haben. Bei Histidin, das bedeutend schneller als Glykokoll reagiert, wird zunächst 1 Molekel Formaldehyd rasch angelagert. In stark vermindertem Tempo beginnt dann die Anlagerung von noch einer zweiten Molekel. Es ist anzunehmen, dass die erste Molekel Formaldehyd an die Aminogruppe der Seitenkette tritt. Ob die Anlagerung des zweiten Formaldehyds am selben Stickstoffatom erfolgt oder aber ob es von einem der Stickstoffatome des Imidazolrings gebunden wird, lässt sich nicht angeben. Weitaus am schnellsten erfolgt die Anlagerung des Formaldehyds beim Lysin. Hier ist auch die spontane Säureverstärkung beim Zusatz des Formaldehyds besonders deutlich. Aus dem Umstand, dass von den 2 Stickstoffatomen des Lysins mehr als 2 Molekeln Formaldehyd aufgenommen werden, darf wohl geschlossen werden, dass die Anlagerung noch ohne Wasserabspaltung erfolgt.

Zum Unterschied von den oben beschriebenen Reaktionen beruht die spontane Säureverstärkung der Aminosäuren durch Formaldehyd auf einer lockeren Anlagerung, aus welcher der Formaldehyd durch Methon noch vollständig abgetrennt werden kann.

Im folgenden sollen nun die Ergebnisse einer Reihe von sorgfältig durchgeführten Titrations von Aminosäuren in Lösungen von reinem Formaldehyd mitgeteilt werden, die ausgeführt wurden, um eine vergleichende Übersicht über die Säureverstärkung durch den Formaldehyd zu gewinnen.

Herstellung von reiner Formaldehydlösung. In der Literatur sind verschiedene Verfahren zur Herstellung von reiner Formaldehydlösung vorgeschlagen. *Dunn* und *Losakoff*<sup>2)</sup> begnügen sich mit einer Neutralisation der vorhandenen Ameisensäure durch Behandlung der Lösung mit Magnesiumcarbonat, wobei sich eine Acidität von  $p_H$  7,69 einstellt. Das so gebildete Formiat erweist sich aber als recht störend bei der Bestimmung von genauen  $p_K$ -Werten. Mit einer ähnlichen Abstumpfung der Säure begnügen sich auch *Dunn* und *Weiner*<sup>3)</sup>, indem sie die Formaldehydlösung mit geglühter *Merck'scher* Tonerde, die meistens mehr als 1% Alkali enthält, behandeln, wobei sich ein  $p_H$ -Wert von 6,85 einstellt. Die genannten Autoren glauben festgestellt zu haben, dass die Formaldehydlösung in Berührung mit Luftsauerstoff ziemlich rasch oxydiert wird, da in den Lösungen bald eine Verschiebung des  $p_H$ -Wertes nach der sauren Seite beobachtet wurde.

Abweichend davon konnten wir feststellen, dass Lösungen von reinem Formaldehyd in einer luftgefüllten Flasche im diffusen Tageslicht selbst nach monatelangem Stehen keine Spur von freier Ameisensäure enthielt.

*E. Baur*<sup>4)</sup> sublimiert Paraformaldehyd, fängt die Dämpfe in Wasser auf und destilliert zur Entfernung von Spuren Ameisensäure über Calciumcarbonat. Die Herstellung von vollkommen ameisensäurefreiem Formaldehyd gelang uns nach diesem Verfahren

<sup>1)</sup> l. c.                    <sup>2)</sup> J. Biol. Chem. **113**, 360 (1936).

<sup>3)</sup> J. Biol. Chem. **117**, 381 (1937).                    <sup>4)</sup> l. c.

nicht, auch nicht durch Destillation einer stärker alkalischen Lösung bei gewöhnlichem Druck. Befriedigende Resultate lieferte indessen die Destillation einer schwach alkalischen Formaldehydlösung unter vermindertem Druck bei folgender Arbeitsweise:

36-proz. Formaldehyd des Handels wurde mit einem Überschuss von Kalkmilch (ca. 2% Bodenkörper) versetzt, gründlich geschüttelt und hierauf bei 12—15 mm Hg aus einem *Claisen*-Kolben durch einen intensiv wirkenden absteigenden Kühler in eine Vorlage abdestilliert. Es lässt sich dabei nicht vermeiden, dass kleine Mengen von Paraformaldehyd im Kühler abgeschieden werden, die von Zeit zu Zeit entfernt werden müssen. Um zu vermeiden, dass Paraformaldehyd in die Vorlage gelangte, wurde unter dem Abtropfrohr des Kühlers ein Papierfilter eingeschaltet. Die Destillation konnte ununterbrochen den ganzen Tag in Gang gehalten werden, wobei von Zeit zu Zeit neue neutralisierte Formaldehydlösung durch einen Hahnrührer in den *Claisen*-Kolben nachgefüllt wurde. Das Destillat enthielt jeweils 12—14% Formaldehyd.

Anfänglich wurde die Destillation im Stickstoffstrom durchgeführt. Es zeigte sich indessen, dass man bei der gewählten schonenden Destillation ohne Gefahr auch Luft durch die Siedekapillare in den Kolben einlassen durfte. Die elektrometrische Titration der Lösung zeigte, dass sie vollständig säurefrei war. Zur Gehaltbestimmung und Kontrolle der Reinheit dienten Bestimmungen mit Methon und Jod, wobei stets genau übereinstimmende Resultate erhalten wurden. Auch Kontrollen nach der Cyanidmethode gaben dieselben Resultate.

Die elektrometrischen Titrationsen: Da man bei der Titration der Aminosäure oft weit ins alkalische Gebiet eintreten muss, ist die Chinhydronelektrode hierfür nicht verwendbar. Wir konnten gelegentlich schon unterhalb von  $p_H$  5 eine störende Wirkung durch den Formaldehyd feststellen.

Die Wasserstoffelektrode soll nach *Levy* und *Silberman*<sup>1)</sup> noch in 5—6-m. Formaldehydlösung verwendbar sein. *Tomiyama*<sup>2)</sup> bemerkt indessen, dass sie in starken Formaldehydlösungen unsichere Resultate liefert. Auf jeden Fall geht in solchen Lösungen die Einstellung der Potentiale nur sehr langsam vonstatten.

Rasch und genau sich einstellende Potentialwerte wurden mit der Glaselektrode<sup>3)</sup> erhalten, wobei die Potentiale nach der Kompen-sationsmethode mit einer hochempfindlichen Röhrenschaltung gemessen wurden.

*J. Bergstrand*<sup>4)</sup> konnte ohne Schwierigkeiten gut arbeitende Glaselektroden nach den Angaben von *Mac Innes* und *Dole*<sup>5)</sup> herstellen. Es erwies sich als zweckmässig, die Elektrode auf der Innenseite zur Erhöhung der Haltbarkeit durch eine mit einem Puffergemisch angesetzte Agar-Agar-Gallerte abzustützen. Um der Gallerte in dem Rohr vermehrten Halt zu geben, wurde dieses wenig über der Membran mit kleinen Erweiterungen ausgestattet.

Als Stromabnahme von der Glaselektrode und als Vergleichspotential dienten gesättigte Kalomelektroden. Zur Vermeidung von Kriechströmen wurde die Aussenwandung und der Verschluss des Messgefässes sorgfältig paraffiniert und ebenso auch die Ableitung zu den Kalomelektroden. Um das Flüssigkeitspotential an der Eintauchstelle der Normal-

<sup>1)</sup> J. Biol. Chem. 118, 723 (1937).

<sup>2)</sup> J. Biol. Chem. 111, 51 (1935).

<sup>3)</sup> Eine Literaturzusammenstellung siehe bei *Katz*, Z. El. Ch. 46, 253, 259, 404 (1940).

<sup>4)</sup> Diss. E.T.H. (1944). Hier auch noch weitere Einzelheiten.

<sup>5)</sup> Am. Soc. 52, 29 (1930) und *Mac Innes*, Ind. Eng. Chem. Anal. 1, 57 (1929); Am. Soc. 53, 3315 (1931).



elektrode in die Lösung der Aminosäure möglichst niedrig und konstant zu halten, wurde eine besondere Zuleitung von frischer Kaliumchloridlösung vorgesehen. Vor einer Messung wurden jeweils einige Tropfen davon durch das am untern Ende angebrachte Wattefilter austreten gelassen, um eine gut definierte Phasengrenze herzustellen. Die Versuchsanordnung mit der Vorrichtung zur Konstanthaltung der Temperatur im äussern Gefäss durch temperiertes Wasser und der Vorrichtung zum Austausch der Lösung der Aminosäure im innern Gefäss ist in Fig. 2 dargestellt.

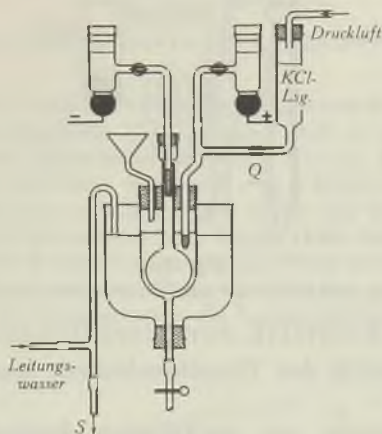


Fig. 2.

$p_{\text{H}}$ -Messung mit der Glaselektrode.

Vor jeder Messung wurde die Elektrode jeweils mit bekannten Puffern sorgfältig geeicht und nach der Messung erneut kontrolliert.

Die Eichung mit genauen Puffern ist unerlässlich wegen des fast immer vorhandenen Asymmetriepotentials der Glaselektrode. *Buchböck* und *Zirkler*<sup>1)</sup> schreiben das Asymmetriepotential den Spannungen im Glase zu. Einleuchtender scheint die Vermutung von *Meyer*<sup>2)</sup>, wonach das Potential mit einer ungleichen Alkaliverteilung in der Elektrode zusammenhängt, die bei der Bearbeitung mit der Flamme entstanden ist. *Kahler* und *de Eds*<sup>3)</sup> und *Yoshimura*<sup>4)</sup> schreiben das Asymmetriepotential der Ausbildung von Fehlerfilmen am Schaft der Elektrode zu.

Nach *Dole*<sup>5)</sup> bildet sich an der Glaselektrode ein Diffusionspotential aus  $\text{H}^+$ - und  $\text{OH}^-$ -Ionen. Da diese Ionen bei weitem am schnellsten in der wasserhaltigen Membran wandern, spricht die Glaselektrode spezifisch auf diese Ionen an. Es ist daher wichtig, die Membran vor dem Gebrauch 1—2 Tage in Wasser zu quellen und bei Nichtgebrauch zwischen den einzelnen Messungen in destilliertem Wasser aufzubewahren. Durch geeignete Behandlung kann eine Glaselektrode auch zum konzentrationsrichtigen Ansprechen auf andere Ionen formiert werden.<sup>6)</sup> Eine gute Elektrode soll zwischen  $p_{\text{H}}$  2—10 auf  $\pm 0,01 p_{\text{H}}$  ansprechen.

<sup>1)</sup> Z. physikal. Ch. **77**, 126 (1932).

<sup>2)</sup> Ann. Physik (N.F.) **40**, 248 (1890).

<sup>3)</sup> Am. Soc. **53**, 2998 (1931).

<sup>4)</sup> Bull. Chem. Soc. Japan **12**, 443 (1937).

<sup>5)</sup> Am. Soc. **53**, 4260 (1931); *ibid.* **54**, 3095 (1932); J. Chem. Physics **2**, 862 (1934).

<sup>6)</sup> Siehe u. a. *Quittner*, Ann. Physik **85**, 745 (1928); *Horowitz*, Z. Physik **15**, 369 (1923); *Buchböck*, Z. physikal. Ch. [A] **156**, 232 (1931).

Intensive mechanische Rührung ist bei der Titration zu vermeiden, weil dadurch Störungen durch elektrische Reibungseffekte auftreten können. Bei den Titrationen mit der Glaselektrode hat sich die in Fig. 3 dargestellte milde Rührung mit Stickstoff gut bewährt.

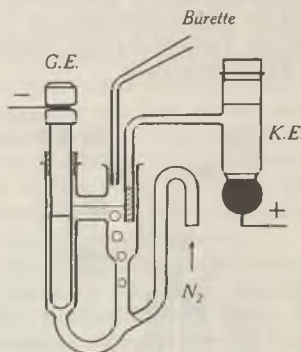


Fig. 3.

Milde Rührung mit Stickstoff zur Titration mit der Glaselektrode.

### Charakteristik der Titrationskurven.

Zur Charakteristik der Titrationskurven wurden folgende Gleichungen verwendet:

Die Laugetitration von verdünnten Aminosäuren in Formaldehydlösung ergibt Titrationskurven, die geringe Abweichungen aufweisen von derjenigen einer schwachen Säure, gemäss der Gleichung:

$$K_s = \frac{(H^{\cdot})(A')}{(HA)} \quad (6)$$

worin  $(H^{\cdot})$  die Aktivität der Wasserstoffionen,  $(A')$  die Konzentration des Anions,  $(HA)$  die Konzentration der undissoziierten Säure bedeutet. Durch Kombination mit dem Ionenprodukt des Wassers:

$$K_w = (H^{\cdot})(OH') \quad (7)$$

ergibt sich die Hydrolysenkonstante:

$$\frac{K_w}{K_s} = \frac{(HA)(OH')}{(A')} \quad (8)$$

Logarithmierung, Substitution von  $(OH')$  durch  $K_w/(H^{\cdot})$  und einfache Umstellung ergeben aus Gleichung 6–8 die folgenden, für den praktischen Gebrauch geeigneten Beziehungen:

$p_H$ -Wert am Anfang der Titration:

$$p_H (a) = \frac{1}{2} p_{K_s} - \frac{1}{2} \log (HA) \quad (9)$$

$p_H$ -Wert nach hälftiger Neutralisation:

$$p_H (HT) = p_{K_s} \quad (10)$$

$p_H$ -Wert am Ende der Neutralisation:

$$p_H (e) = \frac{1}{2} p_w + \frac{1}{2} p_{K_s} + \frac{1}{2} \log (A') \quad (11)$$

$p_H$ -Wert an einem beliebigen Punkt der Neutralisationskurve:

$$p_H = p_{K_s} - \log (HA) + \log (A') \quad (12)$$

Die beobachtete geringe Verzerrung der Titrationskurven der mit Formaldehyd verstärkten Aminosäuren gegenüber den obigen Gleichungen 9–12 hängt mit der Veränderlichkeit von  $p_w$  in den Formaldehydlösungen und dem veränderlichen Gleichgewicht des Aminosäure-Formaldehydkomplexes zusammen. Man bezeichnet daher zweckmässig die Acidität bei häftiger Neutralisation:

$$p_{K_s} = p_H (HT) \tag{13}$$

als die scheinbare Dissoziationskonstante der Formaldehyd-Aminosäure.

1. Laugetitration von Formaldehyd: In Fig. 4 sind die  $p_H$ -Werte aufgezeichnet welche beim Zusatz von steigenden Mengen 0,1-n. NaOH zu 100 cm<sup>3</sup> Wasser und dem gleichen Volumen 3,21-m. Formaldehyd entstehen. Wie aus der Figur zu ersehen ist, bewirkt der Laugezusatz in Wasser jeweils um etwa 2 Einheiten grössere  $p_H$ -Werte als in Formaldehyd. Nimmt man nun an, dass die Lauge vom Hydrat des Formaldehyds neutralisiert worden ist, so lässt sich mit Hilfe von Gl. 12 die Säurekonstante des Formaldehyds bestimmen. Tabelle 3 enthält einige in dieser Weise berechnete  $p_K$ -Werte, welche aus den Kurven von Fig. 4 bestimmt worden sind. Hierbei wurde näherungsweise die Salzkonzentration (A') dem Laugegehalt in der Lösung gleichgesetzt.

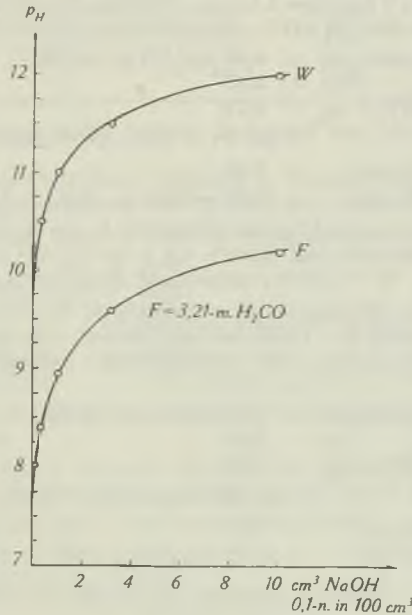


Fig. 4. Laugetitration von Wasser (W) und Formaldehyd (F).

Tabelle 3.

| Laugezusatz  | $p_K$ -Wert des Formaldehyds |
|--|------------------------------|
| 2,5 cm <sup>3</sup> 0,1-n. NaOH in 100 cm <sup>3</sup> | 12,56                        |
| 5 cm <sup>3</sup> 0,1-n. NaOH in 100 cm <sup>3</sup>   | 12,67                        |
| 10 cm <sup>3</sup> 0,1-n. NaOH in 100 cm <sup>3</sup>  | 12,71                        |



Auch *Levy*<sup>1)</sup> fand, dass der  $p_K$ -Wert des Formaldehyds sich mit der Konzentration der Lösung ändert. Den für die Konzentration 0 extrapolierten Wert gibt er bei 30° C zu 12,87 an.

Wenn der Endpunkt einer Säuretitation oberhalb von  $p_H$  8 liegt, so beginnt, wie aus Fig. 4 zu ersehen ist, der Laugeverbrauch durch den Formaldehyd der Lösung merkbar zu werden. Bei Formoltitationen mit dem Endpunkt in stärker alkalischem Gebiet sollte daher eine entsprechende Korrektur für die Bindung der Lauge durch den Formaldehyd vorgenommen werden.

Zur Charakteristik der im folgenden beschriebenen Titrations der Aminosäuren dient die Acidität bei hälftiger und bei vollständiger Titration  $p_H(HT) = p_{K_s}$  und  $p_H(e)$ . Aus dem  $p_H$  Wert am Ende der Titration  $p_H(e)$  wurde mit Hilfe von Gleichung 11 der hier geltende Wert von  $p_w$  berechnet, der das Lösungsmittel kennzeichnet, in welchem die Titrationskurve aufgenommen wurde. Eine Reihe von Titrations in rein wässriger Lösung sind nicht besonders aufgeführt, sondern nur die Werte von  $p_H(HT) = p_{K_s}$  in Tabelle 5 angegeben<sup>2)</sup>.

2a) Glykokoll in wässriger Lösung: Titration von 22 cm<sup>3</sup> 0,0182-m. Glykokoll mit 0,1-n. NaOH ( $f = 1,200$ ) bei 24° C. Anfangsvolumen 22 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 25,40 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 4,05 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH<sup>3)</sup>

„ ber. = 3,97 „ „ „

$p_H(HT) = p_{K_s} = 9,74$

$k_s = 10^{-9,74} = 1,82 \times 10^{-10}$  (24° C)

$p_H(A)$  gef. = 9,24

$p_H(E)$  gef. = 10,95 woraus  $p_w$  (ber.) = 13,97

Diese Messung passt gut zu folgenden Werten für  $k_s$  aus der Literatur: *Winkelblech*<sup>4)</sup>:  $3,4 \times 10^{-10}$  (25° C); *Michaelis und Rona*<sup>5)</sup>:  $1,2 \times 10^{-10}$  (17° C); *Harris*<sup>6)</sup>:  $1,8 \times 10^{-10}$  (25° C); *Tague*<sup>7)</sup>:  $1,8 \times 10^{-10}$  (18° C); *Branch und Miyamoto*<sup>8)</sup>:  $2,51 \times 10^{-10}$ .

2b) Glykokoll in Methanol: 22 cm<sup>3</sup> 0,0182-m. Glykokoll in 45,5 Vol.proz. Methanol mit 0,1-n. NaOH ( $f = 1,200$ ) bei 24° C titriert. (Die Kontraktion der Lösung durch Zugabe von Methanol ist nicht berücksichtigt.) Anfangsvolumen 22 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 25,9 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 3,99 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH

„ ber. = 3,97 „ „ „

$p_H(HT) = p_{K_s} = 9,39$

$k_s = 10^{-9,39} = 4,07 \times 10^{-10}$  (24° C)

$p_H(A)$  gef. = 6,90

$p_H(E)$  gef. = 10,72 woraus  $p_K$  (ber.) = 13,86

2c) Glykokoll in Äthanol: Titration wie bei 2b, nur wurde hier Äthanol statt Methanol verwendet.

1) J. Biol. Chem. **105**, 157 (1934).

2) Graphische Darstellungen der Kurven siehe Diss. *Bergsland*, E.T.H. (1944).

3) Lässt sich nicht genau bestimmen.

4) Z. physikal. Ch. **36**, 546 (1901).

5) Biochem. Z. **49**, 248 (1913).

6) Proc. Roy. Soc. **95**, 440 (1923).

7) Am. Soc. **42**, 173 (1920).

8) Am. Soc. **52**, 863 (1930).

Endpunkt gef. = 3,94 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH  
 „ ber. = 3,97 „ „ „  
 $p_H(HT) = p_{K_s} = 9,65$   
 $k_s = 10^{-9,65} = 2,24 \times 10^{-10}$  (24° C)  
 $p_H(A)$  gef. = 7,44  
 $p_H(E)$  gef. = 10,95 woraus  $p_w$  (ber.) = 14,06

Die Dissoziationskonstanten von Glykokoll in Methanol und Äthanol sind nur wenig grösser als in Wasser. Die Titrierbarkeit ist jedoch infolge des grösseren  $p_w$ -Wertes merklich verbessert.

2d) Glykokoll in Formaldehyd: Titrationskurven von 2 cm<sup>3</sup> 0,1-m. Glykokoll in 22 cm<sup>3</sup> Formaldehyd verschiedener Konzentration mit 0,1-n. NaOH ( $f = 0,8600$ ) bei 16° C. Glykokoll = 0,0091-m. Anfangsvolumen 22 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 24,35 cm<sup>3</sup>. Die Resultate sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4.

| % CH <sub>2</sub> O | $p_H(HT)$<br>= $p_{K_s}$ | $k_s$                              | $p_H(A)$ gef. | $p_H(E)$ gef. | $p_w$ ber. |
|---------------------|--------------------------|------------------------------------|---------------|---------------|------------|
| 12,13               | 5,90                     | $10^{-5,90} = 1,26 \times 10^{-6}$ | 4,27          | 8,17          | 12,62      |
| 6,17                | 6,46                     | $10^{-6,46} = 3,47 \times 10^{-7}$ | 4,58          | 8,42          | 12,56      |
| 3,12                | 6,93                     | $10^{-6,93} = 1,17 \times 10^{-7}$ | 4,97          | 8,96          | 13,17      |
| 0,63                | 7,97                     | $10^{-7,97} = 1,07 \times 10^{-8}$ | 6,10          | 9,68          | 13,57      |

Bei allen Titrationsen wurde derselbe Endpunkt von 2,02 cm<sup>3</sup> (ber. = 2,00 cm<sup>3</sup>) gefunden.

Titration von 40 cm<sup>3</sup> 0,0005-m. Glykokoll in 13,3-proz. Formaldehyd mit 0,01-n. NaOH bei 15° C. Anfangsvolumen 40 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 42 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 1,96 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH  
 „ ber. = 2,00 „ „ „  
 $p_H(HT) = p_{K_s} = 5,87$   
 $k_s = 10^{-5,87} = 1,35 \times 10^{-6}$  (15° C)  
 $p_H(A)$  gef. = 5,00  
 $p_H(E)$  gef. = 7,57 woraus  $p_w$  (ber.) = 12,79

Danach können auch hochverdünnte Lösungen von Glykokoll mit der Glaselektrode noch gut titriert werden.

3. Asparaginsäure in Wasser: Titration von 25 cm<sup>3</sup> 0,001-m. Asparaginsäure mit 0,01-n. NaOH ( $f = 0,9940$ ) bei 14° C. Anfangsvolumen 25 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 27,51 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 2,51 cm<sup>3</sup> 0,01-n. NaOH  
 „ ber. = 2,50 „ „ „  
 $p_H(HT) = p_{K_s} = 4,00$   
 $k_s = 1,00 \times 10^{-4}$  (14° C)  
 $p_H(A)$  gef. = 3,47  
 $p_H(E)$  gef. = 7,0 woraus  $p_w$  (ber.) = 13,04

Werte für  $k_s$  aus der Literatur: Winkelblech<sup>1)</sup>:  $1,5 \times 10^{-4}$  (25° C); Levene und Simms<sup>2)</sup>:  $2,35 \times 10^{-4}$  (30° C).

Interessant ist die Wirkung der zweiten Säuregruppe, die in Verbindung mit der Aminogruppe eine Deformierung der Titrationskurve verursacht. Während der  $p_H$ -Wert am Anfang von 3,5 mit dem einer normalen einbasischen Carbonsäure mit der gleichen

1) l. c.      2) J. Gen. Physiol. 4, 801 (1923).

Dissoziationskonstanten unter gleichen Bedingungen übereinstimmt, wird der Endpunkt schon bei  $p_H$  7 statt bei  $p_H$  7,67 gefunden.

4. Glutaminsäure in Wasser: Titration der Glutaminsäure analog zu den Bedingungen bei der Asparaginsäure in Nr. 3.

$$\begin{aligned} \text{Endpunkt gef.} &= 2,51 \text{ cm}^3 \text{ 0,01-n. NaOH} \\ \text{,, ber.} &= 2,50 \text{ ,, ,, ,,} \\ p_H (\text{HT}) = p_{K_s} &= 4,28 \\ k_s &= 10^{-4,28} = 5,25 \times 10^{-5} \text{ (14}^\circ \text{C)} \\ p_H (\text{A}) \text{ gef.} &= 3,58 \\ p_H (\text{E}) \text{ gef.} &= 7,0 \text{ woraus } p_w (\text{ber.}) = 12,76 \end{aligned}$$

Werte für  $k_s$  aus der Literatur: *Harris*<sup>1)</sup>:  $6,3 \times 10^{-5}$  (25° C); *Holmberg*<sup>2)</sup>:  $6,3 \times 10^{-5}$  (25° C); *Tague*<sup>3)</sup>:  $6 \times 10^{-5}$  (18° C).

Wie bei der Asparaginsäure wird auch hier eine Kurvendeformation gefunden. Der  $p_H$ -Wert am Anfang stimmt mit dem entsprechenden Wert der einfachen Carbonsäure ( $p_H$  3,64) gut überein, der Endpunkt erscheint aber von  $p_H$  7,81 auf 7 heruntergedrückt.

5. Serin: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,01-m. Serin in 12,6-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH ( $f = 1,217$ ) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 21,6 cm<sup>3</sup>.

$$\begin{aligned} \text{Endpunkt gef.} &= 2,00 \text{ cm}^3 \text{ 0,1-n. NaOH} \\ \text{,, ber.} &= 2,00 \text{ ,, ,, ,,} \\ p_H (\text{HT}) = p_{K_s} &= 5,61 \\ k_s &= 10^{-5,61} = 2,45 \times 10^{-6} \text{ (16}^\circ \text{C)} \\ p_H (\text{A}) \text{ gef.} &= 4,03 \\ p_H (\text{E}) \text{ gef.} &= 8,00 \text{ woraus } p_w (\text{ber.}) = 12,58 \end{aligned}$$

6. Methionin: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,01-m. Methionin in 12,6-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH ( $f = 1,217$ ) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 21,6 cm<sup>3</sup>.

$$\begin{aligned} \text{Endpunkt gef.} &= 1,98 \text{ cm}^3 \text{ 0,1-n. NaOH} \\ \text{,, ber.} &= 2,00 \text{ ,, ,, ,,} \\ p_H (\text{HT}) = p_{K_s} &= 6,79 \\ k_s &= 10^{-6,79} = 1,62 \times 10^{-7} \text{ (16}^\circ \text{C)} \\ p_H (\text{A}) \text{ gef.} &= 4,71 \\ p_H (\text{E}) \text{ gef.} &= 8,68 \text{ woraus } p_w (\text{ber.}) = 12,60 \end{aligned}$$

7. Valin: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,01-m. Valin in 12,6-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH ( $f = 1,217$ ) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 21,6 cm<sup>3</sup>.

$$\begin{aligned} \text{Endpunkt gef.} &= 1,98 \text{ cm}^3 \text{ 0,1-n. NaOH} \\ \text{,, ber.} &= 2,00 \text{ ,, ,, ,,} \\ p_H (\text{HT}) = p_{K_s} &= 7,63 \\ k_s &= 10^{-7,63} = 2,34 \times 10^{-8} \text{ (16}^\circ \text{C)} \\ p_H (\text{A}) \text{ gef.} &= 5,24 \\ p_H (\text{E}) \text{ gef.} &= 8,97 \text{ woraus } p_w (\text{ber.}) = 12,34 \end{aligned}$$

8. Isoleucin: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,01-m. Isoleucin in 12,6-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH ( $f = 1,217$ ) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 21,6 cm<sup>3</sup>.

$$\begin{aligned} \text{Endpunkt gef.} &= 2,04 \text{ cm}^3 \text{ 0,1-n. NaOH} \\ \text{,, ber.} &= 2,00 \text{ ,, ,, ,,} \\ p_H (\text{HT}) = p_{K_s} &= 7,69 \\ k_s &= 10^{-7,69} = 2,04 \times 10^{-8} \text{ (16}^\circ \text{C)} \\ p_H (\text{A}) \text{ gef.} &= 5,13 \\ p_H (\text{E}) \text{ gef.} &= 8,97 \text{ woraus } p_w (\text{ber.}) = 12,28 \end{aligned}$$

<sup>1)</sup> I. c.

<sup>2)</sup> Z. physikal. Ch. 70, 157 (1910).

<sup>3)</sup> I. c.



9. Sarkosin: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,01-m. Sarkosin in 12,6-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH (f = 1,217) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 21,6 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 1,98 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH  
 „ ber. = 2,00 „ „ „  
 $p_H$  (HT) =  $p_{K_s}$  = 8,05  
 $k_s$  =  $10^{-8,05} = 8,91 \times 10^{-9}$  (16° C)  
 $p_H$  (A) gef. = 5,49  
 $p_H$  (E) gef. = 9,12 woraus  $p_w$  (ber.) = 12,22

10. Histidin: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,01-m. Histidin in 10,85-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH (f = 1,217) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 21,6 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 1,97 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH  
 „ ber. = 2,00 „ „ „  
 $p_H$  (HT) =  $p_{K_s}$  = 8,23  
 $k_s$  =  $10^{-8,23} = 5,88 \times 10^{-9}$  (16° C)  
 $p_H$  (A) gef. = 5,87  
 $p_H$  (E) gef. = 9,19 woraus  $p_w$  (ber.) = 12,18

11.  $\beta$ -Alanin: Titration von 22 cm<sup>3</sup> 0,0182-m.  $\beta$ -Alanin in 12,7-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH (f = 1,200) bei 18° C. Anfangsvolumen 22 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 23,65 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 2,08 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH  
 „ ber. = 2,00 „ „ „  
 $p_H$  (HT) =  $p_{K_s}$  = 6,18  
 $k_s$  =  $10^{-6,18} = 6,61 \times 10^{-7}$  (18° C)  
 $p_H$  (A) gef. = 4,52  
 $p_H$  (E) gef. = 8,34 woraus  $p_w$  (ber.) = 12,27

12. Leucin: Titration von 44 cm<sup>3</sup> 0,00455-m. Leucin in 9,5-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH (f = 1,200) bei 18° C. Anfangsvolumen 44 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 45,66 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 1,99 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH  
 „ ber. = 2,00 „ „ „  
 $p_H$  (HT) =  $p_{K_s}$  = 8,76  
 $k_s$  =  $10^{-8,76} = 1,74 \times 10^{-9}$  (18° C)  
 $p_H$  (A) gef. = 5,18  
 $p_H$  (E) gef. = 8,74 woraus  $p_w$  (ber.) = 11,07

13. Oxyprolin: Titration von 22 cm<sup>3</sup> 0,0182-m. Oxyprolin in 9,5-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH (f = 1,200) bei 24° C. Anfangsvolumen 22 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 23,70 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 2,04 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH  
 „ ber. = 2,00 „ „ „  
 $p_H$  (HT) =  $p_{K_s}$  = 7,56  
 $k_s$  =  $10^{-7,56} = 2,76 \times 10^{-8}$  (24° C)  
 $p_H$  (A) gef. = 4,99  
 $p_H$  (E) gef. = 9,00 woraus  $p_w$  (ber.) = 12,21

14. Cystein-hydrochlorid-hydrat: Titration von 31,5 mg = 0,00895-m. Cystein-hydrochlorid-hydrat in 20 cm<sup>3</sup> 14-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH (f = 1,217) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 22,94 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt 1 gef. = 1,79 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH  
 „ 1 ber. = 1,79 „ „ „

Der erste Endpunkt entspricht dem Hydrochlorid.

$$\begin{aligned} \text{Endpunkt 2 gef.} &= 3,58 \text{ cm}^3 \text{ 0,1-n. NaOH} \\ \text{,, 2 ber.} &= 3,58 \text{ ,, ,, ,,} \\ p_{\text{H}} (\text{HT}) = p_{\text{K}_s} &= 5,32 \\ k_s &= 10^{-5,32} = 4,78 \times 10^{-6} \text{ (16}^\circ \text{ C)} \\ p_{\text{H}} (\text{A}) \text{ gef.} &= 3,83 \\ p_{\text{H}} (\text{E}) \text{ gef.} &= 7,97 \text{ woraus } p_w (\text{ber.}) = 12,78 \end{aligned}$$

Wegen der Empfindlichkeit des Cysteins gegenüber Sauerstoff wurde die Probe von 31,5 mg Cystein-hydrochlorid-hydrat direkt in das mit Stickstoff gefüllte Titriergesäß gespült und unter Luftausschluss titriert. Die Potentiale stellten sich schnell ein.

Nach Untersuchungen von *Ratner* und *Clarke*<sup>2)</sup> erhält man bei  $p_{\text{H}} = 10$  in eisen(III)-chloridhaltiger Cysteinlösung durch Luftoxydation langsam Cystin. Dagegen reagiert nach denselben Autoren Cystein oberhalb  $p_{\text{H}} 5$  mit Formaldehyd unter Bildung von Thiazolidin-4-carbonsäure so schnell, dass man die Reaktion nicht verfolgen kann. Man wird es daher bei der Formoltitration nicht mit „verstärktem“ Cystein, sondern mit „verstärkter“ Thiazolidin-4-carbonsäure zu tun haben.

15. Phenylalanin: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,005-m. Phenylalanin in 12,18-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH ( $f = 1,217$ ) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 20,81 cm<sup>3</sup>.

$$\begin{aligned} \text{Endpunkt gef.} &= 0,985 \text{ cm}^3 \text{ 0,01-n. NaOH} \\ \text{,, ber.} &= 1,00 \\ p_{\text{H}} (\text{HT}) = p_{\text{K}_s} &= 6,99 \\ k_s &= 10^{-6,99} = 1,00 \times 10^{-7} \text{ (16}^\circ \text{ C)} \\ p_{\text{H}} (\text{A}) \text{ gef.} &= 5,00 \\ p_{\text{H}} (\text{E}) \text{ gef.} &= 8,62 \text{ woraus } p_w (\text{ber.}) = 12,57 \end{aligned}$$

16. Tyrosin: Titration von 7,9 mg = 0,0022-m. Tyrosin in 20 cm<sup>3</sup> 14-proz. Formaldehyd mit 0,02-n. NaOH ( $f = 1,055$ ) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 22 cm<sup>3</sup>.

$$\begin{aligned} \text{Endpunkt gef.} &= 2,15 \text{ cm}^3 \text{ 0,02-n. NaOH} \\ \text{,, ber.} &= 2,18 \text{ ,, ,, ,,} \\ p_{\text{H}} (\text{HT}) = p_{\text{K}_s} &= 7,04 \\ k_s &= 10^{-7,04} = 9,12 \times 10^{-8} \text{ (16}^\circ \text{ C)} \\ p_{\text{H}} (\text{A}) \text{ gef.} &= 5,79 \\ p_{\text{H}} (\text{E}) \text{ gef.} &= 8,41 \text{ woraus } p_w (\text{ber.}) = 12,46 \end{aligned}$$

17. Tryptophan: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,002-m. Tryptophan in 12,18-proz. Formaldehyd mit 0,02-n. NaOH ( $f = 1,055$ ) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 21,96 cm<sup>3</sup>.

$$\begin{aligned} \text{Endpunkt gef.} &= 2,07 \text{ cm}^3 \text{ 0,02-n. NaOH} \\ \text{,, ber.} &= 2,00 \text{ ,, ,, ,,} \\ p_{\text{H}} (\text{HT}) = p_{\text{K}_s} &= 7,28 \\ k_s &= 10^{-7,28} = 5,13 \times 10^{-8} \text{ (16}^\circ \text{ C)} \\ p_{\text{H}} (\text{A}) \text{ gef.} &= 5,37 \\ p_{\text{H}} (\text{E}) \text{ gef.} &= 8,65 \text{ woraus } p_w (\text{ber.}) = 12,76 \end{aligned}$$

1) Für die halbe Carboxylgruppentitration.

2) Am. Soc. 59, 200 (1937).

18a. Histidin in Wasser: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,0125-m. Histidin in Wasser mit 0,1-n. HCl bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 22,5 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 2,50 cm<sup>3</sup> 0,1-n. HCl

„ ber. = 2,50 „ „ „

$p_{K_b} = 14,30 - p_H (HT) = 8,13$

$k_b = 7,42 \times 10^{-9}$  (16° C)

Werte für  $k_b$  aus der Literatur: *Kanitz*<sup>1)</sup>:  $5,7 \times 10^{-9}$  (25° C).

18b. Histidin in Wasser: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,01-m. Histidin in Wasser mit 0,1-n. NaOH ( $f = 1,217$ ) bei 17° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 21,68 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 2,04 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH

„ ber. = 2,00 „ „ „

$p_H (HT) = p_{K_s} = 9,51$

$k_s = 10^{-9,51} = 3,09 \times 10^{-10}$  (17° C)

$p_H (A)$  gef. = 7,84

$p_H (E)$  gef. = 10,45 woraus  $p_w$  (ber.) = 15,42

Werte für  $k_s$  aus der Literatur: *Kanitz*<sup>1)</sup>:  $2,2 \times 10^{-9}$  (25° C).

Wegen ungenügender Übereinstimmung mit *Kanitz* wurde der Wert für  $k_s$  durch mehrere Messungen kontrolliert.

18c. Histidin in Formaldehyd: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,01-m. Histidin in 11,20-proz. Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH ( $f = 1,217$ ) bei 17° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 21,62 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 1,97 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH

„ ber. = 2,00 „ „ „

$p_H (HT) = p_{K_s} = 8,23$

$k_s = 10^{-8,23} = 5,88 \times 10^{-9}$  (17° C)

$p_H (A)$  gef. = 5,90

$p_H (E)$  gef. = 9,29 woraus  $p_w$  (ber.) = 12,38

19. Arginin: Titration von 20 cm<sup>3</sup> 0,01033-m. Arginin in Wasser mit 0,1-n. HCl bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm<sup>3</sup>, Endvolumen 22,08 cm<sup>3</sup>.

Endpunkt gef. = 2,08 cm<sup>3</sup> 0,1-n. HCl

„ ber. = 2,07 „ „ „

$p_{K_b} = 14,30 - p_H (HT) = 5,09$

$k_b = 8,13 \times 10^{-6}$  (16° C)

Werte für  $k_b$  aus der Literatur: *Hunter und Borosodk*<sup>2)</sup>:  $1,07 \times 10^{-5}$  (25° C); *Kanitz*<sup>3)</sup>:  $1,0 \times 10^{-7}$  (25° C).

Arginin lässt sich auch nach Zugabe von Formaldehyd nicht vollständig mit NaOH titrieren, weil der basische Charakter zu stark überwiegt.

### Veränderung des $p_{K_s}$ -Wertes mit der Formaldehyd-konzentration:

Aus Tabelle 6 und Fig. 5 ist die gefundene Abhängigkeit der  $p_{K_s}$ -Werte vom Gehalt der Lösungen an Formaldehyd zu ersehen. Im allgemeinen erweist sich der säureverstärkende Einfluss des Formaldehyds als sehr gleichförmig; er hat den Charakter einer Milieuwirkung. Als Mass derselben kann der Wert des Ionenproduktes

<sup>1)</sup> l. c. aus *Kolthoff*: Säure-Basen-Indik., Berlin 1932, 46.

<sup>2)</sup> *Biochem. J.* 18, 883 (1924).

<sup>3)</sup> l. c.



(H·)(OH') dienen, der sich aus der Hydrolysgleichung 11 der fertig titrierten Säure berechnen lässt. Die Werte von  $p_w$  sind bei den einzelnen Beispielen angeführt und bewegen sich von  $p_w = 14$  für reines Wasser bis  $p_w = 12,2$  für 12-proz. Formaldehydlösung.

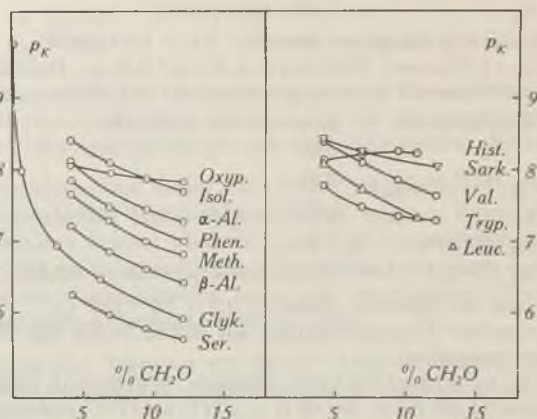


Fig. 5.

Abhängigkeit der  $p_K$ -Werte von  $9,6 \times 10^{-3}$ -m. Aminosäuren vom Formaldehydgehalt der Lösung.

Bildet man mit den Daten von Glykokoll aus der Tabelle 4 den Quotienten:

$$\frac{(H \cdot)^2}{(HA)(F)K_s} = \gamma \quad (14)$$

worin (HA) die angewandte Konzentration der Aminosäure, (F) die molare Konzentration des Formaldehyds und ( $K_s$ ) die aus der hälftig neutralisierten Säure entnommene Dissoziationskonstante bedeutet, so erhält man für  $\gamma$  die folgenden Zahlen:

Tabelle 5.

|            |                      |                       |                     |                      |
|------------|----------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|
| (F) =      | 12,13%               | 6,17%                 | 3,12%               | 0,63%                |
| $\gamma$ = | $6,4 \times 10^{-2}$ | $10,1 \times 10^{-2}$ | $10 \times 10^{-2}$ | $3,2 \times 10^{-2}$ |

Wie man leicht ersieht, stellt  $\gamma$  ein Mass für den Grad der Bildung des Formaldehydkomplexes HAF aus HA und F dar. Entgegen der eingangs zitierten Angabe von E. Baur, wonach

$$(HAF) = 0,804 \cdot (F)(HA) \quad (15)$$

sein soll, sind unsere, mit etwas anderen Voraussetzungen definierten Faktoren, nämlich die oben erwähnten  $\gamma$ -Werte, viel kleiner. Trotz des unregelmässigen Ganges derselben zeigt die Kurve der  $K_s$ -Werte des Glykokolls in Fig. 5 einen stetigen Verlauf. Der spezifisch chemischen Wirkung des Formaldehyds scheint somit eine beträchtliche Milieuwirkung desselben überlagert zu sein. Auch bei den andern Amino-

säuren wurde gefunden, dass  $(H^+)^2/(HA)(F)$  wesentlich kleiner ist als  $K_s$  aus der hälftigen Titration der Säure.

Ein abnormales Verhalten bei der Säureverstärkung durch Formaldehyd besteht bei Oxyprolin und besonders bei Histidin. Hier erscheint die allgemeine säureverstärkende Wirkung des Formaldehyds durch eine spezielle chemische Wirkung desselben mit einem der Stickstoffatome nahezu kompensiert (bei Oxyprolin) und schwach überkompensiert (bei Histidin) in Übereinstimmung mit Befunden von *Levy*<sup>1)</sup>.

Tabelle 6.

$pK_s$ -Werte von Aminosäuren in Wasser und Formaldehyd bei 16° C.

| Aminosäure               | In Wasser           |                    | In<br>4,5-proz.<br>Formal-<br>dehyd | In<br>7-proz.<br>Formal-<br>dehyd | In<br>10-proz.<br>Formal-<br>dehyd | In<br>12-proz.<br>Formal-<br>dehyd |
|--------------------------|---------------------|--------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
|                          | nach<br>Lit.        | eigene<br>Messung  |                                     |                                   |                                    |                                    |
| $\alpha$ -Alanin . . . . | 9,68 <sup>2)</sup>  |                    | 8,03                                | 7,68                              | 7,40                               | 7,26                               |
| $\beta$ -Alanin . . . .  |                     |                    | 7,14                                | 6,83                              | 6,56                               | 6,41                               |
| Asparaginsäure .         | 3,66 <sup>3)</sup>  | 4,00 <sup>9)</sup> |                                     |                                   |                                    |                                    |
| Glutaminsäure .          |                     |                    |                                     |                                   |                                    |                                    |
| 1. Stufe . . . .         | 4,25 <sup>3)</sup>  | 4,28 <sup>9)</sup> |                                     |                                   |                                    |                                    |
| 2. Stufe . . . .         | 9,66 <sup>3)</sup>  |                    |                                     |                                   |                                    |                                    |
| Glykokoll . . . .        | 9,60 <sup>2)</sup>  | 9,74               | 6,68                                | 6,36                              | 6,07                               | 5,90                               |
| Histidin . . . .         | 8,66 <sup>4)</sup>  | 9,51               | 8,14                                | 8,22                              | 8,26                               |                                    |
| Isoleucin . . . .        |                     |                    | 8,36                                | 8,08                              | 7,84                               | 7,70                               |
| Leucin . . . .           | 9,60 <sup>5)</sup>  |                    | 8,05                                | 7,72                              | 7,42                               | 7,22                               |
| Methionin . . . .        |                     |                    | 7,60                                | 7,26                              | 6,96                               | 6,80                               |
| Norleucin . . . .        | 9,77 <sup>6)</sup>  |                    |                                     |                                   |                                    |                                    |
| Oxyprolin . . . .        |                     |                    | 8,05                                | 7,96                              | 7,86                               | 7,83                               |
| Phenylalanin . .         | 9,12 <sup>7)</sup>  |                    | 7,79                                | 7,47                              | 7,16                               | 7,00                               |
| Prolin . . . .           | 10,60 <sup>8)</sup> |                    |                                     |                                   |                                    |                                    |
| Sarkosin . . . .         |                     |                    | 8,40                                | 8,24                              | 8,12                               | 8,05                               |
| Serin . . . .            | 9,15 <sup>8)</sup>  |                    | 6,20                                | 5,95                              | 5,74                               | 5,62                               |
| Tryptophan . . .         |                     |                    | 7,73                                | 7,47                              | 7,33                               | 7,29                               |
| Tyrosin . . . .          | 9,15 <sup>7)</sup>  |                    |                                     |                                   |                                    | 7,04 <sup>10)</sup>                |
| Valin . . . .            | 9,64 <sup>7)</sup>  |                    | 8,34                                | 8,08                              | 7,81                               | 7,64                               |

<sup>1)</sup> J. Biol. Chem. **105**, 11 (1934).

<sup>2)</sup> Branch und Miyamoto, Am. Soc. **52**, 863 (1930).

<sup>3)</sup> Miyamoto und Schmidt, J. Biol. Chem. **90**, 165 (1931)

<sup>4)</sup> McCay und Schmidt, J. Gen. Physiol. **9**, 333 (1936).

