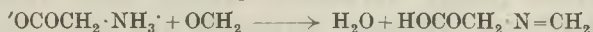


138. Über den Einfluss von Lösungsmittel und Temperatur auf die Stärke von Aminosäuren

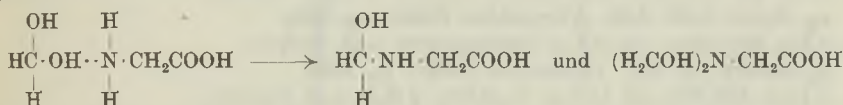
von Thor J. G. Lönning und W. D. Treadwell.

(14. VII. 45)

Die Säureverstärkung, welche der Formoltitration nach *Soerensen* zugrunde liegt, scheint nicht auf der Bildung einer *Schiff'schen* Base im Sinne der Gleichung:



zu beruhen, sondern auf einer Anlagerung der Enolform des Formaldehyds ($\text{HCOH}=\text{}$) an die Aminogruppe, wie *Levy* und *Silbermann*¹⁾, *Balson* und *Lawson*²⁾ und *Tomiyama*³⁾ gezeigt haben. Wahrscheinlich wird zunächst das entsprechende Hydrat angelagert, worauf dann insbesondere die folgenden beiden Anlagerungsprodukte leicht gebildet werden könnten:



Wadsworth und *Pangborn*⁴⁾ bewiesen durch Fällung mit Dimedon den sehr langsamen Verlauf der Bildung von *Schiff'scher* Base. Durch Versuche aus unserem Laboratorium sind diese Ergebnisse für verdünnte Lösungen weiter ergänzt und gestützt worden⁵⁾.

Es schien nun interessant, neben Formaldehyd auch noch andere Zusätze mit reaktionsfähigem Sauerstoff- resp. Hydroxyl bezüglich ihrer Fähigkeit zur Beeinflussung der Dissoziation der Aminosäuren zu prüfen.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Beeinflussung der Acidität von verdünnten wässrigen Aminosäurelösungen durch Aceton, Propionaldehyd und Äthylalkohol untersucht. Bei der lockeren Anlagerung des Formaldehyds an die in wässriger Lösung vorliegenden Aminosäuren war eine besonders empfindliche Temperaturabhängigkeit der resultierenden Säureverstärkung zu erwarten. Es wurde daher versucht, die Temperaturabhängigkeit der p_H -Werte einiger Aminosäuren in Formaldehyd sorgfältig zu bestimmen.

Zur Ausführung der Titrationsen in Gegenwart von Aldehyden und Alkoholen ist die Verwendung der Glaselektrode unerlässlich.

¹⁾ J. Biol. Ch. 118, 737 (1937).

²⁾ Biochem. Z. 30, 1257 (1936).

³⁾ J. Biol. Ch. 111, 51 (1935).

⁴⁾ J. Biol. Ch. 116, 423 (1936).

⁵⁾ Vgl. Helv. 28, 945 (1945); J. Bergsland, Diss. E.T.H. (1944).

Diese wurde nach den Angaben von *Mac Innes* und *Dole*¹⁾ und nach den von *J. Bergsland*²⁾ gemachten Erfahrungen hergestellt.

Verwendet wurde Corning 015-Glas von der Zusammensetzung 7,2 g SiO₂, 0,6 g CaO und 3,8 g Na₂CO₃. Kleine Stückchen dieses Glases wurden an die Enden von Glasröhren aus gewöhnlichem Biegeglas angeschmolzen und zu Kugeln von 0,5—2 cm Durchmesser aufgeblasen. Es empfiehlt sich, bei dieser Operation rasch und in der Sauerstoffflamme zu arbeiten, um eine Vermischung der beiden Glassorten zu vermeiden.

Es hat sich als sehr zweckmässig erwiesen, die Elektrode mit einer Pufferlösung zu füllen, in der man etwas Agar-Agar gelatinieren lässt, um der Membran vermehrte Festigkeit zu verleihen. Durch kleine Erweiterungen in dem Rohr der Elektrode, wenig oberhalb der Membran, wird der Agar-Agarsäule der nötige Halt im Rohr erteilt.

Zur Titration der Aminosäuren wurde stets sorgfältig gereinigte carbonatfreie Lauge verwendet, welche nach Vorschrift von *I. M. Kolthoff*³⁾ aus „Öllauge“ hergestellt und durch Titration mit der Glaselektrode gegen reinste Oxalsäure eingestellt wurde. Die Aufbewahrung erfolgte in Jenaer-Flaschen unter peinlichstem Abschluss gegen Kohlensäure.

Für die Eichung der Elektroden dienten die folgenden Pufferlösungen:

1. 0,1-n. HCl mit 0,1-m. Glykokoll in 0,1-n. NaCl nach *Sörensen*.
p_H-Bereich 1,04—3,68. Verwendeter Puffer: p_H 3,34.
2. 0,2-m. Essigsäure mit 0,2-m. Natriumacetat nach *Walpole*.
p_H-Bereich 3,6—5,6. Verwendeter Puffer: p_H 4,60.
3. 1/15-m. KH₂PO₄ mit 1/15-m. Na₂HPO₄ · 2 H₂O nach *Sörensen*.
p_H-Bereich 5,59—8,04. Verwendeter Puffer: p_H 5,91, p_H 7,73.
4. 0,05-m. Soda mit 0,05-m. Borax nach *Kolthoff*.
p_H-Bereich 9,2—11,0. Verwendeter Puffer: p_H 10,00.

Die verwendeten Aminosäuren waren Präparate der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G.*, Basel⁴⁾. Ihre Kontrolle wurde durch Mikroanalyse, *Kjeldahl*-Bestimmungen, sowie durch Formoltitration vorgenommen und ergab, dass die verwendeten Produkte analysenrein waren.

I. Titration von Glykokoll in Aceton.

Zur Bestimmung der Dissoziationskonstanten von Glykokoll in Aceton war reinstes säurefreies Aceton erforderlich, das in folgender Weise hergestellt wurde:

Reines käufliches Aceton wurde zunächst 1 Stunde mit Permanganat gekocht, um es von reduzierenden Verunreinigungen zu befreien, dann wurde abdestilliert, hierauf über Kalk gekocht, um vorhandene Säure und Wasser zu binden. Eine weitere Destillation lieferte dann das gewünschte reine Produkt.

20 cm³ des auf diese Weise hergestellten Acetons wurden mit 22 cm³ Wasser versetzt und hierauf mit 0,1-n. NaOH ($f = 1,084$) bei 16° C mit der Glaselektrode titriert.

¹⁾ Am. Soc. 52, 29 (1930).

²⁾ Diss. E.T.H. (1944).

³⁾ Massanalyse II. Teil, 2. Aufl. 80 (1931).

⁴⁾ Wir möchten der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co., A.G.*, Basel, auch an dieser Stelle für die Überlassung der Aminosäurepräparate unsern besten Dank aussprechen.

Fig. 1, A, zeigt die erhaltene Kurve, aus der zu ersehen ist, dass das Aceton keine Spur von freier Säure enthält.

Mit steigender Alkalität ist indessen eine zunehmende Bindung von Hydroxylyion zu erkennen, welche wohl von der Enolisierung des Acetons herrührt. Schon bei $p_H = 9$ an ist dieser Effekt merklich und muss bei Endpunkten, die noch weiter im alkalischen Gebiet liegen, durch eine entsprechende Korrektur berücksichtigt werden. Das ist z. B. bei der Titration des Glykokolls in Aceton der Fall, da hier der Endpunkt erst bei $p_H = 11,44$ auftritt, wie aus der Kurve B in Fig. 1 zu ersehen ist.

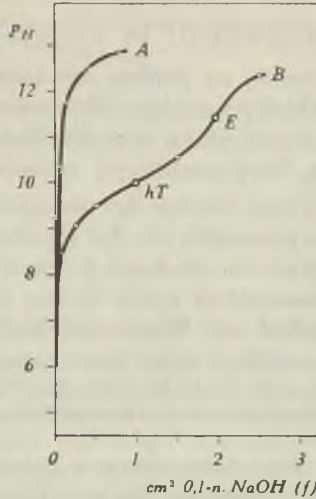


Fig. 1.

Zur Orientierung über den Verlauf der Titrationskurve sei der p_H -Wert bei hälftiger Titration angegeben, der die konventionelle Dissoziationskonstante p_K respektive k_s bestimmt. Die p_H -Werte am Anfang und am Ende der Titration $p_H(\Delta)$ und $p_H(E)$ können leicht aus der Kurve abgelesen werden.

Fig. 1, Kurve A, zeigt die Titration von 42 cm³ 47,7 Vol.proz. Aceton mit 0,1-n. NaOH ($f = 1,084$) bei 16° C. Kurve B ist die entsprechende Titration von 42 cm³ 0,00447-m. Glykokoll in 47,7 Vol.proz. Aceton mit 0,1-n. NaOH ($f = 1,084$) bei 16° C.

Endpunkt gef.	= 2,122 cm ³ 0,1-n. NaOH
Sollwert	= 2,00 „ „ „
p_K (halbe Titr.)	= 10
k_s	= $1,00 \times 10^{-10}$ (16° C)

Der Wendepunkt am Ende der Titration liegt bei $p_H = 11,44$. Aceton verbraucht bei diesem p_H -Werte 0,1084 cm³ 0,1-n. NaOH. Wenn man diese Korrektur von dem gefundenen Wert, 2,122 cm³ 0,1-n. NaOH, abzieht, bekommt man einen Laugeverbrauch von 2,014 cm³ 0,1-n. NaOH, was mit dem Sollwert von 2,00 cm³ sehr gut übereinstimmt.

Bei Titration von Glykokoll in wässriger Lösung findet man $p_K = 9,74$ und den Potentialsprung des Endpunktes bei $p_H = 10,97$,

also ganz ähnliche Werte wie bei der Laugetitration von Glykokoll in Aceton. Es scheint sich hier die Säureschwächung durch das Lösungsmittel und die Beeinflussung der Aminogruppe durch das Aceton praktisch aufzuheben. Es ist daher auch durch hohe Acetonkonzentrationen eine Säureverstärkung des Glykokolls gegenüber wässriger Lösung nicht erzielbar, wie die folgenden beiden Bestimmungen zeigen:

p _K von Glykokoll in	Wasser	= 9,74
	47,7 Vol. proz. Aceton	= 10,00
	72 „ „ „	= 9,99

II. Titration von Glykokoll in Propionaldehydlösung.

Es schien von Interesse, zu prüfen, ob auch noch mit Propionaldehyd eine dem Formaldehyd analoge Säureverstärkung von Aminosäuren bewirkt werden kann. Dazu war die Herstellung von reinem, vollkommen säurefreiem Propionaldehyd erforderlich.

Es hat sich gezeigt, dass infolge der sehr leicht erfolgenden Disproportionierung des Propionaldehyds die Herstellung der säurefreien reinen Lösung noch heikler ist als beim Formaldehyd. Die Oxydierbarkeit durch den Luftsauerstoff spielt neben der Neigung zur Disproportionierung in Alkohol und Säure eine untergeordnete Rolle.

Da der technische Propionaldehyd wegen seines Säuregehaltes nicht verwendbar ist, wurde die Reindarstellung nach *W. L. Mc Ewen* und *W. H. Carothers*¹⁾ durch Zutropfen einer Lösung von Kaliumdichromat in wässriger Schwefelsäure zu Propylalkohol versucht.

Die Reaktion wurde in einem Dreihalskolben ausgeführt, der mit Tropftrichter, Rührwerk und Rückflusskühler versehen war. Der unter 45° eingesetzte Rückflusskühler wurde mit Wasser auf einer Temperatur von 60° gehalten. An diesen Kühler war ein zweiter absteigender Kühler angeschlossen, durch welchen Eiswasser geleitet wurde. Am untern Ende desselben war noch eine mit Eiswasser gekühlte Spiralvorlage angeschlossen, in welcher der übergende Propionaldehyd aufgefangen wurde. Die Dichromatlösung wurde in Zeit von 30 Minuten zugesetzt. Die Ausbeute an Aldehyd hängt stark von der Leistung des Rührers ab. Der erhaltene Propionaldehyd wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und in einem mit Eiswasser gekühlten *Widmer*-Kolben fraktioniert. Die bei 46,5—47,5° übergende Fraktion besteht aus reinem Propionaldehyd. Zur Kontrolle wurde der Brechungsindex bestimmt, welcher bei 19° C 1,365 betrug, was bis zur dritten Dezimale mit dem in der Literatur angegebenen Wert übereinstimmt.

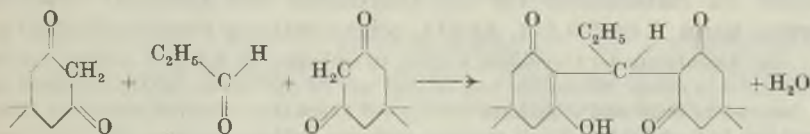
Bei der Titration mit der Glaselektrode konnten aber immer noch merkliche Mengen von Säure in der wässrigen Lösung des Aldehyds festgestellt werden. Es wurde daher versucht, diese nach folgenden Methoden abzutrennen:

Da durch Überleiten von dampfförmigem Propionaldehyd über Calciumoxyd, das auf 60° gehalten wurde, der Aldehyd nicht vollständig von Säure befreit wurde, wurde versucht, der wässrigen Lösung des Propionaldehyds die vorhandenen Spuren Säure durch Schütteln mit Hydrogencarbonat zu entziehen. Hierauf wurde der Aldehyd in Benzol aufgenommen und dann durch fraktionierte Destillation aus der Benzolschicht abgetrennt. Der übergende Aldehyd war nun frei von Säure, enthielt aber noch merkliche Mengen von Benzol.

¹⁾ *Organic Synthesis* **XII**, 64 (1932).

In einigen weitern Versuchen wurde der Propionaldehyd kontinuierlich in kochende Kalkmilch eintropfen gelassen und gleichzeitig abdestilliert. Trotz der kurzen Berührungszeit mit der Kalkmilch trat merkliche Polymerisation und spurenweise Disproportionierung ein, so dass bei der elektrometrischen Titration ein Säuregehalt des Aldehyds erkennbar wurde. Es gelang dann aber schliesslich, den Aldehyd aus der mit Kalkwasser versetzten Lösung in schonender Weise abzudestillieren, so dass ein säurefreies Destillat erhalten wurde. Zu dem Zwecke wurden 10 cm³ des nach dem eingangs erwähnten Verfahren hergestellten konzentrierten Propionaldehyds mit gesättigter Kalkmilch bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt und hierauf vorsichtig bei gewöhnlichem Druck destilliert. Die bis 85° C übergehende Fraktion wurde aufgefangen und in einem kleinen Widmer-Kölbchen von 20 cm³ und einer Rektifizierkolonne von 14 cm weiterfraktioniert. Hierbei gingen 4 cm³ reiner Aldehyd bei 46,5—47,5° C über, aus welchen nun eine 10-proz. wässrige Lösung hergestellt wurde. Die nächsten 2 cm³ gingen bereits in dem weiten Temperaturintervall von 47,5—135° C über und enthielten wohl schon merkliche Mengen von Methyl-äthyl-acrolein, Sdp. 758,6 mm = 137,3° C (korr.)¹⁾, das nach Hoppe²⁾ leicht beim Erhitzen von Propionaldehyd entsteht.

Bestimmung von Propionaldehyd: Das Kondensationsprodukt von Propionaldehyd mit Dimedon nach der Gleichung:



konnte in 80-proz. Alkohol scharf mit Lauge titriert werden, wobei die phenolische Gruppe neutralisiert wird.

Trotzdem eignet sich die Dimedonmethode nicht zur Bestimmung von Propionaldehyd in verdünnter Lösung. Nach *D. Vorländer*³⁾ ist die Reaktion erst nach 6 Stunden beendet. Es wurde gefunden, dass 5 mg Propionaldehyd in 5 cm³ Wasser mit 25 cm³ gesättigter Dimedonlösung (ca. 0,4 g Dimedon in 100 cm³ Wasser) nach 12 Stunden noch nicht quantitativ umgesetzt war. Selbst nach weiterem 2-tägigem Warten fiel nichts mehr aus. Der Niederschlag wurde abfiltriert, in wenig Äthanol gelöst und dann nach Zusatz von etwas Wasser (zur Schonung der Elektrode) mit der Glaselektrode unter Verwendung von 0,1-n. NaOH aus einer Mikrobürette titriert. Hierbei wurden nur 73,8% des Sollwertes gefunden. Die restlichen 26,2% des Propionaldehyds waren also selbst nach 2-tägiger Wartezeit noch nicht ausgefallen.

Als zuverlässigste Methode erweist sich die argentometrische, wobei der Aldehyd mit einem Überschuss von Silberoxyd in schwach alkalischer Lösung zur Säure oxydiert wird. Durch Zurückmessen des unverbrauchten Silberoxyds kann die Menge des oxydierten Aldehyds genau ermittelt werden.

In der Reihe der aliphatischen Aldehyde nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit mit wachsender Länge der Kohlenstoffkette ab. Es ist daher wichtig, die Oxydation bei optimaler Alkalität vorzunehmen. *Stapp* und *Fricke*⁴⁾ verwenden zur Oxydation des Propionaldehyds Silberdiamminoxyd in einer Lösung mit möglichst kleinem Ammoniaküberschuss. Ein grosserer Ammoniakgehalt verschiebt das

¹⁾ *Lieben* und *Zeisel*, M. **4**, 16 (1883).

²⁾ M. **9**, 637 (1888).

³⁾ Z. anal. Ch. **77**, 241 (1929).

⁴⁾ Z. physikal. Ch. **116**, 293 (1921); **118**, 241 (1922).

Oxydationspotential der Silberlösung so stark nach der negativen Seite, dass damit keine vollständige Oxydation des Aldehyds mehr erzielt werden kann. *Stapp* und *Fricke* vermieden die Anwendung einer alkalihydroxydhaltigen Lösung, weil sie befürchteten, dass eine solche zu merklicher Disproportionierung des Aldehyds in Alkohol und Säure nach *Cannizzaro* Anlass geben könnte. Nun hat aber *Ponndorf* gezeigt, dass diese Gefahr nur bei höherer Aldehydkonzentration besteht und dass die Oxydation von verdünntem Aldehyd beim Erwärmen mit Silberoxyd bei mässiger Alkalihydroxydkonzentration rasch und quantitativ vonstatten geht.

In der erkalteten Lösung wird das unverbrauchte Silberoxyd durch vorsichtiges Ansäuern mit Schwefelsäure gelöst und dann sofort mit einem Überschuss von 0,1-n. KJ umgesetzt. In einer aliquoten Menge des Filtrates wird nun das im Überschuss vorhandene KJ mit 0,002-n. AgNO_3 zurückgemessen, woraus der Verbrauch an Silbernitrat für die Oxydation des Aldehyds bestimmt werden kann. 1 cm^3 0,1-n. AgNO_3 zeigt 2,903 mg Propionaldehyd an.

Zur Ausführung der Oxydation wurden 10 cm^3 einer ca. 0,4-proz. Lösung von Propionaldehyd in einem Messkolben von 50 cm^3 mit 15 cm^3 0,1-n. AgNO_3 vermischt und bei dauerndem Schütteln allmählich auf ca. 70° C erwärmt. Hierbei wurde der Lösung allmählich 10,5 cm^3 0,2-n. Alkali zugefügt und zum Schluss, nachdem die Hauptmenge des Aldehyds schon oxydiert war, noch 2 cm^3 50-proz. Kalilauge.

Nach dem Abkühlen wurde die Lösung mit 50-proz. Schwefelsäure schwach angesäuert, dann mit 15 cm^3 0,1-n. KJ versetzt und mit Wasser auf 50 cm^3 verdünnt. In 40 cm^3 des Filtrates wurde der Überschuss des Kaliumjodids mit Silbernitrat zurücktitriert. Mit dieser Arbeitsweise wurden befriedigende Resultate erhalten.

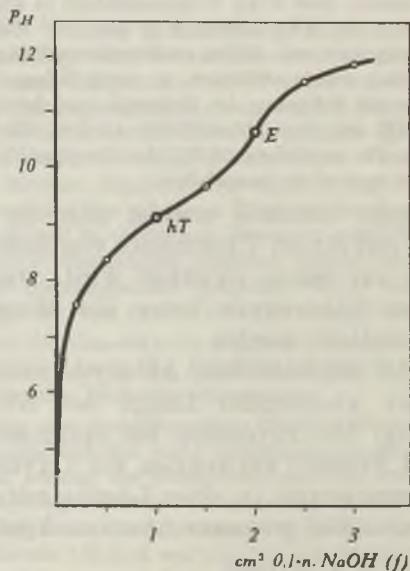


Fig. 2.

Titration von 20 cm^3 0,01-m. Glykokoll in 10 Vol.proz. Propionaldehyd mit 0,1-n. NaOH bei 19° C.

Fig. 2 zeigt die Titration von 20 cm³ 0,01-m. Glykokoll in 10 Vol.proz. Propionaldehyd mit 0,1-n. NaOH bei 19° C, wobei der besseren Übersicht wegen nur einige der sehr zahlreich aufgenommenen Messpunkte eingetragen sind. Die Titration lässt keine Spur eines Säuregehaltes des Lösungsmittels erkennen. Der Endpunkt stimmt mit dem Sollwert genau überein:

Endpunkt gef.	= 2,00 cm ³ 0,1-n. NaOH
Sollwert	= 2,00 „ „ „
p _K (halbe Titr.)	= 9,14
k _s	= 7,25 × 10 ⁻¹⁰ (19° C)

Gegenüber der wässrigen Lösung (p_K = 9,74) ist in Propionaldehyd nur eine ganz geringfügige Säureverstärkung festzustellen. Die Titration von Glykokoll in einer dem angewandten Propionaldehyd äquivalenten Lösung von Formaldehyd (10 Vol.proz. Propionaldehyd entspricht 5,2 Vol.proz. Formaldehyd) findet man einen p_K-Wert von 6,59 gegenüber 9,14 in Propionaldehyd.

III. Titrationsen und p_K-Bestimmungen von Aminosäuren in wässrig-alkoholischer Lösung und in dem ternären System von Wasser-Alkohol-Formaldehyd.

Über den Einfluss von Alkohol auf die Acidität von Aminosäuren liegen bereits zahlreiche Arbeiten vor. Zur Bestimmung der scheinbaren Dissoziationskonstanten in alkoholhaltigen Lösungen benutzten u. a. *Harris*¹⁾ und *Martens*²⁾ die Indikatormethode. Diese Autoren fanden, dass der Alkohol sich im Sinne einer Erhöhung des p_K-Wertes auswirkt. Nach den von *Michaelis* und *Mizutani*³⁾ durchgeführten Untersuchungen mit der Wasserstoffelektrode beruht nun aber der erwähnte Effekt des Alkohols nur zum kleinen Teil auf einer Veränderung der Dissoziationsverhältnisse der Aminosäure. Weit bedeutender ist die gleichzeitig eintretende Veränderung im Umschlagsgebiet des Indikators. Dies wird u. a. von *Kolthoff*⁴⁾, *Hammet*⁵⁾, *Neuberger*⁶⁾ und von *Jukes* und *Schmidt*⁷⁾ bestätigt. *P. M. Richardson*⁸⁾ diskutiert u. a. den Einfluss von Alkohol bei der Titration von Aminosäuren im Lichte der Zwitterionenhypothese.

Da die Einstellung der Potentiale mit der Wasserstoffelektrode in alkoholischen und formaldehydhaltigen Lösungen oft nur langsam erfolgt, schien es von Interesse, den Einfluss von Alkohol auf die

1) Proc. Roy. Soc. London [B] **95**, 500 (1923—24).

2) Bull. Soc. chim. biol. **9**, 454 (1927).

3) Z. physikal. Ch. **116**, 135 (1925).

4) J. Phys. Chem. **35**, 2732 (1931).

5) Am. Soc. **50**, 2666 (1928).

6) Proc. Roy. Soc. London [B] **115**, 180 (1934), und die weitere Literatur daselbst und bei 7).

7) J. Biol. Chem. **105**, 359 (1934).

8) Proc. Roy. Soc. London [B] **115**, 121 (1934) und die weitere Literatur daselbst.

Acidität von Aminosäuren und Aminosäure-Formaldehyd-Gemische auch mit der Glaselektrode zu untersuchen.

Ausführung der Versuche: Die analysenreinen Lösungen der Aminosäuren wurden mit peinlich von Kohlensäure befreiter Natronlauge unter Verwendung von Mikrobüretten titriert. Als Potentialsonde diente die weiter oben beschriebene, selbst hergestellte Glaselektrode. Die Potentiale wurde mit einem Röhrenvoltmeter gemessen. Die p_K -Werte ergaben sich aus den Titrationskurven als die p_H -Werte bei hälftiger Neutralisation. In den folgenden Titrationskurven und der angeschlossenen Tabelle sind die erhaltenen Ergebnisse zusammengestellt.

Fig. 3 zeigt die Titrationskurven von 20 cm³ 0,1-m. Glykokoll in verschiedenen Konzentrationen von Äthanol und Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH ($f = 1,2172$) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm³, Endvolumen 21,64 cm³. (Die Volumenkontraktion ist nicht berücksichtigt worden.)

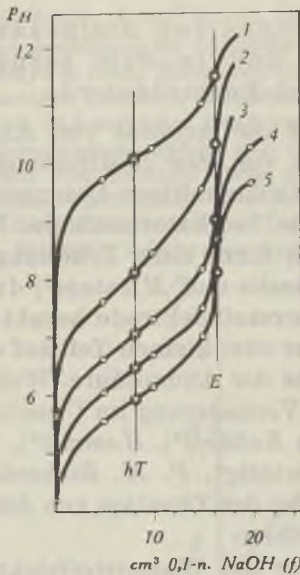


Fig. 3.

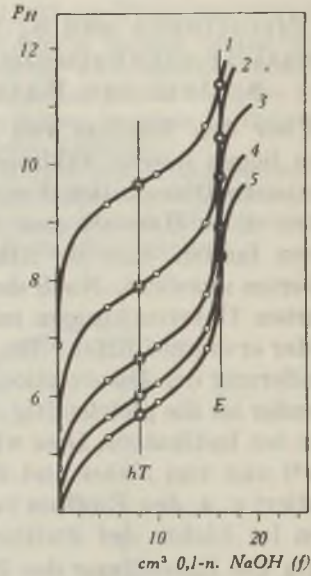


Fig. 4.