<sup>5)</sup> Harris, Proc. Roy. Soc. London, [B] **95**, 440 (1923—24).

<sup>6)</sup> Kirk und Schmidt, J. Biol. Chem. **81**, 237 (1929).

<sup>7)</sup> Kirk und Schmidt, Univ. Calif. Publ. Physiol. **7**, 57 (1929).

<sup>8)</sup> McCay und Schmidt, J. Gen. Physiol. **9**, 333 (1936).

<sup>9)</sup> Asparaginsäure und Glutaminsäure wurden bei 14° C gemessen.

<sup>10)</sup> In 14-proz. Formaldehyd bestimmt.

## Zusammenfassung.

1. Die Verstärkung der Aminosäuren in verdünnter wässriger Lösung durch Formaldehyd wurde untersucht und hierbei weitere Stützen dafür geliefert, dass die Säureverstärkung auf einer spontanen lockeren Anlagerung des Formaldehyds an die Aminosäure beruht.

2. Es wurden eine Reihe von analysenreinen Aminosäuren mit Lauge unter Verwendung der Glaselektrode titriert und dabei gezeigt, dass der Formaldehyd neben der spezifischen chemischen Einwirkung sich auch durch eine allgemeine Milieuwirkung bemerkbar macht, indem er eine Erhöhung des Ionenproduktes ( $H^+$ )( $OH^-$ ) bewirkt, die mit steigender Konzentration des Formaldehyds von 14 auf 12,2 (in 12-proz. Formaldehyd) ansteigt.

3. Das von *Levy* beobachtete abnorme Verhalten von Oxyprolin und Histidin bei der Verstärkung mit Formaldehyd wurde bestätigt.

Zur Durchführung dieser Untersuchungen sind uns von der Firma *F. Hoffmann-La Roche S.A.*, Basel analysenreine Proben der Aminosäuren zur Verfügung gestellt, wofür wir ihr auch an dieser Stelle unsern besten Dank aussprechen möchten.

Laboratorium für anorganische Chemie  
Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

## 126. La perméabilité des membranes VII.

## L'influence de la solubilité des ions dans la membrane

par Kurt H. Meyer et P. Bernfeld.

(29 VI 45)

Dans plusieurs publications<sup>1)</sup> nous avons traité de la perméabilité des membranes à l'égard des ions. Les résultats obtenus ont été appliqués à des expériences nouvelles, qui font l'objet de la présente série de communications. Afin de faciliter sa lecture, nous récapitulerons rapidement le principe de la méthode potentiométrique qui permet de déterminer les caractéristiques d'une membrane.

Si deux solutions du même électrolyte mono-monovalent sont séparées par une membrane, la force électromotrice (potentiel de dialyse) entre les deux solutions se laisse exprimer par l'équation de *Nernst*:

$$\frac{dE}{dc} = \frac{RT}{F} \cdot \frac{n_K - n_A}{n_K + n_A} \cdot \frac{1}{c^2} \quad (1)$$

où  $n_K$  et  $n_A$  sont les nombres de passage des cations et anions.

Le rapport  $n_K/n_A$  des nombres de passage et par conséquent les potentiels de dialyse dépendent:

<sup>1)</sup> Helv. 19, 649, 665, 948, 987 (1936); 20, 634 (1937); 23, 795 (1940).



1° de la sélectivité de la membrane. Une membrane formée d'un feutre de molécules filiformes portant latéralement des groupes acides ionisés ( $-\text{COO}^-$ ) et neutralisés par des cations mobiles sera perméable aux cations; car les cations des électrolytes à l'extérieur peuvent changer de place avec les cations mobiles dans la membrane et la traverser ainsi.

La concentration des ions fixes dans le liquide remplissant les pores de la membrane est une caractéristique de la membrane et est appelée « constante de sélectivité  $A'$  ».

2° des concentrations des électrolytes. Une quantité d'électrolyte qui dépend de  $A'$  et de la concentration à l'extérieur de la membrane pénètre dans les pores de celle-ci et participe au transport de l'électricité. Le rapport  $n_K/n_A$  sera ainsi influencé.

3° des rapports  $U_K/U_A$  des vitesses de migration (« mobilités ») des ions dans la membrane. Des membranes à pores très étroites laisseront passer des ions de faibles dimensions et tamiseront les autres (« effet tamis »); en outre, dans une membrane imbibée d'un liquide non aqueux le quotient  $U_K/U_A$  sera différent du quotient dans l'eau.

4° de la solubilité des ions dans la membrane. Dans une membrane à pores larges on peut admettre que la solubilité des ions dans le liquide qui remplit ces pores, ne diffère pas de celle dans l'eau. Mais si les pores sont étroites on ne peut négliger l'influence des forces d'attraction des groupes divers qui constituent la membrane. On doit donc admettre la possibilité d'une augmentation ou d'une diminution de la concentration de l'électrolyte dans le liquide à l'intérieur des pores. Si la membrane est imbibée d'un liquide non aqueux, les ions s'y trouveront également dans une autre concentration que dans la solution à l'extérieur. On peut tenir compte de ces influences en introduisant des coefficients de partage  $l_K$  et  $l_A$  des cations et des anions, coefficients qui sont les quotients de la solubilité des cations (ou des anions) dans le liquide à l'intérieur de la membrane et de la solubilité de ces ions dans l'eau, ou encore les rapports des coefficients d'activité dans l'eau à ceux dans le liquide d'imbibition.

En tenant compte de ce qui précède et en admettant les hypothèses simplificatrices suivantes: 1. La membrane est homogène, c'est-à-dire elle n'est pas composée de couches superposées ou de domaines en mosaïque. 2. La concentration des électrolytes dans les couches des liquides au contact avec les surfaces de la membrane est constante; un état stationnaire s'établit à l'intérieur de la membrane, on arrive à l'équation suivante:

$$E = \frac{RT}{F} \left[ u \ln \frac{x_2/A+u}{x_1/A+u} + \frac{1}{2} \ln \frac{(x_1/A+1)(x_2/A-1)}{(x_1/A-1)(x_2/A+1)} \right]$$

où

$$x = \sqrt{4c^2 + A^2}$$

$$u = \frac{U_K - U_A}{U_K + U_A} \quad \text{où encore} \quad \frac{U_K}{U_A} = \frac{1+u}{1-u}$$

et

$$A = \frac{A'}{\sqrt{I_K I_A}}$$

Cette équation, appliquée à des mesures du potentiel de dialyse à différentes concentrations permet d'évaluer les valeurs inconnues :

$$\frac{U_K}{U_A} \quad \text{et} \quad A = \frac{A'}{\sqrt{I_K I_A}}$$

Afin d'éviter des calculs numériques assez longs, nous nous servons d'une méthode graphique, en comparant les résultats expérimentaux à des courbes calculées une fois pour toutes à l'aide de cette équation. Pour cela, nous choisissons les concentrations de part et d'autre de la membrane de telle façon que leur rapport  $c_1:c_2$  soit toujours de 1:2. Supposons que pour notre électrolyte  $U_K/U_A = 1$ . L'équation permet alors de calculer E en fonction de  $\log A/c_1$ . Traçons une courbe qui représente E en fonction du logarithme de  $A/c_1$ ; puis répétons le calcul pour une autre valeur de  $U_K/U_A$ ; nous obtenons une nouvelle courbe que nous traçons dans le même diagramme et ainsi de suite pour les autres valeurs de  $U_K/U_A$ . Nous obtenons ainsi un faisceau de courbes de référence, qui est représenté par la fig. 1. Nous avons admis une température de 17°, c'est-à-dire  $\frac{RT}{F} = 25,0$ .

C'est cette figure qui nous sert de règle à calcul. Les expériences sont faites également en maintenant, de part et d'autre de la membrane à examiner, un rapport des concentrations de 1:2. On détermine les valeurs de E pour différentes valeurs de  $c_1$ , donc par exemple :

$$\frac{c_1}{c_2} = \frac{0,01}{0,02}, \quad \frac{0,02}{0,04}, \quad \frac{0,04}{0,08} \quad \text{etc.}$$

On porte alors les valeurs mesurées de E en fonction du  $\log 1/c_1$ ; on obtient ainsi pour la membrane examinée et un électrolyte déterminé une courbe caractéristique que nous appelons *courbe de sélectivité*. Ensuite on cherche à obtenir la coïncidence de cette courbe avec l'une des courbes de la fig. 1 par un déplacement parallèle aux abscisses. Puisque les abscisses des courbes théoriques sont  $\log A/c_1$  et celles de la courbe expérimentale  $\log 1/c_1$ , ce *déplacement* donne  $\log A$  car  $\log A/c_1 - \log 1/c_1 = \log A$ , d'où A. D'autre part la *forme* de la courbe permet d'évaluer en première approximation  $U_K/U_A$ , la valeur de ce quotient étant égale à celle de  $U_K/U_A$  de la courbe théorique coïncidante.

Lorsque l'on détermine les valeurs de A pour une membrane donnée avec deux sels de même anion, les deux valeurs obtenues seront dans le rapport :

$$\frac{A'}{\sqrt{I_{K_1} I_A}} : \frac{A'}{\sqrt{I_{K_2} I_A}} = \sqrt{\frac{I_{K_1}}{I_{K_2}}}$$

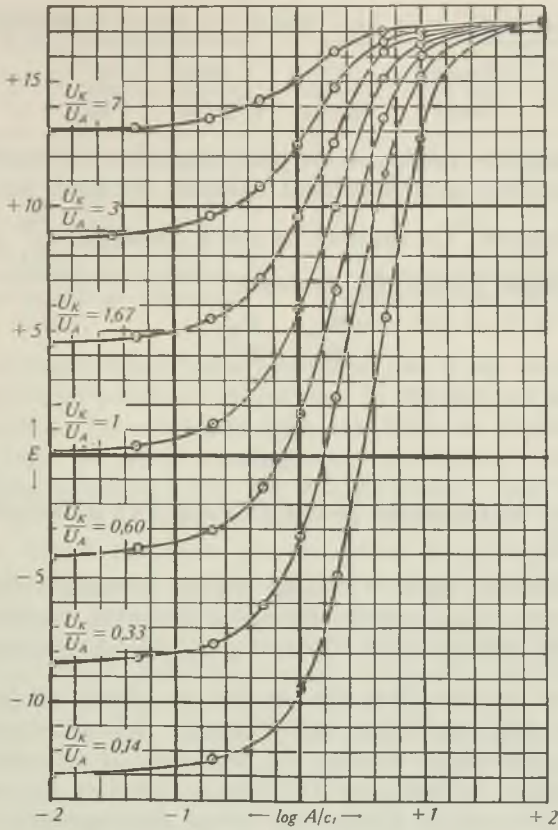


Fig. 1.

Les valeurs absolues de  $l_{K_1}$  et  $l_{K_2}$  ne peuvent pas être déterminées; seul leur quotient est accessible. Il est donc utile de les rapporter tous au  $l_K$  d'un cation choisi arbitrairement. Le même raisonnement s'applique lorsqu'on compare les valeurs de  $A$  obtenues avec deux sels de même cation, mais d'anions différents. Nous aurons alors:

$$\frac{A'}{\sqrt{l_{K^+} l_{A_1}}} : \frac{A'}{\sqrt{l_{K^+} l_{A_2}}} = \sqrt{\frac{l_{A_2}}{l_{A_1}}}$$

Les valeurs de  $l_A$  sont rapportées toutes au  $l_A$  d'un anion choisi arbitrairement. Le choix est pratiquement imposé par le fait que la plupart des expériences sur la sélectivité ont été faites avec du chlorure de potassium. Nous poserons donc

$$l_K(K^+) = l_{K^+} = 1 \quad \text{et} \quad l_A(Cl^-) = l_{Cl^-} = 1$$

Avec cette convention, la valeur de  $A$  déterminée pour une membrane donnée avec des solutions de  $KCl$  devient numériquement égale à  $A'$ :

$$A_{KCl} = \frac{A'}{\sqrt{l_{K^+} l_{Cl^-}}} = A'$$



tandis que pour d'autres ions Me et la même membrane on aura :

$$\frac{A_{(\text{MeCl})}}{A_{(\text{KCl})}} = \frac{A'}{\sqrt{l_{\text{Me}^+} l_{\text{Cl}^-}}} : \frac{A'}{\sqrt{l_{\text{K}^+} l_{\text{Cl}^-}}} = \frac{1}{\sqrt{l_{\text{Me}^+}}}$$

D'une manière analogue on peut rapporter les mobilités  $U_K$  et  $U_A$  à des mobilités arbitrairement choisies. Ici aussi le choix de  $K^+$  et de  $Cl^-$  s'impose. Le rapport de deux quotients  $\frac{U_K}{U_A}$  obtenu avec des sels du même anion, par exemple.

$$\frac{U_{\text{Na}^+}}{U_{\text{Cl}^-}} : \frac{U_{\text{K}^+}}{U_{\text{Cl}^-}}$$

est bien

$$\frac{U_{\text{Na}^+}}{U_{\text{K}^+}}$$

ce qui permet de rapporter la mobilité du  $\text{Na}^+$  à la mobilité du  $\text{K}^+$  comme unité.

Nous décrivons dans le présent travail le comportement de plusieurs sels mono-monovalents envers différentes membranes; nous analyserons les influences de  $A'$ , de  $U_K / U_A$  et de la solubilité.

Tandis qu'on peut tirer des courbes de sélectivité les valeurs de  $U_K / U_A$  avec une précision satisfaisante, les déterminations des valeurs de  $A$  manquent souvent de précision. Il est alors préférable de déterminer  $A'$  à l'aide de  $\text{KCl}$  ( $A_{(\text{KCl})} = A'$ ) et de calculer  $l_K$  et  $l_A$  pour d'autres sels à l'aide des forces électromotrices observées lorsque des solutions très diluées de deux sels de même cation (ou de même anion) sont séparées par une membrane sélectivement perméable aux cations (ou aux anions, respectivement). Si les deux concentrations sont égales et suffisamment faibles ( $A \gg c$ ), cette force électromotrice est donnée par

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{U_{K_1} l_{K_2}}{U_{K_2} l_{K_1}} \quad \text{et} \quad -E = \frac{RT}{F} \ln \frac{U_{A_2} l_{A_2}}{U_{A_1} l_{A_1}}$$

Pour en tirer les valeurs relatives de  $l_{\text{Me}^+}$  (ou  $l_{\text{An}^-}$ ), il suffit de connaître les rapports des mobilités. Ce dernier rapport s'obtient à l'aide de deux courbes de sélectivité obtenues avec les deux sels de même cation (ou anion): à chacune de ces courbes correspond une valeur de  $U_K / U_A$  et le rapport de ces deux quotients est bien  $U_{K_2} / U_{K_1}$  (ou  $U_{A_2} / U_{A_1}$ , respectivement).

Considérons, par exemple 1) la série des chlorures  $\text{MeCl}$ , donc  $\text{KCl}$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{LiCl}$  ainsi que 2) la série des sels potassiques  $\text{KAN}$ , donc  $\text{KCl}$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{KI}$ .

Tableau 1.

| Me <sup>+</sup>              | $\frac{U_{Me^+} l_{Me^+}}{U_{K^+} l_{K^+}}$ | $\frac{U_{Me^+}}{U_{K^+}}$ | $\frac{l_{Me^+}}{l_{K^+}}$ |
|------------------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| K <sup>+</sup>               | 1   | 1                          | 1                          |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | 1,55  | 1,6                        | 1                          |
| Na <sup>+</sup>              | 0,7   | 0,8                        | 0,9                        |
| Li <sup>+</sup>              | 0,45  | 0,65                       | 0,7                        |

Valeurs obtenues avec film no. 3 du travail suivant.

Tableau 2.

| An <sup>-</sup>              | $\frac{U_{An^-} l_{An^-}}{U_{Cl^-} l_{Cl^-}}$ | $\frac{U_{An^-}}{U_{Cl^-}}$ | $\frac{l_{An^-}}{l_{Cl^-}}$ |
|------------------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|
| Cl <sup>-</sup>              | 1   | 1                           | 1                           |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | 5,2   | 1                           | 5,2                         |
| I <sup>-</sup>               | 1,82  | 0,6                         | 3,0                         |

Première colonne: film no. 6, deuxième colonne: film no. 3 du travail suivant.

Dans la membrane d'acétylcellulose (no. 3 du travail suivant) à pores fines et perméable aux cations, le lithium est moins soluble que le potassium. La solubilité d'un ion dans un liquide organique semble être une propriété extrêmement spécifique: c'est ainsi que de tous les ions alcalins, le Li<sup>+</sup> est le plus soluble dans les alcools et les amines, et le moins soluble dans les corps acides (phénol, acide butyrique<sup>1)</sup>). Il est probable que ce soient les groupes acides de la membrane sélective aux cations qui diminuent la solubilité du Li<sup>+</sup> dans le liquide se trouvant dans les pores.

Nous voyons en outre que les mobilités des ions NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et K<sup>+</sup> qui sont égales dans l'eau, diffèrent considérablement: dans la membrane K<sup>+</sup> est évidemment plus fortement freiné que NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Il est intéressant de constater la grande solubilité de l'ion NO<sub>3</sub><sup>-</sup> dans la membrane perméable aux anions. Nous rappelons l'observation de *Alleman*, citée par *Meyer*, *Hauptmann* et *Sievers*<sup>2)</sup> que le ion NO<sub>3</sub><sup>-</sup> est 12,6 fois et le ion I<sup>-</sup> 166 fois plus soluble dans le furfurool que le ion Cl<sup>-</sup>.

Un résultat intéressant résulte de la comparaison de l'iodure de potassium avec l'iodure de tétraméthylammonium. La détermination de la courbe de sélectivité avec ces deux sels et la même membrane d'acétate de cellulose, conduit pour les deux sels à deux valeurs de la constante de sélectivité Δ très semblables. On en déduit que le quotient  $l_{(CH_3)_4N^+}/l_{K^+}$  est voisin de 1, conclusion qui semblerait ne pas cadrer avec la solubilité beaucoup plus grande des sels de tétraméthylammonium dans les dissolvants organiques.

En cherchant pour les deux courbes de sélectivité des deux sels les rapports  $U_K : U_A$  on trouve

$$\text{pour KI: } U_K : U_A = 1$$

$$\text{pour } (CH_3)_4NI : U_K : U_A = 0,14$$

d'où, pour le quotient:

$$U_{(CH_3)_4N^+}/U_{K^+} = 0,14.$$

<sup>1)</sup> K. Meyer et M. Dunkel, Z. physikal. Ch., Bodenstein-Festband 553 (1931).

<sup>2)</sup> Z. El. Ch. 34, 373 (1928).

De la force électromotrice de la pile constituée par deux solutions diluées des deux sels, séparées par une membrane perméable aux cations on obtient

$$\frac{U_{(\text{CH}_3)_4\text{N}^+ \cdot \text{I}(\text{CH}_3)_4\text{N}^+}}{U_{\text{K}^+ \cdot \text{I}(\text{K}^+)}} = 0,13$$

En la comparant avec l'équation précédente on trouve de nouveau que le quotient  $I_{(\text{CH}_3)_4\text{N}^+}/I_{\text{K}^+}$  doit s'approcher de l'unité; ce résultat n'était donc pas dû aux erreurs expérimentales affectant la détermination de A.

### Partie expérimentale.

Les membranes ont été placées dans l'appareil décrit antérieurement<sup>1)</sup>. Les solutions en contact avec les membranes communiquaient par l'intermédiaire de solutions saturées de KCl avec des électrodes reversibles Hg/Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; les potentiels ont été mesurés à l'aide d'un pont de compensation. Comme instrument de zéro, nous nous sommes servis d'une triode électrométrique dont le circuit de grille était relié au pont de compensation et dont le circuit de plaque comprenait un galvanomètre. L'inverseur bipolaire monté dans le circuit de grille permettait de constater l'absence de différence de potentiel sur le pont, indépendamment des fluctuations lentes du courant de plaque. (Voir schéma fig. 2.)

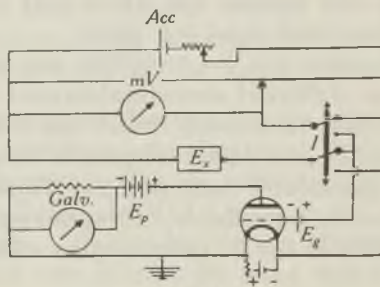
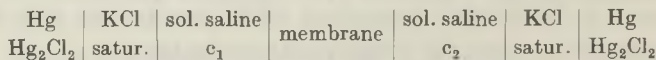


Fig. 2.

- $E_x$  = pile de mesure  
 $I$  = inverseur bipolaire  
 $mV$  = fil de résistance.  
 $E_g$  = tension de grille  
 $E_p$  = tension de plaque

La pile de concentration qui nous a servi pour la détermination de la courbe de sélectivité était constituée de la manière suivante:



Des différences de potentiel prennent en général naissance aux contacts KCl (satur.)/sol. saline c<sub>1</sub> et sol. saline c<sub>2</sub>/KCl (sat.).

Pour éliminer cette tension supplémentaire et pour tenir compte de la non-idéalité des électrolytes, nous avons obtenu un terme correctif  $\Delta$  qui est égal à la différence entre la tension calculée d'après:

$$E_{\text{calc}} = \frac{RT}{F} \cdot \frac{U_{\text{K}} - U_{\text{A}}}{U_{\text{K}} + U_{\text{A}}} \ln \frac{c_2}{c_1}$$

<sup>1)</sup> Helv. 19, 667 (1936).



et celle mesurée :  $E^0_{\text{obs}}$  pour la pile sans membrane. Le saut de potentiel à travers la membrane devient alors la somme de la tension de la pile avec membrane  $E^m_{\text{obs}}$  et la valeur de  $\Delta$ . Le signe + a été attribué lorsque la solution diluée est positive par rapport à la solution concentrée et inversement.

Les valeurs de  $\Delta$  pour plusieurs concentrations et différents électrolytes sont consignées dans le tableau 3. Les tableaux 4 et 5 contiennent les valeurs des tensions observées  $E^m_{\text{obs}}$  et corrigées  $E$  pour les membranes examinées. Les courbes de sélectivité des fig. 3 et 4 ont été obtenues à l'aide des valeurs de  $E$ .

Les valeurs de  $A'/\sqrt{I_K I_A} = A$  et de  $U_K/U_A$  résultant des courbes de sélectivité sont résumées dans le tableau 6. Le tableau 7 résume les valeurs de

$$\frac{U_{K_2} I_{K_2}}{U_{K_1} I_{K_1}} \quad \text{et de} \quad \frac{U_{A_2} I_{A_2}}{U_{A_1} I_{A_1}}$$

**Tableau 3.**  
Mesures sans membrane.

| concentrations | NH <sub>4</sub> Cl<br>KCl et KI |   | NaCl                          |       | LiCl                          |       | (CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> NI |       | KNO <sub>3</sub>              |       |
|----------------|---------------------------------|---|-------------------------------|-------|-------------------------------|-------|------------------------------------|-------|-------------------------------|-------|
|                | E <sub>calc</sub> = 0           |   | E <sub>calc</sub> = -3,75     |       | E <sub>calc</sub> = -6,0      |       | E <sub>calc</sub> = -4,5           |       | E <sub>calc</sub> = 0         |       |
|                | E <sup>0</sup> <sub>obs</sub>   | Δ | E <sup>0</sup> <sub>obs</sub> | Δ     | E <sup>0</sup> <sub>obs</sub> | Δ     | E <sup>0</sup> <sub>obs</sub>      | Δ     | E <sup>0</sup> <sub>obs</sub> | Δ     |
| 0,005 /0,01    | 0                               | 0 |                               |       |                               |       |                                    |       |                               |       |
| 0,00625/0,0125 |                                 |   |                               |       |                               |       | -4,5                               | 0     |                               |       |
| 0,01 /0,02     | 0                               | 0 | -3,0                          | -0,75 | -5,5                          | -0,5  |                                    |       | +0,75                         | -0,75 |
| 0,0125 /0,025  |                                 |   |                               |       |                               |       | -4,5                               | 0     |                               |       |
| 0,02 /0,04     | 0                               | 0 | -3,0                          | -0,75 | -5,5                          | -0,5  |                                    |       | +1,0                          | -1,0  |
| 0,025 /0,05    |                                 |   |                               |       |                               |       | -4,5                               | 0     |                               |       |
| 0,04 /0,08     | 0                               | 0 | -2,75                         | -1,0  | -5,25                         | -0,75 |                                    |       | +1,25                         | -1,25 |
| 0,05 /0,1      |                                 |   |                               |       |                               |       | -4,25                              | -0,25 |                               |       |
| 0,0625 /0,125  | 0                               | 0 |                               |       | -5,25                         | -0,75 |                                    |       |                               |       |
| 0,08 /0,16     | 0                               | 0 | -2,5                          | -1,25 |                               |       |                                    |       | +1,5                          | -1,5  |
| 0,1 /0,2       |                                 |   |                               |       |                               |       | -3,5                               | -1,0  |                               |       |
| 0,125 /0,25    | 0                               | 0 |                               |       | -5,0                          | -1,0  |                                    |       |                               |       |
| 0,16 /0,32     | 0                               | 0 | -2,25                         | -1,5  |                               |       |                                    |       | +2,0                          | -2,0  |
| 0,25 /0,5      | 0                               | 0 | -2,25                         | -1,5  | -4,75                         | -1,25 |                                    |       | +2,25                         | -2,25 |
| 0,5 /1,0       | 0                               | 0 | -1,75                         | -2,0  | -4,25                         | -1,75 |                                    |       | +3,0                          | -3,0  |
| 1,0 /2,0       | 0                               | 0 | -1,5                          | -2,25 | -3,5                          | -2,5  |                                    |       | +4,0                          | -4,0  |

$$E_{\text{calc}} = \frac{RT}{F} \cdot \frac{U_K - U_A}{U_K + U_A} \ln 2$$

$E^0_{\text{obs}}$  = valeur observée sans membrane.

$\Delta = E_{\text{calc}} - E^0_{\text{obs}}$  = correction.

**Tableau 4.**

mesures avec membrane: film n° 3 du travail suivant.

| concentrations | KCl                               | NH <sub>4</sub> Cl                | NaCl                          |            | LiCl                          |           |
|----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|------------|-------------------------------|-----------|
|                | E = E <sup>m</sup> <sub>obs</sub> | E = E <sup>m</sup> <sub>obs</sub> | E <sup>m</sup> <sub>obs</sub> | E          | E <sup>m</sup> <sub>obs</sub> | E         |
| 0,005 /0,01    | + 15,75 mv                        | + 16,25 mv                        |                               |            |                               |           |
| 0,01 /0,02     | + 15,0 mv                         | + 16,0 mv                         | + 15,5 mv                     | + 14,75 mv | + 15,5 mv                     | + 15,0 mv |
| 0,02 /0,04     | + 12,25 mv                        | + 15,0 mv                         | + 13,5 mv                     | + 12,75 mv | + 14,0 mv                     | + 13,5 mv |
| 0,04 /0,08     | + 7,5 mv                          | + 12,0 mv                         | + 10,0 mv                     | + 9,0 mv   | + 10,0 mv                     | + 9,25 mv |
| 0,0625/0,125   |                                   |                                   |                               |            | + 5,5 mv                      | + 4,75 mv |
| 0,08 /0,16     | + 2,5 mv                          |                                   | + 4,0 mv                      | + 2,75 mv  |                               |           |
| 0,125 /0,25    |                                   | + 5,75 mv                         |                               |            | - 0,5 mv                      | - 1,5 mv  |
| 0,16 /0,32     | - 1,25 mv                         |                                   | - 0,25 mv                     | - 1,75 mv  |                               |           |
| 0,25 /0,5      |                                   | + 2,25 mv                         | - 1,75 mv                     | - 3,25 mv  | - 3,5 mv                      | - 4,75 mv |
| 0,5 /1,0       | - 3,5 mv                          | + 0,5 mv                          | - 3,0 mv                      | - 5,0 mv   | - 4,5 mv                      | - 6,25 mv |
| 1,0 /2,0       | - 3,75 mv                         | 0,0 mv                            | - 3,25 mv                     | - 5,5 mv   | - 4,25 mv                     | - 6,75 mv |

**Tableau 5.**

mesures avec membrane: film n° 3 du travail suivant.

| concentrations | (CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> NI |           | KI                                | KNO <sub>3</sub>              |           |
|----------------|------------------------------------|-----------|-----------------------------------|-------------------------------|-----------|
|                | E <sup>m</sup> <sub>obs</sub>      | E         | E = E <sup>m</sup> <sub>obs</sub> | E <sup>m</sup> <sub>obs</sub> | E         |
| 0,00625/0,0125 | + 8,5 mv                           | + 8,5 mv  |                                   |                               |           |
| 0,01 /0,02     |                                    |           |                                   | + 12,75 mv                    | + 12,0 mv |
| 0,0125 /0,025  | + 2,0 mv                           | + 2,0 mv  |                                   |                               |           |
| 0,02 /0,04     |                                    |           |                                   | + 8,25 mv                     | + 7,25 mv |
| 0,025 /0,05    | - 5,25 mv                          | - 5,25 mv |                                   |                               |           |
| 0,04 /0,08     |                                    |           |                                   | + 3,25 mv                     | + 2,0 mv  |
| 0,05 /0,1      | - 8,5 mv                           | - 8,75 mv |                                   |                               |           |
| 0,0625 /0,125  |                                    |           | + 6,0 mv                          |                               |           |
| 0,08 /0,16     |                                    |           |                                   | + 0,5 mv                      | - 1,0 mv  |
| 0,1 /0,2       | - 10,0 mv                          | - 11,0 mv |                                   |                               |           |
| 0,125 /0,25    |                                    |           | + 3,5 mv                          |                               |           |
| 0,16 /0,32     |                                    |           |                                   | - 0,75 mv                     | - 2,75 mv |
| 0,25 /0,5      |                                    |           | + 1,75 mv                         | - 1,25 mv                     | - 3,5 mv  |
| 0,5 /1,0       |                                    |           | + 0,75 mv                         | - 1,0 mv                      | - 4,0 mv  |
| 1,0 /2,0       |                                    |           | + 0,25 mv                         | - 0,25 mv                     | - 4,25 mv |

E<sup>m</sup><sub>obs</sub> = valeur observée avec membrane.

E = E<sup>m</sup><sub>obs</sub> + Δ = valeur corrigée.

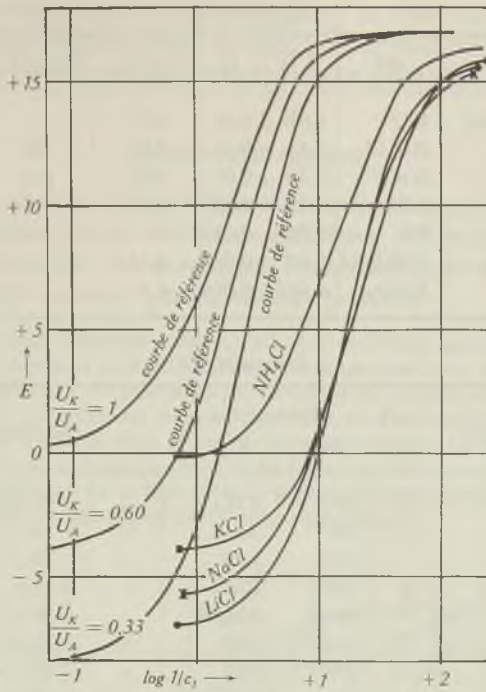


Fig. 3.

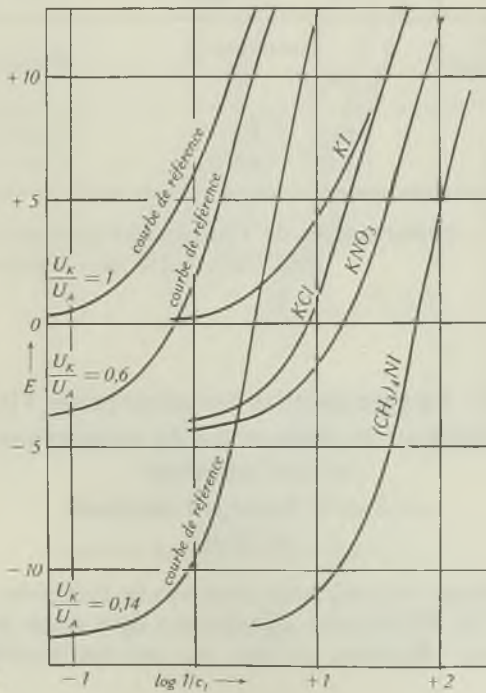


Fig. 4.



Tableau 6.

| membrane          | sel                                | $A' / \sqrt{I_K I_A}$ | $U_K / U_A$ | $U_{Me+} / U_{K+}$ | $U_{An-} / U_{Cl-}$ |
|-------------------|------------------------------------|-----------------------|-------------|--------------------|---------------------|
| film n° 3 (acide) | KCl                                | 0,09 ± 0,01           | 0,6         | 1                  | 1                   |
| do.               | NH <sub>4</sub> Cl                 | 0,11 ± 0,01           | 0,95        | 1,6                |                     |
| do.               | NaCl                               | 0,12 ± 0,01           | 0,47        | 0,8                |                     |
| do.               | LiCl                               | 0,13 ± 0,02           | 0,4         | 0,65               |                     |
| do.               | KI                                 | 0,065 ± 0,01          | 1           |                    | 0,6                 |
| do.               | (CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> NI | 0,05 ± 0,005          | 0,14        |                    |                     |
| do.               | KNO <sub>3</sub>                   | 0,043 ± 0,005         | 0,6         |                    | 1                   |

Tableau 7.

| membrane acide      | électrolytes   |                    |                                    | E observé | $\frac{U_{K_2} \cdot I_{K_2}}{U_{K_1} \cdot I_{K_1}}$ |       |
|---------------------|----------------|--------------------|------------------------------------|-----------|---|-------|
|                     | K <sub>1</sub> | K <sub>2</sub>     |                                    |           |   |       |
| film n° 3 . . . . . | +              | KCl                | NH <sub>4</sub> Cl                 | -         | + 10,75 mv  | 1,55  |
| do. . . . .         | -              | KCl                | NaCl                               | +         | - 9,5 mv  | 0,69  |
| do. . . . .         | -              | KCl                | LiCl                               | +         | - 19,0 mv   | 0,47  |
| do. . . . .         | +              | KCl                | RbCl                               | -         | + 1,0 mv  | 1,05  |
| do. . . . .         | +              | NaCl               | NH <sub>4</sub> Cl                 | -         | + 20,0 mv   | 2,25  |
| do. . . . .         | -              | NaCl               | LiCl                               | +         | - 9,5 mv  | 0,69  |
| do. . . . .         | +              | NH <sub>4</sub> Cl | HCl                                | -         | + 63,0 mv   | 12,45 |
| do. . . . .         | -              | KI                 | (CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> NI | +         | - 51,0 mv   | 0,13  |
| membrane basique    | électrolytes   |                    |                                    | E observé | $\frac{U_{A_2} \cdot I_{A_2}}{U_{A_1} \cdot I_{A_1}}$ |       |
|                     | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub>     |                                    |           |   |       |
| film n° 6 . . . . . | -              | KCl                | KI                                 | +         | + 15,0 mv   | 1,82  |
| do. . . . .         | -              | KCl                | KNO <sub>3</sub>                   | +         | + 41,5 mv   | 5,25  |

Laboratoires de Chimie inorganique et organique  
de l'Université de Genève.

### 127. La perméabilité des membranes VIII.

#### Prescriptions pour la préparation de membranes sélectives et non sélectives

par Kurt H. Meyer et P. Bernfeld.

(29 VI 45)

Dans le présent travail, nous traitons la méthode de préparation de membranes de différentes sélectivités que nous pouvons recommander pour leur stabilité. A part les courbes de sélectivité, nous

donnons des valeurs approximatives pour la résistance électrique de la membrane en contact avec la solution d'électrolyte. Cette résistance est en raison inverse (antibate) de la grandeur des pores.

*Membranes neutres.*

Il ne nous a pas été possible de confectionner des membranes neutres en cellulose ou en dérivés de cellulose, car la cellulose contient des groupes carboxyle. En revanche, les membranes en triacétylamylose se révélèrent comme pratiquement neutres.

L'amylose de maïs cristallisé a été extrait avec de l'éther jusqu'à ce que sa teneur en P soit tombée au-dessous de 0,0005%, puis fractionné par l'eau chaude. La partie la moins soluble<sup>1)</sup>, après avoir été précipitée par l'alcool d'une solution d'hydrate de chloral, a été transformée en triacétate au moyen de pyridine et d'anhydride acétique<sup>2)</sup>. 1 gr. de triacétylamylose a été dissous dans 20 cm<sup>3</sup> de tétrachloroéthane. La solution filtrée, versée sur une plaque de verre, a donné au bout de 24 heures un film qui s'est laissé facilement décoller. Après dessiccation de ce film (film 1) pendant quatre semaines dans le vide sur du silicagel, sa courbe de sélectivité a été déterminée (fig. 1).

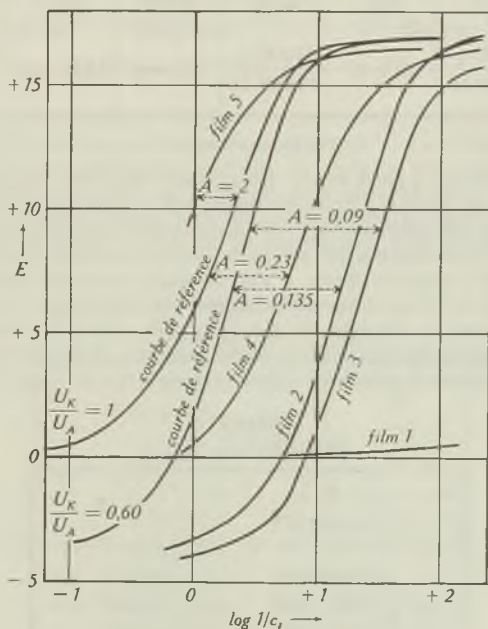


Fig. 1.

Courbes de sélectivité des films 1 à 5.

<sup>1)</sup> p. ex. Helv. **23**, 862 (1940), fraction IV.

<sup>2)</sup> Helv. **23**, 888 (1940).

**Tableau 1.**  
Sélectivité du film 1.

| KCl<br>normalité |           | E |          |
|------------------|-----------|---|----------|
| +                | 0,01/0,02 | - | +0,5 mv  |
| +                | 0,04/0,08 | - | +0,25 mv |
|                  | 0,16/0,32 |   | 0 mv     |
|                  | 1,0 /2,0  |   | 0 mv     |

La résistance a été mesurée dans la même cuve contenant des deux côtés de la membrane une solution de KCl 0,16 n selon la méthode habituelle pour les solutions d'électrolytes. On soustrait de la résistance obtenue ainsi la résistance de l'électrolyte mesurée sous les mêmes conditions dans le même appareil sans membrane. Il est évident que l'on ne peut obtenir ainsi que l'ordre de grandeur de la résistivité.

**Tableau 2.**  
Résistance du film 1.

| électro-lyte  | résistance électrolyte + mem-brane | résistance électro-lyte seul | résistance mem-brane seule | section de la mem-brane | épaisseur de la mem-brane | résistance spéci-fique de la membrane en KCl 0,16 n   |
|---------------|------------------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------|---------------------------|---|
| KCl<br>0,16 n | 60 000 ±<br>20 000 Ω               | 510 Ω                        | 60 000 ±<br>20 000 Ω       | 1,2 cm <sup>2</sup>     | 0,014 mm                  | 5 × 10 <sup>7</sup> ± 1,5 × 10 <sup>7</sup><br>ohm.cm |

*Membranes acides.*

1. *Membrane sélective à pores étroits:* En ajoutant de l'acide chlorhydrique concentré à une solution aqueuse, saturée à froid, de Chloranthinlichtrot 5 GLL (CIBA), nous avons précipité l'acide libre du colorant qui a été filtré et séché dans le vide, sur de la soude caustique. Une solution saturée à 35° de l'acide libre du colorant dans 5 cm<sup>3</sup> de pyridine sèche additionnée de 5 gouttes d'eau a été mélangée avec une solution de 0,4 gr. de cellite L 900 dans 5 cm<sup>3</sup> de pyridine sèche; après refroidissement à la température ordinaire, nous avons versé ce mélange sur une plaque de verre. Au bout de 12 heures, le film se laisse facilement détacher. Il est séché pendant 12 heures dans le vide sur de l'acide sulfurique concentré, puis lavé soigneusement avec de l'eau. Film 2 (fig. 1).

**Tableau 3.**  
Sélectivité du film 2.

| KCl<br>normalité |            | E |           |
|------------------|------------|---|-----------|
| +                | 0,005/0,01 | - | +17,0 mv  |
| +                | 0,01 /0,02 | - | +16,5 mv  |
| +                | 0,02 /0,04 | - | +15,0 mv  |
| +                | 0,04 /0,08 | - | +10,5 mv  |
| +                | 0,08 /0,16 | - | + 5,25 mv |
| +                | 0,16 /0,32 | - | + 0,75 mv |
| -                | 0,5 /1,0   | + | - 2,5 mv  |
| -                | 1,0 /2,0   | + | - 3,25 mv |



Par comparaison avec les courbes de référence, on obtient une constante de sélectivité  $A \approx 0,135$  et un rapport des vitesses de migration  $U_K/U_A \approx 0,6$ .

**Tableau 4.**  
Résistance du film 2.

| électrolyte | résistance<br>électrolyte<br>+ membrane | résistance<br>électrolyte<br>seul | résistance<br>membrane<br>seule |
|-------------|---|-----------------------------------|---------------------------------|
| KCl 0,01 n  | 9000 $\pm$ 500 $\Omega$                 | 7270 $\Omega$                     | 1730 $\pm$ 500 $\Omega$         |
| KCl 0,02 n  | 5700 $\pm$ 100 $\Omega$                 | 3710 $\Omega$                     | 1990 $\pm$ 100 $\Omega$         |
| KCl 0,04 n  | 2600 $\pm$ 40 $\Omega$                  | 1905 $\Omega$                     | 695 $\pm$ 40 $\Omega$           |
| KCl 0,08 n  | 1500 $\pm$ 20 $\Omega$                  | 980 $\Omega$                      | 520 $\pm$ 20 $\Omega$           |
| KCl 0,16 n  | 740 $\pm$ 10 $\Omega$                   | 510 $\Omega$                      | 230 $\pm$ 10 $\Omega$           |
| KCl 0,32 n  | 370 $\pm$ 5 $\Omega$                    | 265 $\Omega$                      | 105 $\pm$ 5 $\Omega$            |

| section<br>de la<br>membrane | épaisseur<br>de la<br>membrane | résistance spécifique<br>de la membrane<br>en KCl 0,16 n |
|------------------------------|--------------------------------|--|
| 1,2 cm <sup>2</sup>          | 0,027 mm                       | 1 $\times$ 10 <sup>5</sup> ohm.cm                        |

2. *Membrane à pores étroits, à sélectivité moyenne*: 1 gr. de cellite L 900 est dissous dans un mélange de 25 cm<sup>3</sup> de pyridine sèche et de 2,5 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse, saturée à froid, de l'acide libre du Chloranthinlichtrot. Ce mélange est versé sur une plaque de verre. Le film est détaché au bout de 24 heures, puis séché 48 heures dans le vide sur de l'acide sulfurique concentré; enfin nous l'avons soigneusement lavé avec de l'eau. Film 3 (fig. 1). Il contient visiblement moins de colorant que le film précédent.

**Tableau 5.**  
Sélectivité du film 3.

| KCl<br>normalité |            | E |           |
|------------------|------------|---|-----------|
| +                | 0,005/0,01 | - | +15,75 mv |
| +                | 0,01 /0,02 | - | +15,0 mv  |
| +                | 0,02 /0,04 | - | +12,25 mv |
| +                | 0,04 /0,08 | - | + 7,5 mv  |
| +                | 0,08 /0,16 | - | + 2,5 mv  |
| -                | 0,16 /0,32 | + | - 1,25 mv |
| -                | 0,5 1,0    | + | - 3,5 mv  |
| -                | 1,0 /2,0   | + | - 3,75 mv |

Cette membrane a une constante de sélectivité  $A \approx 0,09$  et un rapport des vitesses de migration  $U_K/U_A \approx 0,6$ . Comme on le comprend facilement, A dépend de la concentration du colorant acide.

**Tableau 6.**  
Résistance du film 3.

| électrolyte | résistance électrolyte + membrane | résistance électrolyte seul | résistance membrane seule | section de la membrane | épaisseur de la membrane | résistance spécifique de la membrane en KCl 0,16 n |
|-------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|--|
| KCl 0,16 n  | 705 ± 10 Ω                        | 510 Ω                       | 195 ± 10 Ω                | 1,2 cm <sup>2</sup>    | 0,024 mm                 | 1 × 10 <sup>5</sup> ohm . cm                       |

La résistance spécifique et la valeur de  $U_K/U_A$  de ce film sont égales à celles du film précédemment décrit. Il possède donc la même dimension de pores.

3. *Membrane sélective à pores larges*: Nous avons dissous 1,1 gr. de cellite L 900 dans un mélange de 10 cm<sup>3</sup> de pyridine sèche et de 1 cm<sup>3</sup> d'une solution, saturée à 35°, de l'acide libre de Chloranthinlichrot. La solution a été coulée sur une plaque de verre, le film se laisse détacher au bout de 3 jours. Il est séché 2 jours dans le vide sur de l'acide sulfurique concentré, puis soigneusement lavé avec de l'eau. Film 4 (fig. 1).

**Tableau 7.**  
Sélectivité du film 4.

| KCl normalité |            | E |            |
|---------------|------------|---|------------|
| +             | 0,005/0,01 | - | + 16,5 mv  |
| +             | 0,01 /0,02 | - | + 16,25 mv |
| +             | 0,02 /0,04 | - | + 15,75 mv |
| +             | 0,04 /0,08 | - | + 14,5 mv  |
| +             | 0,08 /0,16 | - | + 12,0 mv  |
| +             | 0,16 /0,32 | - | + 8,0 mv   |
| +             | 0,5 /1,0   | - | + 2,25 mv  |
| +             | 1,0 /2,0   | - | + 0,5 mv   |

On obtient pour la constante de sélectivité de cette membrane:  $A \approx 0,23$  et pour le rapport de vitesses de migration:  $U_K/U_A \approx 1$ .

**Tableau 8.**  
Résistance du film 4.

| électrolyte | résistance électrolyte + membrane | résistance électrolyte seul | résistance membrane seule |
|-------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| KCl 0,01 n  | 8250 ± 500 Ω                      | 7270 Ω                      | 980 ± 500 Ω               |
| KCl 0,02 n  | 4000 ± 100 Ω                      | 3710 Ω                      | 290 ± 100 Ω               |
| KCl 0,04 n  | 2100 ± 40 Ω                       | 1905 Ω                      | 195 ± 40 Ω                |
| KCl 0,08 n  | 1130 ± 20 Ω                       | 980 Ω                       | 150 ± 20 Ω                |
| KCl 0,16 n  | 610 ± 10 Ω                        | 510 Ω                       | 100 ± 10 Ω                |
| KCl 0,32 n  | 325 ± 5 Ω                         | 265 Ω                       | 60 ± 5 Ω                  |

|                        |                          |  |
|------------------------|--------------------------|--|
| section de la membrane | épaisseur de la membrane | résistance spécifique de la membrane en KCl 0,16 n |
| 1,2 cm <sup>2</sup>    | 0,1 mm                   | 1,2 × 10 <sup>4</sup> ohm . cm                     |

Ce film est très fortement sélectif. Sa faible résistance spécifique et sa valeur de  $U_K/U_A$ , qui est égale à celle qu'on obtiendrait en diffusion libre, dénotent une grande largeur de pores. Celle-ci provient du fait que le film, malgré sa grande épaisseur, n'est séché qu'imparfaitement (deux jours dans le vide).