Kurve 1. 0,01-m. Glykokoll in 80-proz. Äthanol

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH

Sollwert = 2,00 „ „ „

p_K (halbe Titr.) = 9,93

k_s = $1,02 \times 10^{-10}$

Kurve 2. 0,01-m. Glykokoll in 75-proz. Äthanol und 0,70-proz. Formaldehyd

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH

Sollwert = 2,00 „ „ „

p_K (halbe Titr.) = 8,28

k_s = $5,25 \times 10^{-9}$

Kurve 3. 0,01-m. Glykokoll in 50-proz. Äthanol und 4,17-proz. Formaldehyd

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH

Sollwert = 2,00 „ „ „

p_K (halbe Titr.) = 7,71

k_s = 1,95 × 10⁻⁸

Kurve 4. 0,01-m. Glykokoll in 25-proz. Äthanol und 7,65-proz. Formaldehyd

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH

Sollwert = 2,00 „ „ „

p_K (halbe Titr.) = 7,35

k_s = 4,47 × 10⁻⁸

Kurve 5. 0,01-m. Glykokoll in 11,13-proz. Formaldehyd

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH

Sollwert = 2,00 „ „ „

p_K (halbe Titr.) = 6,06

k_s = 8,17 × 10⁻⁷

Fig. 4 zeigt die Titrationen von 20 cm³ 0,01-m. Serin in verschiedenen Konzentrationen von Äthanol und Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH ($f = 1,2172$) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm³, Endvolumen 21,64 cm³. (Die Volumenkontraktion ist nicht berücksichtigt worden.)

Kurve 1. 0,01-m. Serin in 80-proz. Äthanol

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH

Sollwert = 2,00 „ „ „

p_K (halbe Titr.) = 9,47

k_s = 3,39 × 10⁻¹⁰ (16° C)

Kurve 2. 0,01-m. Serin in 75-proz. Äthanol und 0,70-proz. Formaldehyd

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH

Sollwert = 2,00 „ „ „

p_K (halbe Titr.) = 7,87

k_s = 1,35 × 10⁻⁸ (16° C)

Kurve 3. 0,01-m. Serin in 50-proz. Äthanol und 4,17-proz. Formaldehyd

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH

Sollwert = 2,00 „ „ „

p_K (halbe Titr.) = 6,58

k_s = 2,63 × 10⁻⁷ (16° C)

Kurve 4. 0,01-m. Serin in 25-proz. Äthanol und 7,65-proz. Formaldehyd

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH

Sollwert = 2,00 „ „ „

p_K (halbe Titr.) = 5,97

k_s = 1,01 × 10⁻⁶ (16° C)

Kurve 5. 0,01-m. Serin in 11,13-proz. Formaldehyd

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH

Sollwert = 2,00 „ „ „

p_K (halbe Titr.) = 5,58

k_s = 2,63 × 10⁻⁶ (16° C)

Fig. 5 zeigt die Titrationskurven von 20 cm³ 0,01-m. Histidin in verschiedenen Konzentrationen von Äthanol und Formaldehyd mit 0,1-n. NaOH ($f = 1,0840$) bei 16° C. Anfangsvolumen 20 cm³, Endvolumen 21,84 cm³. (Die Volumenkontraktion ist nicht berücksichtigt worden.)

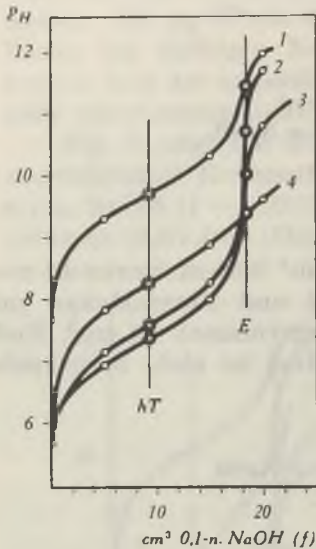


Fig. 5.

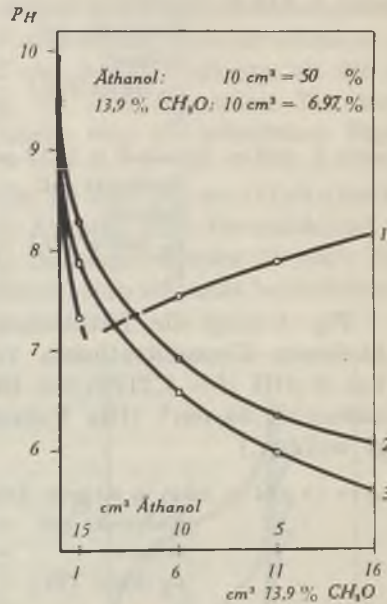


Fig. 6.

Kurve 1. 0,01-m. Histidin in 80-proz. Äthanol

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH
 Sollwert = 2,00 „ „ „
 p_K (halbe Titr.) = 9,53
 k_s = $2,95 \times 10^{-10}$ (16° C)

Kurve 2. 0,01-m. Histidin in 75-proz. Äthanol und 4,17-proz. Formaldehyd

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH
 Sollwert = 2,00 „ „ „
 p_K (halbe Titr.) = 7,32
 k_s = $4,78 \times 10^{-8}$ (16° C)

Kurve 3. 0,01-m. Histidin in 50-proz. Äthanol und 4,17-proz. Formaldehyd

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH
 Sollwert = 2,00 „ „ „
 p_K (halbe Titr.) = 7,53
 k_s = $2,95 \times 10^{-8}$ (16° C)

Kurve 4. 0,01-m. Histidin in 11,13-proz. Formaldehyd

Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH
 Sollwert = 2,00 „ „ „
 p_K (halbe Titr.) = 8,16
 k_s = $6,92 \times 10^{-9}$ (16° C)

In Fig. 6 sind die p_K -Werte der Aminosäuren aus den Figuren 3, 4 und 5 als Funktion der Konzentration von Äthanol und Formaldehyd aufgetragen. Die Kurven stellen dar:

1. p_K -Werte von 0,01-m. Histidin
2. p_K -Werte von 0,01-m. Glykokoll
3. p_K -Werte bei 0,01-m. Serin.

Fig. 7 zeigt die Titration von 25 cm³ 0,008-m. α -Alanin in verschiedenen Konzentrationen von Äthanol mit 0,1-n. NaOH ($f = 1,2171$) bei 18° C. (Die Volumenkontraktion bei der Herstellung der Lösungen ist berücksichtigt worden.)

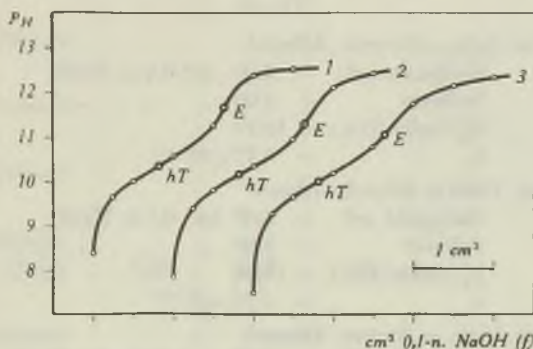


Fig. 7

Kurve 1. 0,008-m. α -Alanin in 70-proz. Äthanol

Endpunkt gef.	=	1,99 cm ³ 0,1-n. NaOH
Sollwert	=	2,00 „ „ „
p_K (halbe Titr.)	=	10,30
k_s	=	$5,02 \times 10^{-11}$

Kurve 2. 0,008-m. α -Alanin in 50-proz. Äthanol

Endpunkt gef.	=	2,02 cm ³ 0,1-n. NaOH
Sollwert	=	2,00 „ „ „
p_K (halbe Titr.)	=	10,22
k_s	=	$6,03 \times 10^{-11}$

Kurve 3. 0,008-m. α -Alanin in 30-proz. Äthanol

Endpunkt gef.	=	1,99 cm ³ 0,1-n. NaOH
Sollwert	=	2,00 „ „ „
p_K (halbe Titr.)	=	10,04
k_s	=	$9,12 \times 10^{-11}$

Fig. 8 zeigt die Titration von 25 cm³ 0,008-m. Valin in verschiedenen Konzentrationen von Äthanol mit 0,1-n. NaOH ($f = 1,2171$) bei 18° C. (Die Volumenkontraktion bei der Herstellung der Lösungen ist nicht berücksichtigt worden.)

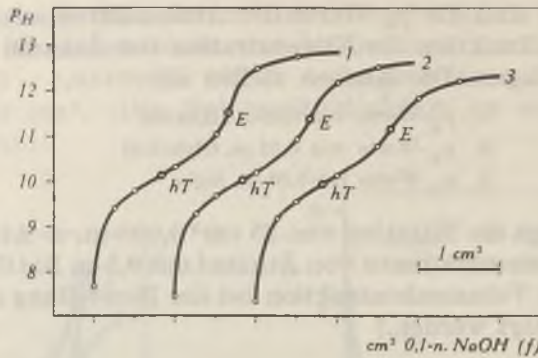


Fig. 8.

- Kurve 1. 0,008-m. Valin in 70-proz. Äthanol
 Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH
 Sollwert = 2,00 „ „ „
 p_K (halbe Titr.) = 10,17
 k_s = 6,77 × 10⁻¹¹
- Kurve 2. 0,008-m. Valin in 50-proz. Äthanol
 Endpunkt gef. = 2,00 cm³ 0,1-n. NaOH
 Sollwert = 2,00 „ „ „
 p_K (halbe Titr.) = 10,06
 k_s = 8,71 × 10⁻¹¹
- Kurve 3. 0,008-m. Valin in 30-proz. Äthanol
 Endpunkt gef. = 1,99 cm³ 0,1-n. NaOH
 Sollwert = 2,00 „ „ „
 p_K (halbe Titr.) = 10,01
 k_s = 9,77 × 10⁻¹¹

Die erhaltenen p_K-Werte der Aminosäuren in wässrig alkoholischer Lösung und in dem ternären System von Wasser-Alkohol-Formaldehyd sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Wie aus den Kurven von Fig. 3–8 und der Tab. 1 zu ersehen ist, verursacht der Zusatz von Alkohol zur wässrigen Lösung der Aminosäuren nur eine sehr geringe Steigerung des p_K-Wertes. In 70–80-proz. Alkohol vergrößert sich der p_K-Wert um 0,3–0,6 Einheiten. Bei gleicher Veränderung des Lösungsmittels sind von *Michaelis* und *Mizutani*¹⁾ ähnliche Aciditätsverschiebungen im p_{OH}-Wert von Ammoniak und Anilin beobachtet worden, während bei Monocarbonsäuren die Säureschwächung, d. h. der Anstieg des p_H-Wertes, 1–2,5 Einheiten betrug.

Der geringe Einfluss des Alkohols auf die Dissoziation der Aminosäuren könnte darauf beruhen, dass hier die Dissoziation der freien Säure durch den Alkohol in ähnlicher Weise vermindert wird, wie die innere Salzbildung. Diese beiden gleichartigen Ionisa-

¹⁾ Bioch. Z. 147, 7 (1924); Z. physikal. Ch. 116, 135, 350 (1925), 118, 318 (1925).

tionsverschiebungen würden eine geringe Abhängigkeit der Säurestärke der Aminosäure vom Alkoholgehalt des Lösungsmittels vortäuschen.

Tabelle 1.

p_K -Werte von Aminosäuren in wässrig-alkoholischer Lösung und in dem ternären System von Wasser-Alkohol-Formaldehyd

Lösungsmittel	Glykokoll	Histidin	Serin	α -Alanin	Valin
Wasser	9,74 ¹⁾	9,51 ¹⁾	9,15 ²⁾	9,68 ³⁾	9,64 ⁴⁾
80% Äthanol 16° C	9,93	9,53	9,47		
70% Äthanol 18° C				10,30	10,17
50% Äthanol 18° C				10,22	10,06
30% Äthanol 18° C				10,04	10,01
75% Äthanol 0,70% CH ₂ O 16° C	8,28	7,32	7,87		
50% Äthanol 4,17% CH ₂ O 16° C	7,91	7,53	6,58		
25% Äthanol 7,65% CH ₂ O 16° C	7,35	7,88	5,97		
11,13 CH ₂ O 16° C	6,06	8,16	5,58		
90% Äthanol 18° C		9,28 ⁵⁾		10,09 ⁵⁾	
72% Äthanol 25° C	9,82 ⁶⁾ 9,99 ⁷⁾	9,45 ⁶⁾		10,02 ⁶⁾	9,73 ⁶⁾

Die säureverstärkende Wirkung des Formaldehyds auf die Aminosäuren wird durch einen Zusatz von Alkohol weitgehend kompensiert. Entgegen dem üblichen Verhalten der Aminosäuren zeigt

1) Siehe unsere vorhergehende Mitteilung.
 2) Kirk und Schmidt, J. Biol. Chem. **81**, 237 (1929).
 3) Branch und Miyamoto, Am. Soc. **52**, 863 (1930).
 4) Kirk und Schmidt, Univ. Calif. Pub. Physiol. **7**, 57 (1929).
 5) Neuberger, Proc. Roy. Soc. London [B] **115**, 180 (1934).
 6) Jukes und Schmidt, J. Biol. Chem. **105**, 359 (1934).
 7) Michaelis und Mizutani, Z. physikal. Ch. **116**, 135 (1925).

Histidin in 75-proz. Äthanol schon bei Zusatz von 0,7 % Formaldehyd einen minimalen p_K -Wert von 7,32. Durch einen weiteren Zusatz von Formaldehyd wird der p_K -Wert erheblich erhöht. In wässrigem Formaldehyd von 11 % steigt er auf 8,16. In 80-proz. Äthanol wird praktisch derselbe Wert wie in Wasser, nämlich $p_K = 9,5$, beobachtet. Das abnormale Minimum des p_K -Wertes von Histidin beim Zusatz von Formaldehyd scheint in alkoholischen Lösungen noch deutlicher hervorzutreten als in wässriger Lösung.

IV. Bestimmung des Temperaturkoeffizienten der scheinbaren Dissoziationskonstanten von Aminosäuren.

Um einen weiteren Einblick in die Natur der Säureverstärkung der Aminosäuren beim Zusatz von Formaldehyd zu gewinnen, wurde versucht, die Temperaturabhängigkeit der Dissoziationskonstanten von einigen Aminosäuren zu ermitteln. Zu dem Zweck wurden reine Lösungen der Aminosäuren in $4,77 \times 10^{-3}$ -m. Konzentration in 10,42-proz. Formaldehyd mit reiner Natronlauge hälftig neutralisiert und der p_H -Wert mit der Glaselektrode im Temperaturbereich von $8-35^\circ \text{C}$ gemessen.

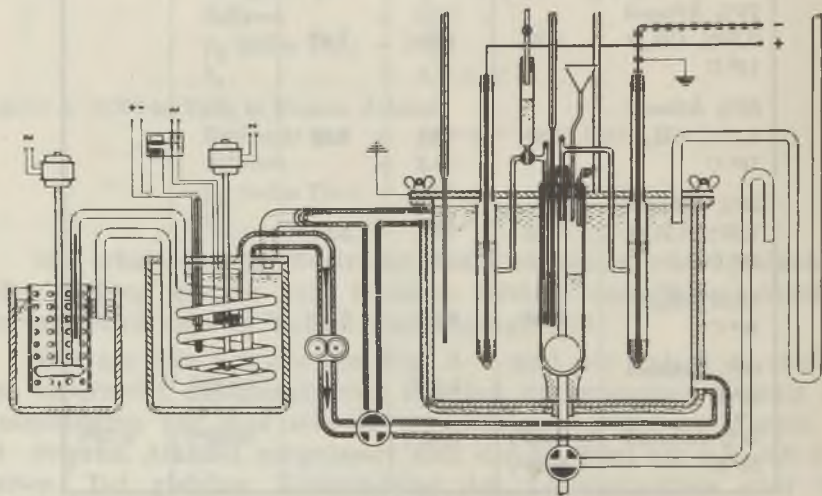


Fig. 9.

Apparat zur Bestimmung des Temperaturkoeffizienten der Dissoziationskonstanten von Aminosäuren.

Zur Ausführung der Bestimmungen wurde der in Fig. 9 abgebildete Apparat gebaut. Rechts auf der Figur ist der Messthermostat mit der Glaselektrode und den angeschlossenen beiden Kalomelektroden zu sehen, die sich in einem Ölthermostaten befinden, dessen Füllung durch eine Zahnradpumpe im Umlauf gehalten wird. Der Messthermostat war mit einem genauen Kontrollthermometer und einem Manometer versehen, um den Überdruck im umlaufenden Öl messen zu können. In dem mittleren Gefäß erfolgte die Erwärmung des Öls mit einem elektrisch gesteuerten Tauchsieder. Zur raschen Einstellung einer bestimmten Temperatur wurde der mit einem Relais gesteuerten elektrischen Er-

wärmung eine Abkühlung des Öls mit Hilfe der Kühlwasserspirale in dem mittleren Gefäss entgegengeschaltet. Für die mittleren Temperaturen genügte hierzu Leitungswasser von genau eingestellter Stromgeschwindigkeit. Für die tiefen Temperaturen wurde mit Hilfe eines *Höppler*-Thermostaten Eiswasser aus dem links gezeichneten Gefäss mit Hilfe einer Zentrifugalpumpe in genau regulierter Geschwindigkeit durch die im Öl liegende Spirale geleitet.

Die Temperatur der Zelle wurde unmittelbar über der Glaselektrode mit einem empfindlichen Thermometer gemessen und konnte auf $\pm 0,1^\circ\text{C}$ konstant gehalten werden.

Der in den Ölkreislauf eingeschaltete Dreiweghahn diente dazu, um während der Potentialmessungen auf „Leerlauf“ umschalten zu können, so dass die Beobachtungen bei ruhendem Öl, ungestört von eventuellen Reibungseffekten, gemacht werden konnten. Es zeigte sich indessen, dass die Potentialmessungen durch das umlaufende Öl nicht merklich beeinflusst wurden.

Als Messelektrode diente eine selbst hergestellte Kugelglaselektrode aus *Corning* 015-Glas nach den Angaben bei *Bergsländ*¹⁾. Die Glaselektrode wurde mit einem Acetatpuffer von $p_{\text{H}} = 4,6$ gefüllt. Als Ableitungselektrode diente eine gesättigte Kalomелеlektrode mit einem Agar-Agarheber, der mit einem Acetatpuffer von $p_{\text{H}} = 4,6$ durchtränkt war. Als Vergleichselektrode diente ebenfalls eine gesättigte Kalomелеlektrode, die mit einem Dreiweghahn und einem mit Kaliumchlorid gefüllten Verbindungsheber versehen war. Vor jeder Messung wurde der Dreiweghahn so gestellt, dass etwas Kaliumchlorid durch das Verbindungsrohr der Vergleichselektrode mit gelindem Luftdruck ausgepresst werden konnte. Das Rohr war unten durch einen Wattepfropfen verschlossen. Mit der scharfen Flüssigkeitsgrenze werden gut definierte Potentiale erhalten.

Am untern Ende der Messzelle war eine mit Dreiweghahn versehene Kapillare angeschmolzen. Durch diese konnte zum Rühren der Lösung Stickstoff eingeleitet werden. Gleichzeitig diente die Kapillare auch zum Ablassen der gemessenen Lösungen.

Zur Vermeidung von Kriechströmen waren die aus dem Thermostaten herausragenden Teile der Elektroden sorgfältig paraffiniert, ebenso die Schenkel derselben, welche durch einen ebenfalls paraffinierten Gummistopfen geführt waren. Das Ableitungskabel von der Glaselektrode war sorgfältig abgeschirmt und der Messthermostat geerdet. Der Übergang von mittleren Messtemperaturen zu den nächsthöheren benötigte Wartezeiten von 20–30 Minuten. Im Bereich der Temperaturen um 0°C waren hierzu 3 bis 4 Stunden erforderlich.

Die Potentiale der Aminosäuren wurden mit den Potentialen von geeigneten Puffern auf S. 1058 verglichen, deren Temperaturkoeffizienten genau bekannt sind.

Die resultierende Aciditätsverschiebung rührt von der Änderung der Dissoziation der gebildeten Formaldehyd-Aminosäure und von der Änderung des Gleichgewichtes ihrer Bildung aus der freien Aminosäure und dem vorhandenen Formaldehyd her. Hierbei darf wohl angenommen werden, dass die lockere Anlagerung des Formaldehyds an die Aminosäure sich als besonders temperaturempfindlich erweist, so dass eher grössere latente Wärmen zu erwarten sind als bei der Dissoziation analoger Monocarbonsäuren in wässriger Lösung.

Aus dem Temperaturkoeffizienten der (scheinbaren) Dissoziationskonstanten ergibt sich die zugehörige latente Wärme nach der *van t'Hoff*'schen Gleichung wie folgt:

$$\Delta H = \frac{-d \ln K_s}{dT} \cdot RT^2 = 2,303 \cdot R \cdot \frac{d \log K_s}{d(1/T)} = 4,571 \frac{d(\log K_s)}{d(1/T)} \quad (1)$$

Die Temperaturabhängigkeit der latenten Wärme ΔH erhält man nach dem *Kirchhoff*'schen Gesetz aus der Differenz der Wärme-

¹⁾ l. c.

kapazität ΔC_p der bei der Reaktion verschwindenden und entstehenden Stoffe:

$$\Delta C_p = \frac{\delta \Delta H}{\delta T} \quad (2)$$

Bei sehr genauer Messung können interessante Angaben über die Temperaturabhängigkeit des Wärmeinhaltes der reagierenden Bestandteile des Systems gewonnen werden. So fand *H. O. Jenkins*¹⁾ bei der Untersuchung des Temperaturkoeffizienten von Monocarbonsäuren in verdünnter wässriger Lösung, dass $\Delta C_p/dn = 4,51$, wobei *n* die Zahl der Kohlenstoffatome in der Fettsäure bedeutet.

Zur Darstellung der Gleichgewichtskonstanten schwacher Säuren als Temperaturfunktion sind in neuerer Zeit die folgenden Ansätze vorgeschlagen worden:

$$\ln K = A/T + B \ln T + CT + D^2 \quad (3)$$

$$\ln K = A/T - B + CT^3 \quad (4)$$

$$\ln K = A/T + \frac{\Delta C_p}{R} \ln T + B^4 \quad (5)$$

$$\ln K = A/T + \frac{B \ln T}{T} + \frac{C \ln^2 T}{T} + D^5 \quad (6)$$

Durch Differentiation der oben erwähnten Gleichungen 3 bis 6 nach $1/T$ erhält man ΔH . Eine weitere Differentiation nach T liefert ΔC_p als Temperaturfunktion:

$$\Delta H = (A - BT - CT^2) R \quad (3a)$$

$$\Delta C_p = (-B - 2CT) R \quad (3b)$$

$$\Delta H = (A - CT^2) R \quad (4a)$$

$$\Delta C_p = -2CTR \quad (4b)$$

$$\Delta H = \left(A - \frac{\Delta C_p}{R} T \right) R \quad (5a)$$

$$\Delta C_p = -\Delta C_p \quad (5b)$$

$$\Delta H = (A + B \ln T - B + C \ln^2 T - 2C \ln T) R \quad (6a)$$

$$\Delta C_p = \left(\frac{B - 2C}{T} + \frac{2C \ln T}{T} \right) R \quad (6b)$$

Zumal bei komplizierter zusammengesetzten Lösungen, deren Wärmeeigenschaften man nicht überblicken kann, wird man genötigt sein, den rechnerisch leicht auswertbaren Ansatz:

$$\log K_s = \frac{A}{T} + B + CT + DT^2 \quad (7)$$

zu verwenden mit den rein empirischen Konstanten *A*, *B*, *C* und *D*.

¹⁾ *Trans. Faraday Soc.* **40**, 19 (1944).

²⁾ *Harned und Owen, Chem. Rev.* **25**, 31 (1939).

³⁾ *Harned und Robinson, Trans. Faraday Soc.* **36**, 973 (1940).

⁴⁾ *Everett und Wynne-Jones, Trans. Faraday Soc.* **35**, 1380 (1939).

⁵⁾ *H. O. Jenkins, Trans. Faraday Soc.* **40**, 19 (1944).

Aus (7) folgt:

$$\Delta H = 4,571 \cdot \frac{d(\log K)}{d(1/T)} = 4,571 \cdot (A - CT^2 - 2DT^3) \quad (8)$$

Aus (8) folgt:

$$-\Delta C_p = \frac{d(H)}{dT} = 4,571 \cdot (2CT + 6DT^2) \quad (9)$$

In Tab. 2 sind die p_K -Werte zusammengestellt, welche mit den untersuchten $4,77 \times 10^{-3}$ -m. Aminosäuren in 10,42 Gew.proz. Formaldehyd erhalten worden sind.

Tabelle 2.

	308° K	298° K	289° K	281° K
1. Asparaginsäure	4,00	4,03	4,08	4,14
2. Serin	5,59	5,65	5,73	5,82
3. Glykokoll . . .	5,95	5,985	6,04	6,10
4. β -Alanin	6,33	6,42	6,53	6,65
5. Phenylalanin . .	6,88	7,01	7,15	7,29
6. Leucin	6,965	7,17	7,38	7,59
7. Isoleucin	7,455	7,60	7,745	7,91
8. Oxyprolin . . .	7,59	7,72	7,85	7,99
9. Sarkosin	7,73	7,86	8,00	8,16

Die p_K -Werte der obigen Tabelle wurden zunächst gegen $1/T$ aufgetragen, wobei, wie Fig. 10 zeigt, praktisch gerade Linien erhalten wurden, gemäss dem Ansatz:

$$\lg K_s = A/T + B \quad \dots \dots \dots (10)$$

somit:

$$\Delta H = R \cdot \frac{d \ln K}{d(1/T)} = 4,571 \cdot A \text{ und } \Delta C_p = \frac{d\Delta H}{dT} = 0 \quad (11)$$

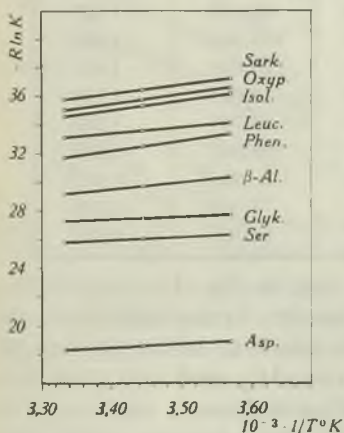


Fig. 10.

$-R \ln K$ von $4,77 \times 10^{-3}$ -m. Aminosäuren in 10,42-proz. CH_2O in Funktion von $1/T$.

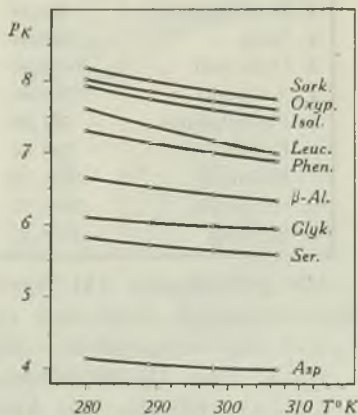


Fig. 11.

p_K -Werte von $4,77 \times 10^{-3}$ -m. Aminosäuren in 10,42-proz. CH_2O in Funktion von T .

Für die untersuchten Aminosäuren sind in Tab. 3 die Konstanten A und B von Gl. 10 und die Werte von ΔH der Gl. 11 zusammengestellt.

Tabelle 3.

	A	B	ΔH
1. Asparaginsäure	- 448,7	- 2,543	2051
2. Serin	- 737,2	- 3,196	3370
3. Glykokoll . . .	- 480,8	- 4,3889	2198
4. β -Alanin	- 1025,6	- 2,9999	4688
5. Phenylalanin . .	- 1314,1	- 2,6131	6007
6. Leucin	- 2003,2	- 0,4635	9157
7. Isoleucin	- 1458,3	- 2,7199	6666
8. Oxyprolin . . .	- 1282	- 3,4274	5860
9. Sarkosin	- 1378,2	- 3,255	6300

Wenn indessen die p_K -Werte gegen die empfindlichere unabhängige Variable T aufgetragen werden, so tritt eine deutliche Temperaturabhängigkeit in Erscheinung, wie die graphische Darstellung in Fig. 11 erkennen lässt.

Es schien nun interessant, die Kurven von Fig. 11 mit Hilfe von Gl. 7 darzustellen. Hierzu reichten die Daten von Tab. 2 eben aus. Die erhaltenen Konstanten sind in Tab. 4a, die zugehörigen Werte von ΔH und ΔC_p in Tab. 4b zusammengestellt.

Tabelle 4a.

Die Konstanten von Gl. 7.

Substanz	A	B	$C \times 10^{-3}$	$D \times 10^{-4}$
1. Asparaginsäure	521,16	- 21,49	95,256	- 1,427
2. Serin	340,84	- 24,15	105,160	- 1,574
3. Glykokoll . . .	1443,56	- 31,37	116,640	- 1,601
4. β -Alanin	160,40	- 25,96	115,00	- 1,720
5. Phenylalanin . .	- 521,29	- 19,00	83,757	- 1,263
6. Leucin	- 581,44	- 22,26	98,941	- 1,401
7. Isoleucin	- 4681,56	18,25	- 30,648	- 0,112
8. Oxyprolin . . .	- 2686,63	2,20	3,664	- 0,338
9. Sarkosin	- 3288,12	2,58	26,100	- 0,828

Die gefundenen ΔH -Werte zeigen den in Fig. 12 dargestellten Temperaturgang, dem eine praktisch lineare Veränderlichkeit von ΔC_p mit der Temperatur entspricht, wie aus Fig. 13 zu ersehen ist.

Die in Tab. 4b angeführten Werte von ΔC_p sind von ganz ähnlicher Grösse wie die von *Everett* und *Wynne-Jones*¹⁾ und von *Jenkins*²⁾ angeführten analogen Werte für wässrige Lösungen zahlreicher

¹⁾ Trans. Faraday Soc. **35**, 1384 (1939).

²⁾ Trans. Faraday Soc. **45**, 22 (1944).

organischer Säuren. Für die zugehörige latente Wärme kommen im Gegensatz zu Tab. 4b ΔH -Werte mit wechselndem Vorzeichen vor, die nur vereinzelt den Wert von 3000 gcal erreichen und mehrheitlich sogar unter 1000 gcal bleiben.

Tabelle 4b.
 ΔH - und ΔC_p -Werte nach Gl. 8 und 9.

Substanz	ΔH gcal				ΔC_p gcal			
	308° K	298° K	289° K	281° K	308° K	298° K	289° K	281° K
1. Aspara- ginsäure .	806,12	1760,95	2495,10	2791,98	-103,05	- 88,04	- 75,21	- 64,33
2. Serin .	1998,43	3049,08	3856,65	4182,21	-113,41	- 96,86	- 82,71	- 70,12
3. Glykokoll	1214,66	2015,34	2603,09	2732,55	- 88,11	- 72,17	- 58,57	- 47,07
4. β -Alanin .	3190,25	4335,998	5216,40	5570,37	-123,69	-105,62	- 90,16	- 77,06
5. Phenyl- alanin .	4965,55	5825,92	6489,02	6763,27	- 92,76	- 79,43	- 68,02	- 58,35
6. Leucin .	8138,50	8925,78	9520,23	9694,14	- 85,91	- 71,67	- 59,51	- 49,23
7. Isoleucin .	5126,08	6256,32	7233,95	8051,43	-115,36	-110,70	-106,56	-102,92
8. Oxyprolin	4851,68	5600,33	6229,73	6693,33	- 77,52	- 72,24	- 67,65	- 63,70
9. Sarkosin .	4496,21	5841,88	6956,67	7724,14	-140,19	-128,81	-119,08	-110,68

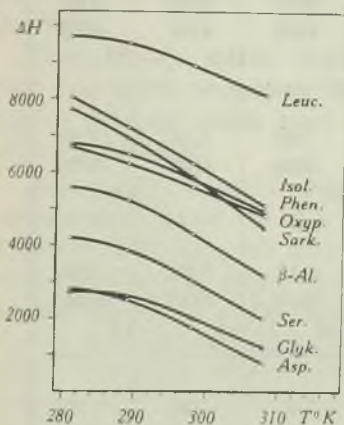


Fig. 12.

ΔH von $4,77 \times 10^{-3}$ -m. Aminosäuren
in 10,42-proz. CH_2O in Funktion von T.

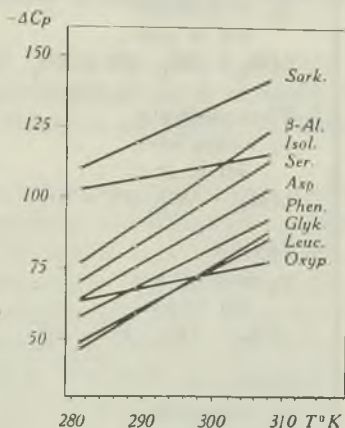


Fig. 13.

ΔC_p von $4,77 \times 10^{-3}$ -m. Aminosäuren
in 10,42-proz. CH_2O in Funktion von T.

Es ist nun zu bemerken, dass die in Tab. 4b enthaltenen Wärmedaten auf sehr kleinen in der Nähe der Messfehler liegenden Änderungen der p_K -Werte mit der Temperatur beruhen, wie aus folgendem zu ersehen ist: Nimmt man auf graphischem Wege einen Ausgleich der p_K -Werte innerhalb von 0,01 p_K für die einzelnen Punkte, im Sinne einer Streckung der Kurven, vor, um die Werte der latenten Wärmen bei Annahme der geringst zulässigen Änderung der Wärmekapazität zu erfahren, so erhält man die ΔH -Werte der Tab. 5.

Tabelle 5.

ΔH und ΔC_p aus den graphisch ausgeglichenen p_K -Werten

Substanz	Temperatur der Messpunkte			
	308° K	298° K	289° K	281° K
1. Asparaginsäure				
p_K ausgeglichen	3,99	4,04	4,08	4,13
ΔH in gcal	1953	1990	2088	2166
$(\Delta H_{T_1} - \Delta H_{T_2})/\Delta T = \Delta C_p$		-3,7	-10,9	-9,8
2. Serin				
p_K ausgeglichen	5,58	5,66	5,74	5,82
ΔH in gcal	3292	3380	3456	3519
$(\Delta H_{T_1} - \Delta H_{T_2})/\Delta T = \Delta C_p$		-8,8	-3,4	-7,9
3. Glykokoll				
p_K ausgeglichen	5,94	6,00	6,04	6,09
ΔH in gcal	2151	2195	2266	2374
$(\Delta H_{T_1} - \Delta H_{T_2})/\Delta T = \Delta C_p$		-4,4	-7,8	-13,5
4. β -Alanin				
p_K ausgeglichen	6,32	6,44	6,54	6,64
ΔH in gcal	4625	4656	4761	4822
$(\Delta H_{T_1} - \Delta H_{T_2})/\Delta T = \Delta C_p$		-3,1	-11,7	-7,6
5. Phenylalanin				
p_K ausgeglichen	6,88	7,02	7,16	7,28
ΔH in gcal	5937	5978	6007	6020
$(\Delta H_{T_1} - \Delta H_{T_2})/\Delta T = \Delta C_p$		-4,1	-3,2	-1,6
6. Leucin				
p_K ausgeglichen	6,96	7,17	7,38	7,58
ΔH in gcal	8938	9113	9117	9145
$(\Delta H_{T_1} - \Delta H_{T_2})/\Delta T = \Delta C_p$		-17,5	-0,4	-3,5
7. Isoleucin				
p_K ausgeglichen	7,45	7,61	7,75	7,90
ΔH in gcal	6601	6615	6693	6796
$(\Delta H_{T_1} - \Delta H_{T_2})/\Delta T = \Delta C_p$		-1,4	-8,7	-12,9
8. Oxyprolin				
p_K ausgeglichen	7,58	7,72	7,86	7,98
ΔH in gcal	5824	5844	5897	5922
$(\Delta H_{T_1} - \Delta H_{T_2})/\Delta T = \Delta C_p$		-2,0	-5,9	-3,1
9. Sarkosin				
p_K ausgeglichen	7,72	7,87	8,01	8,15
ΔH in gcal	6166	6230	6271	6325
$(\Delta H_{T_1} - \Delta H_{T_2})/\Delta T = \Delta C_p$		-6,4	-4,6	-5,8

Aus den hohen Werten der Wärmetönungen ΔH der Tab. 4b und 5 darf wohl geschlossen werden, dass die Temperaturänderung der Dissoziationskonstanten der Aminosäuren in Formaldehyd vorwiegend auf einer Verschiebung vom reversiblen Gleichgewicht der Anlagerungsverbindung zwischen Aminosäuren und Formaldehyd beruht. Die früher besprochene Annahme einer lockeren Anlagerung des Formaldehyds an die Aminosäure als Ursache der Säureverstärkung scheint durch die gefundenen positiven und hohen latenten Wärmen ΔH gestützt zu werden.

V. Leitfähigkeitsmessungen.

Von besonderem Interesse war die Frage nach dem zeitlichen Verlauf der Leitfähigkeit vom Moment der Einwirkung des Formaldehyds an gerechnet. Wenn nämlich die Säureverstärkung auf der Bildung einer *Schiff'schen* Base beruhen würde, so wäre mit Rücksicht auf die meist viele Stunden dauernde Bildung derselben in verdünnter Lösung ein entsprechend langsamer Anstieg der Leitfähigkeit zu erwarten. Beruht dagegen die Säureverstärkung auf der reversiblen Anlagerung der Enolform des Formaldehyds an die Aminogruppe, so sollte ein entsprechend rascher Anstieg der Leitfähigkeit eintreten.

Diese Frage wurde bei Glykokoll, β -Alanin und *d*-Arginin geprüft und dabei gefunden, dass die Leitfähigkeit auch in stark verdünnter Lösung schon nach wenigen Minuten zu einem stationären Endwert ansteigt.

Messungen bei 25° C ergaben, dass 0,3-m. Glykokoll in 5,57-proz. Formaldehyd nach 85 Sek. eine konstante Leitfähigkeit aufweist. In dieser Zeit trat ein Anstieg der anfänglichen Leitfähigkeit um das 8,46-fache ein. Bei 0,05-m. β -Alanin, in 8,27-proz. Formaldehyd, war Konstanz der Leitfähigkeit nach 90 Sek. erreicht. In dieser Zeit trat ein Anstieg der anfänglichen Leitfähigkeit um das 3,63-fache ein. 0,05-m. *d*-Arginin zeigte unter denselben Versuchsbedingungen wie β -Alanin eine Sonderstellung. Schon nach 16 Sek. war ein Maximum der Leitfähigkeit erreicht, wobei dieselbe auf den 1,71-sten Betrag des Anfangswertes anstieg. Dann folgte eine langsame Abnahme, welche nach 360 Sek. konstant wurde und nun noch das 1,28-fache des Anfangswertes betrug. Diesem Verhalten entsprechend zeigt auch das *d*-Arginin bei der potentiometrischen Titration eine Sonderstellung, indem auch hier die Säureverstärkung mit Formaldehyd für die potentiometrische Titration versagt.

In konzentrierteren Lösungen, jedoch mit relativ geringerem Gehalt an Formaldehyd, hat *E. Baur*¹⁾ bei Glykokoll und Alanin einen ähnlichen zeitlichen Anstieg der Leitfähigkeit beobachtet wie

¹⁾ Helv. 24, 1024 (1941).

in Tab. 6. *Baur* deutet diese raschen Änderungen der Leitfähigkeit als Bildung und Zerfall von Methinkomplexen (*Schiff'sche Basen*), was nach *Wadsworth* und *Pangborn*¹⁾ und nach den Befunden in unserer vorhergehenden Mitteilung nicht zutreffend ist.

Tabelle 6.

Zeitliche Änderung der Leitfähigkeit einer wässrigen Lösung von CH_2O durch Zugabe von fester Aminosäure bei 25° C.

Aminosäure	konz. CH_2O %	Zeit Sek.	$\Omega^{-1} \times 10^{-4}$
0,3-m. Glykokoll	5,57	0	0,8
		20	3,30
		35	3,92
		47	5,4
		62	6,25
		72	6,45
		85	6,77
		92	6,77
		107	6,77
		125	6,77
140	6,77		
0,05-m. β -Alanin	8,27	0	0,79
		20	2,52
		45	2,78
		64	2,82
		90	2,86
		114	2,87
		130	2,87
		180	2,87
0,05-m. <i>d</i> -Arginin	8,27	0	0,79
		16	1,35
		28	1,30
		45	1,25
		62	1,21
		81	1,17
		107	1,16
		125	1,12
		165	1,09
		190	1,08
		210	1,07
		240	1,05
		287	1,02
360	1,01		
430	1,01		

¹⁾ J. Biol. Chem. 116, 425 (1936).

Zur Berechnung der Dissoziationskonstanten sind die obigen Relativmessungen der Leitfähigkeit nicht ausreichend. Bei den durch Formaldehyd verstärkten Aminosäuren liefert indessen die konduktometrische Titration auch noch mit 0,05-m. Lösungen bei Titration mit 0,1-n. NaOH gute Resultate.

Zusammenfassung.

Es wurde die scheinbare Dissoziationskonstante von Glykokoll in wässrigem Aceton von 47,7 Vol.proz. und in Propionaldehyd von 10 Gew.proz. mit der Glaselektrode gemessen.

In gleicher Weise wurden die scheinbaren Dissoziationskonstanten einiger Aminosäuren in wässrigem Alkohol und in Wasser-Alkohol-Formaldehyd-Mischungen bestimmt.

Es wurde der Temperaturkoeffizient der scheinbaren Dissoziationskonstanten von einigen Aminosäuren in wässrigem Formaldehyd ermittelt und der zeitliche Verlauf der Leitfähigkeit beim Eintragen von Glykokoll, β -Alanin und *d*-Arginin in verdünnte wässrige Formaldehydlösungen gemessen. Die hierbei gewonnenen Resultate stützen die Annahme, dass die Säureverstärkung von Aminosäuren durch Formaldehyd in einer reversibel erfolgenden, raschen Anlagerung des Formaldehyds an die Aminogruppe erfolgt.

Laboratorium für anorganische Chemie
Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

139. Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus.

7. Über Belastungsversuche mit *d*- und *l*-Aminosäuren

von S. Edlbacher und Karl Schmid.

(18. VII. 45)

Über das Schicksal der verschiedenen Aminosäuren der *d*- und *l*-Reihe im tierischen Organismus wurden hauptsächlich Untersuchungen auf enzymchemischer Grundlage durchgeführt. Ausgehend von den ersten Versuchen von A. Krebs und O. Warburg über die Funktion der *d*- und *l*-Aminosäure-oxydasen im tierischen Organismus, sowie ausgehend von Untersuchungen über das Schicksal des Arginins und Histidins, die speziell von dem Einen von uns in einer Anzahl von Abhandlungen beschrieben wurden, stellten wir uns die Frage, wie sich diese verschiedenen oxydativen und hydrolytischen Enzymsysteme am Gesamtorganismus auswirken. Die eminente Aktivität

der *d*-Aminosäure-oxydase steht im Widerspruch zu Belastungsversuchen verschiedener Autoren, welche zeigten, dass ein grosser Teil der *d*-Aminosäuren den Organismus unverändert passieren kann. Diese Diskrepanz zwischen Enzymaktivität *in vitro* und dem Verhalten der *d*-Aminosäuren *in vivo* bedarf also einer Klärung. In den vorangegangenen Arbeiten¹⁾ dieser Reihe haben wir das Verhalten der *d*- und *l*-Aminosäure-oxydasen ausführlich beschrieben. Untersuchungen über Belastung mit *d*- und *l*-Aminosäuren wurden unseres Wissens zuerst von *J. Wohlgemuth*²⁾ mitgeteilt. Er injizierte Kaninchen racemische Aminosäuren wie Tyrosin, Leucin, Asparaginsäure und Glutaminsäure und konnte aus dem Harn der Tiere dann den grössten Teil der *d*-Formen wieder isolieren. Die Ausbeute an *d*-Glutaminsäure erreichte niemals auch nur annähernd den theoretischen Wert. Weiterhin haben *Neubauer* und Mitarbeiter³⁾ Versuche mit phenylsubstituierten racemischen Aminosäuren durchgeführt und dabei die *d*-Formen im Harn wiedergefunden. Da es sich bei letzteren um Aminosäuren handelt, die keine Eiweissbausteine sind, sagen diese Untersuchungen wenig über das Verhalten der *d*-Antipoden der natürlichen Aminosäuren im Organismus aus. *Abderhalden* und *Weil*⁴⁾ haben an Kaninchen einen Belastungsversuch mit *d,l*-Histidin beschrieben, und konnten dabei aus dem Harn optisch reines *d*-Histidin isolieren. Gemeinsam mit *Hanson* hat *Abderhalden*⁵⁾ dann später Belastungsversuche an Kaninchen wiederholt, indem er mehrere Tage hindurch *d*-Histidin spritzte, um eine Anpassung des tierischen Organismus im Sinne eines gesteigerten *d*-Abbaues zu beobachten, doch gelang dieser Nachweis nicht. Endlich haben *Abderhalden* und *Tetzner*⁶⁾ Belastungsversuche mit racemischem Alanin an verschiedenen Säugern und an der Taube durchgeführt. Sie fanden bei Injektion von *d*-Alanin speziell bei der Taube das von uns als „*Abderhalden-Schock*“ bezeichnete Phänomen. Über dieses wurde in der 3. Mitteilung dieser Reihe gemeinsam mit *O. Wiss*⁷⁾ berichtet. Gemeinsam mit *H. Baur* und *R. Staehelin*⁸⁾ hat der Eine von uns Belastungsversuche am Meerschweinchen mit *d*- und *l*-Histidin unternommen, die zu dem Ergebnis führten, dass nur sehr geringe Mengen des *d*-Histidins bei diesen Tieren retiniert wurden. Im Anschluss an diese Untersuchungen haben dann *Holtz* und *Credner*⁹⁾ solche Belastungsversuche mit *d*-Histidin am Meerschweinchen und

¹⁾ Helv. 27, 151, 928, 1060, 1824, 1831 (1944); 28, 797 (1945).

²⁾ B. 38, 2064 (1905).

³⁾ Arch. klin. Med. 95, 211 (1919).

⁴⁾ Z. physiol. Ch. 77, 435 (1912).

⁵⁾ Fermentf. 15, 374 (1937).

⁶⁾ Z. physiol. Ch. 232, 81 (1935).

⁷⁾ Helv. 27, 1070 (1944).

⁸⁾ Z. physiol. Ch. 270, 165 (1940).

⁹⁾ Z. physiol. Ch. 280, 1 (1944).

an der Ratte wiederholt und konnten dabei das Ergebnis unserer Versuche am Meerschweinchen bestätigen, während sie nachweisen konnten, dass die Ratte einen viel grösseren Anteil an *d*-Histidin retiniert. Wie wir später zeigen werden, konnten auch wir diese Ergebnisse von *Holtz* reproduzieren. Die Untersuchungen über die Belastung mit *d*- und *l*-Histidin stehen in innigem Zusammenhang mit den Fütterungsversuchen amerikanischer Autoren. Als Erste haben *Cox* und *Rose*¹⁾ gezeigt, dass Ratten, die mit einer künstlichen Mischung von Aminosäuren gefüttert werden, auch dann weiter fortkommen können, wenn statt *l*-Histidin nur *d*-Histidin zur Kost zugesetzt wird. Die Tiere beginnen dann auch zu wachsen, nur etwas langsamer als diejenigen, die mit der natürlichen Aminosäure gefüttert wurden. In Fortsetzung dieser Untersuchungen haben dann *Schönheimer* und *Rittenberg*²⁾ auch über Untersuchungen berichtet, nach denen bei gleichzeitiger Verfütterung von *d*-Histidin und N¹⁵ (als Ammoniumcitrat) sich im Körpereiwiss nur N¹⁵-haltige Histidinformen vorfinden sollen. Endlich haben *Totter* und *Berg*³⁾ Ratten mit histidinfreier Diät gefüttert und *d*- bzw. *l*-Histidin der Kost zugefügt. Sie konnten dann zeigen, dass Gewichtszunahme eintrat, wenn Histidin in der Diät enthalten war. Bei der Hydrolyse des Körpereiwisses fanden sie dann nur die *l*-Form des Histidins. Zur Ergänzung sei hier noch erwähnt, dass ausserdem Untersuchungen über die Verwertbarkeit verschiedener *d*- und *l*-Aminosäuren durch Hefe durchgeführt wurden. Es sei hier auf die Versuche von *F. Ehrlich*⁴⁾ und *Neubauer* und *Fromherz*⁵⁾ hingewiesen.

Überblickt man diese vorliegende Literatur, so ergibt sich daraus, dass systematische Untersuchungen über das Verhalten von *d*-Aminosäuren im tierischen Organismus noch nicht ausgeführt wurden. Wir haben uns daher die Frage vorgelegt, wie sich der tierische Organismus bei der parenteralen Verabreichung verschiedener *d*-Aminosäuren verhält, und zwar insbesondere dann, wenn ihm solche *d*-Aminosäuren während längerer Zeit zugeführt werden. Als erste Aminosäure wurde das Verhalten der Asparaginsäure untersucht. Dazu war es zunächst notwendig, eine Methode zur Isolierung der Asparaginsäure aus dem Harn auszuarbeiten.

Methode zur Isolierung der Asparaginsäure aus Harn.

J. Wohlgemuth (l. c.) gibt ein Verfahren zur Isolierung der Asparaginsäure aus dem Harn an, indem aus dem mit Bleiacetat geklärten Harn die Asparaginsäure als Kupfersalz isoliert wird.

¹⁾ J. Biol. Chem. **68**, 78 (1926).

²⁾ J. Biol. Chem. **127**, 385 (1939).

³⁾ J. Biol. Chem. **117**, 351 (1935) und **127**, 375 (1939).

⁴⁾ Bioch. Z. **1**, 8 (1908).

⁵⁾ Z. physiol. Ch. **70**, 326 (1910).

Bei der Überprüfung dieser Methode gelang es uns aber nicht, diese dem Harn zugesetzte Aminosäure zu isolieren. Da Asparaginsäure auch als schwerlösliches Bleisalz gefällt werden kann, ist es sehr schwierig, die von Wohlgemuth eingehaltenen Bedingungen zu reproduzieren. Es musste deshalb diese Methode modifiziert werden. Zunächst untersuchten wir die Möglichkeit, die dem Harn zugesetzte Asparaginsäure durch Elektrodialyse zu isolieren. Dies hat sich als undurchführbar erwiesen. Auch die Anwendung der von Neuberger und Kerb¹⁾ beschriebenen Quecksilberfällung der Aminosäuren führte nicht zum Ziel. Es zeigte sich fernerhin, dass die im Harn vorhandenen Calciumsalze bei der Isolierung der Aminosäure sehr störend wirken. Bei der ursprünglichen Methode von Wohlgemuth stören auch die grossen Mengen Harnstoff, welche leicht zu Uraminosäurebildung führen, wenn die Flüssigkeit während der Isolierungsoperation erhitzt werden muss. In Kontrollversuchen konnten wir auch zeigen, dass eine verdünnte wässrige Lösung von Asparaginsäure, der die äquimolare Menge von 1,5 Mol Harnstoff und wenig Essigsäure zugesetzt war, nach zweistündigem Erhitzen auf dem Wasserbad schon so viel Uraminosäure enthielt, dass nur noch 76% der zugesetzten Asparaginsäure als Kupfersalz isoliert werden konnten. Um die zahlreichen anderen störenden Substanzen wie Harnfarbstoffe, Phosphate, Kolloide usw. zu entfernen, führten wir auch zahlreiche Versuche mit Adsorbentien aus, indem wir z. B. den salzsauren Harn mit Kaolin schüttelten und nach Fällung des Calciumphosphates den im Vakuum zur Trockne eingeeengten Harn mit Alkohol extrahierten, um so den Harnstoff zu entfernen. Nach dieser Methode liessen sich dann 78% der zugesetzten Asparaginsäuremenge wieder als Kupfersalz isolieren.