4. *Membrane à pores larges, hautement sélective*: Nous avons traité 5 gr. de Glykocellon N sec de la maison Ol- und Chemie Werke, Hausen, par un mélange de 50 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique concentré et de 50 cm<sup>3</sup> d'acide nitrique fumant (densité d = 1,52), pendant 90 minutes à 0°. Ensuite le mélange a été versé sur de la glace et le précipité filtré, lavé à l'eau jusqu'à disparition de la réaction acide, puis séché dans le vide. Ce produit brut a été dissous dans de l'acétone et la solution a été séparée par centrifugation d'un dépôt gélatineux et insoluble. La solution claire a été précipitée à l'eau, le dépôt a été filtré, lavé à l'eau et séché dans le vide. 1 gr. de ce produit a été dissous dans 30 cm<sup>3</sup> de pyridine sèche et la solution a été coulée sur une plaque de verre. Au bout de 24 heures, le film, détaché après avoir été humidifié à l'eau, a été plongé pendant trois heures dans une solution de KCl 0,5 n et enfin soigneusement lavé à l'eau. Film 5 (fig. 1).

**Tableau 9.**  
Sélectivité du film 5.

| KCl normalité |           | E |           |
|---------------|-----------|---|-----------|
| +             | 0,02/0,04 | - | +16,50 mv |
| +             | 0,08/0,16 | - | +16,25 mv |
| +             | 0,16/0,32 | - | +15,75 mv |
| +             | 0,5 /1,0  | - | +13,25 mv |
| +             | 1,0 /2,0  | - | +10,25 mv |

Ce film a une constante de sélectivité  $A \sim 2$ .

**Tableau 10.**  
Résistance du film 5.

| electrolyte | résistance électrolyte + membrane | résistance électrolyte seul | résistance membrane seule | section de la membrane | épaisseur de la membrane | résistance spécifique de la membrane en KCl 0,16 n |
|-------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|--|
| KCl 0,16 n  | 515 ± 5 Ω                         | 510 Ω                       | 5 ± 5 Ω                   | 1,2 cm <sup>2</sup>    | 0,026 mm                 | < 5000 ohm . cm                                    |

Ce film, qui a été séparé de la plaque de verre au moyen d'eau, n'a pas été séché du tout. De ce fait, il possède une résistance spécifique extrêmement faible et par suite, une très grande largeur de pores; par contre, sa constante de sélectivité est extrêmement élevée.



Membranes basiques.

Nous avons mélangé 0,4 gr. de cellite L 900 dissous dans 8 cm<sup>3</sup> d'acide acétique glacial avec 2 cm<sup>3</sup> d'une solution saturée à froid de bleu Victoria dans de l'acide acétique glacial. Ce mélange a été coulé sur une plaque de verre. Au bout de 12 heures, ce film se laisse facilement détacher. Nous l'avons soigneusement lavé à l'eau, ce qui a provoqué la dissolution d'une certaine quantité de colorant. Film 6 (fig. 2).

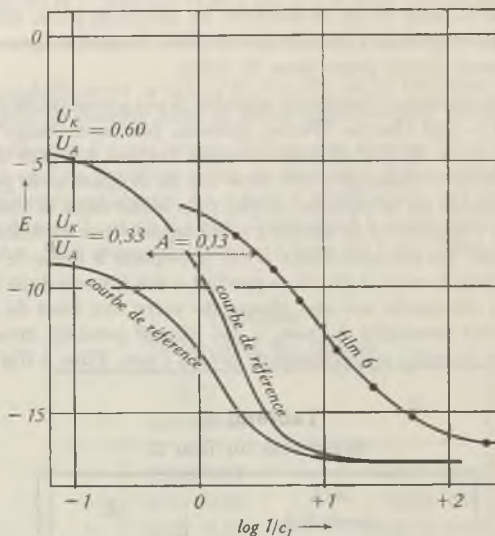


Fig. 2.

Courbe de sélectivité du film 6.

Tableau 11.

Sélectivité du film 6.

| KCl<br>normalité |            |   | E          |
|------------------|------------|---|------------|
| -                | 0,005/0,01 | + | - 16,25 mv |
| -                | 0,01 /0,02 | + | - 16,0 mv  |
| -                | 0,02 /0,04 | + | - 15,25 mv |
| -                | 0,04 /0,08 | + | - 14,0 mv  |
| -                | 0,08 /0,16 | + | - 12,5 mv  |
| -                | 0,16 /0,32 | + | - 10,5 mv  |
| -                | 0,5 /1,0   | + | - 8,0 mv   |
| -                | 1,0 /2,0   | + | - 7,0 mv   |

La constante de sélectivité de cette membrane ressort à  $A \approx 0,13$ , le rapport des vitesses de migration s'élève à  $U_K/U_A \approx 0,5$ .

**Tableau 12.**  
Résistance du film 6.

| électrolyte | résistance<br>électrolyte<br>+ membrane | résistance<br>électrolyte<br>seul | résistance<br>membrane<br>seule |
|-------------|---|-----------------------------------|---------------------------------|
| KCl 0,01 n  | 11000 ± 500 Ω                           | 7270 Ω                            | 3730 ± 500 Ω                    |
| KCl 0,02 n  | 6250 ± 100 Ω                            | 3710 Ω                            | 2540 ± 100 Ω                    |
| KCl 0,04 n  | 3600 ± 40 Ω                             | 1905 Ω                            | 1695 ± 40 Ω                     |
| KCl 0,08 n  | 2150 ± 20 Ω                             | 980 Ω                             | 1170 ± 20 Ω                     |
| KCl 0,16 n  | 1200 ± 10 Ω                             | 510 Ω                             | 690 ± 10 Ω                      |
| KCl 0,32 n  | 650 ± 5 Ω                               | 265 Ω                             | 385 ± 5 Ω                       |

| section<br>de la<br>membrane | épaisseur<br>de la<br>membrane | résistance spécifique<br>de la membrane<br>en KCl 0,16 n |
|------------------------------|--------------------------------|--|
| 1,2 cm <sup>2</sup>          | 0,029 mm                       | 2,9 × 10 <sup>5</sup> ohm . cm                           |

Le tableau 13 récapitule les caractéristiques des membranes décrites dans cet exposé :

**Tableau 13.**

| film n <sup>o</sup> | nature<br>de la<br>membrane | constante de<br>sélectivité<br>A | valeur de<br>$U_K/U_A$<br>pour KCl | résistance<br>spécifique<br>(ohm . cm <sup>1</sup> ) | dimension<br>des pores |
|---------------------|-----------------------------|----------------------------------|------------------------------------|--|------------------------|
| 1                   | neutre                      | <0,001                           | 1                                  | 5 × 10 <sup>7</sup>                                  | très petits            |
| 2                   | acide                       | 0,135                            | 0,6                                | 1 × 10 <sup>6</sup>                                  | moyens                 |
| 3                   | acide                       | 0,09                             | 0,6                                | 1 × 10 <sup>6</sup>                                  | moyens                 |
| 4                   | acide                       | 0,23                             | 1                                  | 1,2 × 10 <sup>4</sup>                                | grands                 |
| 5                   | acide                       | 2                                |                                    | ca. 2,5 × 10 <sup>3</sup>                            | très grands            |
| 6                   | basique                     | 0,13                             | 0,5                                | 2,9 × 10 <sup>5</sup>                                | moyens                 |

On remarque que la valeur de  $U_K/U_A$  diminue d'autant plus et diffère d'autant plus de la valeur en solution aqueuse que la résistance spécifique s'accroît, donc en raison inverse de la dimension des pores.

Tous nos films, aussi bien après leur préparation qu'après une mesure ont été abondamment lavés avec de l'eau, puis conservés uniquement après avoir séché à l'air.

Lors de la mesure d'une série de concentrations, nous recommandons de commencer par les solutions les plus concentrées, pour descendre ensuite dans l'échelle des concentrations. En aucun cas il ne faut mesurer alternativement des solutions concentrées et diluées. Le côté de la membrane qui, lors de la première mesure, a été en contact avec la solution de la concentration inférieure, doit l'être pour toutes les mesures de la même série. Nous remarquons que la tension lors des mesures de concentration de 0,16/0,32 n et supérieures s'établit très rapidement et demeure constante pendant un temps assez long, et nous observons, pour les solutions plus diluées, une croissance de la tension d'autant plus lente que la concentration est plus faible. En homogénéisant chacune des solutions d'électrolytes,

<sup>1</sup>) La résistance spécifique de la solution 0,16 n de KCl est de 57 ohm . cm.

par exemple en retournant l'appareil tout en maintenant les ouvertures bouchées, et particulièrement à l'aide d'un renouvellement fréquent des solutions, on obtient des valeurs maxima, à condition que les mesures soient prises tout de suite après ces manipulations. Les valeurs maxima indiquées par nous baissent d'autant plus rapidement que les solutions sont plus diluées; on peut néanmoins les maintenir constantes à volonté, soit en retournant les récipients, soit en renouvelant les solutions d'électrolytes.

Laboratoires de Chimie inorganique et organique  
de l'Université de Genève.

### 128. La perméabilité des membranes IX.

#### La perméabilité ionique des membranes inhomogènes

par Kurt H. Meyer et P. Bernfeld.

(29 VI 45)

Lorsqu'une membrane est composée de parties différemment sélectives arrangées «en mosaïque», on obtient par les mesures potentiométriques une courbe se plaçant entre les courbes de sélectivité de chaque partie homogène de la membrane. On ne peut toutefois déduire théoriquement le parcours exact de la courbe.

Comme il est possible que la plupart des membranes ne soient pas sélectives d'une manière égale sur toute leur surface, il nous a semblé opportun d'étudier expérimentalement l'influence d'une telle «structure en mosaïque». Nous avons donc expérimenté un arrangement artificiel, analogue à la structure en mosaïque: nous avons mis en parallèle deux membranes de même diamètre, de même résistance et de même valeur  $U_K/U_A$  pour  $NH_4Cl$ , mais de sélectivité différente. Le film le plus sélectif (avec  $A \approx 0,12$ ) est une membrane d'acétylcellulose séchée, contenant le colorant acide libre du «Chloranthinlichtrot», le moins sélectif ( $A \approx 0,075$ ) est un film d'acétylcellulose sec, dépourvu de colorant. Les mesures dans des solutions de  $NH_4Cl$  donnent la courbe de sélectivité de la figure 1.

Nous avons obtenu d'autre part des films préparés d'une manière analogue à celle du film n° 2 du travail précédent, mais qui étaient moins séchés et où l'acide libre du Chloranthinlichtrot était dissous dans la pyridine anhydre sans adjonction d'eau. Ces films laissent apparaître nettement des zones contiguës faiblement et fortement colorées, soit une structure en mosaïque macroscopique. Ils donnent dans les solutions de  $KCl$  des courbes de sélectivité dont un exemple est donné dans la figure 2.



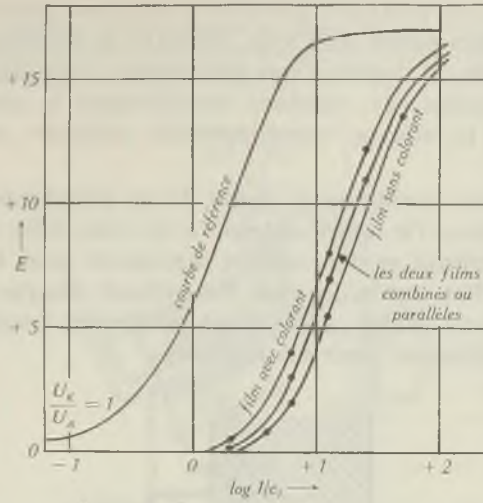


Fig. 1.

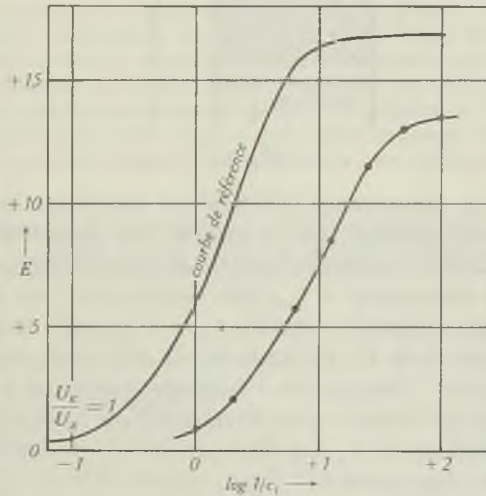


Fig. 2.

Courbe de sélectivité d'un film d'une structure en mosaïque macroscopique.

La caractéristique de cette courbe est de posséder une pente moins rapide que la courbe théorique. L'observation d'une telle courbe permettrait directement la conclusion d'une structure en mosaïque s'il n'y avait pas une autre cause qui peut provoquer une telle courbe. En effet, on obtient des courbes pareilles lors d'un changement de concentration par suite de diffusion à travers la membrane pendant la mesure, ce qui cause une diminution des différences

de potentiel. Il est toutefois possible d'éliminer par un appareillage approprié, qui sera décrit plus loin, l'effet de la diffusion; si la courbe peu raide subsiste, il s'agira d'une structure en mosaïque. Il n'est pas possible, par contre, de conclure inversement à une homogénéité totale, lorsque la courbe expérimentale coïncide avec la courbe théorique.

Nous traitons maintenant le cas d'une membrane composée de différentes *couches*. On peut obtenir avec une telle membrane des courbes de sélectivité et des valeurs moyennes pour la constante de sélectivité et l'effet tamis, lorsque l'on attend chaque fois que l'état stationnaire se soit établi; mais il est également possible d'analyser les couches extérieures pour elles-mêmes.

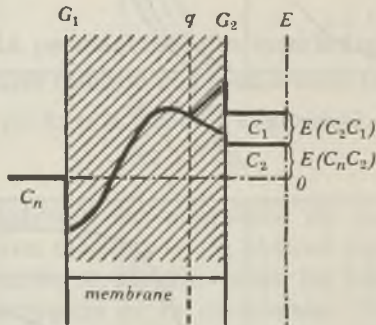


Fig. 3.

Supposons la membrane divisée en couches: la différence de potentiel totale est donnée par la somme des potentiels pour chaque couche. On maintient la concentration de la solution sur un des côtés de la membrane constante =  $c_n$ . Sur l'autre côté, on établit d'abord une concentration  $c_1$ , puis le double  $c_2 = 2 c_1$ , puis le quadruple, etc. On mesure chaque fois  $E$ . L'équilibre de diffusion ne peut s'établir chaque fois pendant l'instant de l'échange que dans la couche limite  $q - G_2$  (voir figure 3) alors que la répartition ionique établie précédemment se maintient de  $G_1$  à  $q$  et les potentiels propres de ces couches ne changent pas. Le potentiel  $E(c_1$  couche limite  $c_2)$  est égal à la différence  $E(c_n/c_2 - E c_n/c_1)$ . De là, comme à partir de la différence suivante  $E(c_n/c_3 - E c_n/c_2)$ , etc., il est possible de construire la courbe de sélectivité à partir de laquelle on obtient, comme ci-dessus, la constante de sélectivité et l'effet tamis. Les autres couches limites sont analysées d'une manière identique.

Lorsque l'on veut éviter une modification de la concentration saline par suite de diffusion, ce qui a surtout lieu avec des membranes à pores larges, on travaille de la manière suivante: on fait couler les deux solutions des deux côtés le long de la membrane, ou bien, ce qui est plus commode, on fait couler seulement la plus diluée des deux solutions et on choisit une concentration très forte pour la solution à concentration constante, afin qu'une légère perte en sels n'entre pourcentuellement pas en ligne de compte.

Les mesures ont été effectuées dans l'appareillage représenté par la fig. 4. La membrane M est fixée entre les deux bouchons en caoutchouc C, maintenus par une pince métallique. Les cellules en verre A et B sont introduites dans les bouchons en caoutchouc jusqu'à 3 mm. de la membrane. L'appareillage est légèrement penché, afin que l'extrémité

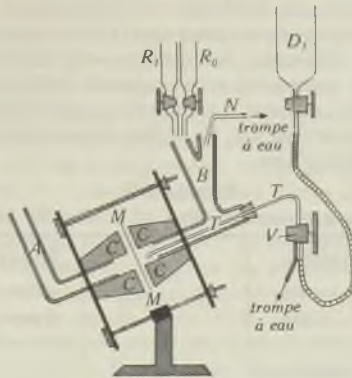


Fig. 4.

recourbée du tube de vidange T plonge au plus profond de la cellule B. La cellule A contient la solution dont la concentration doit être gardée constante pendant toutes les mesures, la cellule B la solution à concentration variable. La tension est  $E = 0$ ,  $E = x$  dans le cas d'un potentiel d'assymétrie. La solution  $L_0$  de la cellule B est alors rapidement pompée à la trompe à vide au moyen du tube T et remplacée par la solution  $L_1$ ; cette dernière vient du récipient  $R_1$  par un robinet à large voie. La cellule B est rincée quantitativement par trois aspirations et introductions de la solution  $L_1$ . Puis on tourne immédiatement le robinet à trois voies V pour faire couler lentement et continuellement la même solution  $L_1$  à travers la cellule B, qui provient du réservoir  $D_1$  et entre par le tube T;

Tableau 1.

Comparaison des mesures de sélectivité d'un film homogène (n° 2) d'après la méthode par différence et d'après la méthode habituelle.

| KCl normalité | E trouvé  | KCl normalité | E par différence | E trouvé par mesure habituelle |
|---------------|-----------|---------------|------------------|--------------------------------|
| - 0,16/0,01   | + 47,0 mv | + 0,01/0,02   | - + 16,0 mv      | + 16,5 mv                      |
| - 0,16/0,02   | + 31,0 mv | + 0,02/0,04   | - + 15,0 mv      | + 15,0 mv                      |
| - 0,16/0,04   | + 16,0 mv | + 0,04/0,08   | - + 10,75 mv     | + 10,5 mv                      |
| - 0,16/0,08   | + 5,25 mv | + 0,08/0,16   | - + 5,25 mv      | + 5,25 mv                      |
| - 0,16/0,16   | 0 mv      | + 0,16/0,32   | - + 0,75 mv      | + 0,75 mv                      |
| + 0,16/0,32   | - 0,75 mv |               |                  |                                |
| - 0,16/0,5    | 0 mv      | - 0,5 /1,0    | + - 2,5 mv       | - 2,5 mv                       |
| - 0,16/1,0    | + 2,5 mv  | - 1,0 /2,0    | + - 3,25 mv      | - 3,25 mv                      |
| - 0,16/2,0    | + 5,75 mv |               |                  |                                |

l'excès est aspiré à la trompe à vide par le tube N. La durée depuis le pompage de la solution  $L_0$  jusqu'à l'écoulement continu de la solution  $L_1$  dans la cellule B ne dépasse pas 20 secondes. On effectue alors immédiatement la mesure, ce qui prend au maximum les



20 secondes suivantes. Enfin, on emploie encore 20 secondes pour remplacer de la même manière la solution  $L_1$  par la solution  $L_0$ , provenant du récipient  $R_0$ . La tension doit être de nouveau  $E = 0$ , sinon, la mesure est à recommencer.

Nous avons d'abord montré pour une membrane homogène (film no. 2 du travail précédent) que cette méthode par différence est pratiquement utilisable.

Le film n° 4 du travail précédent nous a servi d'exemple d'une membrane possédant des couches de sélectivité différente. Ses surfaces sont visiblement différentes. Le côté desséché en contact avec le verre (côté verre) apparaît brillant, alors que le côté desséché au contact de l'air (côté air) est mat. Les mesures sont effectuées avec des solutions de KCl; la concentration constante est 2 n. La surface à mesurer est tournée vers la cellule B, où l'on fait varier les concentrations.

**Tableau 2.**

Mesures de sélectivité des surfaces du film n° 4 d'après la méthode par différence.

| KCl normalité |          | E trouvé   |          | KCl normalité |   | E par différence |          | E du film total par la mesure habituelle |            |            |
|---------------|----------|------------|----------|---------------|---|------------------|----------|--|------------|------------|
|               |          | côté verre | côté air |               |   | côté verre       | côté air |  |            |            |
| -             | 2,0/0,01 | +          | 64,5 mv  | 67,25 mv      | + | 0,01/0,02        | -        | + 15,5 mv                                | + 13,75 mv | + 16,25 mv |
| -             | 2,0/0,02 | +          | 49,0 mv  | 53,5 mv       | + | 0,02/0,04        | -        | + 15,0 mv                                | + 13,5 mv  | + 15,75 mv |
| -             | 2,0/0,04 | +          | 34,0 mv  | 40,0 mv       | + | 0,04/0,08        | -        | + 13,0 mv                                | + 13,0 mv  | + 14,5 mv  |
| -             | 2,0/0,08 | +          | 21,0 mv  | 27,0 mv       | + | 0,08/0,16        | -        | + 10,0 mv                                | + 10,75 mv | + 12,0 mv  |
| -             | 2,0/0,16 | +          | 11,0 mv  | 16,25 mv      | + | 0,16/0,32        | -        | + 6,5 mv                                 | + 7,75 mv  | + 8,0 mv   |
| -             | 2,0/0,32 | +          | 4,5 mv   | 8,5 mv        | + | 0,32/0,64        | -        | + 3,0 mv                                 | + 5,0 mv   |            |
| -             | 2,0/0,64 | +          | 1,5 mv   | 3,5 mv        | + | 0,64/1,28        | -        |  | + 3,25 mv  |            |
| -             | 2,0/1,28 | +          |          | 0,25 mv       | + | 0,5 /1,0         | -        |  |            | + 2,25 mv  |
|               |          |            |          |               | + | 1,0 /2,0         | -        |  |            | + 0,5 mv   |

Les courbes de sélectivité de la membrane entière et de ses 2 couches extérieures sont représentées dans la fig. 5.

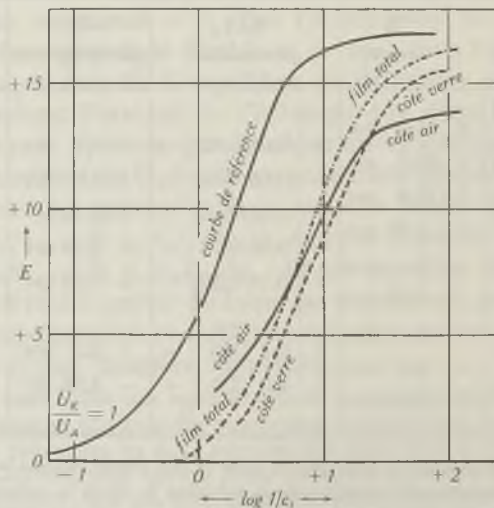


Fig. 5.

Courbes de sélectivité du film 4 et de ses deux couches extérieures.

Nous voyons que la surface séchée au contact du verre possède une sélectivité inférieure à celle du film entier, mais elle lui apparaît analogue par suite du parallélisme des 2 courbes de sélectivité. La surface séchée au contact de l'air présente par contre nettement la courbe de sélectivité d'une inhomogénéité en mosaïque.

Nous avons de plus effectué une série de mesures en appliquant sur le film n° 4 une membrane basique (film n° 6 du travail précédent) afin de vérifier l'emploi de la méthode; nous avons fait varier les concentrations des solutions en contact avec le film acide. Les résultats concordent avec ceux obtenus sans film basique.

Si une couche de liquide se trouve à l'intérieur d'une membrane, par exemple lorsque l'on superpose deux films sélectivement différents, après les avoir humectés avec une solution saline, on obtient une différence de potentiel, même lorsque la concentration saline est la même des deux côtés de l'ensemble des films. Cette différence de potentiel est appelée *potentiel d'assymétrie*. Elle n'apparaît pas lorsque la concentration de l'électrolyte se trouve être la même à l'intérieur et à l'extérieur. Si la concentration interne en électrolytes d'un tel système de membranes est modifiée par diffusion pendant une série de mesures de la sélectivité des couches externes, on ne peut plus déduire des différences de potentiel mesurées la valeur pour la couche limite. Cette modification est mise en évidence lorsqu'on ne retrouve pas immédiatement le potentiel d'assymétrie original, après avoir mis en contact avec les deux côtés de la membrane des solutions de concentration égales et identiques aux concentrations originales.

Il est donc préférable de contrôler, après chaque mesure, la tension obtenue pour des concentrations égales; elle représente en quelque sorte le point zéro d'une série de mesures.

Laboratoires de Chimie inorganique et de Chimie organique  
de l'Université de Genève.

## 129. Zur Kenntnis der Thiazol-4-sulfonsäure und der Thiazol-5-sulfonsäure

von H. Erlenmeyer und H. Kiefer.

(29. VI. 45.)

Über die Sulfonierung von substituierten Thiazolverbindungen liegen Mitteilungen von *E. Ochiai*<sup>1)</sup> und von *F. Nagasawa*<sup>2)</sup> vor, die bei ihren Untersuchungen feststellten, dass die Sulfonierung des Thiazolringes in 5-Stellung sich besonders leicht durchführen lässt, dass aber die Reaktion durch Substituenten in 2-Stellung sehr stark beeinflusst wird.

Unbekannt waren bisher unsubstituierte Thiazolsulfonsäuren. Wir interessierten uns für diese Verbindungen im Zusammenhang mit Untersuchungen über das durch Nicotinsäure-amid bedingte Wachstum von Mikroorganismen<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> B. 72, 1470 (1939); J. Pharm. Soc. Japan, 59, 43 (1939).

<sup>2)</sup> J. Pharm. Soc. Japan, 60, 219 (1940).

<sup>3)</sup> A. Lwoff und Querido, C. r. 203, 520 (1936); F. C. Schmelkes, Science 90, 113 (1939); McIlwain, Brit. J. Exp. Pathol. 21, 136 (1940); A. Dorfmann, L. Rice, St. A. Koser und F. Saunders, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 45, 750 (1940); Z. Immunitätsf. exp.

In einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> berichteten wir, dass die durch Sulfonierung des Amino-thiazols und nach der Entfernung der  $\text{NH}_2$ -Gruppe resultierende Thiazolsulfonsäure vom Smp. 304° das durch Nicotinsäure-amid bedingte Wachstum von *Staphylococcus aureus* nicht hemmt, sondern im Gegenteil bei Abwesenheit von Nicotinsäure-amid das Wachstum ermöglicht, d. h. Nicotinsäure-amid vertreten kann. Identische Thiazol-sulfonsäurepräparate vom Smp. 304° konnten wir noch auf anderen Wegen, ausgehend von 2-Bromthiazol oder von Thiazol direkt erhalten. Bei all diesen Synthesen blieb es jedoch ungewiss, ob die Sulfonierung in 4- oder 5-Stellung erfolgt.

Beim Pyridin, das in seinem chemischen Verhalten sehr viel Ähnlichkeit mit dem Thiazol besitzt, führt die Sulfonierung des 2-Amino-pyridins zur 2-Aminopyridin-5-sulfonsäure. Durch vergleichende Untersuchungen an den Carbonsäuren des Thiazols<sup>2)</sup> und des Pyridins war jedoch gezeigt worden, dass die Analogie zwischen Pyridin und Thiazol ihre Grenzen besitzt, indem im Thiazol die Carboxylgruppe in der 4-Stellung fester gebunden ist als in der 5-Stellung, während beim Pyridin die Pyridin-3-carbonsäure stabiler ist als die Pyridin-2-carbonsäure.

Eine Aufklärung der Struktur, d. h. eine Entscheidung ob die auf drei Wegen erhaltene Sulfonsäure des Thiazols eine Thiazol-4- oder -5-sulfonsäure ist, wurde ermöglicht durch die Synthese der Thiazol-4-sulfonsäure, die, ausgehend von 2-Amino-5-bromthiazol erhalten werden konnte.

2-Amino-5-bromthiazol (II) bildet sich bei der Bromierung von 2-Amino-thiazol (I).

Die Struktur dieses Bromierungsproduktes konnte gesichert werden durch Überführung in das 2-Acetylamino-bromthiazol und durch Vergleich des erhaltenen Präparates mit einem nach den Angaben von *H. J. Baker* und *J. A. Keverling Buisman*<sup>3)</sup> hergestellten 2-Acetylamino-5-bromthiazol, dessen Struktur wiederum von diesen Autoren durch Bildung des 2-Acetylamino-5-cyanthiazols und der bekannten 2-Amino-thiazol-5-carbonsäure bewiesen worden ist.

---

Therapie 101, 58 (1941); *R. West* und *A. F. Coburn*, *J. Exp. Medicine* 72, 41 (1940); *J. Matti*, *F. Nitti*, *M. Morel* und *A. Lwoff*, *Ann. Inst. Pasteur* 67, 240 (1941); *E. E. Snell* und *L. O. Wright*, *J. Biol. Chem.* 139, 675 (1941); *H. Erlenmeyer* und *W. Würgler*, *Helv.* 25, 249 (1942); *E. F. Möller* und *L. Birkhofer*, *B.* 75, 1108, 1118 (1942); *E. Adler*, *H. v. Euler* und *B. Skarzynski*, *Ark. Kemi* 17, N° 2 (1943); *H. v. Euler*, *L. Ahlström* und *B. Högberg*, *Ark. Kemi* 17, N° 20 (1944).

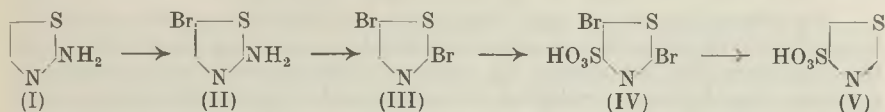
<sup>1)</sup> *H. Erlenmeyer*, *H. Bloch* und *H. Kiefer*, *Helv.* 25, 1066 (1942).

<sup>2)</sup> *H. Erlenmeyer* und *H. v. Meyenburg*, *Helv.* 20, 204 (1937); *H. Erlenmeyer* und *Ch. Morel*, *Helv.* 25, 1073 (1942); 28, 362 (1945); *H. Erlenmeyer*, *P. Buchmann* und *H. Schenkel*, *Helv.* 27, 1435 (1944).

<sup>3)</sup> *R.* 63, 227 (1944).

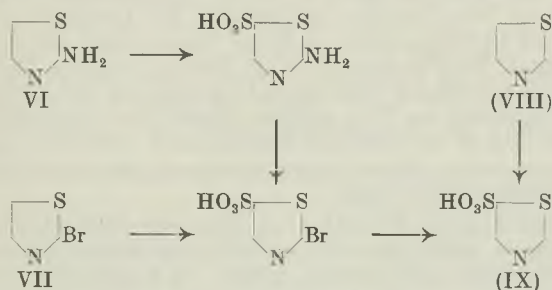


Aus 2-Amino-5-bromthiazol liess sich über 2,5-Dibromthiazol (III)<sup>2)</sup> die 2,5-Dibromthiazol-4-sulfonsäure (IV) und weiter die Thiazol-4-sulfonsäure (V) erhalten.



Die auf diesem Wege erhaltene Thiazol-4-sulfonsäure hat überraschenderweise gleichfalls den Smp. von 304<sup>o</sup>, jedoch zeigte der Mischschmelzpunkt mit der vorgangs erwähnten Thiazolsulfonsäure vom Smp. 304<sup>o</sup> eine Erniedrigung von 25<sup>o</sup> und zudem sind von diesen beiden Säuren die Lösungsgleichgewichte in Wasser und die biologischen Eigenschaften deutlich verschieden.

Es wurde gefunden, dass die Thiazol-4-sulfonsäure 8,48mal leichter löslich ist als die Thiazol-sulfonsäure, die aus Amino-thiazol (VI), Bromthiazol (VII) und Thiazol (VIII) erhalten wurde und die somit als Thiazol-5-sulfonsäure (IX) aufzufassen ist.



Eine vergleichende biologische Prüfung<sup>3)</sup> der Wirkung der Thiazol-4-sulfonsäure auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus* in der gleichen Versuchsanordnung wie sie bei der Thiazol-5-sulfonsäure verwendet wurde, ergab, dass die Thiazol-4-sulfonsäure das durch Nicotinsäure-amid bedingte Wachstum nicht hemmt, aber auch im Gegensatz zur Thiazol-5-sulfonsäure bei Abwesenheit von Nicotinsäure-amid das Wachstum nicht ermöglicht.

### Experimenteller Teil.

#### 2-Amino-thiazol-5-sulfonsäure.

In 30 g Oleum werden unter guter Eiskühlung nach und nach 5 g 2-Amino-thiazol eingewogen. Die Umsetzung beginnt sofort bei Zugabe des Amino-thiazols. Das Reak-

<sup>1)</sup> Das von *J. P. Wibaut*, R. 53, 77 (1934) bei der direkten Bromierung des Thiazols erhaltene Dibromthiazol mit unbekannter Struktur ist, wie ein Vergleich mit dem von uns erhaltenen Präparat zeigte, gleichfalls 2,5-Dibromthiazol.

<sup>2)</sup> Hr. P.-D. Dr. *H. Bloch*, dem wir auch an dieser Stelle für die Durchführung dieser Versuche bestens danken möchten, wird hierüber noch an anderer Stelle ausführlicher berichten.

tionsgemisch lässt man zuerst 30 Minuten stehen, erhitzt alsdann noch eine Stunde auf dem Wasserbad und giesst nach erfolgter Abkühlung auf Eis. Aus der Lösung fällt man die überschüssige Schwefelsäure mit Bariumcarbonat, filtriert und kocht noch mehrmals mit heissem Wasser aus.

Die Filtrate dampft man unter Vakuum auf dem Wasserbad ein. Der verbleibende braune Rückstand wird im Wasser aufgenommen und von ungelösten Anteilen abgetrennt. Die Sulfonsäure lässt sich alsdann mit verdünnter Schwefelsäure aus dem Bariumsalz gewinnen. Nach Entfernen des hierbei sich abscheidenden Bariumsulfates engt man die Lösung auf 40 cm<sup>3</sup> ein. Aus der Lösung krystallisiert die Sulfonsäure in der Kälte aus. 60—65% Ausbeute. Schmelzpunkt der rohen Sulfonsäure bei 232—236°, nach dem Umkrystallisieren aus Wasser 239—240°. Analysenrein wird die Sulfonsäure durch Krystallisation aus heissem Wasser unter Zusatz eines gleichen Volumens Eisessig gewonnen. Smp. 246—247°.

Die reine Säure löst sich schlecht in kaltem, gut in heissem Wasser; in organischen Lösungsmitteln ist sie unlöslich.

5,004 mg Subst. gaben 0,676 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (18°, 773 mm)

C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> Ber. N 15,54 Gef. N 15,37%

#### 2-Bromthiazol-5-sulfonsäure.

1. Darstellung aus 2-Aminothiazol-5-sulfonsäure. 10 g 2-Aminothiazol-sulfonsäure löst man unter Erwärmen in 100 cm<sup>3</sup> Phosphorsäure (84%) und versetzt nach Abkühlung mit 10 cm<sup>3</sup> 66-proz. Salpetersäure. Die Diazotierung<sup>1)</sup> wird zwischen -10° und +5° mit 6 g Natriumnitrit, in 12 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, mittels einer Einspritzpipette durchgeführt. Nach 45 Minuten ist die Reaktion beendet. Die *Sandmeyer'sche* Reaktion erfolgt in der üblichen Weise durch Umsetzung mit 300 cm<sup>3</sup> Bromwasserstoffsäure (48%) in Gegenwart von 2,5 g gefälltem Kupfer. Die Stickstoffentwicklung tritt augenblicklich ein und ist bei wirksamer Kühlung nach 10 Minuten beendet. Die Aufarbeitung erfolgte über das in Alkohol lösliche Natriumsalz, das dann direkt für die weitere Verarbeitung verwendet werden kann.

2. Darstellung aus 2-Bromthiazol. 9,5 g 2-Bromthiazol werden langsam in 90 cm<sup>3</sup> 20-proz. Oleum, welches man mit 0,4 g HgSO<sub>4</sub> versetzt hat, eingetragen. Zu Beginn wird der Kolbeninhalt auf 170° erwärmt. Später — d. h. nach einer halben Stunde — senkt man die Temperatur und belässt während 8 Stunden auf 140—150°. Die erkaltete Lösung giesst man auf Eis und neutralisiert mit Bariumcarbonat. Die Aufarbeitung ergab 17,7 g des Bariumsalzes der Sulfonsäure. Durch Umsetzung mit der berechneten Menge von verdünnter Schwefelsäure erhält man die freie Sulfonsäure neben Bariumsulfat. Aus dem beim Eindampfen der — vom Bariumsulfat befreiten — Lösung verbleibenden Rückstand lässt sich mit Hilfe von Alkohol die freie Sulfonsäure aufnehmen und aus der gereinigten alkoholischen Lösung isolieren (Ausbeute 80%).

Analysenreine Krystalle erhält man beim langsamen Verdunsten einer wässrigen alkoholischen Lösung. 2-Bromthiazol-5-sulfonsäure zersetzt sich oberhalb 180°.

5,868 mg Subst. gaben 0,286 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (19,5°, 740 mm)

11,8 mg verbrauchen 0,966 cm<sup>3</sup> 0,05-n. NaOH

C<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NBrS<sub>2</sub> Ber. N 5,74% Äquiv.-Gew. 244  
Gef. „ 5,58% „ „ 244,3

#### Thiazol-5-sulfonsäure.

1. Darstellung aus 2-Bromthiazol-5-sulfonsäure. 0,8 g 2-Bromthiazol-5-sulfonsäure und 1,3 g Ba(OH)<sub>2</sub>·8 H<sub>2</sub>O werden in 20 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und in Gegenwart von *Raney-Nickel* durch katalytische Hydrierung in Thiazol-5-sulfonsäure übergeführt. Nach Beendigung der H<sub>2</sub>-Aufnahme filtriert man vom Katalysator ab und fällt Ba mit der berechneten Menge verdünnter Schwefelsäure. Aus der abgetrennten Lösung

<sup>1)</sup> Siehe auch *H. Erlenmeyer* und *H. Überwasser*, *Helv.* 25, 515 (1942).

erhält man die Thiazol-5-sulfonsäure in Krystallen. Nach dem Umkrystallisieren aus Wasser unter Zusatz von Aktivkohle bildet sie weisse Nadeln vom Smp. 304—305°.

3,698 mg Subst. gaben 0,280 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (23°, 744 mm)

C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>O<sub>3</sub>NS<sub>2</sub> Ber. N 8,5 Gef. N 8,55%

2. Darstellung aus Thiazol. 2 g Thiazol werden unter Kühlung in 5 cm<sup>3</sup> konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gelöst. Dazu gibt man langsam 28-proz. Oleum und 200 mg HgSO<sub>4</sub> und erwärmt 3 Stunden auf 250°. Nach dem Abkühlen giesst man auf Eis und neutralisiert zuerst mit heisser Ba(OH)<sub>2</sub>-Lösung gegen Kongorot, dann mit BaCO<sub>3</sub> gegen Lackmus. Nach Entfernung des BaSO<sub>4</sub> wird die Lösung eingeengt und aus dem Bariumsalz die Sulfonsäure mit verdünnter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> frei gemacht. Nach weiterer Entfernung von Wasser im Vakuum erfolgt eine Abscheidung von Krystallen. Smp. 305°. Der Mischschmelzpunkt mit Thiazol-sulfonsäure-Präparaten, die aus Bromthiazol-sulfonsäure erhalten worden waren, zeigt keine Erniedrigung. Ausbeute 65%.

#### 2-Amino-5-bromthiazol und 2-Acetyl-amino-5-bromthiazol.

10 g 2-Amino-thiazol löst man in 100 cm<sup>3</sup> Eisessig und fügt in die auf 75° erwärmte Lösung unter Schütteln 16 g Brom in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig hinzu. Das Brom wird sofort verbraucht, die Temperatur der Lösung steigt an und wird zwischen 80—85° gehalten. Nach Verbrauch von ungefähr zwei Dritteln des Broms trübt sich die Lösung. Nach 6—8 Stunden hat sich ein brauner amorpher Bodenkörper abgeschieden, von dem man abgiesst. Aus der Lösung scheiden sich im Verlauf von einigen Tagen Krystalle von einem noch stark verunreinigten bromwasserstoffsäuren Salz des 2-Amino-bromthiazols ab. Zur Gewinnung der freien Base wird das Salz mit wenig Wasser aufgenommen und mit Ammoniak umgesetzt. 2-Amino-5-bromthiazol fällt als voluminöser Niederschlag aus. Die Verbindung zersetzt sich leicht. 2-Amino-5-bromthiazol löst sich leicht in Äther und in Alkohol, weniger leicht in Benzol und Ligroin, schwer in kaltem Wasser, in heissem Wasser nur unter Zersetzung. Aus Benzol umkrystallisiert zeigt 2-Amino-5-bromthiazol den Smp. 94—95°.

Zur Charakterisierung wurde das Acetylderivat hergestellt. 1 g der feuchten Base wird in Eisessig gelöst und mit einem Überschuss an Essigsäure-anhydrid versetzt, worauf sofort das Acetylderivat auskrystallisieren beginnt. Nach einer Viertelstunde giesst man in viel Wasser und isoliert das abgeschiedene Produkt. Beim Umkrystallisieren aus Alkohol unter Zusatz von Aktivkohle erhält man das reine Acetylderivat vom Smp. 221°.

4,222 mg Subst. gaben 0,467 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22,5°, 742 mm)

C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>ON<sub>2</sub>BrS Ber. N 10,66 Gef. N 10,47%

Der Mischschmelzpunkt, mit einem nach den Angaben von *H. J. Baker* und *J. A. Keverling Buisman* gewonnenen 2-Acetyl-amino-5-bromthiazol zeigt keine Erniedrigung.

#### 2,5-Dibromthiazol.

38 g frisch bereitetes 2-Amino-5-bromthiazol werden in 300 cm<sup>3</sup> Phosphorsäure (84%) aufgenommen und zu der auf 0° gekühlten Lösung 60 g Salpetersäure (d = 1,4) hinzugefügt. Die Diazotierung wird bei einer Temperatur von 15° mit 22 g Natriumnitrit in 45 cm<sup>3</sup> Wasser durchgeführt. Für die *Sandmeyer'sche* Reaktion lässt man auf die auf 0° gekühlte Diazoniumsalzlösung in Gegenwart von 1,7 g Kupfer 400 cm<sup>3</sup> 66-proz. gekühlte Bromwasserstoffsäure einwirken. Die Stickstoffentwicklung ist massig. Die resultierende Lösung wird in 2 Liter Eiswasser gegossen, worauf sich feine Krystalle von Dibromthiazol abscheiden. Das Rohprodukt wird durch Destillieren im Vakuum und anschliessende Krystallisation aus Petroläther gereinigt. Ausbeute 40%, Smp. 46—47°.

2,5-Dibromthiazol löst sich leicht in Äther, Essigester und Benzol, mässig in Äthyl- und Methylalkohol und Petroläther. Gegenüber Säuren ist es beständig, hingegen wird es durch methylalkoholisches Kaliumhydroxyd zersetzt.

5,674 mg Subst. gaben 0,293 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (20,5°, 732 mm)

C<sub>5</sub>H<sub>2</sub>NBr<sub>2</sub>S Ber. N 5,76 Gef. N 5,78%

Durch Umsetzen mit einer ätherischen HgCl<sub>2</sub>-Lösung erhält man ein bei 187—189° schmelzendes Salz.



2-Chlor-5-bromthiazol.

Die Synthese lässt sich ausgehend von 2-Amino-5-bromthiazol nach der oben angegebenen Weise mit Hilfe von konz. Salzsäure durchführen. Die Ausbeuten sind jedoch wesentlich schlechter als bei der Bildung des 2,5-Dibromthiazols. 2-Chlor-5-bromthiazol aus Petroläther umkrystallisiert zeigt einen Smp. von 52—53°.

5,131 mg Subst. gaben 0,305 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (17,5°, 745 mm)  
 C<sub>3</sub>HNCIBrS Ber. N 7,05 Gef. N 6,85%

2,5-Dibromthiazol-4-sulfonsäure.

5 g Dibromthiazol und 250 mg HgSO<sub>4</sub> werden in Oleum eingetragen und während 4 Stunden erhitzt (Ölbadtemperatur 200—215°). Den erkalteten Kolbeninhalt giesst man auf Eis. Hierbei fällt das von der Sulfonierung nicht erfasste Dibromthiazol aus und wird zurückgewonnen. Die Aufarbeitung erfolgt über das Bariumsalz, das mit Schwefelsäure die 2,5-Dibromthiazol-4-sulfonsäure ergibt. Aus einer hochkonzentrierten wässrigen Lösung erhält man nach Zusatz von Essigsäure-anhydrid eine krystalline Abscheidung der 2,5-Dibromthiazol-4-sulfonsäure. Zersp. 240—241°. Die Säure löst sich leicht in Wasser und Alkohol.

7,506 mg Subst. gaben 0,283 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (20,5°, 734 mm)  
 C<sub>3</sub>HO<sub>3</sub>NBr<sub>2</sub>S<sub>2</sub> Ber. N 4,33 Gef. N 4,23%

Thiazol-4-sulfonsäure.

1 g 2,5-Dibromthiazol-4-sulfonsäure wird in 5 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, mit einer Lösung von 2 g Ba(OH)<sub>2</sub>·8 H<sub>2</sub>O in 15 cm<sup>3</sup> Wasser sowie mit Raney-Nickel versetzt und mit H<sub>2</sub> behandelt. Die Hydrierung erfolgt ziemlich langsam. Nach der Aufnahme der berechneten Menge Wasserstoff filtriert man vom Katalysator ab und fällt Ba<sup>++</sup> mit verdünnter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Das Volumen des Filtrats vermindert man im Vakuum und lässt schliesslich die Lösung im Vakuum verdunsten. Man erhält 0,5 g Sulfonsäurekrystalle, die noch mit wenig Wasser und Alkohol gewaschen werden. Smp. 304—305°. Der Mischschmelzpunkt mit der Thiazol-5-sulfonsäure (Smp. 304°) liegt bei 280—281°. Thiazol-4-sulfonsäure löst sich ziemlich gut in kaltem Wasser, leicht in heissem Wasser und schwer in heissem Alkohol.

Zur Gewinnung einer analysenreinen Substanz wird ein Teil der aus Wasser umkrystallisierten Säure in Alkohol gelöst und durch vorsichtiges Abdunsten des Alkohols zur Krystallisation gebracht.

3,743 mg Subst. gaben 0,270 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (14,5°, 753 mm)  
 C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>O<sub>3</sub>NS<sub>2</sub> Ber. N 8,5 Gef. N 8,28%

Löslichkeit der Thiazol-5-sulfonsäure und der Thiazol-4-sulfonsäure in Wasser.

Analysenreine Präparate werden durch wiederholtes Umkrystallisieren aus Wasser erhalten, wobei auf die Abwesenheit von SO<sub>4</sub><sup>''</sup> und Br<sup>'</sup> in den Mutterlaugen geachtet wurde.

Die Löslichkeit wurde an in der Wärme hergestellten Lösungen, die sich mit Bodenkörpern seit drei Tagen bei 17° im Gleichgewicht befanden, bestimmt. Der Gehalt dieser Lösung an Säure wurde durch Mikrotitration mit Phenolphthalein als Indikator ermittelt. Es wurden je drei Messungen ausgeführt.

I. Thiazol-5-sulfonsäure.

1. Dargestellt aus 2-Bromthiazol.

|                       |                        |                        |                        |
|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Lösung . . . . .      | 1. 0,3 cm <sup>3</sup> | 2. 0,3 cm <sup>3</sup> | 3. 0,3 cm <sup>3</sup> |
| 0,1-n. NaOH . . . . . | 1. 0,81 „              | 2. 0,81 „              | 3. 0,81 „              |

2. Dargestellt aus Thiazol.

|                       |                        |                        |                        |
|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Lösung . . . . .      | 1. 0,3 cm <sup>3</sup> | 2. 0,3 cm <sup>3</sup> | 3. 0,3 cm <sup>3</sup> |
| 0,1-n. NaOH . . . . . | 2. 0,81 „              | 2. 0,81 „              | 3. 0,81 „              |

Mittelwert: 0,81 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH für 0,3 cm<sup>3</sup> Lösung, entspricht 270 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH für 100 cm<sup>3</sup> gesättigte Lösung (17°), die demnach enthalten 0,027 Mol. bzw. 4,46 g Thiazol-5-sulfonsäure.

II. Thiazol-4-sulfonsäure.

|                       |                        |                        |                        |
|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Lösung . . . . .      | 1. 0,1 cm <sup>3</sup> | 2. 0,1 cm <sup>3</sup> | 3. 0,2 cm <sup>3</sup> |
| 0,1-n. NaOH . . . . . | 2. 2,26 „              | 2. 2,24 „              | 3. 4,67 „              |

Mittelwert: 2,29 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH für 0,1 cm<sup>3</sup> Lösung, entspricht 2290 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH für 100 cm<sup>3</sup> gesättigte Lösung (17°), die demnach enthalten 0,229 Mol. bzw. 37,83 g Thiazol-4-sulfonsäure.

Thiazol-4-sulfonsäure ist nach diesen Messungen 8,48 mal leichter löslich als Thiazol-5-sulfonsäure.

Die Mikroanalysen verdanken wir z. T. dem mikroanalytischen Laboratorium der *Ciba Aktiengesellschaft* (Herr Dr. *H. Gysel*), z. T. wurden sie in unserer Anstalt durch Fräulein *E. Beck* durchgeführt.

Dem Kuratorium der *Ciba- und J. Brodbeck-Sandreuter-Stiftung* möchten wir auch an dieser Stelle für die Unterstützung der Untersuchung unsern verbindlichsten Dank sagen.

Universität Basel, Anstalt für anorganische Chemie.

130. Über Steroide.

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

Bisdehydro-marrianol- und Bisdehydro-doisyngsäuren.

Über oestrogene Carbonsäuren III

von *J. Heer, J. R. Billeter* und *K. Miescher*.

(29. VI. 45.)

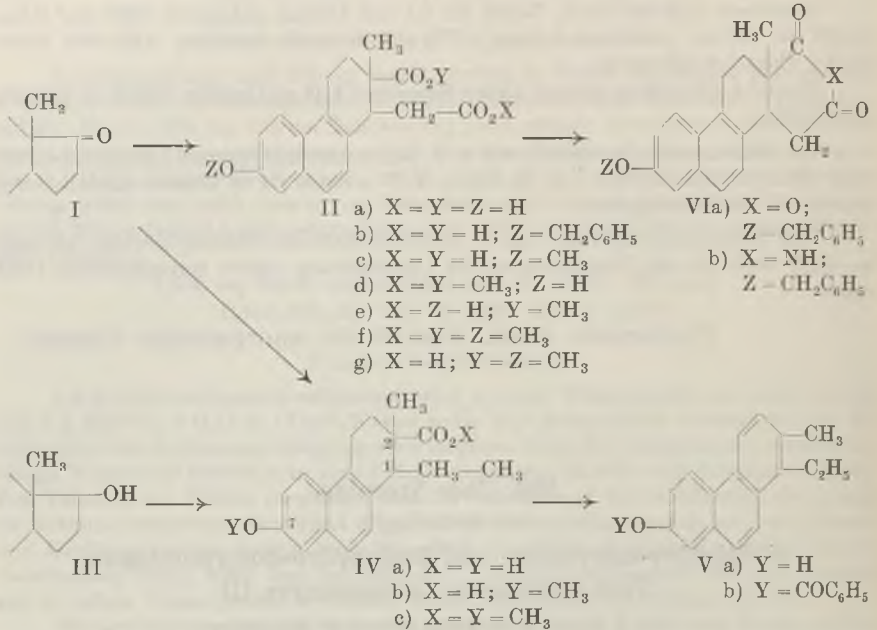
Hatten wir in der letzten Mitteilung den Abbau des Oestrone und Oestradiols zur Marrianol- bzw. Doisyngsäure beschrieben, so möchten wir hier über Versuche zur Überführung von Equilenin und Dihydro-equilenin in die entsprechenden Di- bzw. Monocarbonsäuren, die Bisdehydro-marrianolsäure und die beiden Bisdehydro-doisyngsäuren berichten.

I. Die *d*-Bisdehydro-marrianolsäure.

Wie beim Oestron führten wir auch die Aufspaltung des 5-Ringes des Equilenins (I) mit Hypojodit durch. Ausgehend vom Benzyl- bzw. Methyläther des Equilenins gelangten wir so zur Benzyl- bzw. Methyl-bisdehydro-marrianolsäure (IIb bzw. IIc) und erhielten daraus durch Hydrierung bzw. Einwirkung von Pyridinhydrochlorid die freie Bisdehydro-marrianolsäure (IIa). Die reine Säure schmolz bei 243—245°. Der mit Diazomethan aus ihr gewonnene Dimethyl-

<sup>1)</sup> 40. Mitteilung siehe *Helv.* **28**, 156 (1945).

ester (II<sub>d</sub>) ging durch blosses Ausschütteln seiner ätherischen Lösung mit 2-n. Natronlauge in den Monomethylester (II<sub>e</sub>) über, wobei nur die primäre Carbomethoxygruppe angegriffen wurde. Ganz entsprechend erhielten wir auch den Dimethyl- und den Monomethylester der in 7-Stellung methylierten Bisdehydro-marrianolsäure (II<sub>f</sub> und II<sub>g</sub>).



Im Gegensatz zur Marrianolsäure verharzte die freie Bisdehydro-marrianolsäure beim Versuch, sie durch Sublimation im Hochvakuum in ihr Anhydrid überzuführen. Dagegen entstand das Anhydrid VI a der Benzyl-bisdehydro-marrianolsäure, wenn man den Benzyläther der Säure II<sub>b</sub> in einem Gemisch von Pyridin und Acetanhydrid stehen liess. Durch Verschmelzen des Anhydrids mit Harnstoff gewannen wir auch das Imid (VI b).

Die Bisdehydro-marrianolsäure erwies sich wie die Marrianolsäure sowohl im Oestrustest als auch im Uterustest an der Ratte, in neutral wässriger Lösung subcutan oder stomachal verabreicht, selbst in Dosen von 1 mg als völlig unwirksam.

Marrianol- und Bisdehydro-marrianolsäure sind beide optisch rechtsdrehend.

## II. Die optisch aktiven Bisdehydro-doisynolsäuren.

Die Kalischmelze des Equilenins (I) oder des Dihydro-equilenins (III) verlief bei weitem uneinheitlicher als diejenige des Oestrone oder Oestradiols. Der Rohsäureanteil betrug zwar gegen 70% beim Di-



hydro-equilenin und nahezu 80% beim Equilenin, es lag aber ein Gemisch von Säuren vor, deren Trennung besondere Schwierigkeiten bot.

*Hohlweg* und *Inhoffen*<sup>1)</sup>, die erstmals Equilenin der Kalischmelze unterwarfen, nahmen die Schmelze in Wasser auf, leiteten CO<sub>2</sub> ein und fällten das Filtrat mit Salzsäure<sup>2)</sup>. Die erhaltene Säure schmolz bei 120—122°, während der perorale Schwellenwert im Oestrustest an der Ratte 2,5  $\gamma$  betrug. Diese Säure war aber noch in stärkstem Masse verunreinigt.

Zunächst erwies es sich als vorteilhafter, das bei der Kalischmelze erhaltene Produkt in einen sodalöslichen Säureanteil und in einen sodaunlöslichen phenolischen oder neutralen Anteil zu trennen. Die weitere Reinigung des Säureanteils wurde durch die Beobachtung wesentlich erleichtert, dass die entstehenden Säuren sich durch ihre Acidität genügend unterscheiden, um sie durch geeignete Einstellung des p<sub>H</sub> aus der Lösung ihrer Salze stufenweise abscheiden zu können. Schon bei einem p<sub>H</sub> von etwa 7,5 fallen unwirksame Begleitsäuren zum Teil harziger Natur aus (Fraktion A). Gelöst bleiben im wesentlichen zwei diastereoisomere, optisch aktive Bisdehydro-doisylnsäuren. Durch Herabsetzung des p<sub>H</sub> auf etwa 5,8 bis 6,8 wird die eine Komponente (Fraktion B) und endlich aus dem Filtrat durch Zugabe von Mineralsäure die andere Komponente (Fraktion C) vom Smp. 130—140° ausgefällt. Letztere enthält den Hauptanteil an Aktivität. Der Schwellenwert dieser Säurefraktion beträgt 0,1—0,15  $\gamma$  bei oraler Applikation an der Ratte.

Bei der Trennung der Säuren kann man von der Tatsache Gebrauch machen, dass das p<sub>H</sub> von mit CO<sub>2</sub> gesättigten Alkalihydroxyd- oder -carbonatlösungen je nach der Alkalikonzentration variiert. *R. Rometsch* bestimmte in unserem Laboratorium den Verlauf bei 24°. Wie Fig. 1 zeigt, resultiert eine Gerade, wenn man das p<sub>H</sub> als Funktion des Logarithmus der Natriumionenkonzentration aufträgt. Aus ihrem Neigungswinkel ergibt sich, dass einer Verdoppelung der Natriumionenkonzentration eine Verminderung der Wasserstoffionenkonzentration um das 1,8fache entspricht (Verdoppelungskoeffizient nach *K. Miescher*<sup>3)</sup>).

<sup>1)</sup> *Schering A.G.*, Berlin, D.R.P. 719 572. Aus Equilin soll dieselbe Säure entstehen.

<sup>2)</sup> Die gleiche Aufarbeitung empfahlen schon *Doisy* und Mitarbeiter zur Gewinnung der Doisylnsäure aus der Kalischmelze des Oestrone.

<sup>3)</sup> *K. Miescher*, *Helv. med. acta*, Suppl. VI, Pars physiologica et pharmacologica, Beilage zu Bd. 7 (1940/41), Heft 5/6. p<sub>H</sub> ist der negative Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration, es handelt sich also um eine bilogarithmische Darstellung. Ist n die Tangente des Neigungswinkels (im vorliegenden Fall 0,85), so beträgt der Verdoppelungskoeffizient 2<sup>n</sup>. Nach dem Massenwirkungsgesetz (ohne Berücksichtigung der Aktivitätskoeffizienten) sollte n = 1 sein.

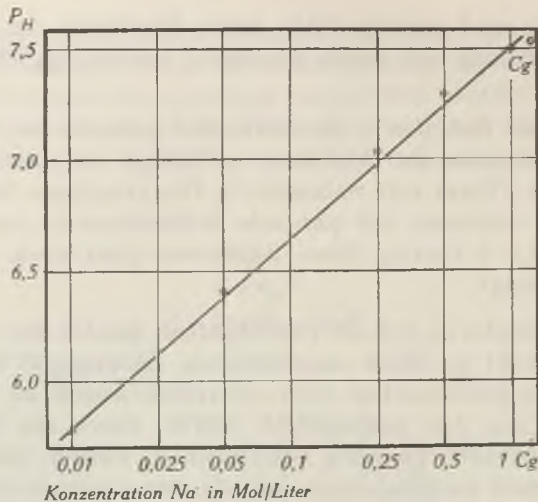


Fig. 1.

(Cg entspricht der Konzentration gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung).

Löst man nach *Hohlweg* und *Inhoffen* direkt die Alkalischmelze der Hormone in Wasser auf und leitet Kohlendioxyd ein, so bleiben beide isomeren Bisdehydro-doisyndolsäuren, gegebenenfalls auch noch schwächer saure Anteile in Lösung, darum empfiehlt sich dieses Verfahren zur Reinigung nicht. Selbstverständlich kann die Einstellung des p<sub>H</sub> auch mit beliebigen Puffersubstanzen geschehen.

Zur weiteren Reinigung wurde die Säure C durch aufeinanderfolgende Behandlung mit Diazomethan und mit Dimethylsulfat in den linksdrehenden Methyläther des Bisdehydro-doisyndolsäuremethylesters (IVc) übergeführt. Er schmolz nach dem Umkrystallisieren bei 103—104°. Durch Kochen mit alkoholischer Kaliumcarbonatlösung wurde er nicht verseift, wohl aber durch alkoholisches Kali unter energischen Bedingungen. Die erhaltene, in 7-Stellung methylierte Säure (IVb) vom Smp. 219—221° liess sich mit alkoholischer Salzsäure nicht verestern. Wir spalteten sie mit Hilfe von Pyridinhydrochlorid zur freien Oxysäure auf. Durch Umkrystallisieren aus verdünntem Methanol gewannen wir eine linksdrehende Bisdehydro-doisyndolsäure (IVa) in farblosen derben Krystallen vom Smp. 161—162°.

Nach Versuchen von *E. Tschopp* in unserer biologischen Abteilung beträgt der orale Schwellenwert der linksdrehenden Bisdehydro-doisyndolsäure im Oestrustest an der Ratte 0,05—0,1 γ. Sie stellt somit die bei weitem wirksamste östrogene Verbindung dar und übertrifft die von *Hohlweg* und *Inhoffen* beschriebene Rohsäure um mindestens das 25fache, ist aber auch etwa doppelt so wirksam als das kürzlich von uns auf synthe-

tischem Wege gewonnene Racemat der Bisdehydro-doisy-nolsäure vom Smp. 204—205<sup>0</sup> 1).

Wie sich herausstellte, weist der Methyläther der *l*-Bisdehydro-doisy-nolsäure vom Smp. 219—221<sup>0</sup> (IVb) dieselbe Wirkung wie die freie Oxysäure auf. Dies ist auffällig, da zwar die Methyläther der bekannten östrogenen Hormone ebenfalls noch wirksam sind, ihre Aktivität aber in Untersuchungen unseres biologischen Laboratoriums (Tab. 1) sich als teilweise beträchtlich herabgesetzt erwies (Prüfung an der Ratte in öliger Lösung bei je einmaliger Injektion an 2 aufeinanderfolgenden Tagen).

Tabelle 1.

|                      | freies<br>Hormon<br>γ | 3-Methyl-<br>äther<br>γ | Wirkungs-<br>verhältnis |
|----------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|
| Oestron . . . . .    | 0,7                   | ca. 10                  | 1:14                    |
| Oestradiol . . . . . | 0,3—0,4               | ca. 10                  | 1:29                    |
| Equilenin . . . . .  | 10—20                 | 50                      | 1: 3,3                  |

Aus Fraktion A erhielten wir durch Behandlung mit Diazomethan und Dimethylsulfat einen Ester vom Smp. 189—190<sup>0</sup> und daraus durch Verseifung eine rechtsdrehende Säure vom Smp. 230—232<sup>0</sup>. Sie erwies sich als unwirksam und soll noch weiter untersucht werden.

Aus Fraktion B liess sich dagegen ein rechtsdrehender Methoxymethylester vom Smp. 99<sup>0</sup> gewinnen, der sich analog dem linksdrehenden Äther-ester IVc<sup>2)</sup> verhielt und durch stufenweise Spaltung in eine rechtsdrehende, in 7-Stellung methylierte Säure (IVb) und schliesslich in die freie ebenfalls rechtsdrehende Oxysäure (IVa) vom Smp. 254—256<sup>0</sup> übergang. Nach den Analysen handelt es sich bei letzterer offenbar um eine isomere Bisdehydro-doisy-nolsäure. Sie erwies sich aber im Oestrustest an der Ratte bei oraler Verabreichung bis zu Dosen von 500 γ als unwirksam.

Bereits früher berichteten wir über die Darstellung von zwei diastereoisomeren, racemischen Bisdehydro-doisy-nolsäuren. Über die Zuordnung der optisch aktiven zu den racemischen Säuren geben die gegenseitigen Mischschmelzpunkte (Tab. 2) sowohl der freien Oxysäuren, wie auch der entsprechenden, am phenolischen Hydroxyl wie am Carboxyl dimethylierten Derivate und überdies die Wirksamkeit der freien Säuren Hinweise.

1) K. Miescher, Helv. 27, 1727 (1944); siehe hiezu E. Tschopp, Schweiz. med. Wschr. 74, 11 (1944). Die hohe orale Wirksamkeit der Säure ist inzwischen auch am Menschen nachgewiesen worden: R. Wenner und C. A. Joël, Exper. 1, 23, 68 (1945).

2) Die Formeln der Diastereoisomeren wurden nicht unterschieden.



Tabelle 2.

|   |                     | Normalreihe       |            | Isoreihe  |           |
|---|---------------------|-------------------|------------|-----------|-----------|
|   |                     | I                 | II         | III       | IV        |
| Freie Bisdehydro-<br>doisynolsäuren                   | { Smp.              | 204—205°          | 161—162°   | 235—238°  | 254—256°  |
|   | { $[\alpha]_D^{20}$ | Racemat           | - 117°     | Racemat   | + 33°     |
|   | { Schwellenwert     | 0,1—0,15 $\gamma$ | 0,058      | unwirksam | unwirksam |
| Mischschmelzpunkte                                    | { I + II            | 161—200°!         | II + III   | 150—162°  |           |
|   | { I + III           | 165—200°          | II + IV    | 150—155°  |           |
|   | { I + IV            | 165—202°          | III + IV   | 233—253°! |           |
| 7-Methyl-bisdehydro-<br>doisynolsäure-<br>methylester | { Smp.              | V                 | VI         | VII       | VIII      |
|   | { $[\alpha]_D^{20}$ | 76—78°            | 103—104°   | 116—118°  | 99°       |
|   | { Racemat           |                   | - 116°     | Racemat   | + 25°     |
| Mischschmelzpunkte                                    | { V + VI            | 75—91°!           | VI + VII   | 80—112°   |           |
|   | { V + VII           | 67—68°            | VI + VIII  | 70—87°    |           |
|   | { V + VIII          | 60—72°            | VII + VIII | 97—116°!  |           |

Mischschmelzpunkt und Wirksamkeit deuten nach derselben Richtung. Die niedriger schmelzende hochwirksame optisch linksdrehende Säure gehört offenbar der Normalreihe, die höher schmelzende, unwirksame, rechtsdrehende der Isoreihe an. Auffällig bleibt aber die Tatsache, dass alle bekannten oestrogenen Hormone wie auch die Doisynolsäure und die beiden bisher gewonnenen Marrianolsäuren die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts drehen, während die wirksame  $\alpha$ -Säure sie nach links dreht.

Offenbar finden unter dem Einfluss des schmelzenden Alkalis Walden'sche Umkehrungen bei der Aufspaltung des Equilenins bzw. Dihydro-equilenins statt, indem der Naphtalinkern dieses Hormons im Gegensatz zum Benzolkern des Oestrone und Oestradiols auflockernd auf die beiden asymmetrischen Kohlenstoffatome wirkt. Ähnlich werden z. B. die Methylester der am Phenolhydroxyl methylierten Bisdehydro-doisynolsäuren wesentlich leichter verseift als der Methylester der Methyl-doisynolsäure.

Durch Alkalischemelze von Dihydro-equilenin wurden die beiden isomeren Dehydro-doisynolsäuren etwa zu gleichen Teilen erhalten. Die Ausbeute betrug aber jeweils höchstens 8—10% im Gegensatz zur Doisynolsäure, die aus Oestron oder Oestradiol viel einheitlicher und in bedeutend grösserer Menge entstand. Die Kalischemelze des Equilenins verlief prinzipiell analog derjenigen des Dihydro-equilenins, doch war die Ausbeute an reiner normaler Säure eher noch geringer.

Die Dehydrierung der  $\alpha$ - und der  $\beta$ -Bisdehydro-doisynolsäuren mit Hilfe von Palladium und Tierkohle in Gegenwart von Aceton

führte in beiden Fällen und in guter Ausbeute zum gleichen Phenanthrolderivat (Va). Dieses wurde zur Charakterisierung in das Benzoat vom Smp. 193° verwandelt. Es erwies sich als identisch mit dem durch Dehydrierung der Doisynolsäure<sup>1)</sup> und nachfolgende Benzoylierung entstandenen 1-Äthyl-2-methyl-phenanthrol-(7)-benzoat(Vb).

Damit war die Konstitution der beiden aus Equilenin und Dihydro-equilenin gewonnenen diastereoisomeren Bisdehydro-doisynolsäuren als 1-Äthyl-2-methyl-7-oxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthryl-2-carbonsäuren sichergestellt.

Über weitere Eigenschaften der Bisdehydro-doisynolsäuren werden wir in einer folgenden Arbeit berichten. Hier sei nur noch angeführt, dass ihre Absorptionsspektren im Ultraviolett eine Feinstruktur aufweisen, wie sie Naphtalinderivaten zukommt.

## Experimenteller Teil<sup>2)</sup>.

### I. Bisdehydro-marrianolsäure<sup>3)</sup>.

#### Equilenin-benzyläther.

10 g Equilenin wurden in der Lösung von 2,6 g Ätzkali in 35 cm<sup>3</sup> Methanol auf dem Wasserbad gelöst. Dann wurde der Methylalkohol im Vakuum eingedampft und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Zum festen Kaliumsalz wurden 5,2 g Benzylchlorid in 16 cm<sup>3</sup> Alkohol zugesetzt. Nach kurzem Kochen schieden sich bereits reichlich Krystalle aus. Es wurde noch 2½ Stunden weiter gekocht, abgenutscht, mit Alkohol, 0,5-n. Natronlauge und wieder mit Alkohol gewaschen. Aus Alkohol umkrystallisiert (sehr schwer löslich) schmolz der Benzyläther bei 178°. Erhalten wurden 11 g entsprechend einer Ausbeute von 82,7% der Theorie. Aus der Mutterlauge wurden 0,76 g Equilenin zurückgewonnen, neben einer neutralen Verbindung vom Smp. 135°, deren Zusammensetzung nicht abgeklärt ist. Zur Analyse wurde eine aus Eisessig-Alkohol umkrystallisierte Probe 20 Stunden bei 80°/0,1 mm getrocknet.

2,75 mg Subst. gaben 8,488 mg CO<sub>2</sub> und 3,335 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 84,23 H 6,78%

Gef. „ 84,00 „ 6,76%

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +68^{\circ}, +71^{\circ}$  (c = 0,337 in Alkohol)

#### Benzyl-bisdehydro-marrianolsäure (IIb).

8,3 g Equilenin-benzyläther wurden in 1,75 Liter Methanol suspendiert. Unter gutem Rühren wurden bei Raumtemperatur, innerhalb 80 Minuten, gleichzeitig eine Lösung von 29,4 g Ätzkali in 55 cm<sup>3</sup> Wasser und 130 cm<sup>3</sup> Methanol, und eine Lösung von 16,3 g Jod in 200 cm<sup>3</sup> Methanol eingetropfelt, und zwar so, dass das Jod immer im Überschuss blieb. Der Benzyläther ging dabei zum Teil in Lösung. Zum Schluss wurden noch 500 cm<sup>3</sup> Methanol zugesetzt und 2 Stunden bei 20° weiter gerührt. Als der Benzyläther vollständig gelöst war, engte man im Vakuum ein. Der Rückstand wurde mit der Lösung von 13,5 g Ätzkali in 40 cm<sup>3</sup> Wasser und 20 cm<sup>3</sup> Methanol 4 Stunden gekocht. Die Lösung wurde mit 200 cm<sup>3</sup> Wasser verdünnt und mit Salzsäure angesäuert. Die ausgefällte und im Vakuum getrocknete Rohsäure wog 8,7 g.

Zur Reinigung wurde sie zuerst in 50 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit Kohle entfärbt, filtriert und unter Eiskühlung tropfenweise unter Rühren mit Wasser gefällt. Die Säure

<sup>1)</sup> J. Heer und K. Miescher, Helv. **28**, 156 (1945).

<sup>2)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>3)</sup> Bearbeitet durch J. R. Billeter.

fiel zuerst ölig aus, wurde aber bald körnig und fest. Sie ist in Methanol, Äthanol, Aceton, Essigester leicht löslich, schwerer in Benzol. Zur Krystallisation wurde sie in 300 cm<sup>3</sup> Benzol aufgelöst und die Lösung auf 100 cm<sup>3</sup> eingengt. Auf der Nutsche wurde die Säure mit Petroläther gewaschen. Smp. 185—187°. Erhalten 6,6 g Benzyl-bisdehydro-marrianolsäure.

Zur Analyse wurde 18 Stunden bei 100°/0,2 mm getrocknet.

3,142 mg Subst. gaben 8,55 mg CO<sub>2</sub> und 1,70 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 74,23 H 5,98%

Gef. ,, 74,27 ,, 6,05%

$[\alpha]_D^{20} = +84^\circ, +83^\circ$  (c = 1,000 in Alkohol)

#### Bisdehydro-marrianolsäure (IIa) aus ihrem Benzyläther.

1 g Säure wurde in der Lösung von 0,35 g Ätznatron in 25 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und in Gegenwart von 1 g vorhydriertem 2-proz. Palladium-Calciumcarbonat katalytisch hydriert. Nach 2½ Stunden war die Wasserstoffaufnahme zu Ende (63 cm<sup>3</sup>, berechnet 58 cm<sup>3</sup>). Die Lösung wurde vom Katalysator abfiltriert und angesäuert. Erhalten wurden 710 mg Bisdehydro-marrianolsäure. Smp. 238—240°. Die Säure ist in Methanol, Äthanol, Aceton und Chloroform leicht löslich, schwerer in Essigester und schwer in Benzol. Zur Krystallisation wurde sie in 40 cm<sup>3</sup> kochendem Benzol suspendiert und durch Zusatz von 10 cm<sup>3</sup> Methanol aufgelöst. Nach Filtrieren entfernte man durch kurzes Kochen das Methanol. Es wurden 680 mg Bisdehydro-marrianolsäure vom Smp. 243—245° erhalten. Ausbeute 89%.

Zur Analyse wurde 18 Stunden bei 70°/0,2 mm getrocknet.

3,278 mg Subst. gaben 8,26 mg CO<sub>2</sub> und 1,66 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 68,77 H 5,77%

Gef. ,, 68,77 ,, 5,67%

$[\alpha]_D^{20} = +102^\circ, +103,5^\circ$  (c = 1,02 in Alkohol)

#### Bisdehydro-marrianolsäure-dimethylester (II d).

Der neutrale Dimethylester wurde durch Veresterung mit Diazomethan in ätherischer Lösung dargestellt. Aus Essigester und Petroläther umkrystallisiert schmolz der Bisdehydro-marrianolsäure-dimethylester bei 140°. Ausbeute 71,6%.

Zur Analyse wurde 18 Stunden bei 70°/0,1 mm getrocknet.

4,33 mg Subst. gaben 11,13 mg CO<sub>2</sub> und 2,54 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 70,15 H 6,47%

Gef. ,, 70,13 ,, 6,56%

$[\alpha]_D^{20} = +105^\circ, +109^\circ$  (c = 1,020 in Alkohol)

#### Bisdehydro-marrianolsäure-monomethylester (II c).

Zur Darstellung des sauren Halbesters wurden 200 mg Säure mit Diazomethan in Äther verestert. Die ätherische Lösung wurde dreimal mit 5 cm<sup>3</sup> 2-n. Natronlauge ausgezogen und die alkalische Lösung mit 2-n. Salzsäure angesäuert. Der Bisdehydro-marrianolsäure-monomethylester schmolz nach zweimaliger Umkrystallisation aus wässrigem Methanol bei 181—182°, nach Sintern bei 175°.

#### Benzyl-bisdehydro-marrianolsäure-anhydrid (VI a).

6,5 g Säure wurden in 25 cm<sup>3</sup> Pyridin gelöst und mit 25 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid versetzt. Nach 4stündigem Stehen wurde im Vakuum eingedampft. Zur Krystallisation wurde der Rückstand in 200 cm<sup>3</sup> Aceton aufgelöst und auf die Hälfte konzentriert. Bei Zusatz von 50 cm<sup>3</sup> Petroläther krystallisierten 4 g Benzyl-bisdehydro-marrianolsäure-anhydrid vom Smp. 212—213° aus. Aus der Mutterlauge wurden noch 0,5 g gewonnen. Ausbeute 70% der Theorie.



Zur Analyse wurde eine aus Essigester/Petroläther umkrystallisierte Probe 6 Stunden bei 80°/0,1 mm getrocknet.

3,950 mg Subst. gaben 11,29 mg CO<sub>2</sub> und 2,14 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 77,69 H 5,78%

Gef. „ 77,98 „ 6,06%

$[\alpha]_D^{20} = +88^{\circ}, +85^{\circ}$  (c = 0,620 in Chloroform).

#### Benzyl-bisdehydro-marrianolsäure-imid (VI b).

0,1 g Anhydrid wurden mit 0,1 g Harnstoff geschmolzen. Bei 140° setzte eine deutliche Reaktion unter Gasabspaltung ein. Die Temperatur wurde innerhalb 15 Minuten bis auf 150° gesteigert. Dann wurde mit 10 cm<sup>3</sup> Alkohol ausgekocht und in Wasser gegossen. Nach Umkrystallisieren aus Eisessig schmolz das Imid bei 247°. Ausbeute 0,08 g, entsprechend 80% der Theorie. Das Imid ist sehr schwer löslich in Methanol, Äthanol, Aceton und Essigester, leichter in Eisessig.

Zur Analyse wurde 8 Stunden bei 120°/0,1 mm getrocknet.

3,195 mg Subst. gaben 9,09 mg CO<sub>2</sub> und 1,71 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>O<sub>3</sub>N Ber. C 77,89 H 6,01%

Gef. „ 77,64 „ 5,99%

#### Methyl-bisdehydro-marrianolsäure (IIc).

12 g Equilenin-methyläther (Smp. 194—195°,  $[\alpha]_D^{20} = +66^{\circ}, +66^{\circ}$ , c = 0,787 in Alkohol)<sup>1)</sup> wurden in 2,5 Liter Methanol suspendiert und mit den Lösungen von 53,9 g Ätzkali in 100 cm<sup>3</sup> Wasser und 275 cm<sup>3</sup> Methanol, und 29 g Jod in 390 cm<sup>3</sup> Methanol in der gleichen Weise wie der Equilenin-benzyläther oxydiert. Nach beendeter Reaktion wurde das Methanol im Vakuum eingedampft und das zurückbleibende Öl mit 24 g Ätzkali in 150 cm<sup>3</sup> Wasser und 70 cm<sup>3</sup> Methanol 4 Stunden gekocht. Nach Zusatz von 500 cm<sup>3</sup> Wasser wurde einmal mit Äther gewaschen und mit 5-n. Salzsäure angesäuert. Die ausgeschiedene Säure zog man mit Äther aus. Es blieb aber in beträchtlicher Menge eine schmierige Substanz zurück, die in Äther unlöslich war. Die aus der ätherischen Lösung erhaltene Säure löste sich in Methanol, Äthanol, Aceton, Essigester und Benzol sehr leicht auf. Durch Kochen mit 100 cm<sup>3</sup> Äther am Rückflusskühler wurde sie krystallinisch erhalten. Die ätherische Krystalsuspension wurde in der Kälte langsam mit 75 cm<sup>3</sup> Petroläther versetzt und 24 Stunden bei -10° stehen gelassen. Nach Umkrystallisieren aus Essigester schmolz die Methyl-bisdehydro-marrianolsäure bei 216—218°. Es wurden 7,4 g erhalten, entsprechend einer Ausbeute von 57,3% der Theorie.

2,860 mg Substanz gaben 7,28 mg CO<sub>2</sub> und 1,56 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 69,50 H 6,14%

Gef. „ 69,45 „ 6,10%

$[\alpha]_D^{22} = +104^{\circ}, +106^{\circ}$  (c = 0,518 in Alkohol).

#### Bisdehydro-marrianolsäure (IIa) aus ihrem Methyläther.

0,5 g Methyl-bisdehydro-marrianolsäure wurden mit 2 g Pyridin-hydrochlorid 4 Stunden im Ölbad auf 170—180° erwärmt. Die Schmelze wurde mit verdünnter Natronlauge versetzt, die Lösung mit Äther gewaschen und angesäuert. Die ausgeschiedene Säure wurde in möglichst wenig Methanol aufgelöst und mit Benzol versetzt. Nach langem Stehen bei -10° krystallisierten 280 mg Bisdehydro-marrianolsäure aus, die sich in Smp. (243—244°) und Mischprobe (242—244°) als identisch mit der aus Benzyl-bisdehydro-marrianolsäure erhaltenen Säure erwies.

<sup>1)</sup> Diese Verbindung wurde schon von Sandulesco, Wang Wen Tschung und Girard [C. r. 196, 137 (1933)], Smp. 197—198°, sowie von Bachmann, Cole und Wilds [Am. Soc. 62, 836 (1940)], Smp. 193—194°, beschrieben, aber ohne Drehungsangabe.

Methyl-bisdehydro-marrianolsäure-dimethylester (II f).

6,4 g Methyl-bisdehydro-marrianolsäure wurden in Äther mit Diazomethan verestert. Der Methyl-bisdehydro-marrianolsäure-dimethylester krystallisierte aus Methanol in schön ausgebildeten strohgelben Krystallen vom Smp. 139° aus. Der gelbe Farbstoff konnte nur durch Adsorbieren aus einer Benzol-Petrolätherlösung (1:1) an Aluminiumoxyd entfernt werden. Der Schmelzpunkt blieb dabei unverändert. Die Ausbeute betrug 5 g entsprechend 72% der Theorie.

3,820 mg Subst. gaben 9,93 mg CO<sub>2</sub> und 2,28 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 70,76 H 6,79%  
Gef. „ 70,94 „ 6,68%

$[\alpha]_D^{20} = +116^{\circ}, +118^{\circ}$  (c = 0,544 in Alkohol).

Methyl-bisdehydro-marrianolsäure-monomethylester (II g).

200 mg des neutralen Esters wurden mit 2 cm<sup>3</sup> Alkohol und 2 cm<sup>3</sup> 2-n. Natronlauge 15 Minuten auf 50° erwärmt. Die Lösung wurde in 20 cm<sup>3</sup> Wasser gegossen, mit Äther gewaschen und angesäuert. Der ausgefällte Methyl-bisdehydro-marrianolsäure-monomethylester schmolz nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol bei 192°. Ausbeute 140 mg.

3,855 mg Subst. gaben 9,90 mg CO<sub>2</sub> und 2,31 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 70,16 H 6,48%  
Gef. „ 70,06 „ 6,70%

$[\alpha]_D^{20} = +90^{\circ}, +92^{\circ}$  (c = 0,597 in Alkohol).

II. Bisdehydro-doisyngolsäuren<sup>1)</sup>.

1. Dihydro-equilenin.

Sorgfältig über sein Pikrat gereinigtes Equilenin vom Smp. 257—258° wurde in wässrig-alkalischer Lösung unter Verwendung von Nickelkatalysator nach Rupe bis zur Aufnahme von 1 Mol. Wasserstoff reduziert. Das nach dem Ansäuern der filtrierten Lösung erhaltene Produkt schmolz zwischen 241—248° und entspricht der α-Form des Dihydro-equilenins<sup>2)</sup>.

3,100 mg Subst. gaben 9,15 mg CO<sub>2</sub> und 2,12 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 80,58 H 7,51%  
Gef. „ 80,54 „ 7,64%

$[\alpha]_D^{20} = +51^{\circ}$  (c = 1,01 in Alkohol)

2. Kalischmelzen des Dihydro-equilenins und Equilenins.

a) Kalischmelze des Dihydro-equilenins. 8 g Dihydro-equilenin wurden in 4 Portionen à 2 g in je einer Mischung von 100 g Kaliumhydroxyd und 14 cm<sup>3</sup> Wasser 1½ Stunden im Nickeltiegel unter zeitweiligem Verrühren auf 275° (Metallbad 295°) erhitzt. Das an der Oberfläche schwimmende Kaliumsalz färbte sich rasch dunkel, blähte sich am Anfang der Reaktion auf, blieb aber zum Unterschied von den entsprechenden Versuchen mit Oestron und Oestradiol eine harzige Masse.

Nach dem Abkühlen löste man in Wasser, säuerte mit konz. Salzsäure an und schüttelte mit Äther aus. Mit Hilfe von verdünnter Sodalösung zerlegten wir das Reaktionsprodukt in einen sodalöslichen, sauren Anteil (5,42 g = 67%) und in einen Neutralanteil (2,40 g). Der saure Anteil war bereits mit 0,5 γ an der Ratte wirksam.

Das saure harzige Rohprodukt wurde dann in 20 cm<sup>3</sup> absolutem Aceton gelöst und zu einer heissen Lösung von 14 g Trinatriumphosphat in 280 cm<sup>3</sup> Wasser gegossen, welche

<sup>1)</sup> Bearbeitet durch J. Heer.

<sup>2)</sup> L. Ruzicka und Mitarb., Helv. 21, 1394 (1938), erhielten durch kat. Hydr. des Equilenins in Alkohol unter Verwendung von Platinoyd ein α-Dihydro-equilenin vom Smp. 248°. Vgl. auch Russel Marker und Mitarb., Am. Soc. 59, 768 (1937); Am. Soc. 61, 3314 (1939); die β-Form schmilzt bei 215°,  $[\alpha]_D = -4,7^{\circ}$ .

mittels ein paar Tropfen Phosphorsäure auf das  $p_H$  8,4 gebracht worden war. Man liess abkühlen und über Nacht stehen, wobei sich 3,38 g dunkle Begleitsäuren (Fraktion A) ausschieden. Das  $p_H$  der Lösung betrug noch etwa 7,4. Hierauf versetzte man das klare Filtrat mit Salzsäure, zog die anfallenden Carbonsäuren mit Äther aus und erhielt nach Eindampfen 1,78 g zum Teil krystallisiertes Säuregemisch.

Dieses wurde in 3 cm<sup>3</sup> 17-proz. Natriumcarbonatlösung und 40 cm<sup>3</sup> Wasser aufgenommen und so lange mit Kohlendioxyd behandelt, bis keine Fällung mehr erfolgte. Das  $p_H$  der Lösung fiel dabei auf 6,3—6,6. Man erhielt auf diese Weise 810 mg leicht gefärbtes Pulver vom Smp. 240—250° (Fraktion B).

Das klare gelblichbraune Filtrat versetzte man schliesslich mit verdünnter Salzsäure und nahm den ausgefallenen flockigen Niederschlag in Äther auf. Die gefärbte ätherische Lösung schüttelte man bis zur Entfärbung vorsichtig mit nur einigen Tropfen 10-proz. Natriumhydrogencarbonatlösung aus, wusch neutral und dampfte zur Trockne ein. Der weisse, noch mit harzigen Begleitstoffen etwas verunreinigte, krystallisierte Rückstand (Fraktion C) wog 800 mg, schmolz zwischen 130 und 140° (Sintern ab 120°) und war mit 0,1  $\gamma$  an der Ratte oestrogen wirksam.

b) Kalischmelze des Equilenins. 6 g Equilenin wurden in 3 Portionen à 2 g mit je 100 g Kaliumhydroxyd und 15 cm<sup>3</sup> Wasser 1½ Stunden im Nickeltiegel auf 275° erhitzt. Wieder trennte man in einen sauren und einen neutralen Teil. Der Soda-unlösliche neutrale Anteil betrug 0,65 g, der Soda-lösliche 4,72 g (78,5%). Letzterer war mit 1—2  $\gamma$  an der Ratte wirksam.

Die weitere Trennung des Soda-löslichen Anteils erfolgte durch Lösen in verdünnter Sodalösung und stufenweises Herabsetzen des  $p_H$  mit Hilfe von Kohlendioxyd. Sie führte zu folgenden Fraktionen:

- Fraktion A ( $p_H$  etwa 7,5): 2,64 g harziges Säuregemisch;
  - „ B ( $p_H$  etwa 5,8—6,8): 0,61 g Krystallisat vom Smp. 240—250°;
  - „ C (mit verdünnter Salzsäure gefällt): 0,43 g Harz.
- Fraktion C war mit 0,15  $\gamma$  an der Ratte wirksam.

### 3. Aufarbeitung der Säurefraktionen aus den Kalischmelzen von Dihydroequilenin.

#### a) Aufarbeitung der Säurefraktion C.

l-n-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure-methylester (IVc). 1,08 g der Fraktion C vom Smp. 130—140° wurden in überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung verestert und der entstandene Methylester in verdünnter Natronlauge mit Hilfe von Dimethylsulfat methyliert. Das entstandene Rohprodukt (1,1 g braunes Öl) löste man in 50 cm<sup>3</sup> Petroläther und filtrierte durch eine Säule von 10 g Aluminiumoxyd. Nach dem Eindampfen des Filtrates erhielt man ein farbloses Öl, welches beim Anreiben mit Methanol krystallisierte. Aus Methanol umgelöst krystallisierte der reine l-n-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure-methylester (IVc) in kleinen glänzenden Plättchen vom Smp. 103—104°.

4,036 mg Subst. gaben 11,37 mg CO<sub>2</sub> und 2,85 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 76,89 H 7,74%

Gef. „, 76,88 „, 7,90%

$[\alpha]_D^{20} = -116^\circ$  (c = 0,889 in Alkohol)

l-n-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure (IVb). Zur Verseifung wurden 320 mg Äther-Ester vom Smp. 103—104° in einem Gemisch von 3 g Kaliumhydroxyd, 2 cm<sup>3</sup> Äthanol und 1 cm<sup>3</sup> Wasser ¼ Stunde im Bad von 180° erhitzt.

Die Aufarbeitung ergab 300 mg Rohsäure. Mehrere Male aus verdünntem Methanol umgelöst krystallisierte die 7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure (IVb) in kleinen Plättchen vom Smp. 219—221° (Sintern ab 208°) aus.



3,435 mg Subst. gaben 9,62 mg CO<sub>2</sub> und 2,35 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 76,48 H 7,43%  
 Gef. „ 76,43 „ 7,66%

$[\alpha]_D^{20} = -103^\circ$  (c = 0,855 in Alkohol)

*l-n*-Bisdehydro-doisylnsäure (IVa). 200 mg 7-Methylsäure vom Smp. 219—221° erhitzte man in Gegenwart von 1 g Pyridinhydrochlorid 4 Stunden im Bad von 180°. Die erhaltene Rohsäure (185 mg) löste man in verdünntem Methanol und entfärbte mit Tierkohle. Nach dem Einengen des farblosen Filtrates krystallisierten 130 mg *l-n*-Bisdehydro-doisylnsäure (IVa) aus, welche nach scharfem Trocknen bei 130° im Hochvakuum bei 161—162° schmolz.

Zur Analyse wurde 5 Stunden bei 130° im Hochvakuum getrocknet.

3,240 mg Subst. gaben 9,01 mg CO<sub>2</sub> und 2,03 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 76,03 H 7,09%  
 Gef. „ 75,90 „ 7,01%

$[\alpha]_D^{20} = -117^\circ$  (c = 0,59 in Alkohol)

b) Reinigung der Säurefraktion B.

*d-iso-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure-methylester* (IVc). 1,28 g der Fraktion B wurden wie Fraktion C über den Methyläther-Methylester gereinigt. Man erhielt 680 mg *d-iso-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure-methylester* (IVc) in platten Nadeln vom Smp. 99°. Weiteres Umlösen aus Alkohol erhöhte den Schmelzpunkt nicht. Zur Analyse wurde 5 Stunden bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

3,895 mg Subst. gaben 10,99 mg CO<sub>2</sub> und 2,75 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 76,89 H 7,74%  
 Gef. „ 77,00 „ 7,90%

$[\alpha]_D^{18} = +25^\circ$  (c = 1,224 in Alkohol)

*d-iso-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure* (IVb). Zur Verseifung wurden 550 mg Ätherester vom Smp. 99° in einer Mischung von 2 g Kaliumhydroxyd, 1 cm<sup>3</sup> Wasser und 1 cm<sup>3</sup> Äthanol  $\frac{1}{4}$  Stunde im Bad von 160—180° erhitzt. Die erkaltete Mischung löste man in Wasser, versetzte mit Salzsäure und nahm den ausgefallenen flockigen Niederschlag in Äther auf. Nach dem Neutral-Waschen und Eindampfen erhielt man 500 mg Rohprodukt. Aus verdünntem Aceton umgelöst schmolz die *d-iso-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure* (IVb) bei 184—185°.

Zur Analyse wurde 5 Stunden bei 150° im Hochvakuum getrocknet.

4,080 mg Subst. gaben 11,46 mg CO<sub>2</sub> und 2,69 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 76,48 H 7,43%  
 Gef. „ 76,65 „ 7,38%

$[\alpha]_D^{20} = +34^\circ$  (c = 0,766 in Alkohol)

*d-iso-Bisdehydro-doisylnsäure* (IVa). Zur Darstellung der freien *d-iso-Bisdehydro-doisylnsäure* wurden 320 mg Methylsäure vom Smp. 184—185° in Gegenwart von 2 g Pyridinhydrochlorid 4 Stunden im Bad von 170—180° in einer Stickstoffatmosphäre erhitzt. Die so erhaltene Rohsäure (290 mg) wurde wiederholt aus verdünntem Methanol umgelöst. Die reine *d-iso-Bisdehydro-doisylnsäure* (IVa) vom Smp. 254—256° krystallisierte in kleinen derben Nadeln und wurde zur Analyse 5 Stunden bei 150° im Hochvakuum getrocknet.

4,199 mg Subst. gaben 11,71 mg CO<sub>2</sub> und 2,61 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 76,03 H 7,09%  
 Gef. „ 76,12 „ 6,95%

$[\alpha]_D^{21} = +33^\circ$  (c = 0,795 in Alkohol)

c) Reinigung der Säurefraktion A.

Die Säurefraktion A (3,25 g) wurde in überschüssiger Diazomethanlösung verestert und anschliessend mit Hilfe von Dimethylsulfat und Natronlauge methyliert. Hierauf löste man das dunkle Harz in wenig Xylol und liess einige Tage stehen. Dabei krystallisierte ein gelbgefärbtes Krystallinat vom Smp. 170—180° aus. Es wurde in 50 cm<sup>3</sup> Benzol aufgenommen, durch eine Säule von 5 g Aluminiumoxyd filtriert und nach dem Eindampfen des Lösungsmittels als gelbstichiges Krystallinat vom Smp. 187—189° isoliert. Mehrmaliges Umlösen aus Chloroform/Alkohol erhöhte den Smp. auf 191°.

4,763; 4,249 mg Subst. gaben 14,19; 12,68 mg CO<sub>2</sub> und 3,15; 2,76 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 81,12 H 7,00%  
 Gef. „ 81,28; 81,45 „ 7,40; 7,27%  
 [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +246° (c = 1,00 in Alkohol)

Die durch Verseifung erhaltene Säure schmolz bei 230—232°.

4. Aufarbeitung der Säurefraktionen aus der Kalischmelze von Equilenin.

Die Aufarbeitung der Säurefraktionen A, B und C erfolgte in genau derselben Weise wie bei den entsprechenden Fraktionen aus Dihydro-equilenin. Dabei wurden ganz analoge Endprodukte erhalten, so dass hier auf eine Wiedergabe dieser Versuche verzichtet werden darf.

5. Dehydrierung der beiden Bisdehydro-doisylnsäuren zum 1-Äthyl-2-methyl-phenanthrol-(7).

a) Dehydrierung der *l*-n-Bisdehydro-doisylnsäure.