Da diese Methode für Serienversuche zu umständlich ist, musste aber ein anderer Weg beschritten werden. Derselbe bestand im Prinzip darin, dass das Calciumphosphat aus dem Harn gefällt wird. Dieses wirkt scheinbar als Adsorptionsmittel für die Harnkolloide. In diesem vom Calciumphosphat befreiten Filtrat lässt sich dann die Asparaginsäure direkt als Kupfersalz mit einer Ausbeute von durchschnittlich 81% der Theorie isolieren. Unsere Methode gestaltete sich also folgendermassen:

150—200 cm³ Harn werden mit konz. Salzsäure bis zur schwachen Kongoblaureaktion angesäuert. Da der Harn dabei stark schäumt, wird er mit einigen Tropfen Oktylalkohol versetzt. Nun wird durch eine Nutsche filtriert, um alle suspendierten Verunreinigungen zurückzuhalten. Das klare oder leicht getrübe Filtrat wird in der Saugflasche nun tropfenweise mit 30-proz. Natriumhydroxydlösung versetzt, bis alles Calciumphosphat ausgefällt ist. Der ausfallende Niederschlag adsorbiert nun, wie oben erwähnt, alle Kolloide, die die nachherige Isolierung stören. Nach einigem Stehen wird durch ein Faltenfilter filtriert und das nun ganz klare Filtrat mit konz. Salzsäure bis zur schwachen Kongoblauaufärbung angesäuert ($p_H = \text{ca. } 3,0$). In diese Flüssigkeit rührt man fein gepulvertes Kupferacetat ein und zwar pro Mol Asparaginsäure $1\frac{1}{2}$ Mol. Dann tropft man unter ständigem Umrühren wieder 30-proz. Natriumhydroxydlösung zu, bis die Lösung ein p_H von 4,8—5,0 hat (Kontrolle mit Bromphenolblaupapier). Es setzt sofort die Krystallisation des hellblauen Kupfersalzes der Asparaginsäure ein. Man bewahrt die Flüssigkeit zwei Tage lang im Eisschrank auf, saugt den Niederschlag auf der Nutsche ab, wäscht mit eiskaltem Wasser und lässt an der Luft trocknen. Die Ausbeute beträgt im Durchschnitt 81% der Theorie. In der Literatur wird öfters angegeben, dass die optisch reinen Formen schlechter krystallisieren als die Racemate. Dies ist bei der Bildung des asparaginsäuren Kupfers nicht der Fall. Die optisch reine Form sowie das Racemat lassen sich in ganz gleicher Weise isolieren.

Je 25 g des feingepulverten Kupfersalzes werden in einem Kolben von 2 Litern in 1,5 Liter destilliertem Wasser verteilt und auf dem Wasserbad erhitzt. In die heisse Lösung wird unter kräftigem Schütteln des Kolbens während $1\frac{1}{2}$ Stunden ein starker

¹⁾ Bioch. Z. 40, 438 (1912).

Strom von Schwefelwasserstoff geleitet. Infolge der sauren Reaktion der entstehenden Asparaginsäure fällt das Kupfersulfid vollständig aus. Der überschüssige Schwefelwasserstoff wird durch einen kräftigen Strom von Luft abgeblasen. Die Lösung hat nun eine schmutzig gelbgrüne Färbung, da sich darin kolloider Schwefel gebildet hat. Sie wird hierauf neuerdings auf dem Wasserbad erhitzt, wobei der kolloide Schwefel von dem Kupfersulfid vollständig adsorbiert wird. Es wird vom Kupfersulfid siedend heiss abfiltriert. Man erhält so ein wasserklares Filtrat. Das Kupfersulfid wird mit wenig siedend heissem Wasser nachgewaschen, denn bei längerem Waschen geht der adsorbierte Schwefel wieder kolloid in Lösung. Nun wird das klare Filtrat im Vakuum bei 45° bis auf 10—15 cm³ eingengt, wobei die Asparaginsäure schon während des Einengens auskristallisiert. Es wird abgesaugt, indem man das Filtrat immer wieder zum Nachspülen des Kolbens verwendet. Man erhält so 96% der als Kupfersalz zersetzten Asparaginsäure.

Zur Darstellung der *d*-Asparaginsäure aus dem Kaninchenharn wurde in folgender Weise vorgegangen:

Kaninchen im Durchschnittsgewicht von 2 kg wurden auf der Rückenhaut rasiert und jedes Tier erhielt 5 g racemische Asparaginsäure in 20-proz. neutraler wässriger Lösung subcutan injiziert. Die Tiere wurden in Stoffwechselfäßen gehalten und der 24-Stundenharn gesammelt. Dann wurde in der oben beschriebenen Weise entweder aus dem vereinigten Harn oder aus dem Harn der einzelnen Tiere die Asparaginsäure nach der angegebenen Methode isoliert. Wie weiter unten beschrieben werden wird, scheiden Kaninchen bei dieser Applikation von racemischer Asparaginsäure nach einmaliger Injektion optisch reine *d*-Asparaginsäure aus. Sie zeigte jedesmal den Wert $[\alpha]_{\text{D}}^{22,5^{\circ}} = -25,4^{\circ}$. Emil Fischer¹⁾ gibt für die *l*-Form der Asparaginsäure den Wert von $[\alpha]_{\text{D}}^{20^{\circ}} = +25,7^{\circ}$ an.

Wir stellten uns auf diese Weise eine grössere Menge der *d*-Asparaginsäure dar. Diese Methode ist viel einfacher als das von Emil Fischer beschriebene Verfahren der Darstellung des *d*-Antipoden durch Umkrystallisieren des Brucinsalzes²⁾. Mit dieser letzteren Methode konnten wir auch nach vielfachem Umkrystallisieren nur eine teilweise Trennung der optischen Modifikationen erreichen.

Methode zur Darstellung von *d*-Glutaminsäure.

Für die Darstellung von *d*-Glutaminsäure sind verschiedene Verfahren angegeben, von denen wir hier nur die folgenden erwähnen: So hat als Erster F. Ehrlich³⁾ die Vergärung von racemischer Glutaminsäure durch Hefe beschrieben. Wir kommen gleich weiter unten auf dieses Verfahren zurück. Weitere Angaben machen Neubauer und Fromherz⁴⁾, welche das Verhalten der Aminosäuren bei der Hefegärung untersuchten. Sie konnten feststellen, dass bei racemischen Aminosäuren der unnatürliche Antipode unangegriffen in der Gärlösung zurückbleibt, während die natürliche Aminosäure in den um ein Kohlenstoffatom ärmeren Alkohol übergeführt wird. In einer weiteren Arbeit wird von Bruckner und Ivanovics⁵⁾ berichtet, dass aus verschiedenen Bakterien *d*-Glutaminsäure gewonnen werden kann. Endlich sei hier noch auf die Untersuchungen von Bergmann

¹⁾ B. 32, 2464 (1899). ³⁾ Bioch. Z. 63, 388 (1914).

²⁾ B. 32, 2461 (1899). ⁴⁾ Z. physiol. Ch. 70, 326 (1910).

⁵⁾ Z. physiol. Ch. 247, 281 (1937).

und *Frutton*¹⁾ hingewiesen, welche Carbobenzoxy-*d,l*-glutaminsäure mit Anilin koppelten und dann mit Papain zur Spaltung brachten.

Von allen diesen Verfahren erschien uns von vornherein die Hefegärung nach *F. Ehrlich* (l. c.) als der einfachste Weg. Nun stellten sich aber bei der Durchführung dieses Verfahrens verschiedene Schwierigkeiten heraus, die in den folgenden Tatsachen liegen: In zahlreichen Versuchen fanden wir, dass bei annähernd neutraler Reaktion beide Formen der Glutaminsäure von der Hefe fast vollkommen vergoren werden. Andererseits konnten wir feststellen, dass bei steigender Acidität der Gärlösung die *l*-Form in immer geringerem Maße abgebaut wird. Wenn man dementsprechend bei einer stark sauren Reaktion, deren Acidität über $p_H = 3,0$ liegt, die Vergärung vornimmt, ist der übrig bleibenden *d*-Glutaminsäure immer ein geringer Teil *l*-Form beigemischt, und zwar um so mehr, je stärker sauer die Reaktion war. Es war deshalb notwendig, diejenige Wasserstoffionenkonzentration zu ermitteln, bei der noch alle *l*-Glutaminsäure vergoren wurde und ein möglichst grosser Teil der *d*-Glutaminsäure der Vergärung entgeht. Diese gesuchte Wasserstoffionenkonzentration liegt bei dem Wert $p_H = 3$. Nun ist die Ausbeute, welche *F. Ehrlich* angibt, trotz Berücksichtigung dieser Faktoren, dennoch höher als die von uns erzielte. Dies scheint von der Heferasse abhängig zu sein. Auch ist die Gärtemperatur von sehr wesentlichem Einfluss. Verläuft die Gärung über 18° , so wird ein grosser Teil der *d*-Glutaminsäure, trotz optimaler Reaktion der Lösung mitvergoren. Demnach gestaltet sich das Verfahren zur Darstellung der *d*-Glutaminsäure in folgender Weise:

In einer 5 Liter-Standflasche löst man 200 g Rohrzucker und 6,25 g *d,l*-Glutaminsäurehydrochlorid in 1 Liter Leitungswasser auf. Dazu gibt man eine Hefesuspension von 100 g Bäckerhefe in 300 cm³ Wasser, und zwar so, dass bei einer 500 g-Packung jedesmal die äussere Schicht abgetragen wird und nur der Kern zur Verwendung kommt. Es ist nun wesentlich, dass die Vergärung bei $p_H = 3,0$ abläuft. Um diese Wasserstoffionenkonzentration zu erreichen, setzt man zu der auf 2 Liter verdünnten Lösung 3,5 cm³ 5-n. Natriumhydroxydlösung und prüft die aktuelle Reaktion mit Kongopapier. Die Vergärungstemperatur muss 18° betragen. Täglich wird die Standflasche 3—4mal kräftig durchgeschüttelt, damit das Kohlendioxyd entweicht. Nach 4 Tagen ist aller Zucker vergoren, was mit der *Trommer-* und *Nylander'schen* Probe festgestellt wird. Diese Lösung wird nun mit weiteren 3,5 cm³ 5-n. Natriumhydroxydlösung versetzt und dadurch die aus dem Glutaminsäurehydrochlorid stammende Salzsäure neutralisiert. Nun wird auf einer Nutsche von ca. 25 cm Durchmesser die Hauptmenge der Hefe durch ein doppeltes Filter und das durch Hefe noch trübe Filtrat neuerdings durch eine Nutsche von ca. 15 cm Durchmesser abgesaugt, deren Filter mit Kieselgur gedichtet war. Das vollkommen klare Filtrat wird nun in einer grossen Schale auf dem Wasserbad erwärmt und auf die Flüssigkeit mit einem Ventilator ein starker Luftstrom aufgeblasen. Es wird so auf ca. 300 cm³ eingengt und mit einer Messerspitze Tierkohle versetzt. Die Lösung wird von der Tierkohle abfiltriert und nun im Vakuum auf 100—200 cm³ eingengt. Nach 5 Stunden Stehen im Eisschrank wird die erste ausfallende Krystallisation abgesaugt und das Filtrat weiter eingengt. Man erhält auf diesem Wege mehrere Krystallisate von verschiedenem optischen

¹⁾ J. Biol. Chem. **133**, 703 (1940).

Reinheitsgrad. Es wurden nun gewöhnlich die 1. und 2. Fraktion vereinigt und gemeinsam weiterverarbeitet. Die über konz. Schwefelsäure und festem Natriumhydroxyd getrockneten Krystalle werden zur Entfernung der bei der Gärung gleichzeitig entstandenen Bernsteinsäure im *Soxhlet*-Apparat mit absolutem Äther 8 Stunden lang extrahiert. Die von der Bernsteinsäure befreite Glutaminsäure wird nun aus konz. Salzsäure umkristallisiert, da die Reinigung der freien Glutaminsäure zu grossen Verlusten führt. Man erhält so bis zu 60% der Theorie an reiner *d*-Glutaminsäure, $[\alpha]_D^{21} = -30,6^\circ$, was dem Wert entspricht, der von *E. Fischer*¹⁾ angegeben ist.

Belastungsversuche von Kaninchen mit *d, l*-Asparaginsäure.

Das Phänomen der „antipodischen Hemmung“ einerseits und die Beeinflussung des oxydativen Abbaues der Aminosäuren durch die Enzymkonzentration und Aminosäuren andererseits, wurden durch *in vitro* Versuche ermittelt^{2) 3)}. Es sollten nun diese Verhältnisse im Tierversuch untersucht werden. Wir wählten zuerst die Asparaginsäure, da wir eine gute Methode zur Verfügung hatten, um diese im Harn zu bestimmen. Es war zu erwarten, dass bei wiederholter Verabreichung des Racemats die Verhältnisse für die Verarbeitung und Ausscheidung anders liegen würden als bei nur einmaliger Applikation. Bei diesen in der Folge mitgeteilten Versuchen wurde Kaninchen eine neutrale 20-proz. Lösung der betreffenden Aminosäure in den speziell angegebenen Mengen unter die Rückenhaut injiziert.

Die Tiere befanden sich in Stoffwechselfäfigen und wurden während der ganzen Versuchsperiode mit Kartoffeln, Kohl und Wasser gefüttert. Der 24-Stundenharn des Einzeltieres wurde nach jeder Injektion in der oben angegebenen Weise auf Asparaginsäure aufgearbeitet. In einer grossen Anzahl von Versuchen überzeugten wir uns davon, dass nach dieser Zeitperiode keine Asparaginsäure mehr im Harn ausgeschieden wurde. Da der Leerversuch, wie oben erwähnt, ergab, dass mit unserer Methode immer 81% der dem Harn zugesetzten Asparaginsäure wieder gefunden werden kann, wurden alle Werte auf 100% korrigiert. Die einzelnen isolierten Proben wurden in den Fällen, wo dies angegeben ist, in Form von freier Asparaginsäure polarimetrisch untersucht und aus der erhaltenen Drehung der Gehalt an dem einzelnen Antipoden errechnet. Es sei ausdrücklich erwähnt, dass die Tiere sich während der ganzen Versuchsperiode normal verhielten. Eine Störung durch die grosse Menge des verabreichten *d*-Antipoden, wie sie als *Aberhalden*-Schock bei Applikation von *d*-Alanin bei Tauben und Ratten auftritt, konnte bei diesen Versuchen am Kaninchen nicht beobachtet werden. Die Kaninchen erhielten wie schon gesagt wurde, pro 100 g Körpergewicht 200 mg *d, l*-Asparaginsäure als höchste Dosis. Bei unseren Versuchen⁴⁾ mit *d*-Alanin zeigten Tauben schon bei einer Verabreichung von durchschnittlich 100—250 mg *d*-Alanin pro 100 g Körpergewicht sehr starke Schock-Phänomene, während Ratten und Meerschweinchen sehr hohe Dosen, d. h. ca. 760 mg pro 100 g Körpergewicht ertrugen, bis die Schock-Phänomene auftraten. In diesem Sinn verhält sich also die *d*-Asparaginsäure ähnlich wie *d*-Alanin, indem niedrige Dosen von *d*-Asparaginsäure beim Säuger noch ohne Wirkung sind.

1) B. 32, 2470 (1899).

2) Z. physiol. Ch. 270, 176 (1941); Helv. 27, 1831 (1944).

3) Helv. 28, 797 (1945).

4) Helv. 27, 1060 (1944).

Versuch 1.

Ein Kaninchen von 2,1 kg erhält jeden 2. Tag 100 mg *l*-Asparaginsäure pro 100 g Körpergewicht. Wie aus Kurve I (Figur 1) ersichtlich ist, scheidet das Tier bei der ersten Injektion keine Asparaginsäure aus. Bei der 2. Injektion nach 2 Tagen steigt die ausgeschiedene Menge auf 20 mg pro 100 g Körpergewicht an und bleibt bei der 3. und 4. Injektion nach 4 und 6 Tagen ungefähr auf der gleichen Höhe. Nach der 5. Injektion nach 8 Tagen ist ein deutliches Absinken der ausgeschiedenen Menge auf ungefähr die Hälfte zu beobachten, während die 6. Injektion wieder den ursprünglichen Wert von ca. 20 mg pro 100 g Körpergewicht aufweist.

Versuch 2.

Ein Kaninchen von 1,5 kg erhält jeden 4. Tag 200 mg *d, l*-Asparaginsäure pro 100 g Körpergewicht. Wie aus Kurve II ersichtlich ist, scheidet das Tier nach der 1. Injektion ca. 55 mg reine *d*-Asparaginsäure pro 100 g Körpergewicht aus. Nach der 2. Injektion am 4. Tag steigt die Menge der ausgeschiedenen Asparaginsäure auf ca. 70 mg pro 100 g Körpergewicht an, wobei aus dem Drehungswert $[\alpha]_D^{25} = -24,8^\circ$ hervorgeht, dass nun schon geringe Spuren von Racemat mitausgeschieden werden, doch liegt der Drehungswert noch gerade an der Fehlergrenze. Nach der 3. Injektion nach 8 Tagen werden im gesamten 100 mg Asparaginsäure pro 100 g Körpergewicht ausgeschieden und aus dem Drehungswert von $[\alpha]_D^{25} = -15,5^\circ$ ergibt sich, dass nun ca. 20 mg *l*- und 80 mg *d*-Form pro 100 g Tiergewicht ausgeschieden werden. Nach der 4. Injektion nach 12 Tagen sinkt die Gesamtasparaginsäuremenge etwas ab, indem nun im gesamten ca. 93 mg ausgeschieden werden. Es ergibt sich aber aus der Drehung von $[\alpha]_D^{25} = -21,0$, dass die Menge der ausgeschiedenen *d*-Asparaginsäure noch immer weiter ansteigt. Nach der 5. Injektion am 16. Tag sinkt die Gesamtasparaginsäuremenge wieder deutlich ab, indem nun im gesamten 80 mg ausgeschieden werden und aus der Drehung $[\alpha]_D^{25} = -24,8^\circ$ ergibt sich, dass nun wieder fast reine *d*-Form ausgeschieden wird.

Versuch 3.

Ein Kaninchen von 1,8 kg erhält wieder jeden 4. Tag 200 mg *d, l*-Asparaginsäure pro 100 g Körpergewicht. Auch hier zeigt sich das gleiche Phänomen, wie aus Kurve III ersichtlich ist. Nach der 2. Injektion steigt die Menge der ausgeschiedenen Asparaginsäure auf ca. 100 mg pro 100 g Körpergewicht an und aus dem Drehungswert von $[\alpha]_D^{25} = -18,1^\circ$ ergibt sich, dass nun ca. 15 mg pro 100 g Körpergewicht als *l*- und 85 mg als *d*-Form ausgeschieden werden. Die Menge der ausgeschiedenen Gesamtasparaginsäure beginnt auch bei diesem Versuch bei weiteren Injektionen abzusinken, und nach der 6. Injektion am 20. Tag werden wieder nur mehr 55 mg reine *d*-Form von der Drehung $[\alpha]_D^{25} = -25,4^\circ$ pro 100 g Körpergewicht ausgeschieden.

Wir haben diese Versuche an insgesamt 8 Kaninchen wiederholt und im Prinzip immer wieder das gleiche Phänomen beobachtet, so dass sich die Wiedergabe der weiteren Kurven erübrigt.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen das Folgende:

Bei Belastung mit reiner *l*-Asparaginsäure wird nach der ersten Injektion die gesamte Asparaginsäure retiniert. Von der zweiten Injektion ab werden nach jeder Injektion ca. 20 % der verabreichten *l*-Aminosäure wieder ausgeschieden. Die leichte Schwankung, die bei der 5. Injektion eintritt, ist bei der 6. Injektion wieder verschwunden. Es lässt sich demnach sagen, dass bei der parenteralen Verabreichung von *l*-Asparaginsäure beim Kaninchen von der 2. Injektion an die Ausscheidung sich in ungefähr gleicher Höhe hält. Dies stimmt auch mit Versuchen überein, die wir in bezug auf das Verhalten des *l*-Histidins bei der Ratte noch mitteilen werden.

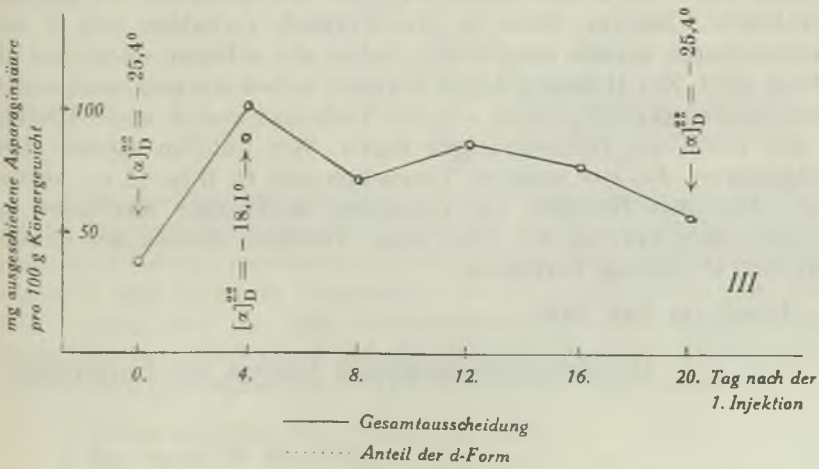
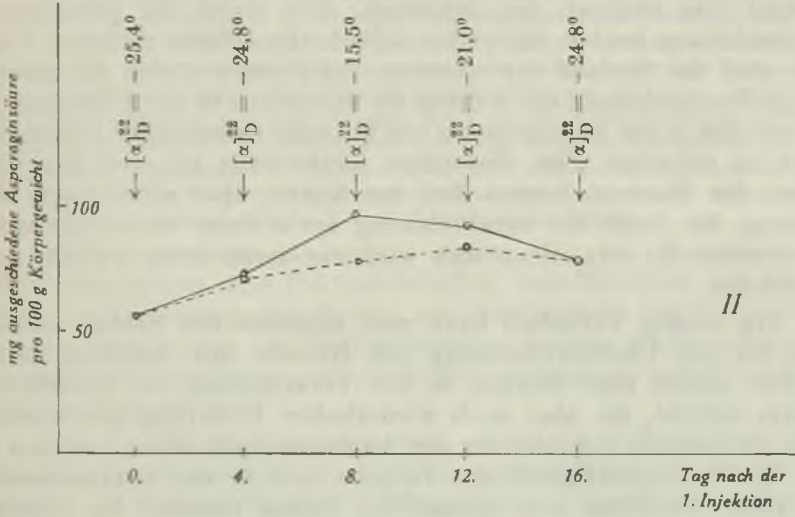
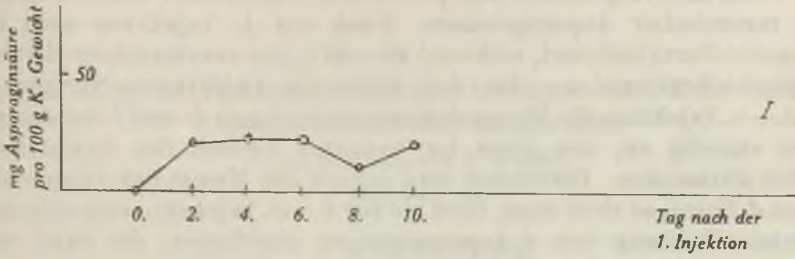


Fig. 1.

Ganz anders gestaltet sich jedoch das Bild bei der Verabreichung von racemischer Asparaginsäure. Nach der 1. Injektion wird die gesamte *l*-Form retiniert, während 40—60 % der verabreichten *d*-Form ausgeschieden werden. Bei den folgenden Injektionen steigt von der 3.—5. Injektion die Menge der ausgeschiedenen *d*- und *l*-Asparaginsäure ständig an, um dann im weiteren Verlauf der Injektionen wieder abzusinken. Berechnet man jedoch die Menge der ausgeschiedenen *d*-Form, so sieht man, dass bis zur 4.—5. Injektion eine ständige Mehrausscheidung von *d*-Asparaginsäure stattfindet, die dann erst im weiteren Verlauf der Injektionen wieder allmählich absinkt. Man gewinnt also dadurch den Eindruck, dass durch die gleichzeitige Verabreichung beider Antipoden zuerst alle *l*-Form retiniert wird, dass aber im Verlauf der weiteren Injektionen durch die gleichzeitige Verabreichung der *d*-Form die Retention in der Folge gestört ist, was sich in der Ausscheidung von teilweise racemischer Asparaginsäure zu erkennen gibt. Besonders merkwürdig ist aber das Verhalten der Tiere im letzten Teil der Kurve. Hier scheint nun die Störung, die durch die Verabreichung der *d*-Form verursacht wird, überwunden zu sein, denn nun wird nur mehr reine *d*-Form ausgeschieden.

Aus diesem Verhalten kann man zunächst den Schluss ziehen, dass bei der Überschwemmung der Gewebe mit Asparaginsäureracemat zuerst eine Störung in der Verarbeitung der natürlichen *l*-Form eintritt, die aber nach wiederholter Belastung überwunden wird. Es handelt sich also um ein Anpassungsphänomen, welches in der Speicherungsfähigkeit der Gewebe und in der enzymatischen Aktivität derselben sein Spiegelbild finden müsste. Im Enzymversuch wirkt die *d*-Aminosäure-oxydase viel intensiver als das entsprechende *l*-Enzym. Beim *in vivo*-Versuch verhalten sich *d*- und *l*-Aminosäuren gerade umgekehrt, indem die *d*-Form schwächer abgebaut wird. Zur Deutung dieser Befunde haben wir nun auch andere Aminosäuren geprüft, indem wir das Verhalten von *d*- und *l*-Histidin in den Kreis der Betrachtungen zogen. Wir wählten speziell diese Aminosäure, da aus unseren Versuchen mit *O. Wiss* (l. c.) hervorgeht, dass das Histidin ein besonders wirksamer Aktivator der *d*-Aminosäure-oxydase ist. Über diese Versuche werden wir in einer späteren Mitteilung berichten.

Basel, im Juli 1945.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität.

140. Über die Viskosität wässriger Lösungen von Pektinstoffen, besonders von Natriumpektaten

von H. Deuel und F. Weber.

(18. VII. 45.)

1. Allgemeines.

In der umfangreichen Pektinliteratur des 19. Jahrhunderts finden sich kaum Angaben über die Viskosität (= V.) wässriger Pektinlösungen. *Battu*¹⁾ erwähnt, dass die V. der Lösungen durch Elektrolyse stark abnimmt. Gleichzeitig werden reduzierende Gruppen gebildet. *Münz* und *Laine*²⁾ betonen, dass Pektin schon in geringer Konzentration die V. des Wassers erhöht. Auch *von Fellenberg*³⁾ machte nur qualitative Angaben über die V. Er beobachtete u. a. eine Abnahme der V. bei der Alkalieinwirkung und die geringere V. von Lösungen des Rübenpektins gegenüber denen des Apfelpektins. Die ersten quantitativen Angaben der V. stammen wohl von *Ball*⁴⁾, der die Zunahme der V. bei der Einwirkung des Enzyms Pektase (aus *Syringa vulgaris*) bestimmte. Seit etwa 1924 hat man sich eingehend mit der V. von Pektinlösungen befasst.

Viskosimetrische Messungen eignen sich zur Bewertung von Pektinpräparaten und Pektinrohstoffen, zum Studium von Extraktions- und Reinigungsmethoden, zur Bestimmung des Pektinabbaus bei der Gewinnung von Pektinderivaten, bei der Untersuchung von Koagulationsvorgängen, zur Aktivitätsbestimmung pektolytisch wirkender Enzyme usw.

Die V. soll im folgenden stets durch die Zähigkeitszahl *Z* charakterisiert werden. Dazu ist die genaue Kenntnis der Konzentration an Reinpektin (durch Titration oder Decarboxylierung) notwendig.

$$Z = \eta_{sp}/m$$

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1$$

$$\eta_{rel} = V. \text{ der Lösung/V. des Lösungsmittels.}$$

$$m = \text{Milliäq. Gesamt-COOH des Pektins} \\ \text{pro } 100 \text{ cm}^3 \text{ Lösung.}$$

Z ist ein Mass für die Viskositätserhöhung durch 1 Milliäq. gelöstes Pektin. Stets müssen die Messbedingungen genau angegeben sein, da *Z* für ein bestimmtes Pektinpräparat keine Materialkonstante darstellt und leicht im Verhältnis 1 zu 10 je nach Zusammensetzung der Lösung und je nach Strömungsbedingungen variieren kann. Eine Extrapolation von *Z* für die Pektinkonzentration Null und den Geschwindigkeitsgradienten Null wird nicht vorgenommen.

1) *Fischer*, Jahresber. chem. Technik 352 (1896).

2) *Mon. sci.* [4] 20, 221 (1906).

3) *Bioch. Z.* 85, 118 (1918).

4) *Sci. Proc. Roy. Dublin Soc.* 14, 349 (1915).

Beim Vergleich verschiedener Pektinpräparate müssen die verschiedenen, die V. beeinflussenden Faktoren möglichst konstant gehalten werden. Es sind vor allem zu berücksichtigen: Veresterungsgrad des Pektins mit Methanol, Pektinkonzentration, Reinheitsgrad, Zusatz niedermolekularer Elektrolyte, Temperatur, Strömungsbedingungen und Herstellungsart der Lösung. Selbstverständlich muss ein irreversibler Abbau der labilen Pektinmolekel verhindert werden. — Zur chemischen Charakterisierung von Pektinpräparaten stehen zahlreiche Methoden zur Verfügung. Nur das Molekulargewicht ist schwierig zu ermitteln (Ultrazentrifuge, Osmose, Endgruppen, Strömungsdoppelbrechung, Fällungstitration). Hier kann nun gerade die V. zur Abschätzung des Molekulargewichtes — wie allgemein nach *Staudinger* bei hochmolekularen Verbindungen — gute Dienste leisten. Der hochpolymere Bau des Pektins kann als gesichert angesehen werden¹⁾. Die V. wird ausserdem in noch unbekannter Weise vom eventuellen Verzweigungsgrad der Makromolekeln und der Polydispersität beeinflusst.

Prinzipiell ist das viskosimetrische Verhalten des Pektins ähnlich wie das anderer heteropolarer Linearkolloide. Sicher spielt jedoch seine spezielle Konstitution eine wesentliche Rolle. Pektin ist der partielle Methylester der Polygalakturonsäure. Seine Salze werden als Pektinate bezeichnet. Die Salze der methoxylfreien Polygalakturonsäure, der sog. Pektinsäure, heissen Pektate. — Die starke Variabilität der Zähigkeitszahl *Z* unter verschiedenen Messbedingungen ist qualitativ weitgehend verständlich. Es soll hier auf den oft diskutierten Einfluss der Ladung, der Hydratation und des Knäuelungszustandes der Fadenmolekeln, sowie der Assoziation zwischen den Makromolekeln nicht eingetreten werden. Durch die Formulierung der „Eigengesetzlichkeit der Kolloide“ werden die an sich schon komplizierten Viskositätsverhältnisse nur einem tieferen Verständnis entzogen. Die V. schliesst sich, ähnlich wie z. B. die Dissoziation, eng dem Verhalten niedermolekularer Elektrolyte an. So ist es wohl auch unzweckmässig zu behaupten: “The viscosity is not directly associated with the chemical structure of pectin.”²⁾

¹⁾ *G. Bertrand* und *A. Malleve*, *C. r.* **119**, 1012 (1894); *K. Smolenski*, *C.* **1924**, II, 316; *K. H. Meyer* und *H. Mark*, *Aufbau d. hochmolekularen Naturstoffe*, Leipzig, 1930; *G. van Iterson*, *Chem. Weekb.* **30**, 2 (1933); *S. Morell*, *L. Baur* und *K. P. Link*, *J. Biol. Chem.* **105**, 1 (1934); *P. B. Myers* und *G. L. Baker*, *Delaware Agr. Exp. Stat.* **187**, 1 (1934); *F. A. Henglein* und *G. G. Schneider*, *B.* **69**, 309 (1936); *T. Svedberg* und *N. Gråln*, *Nature* **142**, 261 (1938); *G. H. Beaven*, *J. K. N. Jones*, *F. Smith*, *Chem. and Ind.* **17**, 363 (1939); *P. A. Levene*, *G. M. Meyer* und *M. Kuna*, *Sci.* **89**, 370 (1939); *S. Luckett* und *F. Smith*, *Soc.* **1940**, 1106, 1114 und 1506; *S. Stverborn*, *Koll. Z.* **90**, 41 (1940).

²⁾ *Z. I. Kertesz*, *Am. Soc.* **61**, 2544 (1939).

Das Pektin zeichnet sich durch grosse Elektrolytempfindlichkeit und komplizierte Löslichkeitsverhältnisse aus. Wasserunlöslich ist das auf unbekannte Weise im pflanzlichen Gewebe verankerte Protopektin. Erst durch einen Hydrolyseprozess wird es — ähnlich wie Kollagen in Gelatine — in wasserlösliches Pektin übergeführt. Die Wasserlöslichkeit der Pektine nimmt mit fallendem Molekulargewicht und steigendem Veresterungsgrad zu. Löslich sind die Pektinate und Pektate der Alkalien, des Ammoniaks und verschiedener organischer Basen (Pyridin, Nicotin, Morphin, Brucin, aliphatische Amine). Die Gegenwart niedermolekularer Elektrolyte beeinflusst die Löslichkeit stark. So ist z. B. Natriumpektat in Wasser gut löslich, in 0,1-n. NaOH jedoch kaum löslich. Pektin löst sich dagegen in 0,1-n. NaOH und bleibt auch nach Verseifung zu Pektat in Lösung. Pektin löst sich nicht wie Cellulose in 14-molarer Phosphorsäure oder in Kupfer-tetramminoxyd. Dies beruht auf der Anwesenheit der Carboxylgruppen. Allgemein zeigt sich, dass je leichter ein Pektin bestimmten Molekulargewichtes in Lösung geht, desto höher auch die Zähigkeitszahl Z ist. So nimmt die Löslichkeit und die $V. \text{ cet. par.}$ mit steigendem Veresterungsgrad und mit steigender Dissoziation der COOH- bzw. COOMe-Gruppen zu.

Für die viskosimetrische Abschätzung des Molekulargewichtes dürfen sich die zu messenden Systeme nicht in Koagulation oder Gelierung befinden. Durch Strukturbildung ist meist ein Anstieg der $V.$ festzustellen¹⁾. Nach Herstellung der Lösung muss die Einstellung eines Gleichgewichtszustandes abgewartet werden. Dies gilt besonders für Lösungen höheren Pektin gehaltes²⁾.

2. Nitropektin.

Wegen dieses zunächst so unübersichtlichen Verhaltens des Pektins erscheinen Messungen der $V.$ an Pektinderivaten erfolgversprechender. Die Umsetzungen in polymer-analoge Verbindungen erfolgen aber nach den heutigen Methoden entweder unter für Serienanalysen zu umständlichen Bedingungen oder unter einem kaum zu vermeidenden Abbau. Eine gewisse Verbreitung haben nur Bestimmungen an Nitropektin gefunden. Nitropektin wurde wohl zuerst bereits 1833 von *Braconnot*³⁾ hergestellt, wenn er selbst auch von Pektinsäure spricht. In einer Anmerkung zu der Übersetzung dieser Arbeit schreibt *Liebig*, dass (wenigstens bei Stärke) eine Salpetersäureverbindung entsteht. Dann haben erst wieder *K. Smolenski* und *W. Pardo*⁴⁾ Nitrate (und Acetate) von Pektinstoffen gewonnen. Sie bestimmten die $V.$ in verd. Alkali. In zahlreichen Untersuchungen beschäftigten sich *Henglein* und Mitarb.⁵⁾ mit der $V.$ acetonischer Nitropektinlösungen zur Bestimmung von Molekulargewichten. Diese Studien waren für die Konstitutionsermittlung des Pektins von Bedeutung. Die Gelierfähigkeit erwies sich als eindeutige Funktion viskosimetrisch (und osmotisch) ermittelter Molekulargewichte. Es wurde eine k_m -Konstante nach *Staudinger* von 6×10^{-4} festgestellt. Sie liegt zwischen den k_m -Konstanten für Nitrocellulose und Nitrostärke. Die $V.$ von Nitropektinen ist dann auch von anderer Seite bestimmt worden⁶⁾. Die Viskositätsverhältnisse sind auch nicht so einfach, wie

¹⁾ *A. G. Normann*, *Biochemistry of cellulose, the polyuronides, lignin etc.*, Oxford, 1937; *G. L. Baker* und *M. W. Goodwin*, *Delaware Agr. Exp. Stat.* **216**, 1 (1939); *H. Deuel*, *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* **53**, 219 (1943).

²⁾ *E. W. Bennison* und *F. W. Norris*, *Biochem. J.* **33**, 1443 (1939).

³⁾ *A.* **7**, 245 (1833).

⁴⁾ *C.* **1933**, **I**, 1604.

⁵⁾ *F. A. Henglein*, *G. G. Schneider* und Mitarb., **B.** **69**, 309, 2530 und 2537 (1936); **70**, 1611 und 1617 (1937); **71**, 1353 (1938); *G. G. Schneider* und *H. Bock*, *Z. angew. Ch.* **51**, 94 (1938); *H. Bock* und *R. Einsele*, *J. pr. [2]* **155**, 225 (1940); *H. Bock*, *Ch. Z.* **65**, 461 (1941); *H. Bock*, *J. Simmerl* und *M. Josten*, *J. pr. [2]* **158**, 8 (1941).

⁶⁾ *T. K. Gaponenkow*, *C.* **1940**, **I**, 3257; *A. G. Olsen*, *R. F. Stuewer*, *E. R. Fehlberg* und *N. M. Beach*, *Ind. Eng. Chem.* **31**, 1015 (1939); *S. Säverborn*, *loc. cit.* (1940); *M. Lüdtko* und *H. Felser*, *A.* **549**, 1 (1941); *H. Deuel*, *loc. cit.* (1943); *A. Zeller*, *Gartenbauforsch. i. Dienste d. Kriegsern.* Heft 1 (1943).

zuerst angenommen wurde. Die Zähigkeitszahl *Z* ist sehr stark von der Nitropektinkonzentration abhängig. Die Abweichungen vom *Hagen-Poiseuille'schen* Gesetz sind bedeutend. Sicher ist der Einfluss des Nitrierungsgrades auf *Z* erheblich, der des Veresterungsgrades mit Methanol wurde nie untersucht. Die Nitropektin-Methode ist durchaus nicht zuverlässiger als die Bestimmung an geeigneten wässrigen Lösungen der Pektinstoffe, wie nachstehend gezeigt werden soll.

3. Einfluss des Veresterungsgrades des Pektins auf die Viskosität.

Der Einfluss des Veresterungsgrades auf die *V.* wurde in der Literatur meist nicht berücksichtigt. Auf eine Abnahme der *V.* bei der Demethoxylierung wies zuerst *von Fellenberg*¹⁾, später *Kertes*²⁾ hin. Die Verseifung kann durch das Enzym Pektase (Phytolipase), durch Säuren oder durch Basen erfolgen. Es entsteht dabei Pektinsäure oder Pektat. Tritt die Verseifung unter Bildung wasserlöslicher Pektate ein, so nimmt die *V.* kontinuierlich ab. Man kann die Verseifung also viskosimetrisch verfolgen. — Bei einem Verseifungsversuch mit Ammoniak (Tabelle 1) war nach 120 Stunden der Methylalkohol zu 98 % abgespalten. Nach dieser Zeit war auch die *V.* auf einen konstanten Wert gesunken, ohne dass dabei ein Kettenabbau erfolgte.

Tabelle 1.

Verseifung von Pektin mit Ammoniak.

In 100 cm³ Reaktionslösung: 2,00 Milliäq. Ammoniak und *m* = 0,40 Milliäq. Pektin (Präparat 1, anfangs zu 75,5% verestert), Temperatur 20,0° C.

Verseifungsdauer in Stunden	<i>Z</i>	Verseifungsdauer in Stunden	<i>Z</i>
0,25	1,48	75	0,88
1	1,31	100	0,83
2	1,23	110	0,81
5	1,15	120	0,81
10	1,08	130	0,81
25	1,03		

Wird bei der Verseifung Pektinsäure oder unlösliches Pektat gebildet, so nimmt die *V.* — wenigstens am Ende der Reaktion — durch Gelierung zu. Der Viskositätsanstieg bei der Pektaseverseifung in Gegenwart von Calciumsalzen³⁾ ist durch die Bildung unlöslichen Calciumpektates verständlich. — Der Einfluss der Methoxylgruppen auf die *V.* wurde bereits früher eingehend studiert⁴⁾. Es wurde auch

¹⁾ Bioch. Z. **85**, 118 (1918).

²⁾ Food Res. **3**, 481 (1938).

³⁾ *N. G. Ball*, loc. cit. (1915); *A. C. Sloep*, Diss. Delft, 1928.

⁴⁾ *H. Deuel*, loc. cit. (1943); *F. Weber*, Diss. Zürich, 1944.

darauf hingewiesen, dass es empfehlenswert ist, zur Abschätzung von Molekulargewichten Pektate zu verwenden. So ist der von Präparat zu Präparat wechselnde Veresterungsgrad ausgeschaltet. Bei der vorsichtigen Verseifung des Pektinpräparates 1 betrug Z für das Natriumpektinat z. B. 2,03 und für das Natriumpektat nur 1,09. — Ein Nachteil der Pektate besteht darin, dass sie besonders elektrolyt-empfindlich sind, da sie pro Grundmolekel eine dissoziationsfähige Carboxylgruppe besitzen. Man darf nur gut gereinigte Pektate verwenden. Bereits durch geringen Zusatz von NaOH oder NaCl kann es zu Gelierungen kommen. Strukturbildungen machen sich durch Zunahme der V. mit der Zeit bemerkbar.

Die Demethoxylierung durch Pektase kann ohne Gelierung erfolgen, wenn gereinigtes Pektin, ein Ca⁺⁺-freies Pektasepräparat und ein Zusatz von z. B. Pyridin verwendet wird (Tabelle 2). Es wird auf diese Weise wasserlösliches Pyridinpektat gebildet. Auch hier tritt während der Verseifung Abnahme der V. ein, wie ein Vergleich von Z für Lösung a und b zeigt. Das Pyridinpektat der Lösung c wurde durch Verseifung des Pektins mit NaOH, Ausfällung mit HCl-Alkohol, Reinigung mit Alkohol und Lösen in verd. Pyridin hergestellt. Theoretisch sollten Lösung b und c die gleichen Z-Werte aufweisen.

Tabelle 2.

Verseifung von Pektin mit Pektase in Gegenwart von Pyridin.

In 100 cm³ Lösung: 5,00 Milliäq. Pyridin und m = 0,92 Milliäq. Pektin (Präparat 2, anfangs zu 65% verestert).

Pektase: Extrakt aus je 4 Arbutin-Tabletten.

Temperatur 20,0° C.

Messung der V. 4 Tage nach Herstellung der Lösungen.

Zusammensetzung der Lösung	Z
Pektin + Pyridin + inaktivierte Pektase . . (Pyridinpektinat) = a	0,90
Pektin + Pyridin + aktive Pektase (Pyridinpektat) = b	0,50
Pektinsäure + Pyridin + inaktivierte Pektase (Pyridinpektat) = c	0,44

In Tabelle 3 sind Messungen an verschiedenen Pektinen und an den aus ihnen durch Verseifung mit NaOH gewonnenen Natriumpektaten zusammengestellt. Stets zeigt das Natriumpektat eine bedeutend geringere V. Die Beziehung zum Gelée-grad ist deutlich, wenn auch nicht eindeutig. (S. u. Beziehung der V. zur Gelierfähigkeit.)

Tabelle 3.

Einige Pektine mit zugehörigen Natriumpektaten.
m = 1,0. — Veresterungsgrade anfangs 55—65%.

Präparat Nr.	Pektin in Wasser Z	Natriumpektat in 0,05-n. NaCl Z	Geléeград (des Pektins)
3	0,77	0,38	45
4	1,70	0,75	130
5	2,57	0,75	245
6	3,78	1,04	245
7	4,50	1,06	255
8	4,57	0,98	299
9	4,96	1,10	255
10	5,72	1,11	294
11	6,11	1,17	395
12	6,25	1,29	284

4. Einfluss verschiedener Faktoren auf die Viskosität.

Die Literatur über den Einfluss verschiedener Faktoren auf die V. ist sehr umfangreich¹⁾.

Mit steigender Pektinkonzentration durchläuft Z ein Minimum. Der Anstieg bei höheren Konzentrationen (z. B. mehr als 0,4%) ist wohl durch Assoziationen zwischen den Makromolekeln zu erklären. Bei sehr starker Verdünnung nimmt Z wegen des erhöhten Dissoziationsgrades der Carboxyle zu. Dieser Effekt kann z. T. durch den Zusatz niedermolekularer Elektrolyte ausgeschaltet werden. Dann verhält sich das Pektin annähernd wie ein homöopolares Linear-kolloid. Da Z bei höheren Konzentrationen überproportional mit der Konzentration ansteigt, sind Unterschiede im Molekulargewicht aus viskosimetrischen Messungen bei konzentrierten Lösungen besonders deutlich feststellbar. Die Bestimmungen sind jedoch kaum reproduzierbar und theoretisch besonders schwer auswertbar. Zur Beschreibung der Viskositätsabhängigkeit von der Konzentration wurden ver-

¹⁾ G. Wendelmuth, Koll. Beih. **19**, 115 (1924); A. Ohn, Ind. Eng. Chem. **18**, 1925 (1926); **22**, 635 (1930); H. Lüers und K. Lochmüller, Koll. Z. **42**, 154 (1927); W. Wlostowska, C. **1930**, **II**, 229; K. Smolenski und Mitarb., C. **1930**, **II**, 1527; S. Glückmann, Koll. Z. **55**, 64 (1931); **57**, 330 (1931); **60**, 52 (1932); Kaulbersz-Maryowska, C. **1933**, **II**, 148; F. Ehrlich mit H. Grunert, Abderhalden, Hdb. biol. Arbeitsmeth. **I**, **II**, 1503 (1936); E. Sauer und K. Sanzenbacher, Koll. Z. **79**, 55 (1937); G. L. Baker und M. W. Gorwin, loc. cit. (1939); H. P. Kortschak, Am. Soc. **61**, 681 und 2313 (1939); A. G. Olsen, R. F. Stuewer, E. R. Fehlberg und N. M. Beach, loc. cit. (1939); I. T. Horn, Diss. Bern, 1940; S. Säverborn, loc. cit. (1940); L. Malsch, Bioch. Z. **309**, 283 (1941); F. Blank und H. Deuel, Vjschr. Naturf. Ges. Zürich **88**, 161 (1943); H. S. Owens, H. Lotzkar, R. C. Merrill und M. Peterson, Am. Soc. **66**, 1178 (1944).

schiedene empirische Formeln ausprobiert. — In den Tabellen 4 und 5 finden sich einige Bestimmungen verschieden konzentrierter Natrium-Pektatlösungen.

Tabelle 4.

Zwei Natriumpektatpräparate in dest. Wasser und in 0,05-n. NaOH.
Variation der Pektatkonzentration.

m	Präparat 13		Präparat 14	
	in dest. Wasser Z	in 0,05-n. NaOH Z	in dest. Wasser Z	in 0,05-n. NaOH Z
0,05	2,72	1,02	1,67	0,74
0,15	2,79	0,75	1,41	0,42
0,26	2,06	0,70	1,16	0,39
0,51	1,59	0,76	0,95	0,41
0,77	1,42	0,72	0,87	0,42
1,03	1,32	0,75	0,83	0,46
1,38	1,19	0,71	0,80	0,46
1,54	1,24	0,82	0,79	0,47
2,05	1,25	0,82	0,78	0,51
2,56	—	1,42	—	0,54

Tabelle 5.

Zwei weitere Natriumpektatpräparate in 0,05-n. NaOH.
Variation der Pektatkonzentration.

Bestimmung des Geléegrades mit dem *Tarr-Baker-Gel-Tester*.

m	Präparat 15 (Geléegrad des Pektins: 164) Z	Präparat 16 (Geléegrad des Pektins: 414) Z
0,05	0,92	1,38
0,13	0,58	0,82
0,26	0,39	0,79
0,52	0,40	0,85
0,78	0,36	0,85
1,04	0,40	0,88
1,56	0,43	0,93
2,60	0,57	1,41

Die Z-Werte sind stets in der 0,05-n. NaOH deutlich geringer als in Wasser. Auch der Anstieg von Z beim Verdünnen der Pektatlösung ist in der Natronlauge bedeutend weniger ausgeprägt. Für ein bestimmtes Präparat ist Z ziemlich konstant, wenn 0,25 bis 1,25 Milliäq. Pektat pro 100 cm³ 0,05-n. NaOH vorhanden sind. — In Tabelle 6 wurde zum Vergleich noch eine Serie von Natriumalginat-

lösungen untersucht. (Alginsäure = Polymannuronsäure.) Das Präparat erscheint nach der V. noch etwas höherpolymer als das Pektinpräparat 16, das eine sehr gute Gelierfähigkeit zeigt. Die Konstanz von Z für das Alginat in 0,2-n. NaOH ist befriedigend. (Pektat kann in 0,2-n. NaOH nicht mehr gemessen werden.)

Tabelle 6.
Natriumalginat in dest. Wasser und in 0,20-n. NaOH.
Variation der Alginatkonzentration.

m	in dest. Wasser Z	in 0,20-n. NaOH Z
0,028	6,07	1,11
0,056	5,85	1,02
0,14	4,58	1,04
0,28	4,14	0,96
0,56	3,16	1,17
0,84	2,69	1,02
1,26	2,01	1,11

Ein Zusatz von niedermolekularen Säuren zu Pektin vermindert die V. durch Herabsetzung des Dissoziationsgrades der Carboxyle. Die Abnahme von Z ist umso grösser, je tiefer das p_H ist. Die Verminderung der V. kann 50% betragen. Pektine geringen Veresterungsgrades und Pektate können durch Säuren ausgeflockt werden. — Soweit nicht Koagulation eintritt, setzen auch Neutralsalze und Pufferlösungen Z stark herab. Dadurch können die Viskositätsanomalien, die durch den heteropolaren Charakter bedingt sind, ausgeschaltet werden. Die Verminderung von Z durch Elektrolytzusatz ist umso ausgeprägter, je weniger das Pektin verestert und je verdünnter die Pektinlösung ist. Bei Reinigungsmethoden, bei denen kein Pektinabbau eintritt, und die eine Entfernung niedermolekularer Elektrolyte zur Folge haben, kann Z sehr stark zunehmen.

Ein gründlich mit HCl-Alkohol und Alkohol gereinigtes Pektin, das aus Apfeltrester vorsichtig isoliert wurde, besass in 0,138-proz. Lösung ein Z von 2,69. Bei weiterer Reinigung durch Elektrodialyse stieg Z auf 3,79 (Präparat 17).

Wegen des grossen Einflusses geringster Elektrolytmengen auf Z ist von vorneherein ein Elektrolytzusatz zu empfehlen.

Für den Einfluss von Salzen gelten die bekannten Regeln von *Schulze-Hardy* und *Hofmeister*. Polyvalente Kationen können evtl. eine Umladung der Pektinmakromolekeln bedingen. Salze polyvalenter Kationen, die Pektin auszufällen vermögen, erhöhen die V. durch Strukturbildung. Beim Entfernen solcher mehrwertigen Metallionen kann daher Verminderung der V. eintreten.