110 mg Säure vom Smp. 161—162° wurden in Gegenwart von 150 mg 10-proz. Palladium/Tierkohle und 8 cm<sup>3</sup> Aceton 6 Stunden im Bombenrohr auf 320° erhitzt<sup>1)</sup>. Das rohe Phenanthrol (50 mg) wurde nach *Schotten-Baumann* in sein Benzoat übergeführt und dieses durch Sublimation im Hochvakuum von gefärbten Nebenprodukten gereinigt (190°/0,1 mm). Durch Umlösen aus Isopropyläther gewann man schliesslich 50 mg reinstes 1-Äthyl-2-methyl-phenanthrol-(7)-benzoat vom Smp. 193°, welches mit dem aus Doisylnsäure erhaltenen Benzoat keine Schmelzpunktserniedrigung zeigte.

2,608 mg Subst. gaben 8,09 mg CO<sub>2</sub> und 1,37 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 84,68 H 5,92%  
 Gef. „ 84,64 „ 5,92%

b) Dehydrierung von *d*-iso-Bisdehydro-doisylnsäure.

150 mg Säure vom Smp. 254—256° wurden in Gegenwart von 150 mg 10-proz. Palladium/Tierkohle und 8 cm<sup>3</sup> Aceton 6 Stunden im Bombenrohr auf 320° erhitzt.

Das rohe Phenanthrol (70 mg) wurde in sein Benzoat übergeführt und dieses in der oben angegebenen Weise gereinigt. Man erhielt schliesslich 60 mg reinstes 1-Äthyl-2-methyl-phenanthrol-(7)-benzoat in farblosen Nadelchen vom Smp. 193°, welche mit dem oben beschriebenen Produkt keine Schmelzpunktserniedrigung zeigten.

4,210 mg Subst. gaben 13,05 mg CO<sub>2</sub> und 2,17 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 84,68 H 5,92%  
 Gef. „ 84,57 „ 5,77%

Die Analysen und Drehungen wurden in unserem Laboratorium unter der Leitung von Hrn. Dr. *Gysel* durchgeführt.

Forschungslaboratorium der *Ciba* Aktiengesellschaft, Basel  
 Pharmazeutische Abteilung.

<sup>1)</sup> Vgl. *J. Heer* und *K. Miescher*, *Helv.* **28**, 163 (1945).

## 131. Zur Konstitution des Cafestols.

(6. Mitteilung<sup>1)</sup>)

von A. Wettstein, M. Spillmann und K. Miescher.

(29. VI. 45.)

## XI. Cafestol und Kahweol.

In der 3. Mitteilung dieser Reihe<sup>2)</sup> berichteten wir über die Reinigung von Cafestol-acetat durch Chromatographie an leicht sauren Adsorptionsmitteln wie Floridin. Dadurch wurde ein Acetat vom Schmelzpunkt 173—175°, der spezifischen Drehung  $[\alpha]_D^{20} = -91^\circ \pm 2^\circ$  (in Chloroform) und dem molaren Extinktionskoeffizienten  $\log \varepsilon_{(2900 \text{ \AA})} = 1,70$ , bzw. ein freies Cafestol vom Smp. 163—165°<sup>1)</sup> erhalten. Wir sprachen schon damals die Vermutung aus, dass die mit fortschreitender Reinigung immer schwächer gewordene Bande im U. V.-Spektrum durch beigemischte Spuren von höchstens noch einigen Promillen Kahweol bedingt sei, der labilen, stark linksdrehenden Substanz, die nach unserer Beobachtung das Cafestol im Kaffeeöl stets begleitet. Das bisher am stärksten angereicherte, sicher noch uneinheitliche Präparat von Kahweol-acetat wies folgende Konstanten auf: Smp. 146°,  $[\alpha]_D^{20} = -234^\circ$  und  $\log \varepsilon_{(2900 \text{ \AA})} = 3,96$ . Wir schlossen, dass demgemäss dem reinsten Cafestol eine um noch wenige Grade geringere negative Drehung zukommen dürfte.

Später<sup>3)</sup> konnten wir den Nachweis eines Furanringes im Cafestol erbringen. Durch diese Feststellung war die Natur der beiden vorhandenen Doppelbindungen klargestellt und zugleich erwiesen, dass die Bande des U. V.-Spektrums bei 2900 Å nicht auf dieses konjugierte System zurückzuführen ist. Da Cafestol kein anderes chromophores System enthält, das Ursache dieser Absorptionsbande sein könnte, wurde unsere bereits früher<sup>2)</sup> ausgesprochene Vermutung, reinsten Präparaten gehe diese Bande völlig ab, praktisch zur Gewissheit. Die Bande von wechselnder Extinktion im Cafestol rührte offenbar von ganz geringfügigen Verunreinigungen mit dem Wasserstoff-ärmeren Kahweol her, für das sich ein entsprechendes chromophores System zwanglos erklären liess.

Die inzwischen hier eingegangenen Arbeiten von *Hauptmann* und Mitarbeitern<sup>4)</sup> bestätigen im wesentlichen unsere früheren Mitteilungen und bringen willkommene Er-

<sup>1)</sup> 5. Mitteilung siehe *A. Wettstein, F. Hunziker und K. Miescher, Helv. 26, 1197 (1943)*.

<sup>2)</sup> *A. Wettstein und K. Miescher, Helv. 26, 631 (1943)*.

<sup>3)</sup> *A. Wettstein und K. Miescher, Helv. 26, 788 (1943)*.

<sup>4)</sup> *H. Hauptmann und J. França, Am. Soc. 65, 81 (1943)*; *H. Hauptmann, J. França und L. Bruck-Lacerda, Am. Soc. 65, 993 (1943)*; *An. Ass. Quim. Brasil 2, 29 (1943)*.



gänzungen hiezu. Insbesondere wurde in ihnen die durch uns eingeführte, auf dem Grundkohlenwasserstoff Cafestan beruhende Nomenklatur<sup>1)</sup> übernommen. Dies trifft auch auf die Arbeiten von *Chakravorty* und Mitarbeitern<sup>2)3)4)</sup> zu. Unsere 3. Mitteilung, in der nach dem Ausschluss des Steroid-Charakters die Bezeichnung „Cafesterol“ in „Cafestol“ abgeändert wurde, ist offenbar, ebenso wie die 4. Mitteilung, allen diesen Autoren noch nicht bekannt gewesen, so dass sie weiter die Bezeichnung „Cafesterol“ verwenden. Die Partialformel von *Chakravorty* und Mitarbeitern<sup>3)</sup>, umfassend die Doppelbindungen, ist nach unserem Nachweis eines Furanringes<sup>5)</sup> nicht mehr haltbar.

Insbesondere aber die III. Mitteilung<sup>4)</sup> dieser amerikanischen Autoren gibt Anlass zur Richtigstellung, da die dort gezogenen Schlüsse sich nicht mit unseren früheren Befunden und neuen Versuchen vereinen lassen. Die genannten Forscher behandelten ihr „Cafesterol“ mit einem grossen Überschuss an Natrium und Alkohol, wobei nach ihren Angaben Isomerisierung zu einer neuen Verbindung, dem „Isocafesterol“ erfolgte, ohne dass Reduktion eintrat. Wenn wir die Eigenschaften dieser Präparate mit denjenigen von Kahweol und Cafestol vergleichen, so ist die Identität von „Cafesterol“ mit einem Gemisch von Kahweol-Cafestol und von „Isocafesterol“ mit Cafestol sehr naheliegend: *Chakravorty's* „Cafesterol“ soll gegen Licht, Luft und Säure empfindlich sein, im U. V.-Spektrum eine Bande mit  $\log \epsilon_{(2900 \text{ \AA})} = 3,8$  aufweisen und mit Salzsäure eine blau-grüne Färbung geben. Lediglich die optische Linksdrehung dieses Präparates ist geringer als zu erwarten. Das „Isocafesterol“ wird als stabil gegen Licht und Luft beschrieben, weist bezeichnenderweise keine Absorption im Bereiche von 2900 Å mehr auf und soll mit Salzsäure eine Rosafärbung ergeben<sup>6)</sup>. Seine Linksdrehung ist für ein reines Präparat noch etwas hoch. Die Tatsache, dass die Gemische von „Cafesterol“ mit „Isocafesterol“ sowie ihrer Acetate keine Schmelzpunktserniedrigungen zeigen, stimmt mit unserer Annahme überein. Ein Widerspruch ergibt sich aber aus der kaum gestützten Schlussfolgerung der amerikanischen Autoren, die Überführung von „Cafesterol“ in „Isocafesterol“ mittels Natrium und Alkohol sei ein Isomerisationsvorgang. Es schien uns von vornherein viel wahrscheinlicher, dass dabei vorhandenes Kahweol reaktiv in Cafestol übergeführt werde.

<sup>1)</sup> A. Wettstein, H. Fritzsche, F. Hunziker und K. Miescher, *Helv.* **24**, 332E (1941).

<sup>2)</sup> P. N. Chakravorty und M. M. Wesner, *Am. Soc.* **64**, 2235 (1942).

<sup>3)</sup> P. N. Chakravorty, M. M. Wesner und R. H. Levin, *Am. Soc.* **65**, 929 (1943).

<sup>4)</sup> P. N. Chakravorty, R. H. Levin, M. M. Wesner und G. Reed, *Am. Soc.* **65**, 1325 (1943).

<sup>5)</sup> A. Wettstein und K. Miescher *Helv.* **26**, 788 (1943).

<sup>6)</sup> Weitgehend gereinigtes Cafestol-acetat ergibt mit Salzsäure, neben einem klaren Blau in der Durchsicht, eine intensive rote Fluoreszenz in der Aufsicht<sup>7)</sup>. Möglicherweise ist die Diskrepanz zwischen der Beobachtung von *Chakravorty* und der unsrigen auf diese Erscheinung zurückzuführen (vgl. auch die Tabelle über Farbreaktionen im experimentellen Teil).

<sup>7)</sup> A. Wettstein und K. Miescher, *Helv.* **26**, 637 (1943).

Wir haben deshalb die Trennung Cafestol-Kahweol erneut experimentell bearbeitet und dabei speziell die Möglichkeit der Reinigung von rohem Cafestol mit reduktiven Methoden geprüft.

Vorausgeschickt seien einige Bemerkungen über Kriterien der Reinheit von Cafestol- bzw. Kahweol-acetat.

Der Schmelzpunkt: Cafestol- und Kahweol-acetat geben, in den bisher erhaltenen Reinheitsgraden, keine Mischschmelzpunktserniedrigungen. Präparate vom gleichen oder nur um 1—2° verschiedenem Schmelzpunkt können sehr stark verschiedenes optisches Drehungsvermögen besitzen. Aus diesen Tatsachen ist ersichtlich, dass der Schmelzpunkt als Kriterium der Reinheit nicht herangezogen werden kann.

Die spezifische Drehung: Die negative Drehung nimmt bei fortschreitender Reinigung des Cafestol-acetats immer ab, bei derjenigen des Kahweol-acetats zu.

Das U.V.-Spektrum: Die molaren Extinktionen der Bande bei 2900 Å zeigen bei allen Präparaten mit steigendem Cafestol-Gehalt sinkende, mit steigendem Kahweol-Gehalt steigende Tendenz.

Farbreaktionen: Die Färbungen mit Mineralsäuren und mit Antimontrichlorid sind wertvolle Merkmale für die beiden mehr oder weniger weitgehend gereinigten Substanzen; spurenhafte Verunreinigungen können damit wegen der kaum mehr wahrnehmbaren Unterschiede bei schon fortgeschrittener Reinigung nicht nachgewiesen werden<sup>1)</sup>.

Diese Zusammenstellung zeigt, dass vor allem das U.V.-Spektrum, aber auch die spezifische Drehung zuverlässige Kriterien für die Reinheit des Cafestol- bzw. Kahweol-acetates abgeben. Sie sind deshalb in der vorliegenden Arbeit in erster Linie zur Beurteilung herangezogen worden.

Vorerst fanden wir, dass schon durch eine erste Behandlung von unreinem, stark Kahweol-acetat-haltigem Cafestol-acetat mit etwa dem einhundertfachen Überschuss an Natrium und Alkohol (und anschließende Reacetylierung) tatsächlich ein sehr starker Rückgang der negativen Drehung, z. B. von  $-210^{\circ}$  auf  $-95^{\circ}$ , und eine Abnahme des molaren Extinktionskoeffizienten<sup>2)</sup> bei 2900 Å, beispielsweise auf  $10^{2.5}$ , eintrat. Durch zweimalige Wiederholung dieses Verfahrens wurde ein Präparat vom Smp.  $172-173^{\circ}$  erhalten, das nur noch  $-89^{\circ}$  drehte (in Chloroform) und vor allem keine Bande bei 2900 Å mehr aufwies. Es entspricht damit unseren früher geäußerten Vermutungen über die Eigenschaften von spektrographisch reinstem Cafestol-acetat. Eine ähnliche Reinigung gelang übrigens auch unter Verwendung von Methyl-, Propyl- oder Butylalkohol anstelle von Äthylalkohol, dagegen war ein nur 10-facher Überschuss an Natrium und Äthanol völlig unzureichend<sup>3)</sup> und lieferte ein nur wenig reineres Ausgangsmaterial zurück.

<sup>1)</sup> Siehe Tabelle über Farbreaktionen im experimentellen Teil.

<sup>2)</sup> Die Aufnahme der Absorptionsspektren verdanken wir wiederum der Freundlichkeit von Hrn. Prof. Dr. *Almasy*, Zürich.

<sup>3)</sup> Auf diese ziemlich grosse Widerstandsfähigkeit des rohen Kahweol-acetats gegenüber naszierendem Wasserstoff sind offensichtlich die bisher negativen Befunde bei dieser Reaktion zurückzuführen.

Wir konnten nachweisen, dass auch in diesem reinsten Cafestol-acetat der Furanring noch unverändert enthalten ist: Darauf deuten schon die Farbreaktionen mit Mineralsäure und Antimontrichlorid hin. Den schlüssigen Beweis liefert aber seine Überführung in Epoxy-nor-cafestadien-on (II) und die Ozonisation desselben zum Ketodicarbonsäure-monomethylester XXV<sup>1</sup>). Eine Verlagerung der beiden einzigen im Cafestol vorhandenen Doppelbindungen tritt also, entgegen der Ansicht von *Chakravorty* und Mitarb., unter der Einwirkung von Natrium und Alkohol nicht ein.

Bei der Behandlung von rohem Cafestol-acetat mit vorgebildetem Natrium-alkoholat wurde, wie in den Versuchen der amerikanischen Autoren, nur unverändertes Ausgangsmaterial zurückgewonnen. Die Ausbeute war etwa 70 %, was der Ausbeute bei analoger chromatographischer Aufarbeitung der Ansätze mit Natrium und Alkohol entspricht. Aus demselben Ausgangsmaterial wird also jeweils eine übereinstimmende Menge eines krystallisierten Präparates gewonnen, unter reduzierenden Bedingungen ein Cafestol-acetat von grosser Reinheit, unter entsprechender lediglich alkalischer Einwirkung ein unverändertes Cafestol-acetat mit hohem Gehalt an Kahweol-acetat. Diese Versuche lassen sich nur so deuten, dass bei der Einwirkung von naszierendem Wasserstoff eine Reduktion des vorhandenen Kahweol-acetats zum Cafestol-acetat erfolgt.

Wir untersuchten nun weiter, ob es nicht auch durch partielle katalytische Hydrierung roher Präparate gelänge, nur das verunreinigende Kahweol zu Cafestol zu hydrieren und so den gleichen Effekt zu erreichen wie mit naszierendem Wasserstoff. In der Tat liess sich dieses Ziel mit Nickel (aus Nickelcarbonat) als Katalysator in alkoholischer Lösung erreichen. Nach wiederholter Hydrierung wurde ein Präparat erhalten, das in allen Eigenschaften mit den oben für reinstes Cafestol-acetat angegebenen übereinstimmt, insbesondere also bei 2900 Å keine Bande mehr aufweist. Auch hier gab ein Blindversuch (Alkoholische Lösung von rohem Cafestol-acetat + Nickelkatalysator in Stickstoffatmosphäre geschüttelt) nur unverändertes Ausgangsmaterial zurück. Ebenso wurden bei sorgfältiger chromatographischer Aufarbeitung sowohl nach Hydrierung als auch im Blindversuch je wieder etwa 75 % eines krystallinen Produktes erhalten, das eine Mal ein Cafestol-acetat von hoher Reinheit, das andere Mal ein solches mit praktisch gleichem Kahweol-Gehalt wie das Ausgangsmaterial.

Die identischen, durch mehrmalige Einwirkung von naszierendem, bzw. katalytisch angeregtem Wasserstoff erhaltenen, reinsten Präparate von Cafestol-acetat erwiesen sich gegen weitere analoge Re-

<sup>1</sup>) Helv. **24**, 348E (1941); **26**, 1208 (1943).



duktion als resistent<sup>1)</sup>). Dass diese Präparate nun die Absorptionsbande bei 2900 Å nicht mehr aufweisen<sup>2)</sup>, trotzdem bei der Aufnahme der Absorptionsspektren dem Gebiet zwischen 2500 und 3000 Å ganz spezielle Aufmerksamkeit geschenkt wurde, bestätigt unsere Hypothese über den Zusammenhang von Kahweol und Cafestol auf das beste. Wir betrachten damit den Beweis als erbracht, dass durch Reduktion mit naszierendem oder katalytisch angeregtem Wasserstoff Kahweol in Cafestol übergeführt wird und dass unser Cafestol-acetat vom Smp. 173<sup>0</sup> und  $[\alpha]_D^{20} = -89^0$  (in Chloroform) ein absolut reines Präparat darstellt. Es unterscheidet sich von unserer früher beschriebenen Verbindung praktisch nur durch das Fehlen der genannten Absorptionsbande, vom „Isocafesterol“ von *Chakravorty* und Mitarb.<sup>3)</sup> speziell durch eine wesentlich geringere negative Drehung und einen höheren Schmelzpunkt. Die Reduktion von rohem, mit Kahweol verunreinigtem Cafestol durch naszierenden oder katalytisch angeregten Wasserstoff stellt bisher die einzige, zudem sehr einfache und ergiebige Methode dar, um spektrographisch reines Cafestol zu gewinnen.

Die Auffassung, dass sich Kahweol durch zusätzliche Doppelbindungen von Cafestol unterscheidet, liess sich auch durch parallele, quantitativ verfolgte katalytische Hydrierungen Kahweolreicher Cafestol-Präparate und reinsten Cafestols mit Palladium- oder Platin-Katalysator sowie durch die Phthalmonopersäure-Titration bestätigen. Die amerikanischen Autoren hatten bei den verschiedenen Ausgangsstoffen keine wesentlichen Unterschiede feststellen können, was sie wohl in erster Linie zu ihrer Isomerisations-Theorie gebracht haben mag. Bei der katalytischen Hydrierung mit Palladium-Katalysator, die nur bis zur Tetrahydro-furan-Stufe führt<sup>4)</sup>, nahm nun in unserem Versuch reinstes Cafestol-acetat 1,95 Mol, ein rohes, Kahweolreiches Präparat aber 2,50 Mol Wasserstoff auf<sup>5)</sup>. Analog betrug der Sauerstoffverbrauch bei der Phthalmonopersäure-Titration<sup>6)7)</sup> 2,1 bzw. 2,6 Atome. Unter der Einwirkung von Platinoxid in Eisessig, die ausser der Absättigung der Doppelbindungen auch Sprengung der Ätherbrücke des Furankerns bewirkt<sup>4)</sup>, wurden entsprechend 2,9<sup>6)</sup> Mol bzw. 3,6 Mol Wasserstoff aufgenommen.

<sup>1)</sup> Vgl. *K. H. Slotta* und *K. Neisser*, B. **71**, 2342 (1938); *A. Wettstein*, *H. Fritzsche*, *F. Hunziker* und *K. Miescher*, Helv. **24**, 332E (1941).

<sup>2)</sup> Auch nach mehrwöchigem Aufbewahren der Präparate tritt eine solche Bande nicht mehr in Erscheinung; Kahweol entsteht also nicht beim Lagern aus Cafestol.

<sup>3)</sup> Am. Soc. **65**, 1325 (1943). Die von diesen Forschern diskutierte Absorption des „Isocafesterols“ bei 2260 Å ist wohl auf den Furanring zurückzuführen (s. Helv. **26**, 794 (1943), Fussnote 8). Deshalb absorbieren alle genannten Präparate in diesem kurzwelligen Bereich (vgl. Kurven, Helv. **24**, 336E (1941)).

<sup>4)</sup> Helv. **24**, 338 E (1941); vergl. Am. Soc. **65**, 929 (1943).

<sup>5)</sup> Nach *Chakravorty* und Mitarb., Am. Soc. **65**, 1325 (1943), entsteht bei dieser Hydrierung aus beiden Ausgangsstoffen dasselbe Tetrahydro-cafestol-acetat (IV) (siehe Helv. **24**, 350 E (1941)).

<sup>6)</sup> Vgl. *H. Hauptmann* und *J. França*, Z. physiol. Ch. **259**, 245 (1939).

<sup>7)</sup> Vgl. *A. Wettstein* und *K. Miescher*, Helv. **26**, 789, 795 (1943).

Schliesslich lässt sich aus obigen Zahlen ein Hinweis darauf entnehmen, wie viele zusätzliche Doppelbindungen im Kahweol enthalten sein könnten. Werden in einem Koordinatensystem jeweilen die Logarithmen der molaren Extinktionen von Präparaten mit bekannter spezifischer Drehung<sup>1)</sup> über diesen Drehungen aufgetragen, so fügen sich diese Werte gut in eine Kurve<sup>2)</sup> ein (siehe Fig. 1). Falls die

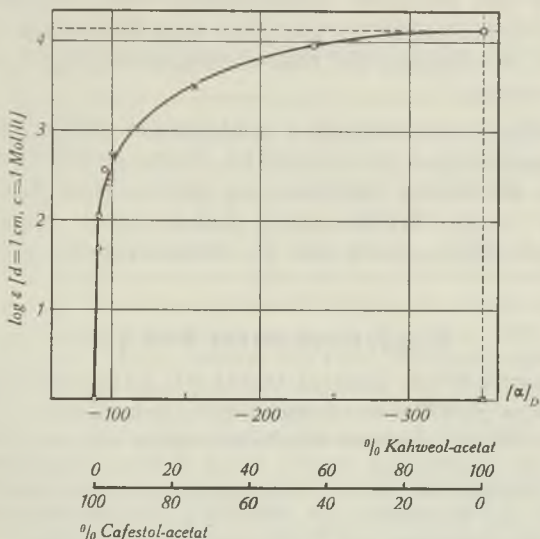


Fig. 1

o Werte unserer Präparate.

x Präparat aus Am. Soc. 65, 929 (1943).

wechselnden Extinktionen und spez. Drehungen verschiedener Präparate nur auf wechselnden Gehalt an Kahweol-acetat zurückzuführen sind, so lassen sich durch geometrische Extrapolation dieser Kurve die molare Extinktion und die spez. Drehung für reines Kahweol-acetat zu  $\log \epsilon_{(2900 \text{ \AA})} =$  etwa 4,1 und  $[\alpha]_D^{20} =$  etwa  $-350^\circ$  angenähert bestimmen. Aus diesem Diagramm, das die Werte der spezifischen Drehung für alle Gemische von Cafestol- und Kahweol-acetat enthält, kann für ein Präparat der spezifischen Drehung  $-178^\circ$  ein Kahweolgehalt von etwa 34 %, für ein Präparat der Drehung  $-150^\circ$  ein solcher von 23 % abgelesen werden. Für das erste Präparat, das zur katalytischen Hydrierung mit Platinoxid und Oxydation mit Phthalmonopersäure gedient hat, berechnet sich unter der Annahme, dass das Kahweol zwei Mole Wasserstoff, bzw. zwei Atome Sauerstoff mehr aufnehmen kann als das Cafestol, eine Aufnahme von 3,68

<sup>1)</sup> Helv. 24, 335 E (1941); 26, 631, 637 (1943); Am. Soc. 65, 929 (1943) und in vorliegender Arbeit angeführte Resultate.

<sup>2)</sup> Angenähert die monologarithmische Darstellung der linearen Funktion:  
 $[\alpha]_D = -89 - 0,02 \cdot \epsilon^0$ .

Molen Wasserstoff, bzw. 2,68 Atomen Sauerstoff. Das zweite Präparat, das mit Palladium-Katalysator hydriert wurde, mußte danach 2,46 Mole Wasserstoff aufnehmen. Alle diese Werte stimmen recht genau mit den beobachteten überein, ebenso der Verbrennungswert des am stärksten an Kahweol-acetat angereicherten Präparates<sup>1)</sup>, das nach Fig. 1 etwa 55% Kahweol-acetat enthält. Seine Elementaranalyse deutet nun auf einen Mindergehalt von 2 Wasserstoffatomen gegenüber dem Cafestol-acetat hin, was dem Wert einer gleichteiligen Mischung von Substanzen der Bruttoformeln  $C_{22}H_{30}O_4$  und  $C_{22}H_{26}O_4$  entsprechen würde.

Aus unseren Untersuchungen geht erneut hervor, dass Kahweol wesentlich ungesättigter als Cafestol ist. Sollte sich die vorgenommene Extrapolation als richtig erweisen, so würden dem Kahweol zwei zusätzliche Doppelbindungen zukommen. Den endgültigen Entscheid wird selbstredend erst die Reindarstellung des Kahweols erbringen.

### Experimenteller Teil<sup>2)</sup>.

Reduktion von rohem Cafestol-acetat mit Natrium und Alkohol.

1. a) 10 g rohes, stark Kahweol-haltiges Cafestol-acetat (Smp. 137—141°;  $[\alpha]_D^{22} = -210^\circ$ ) wurden in 750 cm<sup>3</sup> absolutem Äthylalkohol gelöst und unter kräftigem Rühren innert 1 Stunde mit 70 g Natrium versetzt. Durch Erwärmen auf 100° löste sich alles Natrium innert 2 Stunden auf. Aus der Reaktionslösung konnten durch Verdünnen mit 4 Liter Eiswasser und Extrahieren mit Äther 8,5 g gelbliches Krystallinat gewonnen werden, die nach der Acetylierung mit Pyridin-Acetanhydrid bei Zimmertemperatur und normaler Aufarbeitung 9,0 g gelbliches Produkt lieferten. Mehrmaliges Umkrystallisieren aus Äther-Pentan- und Aceton-Hexan-Gemischen lieferte 6,2 g feine farblose Nadelchen vom Smp. 159—161°. Sie gaben weder im Gemisch mit dem Ausgangsmaterial noch mit reinem Cafestol-acetat eine Schmelzpunktserniedrigung.

$$[\alpha]_D^{20} = -95^\circ \quad (c = 0,85)$$

U.V.-Spektrum:  $\lambda$  max. = 2880 Å,  $\log \epsilon = 2,56$ .

b) 5 g des obigen Produktes wurden einer zweiten analogen Reduktion unterworfen und ergaben 3,1 g feine Nadelchen vom Smp. 172—173°.

$$[\alpha]_D^{20} = -91^\circ \quad (c = 1,05)$$

U.V.-Spektrum:  $\lambda$  max. = 2880 Å,  $\log \epsilon = 2,05$ .

c) Dieses zweimal reduzierte Präparat wurde zum dritten Mal mit Natrium und Alkohol behandelt, wobei sich der Schmelzpunkt nicht mehr veränderte. Zur Analyse wurde das Produkt 8 Stunden bei 70° und 0,01 mm getrocknet.

$$[\alpha]_D^{23} = -89^\circ \quad (c = 0,88)$$

5,076 mg Subst. gaben 13,72 mg CO<sub>2</sub> und 3,75 mg H<sub>2</sub>O

|                   |              |         |
|-------------------|--------------|---------|
| $C_{22}H_{30}O_4$ | Ber. C 73,71 | H 8,43% |
| (358,46)          | Gef. „ 73,76 | „ 8,27% |

U.V.-Spektrum: keine Bande bei 2880 Å.

<sup>1)</sup> Helv. **26**, 638 (1943).

<sup>2)</sup> Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. Die spezifischen Drehungen wurden in Chloroform- und die Absorptionsspektren in Alkohollösung aufgenommen.



2. 2 g rohes, stark Kahweol-haltiges Cafestol-acetat ( $[\alpha]_D^{22} = -210^\circ$ ) wurden wie oben aber unter Verwendung von nur 2,6 g Natrium in alkoholischer Lösung reduziert. Nach analoger Aufarbeitung fielen 1,0 g Nadelchen vom Smp. 144—147° an.

$$[\alpha]_D^{23} = -183^\circ \quad (c = 1,02)$$

3. 1 g rohes Cafestol-acetat wurde wie unter 1a) reduziert und das rohe Acetylierungsprodukt aus Petroläther-Benzol-Lösung (1:1) an Aluminiumoxyd oder Floridin chromatographiert. Dabei erhielt man 710—730 mg eines bei 157—159° schmelzenden Produktes von  $[\alpha]_D^{23} = -99^\circ$ .

4. Je 2 g rohes Cafestol-acetat wurden mit 15 g Natrium in Methyl-, Propyl- oder Butyl-alkohol reduziert. Nach normaler Aufarbeitung wurden folgende Präparate erhalten:

| Verwendeter Alkohol | Ausbeute | Smp.     | $[\alpha]_D^{20}$ |
|---------------------|----------|----------|-------------------|
| Methyl- . . .       | 1,05 g   | 165—166° | - 97° (c = 1,02)  |
| Propyl- . . .       | 0,90 g   | 150—153° | - 116° (c = 1,00) |
| Butyl- . . .        | 0,86 g   | 152—155° | - 123° (c = 1,21) |

Behandlung von rohem Cafestol-acetat mit Natriumäthylat.

In zwei gleichzeitigen Versuchen wurden je 2 g rohes, stark Kahweol-haltiges Cafestol-acetat ( $[\alpha]_D^{22} = -210^\circ$ ) einerseits mit einer Natriumalkoholatlösung (aus 15 g Natrium und 250 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol), andererseits mit 15 g Natrium und 250 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol unter Einhalten der gleichen Reaktionsbedingungen behandelt. Beide Ansätze wurden genau gleich aufgearbeitet, anschliessend reacetyliert und die Produkte dreimal umkrystallisiert:

| Behandlung              | Ausbeute | Smp.     | $[\alpha]_D^{20}$ |
|-------------------------|----------|----------|-------------------|
| mit nasz. Wasserstoff . | 1,10 g   | 161—163° | - 96° (c = 1,03)  |
| mit Natrium-äthylat . . | 1,28 g   | 141—144° | - 210° (c = 1,04) |

Bei chromatographischer Aufarbeitung des Ansatzes mit Natriumäthylat erhielten wir 1,45 g des beschriebenen rohen Präparates zurück.

Hydrierung von rohem Cafestol-acetat mit Nickel-Katalysator.

1. a) 10 g rohes, stark Kahweol-haltiges Cafestol-acetat (Smp. 140—144°;  $[\alpha]_D^{22} = -210^\circ$ ) wurden in einer Lösung von 250 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol mit 3 g Nickel-Katalysator (aus 6 g Nickelcarbonat) bei Zimmertemperatur unter Wasserstoff geschüttelt. Nach 2 Stunden waren 420 cm<sup>3</sup> Wasserstoff aufgenommen und die Hydrierung kam zum Stillstand. Die alkoholische Lösung wurde durch eine Noritschicht abgenutscht und im Vakuum bis zur beginnenden Krystallisation eingeeengt. Mehrmaliges Umkrystallisieren lieferte 6,5 g farbloses Cafestol-acetat vom Smp. 165—166°.

$$[\alpha]_D^{19} = -98^\circ \quad (c = 0,91)$$

b) 4,5 g obigen Produktes wurden erneut der katalytischen Hydrierung unterworfen. Es wurden noch 110 cm<sup>3</sup> Wasserstoff aufgenommen. Die Aufarbeitung lieferte 2,8 g farblose Nadeln vom Smp. 168—169°.

$$[\alpha]_D^{21} = -93^\circ \quad (c = 1,01)$$

c) 1 g zweimal hydriertes Cafestol-acetat wurde zum dritten Mal hydriert, wobei nur noch Spuren Wasserstoff aufgenommen wurden. Die Aufarbeitung ergab reinstes Cafestol-acetat vom Smp. 172—173°.

$$[\alpha]_D^{25} = -89^\circ \quad (c = 0,95)$$

U.V.-Spektrum: Im Bereich von 2500—3000 Å keine Bande!

2. 1 g rohes Cafestol-acetat (Smp. 143—147°;  $[\alpha]_D^{19} = -185^\circ$ ) wurde wie oben hydriert unter Aufnahme von 38 cm<sup>3</sup> Wasserstoff. In einem Parallelversuch wurde 1 g des gleichen Ausgangsmaterials in derselben Menge Alkohol gelöst und mit Katalysator unter Stickstoff geschüttelt. Beide Lösungen wurden nun filtriert und zur Trockne verdampft. Den Rückstand chromatographierte man aus Petroläther-Benzol (1:2) an Aluminiumoxyd. Dabei wurden aus dem Blindversuch 750 mg Ausgangsmaterial vom Smp. 146—149° und  $[\alpha]_D^{00} = -184^\circ$  zurückerhalten, während die Hydrierung 740 mg Cafestol-acetat vom Smp. 160—164° und  $[\alpha]_D^{05} = -96^\circ$  lieferte.

Hydrierung mit Palladium-Katalysator.

Je 100 mg reinstes Cafestol-acetat (Smp. 172—173°;  $[\alpha]_D^{25} = -89^\circ$ ) und rohes Cafestol-acetat ( $[\alpha]_D^{22} = -150^\circ$ ) wurden in 30 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol bei Zimmertemperatur mit 100 mg vorhydriertem Palladium-Kohle-Katalysator und Wasserstoff geschüttelt:

| Zeit<br>Min.    | Wasserstoff-Aufnahme<br>in cm <sup>3</sup> (0°; 760 mm) |                          |
|-----------------|---|--------------------------|
|                 | reines<br>Cafestol-acetat                               | rohes<br>Cafestol-acetat |
| 5               | 3,0   | 5,0                      |
| 10              | 4,6   | 6,9                      |
| 15              | 6,0   | 8,0                      |
| 30              | 8,4   | 10,4                     |
| 45              | 10,0  | 12,5                     |
| 60              | 11,2  | 13,9                     |
| 90              | 12,0  | 15,2                     |
| 120             | 12,0  | 15,5                     |
| 150             | 12,0  | 15,5                     |
| Mol Wasserstoff | 1,95  | 2,50                     |

Hydrierung mit Platin-Katalysator.

Je 100 mg reinstes Cafestol-acetat (Smp. 172—173°;  $[\alpha]_D^{05} = -89^\circ$ ) und rohes Cafestol-acetat (Smp. 145—147°;  $[\alpha]_D^{20} = -178^\circ$ ) wurden in 30 cm<sup>3</sup> Eisessig bei Zimmertemperatur mit 40 mg vorhydriertem Platinoxid und Wasserstoff geschüttelt:

| Zeit<br>Min.    | Wasserstoff-Aufnahme<br>in cm <sup>3</sup> (0°; 760 mm) |              |
|-----------------|---|--------------|
|                 | reines Acetat   | rohes Acetat |
| 30              | 6,3   | 12,7         |
| 60              | 10,4  | 16,5         |
| 90              | 11,9  | 18,6         |
| 120             | 13,3  | 19,6         |
| 180             | 15,9  | 21,3         |
| 240             | 17,0  | 21,9         |
| 300             | 17,6  | 22,1         |
| 480             | 18,0  | 22,1         |
| Mol Wasserstoff | 2,9   | 3,6          |

Titration mit Phthalmonopersäure.

45,8 mg reinstes Cafestol-acetat (wie oben) bzw. 42,5 mg rohes Cafestol-acetat ( $[\alpha]_D^{20} = -178^\circ$ ) wurden in je 30 cm<sup>3</sup> Chloroform gelöst, mit 10 cm<sup>3</sup> einer ätherischen Phthalmonopersäure-Lösung versetzt und mit Chloroform auf 50 cm<sup>3</sup> aufgefüllt. Ein gleichzeitig angesetzter Blindversuch (10 cm<sup>3</sup> Persäurelösung + 40 cm<sup>3</sup> Chloroform) diente zur Bestimmung des Titers. Diese Lösungen wurden bei 0° stehen gelassen. Je 2 cm<sup>3</sup> davon wurden jeweils mit 0,01-n. Natriumthiosulfatlösung titriert und daraus die aufgenommene Menge Sauerstoff berechnet:

| Zeit in Stunden | Atome Sauerstoff aufgenommen |                       |
|-----------------|------------------------------|-----------------------|
|                 | reines Cafestol-acetat       | rohes Cafestol-acetat |
| 20              | 1,4                          | 1,8                   |
| 46              | 1,6                          | 2,0                   |
| 66              | 2,0                          | 2,4                   |
| 96              | 2,1                          | 2,6                   |
| 115             | 2,1                          | 2,6                   |

Farbreaktionen von Cafestol-acetat und Gemischen mit Kahweol-acetat.

| Substanz Smp. $[\alpha]_D$                   | Farbreaktion mit Salzsäure <sup>1)</sup> |                            |                                   | Farbreaktion mit Antimontrichlorid <sup>2)</sup> |                        |
|--|--|----------------------------|-----------------------------------|--|------------------------|
|  | sofort                                   | nach 30 Min.               | nach 2 Std.                       | sofort   | nach 2 Std.            |
| 137-140° -210°                               | schmutzig grün                           | grünblau trüb              | bleibt                            | dunkelblau                                       | bleibt                 |
| 145-147° -178°                               | schmutzig grün                           | olivgrün trüb              | bleibt                            | dunkelblau                                       | bleibt                 |
| 150-153° -116°                               | blau                                     | blau, rote Fluoreszenz     | dunkelblau, rote Fluoreszenz      | bordeauxrot                                      | rotviolett             |
| 155-158° -105°                               | hellblau, rote Fluoreszenz               | blau, rote Fluoreszenz     | dunkelblau, rote Fluoreszenz      | dunkelrot  | dunkelrot, blaustichig |
| 159-161° - 95°                               | farblos                                  | hellblau, rote Fluoreszenz | hellblau, starke rote Fluoreszenz | hellrot  | rot                    |
| 172-173° - 89°<br>(reinstes Cafestol-acetat) | farblos                                  | hellblau                   | hellblau, starke rote Fluoreszenz | nach 5 Sek. hellrot                              | hellrot                |

Die Analyse sowie die optischen Drehungsmessungen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium unter der Leitung von Herrn Dr. Gysel ausgeführt.

Forschungslaboratorium der *Ciba* Aktiengesellschaft, Basel  
Pharmazeutische Abteilung.

<sup>1)</sup> Ca. 2 mg Subst. wurden in 0,3 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und mit 2 Tropfen konz. Salzsäure versetzt.

<sup>2)</sup> Ca. 2 mg Subst. wurden in 0,1 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid gelöst und mit 0,3 cm<sup>3</sup> einer gesättigten Lösung von SbCl<sub>3</sub> in Chloroform versetzt.



### 132. Production de l'ozone au moyen d'une lumière ultra-violette intermittente: lampe à vapeur de mercure avec dispositif d'interruption; étincelles entre électrodes de zinc

par E. Briner et H. Karbassi.

(30 VI 45)

Dans un précédent travail<sup>1)</sup>, nous avons étudié la production photochimique de l'ozone à l'aide de la lampe à vapeur de mercure en vue de déterminer la longueur d'onde des radiations ultra-violettes qui sont responsables de cette production. Malgré l'importance que revêt la lampe à vapeur de mercure comme source de radiations ultra-violettes, ce point n'avait pas fait l'objet de recherches spéciales avant celles que nous avons entreprises dans ce laboratoire.

En opérant avec une filtration appropriée, il a pu être démontré, dans nos essais précédents, que la longueur d'onde des radiations, actives pour la formation d'ozone, de la lampe à vapeur de mercure, était inférieure à 2200 Å. Ce résultat est en désaccord avec celui obtenu autrefois dans les mesures souvent citées de *Warburg*<sup>2)</sup>, selon lesquelles de l'ozone peut être produit en faisant agir sur de l'oxygène comprimé la radiation de longueur d'onde 2530 Å<sup>3)</sup>, émise par les étincelles jaillissant entre des électrodes de zinc.

Nos expériences, faites aussi sur l'oxygène comprimé, ayant prouvé que l'augmentation de pression n'était pas favorable à la production de l'ozone<sup>4)</sup> — à durée égale d'éclairement —, il ne subsistait plus, comme différence expérimentale pouvant expliquer la discordance relevée, que le caractère intermittent de la lumière émise par les étincelles. Dans son mémoire, *Warburg* indique que les étincelles qu'il a utilisées jaillissaient à la cadence de 23 à 100 par seconde, alors que la lampe à vapeur de mercure, alimentée par du courant continu, émet de la lumière d'une manière également continue.

A première vue, l'intermittence de la lumière ne devrait pas avoir d'effet sur les longueurs d'onde des radiations actives pour un

<sup>1)</sup> Helv. **28**, 496 (1945).

<sup>2)</sup> Sb. preuss. Akad. **1911**, 746; **1912**, 216; **1913**, 644; **1914**, 872; Z. El. Ch. **26**, 56 (1920); **27**, 133 (1921).

<sup>3)</sup> *Warburg* donne cette longueur d'onde comme une moyenne; en consultant les tables des raies du spectre d'étincelle du zinc, nous ne constatons pas de raie 2530 Å; en revanche, il existe deux raies particulièrement intenses à 2500 et 2558 Å, la moyenne étant bien à peu près 2530 Å. Nous remarquons que la raie 2536 Å, très intense, de l'arc au mercure, qui s'est montrée dans nos travaux inactive pour la production de l'ozone, est comprise dans l'intervalle spectral utilisé par *Warburg*.

<sup>4)</sup> Ce qui exclut, comme on l'a souligné dans le mémoire précédent, l'intervention d'une action de la lumière sur les molécules polymérisées d'oxygène, action invoquée quelquefois pour expliquer les résultats de *Warburg*.

processus photochimique donné. Comme il est possible, cependant, dans la production ou la destruction photochimique de l'ozone, que des particules activées (molécules ou atomes) de durée de vie plus ou moins longue interviennent, on pouvait penser que l'action chimique d'une lumière intermittente ne serait pas, à durée égale d'éclairement, complètement identique à celle d'une lumière continue. On a signalé, en effet<sup>1)</sup>, des réactions photochimiques dont les rendements sont différents si la lumière est intermittente ou continue.

La connaissance de la longueur d'onde des radiations actives étant utile pour la détermination du mécanisme de la formation photochimique de l'ozone, nous avons voulu élucider ce point en procédant à quelques séries de mesures. Les résultats de ces essais, décrits ci-après, ont montré, en premier lieu, que la lumière de la lampe à mercure, interrompue à des fréquences de l'ordre de celles réalisées dans les étincelles du zinc utilisées par *Warburg*, ne fournit pas non plus de l'ozone si l'on arrête par une filtration les radiations de longueur d'onde inférieure à 2200 Å. Ce sont donc bien les raies de longueur d'onde inférieure à 2200 Å de l'arc au mercure qui sont responsables, dans un cas comme dans l'autre, de la formation de l'ozone. En outre, les quantités d'ozone produites lorsque le filtre n'est pas interposé sont, à durée égale d'éclairement, les mêmes (dans le domaine des fréquences d'interruption étudiées), que la lumière soit ou ne soit pas interrompue.

En second lieu, pour lever une dernière incertitude, nous avons opéré avec des étincelles condensées jaillissant entre électrodes de zinc — c'est la source même de radiations ultra-violettes employée par *Warburg*. Or, l'interposition du filtre annule aussi pratiquement toute production d'ozone.

La conclusion nette de ce travail et du précédent est que, quelle que soit la source de lumière ultra-violette, qu'elle agisse d'une manière continue (lampe à vapeur de mercure) ou intermittente (lampe à vapeur de mercure avec dispositif d'interruption ou étincelle), que l'oxygène soit comprimé ou non, qu'il soit même à l'état liquide, ce sont les radiations de  $\lambda < 2200$  Å qui sont productrices d'ozone.

Cette constatation exclut donc le mécanisme basé sur la dissociation photochimique initiale de la molécule d'oxygène en deux atomes d'oxygène normaux, mécanisme qui exige l'intervention des radiations de longueur d'onde égales ou inférieures à 2427 Å. D'autre part, nous avons vu, dans le mémoire précédent, pour quelles raisons il était peu

<sup>1)</sup> Voir, sur ce sujet, notamment les expériences de *Padoa* et *Vita*, qui ont trouvé, dans la décomposition photochimique de l'oxalate de fer sensibilisée par le sulfate de quinine, des rendements plus élevés en lumière intermittente qu'en lumière continue (Rapport et Discussions du 3<sup>me</sup> Conseil de Chimie de l'Institut International de Chimie *Solvay*, 1928, p. 170).

probable<sup>1)</sup> que l'ozone formé par la lumière de la lampe à mercure soit dû à l'action de la seule raie 1650 Å, d'ailleurs assez faible, de l'arc au mercure, dont la longueur d'onde est inférieure à 1750 Å; cette dernière correspond à la dissociation photochimique de l'oxygène en un atome normal et un atome activé, mécanisme le plus souvent admis pour expliquer la production photochimique de l'ozone.

## Résultats.

### *Essais avec la lampe à vapeur de mercure.*

Le dispositif d'interruption à fréquences déterminées consiste en un cylindre de laiton représenté schématiquement dans la figure 1. Le tube de réaction décrit dans le mémoire précédent est placé suivant l'axe du cylindre. Les dimensions de celui-ci sont:

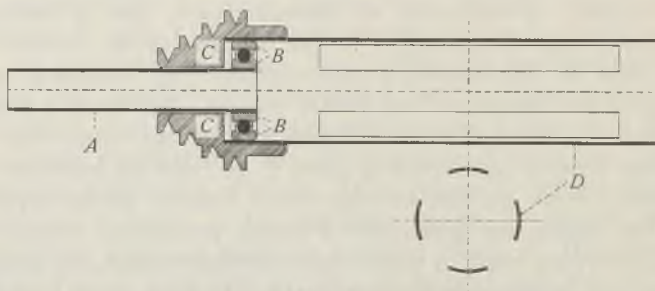


Fig. 1.

Dispositif employé pour l'éclairement intermittent au moyen de la lampe à vapeur de mercure.

- A = tube de laiton fixe.
- B = roulement à billes.
- C = jeu de poulie.
- D = cylindre tournant comportant des secteurs vides et suivant l'axe duquel est placée le tube laboratoire.

diamètre 4,2 cm., longueur 20 cm., épaisseur des parois 0,1 cm. Ce cylindre est divisé longitudinalement en 8 secteurs, alternativement pleins et vides, de largeur égale et de 12 cm. de longueur. Ainsi, en faisant agir l'interrupteur, on réduit exactement à la moitié la durée d'éclairement. L'une des extrémités du cylindre est rattachée à un tube de laiton de 10 cm. de longueur et de 2 cm. de diamètre par un dispositif de roulement à billes; elle est introduite d'autre part à frottement dur dans un jeu de poulies en aluminium. Celui-ci tourne librement par rapport au tube de laiton, qui est maintenu fixe et, par son intermédiaire, on peut communiquer au cylindre diverses vitesses de rotation. Pour bénéficier d'une gamme de vitesse étendue, nous avons employé un moteur asynchrone à trois vitesses, 1990 tours, 40 tours et 10 tours par minute. Avec cet agencement, nous avons pu réaliser des fréquences d'interruption de 2 à 87 par seconde.