Interessant ist vor allem der Zusatz von Basen, die zur Bildung wasserlöslicher Pektinate und Pektate führen. Bei der Neutralisation der freien Pektincarboxyle nimmt die V. zu, da das Salz stärker als die Säure dissoziiert ist. Schwache Basen wie Pyridin, Nicotin usw., im Überschuss zugesetzt, verändern Z kaum, da sie die Dissoziation der Makromolekeln nur sehr wenig zu vermindern vermögen. Salze von Pektinstoffen mit organischen Basen wurden wiederholt studiert¹⁾. *Braconnot*²⁾ stellte bereits 1825 wasserlösliches Morphinpektat her. — Bei Verwendung von starken Laugen wird Z durch Basenüberschuss vermindert; da Verseifung des Methylesters und Verminderung des Dissoziationsgrades des Pektates eintritt. Pektin und Pektinsäure lassen sich daher viskosimetrisch titrieren. Am Neutralisationspunkt besitzt Z ein deutliches Maximum. Bei sehr hohem Überschuss an starker Lauge tritt zunächst wieder Anstieg von Z ein, als Zeichen einer beginnenden Strukturbildung und Ausflockung. In den Tabellen 7 und 8 finden sich einige Messungen über den Einfluss der NaOH-Konzentration auf die V.

Tabelle 7.
Zusatz verschiedener NaOH-Mengen.

NaOH-Konzentration	Präparat 18 m = 1,03 anfangs 52,5% verestert Z	Präparat 19 m = 1,08 anfangs 60,6% verestert Z
Pektin in dest. Wasser	2,00	1,16
Natriumpektinat in dest. Wasser . .	2,32	1,31
Natriumpektat in dest. Wasser . . .	1,41	0,85
Natriumpektat in 0,001-n. NaOH . .	1,27	0,82
Natriumpektat in 0,01-n. NaOH . .	0,93	0,61
Natriumpektat in 0,02-n. NaOH . .	0,79	0,53
Natriumpektat in 0,05-n. NaOH . .	0,68	0,48
Natriumpektat in 0,07-n. NaOH . .	0,67	0,48

Tabelle 8.
Natriumpektat in verschieden konzentrierter NaOH.
Präparat 20

Normalität der NaOH	m = 0,568 Z	m = 0,852 Z
0,01	1,11	1,15
0,0125	1,00	1,04
0,025	0,85	0,88
0,05	0,84	0,87
0,10	0,84	0,87

¹⁾ R. F. Stuewer und A. G. Olsen, J. Am. Pharm. Assoc. **29**, 303 (1940); H. Deuel, loc. cit. (1943); H. S. Owens, H. Lotzkar usw., loc. cit. (1944).

²⁾ Ann. chim. phys. [2] **30**, 96 (1825).

Die Poly-acrylsäure¹⁾ und die Alginsäure²⁾, deren Viskositätsverhalten im ganzen sehr ähnlich wie das der Pektinsäure ist, lösen sich noch leicht in relativ konzentrierten Elektrolytlösungen (z. B. in 2-n. NaOH). Besonders bemerkenswert ist der deutliche Unterschied zwischen Poly-galakturonsäure (Pektinsäure) und Poly-mannuronsäure (Alginsäure). Die Pektinsäure ist bei gleich hohen Z-Werten bedeutend elektrolytempfindlicher. Neben der verschiedenen Konstitution der Grundmolekel ist wohl auch der Unterschied im Aufbau der Makromolekel von Bedeutung. Die Alginsäure ist wahrscheinlich β -glykosidisch und die Pektinsäure α -glykosidisch. Auch das Geliervermögen ist z. B. bei Pektat und Alginat ein verschiedenes. Da zur wässrigen Lösung beim Alginat mehr niedermolekularer Elektrolyt hinzugefügt werden kann, ehe Ausflockung eintritt, ist die Ausschaltung des ionalen Viskositätsfaktors leichter möglich (Tabelle 6 und 9).

Tabelle 9.

Natriumalginat in verschieden konzentrierter NaOH.

Normalität der NaOH	m = 0,28 Z	m = 0,56 Z
0,00	4,14	3,16
0,01	1,58	1,68
0,10	1,06	1,36
0,20	0,96	1,17
0,50	1,00	1,10
1,00	1,01	1,19
2,00	1,37	1,39

Über den Einfluss von Nichtelektrolyten auf Z lässt sich schwer etwas Allgemeines aussagen. Geringe Mengen von Zucker oder Alkohol verändern Z kaum. Der bei der Verseifung des Pektins freiwerdende Methylalkohol ist, wie eingehend geprüft wurde, auf die V. ohne Einfluss. Bei höheren Alkoholzusätzen muss jedoch, da bereits 0,5 Volumen-% Alkohol die V. des Wassers deutlich erhöht, die V. des Wasser-Alkohol-Gemisches als η_0 in Rechnung gestellt werden. Der Einfluss von Alkohol auf Z ist wichtig, da oft das Pektinpräparat vor der Zugabe des Wassers mit Alkohol (oder Aceton) befeuchtet wird, um die Herstellung der Pektinlösungen zu erleichtern. – Höhere Alkoholmengen (von ca. 10 Volumen-% an) erhöhen Z deutlich, wiederum als Zeichen einer beginnenden Ausflockung. – Hochmolekulare Beimengungen, wie z. B. Araban, bewirken natürlich eine Zunahme der V.

Von grosser Bedeutung ist noch die Temperatur bei der Messung und bei der Aufbewahrung der Lösungen vor der Messung. Bei den mitgeteilten Bestimmungen wurde stets eine Temperatur von 20,0° C während der Viskositätsmessung eingehalten. Zur Ver-

¹⁾ H. Staudinger und E. Trommsdorff, A. 502, 201 (1933); W. Kern, Z. physikal. Ch. [A], 181, 249 (1938).

²⁾ E. Heen, Koll. Z. 83, 204 (1938); W. Pauli und L. Sternbach, Koll. Z. 84, 291 (1938); J. B. Speakman und N. H. Chamberlain, J. Soc. Dyers Col. 60, 264 (1944); W. T. Astbury, Nature 155, 667 (1945).

meidung von Strukturbildungen in der Lösung wären evtl. höhere Temperaturen angebracht. Oberhalb 40° C findet aber bereits, besonders im alkalischen und sauren Milieu, eine deutliche Pektin-degradation statt. — Durch geringe Variation der Temperatur wird Z, wie allgemein bei gut dispergierten Systemen von Makromolekeln, nur wenig verändert. Die der Messtemperatur entsprechende V. des Lösungsmittels muss natürlich zur Berechnung von Z verwendet werden. — Das Gefrieren der Lösungen vor der Bestimmung der V. beeinflusst, wie Messungen an Pektin und Pyridinpektat zeigten, Z nicht.

Sehr gross ist der Einfluss des Geschwindigkeitsgradienten auf Z. Über die Abweichungen vom *Hagen-Poiseuille*'schen Gesetz liegen bereits Messungen vor¹⁾. Vorläufig kann aus einer einzelnen Viskositätsbestimmung nicht auf die ganze Fließkurve geschlossen werden. Für Vergleichszwecke muss stets mit dem gleichen Viskosimeter gearbeitet werden. Bei den eigenen Bestimmungen wurde der Geschwindigkeitsgradient nicht systematisch variiert. Die Messungen der Tabelle 10 sollen nur auf die Bedeutung der Strömungsbedingungen hinweisen. Bei Bestimmungen der V. der gleichen Lösungen im *Höppler*- und *Ostwald*-Viskosimeter wurden verschiedene Werte für Z erhalten. Die Präparate 21,1 bis 21,7 wurden aus dem Präparat 21 durch Abbau mit dem Enzym Pektinase gewonnen.

Tabelle 10.

Natriumpektate verschiedenen Abbaugrades. Messungen in zwei Viskosimetern mit unterschiedlichem Geschwindigkeitsgradienten.
m = 1,02. — Lösungsmittel: 0,05-n. NaOH.

Präparat Nr.	<i>Höppler</i> -Viskosimeter	<i>Ostwald</i> -Viskosimeter
	Z in % des Z-Wertes von Präparat 21	
21	100 (Z = 1,03)	100 (Z = 0,658)
21,1	93,0	91,0
21,2	85,6	80,1
21,3	73,6	65,8
21,4	63,6	57,1
21,5	56,4	49,4
21,6	47,7	37,7
21,7	40,4	30,1

5. Viskosität von Natriumpektat in 0,05-n. Natronlauge.

Nach den bisherigen Erfahrungen scheinen Viskositätsmessungen an Natriumpektaten in 0,05-n. NaOH bei Pektatkonzentrationen

¹⁾ J. Bonner, Verh. Akad. Amsterdam **38**, 346 (1935); I. T. Horn, loc. cit. (1940); H. Deuel, loc. cit. (1943).

von 0,25—1,25 Milliäq. pro 100 cm³ Lösung zur Abschätzung relativer Molekulargewichte geeignet zu sein. Die Natronlauge wird sowohl zur Verseifung des Pektins, als auch zur Unterdrückung des heteropolaren Charakters des Pektates verwendet. Obwohl Natriumpektat selbst in 0,05-n. NaOH schwer löslich ist, gelingt es, stabile Lösungen herzustellen, wenn das Präparat erst in Wasser gelöst und darauf mit Natronlauge versetzt wird (s. Methodisches). Diese einfache Methode ergibt befriedigend reproduzierbare Resultate. Voraussetzung ist, dass die Präparate mit HCl-Alkohol und danach mit Alkohol weitgehend gereinigt wurden. Mit dem Pektinpräparat 22 wurden ($m = 0,80$) bei sechsmaliger Wiederholung folgende Werte für Z erhalten: 1,04; 1,01; 1,02; 1,03; 1,09; 1,03. — Aus Tabelle 11 geht hervor, dass sich Z mit der Zeit nur wenig ändert.

Tabelle 11.

Stabilität der Lösungen von Natriumpektat in 0,05-n. NaOH.

$m = 0,85$

Aufbewahrungstemperatur 4° C.

Temperatur der Messung (wie gewöhnlich) 20,0° C.

Präparat Nr.	Aufbewahrungsdauer in Stunden					
	5 Z	15 Z	24 Z	48 Z	96 Z	168 Z
23	0,56	0,55	0,55	0,54	0,57	0,54
24	0,95	0,94	0,95	0,93	0,97	0,91
25	1,14	1,15	1,15	1,16	1,15	1,11
26	1,46	1,45	1,45	1,46	—	1,53

Sehr störend bei der beschriebenen Methode kann sich ein noch geringer Calciumgehalt des Pektinpräparates auswirken. Besonders bei schwach veresterten Pektinen ist das Calciumion schwierig zu entfernen. Wegen Bildung unlöslichen Calciumpektates sind dann keine brauchbaren Werte zu erhalten. Durch einen geringen Zusatz von Natriumoxalat vor der Zugabe der Natronlauge kann diese Schwierigkeit behoben werden (Tabelle 12). — Es wurde ausserdem geprüft, dass durch den geringen Oxalatzusatz allein die Viskosität von Natriumpektatlösungen nicht verändert wird. — Ein künstlicher Zusatz von 0,05 Milliäq. CaCl₂ verunmöglicht eine Viskositätsmessung völlig. Enthalten 100 cm³ Lösung jedoch ausserdem 0,5 Milliäq. Oxalat, so erhält man die gleichen Z-Werte wie für die Lösungen ohne CaCl₂ und ohne Oxalat. Die feinen Calciumoxalatkrystalle — durch das Pektat geschützt — stören bei den Messungen nicht, z. T. werden sie durch Filtration entfernt.

Tabelle 12.

Zusatz von Natriumoxalat zu Lösungen von Natriumpektat in
0,05-n. NaOH

Präparat 27: Ca⁺⁺-reiches Pektin mit einem Veresterungsgrad von ca. 45%. $m = 0,80$.

Dauer der Auswaschung des Pektins mit HCl- Alkohol in Minuten	Ohne Oxalat Z	0,005-n. Oxalat Z
0	nicht messbar	1,05
15	2,44	1,00
30	1,69	1,03

6. Beziehung der Viskosität zum Molekulargewicht und zum Kettenabbau.

Aus den Untersuchungen von *Säverborn*¹⁾ lässt sich eine (nicht lineare) Beziehung zwischen der V. wässriger Pektinlösungen und dem mit der Ultrazentrifuge ermittelten Molekulargewicht erkennen. Er isolierte übrigens aus Zitronensaft ein Pektin, das eine besonders hohe V. der wässrigen Lösung aufwies. Ein sehr hochpolymeres Pektin wurde auch von *Baker* und *Kneeland*²⁾ aus Preiselbeeren gewonnen. Die Polydispersität der Pektinpräparate geht u. a. aus den Ergebnissen der fraktionierten Fällung³⁾ und der fraktionierten Membranfiltration⁴⁾ hervor. Es werden Fraktionen mit verschiedenen Z-Werten erhalten.

Deutlich zeigt sich die Relation zwischen Molekulargewicht und V. vor allem beim Abbau der Pektinmakromolekel zu kleineren Bruchstücken. Eine solche Degradation, die auf verschiedenem Weg festgestellt werden kann, ist am einfachsten viskosimetrisch zu verfolgen.

Oft wurde die V. zur Bestimmung des hydrolytischen Abbaus durch Säuren herangezogen⁵⁾. Bei den Untersuchungen von *Weber* zeigte sich, dass keine feste Beziehung zwischen Z, gemessen als Natriumpektat in verd. NaCl, und der Jodzahl besteht. *Wunderly* stellte fest, dass mit der Abnahme der V. auch die Reaktionstrübung des Pektins mit Paraglobulin und die Beschleunigung der Erythrocytensenkung vermindert ist. — Schon eine geringe Pektindegradation durch Oxydation kann viskosimetrisch leicht beobachtet werden⁶⁾. *Dwight* und *Kersten*⁷⁾ stellten nach der gleichen Methode einen Pektinabbau bei Einwirkung von Röntgenstrahlen fest.

¹⁾ loc. cit. (1940).

²⁾ Ind. Eng. Chem. **28**, 373 (1936).

³⁾ G. G. Schneider und U. Fritschi, B. **69**, 2537 (1936).

⁴⁾ A. Mehlitz, Koll. Z. **41**, 130 (1927).

⁵⁾ E. Sauer und K. Sanzenbacher, loc. cit. (1937); G. L. Baker und M. W. Goodwin, Food Ind. **13**, 45 (1941); H. Deuel, loc. cit. (1943); F. Weber, loc. cit. (1944); Ch. Wunderly, Schweiz. Z. Path. Bakt. **6**, 437 (1943), und Vjschr. Naturf. Ges. Zürich **89**, 170 (1944).

⁶⁾ A. G. Norman und F. W. Norris, Biochem. J. **24**, 402 (1930); W. van B. Robertson, M. W. Ropes und W. Bauer, Biochem. J. **35**, 903 (1941); H. Pallmann und H. Deuel, Exper. **1**, 89 (1945); H. Deuel, Helv. **26**, 2002 (1943).

⁷⁾ J. Phys. Chem. **42**, 1167 (1938).

Vor allem wurden oft irreversible Viskositätsabnahmen durch spezifische, hydrolytisch wirkende Enzyme, die sog. Pektinasen, gemessen. Diese Fermente sprengen die glykosidische Bindung des Pektins. Sie spielen in der Phytopathologie die Rolle eines „spreading factor“. Die Aktivität von Enzympräparaten, die für die Klärung von Obst-säften verwendet werden, lässt sich viskosimetrisch leicht beurteilen¹⁾.

Bei systematischen Untersuchungen über den Einfluss des Molekulargewichtes auf die V. und andere Eigenschaften dürfte der Abbau durch Pektinase besonders geeignet sein, da hier Nebenreaktionen wie Verseifung, Decarboxylierung und Oxydation praktisch ausgeschaltet werden können.

In den Tabellen 13 und 14 sind die Ergebnisse eines Abbauesversuches mit Pektinase zusammengestellt. Die Degradation wurde durch die V. der Reaktionslösung, die Natriumpektatviskosität, die Jodzahl und den Geléeegrad verfolgt. Das Pektinpräparat 21 wurde vorher gründlich mit HCl-Alkohol und Alkohol gereinigt. Die Reaktionslösung von 3 Litern enthielt 1 % Pektin und den Ca⁺⁺-freien, wässrigen, klar filtrierten Auszug aus 12 g Filtrationsenzym Pectinol. Der Abbau erfolgte bei einer konstanten Temperatur von 18,6° C. Die Unterbrechung der Pektinasewirkung zu gewünschter Zeit konnte sehr einfach durch die Zugabe von Natronlauge erzielt werden. Zur Bestimmung der Natriumpektatviskosität und der Jodzahl musste ohnehin Natronlauge zugegeben werden. Bei der Geléeherstellung wurde die Reaktion durch Aufkochen abgestoppt.

Tabelle 13.
Viskosität und Jodzahl beim Pektinabbau durch Pektinase.

Dauer der Enzym- einwirkung in Minuten	Reaktionslösung (mit Pektin) m = 5,12 Z in % von Z ₀	Natriumpektat in 0,05-n. NaOH m = 1,02 Z in % von Z ₀	Zunahme an Alde- hydgruppen in Äq. pro Äq. Pektin (ber. aus Jodzahl)
0	(Z ₀ = 10,8) 100	(Z ₀ = 1,03) 100	0,000
15	57,0	92,8	0,000
30	38,7	85,5	0,008
60	21,1	73,6	0,014
90	13,7	63,5	0,018
120	8,8	56,3	0,023
180	5,7	47,6	0,029
240	4,0	40,4	0,037
360	2,5	34,4	0,055
555	1,5	28,2	0,070
1370	0,6	18,8	0,117
1910	—	14,0	0,148

¹⁾ z. B. G. A. Pitman und W. V. Cruess, Ind. Eng. Chem. 21, 1292 (1929); G. L. Baker und R. F. Kneeland, Ind. Eng. Chem. 27, 92 (1935); H. Lüers und A. Loether, Wschr. Brau. 52, 49 (1935); E. Popowa, Rev. Appl. Mycol. 15, 103 (1936); F. Ehrlich, Enzymol. 3, 185 (1937); C. S. Hanes und T. N. Morris, Chem. Abstr. 1940, 2946; Z. I. Kertesz, Am. Soc. 61, 2544 (1939); E. Hübler, Diss. Heidelberg, 1940; M. A. Joslyn und A. Sedky, Plant Physiol. 15, 675 (1940); A. Mehlitz, Bamann-Myrbäck, Meth. Fermentforsch. 2865 (1941); S. C. Werch, A. A. Dag, R. W. Jung und A. C. Ivy, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 46, 569 (1941).

Tabelle 14.

Viskosität und Geléeград beim Pektinabbau mit Pektinase.

Dauer der Enzym- einwirkung in Minuten	Natriumpektat in 0,05-n. NaOH Ostwald-Visk. m = 1,02 Z in % von Z ₀	Gelierversuch	
		Milliäq. Pektin pro 170 g Gelée (65% Zucker, P _H = 2,9)	Geléeград
0	(Z ₀ = 0,468) 100	2,0	306
10	94,0	2,0	177
20	88,6	2,0	165
30	83,1	2,0	153
40	79,0	2,0	126
50	73,6	2,0	121
60	70,4	3,0	138
75	64,8	3,0	131
120	51,0	3,0	97

Während des Abbaus nimmt Z der konzentrierten Reaktionslösung (Pektin) bedeutend rascher ab als Z der verdünnteren Natriumpektatlösung. Die absoluten Werte von Z sind für die Reaktionslösung anfangs viel höher. Bei der Natriumpektatlösung dürfte eine Assoziation zwischen den Makromolekeln eine geringere Rolle spielen. Für kleine Unterschiede in der Kettenlänge am Anfang des Abbaus ist die Viskosität der konzentrierten Pektinlösung etwa ebenso empfindlich wie der Geléeград. Die Jodzahl ist bei hochpolymeren Pektinen wenig empfindlich; sie ist daher zur Bewertung des Pektins für Geliierzwecke ungeeignet. Die Aldehydgruppen nehmen im Laufe des Abbaus ziemlich regelmässig zu. Selbst bei Abbruch des Versuchs ist der Kettenabbau noch lange nicht bei der Galakturonsäure angelangt. — Die Abnahme von Z der Natriumpektatlösung ist anfangs grösser als später. Ein Abbau zur halben Kettenlänge benötigt eine um so geringere Anzahl von Spaltungen und daher um so kürzere Zeit, je höher der Polymerisationsgrad des Pektins ist. Für die Auswertung der Abbauversuche wäre wichtig, zu wissen, ob der Abbau eine Reaktion erster Ordnung darstellt und wie weit die *Staudinger*-sche Viskositätsregel Gültigkeit hat. Auch der Einfluss der sich während des Abbaus noch verändernden Polymolekularität wäre näher zu prüfen. — Durch Titrationsen wurde festgestellt, dass sich der Veresterungsgrad von 63,7% während des Pektinaseabbaus nicht verändert.

Bei der Darstellung von Pektinderivaten ist es von Interesse, den dabei evtl. stattfindenden Kettenabbau zu bestimmen. Als Beispiel dafür diene ein Veresterungsversuch mit Methylalkohol (Tabelle 15). Hier ist es besonders wichtig, für den Vergleich der Viskositäten den stark variierenden Veresterungsgrad auszuschalten. Das Veresterungsprodukt wurde mit Natronlauge verseift, in Pektinsäure übergeführt und dann als Pyridinpektat in 0,1-n. Pyridin ge-

löst. Je stärker das Präparat verestert wurde, desto stärker war im vorliegenden Falle die Molekelverkürzung.

Tabelle 15.

Molekelabbau bei der Veresterung von Pektinsäure mit Methanol.

Präparat 28.

Die Veresterungsprodukte wurden von Hrn. Dr. E. Eichenberger zur Verfügung gestellt.

	Veresterungsgrad %	Pyridinpektat in in 0.1-n. Pyridin, m = 0,80 Z
Ausgangspektinsäure:	0,0	0,79
Methylierungsprodukt:		
1.	47,5	0,55
2.	51,1	0,48
3.	54,5	0,39
4.	66	0,27
5.	86	0,16
6.	95	0,05

Die Veresterung mit Methanol ist wiederholt untersucht worden, zur Konstitutionsermittlung und zur Herstellung „künstlicher“ gelierfähiger Pektine aus Pektinsäure¹⁾. Bei starker Veresterung ist ein Abbau schwer zu vermeiden²⁾. Morell und Mitarbeiter zeigten, dass bei den völlig veresterten Produkten die Viskositätsanomalien wegen Fehlens dissoziationsfähiger Gruppen teils verschwinden.

Aus Tabelle 16 geht hervor, dass bei der Reinigung mit HCl-Äthylalkohol, die allgemein vor der Ausführung der Viskositätsbestimmung zur Entfernung von Araban und Elektrolyten ausgeführt wird, kein Abbau eintritt. Es findet jedoch eine gewisse Demethoxylierung statt, jedoch erst bei Einwirkungszeiten, die für Reinigungszwecke nicht in Frage kommen.

Tabelle 16.

Lagerung von Pektin in Salzsäure-Alkohol bei Zimmertemperatur.

Präparat 29.

50-proz. Alkohol mit 6 cm³ konz. HCl pro 100 cm³.

Dauer der Lagerung in HCl-Alkohol in Stunden	Natriumpektat in 0,05-n. NaOH m = 0,75 Z	Veresterungsgrad %
0	0,54	66,4
24	0,55	64,7
48	0,54	63,9
72	0,55	62,5

¹⁾ H. W. Buston und H. R. Nan i, Biochem. J. **26**, 2090 (1932); C. L. Hinton, Biochem. J. **34**, 1211 (1940).

²⁾ S. Morell, L. Baur und K. P. Link, J. Biol. Chem. **105**, 1 (1934); M. Lüdtko und H. Felser, A. **549**, 1 (1941).

In Tabelle 17 möge noch ein Beispiel der Anwendbarkeit der Pektat-Viskosität folgen, aus dem hervorgeht, dass Abnahmen der V. in konzentrierteren Pektinlösungen nicht auf Pektinabbau zu beruhen brauchen. Eine 0,7-proz. Pektinlösung wurde mit wenig Thymol versetzt und sterilisiert. Dann wurde sie bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach verschiedenen Zeiten wurde die V. der Lösung bestimmt, und gleichzeitig wurden aliquote Proben, die mit NaOH zur Ermittlung der Pektat-Viskosität verdünnt wurden, entnommen. — Viskositätsabnahmen ohne Molekelabbau sind bei ein- und mehr-proz. Pektinlösungen noch ausgeprägter.

Tabelle 17.
Zeitliche Viskositätsänderung einer 0,7-proz. Pektinlösung.
Präparat 29

Lagerungsdauer der 0,7-proz. Pektin- lösung in Stunden	0,7-proz. Pektin- lösung m = 3,5 Z	Natriumpektat in 0,05-n. NaOH. 0,2% Pektat m = 1,0 Z
0	2,58	0,56
48	2,51	0,55
120	2,42	0,56
216	2,24	0,55

7. Beziehung der Viskosität zur Gelierfähigkeit.

Die Bewertung des Geliermittels Pektin erfolgt heute meist nur durch die Eignungsprüfung, den Geliertest. Wird letzterer durch Zahlen ausgedrückt, so spricht man von Gelfestigkeit oder Geléegrad.

Das Verhalten beim Eignungstest stellt meist einen schwer entwirrbaren Komplex vieler Einzeleigenschaften dar. Wenn sich das Material beim Test als unbefriedigend erweist, so ist dadurch noch nicht festgestellt, an was dieses Versagen liegt. Deshalb sollte die Eignungsprüfung, soweit es die derzeitigen Kenntnisse gestatten, durch die Bestimmung einzelner Eigenschaften ergänzt werden. Beim Pektin erscheinen dazu neben der chemischen Analyse gerade viskosimetrische Bestimmungen geeignet zu sein.

Zunächst ist die V. ebenso wie die Gelierfähigkeit (= G.) die Resultierende verschiedener Einzeleigenschaften des Pektinpräparates. Aber der Einfluss dieser Eigenschaften auf die V. und auf die G. ist ein verschiedener. Nach zahlreichen Beobachtungen steht ziemlich sicher fest, dass sowohl die V. als auch die G. *et. par.* eindeutige Funktionen des Molekulargewichtes sind. Es bestehen jedoch keine linearen Beziehungen. Der Vorteil der Viskositätsbestimmung beruht darauf, dass hier alle übrigen Faktoren konstant gehalten werden können. Es ist also nicht zu erwarten, dass z. B. die Pektat-Viskosität mit der Gelfestigkeit durch eine eindeutige Funktion verbunden ist, da eben beim Geliertest neben dem Molekulargewicht

noch andere Faktoren von einem Pektinpräparat zum andern variieren. Der symbate Verlauf von V. und G. ist daher nur eine Regel mit Ausnahmen.

Die Verhältnisse beim Pektin sind ähnlich, wie bei anderen hochmolekularen Verbindungen (z. B. Cellulose, Gelatine und Kautschuk), bei denen auch Festigkeitseigenschaften mit der V. durch ihre gemeinsame Abhängigkeit vom Molekulargewicht verknüpft sind. Zur Bestimmung dieser Beziehungen beim Pektin sind noch weitere Untersuchungen auszuführen. Sicher liegen die Verhältnisse etwas anders für die Geliereigenschaften des Pektins als z. B. für die Faserfestigkeit der Cellulose. Bei dem Gelbildner Pektin kann ein erhöhtes Molekulargewicht durch Verminderung der Pektinkonzentration im Gelée ausgenutzt werden.

Auf einige Schwierigkeiten beim Geliertest sei hingewiesen: Die Gelifähigkeit hängt in unbekannter Weise von den verschiedenen Eigenschaften des Pektinpräparates ab. Mit verschiedenen Pektintypen lassen sich nicht unter gleichen Bedingungen (p_{H} , Zucker, Elektrolytzusatz) Gelée herstellen. Es gibt auch nicht-gelifähige Pektine, die technische Bedeutung besitzen können. Die Herstellung von Standardgelées ist heikel. „The usual commercial practice of determining pectin grade has always been more of an art than a science“. (Olsen¹). Die gemessene Gelfestigkeit ist eine undefinierte rheologische Eigenschaft. Die Geléekochung und die Festigkeitsmessung sind nicht international standardisiert, so dass Vergleiche schwer möglich sind. Der Geliertest, der durchaus nicht bekämpft werden soll, bedarf noch eines eingehenden Studiums.

Beziehungen zwischen der V. und der G. wurden wiederholt festgestellt. Als erste haben wohl Hardy² und Wendelmuth³ die V. als Mass für die G. verwendet. Vor allem wurde dann von Myers und Baker⁴ in zahlreichen Untersuchungen eine gewisse Parallelität zwischen dem durch die V. charakterisierten Polymerisationsgrad und der G. ermittelt. Sie bestimmten die V. wässriger, 0,5-proz. Pektinlösung. Es wurden Fälle beobachtet, bei denen deutliche Abnahmen der V. ohne solche der G. auftraten. Nach dem Erhitzen von Pektinlösungen ist die V. relativ weniger herabgesetzt als die G. Viskosimetrische Messungen sollen zur Betriebskontrolle brauchbar sein, wenn es sich stets um Pektine gleicher Herstellungsart handelt. — Ohn⁵ gibt Grenzzahlen für die V. an, bei deren Unterschreitung keine Gelierung mehr eintritt. — Wilson⁶ stellte eine eindeutige Beziehung zwischen der V. und der G. fest. Die V. wurde an 1-proz. Pektinlösungen unter Zusatz von Natriumtartrat gemessen. — Ziegelmay⁷ verwendet die V. von Obst-säften beim Eindampfen als Kennzeichen der G. — Olsen⁸ zeigte, dass Zunahmen der V. beim Lagern des Pektins ohne Anstieg der G. auftreten können. — Gaddum⁹ fand verschiedene Quotienten aus der V. und der G. für heisswasser- und säureextrahiertes Pektin. — Auch Baker¹⁰ und Baker und Kneeland¹¹ bedienen sich der V. von Extrakten zur Beurteilung der G. Eine Viskositäts-Pipette wird als „jelly-meter“ bezeichnet. — Biel¹² konstatierte eine gewisse Parallelität zwischen der V. von 0,75-proz. Pektinlösungen

¹) Ind. Eng. Chem. **25**, 699 (1933).

²) Biochem. J. **18**, 283 (1924).

³) Koll. Beih. **19**, 115 (1924).

⁴) Delaware Agr. Exp. Stat. **141**, 14 (1925); **147**, 15 (1926); **149**, 1 (1927); **160**, 1 (1929); **187**, 1 (1934).

⁵) Ind. Eng. Chem. **18**, 1295 (1926).

⁶) Ind. Eng. Chem. **20**, 1302 (1928).

⁷) Koll. Z. **52**, 243 (1930).

⁸) loc. cit. (1933).

⁹) Agr. Exp. Stat. Gainesville, Florida **268**, 1 (1934).

¹⁰) Food Ind. **6**, 305 (1934); **7**, 170 (1935).

¹¹) Ind. Eng. Chem. **27**, 92 (1935); **28**, 373 (1936).

¹²) Chem. Weekb. **32**, 557 (1935).

und der subjektiven Gelbonitierung. — Auch *Gaponenkow*¹⁾ schliesst aus der V. auf die G. und das Wasserbindungsvermögen. — *Eckart*²⁾ bestimmte Viskositäten an Pektinextrakten mit dem *Höppler-Viskosimeter*. — Nach *Norman*³⁾ hängt die V.-G.-Relation vom Pektintyp ab. Bei sehr hochpolymeren Pektinen steigt die V. stärker als die G. an. (Das gleiche dürfte auch für relativ stark abgebaute, kaum gelierende Pektine gelten, so dass G. als Funktion von V. eine S-Kurve ergibt.) — Wegen des grossen Einflusses von Fremdstoffen auf die V. soll nach *Ripa*⁴⁾ vorläufig die Bestimmung von Viskositäten „keine allgemeine und anerkannte Bedeutung“ besitzen. Er erwähnt, dass von *Fellenberg* bei einer Beratung im Eidg. Gesundheitsamt in Bern viskosimetrische Messungen zur Pektinbewertung empfohlen hat. Im Schweiz. Lebensmittelbuch⁵⁾ wird auch gefordert, dass die spezifische V. bezogen auf die 1-proz. Pektinlösungen nicht weniger als 2,8 betragen soll. Die Messungen werden im *Ostwald-Viskosimeter* bei 20° C mit 0,03—0,06-proz. Lösungen von vorgereinigtem Pektin ausgeführt, so dass die relativen V: zwischen 1,25 und 1,50 liegen. — *Baker und Goodwin*⁶⁾ bestimmten die V. von Tresterextrakten. Für ein konstantes Verhältnis zwischen der V. und der G. sollen p_H -Werte der Lösungen von 2,75 am günstigsten sein. (Schwach veresterte Pektine flocken allerdings bei diesem p_H bereits aus.) — *Bennison und Norris*⁷⁾ nahmen Messungen der V. an 0,5-proz. Pektinlösungen vor. Bei einem hydrolytischen Pektinabbau nahmen mit der Zeit die V. und die G. ab, die G. jedoch relativ rascher. — *Mehlitz*⁸⁾ mass zur Tresterbewertung die V. von Extrakten. Laboratoriumstrester erwiesen sich als bedeutend hochwertiger als Trester der Industrie und des Handels. — *Mehlitz und Desmeth*⁹⁾ beobachteten eine gewisse Parallelität zwischen der V. und der G. — *Olsen, Stuewer, Fehlberg und Beach*¹⁰⁾ verglichen die V. von 0,8- und 1,0-proz. Pektinlösungen mit den Geléegraden. Diese Autoren empfehlen für Viskositätsmessungen eine Einstellung des p_H auf 4,4—4,5. Nach *Lüttke und Felser*¹¹⁾ verlaufen die V. und die G. nicht immer parallel. — Auch aus Untersuchungen von *Malsch*¹²⁾ ergibt sich keine eindeutige Relation zwischen diesen beiden Werten. Dies ist auch gar nicht zu erwarten, da seine Pektinpräparate im Methoxylgehalt und im Reinheitsgrad sehr verschieden sind. Geeignet erscheint es, die Messungen der V. in Gegenwart von Puffern zur Ausschaltung des elektro-viskosen Effektes auszuführen. — Auch *Mehlitz*¹³⁾ verwendet die spezifische V. als Mass der G. Er reinigt seine Präparate weitgehend und nimmt dann die Bestimmungen an sehr verdünnten Lösungen unter Zusatz von Kochsalz und Puffersubstanzen vor. — Von *Owens, Lotzkar, Merrill und Peterson*¹⁴⁾ wird ebenfalls die „intrinsic viscosity“ (Z extrapoliert für die Pektinkonzentration Null) zur Pektinbewertung empfohlen.

Auch aus den eigenen Untersuchungen (Tabelle 3 und 5) geht hervor, dass der symbate Verlauf zwischen der V. und der G. nur eine Regel darstellt. Eindeutigere Beziehungen zwischen diesen beiden Grössen sind zu erwarten, wenn die verschiedenen Pektinpräparate aus einem Ausgangsmaterial, z. B. durch enzymatischen Abbau, gewonnen werden. Die Pektine unterscheiden sich dann nur im Molekulargewicht (Tabelle 14).

1) C. 1936, II, 3375.

2) Z. Unters. Lebensm. 71, 428 (1936).

3) A. G. Norman, Biochemistry of cellulose, the polyuronides, lignin etc. Oxford 1937.

4) R. Ripa, Pektinstoffe. Braunschweig, 1937; V. Congr. internat. techn. chim. ind. agr. Schéveningue 155 (1937).

5) Schweiz. Lebensmittelbuch, 4. Aufl. 189 u. 190 (1937).

6) Delaware Agr. Exp. Stat. 207, 26 (1937); 214, 20 (1938); 216, 1 (1939).

7) Biochem. J. 33, 1443 (1939).

8) Vorratspflege u. Lebensmittelforsch. 2, 541 (1939).

9) Obst- und Gemüseverwertungsind. 26, 237 (1939).

10) loc. cit. (1939). 11) A. 549, 1 (1941). 12) Bioch. Z. 309, 283 (1941).

13) Obst und Gemüse, Heft 11, 4. Aufl. 1944. 14) loc. cit. (1944).

In Tabelle 18 sind Bestimmungen an Pektinen zusammengestellt, die aus verschiedenen Apfeltrestern unter gleichen Bedingungen extrahiert wurden. Es wurden stets je zwei Extraktionen nacheinander vorgenommen. Die Viskositätsmessungen erfolgten an wässrigen 0,2-proz. Pektinlösungen. Bei allen Trestern sind die Pektine der zweiten Extraktion nach dem Viskositäts- und dem Geliertest minderwertiger.

Tabelle 18.
Bewertung verschiedener Apfeltrester.

Nr. des Tresters	Erste Extraktion		Zweite Extraktion	
	m = 1,0 Z	Geléeград	m = 1,0 Z	Geléeград
1	7,11	318	4,57	299
2	6,81	310	2,59	208
3	6,58	313	1,84	154
4	6,25	284	3,78	245
5	6,00	315	1,70	130
6	5,50	378	2,82	265
7	5,03	271	1,49	75
8	3,25	236	2,42	214

In Tabelle 19 sind die Natriumpektat-Viskositäten und Geléegrade für einige Pektinpräparate, geordnet nach steigender Zähigkeitszahl, zusammengestellt.

Tabelle 19.
Bewertung verschiedener Pektinpräparate.

Nr. des Pektinpräparat s	Natriumpektat in 0,05-n. NaOH m = 0,85 Z	Geléegrade
30	0,530	136
31	0,548	135
32	0,632	110
33	0,683	145
34	0,708	163
35	0,710	239
36	0,725	175
37	0,763	190
38	0,775	205
39	0,828	290
40	0,878	350
41	0,942	280
42	0,954	250
43	1,04	311
44	1,06	300
45	1,15	280
46	1,45	383

Zusammenfassung.

Die umfangreiche Literatur über die Viskosität von wässrigen Pektinlösungen zeigt, dass die komplizierten Viskositätsverhältnisse bei Betrachtung des Pektins als heteropolares Linearkolloid verständlicher werden.

Die Zähigkeitszahl wässriger Pektinlösungen ist nicht allein vom Molekulargewicht des Pektins abhängig, sondern sie ist zugleich eine Funktion der Pektinkonzentration, des Veresterungs- und Neutralisationsgrades des Pektins, der Lösungsgenossen, der Temperatur, der Strömungsverhältnisse usw.

Soll die Viskosität ein Mass für das mittlere Molekulargewicht des Pektinpräparates sein, so müssen alle übrigen, die Viskosität beeinflussenden Faktoren konstant gehalten werden. Dazu wird die Viskosität an verdünnten Lösungen von Natriumpektat (0,25–1,25 Milliäquivalente Pektat pro 100 cm³ Lösung), das durch alkalische Verseifung aus gründlich gereinigten Pektinen gewonnen wird, bei 20,0° C in 0,05-n. Natronlauge bestimmt.

Es wird der Einfluss verschiedener Faktoren auf die Viskosität von Natriumpektatlösungen untersucht. Zum Vergleich werden auch Messungen an dem bedeutend weniger elektrolytempfindlichen Natriumalginat vorgenommen.

Die Pektinverseifung kann auch mit dem Enzym Pektase (Phytolipase) durchgeführt werden.

Bei einem enzymatischen Pektinabbau (Pektinase) wird die Natriumpektat-Viskosität mit der Viskosität der Pektinlösung, der Jodzahl und dem Geléeegrad verglichen.

Die Viskosität wässriger Pektinlösungen, die zum Geléeegrad in Beziehung steht, ist in den Rahmen der Gesamtanalyse des Pektins zu stellen.

Bei der Ausführung dieser Untersuchungen wurden wir von verschiedenen Seiten, vor allem von Herrn Prof. Dr. H. Pallmann, unterstützt. Herr Dr. E. Eichenberger stellte uns sechs Veresterungsprodukte (Tabelle 15) zur Verfügung. Eine grössere Anzahl von Pektinpräparaten wurden von Herrn Dr. E. Junker¹⁾ geliefert. Herr Dr. Leutwyler¹⁾ bestimmte die Geléegrade der Tabelle 14, und Herr dipl. ing. chem. W. Palmik überliess uns die Viskositätsbestimmungen über die elektrodialytische Pektinreinigung. Den genannten Herren sei bestens gedankt.

Methodisches.

Die verwendeten Apfeltrester sind Schweizer Handelsware der Jahre 1940–1944.

Die Pektine (Nr. 1–46) wurden aus den Trestern nach dem Verfahren von Olsen und Stuewer (Franz. Pat. 796929) gewonnen. Sie wurden stets noch mit HCl-haltigem, 60%-igem Alkohol auf der Nutsche behandelt und darauf mit verd. Alkohol bis zur Chloridfreiheit gewaschen. Die Präparate enthielten, abgesehen vom Wasser, nur 0,5–4,0% Fremdstoffe (Asche, Hemicellulose, Gerbstoffe usw.). Der Veresterungsgrad betrug, soweit nicht besondere Angaben gemacht werden, ca. 62%. Er wurde einfach durch Titration

¹⁾ Zentrallaboratorium der Unipektin A.G., Zürich.

der Carboxyle vor (a) und nach (b) völliger Verseifung mit Natronlauge bestimmt. Veresterungsgrad = $100 b : (a + b)$.

Die Pektate wurden aus Pektinen durch heterogene Verseifung mit NaOH-haltigem, verd. Alkohol hergestellt. Durch Perkolatation mit HCl-haltigem, verd. Alkohol und darauf mit verd. Alkohol erfolgte die Überführung in Pektinsäure.

Die Alginsäure wurde durch Extraktion mit 0,2-n. Ammoniumoxalat bei 60° C aus *Stipes Laminariae crudus* Ph.H.V. isoliert. Das Alginat wurde durch Umfällung mit HCl-haltigem Alkohol gereinigt.

Das Ferment Pektinase, das Pektin hydrolytisch abbaut, wurde mit Wasser bei 40° C aus dem technischen Präparat Pectinol dopp. conc. (geliefert von *A. Sutter*, Uzwil) extrahiert. Das Enzym stammt aus *Aspergillus oryzae*.

Das Enzym Pektase, das Pektin durch Abspaltung von Methanol zu Pektinsäure verseift, wurde ähnlich wie die Pektinase aus Arbuz-Tabletten (*Dr. Schwaab G.m.b.H.*, München) gewonnen. Arbuz wird aus dem Milchsafte von *Carica Papaya* hergestellt. Die Pektase, ein relativ unspezifisches Enzym, dürfte mit der im Präparat vorhandenen Phytolipase identisch sein.

Die Viskositäten wurden, wenn keine besonderen Angaben gemacht werden, im *Höppler*-Präzisionsviskosimeter bei 20,0° C bestimmt. Vor der Messung wurde stets durch G 2-Glasfilter filtriert. Als relative Viskosität wurde einfach der Quotient der Fallzeiten für die Lösung und das Lösungsmittel verwendet. — Der Einfluss des Geschwindigkeitsgradienten, der sehr bedeutend sein kann, wurde nicht genauer festgestellt.

Die Natriumpektat-Viskosität wurde folgendermassen ausgeführt: Zunächst wird der Gehalt des gut gereinigten Pektinpräparates an Gesamt-Carboxylen durch Zugabe von Natronlauge im Überschuss und Rücktitration mit Säure nach zwei Stunden ermittelt. Danach wird auf der analytischen Waage eine Menge Pektin, die der gewünschten Anzahl Milliäquivalente (z. B. $m = 0,800$) entspricht, abgewogen. Man gibt das abgewogene Pektin in ein Becherglas, befeuchtet es mit 0,5 cm³ 60-proz. Alkohol. Hierauf werden 25 cm³ Wasser (bzw. 25 cm³ 0,02-n. Natriumoxalat) zugegeben und so lange gerührt, bis sich das Pektin vollständig gelöst hat. Die Lösung wird in ein 100 cm³-Messkölbchen gegeben und es wird mit ca. 20 cm³ Wasser nachgespült. Dann gibt man zu der Lösung im Kölbchen genau (5 + m) Milliäq. NaOH und füllt mit Wasser genau auf 100 cm³ auf. Man lässt die Lösung ca. 12 Stunden stehen, filtriert durch ein G 2-Filter und bestimmt die Viskosität.

Der Geliertest wurde nach der in den U.S.A. üblichen Methode vorgenommen. (Standardkochung nach *Stuewer, Beach* und *Olsen*¹⁾ und Festigkeitsmessung an den erhaltenen Gelen mit dem *Tarr-Baker-Gel-Tester*²⁾)

Die Jodzahl nach *Willstätter* und *Schudel* wurde an je 50 cm³ 1-proz. Pektinlösung festgestellt. Es wurden 20,0 cm³ 0,1-n. Jod und 70 cm³ 0,1-n. NaOH zugesetzt. Man lässt genau 20 Minuten stehen, versetzt dann mit 80 cm³ 0,1-n. Schwefelsäure und titriert mit 0,1-n. Thiosulfat zurück. Der Nullwert für das unabgebaute Pektin (3,8 cm³ 0,1-n. Jod) und für die Pektinase (1,4 cm³ 0,1-n. Jod) wurden stets in Abzug gebracht. In Tabelle 13 wurde auf Zunahme an Äquivalenten Aldehyd pro Äquivalent Pektin umgerechnet.

Agrikulturchemisches Institut der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

¹⁾ Ind. Eng. Chem. Anal. **6**, 143 (1934).

²⁾ *G. L. Baker*, Ind. Eng. Chem. **18**, 89 (1926).

141. Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus.

8. Über die komplexe Natur der *d*-Aminosäure-oxydase

von S. Edlbacher und O. Wiss.

(24. VII. 45.)

Am Beispiel der *d*-Aminosäure-oxydase haben wir in der 6. Mitteilung¹⁾ zeigen können, dass sowohl Aminosäuren als auch Proteine den Aminosäure-Abbau intensiv beeinflussen können. Alle untersuchten Aminosäuren und Eiweißkörper wirken je nach Wahl der Versuchsbedingungen als positive oder negative Effektoren des oxydativen *d*-Aminosäure-Abbaues. Ob die aktivierende oder hemmende Wirkung in Erscheinung tritt, ist namentlich durch die Konzentration des Enzyms bedingt. In verdünnten Enzymlösungen tritt die Aktivierung, in konzentrierten hingegen die Hemmung in Erscheinung. Jede Aminosäure wirkt in spezifischer Weise. Auffallend ist dabei besonders die grosse Wirksamkeit des Histidins. Dieses spezifische Verhalten der einzelnen aktivierenden Aminosäuren wurde nun in weiteren ausführlichen Untersuchungen geprüft. Wir verwendeten wieder weitgehend gereinigte *d*-Aminosäure-oxydase. Schon in der 6. Mitteilung haben wir darauf hingewiesen, dass es die Effektorenwirkung ermöglicht, die *d*-Aminosäuren zu unterteilen, nämlich in solche, deren Abbau sich aktivieren lässt, und solche, deren Abbau sich nicht oder nur geringfügig beeinflussen lässt. Die der ersten Gruppe angehörigen Aminosäuren *d*-Alanin, *d*-Valin, *d*-Leucin, *d*-Isoleucin, *d*-Phenylalanin lassen sich nun bezüglich ihres Abbaues noch weiter charakterisieren, wenn man die Aktivierungsgrößen ihres Abbaues durch verschiedene *l*-Aminosäuren vergleicht. Ausserdem gestattet der Vergleich des *d*-Aminosäure-Abbaues bei verschiedenem Reinheitsgrad der *d*-Aminosäure-oxydase ebenfalls Unterschiede zu zeigen, die zwischen dem Abbau der einzelnen *d*-Aminosäuren bestehen. *Karrer* und *Frank*²⁾ haben auch schon auf eine Differenzierung der *d*-Aminosäure-oxydase hingewiesen. Aus der Tatsache, dass bei Verwendung von gereinigtem Enzym einzelne *d*-Aminosäuren vom Abbau nicht betroffen wurden, haben sie auf die Existenz mehrerer Enzyme geschlossen. Wir können diese Ergebnisse insofern bestätigen, indem wir fanden, dass die relativen Abbaugrößen der einzelnen *d*-Aminosäuren bei verschiedenen Reinigungsstufen des Enzyms grossen Schwankungen unterliegen. Es lässt sich aber auch zeigen, dass auch

¹⁾ Helv. 28, 797 (1945).

²⁾ Helv. 23, 948 (1940).

noch bei weitergehend gereinigten Enzymstufen und bei entsprechender Wahl der Enzymkonzentration alle untersuchten *d*-Aminosäuren abgebaut werden. Die Frage nach der Spezifität einzelner *d*-Aminosäure-oxydasen lässt sich demnach nicht in einfacher Weise in positivem oder negativem Sinne beantworten, und wir werden weiter unten darauf zurückkommen.

Wir haben im weiteren die Effektorenwirkung mehrerer gleichzeitig zugesetzter aktivierender Aminosäuren untersucht. Dabei hat sich gezeigt, dass sie sich in sehr komplexer Weise beeinflussen. Es können alle drei Möglichkeiten je nach Wahl der Versuchsbedingungen eintreten, indem

1. die Aktivierungseffekte der einzelnen Komponenten sich addieren,
2. die Gesamtaktivierung kleiner ist als die Summe der einzelnen Aktivierungen,
3. eine Aktivierung stattfindet, die grösser ist als die Summe der einzelnen Aktivierungseffekte.

Auf Grund dieser mitgeteilten Tatsachen erscheint es wohl wahrscheinlich, dass diese komplexen Erscheinungen der Aktivierung und Hemmung der *d*-Aminosäure-oxydase eng mit der Wirkung der verschiedenen Proteine verknüpft sind, die das sogenannte „Reinenzym“ begleiten. Im gleichen Sinne sprechen auch Versuche, welche zeigen, dass die typische positive Effektorenwirkung immer nur bei der Verdünnung des Apofermentes in Erscheinung tritt.

Schliesslich haben wir geprüft, wie sich jene Proteine, die im Verlauf der Enzymreinigung vom wirksamen Protein abgetrennt werden, hinsichtlich der Effektorenwirkung verhalten, und es lässt sich nun zeigen, dass diese sogenannten „unwirksamen“ Proteine ebenfalls als kräftige Aktivatoren der gereinigten *d*-Aminosäure-oxydase wirken können.

Methoden.

Die Versuchstechnik findet sich in den vorangegangenen Mitteilungen beschrieben. Im allgemeinen verwendeten wir als Apoferment das in der 6. Mitteilung beschriebene Trockenpräparat (= Präparat A). In einzelnen Versuchen kam ein weiter gereinigtes Trockenpräparat (= Präparat B) zur Anwendung. Das Präparat B entspricht der vorletzten Reinigungsstufe der Vorschrift von Negelein und Brömel¹⁾. Die Aktivität erwies sich im *d*-Alanintest von ungefähr gleicher Grösse, wie sie von den oben genannten Autoren angegeben wird. Die Ausbeute war jedoch um ein Mehrfaches grösser, was sehr wahrscheinlich durch die Verschiedenheit des Ausgangsmaterials (Schweinenieren) bedingt ist.

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

In ausgedehnten Untersuchungen haben wir den Abbau der folgenden *d*-Aminosäuren: *d*-Alanin, *d*-Valin, *d*-Leucin, *d*-Isoleucin,

¹⁾ Bioch. Z. 300, 225 (1939).

d-Phenylalanin, mit einer grossen Anzahl *l*-Aminosäuren aktiviert, nämlich mit *l*-Alanin, *l*-Valin, *l*-Leucin, *l*-Isoleucin, *l*-Phenylalanin, *l*-Tyrosin, *l*-Tryptophan, *l*-Prolin, *l*-Cystin, *l*-Methionin, *l*-Arginin, *l*-Ornithin, *l*-Citruillin, *l*-Lysin, *l*-Glutaminsäure, *l*-Asparaginsäure, *l*-Histidin sowie auch mit Glykokoll. Wir haben alle diese Versuche mit dem gleichen Enzympräparat durchgeführt und peinlich darauf geachtet, dass sämtliche Untersuchungen unter den gleichen Bedingungen verliefen. In Fig. 1 haben wir die Ergebnisse graphisch festgehalten (s. Fig. 1).