Quant à l'appareillage général et aux méthodes de travail utilisées, on les trouvera décrits et exposés en détail dans le mémoire précédent.

Les résultats sont transcrits dans le tableau 1 ci-après, dans lequel les colonnes successives renferment les données suivantes: N<sup>o</sup>, numéro d'ordre de l'essai; p, pression en kg. de l'oxygène dans le tube à réaction;  $\Theta$ , durée de l'essai en minutes, c'est-à-dire le temps nécessaire au remplissage du ballon dans lequel est accumulée la totalité de l'oxygène

<sup>1)</sup> Nous nous proposons de revoir expérimentalement ce point ultérieurement.



chargé de l'ozone produit par l'action de la lampe à mercure; T, durée d'éclairement en minutes, soit le temps mis par les molécules gazeuses pour parcourir la longueur éclairée du tube de réaction; c'est donc la durée de séjour du gaz dans cette partie du tube<sup>1)</sup>; n, nombre de cm<sup>3</sup> de thiosulfate 0,01 N correspondant à l'iode libéré par l'ozone dans une solution d'iodure de potassium en contact avec le gaz du ballon; C, concentration volumétrique de l'ozone dans l'oxygène; en outre; N représente la fréquence, c'est-à-dire le nombre des interruptions par seconde; F, indique si le filtre a été interposé (signe +) ou non (signe -). Rappelons ici qu'il s'agit d'un filtre type WG 8, de la fabrique *Schott & Gen.*, à Jéna. Il absorbe intégralement les radiations de longueur d'onde < 2200 Å, mais il laisse passer une forte proportion de celles de la forte raie 2535 Å du mercure, voisine de la raie 2530 Å de l'étincelle du zinc. Les essais ont été faits à la température ambiante.

Tableau 1.

| N <sup>o</sup> | p  | Θ  | T    | n        | C × 10 <sup>5</sup> | N  | F |
|----------------|----|----|------|----------|---------------------|----|---|
| 1              | 40 | 75 | 1,06 | 2,05—2,1 | 4,6                 | 87 | — |
| 2              | 40 | 78 | 2,20 | 4,1      | 9,2                 | 0  | — |
| 3              | 40 | 75 | 1,06 | <0,05    | 0                   | 87 | + |
| 4              | 40 | 73 | 1,03 | 2,05—2,1 | 4,6                 | 57 | — |
| 5              | 40 | 75 | 1,06 | 2,05—2,1 | 4,6                 | 26 | — |
| 6              | 40 | 74 | 1,04 | <0,05    | 0                   | 26 | + |
| 7              | 40 | 74 | 1,04 | 1,9      | 4,25                | 2  | — |
| 8              | 40 | 75 | 2,12 | 4,1—4,15 | 9,2                 | 0  | — |
| 9              | 40 | 73 | 1,03 | 2,07     | 4,6                 | 2  | — |
| 10             | 5  | 64 | 0,22 | 1,4      | 3,14                | 0  | — |
| 11             | 5  | 64 | 0,11 | 0,7—0,75 | 1,57                | 87 | — |
| 12             | 5  | 63 | 0,11 | 0,7—0,75 | 1,57                | 2  | — |
| 13             | 5  | 64 | 0,22 | 1,5—1,55 | 3,36                | 0  | — |

Au sujet de l'effet de filtration, on voit que l'interposition du filtre WG 8 arrête pratiquement la production d'ozone. La quantité d'ozone formée est effectivement inférieure à la sensibilité ( $n = 0,05 \text{ cm}^3 \text{ 0,01 N}$ ) de la titration de l'ozone. Les mesures ont été faites à la fréquence d'interruption 87 (n<sup>o</sup> 3) et à la fréquence 26 (n<sup>o</sup> 6). Les mêmes constatations ont été enregistrées dans le travail précédent pour la lumière de la lampe à vapeur de mercure agissant d'une manière continue. Ainsi, les radiations actives de cette source de lumière ultraviolette sont celles de longueur d'onde inférieure à 2200 Å, que la lumière agisse d'une manière intermittente ou continue.

D'autre part, la durée d'éclairement étant réduite de moitié lorsqu'on utilise le dispositif d'interruption, on voit que la production de l'ozone a aussi été réduite de moitié pour tous les essais comportant l'interruption. Ainsi, l'intermittence de la lumière n'a pas modifié sensiblement la production de l'ozone à durée égale d'éclairement.

*Essais avec l'étincelle du zinc.*

L'étincelle condensée est produite par une grosse bobine «*Klingelfuss*», dont le primaire est alimenté par un courant de 150 volts, 10 ampères, circulant dans un interrupteur *Wehnelt*. Sur le secondaire, on a disposé une forte bouteille de Leyde. La longueur des étincelles, très nourries, est d'environ 2,5 cm.

Les résultats sont donnés dans le tableau 2, avec les mêmes désignations que pour le tableau 1.

<sup>1)</sup> Voir, pour le calcul de T, le mémoire précédent.

Tableau 2.

| N <sup>o</sup> | p  | ⊖  | n     | C × 10 <sup>5</sup> | F |
|----------------|----|----|-------|---------------------|---|
| 14             | 40 | 20 | 3,5   | 7,8                 | - |
| 15             | 40 | 20 | <0,05 | 0                   | + |

On voit que l'interposition du filtre a supprimé pratiquement la production d'ozone. Ainsi, pour les étincelles du zinc, les radiations actives sont aussi celles dont la longueur d'onde est inférieure à 2200 Å.

RÉSUMÉ.

Des essais comparatifs ont été faits sur la production de l'ozone au moyen 1<sup>o</sup> de la lampe à mercure en lumière continue ou intermittente, avec ou sans interposition d'un filtre; 2<sup>o</sup> de l'étincelle entre électrodes de zinc.

L'intermittence de la lumière n'a pas conféré une activité productrice d'ozone aux radiations supérieures à 2200 Å de la lampe à mercure. Les radiations actives sont donc celles dont la longueur d'onde est inférieure à 2200 Å.

Dans les essais faits avec l'étincelle de zinc, source de lumière ultra-violette utilisée par *Warburg*, nous n'avons pas non plus constaté la production d'ozone dans l'oxygène lorsqu'on interpose le filtre arrêtant les radiations de longueur d'onde inférieure à 2200 Å.

L'intermittence de la lumière de la lampe à mercure ne modifie pas, à durée égale d'éclairement, le rendement photochimique de production de l'ozone.

Laboratoires de Chimie technique, théorique et d'Electrochimie de l'Université de Genève.

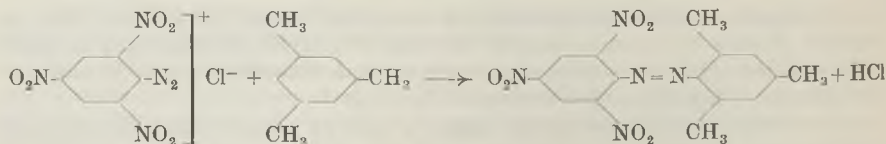
Juin 1945.

133. Über den Mechanismus der Azokuppelung

von R. Wizinger und B. Cyriax<sup>1)</sup>.

(30. VI. 45.)

Im Jahre 1921 zeigten *K. H. Meyer* und *H. Tochtermann*<sup>2)</sup>, dass diazotiertes Pikramid<sup>3)</sup> mit Mesitylen zu kuppeln vermag:



<sup>1)</sup> Diss. Bonn 1936.

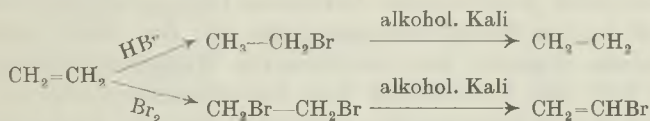
<sup>2)</sup> B. 54, 2283 (1921).

<sup>3)</sup> Zur Diazotierung des Pikramids s. *E. Misslin*, Helv. 3, 626 (1920).

Durch diese Feststellung ist erwiesen, dass die Einwirkung des Diazoniumsalzes unmittelbar am Benzolkern erfolgen kann. Die Anlagerung an das Auxochrom beim Kuppeln mit Aminen, Phenolen und Phenoläthern, welche zu Diazamido-, bzw. Diazoxykörpern oder aber zu Entalkylierungen führen kann<sup>1)</sup>, ist also nicht unerlässliche Vorstufe. Damit aber rückt die Azokuppelung zunächst rein formal in die Reihe der üblichen Substitutionsreaktionen wie Halogenisierung, Nitrierung, Sulfurierung u. a. ein, und es erscheint von vornherein wahrscheinlich, dass sie auch im Einzelnen nach dem gleichen Mechanismus vor sich geht.

Wie schon an anderer Stelle kurz zusammenfassend dargelegt wurde, eignen sich einseitig positivierte Äthylene, insbesondere das  $\alpha, \alpha$ -Diphenyl-äthylen und seine auxochromhaltigen Derivate, vorzüglich als Modellsubstanzen zur Verfolgung des Mechanismus der Substitutionsreaktionen<sup>2)</sup>.

Einfach gebaute Äthylene addieren Halogenwasserstoff, Säuren, Brom usw. bekanntlich unter Bildung nichtionoider Verbindungen von Estercharakter, die durchaus beständig sind. Erst unter Einwirkung von alkoholischem Kali u. ä. findet Abspaltung von Halogenwasserstoff statt:



Demgegenüber lagern einseitig positivierte Äthylene Halogenwasserstoff und ganz allgemein Säuren HX an, nicht zu stabilen Verbindungen von Estercharakter, sondern zu salzartigen Verbindungen (Methylcarbeniumsalzen<sup>3)</sup>, die mehr oder weniger leicht wieder in die Komponenten zerfallen<sup>4)</sup>. Es bilden sich also Gleichgewichte heraus im Sinne des Formelbildes:



Das Gleichgewicht liegt um so mehr auf der Seite des Methylcarbeniumsalzes, je stärker positivierend (elektronenliefernd) die Reste R und R' wirken und je stärker die Säure HX ist<sup>5)</sup>.

<sup>1)</sup> Eine Zusammenstellung der grundlegenden Arbeiten findet sich bei *Fritz Mayer*, Chemie der organischen Farbstoffe, I. Band, S. 31 ff., Berlin 1934.

<sup>2)</sup> *R. Wizinger*, J. pr. [2] **154**, 1—39 (1939); daselbst weitere Literaturangaben.

<sup>3)</sup> Auf andere Grenzformen im Sinne der Mesomerielehre soll hier nicht eingegangen werden.

<sup>4)</sup> *R. Wizinger*, l. c. — Ders., J. pr. [2] **157**, 137 ff. (1941).

<sup>5)</sup> Die Rolle des Lösungsmittels sei der Einfachheit halber hier nicht näher besprochen.



Grundsätzlich gleich wie die Addition von HX vollzieht sich auch die Addition von AX. Hierbei soll X ein Atom oder eine Atomgruppe bedeuten, welche ein negatives Ion zu bilden vermag, und A eine (elektrophile) Gruppe, die sich nichtionoid an ein Äthylenkohlenstoffatom zu addieren vermag. AX kann z. B. sein Br-Br, ON-Cl, O<sub>2</sub>N-C(NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>, O<sub>2</sub>N-ONO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>N-OCOCH<sub>3</sub> u. a. m. Wiederum bilden sich Methylcarbeniumsalze, diesmal aber solche mit einem Substituenten in der Methylgruppe:



Genau wie die unsubstituierten Methylcarbeniumsalze bis zu einem bestimmten Gleichgewicht in HX und Äthylen zerfallen, gilt dies nun auch für die substituierten Methylcarbeniumsalze:



Bei dieser Säurespaltung ist aber nicht das ursprüngliche Äthylen wieder entstanden, sondern ein Substitutionsprodukt, genau wie bei den Substitutionsreaktionen am Benzol und seinen Derivaten.

Bei schwach positivierten Äthylenen tritt selbsttätig weitgehender Zerfall in das Substitutionsprodukt ein. Bei stark positivierten Äthylenen ist dagegen das substituierte Methylcarbeniumsalz, die Vorstufe vor der Entstehung des Substitutionsproduktes, soweit stabil, dass es sich isolieren oder zumindest deutlich beobachten lässt. Auf diese Weise lässt sich der Mechanismus der Substitutionsreaktionen genau verfolgen.

Dieser Verlauf der Substitutionsreaktionen hat sich an zahlreichen Beispielen feststellen lassen<sup>1)</sup>. Es handelte sich nun darum, zu ermitteln, ob die Azokupplung auch wirklich in gleicher Weise vor sich geht.

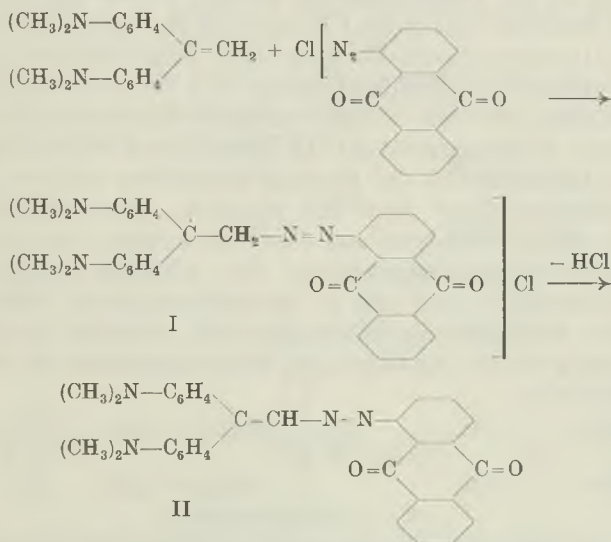
Zu diesem Zweck wurden äquimolekulare Mengen eines ziemlich stark positivierten Äthylens und eines gut kuppelnden Diazoniumsalzes in neutraler alkoholischer Lösung zusammengebracht. Als passive Komponente wählten wir das auch in anderen Fällen bewährte Tetramethyl-diaminodiphenyl-äthylen, als aktive Komponente das leicht in fester Form darstellbare, sehr beständige Diazoniumchlorid aus  $\alpha$ -Amino-anthrachinon. Beim Zusammengeben der alkoholischen Lösungen der beiden Komponenten entstand augenblicklich eine ausserordentlich intensive, tiefblaue Färbung. Mit Äther liess sich die blaue Verbindung ausfällen.

<sup>1)</sup> Das Material ist hauptsächlich in einer grösseren Zahl von Dissertationen niedergelegt. Einzelheiten zum Mechanismus der Halogenisierung s. Pfeiffer und R. Wizinger, A. 461, 132 (1928); in dieser Arbeit ist jedoch die Bedeutung der oben skizzierten Gleichgewichte noch nicht erkannt.

Sie ist bei gewöhnlicher Temperatur durchaus beständig (Zersetzung bei ca. 174°). Die Analyse zeigt, dass ein Additionsprodukt von 1 Mol Diazoniumsalz an 1 Mol Äthylen vorliegt. Die Verbindung besitzt die normalen Eigenschaften eines Farbsalzes. Sie ist löslich in Alkohol, Chloroform, Nitromethan, Nitrobenzol, dagegen praktisch unlöslich in Ligroin, Äther, Benzol, Tetrachlorkohlenstoff. Die tiefblauen Lösungen geben mit geeigneten Metallsalzen (AgNO<sub>3</sub>, NaClO<sub>4</sub>) doppelte Umsetzungen.

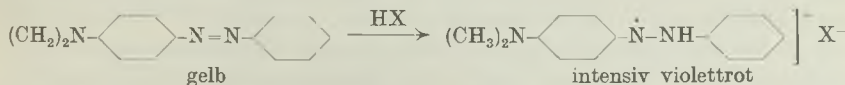
Mit alkoholischem Kali wird aus dem blauen Farbsalz augenblicklich HCl abgespalten. Dabei findet Farbumschlag von intensiv blau nach braunorange statt. Aus der alkoholischen Lösung lässt sich durch Ausfällen mit Wasser und Umkrystallisieren aus Benzol der freie Äthylenazokörper (II) gewinnen (Smp. 188–189°).

Es hat also folgender Umsatz stattgefunden:

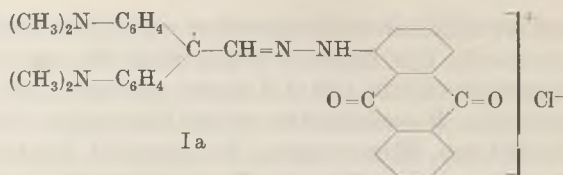


Der neue Äthylenazokörper löst sich braunorange bis rot in neutralen organischen Lösungsmitteln. Mit Säuren, sogar schon mit Essigsäure, bilden sich tiefblaue Farbsalze.

Nun vermögen bekanntlich auch einfache Azokörper mit Säuren intensiv farbige Additionsverbindungen zu geben unter Bildung von Arylaminoazoniumsalzen, z. B.:

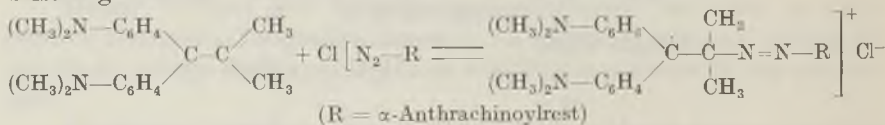


Es ist nun durchaus möglich, ja sogar wahrscheinlich, dass das Proton sich auch beim neuen Äthylenazokörper an den Azostickstoff anlagert zu



Damit drängt sich aber die Frage auf, ob das blaue Salz tatsächlich das ursprüngliche Additionsprodukt I, d. h. das wirkliche Zwischenprodukt bei der Azokupplung ist, oder ob nicht vielmehr dessen tautomeres Umlagerungsprodukt Ia gefasst worden ist. Man könnte vielleicht sogar die Frage aufwerfen, ob nicht bei der Azokuppelung zunächst ein direkter Austausch von H gegen die Azogruppe und erst hinterher Säureaddition stattfindet.

Um nun einwandfrei zu zeigen, dass als erste Stufe tatsächlich Anlagerung an die Doppelbindung erfolgt, wurde ein Äthylen angewandt, bei dem eine tautomere Umlagerung und auch eine Verdrängung eines Substituenten durch die Azogruppe ausgeschlossen ist, nämlich das  $\alpha, \alpha$ -Tetramethyl-diaminodiphenyl- $\beta, \beta$ -dimethyl-äthylen. Auch dieses Äthylen gibt mit  $\alpha$ -Anthrachinoyl-diazoniumchlorid ein intensiv blaues Additionsprodukt. In Eisessig und auch in mässig konzentrierter Essigsäure ist das Produkt einige Zeit haltbar. Auf Zusatz von Natriumperchlorat fällt das ziemlich schwerlösliche, intensiv grünstichig blaue Perchlorat aus. Der Niederschlag enthält aber noch fast farbloses Diazoniumperchlorat. Die Addition erfolgt also nicht quantitativ, sondern nur bis zu einem bestimmten Gleichgewicht. Durch diese Beobachtung ist sichergestellt, dass die erste Stufe der Azokuppelung in der Addition des Diazoniumsalzes an die Doppelbindung besteht:



Die tiefe grünstichig blaue Farbe spricht eindeutig für die angegebene Strukturformel (Abart eines Diphenylmethanfarbstoffes). Die Frage, ob sich das primäre Additionsprodukt nun hinterher tautomer umlagert, wie I in Ia, ist somit von untergeordneter Bedeutung.

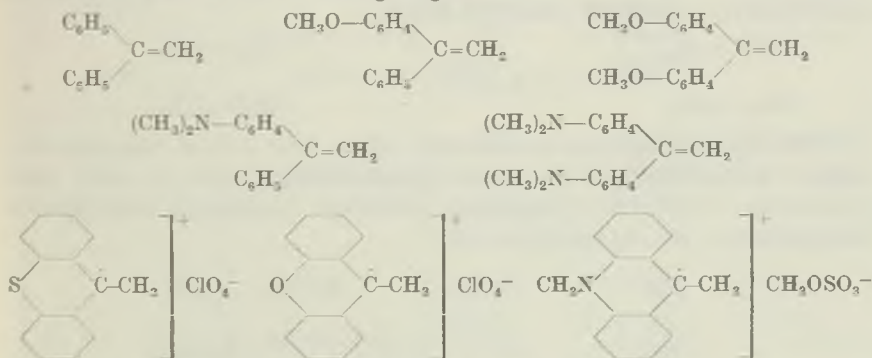
Im vorliegenden Falle, wo sich am  $\alpha$ -Atom kein Wasserstoff befindet, kann das Farbsalz natürlich nicht unter Abspaltung von HX in einen Äthylenazofarbstoff übergehen. Die Verbindung macht ganz andersartige Veränderungen durch. Langsam in Eisessig, fast augenblicklich in Alkohol geht sie in einen gut krystallisierenden roten Farbstoff über (Smp. 185—186°). Im Gegensatz zum Äthylenazofarbstoff II gibt dieser rote Farbstoff mit Eisessig kein tiefblaues Salz. Er gehört also einer anderen Reihe an. Die Aufklärung seiner Konstitution bleibt einer besonderen Untersuchung vorbehalten.



Völlig analoge Erscheinungen beobachtet man mit p-Nitrophenyl-diazoniumsalz. Entsprechen der geringeren Kupplungs-, d. h. Additionsfähigkeit dieses Salzes ist das blaue Additionsprodukt an das  $\alpha, \alpha$ -Tetramethyl-diaminodiphenyl- $\beta, \beta$ -dimethyl-äthylen noch unbeständiger als dasjenige aus Anthrachinoyl-diazoniumsalz.

Die Azokuppelung verläuft also völlig analog wie die Halogenierung u. ä.: zuerst bildet sich ein ionoid-nichtionoides, carbeniumsalzartiges Zwischenprodukt, das mehr oder weniger leicht Säure abspaltet. Es sei auch an dieser Stelle nochmals nachdrücklichst auf die Bedeutung des ionoiden Charakters hingewiesen. Im Carbeniumzustand trägt das C-Atom nur sechs Elektronen. Es ist somit zum ausserordentlich starken Elektronensauger, d. h. zur acidifizierenden Gruppe geworden. Es übertrifft in dieser Hinsicht sogar die Nitrogruppe bei weitem. Durch diesen Einfluss wird das Proton der Gruppe  $-\text{CH}_3$ , bzw.  $-\text{CH}_2\text{A}$  so gelockert, daß Säureabspaltung eintritt und damit das Substitutionsprodukt entsteht<sup>1)</sup>.

Wir gingen nun dazu über, das Kuppelungsvermögen der Diaryl-äthylene näher zu untersuchen<sup>2)</sup>. Folgende Äthylene, bzw. Methylcarbeniumsalze wurden herangezogen:



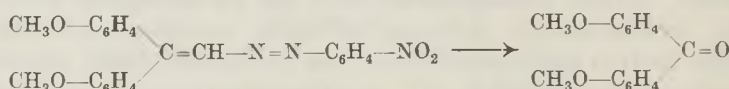
Den letztgenannten Salzen liegen das Methylen-thioxanthen, das Methylen-xanthen und das 10-Methyl-9-methylen-dihydroacridin zugrunde, welche sich vom Diphenyl-äthylen ableiten durch Einführung der ringschliessenden Gruppen  $-\text{S}-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NCH}_3-$ . Es wurde umgesetzt mit äquivalenten Mengen von diazotiertem Anilin, p-Nitranilin und 2,4-Dinitranilin, und zwar stets in Eisessiglösung (reines Phenyl-diazoniumchlorid, p-Nitrophenyl-antidiazotat in Eisessig, Dinitrophenyl-diazoniumsulfat nach *K. H. Meyer*, B. 52, 1472 [1919]).

<sup>1)</sup> S. hierzu *R. Wizinger*, J. pr. [2] 154, 8ff. (1939); 157, 136 (1941).

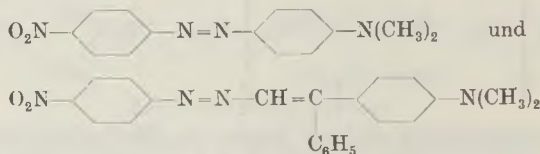
<sup>2)</sup> Dass Diaryl-äthylene zu kuppeln vermögen, ist von *W. Dilthey* (s. hierzu J. pr. [2] 142, 184 (1935)) erstmalig bei Versuchen mit einem sehr aktiven Diazoniumsalz beobachtet worden. Es wurde dann freundschaftlich vereinbart, dass die nähere Untersuchung als in den Problembereich *R. Wizinger's* gehörend von diesem durchgeführt werden sollte.

In sämtlichen Fällen begann, wie sich an den auftretenden Farbreaktionen zeigte, die Kuppelung sehr rasch. Lediglich beim Diphenyl-, Anisyl-phenyl- und Dianisyl-äthylen konnte das Kuppelungsprodukt mit diazotiertem Anilin nicht gefasst werden. Der Äthylenazokörper aus Anisyl-phenyl-äthylen und p-Nitrophenyl-diazoniumsalz, sowie derjenige aus Dianisyl-äthylen und diazotiertem Dinitranilin wurden nur in geringer Menge krystallin erhalten. Aus Diphenyl-äthylen und Nitrophenyl-diazoniumsalz wurde ein hellgelbes krystallines Produkt vom Smp. 153<sup>o</sup> gefasst. Dies ist aber nicht der erwartete Äthylenazokörper der Summenformel C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub>. Die Analyse ergibt nämlich die Zusammensetzung C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>O<sub>2</sub>N. Es hat also eine tiefergehende Veränderung unter Abspaltung von einem C, zwei H und zwei N stattgefunden. Die Konstitution dieses Produktes bleibt noch aufzuklären.



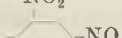






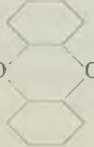
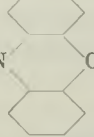
In allen übrigen Fällen wurden Substanzen gefasst, die nach Analyse und Eigenschaften als Diaryl-äthylenazokörper anzusprechen sind. Der Vollständigkeit halber wurde in einem Fall, beim p-Nitrophenylazo-dianisyl-äthylen durch oxydativen Abbau die Stellung der Azogruppe in der Seitenkette nachgewiesen. Es entstand in nahezu quantitativer Ausbeute Dianisyl-keton:



Die Diaryl-äthylenazofarbstoffe leiten sich formal von den einfachen Azofarbstoffen ab durch Eingliederung einer — evtl. substituierten — Aryl-vinylengruppe zwischen Azogruppe und passive Komponente. So entsprechen sich:



Eine sehr auffallende Eigenschaft der neuen Äthylenazofarbstoffe ist die ungewöhnliche Änderung der Farbe mit der Natur des Lösungsmittels. Die Farbe vertieft sich in der Reihenfolge: Ligroin, Tetrachlorkohlenstoff, Äther, Benzol, Alkohol, Aceton, Chloroform, Pyridin. Offensichtlich nimmt in grossen Zügen die Farbtiefe mit der Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels zu, ohne daß aber eine genaue Parallelität besteht. Die folgende Zusammenstellung gibt einen kurzen Überblick. Unter a) ist angegeben die Farbe der Benzollösung, unter b) der Farbbereich, d. h. die Farbe der Lösung in Ligroin oder CCl<sub>4</sub> und die Farbe der Lösung in Pyridin. Es wäre zweifellos interessant, den Kreis der Lösungsmittel mit hoher Dielektrizitätskonstante noch zu erweitern.

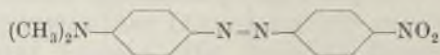
| Äthylenazofarbstoff   | I. R =  | II. R =  | III. R =  |
|---|--|---|--|
| A.  C=CH-N=N-R   |  |   | a) gelb<br>b) gelb in verschiedenen Tönen  |
| B.  C=CH-N=N-R   |  | a) gelb<br>b) gelb-orange   | a) orange<br>b) orange-orangerot   |
| C.  C=CH-N=N-R   | a) orange-gelb   | a) orange<br>b) gelb-orangerot  | a) orangerot<br>b) orangerot-rot   |
| D.  C=CH-N=N-R   | a) orange-gelb<br>b) gelb-orange   | a) orange<br>b) orange-karminrot  | a) violettrot<br>b) rot-blau   |
| E.  C=CH-N=N-R   | a) gelb<br>b) gelb-orange  | a) blaurot<br>b) orange-rot-violett   | a) rotviolett<br>b) rot-blau   |
| F.  C=CH-N=N-R  | a) gelb<br>b) gelb-orange  | a) orange<br>b) orange-orangerot  | a) rot<br>b) orange-karminrot  |
| G.  C=CH-N=N-R | a) gelb-orange<br>b) gelb-orange   | a) orange<br>b) orange-rot  | a) rot<br>b) orangerot-karminrot   |
| H.  C=CH-N=N-R | a) rot<br>b) rot in versch. Tönen  | a) violett<br>b) rot-blau   | a) blauviolett<br>b) karminrot-blaugrün  |



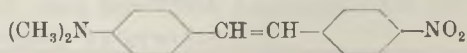
Der Vergleich der Farben der Benzollösungen zeigt, dass die Farbtiefe bei Einführung von einer und noch mehr bei Einführung zweier Nitrogruppen erheblich zunimmt. Die Äthylenazokörper aus unsubstituiertem Anilin (senkrechte Reihe I) sind sämtlich gelb bis rot. Die Auxochrome haben auf den Farbton nur einen verhältnismässig geringen Einfluss. Nach Einführung einer Nitrogruppe macht sich aber der Einfluss der Auxochrome schon stark bemerkbar. Die Mononitrokörper (Reihe II) sind gelb bis violett. In der Reihe der Dinitrokörper beobachten wir sogar einen Farbsprung von gelb — beim auxochromfreien Grundkörper aus Diphenyl-äthylen (A III) — nach blauviolett beim entsprechenden Äthylenazofarbstoff der Acridinreihe (H III). Entsprechend ist die Farbvertiefung innerhalb einer Querreihe bei den Äthylenen mit stark wirksamen Auxochromen viel beträchtlicher als bei denjenigen mit schwachen Auxochromen. Bei den Azokörpern aus Dianisyl-äthylen (Reihe C) mit dem schwachen Auxochrom  $\text{CH}_3\text{O}$ - beobachten wir nur eine Farbvertiefung von orangegelb nach orangerot. Dagegen geht bei Anwesenheit von zwei Dimethylamingruppen (Reihe E) die Farbvertiefung von orangegelb über blaurot nach rotviolett. Bemerkenswert ist, dass die Farbstoffe der Thioxanthen- und Xanthenreihe (Reihen F und G) hinsichtlich ihrer Farbtiefe zwischen die Dimethoxyreihe (C) und die Monodimethylaminreihe (D) gehören, während die Farbstoffe der Acridinreihe (H) diejenigen der Bis-dimethylaminreihe (E) noch erheblich übertreffen.

Die Farbtiefe und Farbintensität der Äthylenazofarbstoffe aus diazotiertem Nitranilin und Dinitranilin findet ihre zwanglose Erklärung darin, dass die polarisierende Wirkung der Nitrogruppen einerseits und der Auxochrome andererseits sich über eine Kette erstreckt, die gegenüber den einfachen Azofarbstoffen um eine Vinylengruppe verlängert ist. Aus dem gleichen Grunde wird auch die auffallende Abhängigkeit der Farbe von der Natur des Lösungsmittels verständlich.


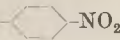
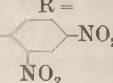
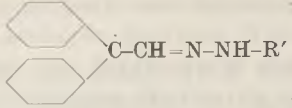
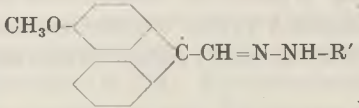
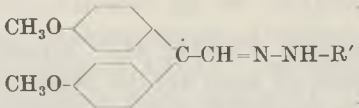
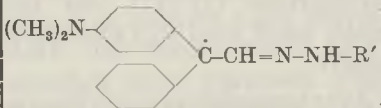
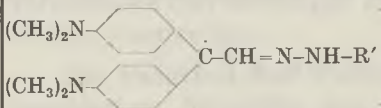
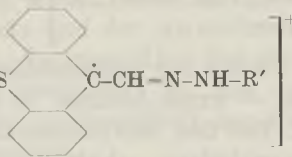
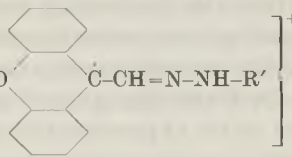
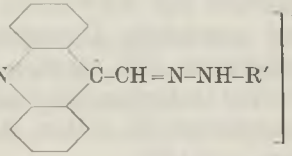
Man kann nämlich einen solchen, wenn auch meist nicht sehr auffallenden, Einfluss schon bei einfachen Azokörpern und Stilbenderivaten sowie zahlreichen anderen nicht salzartigen farbigen Verbindungen feststellen. So löst sich das 4-Dimethylamino-4'-nitro-azobenzol



in Ligroin orangegelb und in Pyridin rot, und ähnlich ist der Unterschied der Lösungsfarben (gelb, rot) beim analog gebauten 4-Dimethylamino-4'-nitrostilben



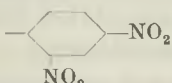




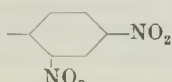


| Äthylenazofarbsalz  | R =  | R =  | R =  |
|---|---|---|---|
|    |   |   | rotbraun  |
|    |   | blauviolett   | rot   |
|    |   | blauviolett   | violett   |
|    | grünstichig blau  | blauviolett   | rot   |
|    | blau  | violettblau   | rotviolett  |
|   | grün  | blau  | blauviolett   |
|  | grünstichig blau  | violett   | karminrot   |
|  | blau  | karminrot   | rot   |

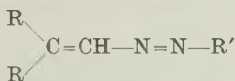


Diese Zusammenstellung bringt ein auf den ersten Blick vielleicht überraschendes Ergebnis. Genau umgekehrt wie bei den freien Äthylenazokörpern ist hier die Farbe am tiefsten bei den Produkten aus diazotiertem Anilin und am hellsten bei denjenigen aus diazotiertem Dinitrilanilin. Es seien nur zwei Reihen einander gegenübergestellt:

| $\begin{array}{c} (\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4 \\   \\ \text{C}=\text{CH}-\text{N}=\text{N}-\text{R} \\   \\ (\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4 \end{array}$ | Farbe des freien Azokörpers in Pyridin | Farbe des Säureadduktes in Eisessig |
|--|--|-------------------------------------|
| R =   | orange                                 | blau                                |
| R =   | violett                                | violettblau                         |
| R =   | blau                                   | rotviolett                          |

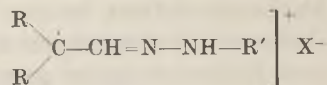
| $\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{N} \\   \\ \text{C}=\text{CH}-\text{N}=\text{N}-\text{R} \\   \\ \text{CH}_3-\text{N} \end{array}$ | Farbe des freien Azokörpers in Pyridin | Farbe des Säureadduktes in Eisessig |
|--|--|-------------------------------------|
| R =   | rot                                    | blau                                |
| R =   | blau                                   | karminrot                           |
| R =   | blaugrün                               | rot                                 |

Diese zunächst merkwürdige Tatsache findet aber ihre Erklärung bei der Gegenüberstellung der Konstitutionsformeln. Bei den freien Diaryl-äthylenazokörpern

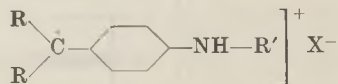


ist die Farbe um so tiefer, je stärker wirksame (elektronenspendende) Auxochrome in den Resten R einerseits und je stärker wirksame Anti-auxochrome (elektronenbindende, acidifizierende) Gruppen andererseits — in den vorliegenden Beispielen Nitrogruppen — im Rest R' die dazwischen liegende Kette polarisieren. Dagegen liegt in den Säure-

addukten eine ganz andersartige Farbstoffklasse vor, nämlich eine besondere Gruppe von Carbeniumsalzen<sup>1)</sup>:



Wir können diese Farbsalze als Diphenyl-arylamino-azomethin-carbeniumsalze bezeichnen. Diese Farbsalze leiten sich von analogen Triphenylmethanfarbstoffen



ab durch Ersatz des das Auxochrom  $-\text{NHR}'$  tragenden Benzolrings durch die Azomethingruppe. Es leuchtet ein, dass die Wirkung des Arylamino-auxochroms  $-\text{NHR}'$  geschwächt wird, wenn die antiauxochrome Nitrogruppe in das Auxochrom eingeführt wird (vgl. Ausschaltung der Auxochromwirkung durch Acylierung).

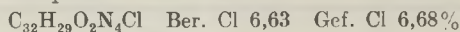
Es liegt auf der Hand, dass das Gebiet durch Variation der passiven wie der aktiven Komponenten in verschiedener Hinsicht ausbaufähig ist<sup>2)</sup>.

### Experimenteller Teil.

#### 1-Anthrachinon-diazoniumchlorid und Tetramethyl-diaminodiphenyl-äthylen.

Zwischenprodukt: Beim Zusammengeben einer Lösung von 2,6 g Tetramethyldiaminodiphenyl-äthylen in 30 cm<sup>3</sup> Alkohol und einer Lösung von 2,7 g 1-Anthrachinondiazoniumchlorid (je  $\frac{1}{10}$  Mol) in 60 cm<sup>3</sup> Alkohol tritt augenblicklich eine ausserordentlich tiefe Blaufärbung ein. Nach einigem Stehen wird das Farbsalz mit Äther niederschlagen. Ausbeute 4,7 g = 88%.

Dunkelblaues goldglänzendes Pulver. Zersp. ca. 174°. Löslich in Alkohol, Eisessig, Essigsäure-anhydrid, Aceton, Chloroform, Nitrobenzol, Nitromethan mit tiefblauer Farbe. Unlöslich in Äther, Benzol, Xylol, Ligroin, Tetrachlorkohlenstoff. Unlöslich in Wasser. In konz. Schwefelsäure intensiv rote Lösung. In Pyridin mit roter Farbe löslich unter Bildung des freien Azokörpers.



Freier Azokörper: Zu der intensiv blauen Lösung des salzartigen Zwischenproduktes wird bei gewöhnlicher Temperatur alkoholisches Kali zugegeben, bis Farbumschlag nach dunkelbraunorange eingetreten ist. Auf Wasserzusatz fällt der freie Azokörper aus. Er wird abfiltriert, mit Wasser ausgewaschen und in säurefreier Luft auf Ton getrocknet. Umkrystallisieren aus Benzol.

Braunrotes kristallines Pulver. Smp. 188—189°. Gut löslich in Benzol, Xylol, Chloroform, Aceton, Nitrobenzol, Nitromethan, Pyridin. Massig löslich in Äther, Tetrachlorkohlenstoff, Alkohol. Unlöslich in Wasser, Ligroin. In Lösungsmitteln mit geringer Dielektrizitätskonstante (z. B. Benzol) ist die Lösungsfarbe orangerot, in solchen mit

<sup>1)</sup> Auf die Aufzählung anderer Grenzzustände sei der Einfachheit halber verzichtet.

<sup>2)</sup> S. hierzu D.R.P. 682 344; A.P. 2 029 647; E.P. 435 449; F.P. 769 113.

hoher Dielektrizitätskonstante (z. B. Pyridin) rot. In Eisessig blaue Lösung infolge Farbsalzbildung.

$C_{32}H_{28}O_2N_4$  Ber. C 76,76 H 5,64 N 11,20%  
 Gef. „ 76,94 „ 5,62 „ 11,26%

$\alpha, \alpha$ -Tetramethyl-diaminodiphenyl- $\beta, \beta$ -dimethyl-äthylen.

Zunächst wird mit 7 g Magnesium, 150 cm<sup>3</sup> Äther und 45 g Isopropyljodid ( $\frac{1}{4}$  Mol) eine *Grignard*-Lösung hergestellt. Nachdem vorsichtig rund 100 cm<sup>3</sup> Äther abdestilliert worden sind, wird eine Suspension von 13,5 g *Michler*'schem Keton ( $\frac{1}{20}$  Mol) in 150 cm<sup>3</sup> trockenem Benzol zugegeben und das Ganze vier Stunden unter Rückfluss zum Sieden hitzt. Am anderen Morgen wird mit Eis und Ammoniumchlorid zersetzt, die benzolische Schicht abgetrennt und die wässrige Schicht noch zweimal mit Benzol ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen mit geglühtem Natriumsulfat werden die vereinigten benzolischen Auszüge zur Trockne verdampft und der Rückstand mehrere Male aus Alkohol, dem wenige Tropfen konz. Ammoniak zugesetzt sind, umkristallisiert. Ausbeute ca. 9 g. Blaugelbes kristallines Pulver. Smp. 100°.

$C_{20}H_{26}N_2$  Ber. C 81,33 H 8,84%  
 Gef. „ 81,35 „ 8,80%

Verhalten von  $\alpha, \alpha$ -Tetramethyl-diaminodiphenyl- $\beta, \beta$ -dimethyl-äthylen gegen Diazoniumsalze.

Mit 1-Anthrachinon-diazoniumchlorid:

a) in Alkohol: Beim Zutropfen der Diazoniumsalzlösung zur Äthylenlösung entstehen im ersten Augenblick blaue Schlieren, die aber sogleich einer intensiv roten Farbe Platz machen (Ablauf rot-violett). Kurze Zeit nach Zugabe äquivalenter Mengen scheiden sich schöne rote Kryställchen ab. Die Substanz löst sich in Eisessig rot, gehört also nicht zur Klasse der Äthylenazofarbstoffe. Rote Krystalle (aus Alkohol), Smp. 185—186°, gut löslich in Xylol, Benzol, Chloroform, Nitrobenzol, Nitromethan, Pyridin, Essigsäureanhydrid. Massig löslich in Tetrachlorkohlenstoff, Äther, Methanol, Äthylalkohol, Aceton, Eisessig (in der Hitze besser). Unlöslich in Wasser, Ligroin.

b) in Eisessig: Bei der Vereinigung beider Komponenten entsteht eine intensiv bläulich grüne Lösung. Wird nach einer Minute Äther zugesetzt, so wird die Lösung allmählich rot und gleichzeitig fällt ein dunkelblaues Pulver aus, aber nur in geringer Menge.

c) in massig verdünnter Essigsäure: Es entsteht eine tiefblaugrüne Lösung, die ziemlich beständig ist. Auf Zusatz von wässriger Natriumperchloratlösung fällt ein dunkelblaugrüner Niederschlag. Unter dem Mikroskop sind neben dem intensiv blaugrünen Produkt massige Mengen farblose Kryställchen zu erkennen (Diazoniumperchlorat neben blaugrünem Zwischenprodukt).

Der Niederschlag löst sich in der Kälte mit intensiv blaugrüner Farbe in Nitrobenzol, Eisessig, Essigsäureanhydrid. Beim Erwärmen schlägt die Farbe nach orange um (Umwandlung des Zwischenprodukts). In Alkohol und Pyridin erfolgt der Zerfall bereits in der Kälte (vgl. a).

Mit Nitrophenyl-diazoniumsalz:

Die Eisessiglösungen äquimolarer Mengen Äthylen und Nitrophenyl-antidiazotat werden vereinigt: Tiefschwarze Lösung (Zwischenprodukt).

Zu einer Probe der blauen Lösung wird nach einer Minute Äther zugegeben. Sofort Farbumschlag nach rot (Umwandlung des Zwischenprodukts).

Zu einer anderen Probe der blauen Lösung wird Wasser gegeben. Die Farbe schlägt über grün nach orange (Trübung) um. Es fällt ein orangefarbenes feines Pulver aus (Deutung wie beim vorigen Versuch). Mit Eisessig kehrt die blaue Farbe nicht wieder.

### Kuppelungsversuche mit Diaryl-äthylenen.

#### A. Diphenyl-äthylen.

I. Phenyl-diazoniumsalz. 1,8 g Diphenyl-äthylen in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig + Phenyl-diazoniumchlorid aus 1,3 g Anilinhydrochlorid in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Die Lösung wird rasch intensiv rotviolett. Auf Zusatz von Natriumacetat Farbumschlag nach rotorange.



Der Azokörper konnte nicht isoliert werden. Auf Wasserzusatz fiel stets ein öliges Produkt (Versuche mit und ohne Zusatz von Natriumacetat, Änderung der Dauer bis zu mehreren Wochen).

II. Nitrophenyl-diazoniumsalz. 1,8 g Diphenyl-äthylen in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig + 1,9 g Nitrophenyl-antidiazotat in 25 cm<sup>3</sup> Eisessig. Die Lösung wird allmählich dunkelgelb. Nach einer Woche haben sich 0,4 g einer gelben, teils amorphen, teils kristallinen Substanz abgeschieden.

Nach dem Umkrystallisieren aus Benzol hellgelbe Krystalle, Smp. 113°.

Leicht löslich in Benzol, Nitrobenzol, Aceton, Chloroform, massig löslich in Alkohol, Eisessig, Tetrachlorkohlenstoff. Unlöslich in Wasser, Äther, Ligroin.

Gef. C 79,63 H 5,20 N 4,94%

Der zu erwartende Azokörper (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>C=CH—N=N—C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>—NO<sub>2</sub> = C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub> verlangt aber C 72,95, H 4,56, N 12,77%. Die gefundenen Analysenwerte stimmen befriedigend auf die Summenformel C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>O<sub>2</sub>N: Ber. C 79,41, H 4,56, N 4,93%. Es hat also eine Abspaltung von 2 N, 1C und 2 H stattgefunden.

III. Dinitrophenyl-diazoniumsalz. 1,8 g Diphenyl-äthylen in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumsulfat aus 1,83 g Dinitranilin in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig<sup>1)</sup>: Lösung wird sofort tiefrotbraun. Natriumacetat bewirkt keine Farbänderung. Nach zwei Stunden Kupplungsprodukt mit Wasser ausgefällt. Der zunächst etwas ölige Farbstoff wird beim Trocknen fest. Umkrystallisieren aus Benzol. Hellgelbe Krystalle, Zersp. 207°.

Leicht löslich in Benzol, Chloroform, Aceton, Nitrobenzol, Nitromethan, Pyridin. Massig löslich in Xylol, Tetrachlorkohlenstoff, Alkohol, Eisessig, Essigsäure-anhydrid. Unlöslich in Ligroin, Äther, Wasser. Lösungsfarbe in den genannten Lösungsmitteln gelb in verschiedenen Tönen, in konz. Schwefelsäure orangegelb.

C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub> Ber. N 14,97 Gef. N 14,71%

#### B. Anisyl-phenyl-äthylen.

I. Phenyl-diazoniumsalz. 2,1 g Anisyl-phenyl-äthylen in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumchlorid aus 1,3 g Anilinhydrochlorid in 15 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung wird allmählich tiefblaustichig rot. Natriumacetatzusatz bewirkt Farbumschlag nach braunrot.

Der Azokörper konnte auch nach längerer Versuchsdauer nicht rein erhalten werden.

II. Nitrophenyl-diazoniumsalz. 2,1 g Anisyl-phenyl-äthylen in 15 cm<sup>3</sup> Eisessig + Lösung von 1,9 g Nitrophenyl-antidiazotat in 25 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung wird allmählich braunrot. Nach drei Tagen Azokörper mit Wasser ausgefällt.

Der Azokörper wurde nur bei einem Versuch in winziger Menge kristallin erhalten, sonst fiel er immer ölig aus. Reinigung gelang nicht.

Lösungsfarbe der kristallinen Substanz gelb (Benzol) bis orange (Pyridin), in konz. Schwefelsäure tiefrot mit blauvioletttem Ablauf.

III. Dinitrophenyl-diazoniumsalz. 2,1 g Anisyl-phenyl-äthylen in 15 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumsulfat aus 1,83 g Dinitranilin in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung sofort tiefrot. Im Laufe von zwei Tagen krystallisieren 1,6 g (40%) freier Azokörper aus. Umkrystallisieren aus Benzol. Rote Krystalle, Smp. 201—202°.

Leicht löslich in Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform, Aceton, Nitrobenzol, Nitromethan, Pyridin. Massig löslich in Benzol, Xylol, Eisessig, Essigsäure-anhydrid. Unlöslich in Ligroin, Äther, Alkohol, Wasser.

Lösungsfarbe orange (Benzol) bis orangerot (Pyridin), in konz. Schwefelsäure gelb.

C<sub>21</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>N<sub>5</sub> Ber. C 62,38 H 3,96 N 13,86%  
Gef. „ 62,23 „ 4,01 „ 13,51%

#### C. Dianisyl-äthylen.

I. Phenyl-diazoniumsalz. 2,4 g Dianisyl-äthylen in 250 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumchlorid aus 1,3 g Anilinhydrochlorid in 25 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung allmählich tiefrot.

<sup>1)</sup> K. H. Meyer, B. 52, 1472 (1919).

Selbst nach zweiwöchiger Versuchsdauer konnte der Azokörper nicht in reiner Form erhalten werden.

II. Nitrophenyl-diazoniumsalz. 2,4 g Dianisyl-äthylen in 250 cm<sup>3</sup> Eisessig + 1,9 g Nitrophenyl-antidiazotat in 25 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung nach kurzer Zeit orangerot, dunkelrote Krystallnadeln beginnen sich abzuscheiden. Am anderen Morgen abfiltriert, mit Eisessig nachgewaschen und auf Ton getrocknet: 1,6 g (40%). Aus der ursprünglichen Lösung fallen auf Wasserzusatz noch 1,3 g weniger reiner Azokörper. Umkrystallisieren aus Benzol oder Eisessig.

Dunkelrote Nadelchen, Smp. 174°.

Leicht löslich in Chloroform, Benzol, Nitrobenzol, Nitromethan, Essigsäure-anhydrid, Pyridin. Mässig löslich in Äther, Tetrachlorkohlenstoff, Aceton, Eisessig. Wenig löslich bis unlöslich in Ligroin, Methanol, Alkohol, Wasser.

Lösungsfarbe gelb (Äther) bis orangerot (Pyridin), in konz. Schwefelsäure tief violett.

C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>O<sub>4</sub>N<sub>3</sub> Ber. C 67,83 H 4,92 N 10,80%  
Gef. „ 67,87 „ 4,89 „ 10,93%

Abbau zu Dianisyl-eton: 1,1 g Azokörper wurden mit 1,2 g fein pulverisiertem Kaliumdichromat in 50 cm<sup>3</sup> Eisessig aufgeschlämmt, und das Ganze solange unter Rückfluss zum Sieden erhitzt, bis die Lösung die reine Chrom(III)-salzfarbe zeigte. Nach dem Erkalten wurde in etwa ½ Liter Wasser gegossen, das Keton fiel aus. Nach dem Trocknen 0,7 g (nahezu quantitative Ausbeute). Das aus Alkohol einmal umkrystallisierte Präparat hatte einen Schmelzpunkt von 143°. Eine Mischprobe mit reinem Dianisyl-eton zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung.

III. Dinitrophenyl-diazoniumsalz. 2,4 g Dianisyl-äthylen in 250 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumsulfat aus 1,83 g Dinitranilin in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung sofort tiefblauviolett. Am anderen Tag Zusatz von festem Natriumacetat, bis Farbumschlag nach tieforange erfolgt ist. Allmählich Ausscheidung des Azokörpers, aber als plastische Masse, die von wenigen Krystallen durchsetzt ist. In grösserer Menge Krystalle zu erhalten, gelang nicht. Die Krystalle lösen sich orangerot in Benzol, rot in Pyridin, tiefblauviolett in konz. Schwefelsäure.

#### D. Dimethylaminodiphenyl-äthylen.

I. Phenyl-diazoniumsalz. 2,2 g Dimethylaminodiphenyl-äthylen in 12 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumchlorid aus 1,3 g Anilinhydrochlorid und 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung sofort tief blaugrün. Nach zwei Stunden Zugabe von 1,3 g Natriumperchlorat in Eisessiglösung. Das Perchlorat des Farbsalzes krystallisiert aus. Umkrystallisieren durch Auflösen in Chloroform und vorsichtige Zugabe von Äther. Dunkles krystallines Pulver mit goldig grünem Oberflächenglanz.

Löslich in Eisessig, Essigsäure-anhydrid, Chloroform, Nitrobenzol, Nitromethan mit grünstichig blauer Farbe. Unlöslich in Ligroin, Äther, Tetrachlorkohlenstoff, Benzol. In Alkohol tritt weitgehende Abspaltung von Überchlorsäure ein.

Der freie Azofarbstoff kann isoliert werden durch Zugabe von Natronlauge zur alkoholischen Lösung des Perchlorats, bis die Lösung rein orangegelb geworden ist, und Ausfällen mit Wasser. Er löst sich gelb bis orangegelb in Lösungsmitteln mit geringer Dielektrizitätskonstante, in Pyridin orange. Mit Säuren Rückbildung des grünblauen Farbsalzes.

C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>·HClO<sub>4</sub> Ber. C 61,75 H 5,15%  
Gef. „ 61,43 „ 5,19%

II. Nitrophenyl-diazoniumsalz. 2,2 g Dimethylaminodiphenyl-äthylen in 12 cm<sup>3</sup> Eisessig + 1,9 g Nitrophenyl-antidiazotat in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung sofort tiefblau. Nach zwei Stunden kann der freie Azofarbstoff mit Wasser niedergeschlagen werden. Umkrystallisieren aus Benzol.

Schwarzgrüne Krystalle, Smp. 166°.

Löslich in Benzol, Xylol, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform, Methanol, Alkohol, Nitrobenzol, Nitromethan, Pyridin. Wenig löslich in Ligroin, Äther, unlöslich in Wasser.

Lösungsfarbe orange bis karminrot (Ligroin orange, Benzol orange, Alkohol rot, Pyridin karminrot).

In Eisessig intensiv blaviolett löslich unter Farbsalzbildung.

$C_{22}H_{20}O_2N_4$  Ber. C 70,97 H 5,38 N 15,05%  
Gef. „ 70,72 „ 5,40 „ 15,00%

III. Dinitrophenyl-diazoniumsalz. 2,2 g Dimethylaminodiphenyl-äthylen in 12 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumsulfat aus 1,83 g Dinitranilin in 12 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung sofort dunkelrot. Nach wenigen Minuten Ausscheidung des Farbsalzes als voluminöser kristalliner Niederschlag.

Zur Isolierung des freien Azokörpers Farbsalz in Pyridin aufnehmen und Wasser zugeben. Umkrystallisieren aus Benzol. Fast schwarze Krystalle mit goldig grünem Oberflächenglanz. Zersp. 201°.

Löslich in Benzol, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform, Aceton, Nitrobenzol, Nitromethan, Pyridin. Mässig löslich in Äther, Alkohol. Kaum löslich in Ligroin, unlöslich in Wasser.

Lösungsfarben: rot bis tiefblau (rot in Tetrachlorkohlenstoff, violettrot in Benzol, violett in Nitromethan, blau in Pyridin).

In Eisessig tiefrote Lösung (Salzbildung).

$C_{22}H_{18}O_4N_5$  Ber. C 63,31 H 4,56 N 16,79%  
Gef. „ 63,43 „ 4,32 „ 16,37%

#### E. Tetramethyl-diaminodiphenyl-äthylen.

I. Phenyl-diazoniumsalz. 2,7 g Tetramethyl-diaminodiphenyl-äthylen in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumchlorid aus 1,3 g Anilinhydrochlorid in 15 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung sofort tiefblau. Nach zwei Stunden 1,5 g Überchlorsäure (70%) in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst zugeben und darauf langsam 40 cm<sup>3</sup> Wasser. Perchlorat fällt aus. Umkrystallisieren aus Methanol.

Fast schwarze Krystalle mit goldig grünem Oberflächenglanz. Zersetzung ab 160°.

Löslich in Chloroform, Alkohol, Aceton, Nitrobenzol, Nitromethan, Eisessig, Essigsäure-anhydrid mit tiefviolettblauer Farbe. Unlöslich in Ligroin, Äther, Tetrachlorkohlenstoff, Benzol, Xylol, Wasser.

$C_{24}H_{28}N_4 \cdot HClO_4$  Ber. N 11,91 Gef. N 11,74%

Zur Isolierung des freien Azofarbstoffes Perchlorat in Alkohol lösen, Natronlauge zusetzen bis Lösung rein orange, dann mit Wasser ausfällen.

Der Azokörper ist ausserordentlich säureempfindlich und wird in der Laboratoriumsluft bald dunkel unter Salzbildung. Daher ist auch das Umkrystallisieren nicht ganz einfach. Am besten löst man in Benzol und fällt mit Ligroin wieder aus. Mikrokrystallines rotes Pulver, Smp. 155° (unscharf).

Löslich in Benzol, Chloroform, Nitrobenzol, Pyridin. Mässig löslich in Ligroin, Äther, Tetrachlorkohlenstoff, Alkohol.

Lösungsfarben gelb bis orange (gelb in Äther, Ligroin, orange in Pyridin).

Lösung in Eisessig intensiv blau.

II. Nitrophenyl-diazoniumsalz. 2,7 g Tetramethyl-diaminodiphenyl-äthylen in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig + 1,9 g Nitrophenyl-antidiazotat in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung sofort undurchsichtig dunkelblau. Nach zwei Stunden mit 400 cm<sup>3</sup> Wasser verdünnen und Essigsäure mit stark verdünnter Natronlauge langsam neutralisieren. Ausgefallenen Farbstoff abfiltrieren, mit Wasser auswaschen und auf Ton trocknen. Umkrystallisieren aus Xylol.

Violettschwarze Kryställchen mit Bronzeglanz, Smp. 206° unter Zersetzung.

Löslich in Benzol, Xylol, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform, Aceton, Alkohol, Nitrobenzol, Nitromethan, Pyridin. Etwas löslich in Ligroin, Äther, unlöslich in Wasser.

Lösungsfarbe orangerot (Ligroin) bis rotviolett (Pyridin), in Benzol rot. Die rotviolette Pyridinlösung wird auf Wasserzusatz tiefblau. In Eisessig unter Salzbildung mit intensiv violettblauer Farbe löslich.

$C_{24}H_{25}O_2N_5$  Ber. C 69,40 H 6,02%  
Gef. „ 69,35 „ 6,03%

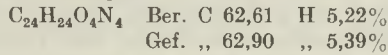


III. Dinitrophenyl-diazoniumsalz. 2,7 g Tetramethyl-diaminodiphenyl-äthylen in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumsulfat aus 1,83 g Dinitranilin in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung sofort tiefviolett. Nach zwei Stunden 2 g Natriumacetat und 400 cm<sup>3</sup> Wasser zugeben. Ausgefallenen Azokörper auswaschen, auf Ton trocknen. Umkrystallisieren aus Xylol. Violett-schwarzes krystallines Pulver mit goldig grünem Oberflächenglanz, Smp. 205—206°.

Löslich in Benzol, Chloroform, Nitrobenzol, Nitromethan, Pyridin. Etwas löslich in Ligroin, Tetrachlorkohlenstoff, Alkohol. Unlöslich in Wasser.

Lösungsfarbe rot bis blau: rot in Ligroin, rotviolett in Benzol, violett in Chloroform, blau in Pyridin.

In Eisessig unter Salzbildung intensiv rotviolett löslich.



#### F. 9-Methyl-thioxanthylum-perchlorat.

I. Phenyl-diazoniumsalz. 3,1 g Thioxanthylum-salz und 1 g Natriumacetat in 200 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumsalz aus 1,3 g Anilinhydrochlorid in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung allmählich braunorange. Nach zwei Tagen mehrere cm<sup>3</sup> 70-proz. Überchlorsäure zusetzen; Lösung sehr intensiv grün. Bei vorsichtigem Wasserzusatz fällt das Perchlorat aus. Umkrystallisieren durch Auflösen in wasserfreiem Methanol (weitgehender Zerfall in freiem Azokörper und HClO<sub>4</sub>). Zugabe von HClO<sub>4</sub>, bis Lösung rein tiefgrün und vorsichtiges Ausfällen mit Äther.

Violette bronzeglänzende Krystalle. Zersetzung ab 90°.

Die meisten Lösungsmittel bewirken einen mehr oder weniger vollständigen Zerfall in den freien Azokörper. Lösungen des Perchlorats sind also nur bei Gegenwart überschüssiger Überchlorsäure erhältlich (z. B. in Eisessig, Methanol, Alkohol). Lösung in konz. Schwefelsäure intensivrot.



Das Perchlorat lässt sich durch Behandeln mit Alkohol und wenig Natronlauge und darauf folgendes Ausfällen mit Wasser leicht in den freien Azokörper überführen (nicht krystallisiert erhalten).

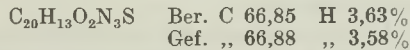
Lösungsfarben: gelb (Äther) bis orange (Pyridin).

II. Nitrophenyl-diazoniumsalz. 3,1 g Methyl-thioxanthylum-salz und 1 g Natriumacetat in 200 cm<sup>3</sup> Eisessig + 1 g Nitrophenyl-antidiazotat in 25 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung sofort dunkelbraun. Nach einer halben Stunde beginnt der freie Farbstoff sich auszuscheiden. Die Fällung wird durch Wasserzusatz vervollständigt. Umkrystallisieren aus Benzol. Braune Krystalle, Smp. 180°.

Leicht löslich in Benzol, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform, Aceton, Nitrobenzol, Nitromethan, Pyridin. Mässig löslich in Äther, Xylol, Eisessig, Essigsäure-anhydrid. Schlecht löslich in Ligroin, Methanol, Alkohol, Unlöslich in Wasser.

Lösungsfarben: Orange (Äther) bis orangerot (Pyridin).

Die Lösung in Eisessig wird auf Zusatz von Überchlorsäure tiefblau (Perchloratbildung). Konz. Schwefelsäure löst intensiv rot.



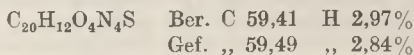
III. Dinitrophenyl-diazoniumsalz. 3,1 g Methyl-thioxanthylum-salz und 1 g Natriumacetat in 200 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumsulfat aus 1,83 g Dinitranilin in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung zuerst tief blauviolett, dann rotviolett. Nach zwei Stunden wird das Kupplungsprodukt mit Natriumacetatlösung niedergeschlagen (freier Azokörper). Nach Auswaschen und Trocknen umkrystallisieren aus Benzol.

Bronzeglänzende schwarze Krystalle. Zersp. 185°.

Leicht löslich in Benzol, Xylol, Chloroform, Aceton, Nitrobenzol, Nitromethan, Eisessig, Essigsäure-anhydrid, Pyridin. Mässig löslich in Äther, Tetrachlorkohlenstoff. Sehr schwer löslich in Ligroin, Methanol, Alkohol. Unlöslich in Wasser.

Lösungsfarben orange bis karminrot (in Äther orange, in Benzol rot, in Nitrobenzol karminrot).

Die orangefarbene Eisessiglösung wird bei Zusatz von Überchlorsäure tiefblauviolett (Perchlorat).



### G. 9-Methyl-xanthylium-perchlorat.

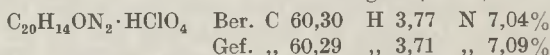
I. Phenyl-diazoniumsalz. 1,47 g Methyl-xanthyliumsalz ( $\frac{1}{200}$  Mol) und 1 g Natriumacetat in 140 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumchlorid aus 1,3 g Anilinhydrochlorid in 10 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung wird bald orangefarben. Am nächsten Tag Überchlorsäure (70-proz.) zugeben, bis Lösung intensiv rein grünstichig blau. Nach kurzer Zeit beginnt sich das Perchlorat des Farbstoffes krystallin abzuscheiden; beim vorsichtigen Verdünnen mit Wasser fällt nochmals etwa die gleiche Menge aus (zusammen 1,4 g). Umkrystallisieren aus Methanol unter Zusatz von etwas Überchlorsäure.

Grünläuzendes dunkles krystallines Pulver. Zersp. 215°.

Gut löslich in Chloroform, Nitrobenzol, Nitromethan. Massig löslich in Eisessig, Essigsäure-anhydrid. Unlöslich in Ligroin, Äther, Benzol, Xylol, Tetrachlorkohlenstoff, Wasser.

Die Lösungen des Perchlorats sind grünstichig blau. Stärker konzentrierte Lösungen erscheinen rotviolett mit blauem Ablauf.

Mit Pyridin tritt vollständige, mit Methanol oder Alkohol teilweise Abspaltung der Überchlorsäure ein. Der freie Azofarbstoff löst sich gelb (Äther) bis orange (Pyridin).



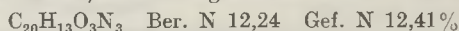
II. Nitrophenyl-diazoniumsalz. 1,47 g Methyl-xanthyliumsalz und 2 g Natriumacetat in 140 cm<sup>3</sup> Eisessig + 0,95 g Nitrophenyl-antidiazotat in 25 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung sofort tiefbraunrot. Nach zwei Stunden Wasser zugeben. Azokörper fällt als brauner Niederschlag. Auswaschen, Trocknen, Umkrystallisieren aus Benzol.

Violettstichig braune Nadeln. Smp. 209°.

Leicht löslich in Aceton, Nitromethan, Nitrobenzol, Pyridin. Massig löslich in Tetrachlorkohlenstoff, Benzol, Xylol, Eisessig, Essigsäure-anhydrid. Sehr wenig löslich in Ligroin, Äther, Methanol, Alkohol. Unlöslich in Wasser.

Lösungsfarbe: orange (Benzol) bis rot (Pyridin).

Die orangefarbene Lösung in Eisessig wird auf Zusatz von Überchlorsäure intensiv violett (Farbe des Perchlorats). Die Lösung in konz. Schwefelsäure ist intensiv karminrot.



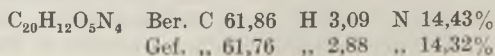
III. Dinitrophenyl-diazoniumsalz. 2,95 g Methyl-xanthyliumsalz ( $\frac{1}{100}$  Mol) und 3 g Natriumacetat in 75 cm<sup>3</sup> Eisessig + Diazoniumsulfat aus 1,83 g Dinitranilin in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung sofort tief rot, nach kurzer Zeit scheidet sich der Azofarbstoff vermengt mit anorganischen Salzen als grüner Niederschlag ab. Abfiltrieren, mit viel Wasser auswaschen, trocknen, umkrystallisieren aus Benzol.

Dunkelgrüne Nadeln. Zersp. 210°.

Leicht löslich in Chloroform, Benzol, Nitromethan, Nitrobenzol, Pyridin. Massig löslich in Tetrachlorkohlenstoff, Xylol, Aceton, Eisessig, Essigsäure-anhydrid. Sehr wenig löslich in Ligroin, Äther, Methanol, Alkohol, unlöslich in Wasser.

Lösungsfarben orangefarben (Tetrachlorkohlenstoff) bis karminrot (Pyridin), in Benzol rot.

Die orangefarbene Eisessiglösung wird auf Zusatz von Überchlorsäure intensiv karminrot (Farbe des Perchlorats). Die Lösung in konz. Schwefelsäure ist intensiv orangefarben mit karminrotem Ablauf.



H. 10-Methyl-9-methyl-acridinium-methylsulfat.

I. Phenyl-diazoniumsalz. 3,2 g Acridiniumsalz in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig und 30 cm<sup>3</sup> Wasser + Diazoniumchlorid aus 1,3 g Anilinhydrochlorid in 12 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung wird rasch dunkelrot (in dünnen Schichten blaugrün). Nach zwei Stunden Zusatz von Überchlorsäure: Die Lösung wird grünstichig blau, und das Farbstoffperchlorat beginnt sich auszuscheiden. Bei Zugabe von Wasser fallen weitere Mengen. Umkrystallisieren aus Methanol.

Metallglänzende schwarze Krystalle. Zersp. ca. 240°.

Leicht löslich in Methanol, Alkohol, Nitrobenzol, Pyridin, Essigsäure-anhydrid. Mässig löslich in Chloroform, Eisessig und Wasser. Unlöslich in Ligroin, Äther, Benzol, Xylol, Tetrachlorkohlenstoff.

Die Lösungen sind in dünner Schicht violettstichig bis grünstichig blau, in dicker Schicht oder höherer Konzentration violett bis rot. Die Lösung in konz. Schwefelsäure ist intensiv orangegelb.

Der freie Azofarbstoff (erhalten durch Abspaltung von Überchlorsäure mit Pyridin oder alkoholischem Kali) löst sich orangerot (Benzol) bis rot (Pyridin).

$C_{21}H_{17}N_3 \cdot HClO_4$  Ber. C 61,31 H 4,38%  
Gef. „ 60,99 „ 4,45%

II. Nitrophenyl-diazoniumsalz. 3,2 g Acridiniumsalz in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig und 30 cm<sup>3</sup> Wasser + 1,9 g Nitrophenyl-antidiazotat in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung wird bald intensiv rot. Innerhalb einer halben Stunde scheidet sich der freie Azokörper als voluminöser dunkelroter Niederschlag ab.

Leicht löslich in Benzol, Chloroform, Aceton, Nitrobenzol, Pyridin. Mässig löslich in Xylol, Tetrachlorkohlenstoff, Methanol, Alkohol. Wenig löslich in Ligroin, Äther. Unlöslich in Wasser.

Lösungsfarbe rot bis blau. (Rot in Äther, violett in Benzol, blau in Pyridin.) In Eisessig unter Farbsalzbildung intensiv karminrot löslich. In konz. Schwefelsäure intensiv orange löslich.

Da der freie Azofarbstoff sich nur sehr schwer umkrystallisierten lässt, wurde das Perchlorat zur Analyse gebracht.

Darstellung des Perchlorats durch Auflösen des freien Azokörpers in Eisessig und Zutropfen von Überchlorsäure. Beim Abkühlen krystallisiert das Perchlorat aus.

Schwarzgrünes krystallines Pulver. Zersp. über 250°.

$C_{21}H_{16}O_2N_4 \cdot HClO_4$  Ber. N 12,28 Gef. N 11,97%

III. Dinitrophenyl-diazoniumsalz. 3,2 g Acridiniumsalz in 10 cm<sup>3</sup> Eisessig und 30 cm<sup>3</sup> Wasser + Diazoniumsulfat aus 1,83 g Dinitranilin in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig: Lösung rasch intensiv orangerot. Nach zwei Stunden 5 g Natriumacetat zusetzen und langsam mit Wasser verdünnen. Der freie Azokörper fällt aus. Auswaschen mit Wasser, trocknen, umkrystallisieren aus Benzol.

Violettschwarze Krystalle, Smp. 163°.

Leicht löslich in Benzol, Chloroform, Aceton, Nitrobenzol, Pyridin. Mässig löslich in Äther, Xylol, Tetrachlorkohlenstoff. Wenig löslich in Ligroin, Methanol, Alkohol. Unlöslich in Wasser.

Lösungsfarbe karminrot bis blaugrün (karminrot in Äther, violett in Benzol, blau in Chloroform, blaugrün in Pyridin). In Eisessig unter Farbsalzbildung reinrot löslich. Lösung in konz. Schwefelsäure intensiv orange.

$C_{21}H_{15}O_4N_5$  Ber. N 17,46 Gef. N 17,22%

Zürich, Chemisches Institut der Universität.



### 134. Zur Kenntnis der Erythrophleum-Alkaloide.

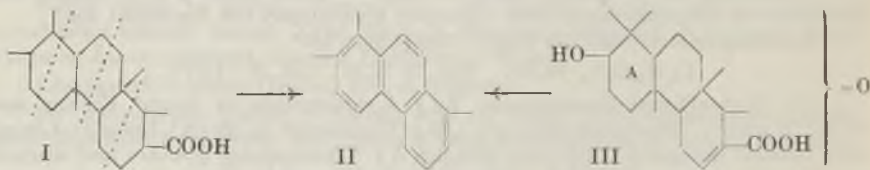
(8. Mitteilung<sup>1)</sup>).

#### Versuche zur Bestimmung der Lage der Carboxyl-Gruppe in der Cassansäure

von L. Ruzicka, B. G. Engel, A. Roneo und K. Berse.

(30. VI. 45.)

Die Cassansäure, die gesättigte Stammsäure der Erythrophleum-Alkaloide Cassain, Cassaindin und Coumingin, liefert bei der Dehydrierung mit Selen unter Verlust der Carboxyl-Gruppe 1,7,8-Trimethyl-phenanthren (II)<sup>2)</sup>. Um Anhaltspunkte über die Stellung der sauren Gruppe am Phenanthren-Gerüst der genannten Diterpen-Derivate zu erhalten, haben wir jetzt das Carboxyl der Cassansäure in eine Isopropyl-Gruppe übergeführt und das Reaktionsprodukt erneut der Dehydrierung unterworfen. Es wurde dabei ein bis jetzt unbekanntes homologes Phenanthren C<sub>20</sub>H<sub>22</sub> gebildet. Auf Grund der Entstehungsweise dieser Verbindung ist anzunehmen, dass ein 1,7,8-Trimethyl-x-isopropyl-phenanthren vorliegt. Da ein weiterer Abbau dieses Phenanthren-Derivates wegen der zur Zeit bestehenden Schwierigkeiten der Materialbeschaffung nicht in Frage kam, wurde versucht, auf synthetischem Wege Anhaltspunkte über die Konstitution des Dehydrierungsproduktes zu gewinnen.



Für Cassainsäure ist früher<sup>3)</sup> die Formel III diskutiert worden, welche dem für Iso-agathendisäure<sup>4)</sup> angenommenen Kohlenstoff-Gerüst entspricht. Die Bildung des 1,7,8-Trimethyl-phenanthrens bei der Dehydrierung wurde durch Wanderung der einen der geminalen Methyl-Gruppen am Ring A an das benachbarte C-Atom erklärt. Später wurde das 1,7,8-Trimethyl-phenanthren auch als Dehydrierungsprodukt der Cassansäure erhalten, was gegen die Formel III der Cassainsäure spricht<sup>5)</sup>. Unter geringer Abänderung des in der Diterpen-Reihe regelmässig beobachteten C-Gerüsts (gemäss For-

<sup>1)</sup> 7. Mitt. Helv. **27**, 1553 (1944).

<sup>2)</sup> L. Ruzicka, G. Dalma und W. E. Scott, Helv. **24**, 179E (1941).

<sup>3)</sup> Vgl. dazu L. Ruzicka und G. Dalma, Helv. **23**, 757 (1940).

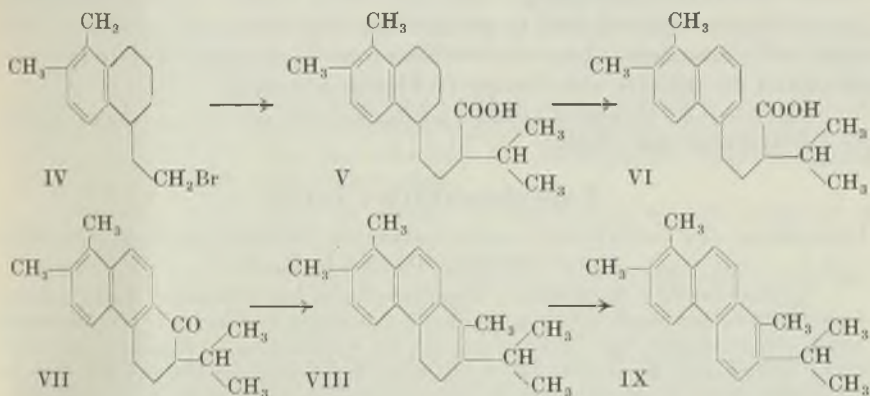
<sup>4)</sup> L. Ruzicka und J. R. Hosking, Helv. **14**, 208 (1931).

<sup>5)</sup> Vgl. dazu L. Ruzicka, G. Dalma und W. E. Scott, Helv. **24**, 179E (1941).

mel III) hätte für die Cassansäure die — gleichfalls der Isoprenregel entsprechende — Formel I<sup>1)</sup> in Betracht gezogen werden können. Für das neue Dehydrierungsprodukt liesse sich darnach die hypothetische Konstitution eines 1,7,8-Trimethyl-2-isopropyl-phenanthrens (IX) ableiten. Dieses wurde deshalb zum Vergleich synthetisch hergestellt. Es erwies sich aber als deutlich verschieden von dem ausgehend von Cassansäure erhaltenen Dehydrierungskohlenwasserstoff. Die Formel I für Cassansäure fällt also dahin, und auch die Formel III für Cassainsäure, die bereits auf Grund der früheren Versuche unwahrscheinlich geworden war, erfährt eine neue Widerlegung.

Zur Durchführung der kurz erwähnten Umsetzungen ist im einzelnen noch folgendes zu bemerken. Die Behandlung der Cassansäuremethylesters mit Methylmagnesiumbromid führte in praktisch quantitativer Ausbeute zu einem krystallisierten Dimethyl-carbinol  $C_{22}H_{40}O$ , das die erwarteten Eigenschaften besass. Aus diesem wurde durch Behandlung mit Ameisensäure Wasser abgespalten. Der entstandene Kohlenwasserstoff  $C_{22}H_{38}$ , wohl ein Gemisch von Isomeren, liess sich nicht in krystallisierter Form fassen. Seine Dehydrierung wurde mit Selen im Einschlussrohr durchgeführt und lieferte einen krystallisierten Phenanthren-Kohlenwasserstoff (Smp. 131—132°) der Formel  $C_{20}H_{22}$ , dessen Trinitrobenzolat einen Schmelzpunkt von 128° zeigte.

Das 1,7,8-Trimethyl-2-isopropyl-phenanthren wurde nach der Formelreihe IV—IX synthetisiert.



Das bereits bekannte<sup>2)</sup> Bromid (IV) wurde mit Natrium-isopropylmalonester in Diäthylcarbonat, nach der Vorschrift von Wallingford und Mitarbeitern<sup>3)</sup>, kondensiert, der erhaltene Malonester verseift und anschliessend decarboxyliert. Die gesuchte Säure (V) entstand dabei

<sup>1)</sup> Mehrere andere Formeln, die für die Cassansäure noch in Betracht fallen, sollen hier nicht diskutiert werden, solange kein experimentelles Material zu ihrer Stützung oder Widerlegung beigebracht worden ist.

<sup>2)</sup> L. Ruzicka und K. Hofmann, *Helv.* **22**, 133 (1939).

<sup>3)</sup> V. H. Wallingford, M. A. Thorpe und A. H. Homeyer, *Am. Soc.* **64**, 580 (1942).

in etwa 55-proz. Ausbeute als farbloses, dickflüssiges Öl. Durch Dehydrierung mit Palladiumkohle gelangten wir zur krystallisierten  $\gamma$ -[5,6-Dimethyl-naphtyl-(1)]- $\alpha$ -isopropyl-buttersäure (VI).

In einem Vorversuch wurde bei der Kondensation des Bromids (IV) nach Wallingford und Mitarbeitern ein Isopropyl-malonester verwendet, der offenbar noch Malonester enthielt. Die Reaktion nahm dabei einen anderen Verlauf, indem zwei Molekeln Bromid mit einer Molekel Natrium-malonester reagierten. Die durch Verseifung, Decarboxylierung und Dehydrierung erhaltene Säure gab dann Analysenwerte, die für die Bruttoformel  $C_{20}H_{32}O_2$  stimmen. Das Präparat bildete mit Diazomethan einen krystallisierten Methyl-ester. Es dürfte die Di- $[\beta$ -(5,6-dimethyl-naphtyl-(1))-äthyl]-essigsäure vorliegen.

Für den Ringschluss der Säure (V) zum 1-Oxo-2-isopropyl-7,8-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren (VII) bewährte sich das Arbeiten mit Zinkchlorid in Eisessig und Essigsäure-anhydrid nach L. F. Fieser und Mitarb.<sup>1)</sup> bestens.

Das durch Umsetzung des Ketons (VII) mit Methylmagnesiumbromid hergestellte tertiäre Carbinol dehydratisierte sich bei der Aufarbeitung spontan zum 1,7,8-Trimethyl-2-isopropyl-3,4-dihydro-phenanthren (VIII). Dieses wurde durch Dehydrierung sowohl mit Palladiumkohle als auch mit Chloranil<sup>2)</sup> in das 1,7,8-Trimethyl-2-isopropyl-phenanthren (IX) übergeführt. Der letztere Kohlenwasserstoff schmolz bei 129—130°. Seine Lösungen zeigten eine schwache blau-violette Fluoreszenz. Bei der Mischprobe mit dem aus Cassansäure erhaltenen Phenanthren (Smp. 131—132°) zeigte er eine Schmelzpunktserniedrigung von ca. 20°. Sein Trinitro-benzolat krystallisierte aus Alkohol in goldgelben Blättchen, die zwischen 188° und 189° schmolzen, also etwa 60° höher als das entsprechende Derivat des aus Cassansäure erhaltenen Kohlenwasserstoffs.

Der Rockefeller Foundation in New York und der Ciba A. G. in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil<sup>3)</sup>.

Umsetzung des Cassansäure-methylesters mit Methyl-magnesiumbromid zum Dimethyl-carbinol  $C_{22}H_{40}O$ .

Zu einer aus 0,7 g Magnesium in 20 cm<sup>3</sup> absolutem Äther bereiteten Methyl-magnesiumbromid-Lösung wurden 360 mg Cassansäure-methylester, gelöst in 20 cm<sup>3</sup> absolutem Xylol, zugegeben, der Äther abdestilliert und die Xylol-Lösung 10 Stunden unter ständigem Rühren gekocht. Anderntags wurde nach Zersetzung mit Eis und Salzsäure in Äther aufgenommen und die ätherische Lösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in 10 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und zur Verseifung des eventuell vorhandenen Ausgangsmaterials nach Zugabe von 5 cm<sup>3</sup> 10-proz. Kaliumhydroxyd-Lösung 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung wurden 370 mg eines schwach gelben Neutralproduktes erhalten, das beim Stehen allmählich krystallisierte. Unverändertes Ausgangsmaterial konnte nicht gefunden werden; der Natronlaugeauszug blieb beim Ansäuern völlig klar.

<sup>1)</sup> Am. Soc. **59**, 1028 (1937); **63**, 782 (1941).

<sup>2)</sup> R. T. Arnold und C. J. Collins, Am. Soc. **61**, 1407 (1939); R. T. Arnold, C. J. Collins und W. Zenk, Am. Soc. **62**, 983 (1940).

<sup>3)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.



Das Neutralprodukt wurde zur Reinigung an 15 g Aluminiumoxyd (Aktivität II—III) chromatographiert. Mit Petroläther-Benzol 1:1 liessen sich 350 mg farblose Krystalle eluieren, die nach zweimaligem Sublimieren im Hochvakuum bei 90—95° den Smp. 132—133° zeigten. Sie gaben keine Färbung mit Tetranitromethan. Nach der Analyse liegt das erwartete Dimethyl-carbinol vor.

3,778 mg Subst. gaben 11,407 mg CO<sub>2</sub> und 4,249 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>22</sub>H<sub>40</sub>O Ber. C 82,43 H 12,58%

Gef. „ 82,40 „ 12,59%

$[\alpha]_D^{18} = +5^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1 in 95-proz. Alkohol)

Wasserabspaltung aus dem Carbinol C<sub>22</sub>H<sub>40</sub>O.

350 mg Carbinol wurden mit 2 cm<sup>3</sup> 100-proz. Ameisensäure 4 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten wurde das Reaktionsgemisch in Äther aufgenommen, mit verdünnter Natronlauge ausgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es hinterblieben 330 mg eines braunen, zähen Öls. Dieses wurde destilliert, wobei bei 65—75° (0,02 mm) ein dickes, fast farbloses Öl überging, das mit Tetranitromethan eine starke Gelbfärbung gab. Das Produkt wurde zur Analyse ein zweites Mal destilliert, wobei es gänzlich farblos überging. Der ungesättigte Kohlenwasserstoff krystallisierte auch bei längerem Stehen bei —10° nicht.

3,719 mg Subst. gaben 11,882 mg CO<sub>2</sub> und 4,187 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>22</sub>H<sub>38</sub> Ber. C 87,34 H 12,66%

Gef. „ 87,19 „ 12,60%

$[\alpha]_D^{19} = -13,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,684 in Hexan)

Dehydrierung des Kohlenwasserstoffs C<sub>22</sub>H<sub>38</sub> zu einem 1,7,8-Trimethyl-x-isopropyl-phenanthren.

310 mg Kohlenwasserstoff wurden mit 550 mg Selen im Einschlussrohr 16 Stunden auf 350° erhitzt. Nach dem Öffnen des Rohres wurde der Inhalt mit Äther extrahiert und der aus der Äther-Lösung erhaltene braune, krystalline Rückstand im Kugelrohr destilliert. Bei 110—120° (0,01 mm) gingen 200 mg eines gelben Öls über, das beim Erkalten krystallisierte. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Methanol erhielt man grosse farblose Platten vom Smp. 131—132°. Die Lösungen des Kohlenwasserstoffes zeigen eine starke, blauviolette Fluoreszenz.

Das Phenanthren wurde zur Analyse im Hochvakuum bei 120° sublimiert; der Schmelzpunkt blieb dabei unverändert.

3,822; 3,762 mg Subst. gaben 12,803; 12,620 mg CO<sub>2</sub> und 2,914; 2,898 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>22</sub> Ber. C 91,55 H 8,45%

Gef. „ 91,41; 91,55 „ 8,52; 8,62%

Der Kohlenwasserstoff gab in der Mischprobe mit synthetischem 1,7,8-Trimethyl-2-isopropyl-phenanthren (Herstellung vgl. weiter unten) eine Schmelzpunktserniedrigung von ca. 20°.

Trinitro-benzolat. 7 mg des Kohlenwasserstoffes wurden mit 5,1 mg Trinitrobenzol und 2 cm<sup>3</sup> Alkohol versetzt und erwärmt. Die beim Erkalten auskrystallisierten gelben Krystalle wurden noch einmal aus Chloroform-Alkohol umkrystallisiert. Sie schmolzen bei 128°.

Das Trinitro-benzolat wurde zur Analyse 48 Stunden im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet.

3,760 mg Subst. gaben 9,043 mg CO<sub>2</sub> und 1,790 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub> Ber. C 65,67 H 5,30%

Gef. „ 65,64 „ 5,33%

Synthese des 1,7,8-Trimethyl-2-isopropyl-phenanthrens (IX).

Kondensation von  $\beta$ -[5,6-Dimethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphtyl-(1)]-äthylbromid (IV) mit Isopropyl-malonester:  $\gamma$ -[5,6-Dimethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphtyl-(1)]- $\alpha$ -isopropyl-buttersäure (V).

Gearbeitet wurde, abgesehen von kleinen Änderungen, nach der Vorschrift von Wallingford und Mitarbeitern<sup>1)</sup>.

2,0 g  $\beta$ -[5,6-Dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-naphtyl-(1)]-äthylbromid<sup>2)</sup> (IV) wurden zu einer Lösung von Natrium-isopropylmalonester (hergestellt aus 0,21 g Natrium und 2,3 g Isopropylmalonester) in 8 cm<sup>3</sup> Diäthylcarbonat gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde dann 24 Stunden am Rückfluss gekocht, nach dem Abkühlen in Äther aufgenommen, mit Wasser ausgeschüttelt und eingedampft. Die anschließende Verseifung des Reaktionsproduktes erfolgte durch 24-stündiges Kochen mit 1,4 g Kaliumhydroxyd, 1,5 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O und 20 cm<sup>3</sup> Alkohol. Nach Abdampfen des Alkohols im Vakuum wurde der Rückstand in Wasser aufgenommen, angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die Trennung in neutrale und saure Anteile durch wiederholtes Ausschütteln mit 2-n. Natriumcarbonat-Lösung ergab 2,0 g rohe Dicarbonsäure und 0,47 g Neutralprodukte.

Die Dicarbonsäure wurde im Vakuum bei 180° decarboxyliert und anschliessend im Hochvakuum destilliert; es gingen bei 173° und 0,02 mm 1,2 g eines schwach gelblichen Öles über, das nicht krystallisierte. Nach der Analyse liegt die gesuchte  $\gamma$ -[5,6-Dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-naphtyl-(1)]- $\alpha$ -isopropyl-buttersäure (V) vor.

3,864 mg Subst. gaben 11,116 mg CO<sub>2</sub> und 3,412 mg H<sub>2</sub>O

|  |        |       |   |       |
|--|--------|-------|---|-------|
| C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub> | Ber. C | 79,12 | H | 9,79% |
|  | Gef. „ | 78,51 | „ | 9,88% |

$\gamma$ -[5,6-Dimethyl-naphtyl-(1)]- $\alpha$ -isopropyl-buttersäure (VI).

1,2 g  $\gamma$ -[5,6-Dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-naphtyl-(1)]- $\alpha$ -isopropyl-buttersäure (V) wurden mit 300 mg 10-proz. Palladiumkohle<sup>3)</sup> während 2 Stunden auf 270—315° erhitzt. Die Gasentwicklung betrug 178 cm<sup>3</sup> (0°, 760 mm) oder 95% der Theorie. Das Reaktionsgemisch wurde in Äther aufgenommen, von der Kohle abfiltriert und die Säure dem Äther mit 2-n. Natriumcarbonat-Lösung entzogen. Die Rohausbeute betrug 1,08 g eines gelblichen Öls, das allmählich krystallisierte.

Die Säure wurde zur Analyse aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 150—155° destilliert. Smp. 99,5—100,5°.

3,770 mg Subst. gaben 11,066 mg CO<sub>2</sub> und 2,841 mg H<sub>2</sub>O

|  |        |       |   |       |
|--|--------|-------|---|-------|
| C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> | Ber. C | 80,24 | H | 8,51% |
|  | Gef. „ | 80,10 | „ | 8,43% |

Di-[ $\beta$ -(5,6-dimethyl-naphtyl-(1))-äthyl]-essigsäure.

Aus  $\beta$ -(5,6-Dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-naphtyl-(1))-äthylbromid (IV) wurde, bei Verwendung von Natrium-malonester enthaltendem Natrium-isopropyl-malonester in Diäthylcarbonat, nach Verseifung, Decarboxylierung und Dehydrierung mit Palladiumkohle ein Produkt erhalten, dem die in der Überschrift angegebene Konstitution zukommen dürfte. Smp. 184°.

3,822 mg Subst. gaben 11,879 mg CO<sub>2</sub> und 2,603 mg H<sub>2</sub>O

|  |        |       |   |       |
|--|--------|-------|---|-------|
| C <sub>30</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> | Ber. C | 84,86 | H | 7,60% |
|  | Gef. „ | 84,82 | „ | 7,62% |

Methylester. Aus obiger Säure durch Verestern mit Diazomethan. Lange Nadeln aus Methanol. Smp. 134°.

<sup>1)</sup> V. H. Wallingford, M. A. Thorpe und A. H. Homeyer, Am. Soc. 64, 580 (1942).

<sup>2)</sup> L. Ruzicka und K. Hofmann, Helv. 22, 133 (1939).

<sup>3)</sup> Hergestellt nach der Vorschrift von O. Diels und W. Gädke, B. 58, 1231 (1925).

3,768; 3,909 mg Subst. gaben 11,715; 12,214 mg CO<sub>2</sub> und 2,655; 2,792 mg H<sub>2</sub>O  
5,047 mg Subst. verbr. 3,522 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

|  |                      |               |                        |
|--|----------------------|---------------|------------------------|
| C <sub>31</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> | Ber. C 84,89         | H 7,81        | OCH <sub>3</sub> 7,08% |
|  | Gef. ,, 84,85; 85,27 | ,, 7,88; 8,00 | ,, 7,22%               |

1-Oxo-2-isopropyl-7,8-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren (VII).

Die Cyclisierung der Säure (VI) erfolgte im wesentlichen nach der Vorschrift von L. Fieser und Mitarbeitern<sup>1)</sup>.

Aus 390 mg Säure (VI) wurden 380 mg gelbliches Keton erhalten, das sich aus Aceton-Petroläther umkrystallisieren liess. Das Keton (VII) schmilzt zwischen 134,5 und 135,5<sup>0</sup> und wurde zur Analyse im Hochvakuum bei 110<sup>0</sup> sublimiert.

3,648 mg Subst. gaben 11,444 mg CO<sub>2</sub> und 2,710 mg H<sub>2</sub>O

|                                   |               |          |
|-----------------------------------|---------------|----------|
| C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O | Ber. C 85,67  | H 8,33%  |
|                                   | Gef. ,, 85,60 | ,, 8,32% |

1,7,8-Trimethyl-2-isopropyl-3,4-dihydro-phenanthren (VIII).

200 mg Keton (VII) wurden in 20 cm<sup>3</sup> absolutem Toluol gelöst und zu einer ätherischen Methyl-magnesiumbromid-Lösung (hergestellt aus 200 mg Magnesium) gegeben. Das Gemisch wurde, nach Abdampfen des Äthers, während 18 Stunden gekocht, nach dem Erkalten auf Eis gegossen, mit verdünnter Salzsäure zersetzt und mit Äther extrahiert. Das nach Eindampfen des Lösungsmittels erhaltene Rohprodukt wog 190 mg. Es wurde im Hochvakuum bei einer Badtemperatur von 220<sup>0</sup> destilliert; das Destillat liess sich aus Äther-Methanol umkrystallisieren. Zur Analyse wurde der Kohlenwasserstoff im Hochvakuum bei 110<sup>0</sup> sublimiert. Das 1,7,8-Trimethyl-2-isopropyl-3,4-dihydro-phenanthren (VIII) schmilzt bei 128—129<sup>0</sup>.

3,844; 3,776 mg Subst. gaben 12,786; 12,561 mg CO<sub>2</sub> und 3,122; 3,063 mg H<sub>2</sub>O

|                                 |                      |                |
|---------------------------------|----------------------|----------------|
| C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> | Ber. C 90,85         | H 9,15%        |
|                                 | Gef. ,, 90,77; 90,78 | ,, 9,09; 9,08% |

Trinitro-benzolat: Das Trinitro-benzolat krystallisierte aus Methanol in gut ausgebildeten roten Nadeln vom Smp. 178—179<sup>0</sup>. Es wurde zur Analyse im Hochvakuum bei Zimmertemperatur während 48 Stunden getrocknet.

2,246 mg Subst. gaben 5,399 mg CO<sub>2</sub> und 1,076 mg H<sub>2</sub>O

|   |               |          |
|---|---------------|----------|
| C <sub>28</sub> H <sub>27</sub> O <sub>6</sub> N <sub>3</sub> | Ber. C 65,39  | H 5,70%  |
|   | Gef. ,, 65,60 | ,, 5,36% |

1,7,8-Trimethyl-2-isopropyl-phenanthren (IX).

a) Dehydrierung mit Chloranil<sup>2)</sup>. 190 mg des obigen Dihydro-phenanthrens (VIII) wurden zu einer Lösung von 190 mg Chloranil in 7 cm<sup>3</sup> Toluol gegeben und 20 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten wurde die dunkelbraune Lösung mit 140 cm<sup>3</sup> Petroläther (Sdp. 40—70<sup>0</sup>) verdünnt und durch eine Säule aus 11,5 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) filtriert. Beim Eindampfen des Filtrates blieben 170 mg krystallisiertes Produkt zurück. Weitere 20 mg Kohlenwasserstoff konnten noch durch Elution der Säule mit 150 cm<sup>3</sup> Petroläther erhalten werden.

Die erste Fraktion (170 mg) wurde mehrmals aus Äther-Methanol umkrystallisiert. Das 1,7,8-Trimethyl-2-isopropyl-phenanthren (IX) krystallisiert in grossen farblosen Platten, die bei 129—130<sup>0</sup> schmelzen. Mit dem vorne beschriebenen, bei 128—129<sup>0</sup> schmelzenden Dihydro-phenanthren (VIII) gibt das Präparat eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung. Seine Lösungen fluoreszieren schwach blau-violett. Der Kohlenwasserstoff

<sup>1)</sup> Am. Soc. 59, 1028 (1937); 63, 782 (1941).

<sup>2)</sup> R. T. Arnold und C. J. Collins, Am. Soc. 61, 1407 (1939); R. T. Arnold, C. J. Collins und W. Zenk, Am. Soc. 62, 983 (1940).



wurde zur Analyse im Hochvakuum bei 100° sublimiert. Der Schmelzpunkt blieb dabei unverändert.

3,768 mg Subst. gaben 12,658 mg CO<sub>2</sub> und 2,821 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>22</sub> Ber. C 91,55 H 8,45%

Gef. ,, 91,68 ,, 8,38%

Trinitro-benzolat. Das Trinitro-benzolat wurde aus der zweiten Chromatogrammfraktion (20 mg) hergestellt. Es krystallisiert aus Alkohol in schönen gold-gelben Platten vom Smp. 188—189°. Zur Analyse wurde 48 Stunden im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet.

3,784 mg Subst. gaben 9,088 mg CO<sub>2</sub> und 1,827 mg H<sub>2</sub>O

2,558 mg Subst. gaben 0,208 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (23°, 728 mm)

C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub> Ber. C 65,67 H 5,30 N 8,84%

Gef. ,, 65,54 ,, 5,40 ,, 8,98%

b) Dehydrierung mit Palladiumkohle. 70 mg des beschriebenen Trimethylisopropyl-dihydro-phenanthrens (VIII) wurden mit 18 mg 10-proz. Palladiumkohle<sup>1)</sup> während 2 Stunden auf 270—315° erhitzt. Die Wasserstoffentwicklung betrug 5,7 cm<sup>3</sup> (0°, 760 mm) oder 95% der Theorie. Durch Extraktion des Reaktionsgemisches mit Äther wurden 60 mg eines schlecht krystallisierenden Rohproduktes erhalten. Das daraus hergestellte Trinitro-benzolat schmolz bei 186,5—187,5° und gab in der Mischprobe mit dem durch Dehydrierung mit Chloranil erhaltenen Produkt keine Schmelzpunktserniedrigung. Auch in Löslichkeit, Farbe und Krystallform war es mit jenem vollkommen identisch. Das Analysenpräparat wurde 48 Stunden im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet.

3,693 mg Subst. gaben 8,839 mg CO<sub>2</sub> und 1,700 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub> Ber. C 65,67 H 5,30%

Gef. ,, 65,32 ,, 5,15%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von den HH. W. Manser und W. Ingold ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule Zürich.

### 135. Über Steroide und Sexualhormone.

(115. Mitteilung<sup>2)</sup>).

#### Über eine Modifikation der Synthese digitaloider Lactone

von Pl. A. Plattner und H. Heusser.

(30. VI. 45.)

Die weitaus bequemste Methode, die zur Bildung  $\alpha, \beta$ -ungesättigter Butenolide (III) führt, ist die schon öfters beschriebene Umsetzung<sup>3)</sup> von  $\alpha$ -Ketol-acetaten mit Bromessigester und Zink nach *Reformatsky*. Wohl infolge des grossen Überschusses an Bromessig-

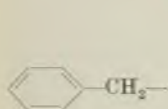
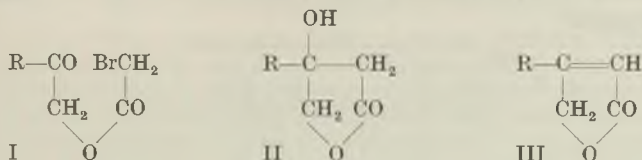
<sup>1)</sup> Hergestellt nach O. Diels und W. Gädke, B. 58, 1231 (1925).

<sup>2)</sup> 114. Mitt., Helv. 28, 628 (1945).

<sup>3)</sup> Vgl. dazu Pl. A. Plattner, L. Ruzicka und A. Fürst, Helv. 26, 2274 (1943) Anm. 2)<sup>3)</sup>

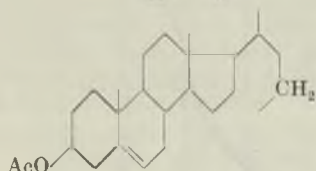
<sup>4)5)</sup>, sowie spätere Mitteilungen dieser Reihe.

ester, der für diese Kondensation im allgemeinen verwendet werden muss, entstehen dabei reichlich Nebenprodukte, die die Isolierung der reinen Aglykone erschweren. Die Reaktionsprodukte müssen daher fast immer auf chromatographischem Wege gereinigt werden, und die Ausbeuten an reinen Aglykonen sind nicht vollständig befriedigend.



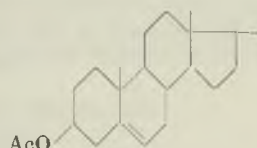
R für

Ia; IIa; IIIa



R für

Ib; IIb; IIIb



R für

Ic; IIc; IIIc

Wir haben deshalb versucht, geeignete Diazoketone mit Bromessigsäure umzusetzen und bei den entstandenen Ketol-bromacetaten (I) eine intramolekulare Reaktion der Bromessigsäureester-Gruppierung mit der Keto-Gruppe herbeizuführen.

Die Umsetzung der Diazoketone mit Bromessigsäure bot keine wesentlichen Schwierigkeiten. So wurde aus Benzyl-diazomethylketon das Benzyl-bromacetoxymethylketon (Ia) und aus den entsprechenden Diazoketonen der Steroid-Reihe das  $\Delta^5$ -3  $\beta$ -Acetoxy-24-keto-25-bromacetoxymethylketon (Ib) und das  $\Delta^5$ -3  $\beta$ -Acetoxy-20-keto-21-bromacetoxymethylketon (Ic) bereitet. Letzteres liess sich auch durch Acetylierung des  $\Delta^5$ -3  $\beta$ -Oxy-20-keto-21-bromacetoxymethylketons herstellen. Allerdings konnte bei dieser Reaktion ein teilweiser Umtausch der Bromacetoxymethyl-Gruppe in Stellung 21 gegen die Acetoxy-Gruppe nicht ganz vermieden werden, sodass als Nebenprodukt stets eine kleinere Menge von  $\Delta^5$ -3  $\beta$ ,21-Diacetoxy-20-keto-21-bromacetoxymethylketon erhalten wurde.

Die Umsetzung der Ketol-bromacetate mit Zink liess sich nicht ohne Zusatz von etwas Bromessigestern herbeiführen. Die besten Ausbeuten wurden sogar erst mit Zusätzen von 0,75 Äquivalenten Bromessigestern, bezogen auf das Ketol-bromacetat, erzielt. Es scheint deshalb fraglich, ob bei der Reaktion tatsächlich ein intramolekularer Ringschluss eintritt.

Unter den erwähnten Bedingungen lieferte beispielsweise das Benzyl-bromacetoxymethylketon (Ia) in 55-proz. Ausbeute  $\beta$ -Benzyl- $\beta$ -oxybutanolid (IIa), das auch aus dem entsprechenden Ketolacetat mit Bromessigestern nach dem üblichen Verfahren gewonnen

werden konnte. Aus dem Oxy-lacton (IIa) wurde durch Wasserabspaltung das flüssige Butenolid (IIIa) hergestellt. Das Präparat zeigt einen stark positiven *Legal-* und *Kundson-Dresbach-*Test. Das U. V.-Absorptionsspektrum<sup>1)</sup> dieser Verbindung (vgl. Fig. A) entspricht der angegebenen Formel und zeigt, dass eine Konjugation der neu gebildeten Doppelbindung zum Benzolkern (Styrol-Typus) nicht in Frage kommt.

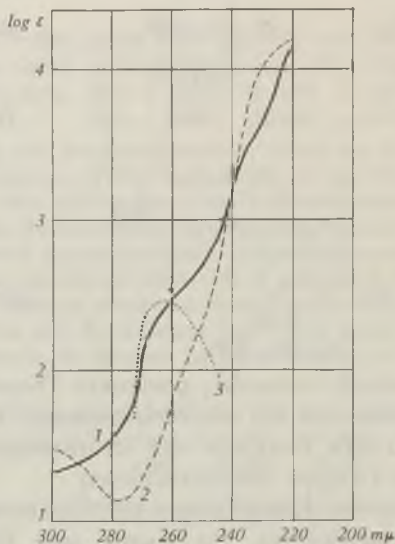


Fig. A.

Kurve 1:  $\Delta^{\alpha,\beta}$ -Benzyl-butenolid      Kurve 2: Strophanthin      Kurve 3: Toluol

Ähnliche Resultate wurden auch bei der Umsetzung der Bromacetate (Ib) und (Ic) zu den Butenoliden (IIIb) und (IIIc), die bereits früher auf anderem Wege hergestellt worden sind<sup>2)</sup>, erzielt.

Die Rohprodukte liessen sich im allgemeinen leichter reinigen als bei den nach der üblichen Methode durchgeführten Versuchen, und die Ausbeuten sind eher besser. Allerdings wird dieser Vorteil durch die etwas schwierigere Beschaffung der Ketol-bromacetate grösstenteils wieder aufgehoben.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Ciba A.G.* Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil<sup>3)</sup>.

Benzyl-diazomethyl-keton<sup>4)</sup> wurde aus Phenyllessigsäure-chlorid und Diazomethan hergestellt. Im Gegensatz zu den Angaben der Literatur<sup>5)</sup> konnte das Produkt in

<sup>1)</sup> Das Spektrum wurde von Hrn. E. Heilbronner aufgenommen.

<sup>2)</sup> L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und H. Heusser, *Helv.* **25**, 435 (1942); L. Ruzicka, T. Reichstein und A. Fürst, *Helv.* **24**, 76 (1941).

<sup>3)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

<sup>4)</sup> Bearbeitet von A. Bayoumi, Diplomarbeit E.T.H. 1939.

<sup>5)</sup> W. Bradley und G. Schwarzenbach, *Soc.* **1928**, 2904; C. Grundmann, *A.* **536**, 29 (1938).



krystallisierter Form erhalten werden. Das chromatographierte und aus Essigester-Petroläther umkrystallisierte Produkt schmolz bei 49—50°. Ausbeute 90%.

3,772 mg Subst. gaben 9,351 mg CO<sub>2</sub> und 1,710 mg H<sub>2</sub>O

2,207 mg Subst. gaben 0,352 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (21°, 725 mm)

C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>ON<sub>2</sub> Ber. C 67,49 H 5,04 N 17,49%

Gef. ,, 67,65 ,, 5,08 ,, 17,67%

Benzyl-bromacetoxymethyl-keton (Ia).

16,2 g Benzyl-diazomethyl-keton wurden in 50 cm<sup>3</sup> absolutem Benzol gelöst und unter Feuchtigkeitsausschluss mit 50 g reiner Bromessigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Stunden sich selbst überlassen und anschliessend während 10 Minuten auf dem Wasserbad am Rückfluss gekocht. Dann wurde in Äther aufgenommen und mit Wasser, Natriumhydrogencarbonat-Lösung und nochmals mit Wasser gut gewaschen. Nach dem Trocknen und Einengen wurde die ätherische Lösung in der Wärme bis zur beginnenden Trübung mit Petroläther versetzt. Beim Abkühlen krystallisierte das Benzyl-bromacetoxymethyl-keton in langen farblosen Nadeln. Ausbeute 23,5 g; Smp. 44—45°. Zur Analyse wurde noch dreimal umkrystallisiert und anschliessend 36 Stunden bei 20° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet.

3,915 mg Subst. gaben 7,027 mg CO<sub>2</sub> und 1,422 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>Br Ber. C 48,73 H 4,09%

Gef. ,, 48,98 ,, 4,07%

Benzyl-acetoxymethyl-keton.

12 g Benzyl-diazomethyl-keton wurden mit 150 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt, 30 Minuten bei 20° sich selbst überlassen und anschliessend 20 Minuten auf dem Wasserbad erhitzt. Die Essigsäure wurde im Vakuum abgedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen, die Lösung mit Wasser, Natriumhydrogencarbonat-Lösung und nochmals mit Wasser gewaschen, getrocknet und der Äther abgedunstet. Der Rückstand krystallisierte aus Äther-Petroläther in gut ausgebildeten Platten. Ausbeute 12,0 g. Zur Analyse wurde das Präparat viermal bis zum konstanten Schmelzpunkt von 62,5—64,5° umkrystallisiert und anschliessend 6 Stunden im Hochvakuum bei 50° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

3,806 mg Subst. gaben 9,616 mg CO<sub>2</sub> und 2,174 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 68,73 H 6,29%

Gef. ,, 68,95 ,, 6,39%

β-Benzyl-β-oxy-butanolid (IIa).

Analog der schon öfters beschriebenen Umsetzung<sup>1)</sup> von α-Acetoxy-ketonen mit Bromessigester und Zink nach *Reformatsky* wurden 10 g Benzyl-bromacetoxymethyl-keton, 12 g Zinkfitter und 4,5 g (= 0,75 Äquiv.) Bromessigester<sup>2)</sup> umgesetzt. Das Rohprodukt wurde aus Äther umkrystallisiert und ergab 4,9 g grober Prismen vom Smp. 98—100°. Zur Analyse wurde das Präparat dreimal aus Benzol umkrystallisiert und anschliessend 48 Stunden bei 75° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Smp. 99—100°.

3,792 mg Subst. gaben 9,569 mg CO<sub>2</sub> und 2,143 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 68,73 H 6,29%

Gef. ,, 68,86 ,, 6,32%

Das gleiche Produkt wurde auch aus dem Benzyl-acetoxymethyl-keton durch Einwirkung von Bromessigester und Zink erhalten.

<sup>1)</sup> *L. Ruzicka* und Mitarbeiter, *Helv.* **24**, 76 (1941); **25**, 65, 79, 435 (1942); **27**, 186 (1944).

<sup>2)</sup> Ohne Zusatz von Bromessigester konnte die Reaktion nicht in Gang gebracht werden.

$\Delta^{\alpha,\beta}$ - $\beta$ -Benzyl-butenolid (IIIa).

735 mg  $\beta$ -Benzyl- $\beta$ -oxy-butenolid wurden bei einer Ölbadtemperatur von 165° mit 50 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 48 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach dem Abdampfen des Acetanhydrids im Vakuum wurde der Rückstand (700 mg) in Benzol gelöst und durch 15 g Aluminiumoxyd filtriert. Das Filtrat ergab 600 mg eines farblosen Öls, das einen stark positiven *Legal*-Test zeigte. Es wurde zur Analyse im Hochvakuum destilliert. Sdp. (0,02 mm) 126—127°. Ausbeute 450 mg. U.V.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. A.

3,534 mg Subst. gaben 9,792 mg CO<sub>2</sub> und 1,803 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 75,84 H 5,79%  
Gef. „ 75,62 „ 5,71%

$\Delta^5$ - $3\beta$ -Acetoxy-24-keto-25-bromacetoxy-25-homo-cholen (Ib).

500 mg  $\Delta^5$ - $3\beta$ -Acetoxy-24-keto-25-diazo-25-homo-cholen, gelöst in 3 cm<sup>3</sup> Benzol, wurden mit 5 g Bromessigsäure in Reaktion gebracht. Das Rohprodukt wurde aus Äthanol umkrystallisiert und ergab 520 mg feine Nadeln vom Smp. 126,5—128,5°. Zur Analyse wurde das Präparat noch fünfmal aus Äthanol umkrystallisiert, wobei der Smp. auf 128—130° stieg und anschließend 36 Stunden bei 80° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet.

3,967 mg Subst. gaben 9,198 mg CO<sub>2</sub> und 2,772 mg H<sub>2</sub>O

3,889 mg Subst. gaben 3,047 mg AgBr

C<sub>25</sub>H<sub>43</sub>O<sub>5</sub>Br Ber. C 63,15 H 7,86 Br 14,49%  
Gef. „ 63,28 „ 7,82 „ 14,59%

$[\alpha]_D^{21;24} = -35,5^\circ$ ;  $-36,2^\circ$  ( $c = 1,773$ ; 1,072 in Chloroform)

$\Delta^5$ - $3\beta$ -Oxy-20-keto-21-bromacetoxy-pregnen.

Die Umsetzung von 750 mg  $\Delta^5$ - $3\beta$ -Oxy-20-keto-21-diazo-pregnen mit 4,5 g Bromessigsäure in 4 cm<sup>3</sup> Benzol ergab nach dem üblichen Aufarbeiten 550 mg eines Rohproduktes vom Smp. 105—108°. Die Krystallisation aus Methanol lieferte 490 mg feine Blättchen vom Smp. 110,5—111,5°, die Krystalllösungsmittel enthielten. Zur Analyse wurde noch fünfmal aus Methanol umkrystallisiert, wobei der Smp. auf 112—113° stieg. Das Präparat wurde 48 Stunden bei 85° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet.

3,726 mg Subst. gaben 7,918 mg CO<sub>2</sub> und 2,450 mg H<sub>2</sub>O

3,030 mg Subst. gaben 3,181 mg AgBr

C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>O<sub>4</sub>Br·H<sub>2</sub>O Ber. C 58,57 H 7,48 Br 16,95%  
Gef. „ 57,99 „ 7,36 „ 16,86%

$[\alpha]_D^{24} = +25,1^\circ$  ( $c = 1,092$  in Chloroform)

$\Delta^5$ - $3\beta$ -Acetoxy-20-keto-21-bromacetoxy-pregnen (Ic).

500 mg  $\Delta^5$ - $3\beta$ -Oxy-20-keto-21-bromacetoxy-pregnen wurden unter Feuchtigkeitsausschluß in 10 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 4 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Nach dem Abdampfen des Acetanhydrids im Vakuum wurde der krystalline Rückstand heiss in Methanol gelöst. Beim Abkühlen der Lösung schieden sich zuerst gut ausgebildete Nadeln, dann feine Blättchen aus. Beim Erscheinen der ersten Blättchen wurde dekantiert. Ausbeute: 380 mg Nadeln und 100 mg Blättchen. Die Nadeln, das  $\Delta^5$ - $3\beta$ -Acetoxy-20-keto-21-bromacetoxy-pregnen, wurden dreimal aus Methanol umkrystallisiert und zeigten einen scharfen Schmelzpunkt von 137—138°. Zur Analyse wurde bei 80° 36 Stunden im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

3,846 mg Subst. gaben 8,543 mg CO<sub>2</sub> und 2,461 mg H<sub>2</sub>O

9,789 mg Subst. gaben 3,742 mg AgBr

C<sub>25</sub>H<sub>35</sub>O<sub>5</sub>Br Ber. C 60,60 H 7,12 Br 16,13%  
Gef. „ 60,62 „ 7,16 „ 16,27%

$[\alpha]_D^{24} = +26,1^\circ$  ( $c = 0,908$  in Chloroform)

Die Blättchen zeigten nach einmaligem Umkrystallisieren aus Methanol einen Smp. bei 165,5—167° und erwiesen sich sowohl nach Mischschmelzpunkt wie allen übrigen Eigenschaften mit  $\Delta^5$ -3 $\beta$ ,21-Diacetoxy-20-keto-pregnen als identisch.

Das  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -Acetoxy-20-keto-21-bromacetoxy-pregnen wurde auch durch Umsetzen von  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -Acetoxy-20-keto-21-diazo-pregnen mit Bromessigsäure in Benzol erhalten.

Umsetzung von  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -Acetoxy-24-keto-25-bromacetoxy-25-homo-cholen und  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -Acetoxy-20-keto-21-bromacetoxy-pregnen mit Zink und Bromessigester nach *Reformatsky*.

Die Umsetzung dieser  $\alpha$ -Bromacetoxy-ketone mit Zink und je 0,75 Äquiv. Bromessigester wurde in der mehrfach beschriebenen Weise durchgeführt. Nach dem Behandeln der Rohprodukte mit Acetanhydrid und nachträglicher Reinigung durch Adsorption an Aluminiumoxyd wurden das  $\beta'$ -[ $\Delta^5$ -3 $\beta$ -Acetoxy-nor-cholenyl-(23)]- $\Delta^{\alpha'}$ , $\beta'$ -butenolid<sup>1)</sup> (III b) vom Smp. 204—205°, bzw. das  $\beta'$ -[ $\Delta^5$ -3 $\beta$ -Acetoxy-ätio-cholenyl-(17)]- $\Delta^{\alpha'}$ , $\beta'$ -butenolid<sup>2)</sup> (III c) vom Smp. 173—174° in 45—50proz. Ausbeute erhalten.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

### 136. Über Steroide und Sexualhormone.

(116. Mitteilung<sup>3)</sup>).

#### Über einige neue Glucoside der Steroid-Reihe

von Pl. A. Plattner und A. Uffer.

(30. VI. 45.)

Die Auswertung der pharmakologischen Eigenschaften von Steroid-Derivaten, welche den Aglykonen der Herzgifte nahestehen, liess es wünschenswert erscheinen, in Wasser relativ leicht lösliche, rasch resorbierbare Präparate herzustellen. Von solchen besitzen die Glucoside besonderes Interesse, weil sie am ehesten mit den klinisch verwendeten Inhaltsstoffen der Digitalis-, Strophanthus- und Scilla-Arten vergleichbar sind.

Die Erfahrung zeigt, dass die Herstellung einheitlicher Mono- und Oligosaccharide der Steroid-Reihe auf erhebliche Schwierigkeiten stösst. Teilweise liegt dies am unvollständigen und unregelmässigen Verlauf dieser Umsetzungen, teilweise aber auch an den unangenehmen Löslichkeits- und Krystallisationseigenschaften der erhaltenen Verbindungen. Auf die verschiedenen in dieser Richtung unternomme-

<sup>1)</sup> L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und H. Heusser, Helv. 25, 435 (1942).

<sup>2)</sup> L. Ruzicka, T. Reichstein und A. Fürst, Helv. 24, 76 (1941).

<sup>3)</sup> 115. Mitt. Helv. 28, 1044 (1945).



nen und meist nur teilweise erfolgreichen Versuche sei hier nur kurz hingewiesen<sup>1)</sup>.

Da die Herstellung der synthetischen Aglykone<sup>2)</sup> mühsam und kostspielig ist und diese Verbindungen meist nur in relativ kleinen Mengen vorlagen, so schien uns der Besitz einer möglichst quantitativ verlaufenden und zuverlässig arbeitenden Methode der Glucosid-Synthese unerlässliche Voraussetzung für die eingehendere pharmakologische Prüfung einer Reihe synthetischer Aglykone.

Wir haben uns deshalb in einer grösseren Zahl von Reihenversuchen bemüht, die Eignung der mit Acetohalogen-Zuckern durchgeführten Glucosid-Synthesen für unsere Zwecke zu überprüfen. Diese Untersuchungen wurden zunächst an Cholestanol und Cholesterin durchgeführt. Als Zuckerkomponenten kamen Acetobromglucose, Acetobrom-cellobiose und ein amorphes Präparat von Acetobrom-maltose<sup>3)</sup> zur Anwendung.

Mit Quecksilber(II)-acetat als Kondensationsmittel wurden schwankende Ausbeuten von nur 30—55% an Cholesterin-, bzw. Cholestanol-Glucosiden erreicht. Versuche mit Silberoxyd, bzw. Silbercarbonat verliefen ähnlich. Auch verschiedene Lösungsmittel, verschiedene Reaktionszeiten und -Temperaturen, die An- oder Abwesenheit von wasserbindenden Zusätzen und die azeotrope Wasserentfernung zeigten nur einen unwesentlichen Einfluss auf die Ausbeute der Synthesen. Wir können demnach an diesen Beispielen weder der einen noch der andern Methode den Vorzug geben. Da die Versuche keine wesentlich neuen Gesichtspunkte ergaben, so verzichten wir auf deren ausführliche Wiedergabe<sup>4)</sup>.

Eine gewisse Verbesserung gelang nur bei der Herstellung von Cholestanol-cellobiosid und -maltosid. Durch Anwendung des in aromatischen Kohlenwasserstoffen leichter löslichen Quecksilber(II)-acetamids als Ersatz für Quecksilber(II)-acetat liessen sich die Ausbeuten im Vergleich mit den oben angedeuteten Kondensationsmitteln für beide Bioside auf das 1,5- bis 2-fache steigern. Das Quecksilberacetamid versagte aber wieder bei der Bereitung von Glucosiden synthetischer Steroid-lactone, und auch die Herstellung von Cholesterin- und Cholestanol-glucosiden verlief damit nur unbefriedigend. Auch diese Modifikation führte demnach nicht zu einer vollständig zuverlässig arbeitenden, allgemeiner anwendbaren Methode.

Da diese Untersuchungen hier vorläufig abgebrochen werden mussten, so geben wir im experimentellen Teil die Resultate, soweit

<sup>1)</sup> Vgl. die Literaturangaben bei *Ch. Meystre* und *K. Miescher*, *Helv.* **27**, 231 (1944), sowie *Tollens-Elsner*, *Kurzes Handbuch der Kohlenhydrate*, 4. Aufl. *J. A. Barth*, Leipzig 1935, S. 45 ff.

<sup>2)</sup> Vgl. dazu *Pl. A. Plattner*, *L. Ruzicka* und *A. Fürst*, *Helv.* **26**, 2274 (1943) Anm. <sup>2)</sup><sup>3)</sup><sup>4)</sup><sup>5)</sup>, sowie spätere Mitteilungen dieser Reihe.

<sup>3)</sup> Hergestellt nach *E. und H. Fischer*, *B.* **43**, 2523 (1910).

<sup>4)</sup> Vgl. dazu *Diss. A. Uffer*, E.T.H. Zürich 1945.

sie neue, bisher nicht beschriebene Steroid-glucoside betreffen, bekannt. Es handelt sich dabei um das Cellobiosid und das Maltosid von Cholestanol und Cholesterin und deren Hepta-acetate, um das Glucosid des  $\beta'$ -[ $\Delta^5$ -3-Oxy-nor-cholelyl-(23)]- $\Delta^{\alpha,\beta'}$ -butenolids<sup>1)</sup> und seines Tetra-acetats und um das Glucosid-tetra-acetat des  $\Delta^{20,22}$ -3 $\beta$ ,21-Dioxy-choleensäure-lactons<sup>2)</sup>.

Alle beschriebenen Verbindungen weisen, in Übereinstimmung mit den bisherigen Erfahrungen<sup>3)</sup> bei verschiedenen Mono- und Disacchariden der Steroid-Reihe, nur eine geringe Löslichkeit in Wasser auf.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Ciba A.G.* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil<sup>4)</sup>.

#### Cellobiosid-hepta-acetat des Cholestanols.

Zur siedenden Lösung von 3 g Cholestanol, 1,47 g Quecksilber(II)-acetamid und 1 g Calciumsulfat in 150 cm<sup>3</sup> absolutem Toluol liess man unter gutem Rühren eine Lösung von 6,5 g Acetobrom-cellobiose in 150 cm<sup>3</sup> Toluol zufließen. Das Gemisch wurde 5 Stunden zum lebhaften Sieden erhitzt, anschliessend durch Natriumsulfat filtriert und im Vakuum zur Trockne verdampft. Der Rückstand (10,45 g) wurde zur Acetylierung während zwei Tagen in einer Lösung von 30 cm<sup>3</sup> Pyridin und 20 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Anschliessend wurde im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand (11,9 g) an 250 g neutralem Aluminiumoxyd adsorbiert.

Die ersten Benzol-Eluate gaben 1,57 g Cholestanol-acetat. Mit Benzol- und Benzol-Äther wurden 3,22 g Hepta-acetyl-cellobiosid des Cholestanols eluiert. Die Ausbeute an acetyliertem Glucosid betrug 47% unter Berücksichtigung des zurückgewonnenen Cholestanol-acetats.

Das nicht kristallisierte Hepta-acetat wurde aus einem Gemisch von Chloroform-Alkohol als Gallerte erhalten, die an der Luft das Lösungsmittel abgab und sich in ein amorphes Pulver vom Smp. 232—233° verwandelte. Das Präparat wurde zur Analyse 48 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

3,810 mg Subst. gaben 8,835 mg CO<sub>2</sub> und 2,840 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>53</sub>H<sub>82</sub>O<sub>18</sub> Ber. C 63,20 H 8,12%

Gef. „ 63,28 „ 8,34%

$[\alpha]_D^{17} = -5,0^{\circ}$  (c = 2,974 in Chloroform)

#### Cellobiosid des Cholestanols.

2,43 g Cholestanol-cellobiosid-hepta-acetat wurden durch kurzes Erwärmen mit einer alkoholisch-wässrigen Bariumhydroxyd-Lösung verseift und gaben 1,15 g rohes Cellobiosid vom Smp. 260°. Zur Reinigung wurde das Präparat im *Soxhlet* mit Aceton extrahiert und als weisses, amorphes Pulver vom Smp. 310° (u. Zers.) erhalten. Das Präparat wurde

<sup>1)</sup> L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und H. Heusser, Helv. 25, 435 (1942).

<sup>2)</sup> L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und A. Fürst, Helv. 25, 79 (1942); L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und J. Pataki, Helv. 25, 425 (1942).

<sup>3)</sup> Ch. Meystre und K. Miescher, Helv. 27, 1153 (1944) und frühere Mitt. Ein abweichendes Verhalten, d. h. eine relativ grosse Löslichkeit zeigte das Testosteron- $\beta$ -maltosid.

<sup>4)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

zur ersten Analyse 55 Stunden bei 95° im Hochvakuum, zur zweiten bei 120° (14 Stunden) im Luftstrom getrocknet.

3,805 mg Subst. gaben 8,953 mg CO<sub>2</sub> und 3,266 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>38</sub>H<sub>68</sub>O<sub>11</sub>·H<sub>2</sub>O Ber. C 64,08 H 9,65%

Gef. „ 64,21 „ 9,60%

1,221 mg Subst. gaben 2,930 mg CO<sub>2</sub> und 1,078 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>39</sub>H<sub>68</sub>O<sub>11</sub> Ber. C 65,70 H 9,61%

Gef. „ 65,49 „ 9,88%

$[\alpha]_D^{21} = +4,7^{\circ}$  (c = 4,806 in Pyridin)

#### Maltosid-hepta-acetat des Cholestanols.

Die Lösung von 200 cm<sup>3</sup> Toluol, 4 g Cholestanol und 2,85 g Quecksilber(II)-acetamid wurde zum Sieden erhitzt. Zur siedenden Lösung wurde, unter gleichzeitigem Abdestillieren von 30 Tropfen Toluol pro Minute, eine Lösung von 12,98 g Acetobrom-maltose in 200 cm<sup>3</sup> Toluol und 50 cm<sup>3</sup> Chloroform tropfenweise zugegeben. Die gesamte Reaktionsdauer betrug 3½ Stunden. Die dunkel gefärbte Lösung wurde mit Kohle geklärt, durch Natriumsulfat filtriert und im Vakuum zur Trockne verdampft. Der Rückstand, 14,69 g, wurde in 35 cm<sup>3</sup> Pyridin und 25 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 14 Stunden stehen gelassen, die Lösung anschließend im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand von 15 g an 300 g Aluminiumoxyd adsorbiert.

Die ersten Petroläther-Benzol-Eluate ergaben 2,37 g Cholestanol-acetat. Die folgenden Petroläther-Benzol-Eluate lieferten 200 mg reines β,d-Tetra-acetyl-glucosid des Cholestanols vom Smp. 164—165°;  $[\alpha]_D^{17} = +6,3^{\circ}$  (c = 0,526 in Chloroform).

Die Benzol-Eluate wurden einmal aus Alkohol umkrystallisiert, wobei 600 mg des gesuchten Hepta-acetyl-maltosids in Form feiner Nadeln vom Smp. 171—172° isoliert werden konnten. Das Präparat wurde zur Analyse 12 Stunden bei 100° im Hochvakuum getrocknet.

3,820 mg Subst. gaben 8,876 mg CO<sub>2</sub> und 2,880 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>53</sub>H<sub>82</sub>O<sub>18</sub> Ber. C 63,20 H 8,21%

Gef. „ 63,41 „ 8,44%

$[\alpha]_D^{17} = +52,7; 51,2^{\circ}$  (c = 1,154; 1,31 in Chloroform)

#### Maltosid des Cholestanols.

Die Verseifung von 200 mg Cholestanol-maltosid-hepta-acetat in 16 cm<sup>3</sup> einer absoluten methanolischen 0,025-n. Natriummethylatlösung lieferte 150 mg des rohen Maltosids vom Smp. 284°. Das Präparat wurde zur Analyse aus Methanol umkrystallisiert. Die feinen hygroskopischen Nadeln schmolzen bei 288°. Sie wurden 12 Stunden im Luftstrom bei 100° getrocknet.

3,580 mg Subst. gaben 8,605 mg CO<sub>2</sub> und 3,106 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>39</sub>H<sub>68</sub>O<sub>11</sub> Ber. C 65,70 H 9,61%

Gef. „ 65,60 „ 9,71%

$[\alpha]_D^{17} = +22,3^{\circ}$  (c = 0,735 in Chloroform)

#### Glucosid-tetra-acetat des β'-[Δ<sup>5</sup>-3-β-Oxy-nor-cholenyl-(23)]-α',β'-butenolids.

Zur siedenden Lösung von 100 cm<sup>3</sup> absolutem Äther, 500 mg Aglykon und 270 mg Quecksilber(II)-acetat liess man innerhalb von zwei Stunden eine Lösung von 705 mg Acetobrom-glucose in 100 cm<sup>3</sup> absolutem Äther zutropfen. Während der Reaktion wurde energisch gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht stehen gelassen, anschließend durch Natriumsulfat filtriert und im Vakuum zur Trockne verdampft. Der leicht rot gefärbte Rückstand von 1,51 g wurde, wie oben beschrieben, in 10 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid und 10 Tropfen Pyridin acetyliert. Das Rohprodukt wurde an 45 g Aluminiumoxyd adsorbiert.



Die Petroläther- und Benzol-Eluate lieferten 300 mg  $\beta'$ -[ $\Delta^5$ -3 $\beta$ -Acetoxy-nor-cholenyl-(23)]- $\Delta^{\alpha,\beta'}$ -butenolid. Die Benzol-Äther- und Äther-Eluate ergaben 385 mg Tetraacetat des gesuchten Glucosids. Das Präparat wurde mehrmals umkrystallisiert. Die feinen Nadeln vom Smp. 208—208,5° wurden zur Analyse 10 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

3,947 mg Subst. gaben 9,571 mg CO<sub>2</sub> und 2,772 mg H<sub>2</sub>O

|   |               |          |
|---|---------------|----------|
| C <sub>41</sub> H <sub>58</sub> O <sub>12</sub> | Ber. C 66,28  | H 7,87%  |
|   | Gef. ,, 66,18 | ,, 7,86% |

Glucosid des  $\beta'$ -[ $\Delta^5$ -3 $\beta$ -Oxy-nor-cholenyl-(23)]- $\Delta^{\alpha,\beta'}$ -butenolids.

Einer Lösung von 50 mg des Glucosid-tetra-acetats in 5 cm<sup>3</sup> absolutem Methanol wurden 5 Tropfen einer 0,1-n. Bariummethylat-Lösung beigelegt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Tage bei -10° stehen gelassen, worauf das Glucosid in Form von gelben Körnern ausfiel. Sie wurden von der Mutterlauge getrennt, die Mutterlauge selbst mit 0,1-n. Schwefelsäure neutralisiert und zur Trockne verdampft. Der Rückstand und die Körner wurden zusammen in Chloroform gelöst, filtriert und aus Alkohol umkrystallisiert. Es bildeten sich Krystalldrusen, die ein zweites Mal aus absolutem Alkohol umkrystallisiert wurden. Das Präparat vom Smp. 270—275° wurde zur Analyse 10 Stunden bei 100° im Hochvakuum getrocknet.

3,775 mg Subst. gaben 9,512 mg CO<sub>2</sub> und 3,012 mg H<sub>2</sub>O

|  |               |          |
|--|---------------|----------|
| C <sub>33</sub> H <sub>50</sub> O <sub>8</sub> | Ber. C 68,96  | H 8,77%  |
|  | Gef. ,, 68,76 | ,, 8,93% |

Neben den oben erwähnten Krystalldrusen traten auch gallertige Körner auf, die ein um ein Mol H<sub>2</sub>O reicheres Produkt darstellen. Es wurde zur Analyse 10 Stunden bei 100° im Hochvakuum getrocknet. Das Präparat gab einen positiven *Legal*-Test.

2,220 mg Subst. gaben 5,430 mg CO<sub>2</sub> und 1,845 mg H<sub>2</sub>O

|   |               |          |
|---|---------------|----------|
| C <sub>33</sub> H <sub>50</sub> O <sub>8</sub> · H <sub>2</sub> O | Ber. C 66,84  | H 8,84%  |
|   | Gef. ,, 66,75 | ,, 9,30% |

Glucosid-tetra-acetat des  $\Delta^{20,22}$ -3 $\beta$ ,21-Dioxy-cholensäure-lactons.

500 mg Aglykon, 822 mg Aceto-bromglucose, 315 mg Quecksilber(II)-acetat und 0,9 mg Calciumsulfat wurden, wie oben beschrieben, in Reaktion gebracht, das Reaktionsprodukt in analoger Weise aufgearbeitet und durch chromatographische Adsorptionsanalyse gereinigt. Aus Methyl-isoamyl-äther krystallisierte das Glucosid-tetra-acetat in gallertigen Körnern, die bei 125—127° schmelzen. Das Präparat wurde zur Analyse 10 Stunden bei 50° im Hochvakuum getrocknet.

3,811 mg Subst. gaben 9,074 mg CO<sub>2</sub> und 2,513 mg H<sub>2</sub>O

|   |               |          |
|---|---------------|----------|
| C <sub>37</sub> H <sub>52</sub> O <sub>12</sub> | Ber. C 64,51  | H 7,61%  |
|   | Gef. ,, 64,98 | ,, 7,38% |

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

### 137. Zur Kenntnis der Triterpene.

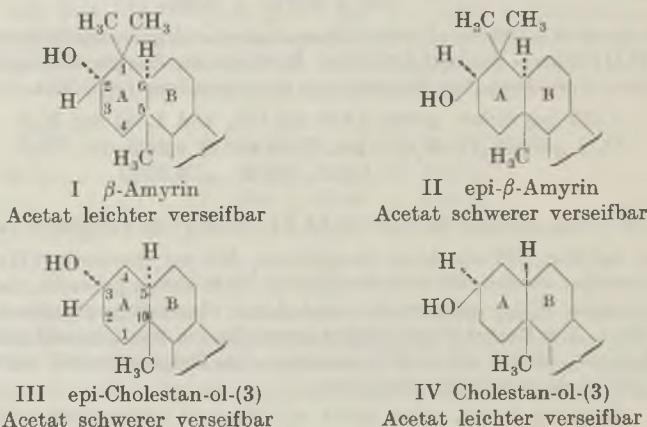
(99. Mitteilung<sup>1)</sup>).

#### Verseifungsgeschwindigkeiten der epimeren $\beta$ - und $\alpha$ -Amyrin-acetate von L. Ruzicka und H. Gubser.

(30. VI. 45.)

Die Ester der epimeren Cholestan-ole-(3) besitzen verschiedene Verseifungsgeschwindigkeiten, welche anhand von Kalotten-Modellen<sup>2)</sup> durch verschieden starke sterische Hinderung der Hydroxy-Gruppe plausibel interpretiert werden konnten<sup>3)</sup>.

Das  $\beta$ -Amyrin (Teilformel I) hat sehr wahrscheinlich eine analoge relative Konfiguration der drei asymmetrischen Kohlenstoffatome im Ringe A wie das epi-Cholestan-ol-(3) (III)<sup>4)</sup>, woraus für das epi- $\beta$ -Amyrin (II) eine dem Cholestan-ol-(3) (IV) entsprechende Konfiguration folgt. Es war nun interessant zu prüfen, wie sich die Ester der epimeren  $\beta$ -Amyrine bei der Verseifung verhalten.



Während die Ester des epi-Cholestan-ols-(3) schwerer verseifbar sind als diejenigen des Cholestan-ols-(3)<sup>5)</sup>, wurde das Acetat des

<sup>1)</sup> 98. Mitt. Helv. **28**, 942 (1945).

<sup>2)</sup> H. A. Stuart, Z. physikal. Ch. [B] **27**, 350 (1934).

<sup>3)</sup> L. Ruzicka, M. Furter und M. W. Goldberg, Helv. **21**, 498 (1938).

<sup>4)</sup> Nach röntgenographischen Untersuchungen von G. Giacomello, G. **68**, 363 (1938), sind die Ringe A und B in der Oleanolsäure und im Gypsogenin in trans-Stellung verknüpft und die Hydroxy-Gruppe sitzt in trans-Stellung zur Methyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 5. Eine analoge Konfiguration der asymmetrischen Kohlenstoffatome 2, 5 und 6 muss auch das  $\beta$ -Amyrin besitzen, welches aus den erwähnten Triterpenen ohne Berührung dieser Asymmetriezentren erhalten wurde. Vgl. dazu L. Ruzicka und G. Giacomello, Helv. **19**, 1136 (1936); **20**, 299 (1937), sowie L. Ruzicka und H. Schellenberg, Helv. **20**, 1553 (1937).

<sup>5)</sup> L. Ruzicka, M. Furter und M. W. Goldberg, Helv. **21**, 506 (1938).

$\beta$ -Amyrins (welches dieselbe Konfiguration besitzen soll wie das epi-Cholestan-ol-(3)) leichter verseift, als das Acetat des epi- $\beta$ -Amyrins (vgl. Tabelle 1 im exp. Teil).

Es wäre naheliegend, für dieses verschiedene Verhalten der  $\beta$ -Amyrin-Ester die geminalen Methyl-Gruppen am Kohlenstoffatom 1 verantwortlich zu machen.

An Kalotten-Modellen, welche den von der röntgenographischen Untersuchung postulierten räumlichen Bau wiedergeben, kann man tatsächlich beobachten, dass die Hydroxy-Gruppe in epi- $\beta$ -Amyrin durch die geminalen Methyl-Gruppen — in Übereinstimmung mit den Verseifungsgeschwindigkeitsmessungen — stärker sterisch gehindert wird als in  $\beta$ -Amyrin. Die Kalotten-Modelle erlauben also auch in diesem Falle eine zufriedenstellende Interpretierung der Versuchsergebnisse mit Hilfe der Vorstellung der räumlichen Hinderung.

Die Acetate der epimeren  $\alpha$ -Amyrine verhalten sich beim Verseifen analog wie die entsprechenden Acetate der  $\beta$ -Reihe (vgl. Tabelle 2 im exp. Teil). Die Konstitution der  $\alpha$ -Amyrine ist noch nicht aufgeklärt, es ist jedoch nach Untersuchungen aus unserem Laboratorium wahrscheinlich, dass die Ringe A und B die gleiche oder doch eine sehr ähnliche Struktur wie im  $\beta$ -Amyrin besitzen<sup>1</sup>).

Der *Rockefeller Foundation* in New York danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil<sup>2</sup>).

Die verwendeten, in unserem Laboratorium hergestellten Präparate waren vor der Verseifung 48 Stunden im Hochvakuum getrocknet und analysiert. Die Verseifungsgeschwindigkeiten wurden nach dem von *M. Furter*<sup>3</sup>) ausgearbeiteten Halbmikroverfahren bestimmt. Als Verseifungsmittel kam bei allen Bestimmungen ein grosser Überschuss an 0,1-n. Kalilauge (etwa 11 cm<sup>3</sup>) zur Anwendung.

Vergleich der Verseifungsgeschwindigkeiten von  $\beta$ -Amyrin-acetat und epi- $\beta$ -Amyrin-acetat.

Das  $\beta$ -Amyrin-acetat schmolz bei 240° (Gef. C 81,80 H 11,16%), das epi- $\beta$ -Amyrin-acetat<sup>4</sup>) schmolz bei 129—130° (Gef. C 81,91 H 11,05%).

Tabelle 1.

| Temp.     | Zeit     | Verbindung | Einwage mg | Verbr. cm <sup>3</sup> 0,1-n. KOH | Verseift % | Verhältnis |
|-----------|----------|------------|------------|-----------------------------------|------------|------------|
| 20° ± 1°  | 20 Stdn. | norm.      | 20,005     | 0,021                             | 4,9        | 1 : 7,6    |
|           |          | epi        | 20,002     | 0,159                             | 37,2       |            |
| 76° ± 2°  | 90'      | norm.      | 20,182     | 0,085                             | 19,7       | 1 : 3,5    |
|           |          | epi        | 20,165     | 0,294                             | 68,4       |            |
| Rückfluss | 60'      | norm.      | 20,180     | 0,162                             | 37,6       | 1 : 2,4    |
|           |          | epi        | 20,079     | 0,387                             | 90,4       |            |

<sup>1</sup>) Nach unveröffentlichten Versuchen von *W. Ingold* und *E. Volli*; vgl. auch *L. Ruzicka*, *O. Jeger* und *E. Volli*, *Helv.* **28**, 767 (1945).

<sup>2</sup>) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>3</sup>) *Helv.* **21**, 601 (1938).

<sup>4</sup>) *L. Ruzicka* und *W. Wirz*, *Helv.* **23**, 132 (1940); **24**, 248 (1941).



Vergleich der Verseifungsgeschwindigkeiten von  $\alpha$ -Amyrin-acetat und epi- $\alpha$ -Amyrin-acetat.

Das verwendete  $\alpha$ -Amyrin-acetat schmolz bei 224—225° (Gef. C 81,98 H 11,15). Das bisher nicht beschriebene epi- $\alpha$ -Amyrinacetat wurde von Hrn. *J. Redel*<sup>1)</sup> aus  $\alpha$ -Amyron durch Hydrierung mit *Raney*-Nickel, chromatographische Trennung der Epimeren an Aluminiumoxyd und Acetylierung hergestellt, Smp. 134—135°.

$$[\alpha]_D = +36^\circ \quad (c = 0,689 \text{ in Chloroform})$$

3,808 mg Subst. gaben 11,448 mg CO<sub>2</sub> und 3,867 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>32</sub>H<sub>52</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 81,99 H 11,18%

Gef. „ 82,04 „ 11,36%

Tabelle 2.

| Temp.          | Zeit     | Ver-<br>bindung | Einwage<br>mg | Verbr. cm <sup>3</sup><br>0,1-n. KOH | Verseift<br>% | Ver-<br>hältnis |
|----------------|----------|-----------------|---------------|--------------------------------------|---------------|-----------------|
| 20° ± 1°       | 30 Stdn. | norm.           | 19,972        | 0,074                                | 17,4          | 1 : 4,7         |
|                |          | epi             | 19,583        | 0,345                                | 82,5          |                 |
| 76° ± 2°       | 80'      | norm.           | 20,088        | 0,081                                | 18,9          | 1 : 2,8         |
|                |          | epi             | 20,173        | 0,230                                | 53,5          |                 |
| Rück-<br>fluss | 70'      | norm.           | 20,295        | 0,262                                | 60,5          | 1 : 1,7         |
|                |          | epi             | 20,238        | 0,432                                | 100,0         |                 |

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

Errata.

Helv. **28**, 502 (1945), Mémoire no. 66 par *E. Briner* et *H. Karbassi*, 2ième ligne, lire «2536 (10)» au lieu de «2636 (10)».

Helv. **28**, 594 (1945), mémoire *Louis Chardonnens* et *Charles Perriard*, ligne 21 du haut, lire «... partis de l'acide 4-méthyl-5-nitro-2-chloro-» au lieu de «partis de l'acide 4-méthyl-2-nitro-2-chloro-».

<sup>1)</sup> Diss. E.T.H. Zürich 1945.