Würden die einzelnen Aminosäuren gleichsinnig auf die verschiedenen *d*-Aminosäuren einwirken, so würden die Aktivierungsgrössen des Abbaues der verschiedenen *d*-Aminosäuren einander entsprechen und die einzelnen Kurven würden sich in regelmässigem Verlauf untereinander ordnen. Der unregelmässige Verlauf zeigt jedoch, dass Substrate und Aktivatoren sich in komplexer Weise gegenseitig beeinflussen.

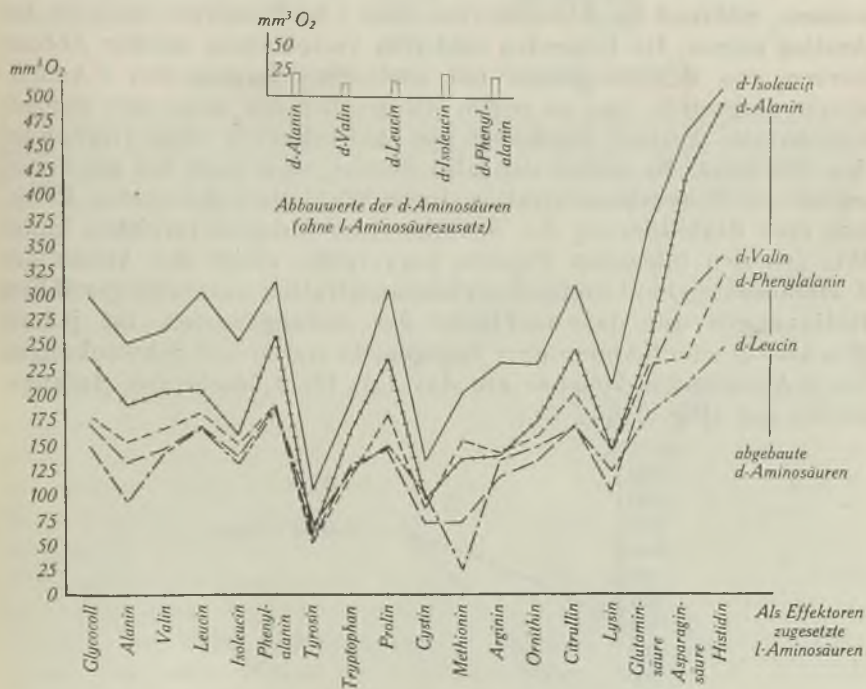


Fig. 1.

Aktivierung verschiedener *d*-Aminosäuren durch *l*-Aminosäuren.

Die Kurven zeigen die Abbaugrössen der *d*-Aminosäuren bei Zusatz verschiedener *l*-Aminosäuren. Auf der Ordinate ist der Sauerstoff-Verbrauch nach einer Stunde aufgetragen. Auf der Abszisse finden sich die zugesetzten *l*-Aminosäuren. Ihre Konzentration betrug immer $m/50$. Die *d*-Aminosäuren wurden in der gleichen Konzentration zugesetzt.

Zum Vergleich sind die Abbaugrößen der einzelnen *d*-Aminosäuren ohne *l*-Aminosäure-Zusatz ebenfalls dargestellt. Als Apoferment diente Präparat A. Pro cm^3 wurden 8 mg des Pulvers eine halbe Stunde bei 38° extrahiert. Auf 7 cm^3 der Apofermentlösung wurden $0,25 \text{ cm}^3$ Hefeextrakt zugesetzt. Pro Ansatz wurde $0,5 \text{ cm}^3$ dieser Enzymlösung verwendet. Die Gesamtlöslichkeitsmenge betrug immer 3 cm^3 ; $p_{\text{H}} = 8,0$.

Stabilisierungseffekt der *l*-Aminosäuren auf den Abbau der *d*-Aminosäuren bei variiertem Enzymkonzentration.

Wie aus der 6. Mitteilung und den vorhin mitgeteilten Ergebnissen hervorgeht, muss es nun durch Wahl geeigneter Versuchsbedingungen möglich sein, auch bei steigender Enzymkonzentration annähernd den gleichen Abbauwert für eine *d*-Aminosäure zu erhalten, wenn gleichzeitig eine *l*-Aminosäure als Effektor im System vorhanden ist. Dann wird bei niedriger Enzymkonzentration die *l*-Aminosäure aktivierend wirken, während bei höherer Enzymkonzentration das Phänomen der antipodischen Hemmung in Erscheinung treten muss. Dementsprechend wird die durch die *l*-Aminosäure beeinflusste Wirkungskurve annähernd horizontal verlaufen müssen, während die Abbaukurven ohne *l*-Aminosäuren einen steilen Anstieg zeigen. Im folgenden sind nun verschiedene solcher Abbaukurven von *d*-Aminosäuren mit und ohne Zusatz von *l*-Aminosäuren dargestellt, und sie zeigen alle deutlich den mehr oder weniger horizontalen Verlauf gegenüber den Abbaukurven ohne Gegenwart des Effektors. Es ergibt sich also daraus, dass man bei ganz verschiedener Enzymkonzentration durch Wahl eines geeigneten Effektors eine Stabilisierung des *d*-Aminosäure-Abbaues erreichen kann. Wie aus den folgenden Figuren hervorgeht, steigt der Abbau der *d*-Aminosäuren bei höherer Enzymkonzentration unter den gewählten Bedingungen auf das 6—7fache des Anfangswertes. Ist jedoch gleichzeitig eine *l*-Aminosäure zugegen, so treten nur Schwankungen des *d*-Aminosäure-Abbaues um das 1,5- bis 1,7fache des Anfangswertes auf (Fig. 2 und 3).

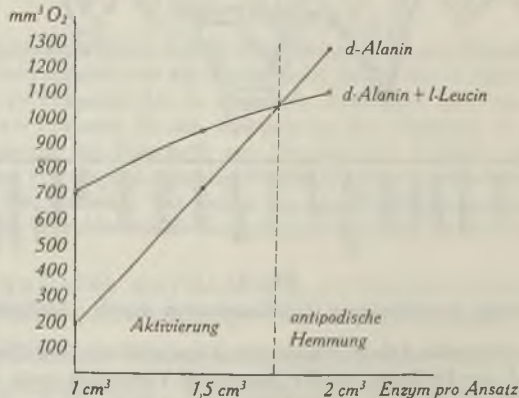


Fig. 2.

Aktivierungseffekt bei steigender Enzymkonzentration.

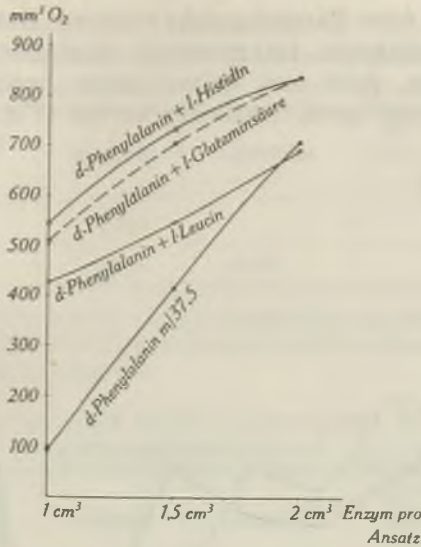


Fig. 3.

Aktivierungseffekt bei steigender Enzymkonzentration.

Auf der Ordinate ist der Sauerstoffverbrauch nach einstündiger Versuchsdauer, auf der Abszisse die Enzymkonzentration aufgetragen. Wir verwendeten die gleiche Enzymlösung, deren Herstellung bei Fig. 1 beschrieben ist. Die Konzentration der *l*- und *d*-Aminosäuren betrug immer $m/25$. Im übrigen waren die Versuchsbedingungen genau so, wie sie bei Fig. 1 angegeben sind.

Abhängigkeit der relativen Abbaugröße der einzelnen *d*-Aminosäuren bei verschiedenem Reinheitsgrad des Enzyms.

In Parallelversuchen haben wir die Abbaugröße der einzelnen *d*-Aminosäuren bei verschiedenem Reinheitsgrad des Enzyms verglichen. Die erste Versuchsserie wurde mit Rohferment durchgeführt. Als weiteres Enzympräparat verwenden wir jene Reinigungsstufe, die sich nach der Abtrennung des Cofermentes ergibt (Präparat A). Schliesslich haben wir in einer Versuchsreihe das bis zur vorletzten Stufe gereinigte Apoferment verglichen (Präparat B). Die Enzymkonzentrationen wurden so gewählt, dass nach einer Stunde für *d*-Alanin bei allen Reinigungsstufen ungefähr die gleiche Abbaugröße resultierte. Wären die relativen Abbaugrößen der einzelnen *d*-Aminosäuren bei den verschiedenen Reinigungsstufen gleich, so müssten die in Fig. 3 dargestellten Kurven zusammenfallen. Der stark voneinander abweichende Verlauf der Kurven zeigt aber, wie sehr die relativen Abbaugrößen der einzelnen *d*-Aminosäuren durch „Reinigung“ des Enzyms geändert werden. Würden im Verlauf der Enzymreinigungen nur wirklich „unwirksame“ Bestandteile ent-

fernt, so liesse sich diese Tatsache nicht erklären. Dass die sogenannten unwirksamen Fraktionen integrierende Bestandteile des Enzymsystems darstellen, geht aus weiter unten beschriebenen Untersuchungen ausserdem noch deutlicher hervor (Fig. 4).

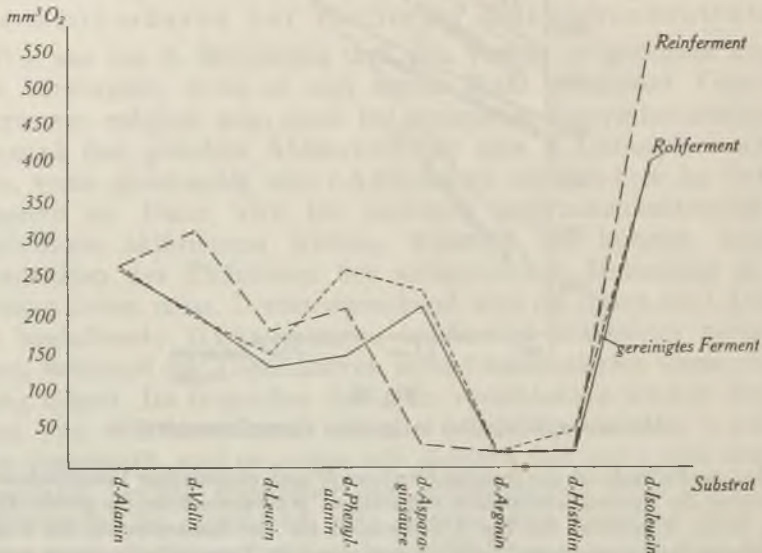


Fig. 4.

Abhängigkeit der Abbaugrössen verschiedener *d*-Aminosäuren vom Reinheitsgrad des Enzyms.

Jede Kurve zeigt den Abbau der verschiedenen *d*-Aminosäuren für eine bestimmte Reinigungsstufe des Enzyms.

Kurve I: Als Enzym diente Rohfermentlösung. Acetontrockenpulver von Schweineieren wurde während einer halben Stunde bei 38° mit der zehnfachen Phosphatpuffermenge $p_H = 8,0$ extrahiert und davon 0,2 cm³ pro Ansatz eingefüllt.

Kurve II: Als Enzym diente Präparat A. Pro Ansatz wurden 1,25 cm³ der Enzymlösung, deren Bereitung bei Fig. 1 beschrieben ist, eingefüllt.

Kurve III: Als Enzym diente Präparat B. Es wurden 0,15 mg des Trockenpulvers pro cm³ Pyrophosphatpuffer $m/20$ $p_H = 8,3$ gelöst. Auf 3 mg Trockenpulver wurden 0,25 cm³ Hefeextrakt als Aktivator zugegeben. Es wurde 1,5 cm³ dieser Lösung pro Ansatz eingefüllt. Die Versuchsdauer betrug immer eine Stunde. Gesamtflüssigkeitsmenge = 3 cm³.

In gleicher Weise lässt sich zeigen, dass auch der Aktivierungseffekt der *l*-Aminosäuren weitgehend vom Reinheitsgrad des Enzyms abhängig ist, wie wir das schon in der 6. Mitteilung angedeutet haben. Die folgende Tabelle zeigt, dass die Aktivierung mit fortschreitender Reinigung immer deutlicher in Erscheinung tritt.

Tabelle I.

a) Aktivierung der Rohfermentlösung.
Gesamtflüssigkeitsmenge 3,0 cm³. p_H = 8.

Enzym cm ³	<i>d</i> -Alanin	<i>l</i> -Histidin	O ₂ -Verbrauch nach 2 ½ Std. in mm ³
0,5	m/100		74
0,5	m/100	m/40	120

Enzym: Acetontrockenpulver von Schweinenieren wurde mit der 20fachen Phosphatpuffermenge p_H = 8 eine halbe Stunde extrahiert, und der Extrakt in den Hauptraum eingefüllt, Substrat im Ansatzgefäß.

b) Aktivierung einer teilweise gereinigten Enzymlösung.
Gesamtflüssigkeitsmenge 3 cm³. p_H = 8.

Enzym cm ³	<i>d</i> -Alanin	<i>l</i> -Histidin	O ₂ -Verbrauch nach 1 Std. in mm ³
0,5	m/50		106
0,5	m/50	m/100	372

Enzym: 5 g Acetontrockenpulver von Schweinenieren wurden mit 100 cm³ Phosphatpuffer p_H = 8 ½ Stunde bei 38° extrahiert. Vom Extrakt wurde durch Essigsäurefällung bei p_H = 5,1 unwirksames Protein abgetrennt. Die wirksame Fraktion wurde durch 0,4 Ammoniumsulfatsättigung gefällt und in 2 cm³ Phosphatpuffer p_H = 8 gelöst. Diese Lösung wurde in den Hauptraum eingefüllt, Substrat in das Ansatzgefäß.

c) Aktivierung durch weitgehend gereinigte Enzymlösung.
Gesamtflüssigkeitsmenge 3 cm³. p_H = 8.

Enzym cm ³	<i>d</i> -Alanin	<i>l</i> -Histidin	O ₂ -Verbrauch nach 1 Std. in mm ³
2	m/50		93
2	m/50	m/50	624

Enzym: Es wurde 0,8 mg des Präparates B pro cm³ Phosphatpuffer p_H = 8 gelöst. Auf 3 mg des Präparates B wurden 0,25 cm³ Hefeextrakt zugegeben. Die so aktivierte Lösung wurde in den Hauptraum eingefüllt, das Substrat in das Ansatzgefäß.

Einfluss der Coferment-Konzentration.

Bei den bisher beschriebenen Versuchen mit gereinigtem Enzym war immer das Coferment im Überschuss zugegen. Da nun bei vermindertem Cofermentzusatz eine immer schwächere Wirkung der Enzymlösungen zu verzeichnen ist, wurde geprüft, wie sich zugesetzte *l*-Aminosäuren als Effektoren verhalten, wenn die Ab-

schwächung der Enzymwirkung durch einen immer geringeren Zusatz von Coferment (Dinucleotid) erreicht würde, während die Apofermentkonzentration konstant gehalten wurde. Wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht, tritt unter diesen Verhältnissen der aktivierende Effekt der *l*-Aminosäuren nur sehr geringfügig in Erscheinung. Es bilden diese Versuche deshalb einen weiteren Hinweis darauf, dass die Effektorenwirkung in engster Weise mit der Funktion des Apofermentes (Protein) verknüpft ist.

Tabelle II.

Gesamtflüssigkeitsmenge 3 cm³. p_H = 8.

Apoferment cm ³	Coferment (= Hefe- extrakt) cm ³	<i>d</i> -Alanin	<i>l</i> -Alanin	O ₂ -Verbrauch nach 1 Stde. in mm ³
2	0,14	m/50		654
2	0,14	m/50	m/100	741
2	0,07	m/50		421
2	0,07	m/50	m/100	574
2	0,035	m/50		223
2	0,035	m/50	m/100	383
2	0,018	m/50		94
2	0,018	m/50	m/100	170
2	0,006	m/50		24
2	0,006	m/50	m/100	62
2	0,003	m/50		14
2	0,003	m/50	m/100	26
2	0,0015	m/50		8
2	0,0015	m/50	m/100	13

Apofermentlösung: 150 mg des Präparates A wurden eine halbe Stunde bei 38° mit Phosphatpuffer p_H = 8 extrahiert. Dieser Extrakt wurde in den Hauptraum eingefüllt.

Wirkung der Begleitproteine des Enzyms.

Bei der präparativen Darstellung der gereinigten Enzymlösung aus dem Rohextrakt werden nach *Negelein* und *Brömel* (l. c.) zunächst zwei Proteine abgetrennt, und zwar bezeichnen wir im folgenden als „Protein I“ dasjenige, welches durch Zusatz von Essigsäure bis auf p_H = 5,1 und Erwärmen auf 38° ausfällt, und als „Protein II“ dasjenige Protein, welches in der Restlösung des Enzyms verbleibt, nachdem das wirksame Enzym bei 0,4 Ammoniumsulfat-Sättigung ausgefällt wurde. Dieses Protein II wurde aus dieser Restlösung durch Ganzsättigung mit Ammoniumsulfat erhalten. Bei dem ursprünglichen Reinigungsverfahren des Enzyms im *Warburg*'schen Institut

wurde die Aktivität der Enzymlösungen immer bei einer relativ hohen Enzymkonzentration gemessen. Dadurch konnte die von uns beobachtete Aktivierungsreaktion nicht festgestellt werden. Es wurden deshalb die oben erwähnten zwei Proteine als sogenannte „unwirksame“ Begleitstoffe bezeichnet. Wenn man jedoch diese Proteine I oder II bei kleiner Enzymkonzentration mit dem sogenannten Reinenzym wieder vereinigt, so tritt dadurch eine äusserst starke Aktivierung des *d*-Aminosäure-Abbaues ein, während bei grosser Enzymkonzentration die beiden Proteine hemmend wirken können. Dieses Verhalten ist aber auch wieder von der Natur der abgebauten *d*-Aminosäure abhängig. Die sogenannten „unwirksamen“ Proteine sind also wesentliche Bestandteile des ganzen Enzymsystems. Bei den folgenden Versuchen war die Menge der zugesetzten Eiweisskörper gewichtmässig ungefähr gleich der Menge des gereinigten Fermentproteins (Apoferment).

Tabelle III.

a) Grosse Enzymkonzentration.
Gesamtflüssigkeitsmenge 3 cm³. p_H = 8.

Enzym- lösung cm ³	Substrat m/50	Effektoren	O ₂ -Verbrauch nach einer Stde. mm ³
2,0	<i>d</i> -Alanin	—	721
2,0	<i>d</i> -Alanin	Protein I 0,5 cm ³	824
2,0	<i>d</i> -Alanin	Protein II 0,5 cm ³	548
2,0	<i>d</i> -Phenylalanin	—	581
2,0	<i>d</i> -Phenylalanin	Protein I 0,5 cm ³	443
2,0	<i>d</i> -Phenylalanin	Protein II 0,5 cm ³	270
2,0	<i>d</i> -Asparagins.	—	259
2,0	<i>d</i> -Asparagins.	Protein I 0,25 cm ³	215
2,0	<i>d</i> -Asparagins.	Protein II 0,125 cm ³	199

b) Mittlere Enzymkonzentration.
Gesamtflüssigkeitsmenge 3 cm³. p_H = 8.

Enzym- lösung cm ³	Substrat m/50	Effektoren	O ₂ -Verbrauch nach 1 Stunde in mm ³
1,5	<i>d</i> -Alanin	—	302
1,5	<i>d</i> -Alanin	Protein I 0,75 cm ³	545
1,5	<i>d</i> -Alanin	Protein II 0,5 cm ³	344
1,5	<i>d</i> -Phenylalanin	—	219
1,5	<i>d</i> -Phenylalanin	Protein I 0,75 cm ³	263
1,5	<i>d</i> -Phenylalanin	Protein II 0,5 cm ³	186

c) Kleine Enzymkonzentration.
Gesamtflüssigkeitsmenge 3 cm³. p_H = 8.

Enzym- lösung cm ³	Substrat m/50	Effektoren	O ₂ -Verbrauch nach 1 Stunde in mm ³
0,75	<i>d</i> -Alanin	—	11
0,75	<i>d</i> -Alanin	Protein I 0,25 cm ³	135
0,75	<i>d</i> -Alanin	Protein I 0,50 cm ³	290
0,75	<i>d</i> -Alanin	Protein II 1,0 cm ³	164
0,75	<i>d</i> -Isoleucin	—	32
0,75	<i>d</i> -Isoleucin	Protein I 0,25 cm ³	148
0,75	<i>d</i> -Isoleucin	Protein I 0,50 cm ³	342
0,75	<i>d</i> -Isoleucin	Protein II 1,0 cm ³	201
0,75	<i>d</i> -Asparagins.	—	119
0,75	<i>d</i> -Asparagins.	Protein I 1,0 cm ³	111
0,75	<i>d</i> -Asparagins.	Protein II 0,5 cm ³	60

d) Kontrollversuche ohne Apoferment.
Gesamtflüssigkeitsmenge 3 cm³. p_H = 8.

Hefe- Extrakt cm ³	Substrat m/50	Protein	O ₂ -Verbrauch nach 1 Stunde in mm ³
0,18	<i>d</i> -Alanin	Protein I 0,25 cm ³	0
0,18	<i>d</i> -Alanin	Protein I 0,50 cm ³	52
0,18	<i>d</i> -Alanin	Protein II 0,5 cm ³	0
0,18	<i>d</i> -Isoleucin	Protein I 0,25 cm ³	0
0,18	<i>d</i> -Isoleucin	Protein I 0,5 cm ³	53
0,024	<i>d</i> -Phenylalanin	Protein I 0,5 cm ³	55
0,024	<i>d</i> -Phenylalanin	Protein II 0,5 cm ³	6
0,024	<i>d</i> -Asparagins.	Protein I 1 cm ³	59
0,024	<i>d</i> -Asparagins.	Protein II 0,5 cm ³	13

Legende zu Tabelle III.

Enzymlösung: Das Präparat A wurde ½ Stunde bei 38° mit Phosphatpuffer p_H = 8 extrahiert und zwar wurde pro cm³ Puffer 10 mg des Pulvers zugesetzt. Auf je 10 cm³ des Extraktes wurden 0,3 cm³ Hefeextrakt zugegeben. Die Proteine I und II, die im Vakuum über Phosphorperoxyd getrocknet worden waren, wurden in folgender Weise gelöst.

Protein I: Protein I, das sich nur teilweise wieder auflöst, wurde ½ Stunde bei 38° mit Phosphatpuffer p_H = 8 extrahiert und zwar wurde pro cm³ Puffer 12 mg des Pulvers zugegeben.

Protein II: Protein II liess sich in Phosphatpuffer p_H = 8 leicht vollständig auflösen. Da es sich beim Protein II um eine Fraktion handelt, die durch Ganzsättigung mit Ammoniumsulfat erhalten wurde, bestehen ca. 9 Gewichtsteile aus Salz und nur ein Gewichtsteil ist das eigentliche Protein. Diese Relation haben wir auf Grund des Ammoniakgehaltes errechnet. Pro cm³ Puffer wurden 40 mg des Pulvers, d. h. 4 mg Protein gelöst.

Tabelle IV.

a) Gegenseitige Hemmung der Effektorenwirkung.
Gesamtflüssigkeitsmenge 3 cm³. p_H = 8.

Enzym- lösung cm ³	<i>d</i> -Alanin	Effektoren	O ₂ -Verbrauch nach 1 Stunde in mm ³
0,5	m/50	—	14
0,5	m/50	<i>l</i> -Histidin m/100	303
0,5	m/50	<i>l</i> -Leucin m/100	126
0,5	m/50	<i>l</i> -Histidin m/100 + <i>l</i> -Leucin m/100	246
0,5	m/50	<i>l</i> -Asparagins. m/500	136
0,5	m/50	<i>l</i> -Asparagins. m/500 + <i>l</i> -Histidin m/100	284

b) Addition der Effektorenwirkung.
Gesamtflüssigkeitsmenge 3 cm³. p_H = 8.

Enzym- lösung cm ³	<i>d</i> -Alanin	Effektoren	O ₂ -Verbrauch nach 1 Stunde in mm ³
0,5	m/50	—	18
0,5	m/50	<i>l</i> -Histidin m/20000	171
0,5	m/50	<i>l</i> -Leucin m/400	54
0,5	m/50	<i>l</i> -Histidin m/20000 + <i>l</i> -Leucin m/400	235

c) Gegenseitige Aktivierung der Effektorenwirkung.
Gesamtflüssigkeitsmenge 3 cm³. p_H = 8.

Enzym- lösung cm ³	<i>d</i> -Alanin	Effektoren	O ₂ -Verbrauch nach 1 Stunde in mm ³
0,5	m/50	—	1
0,5	m/50	<i>l</i> -Histidin m/40000	18
0,5	m/50	<i>l</i> -Asparagins. m/500	56
0,5	m/50	<i>l</i> -Glutamins. m/500	18
0,5	m/50	<i>l</i> -Histidin m/40000 + <i>l</i> -Asparagins. m/500	122
0,5	m/50	<i>l</i> -Histidin m/40000 + <i>l</i> -Glutamins. m/500	77

Legende zu Tabelle IV:

Enzymlösung: Je 8 mg Präparat A werden mit 1 cm³ Phosphatpuffer p_H = 8 extrahiert. Auf 7 cm³ des Extrakts wurden 0,25 cm³ Hefeextrakt zugesetzt.

Gegenseitige Beeinflussung gleichzeitig zugesetzter
l-Aminosäuren.

Wie wir bereits einleitend erwähnt haben, können sich die Wirkungen verschiedener gleichzeitig zugesetzter Aminosäuren ent-

weder addieren, hemmen oder aktivieren. Auch hier hängt es einfach von der Konzentration der verschiedenen Komponenten des Systems ab, welcher Effekt erzielt wird. Aus den in Tabelle IV wiedergegebenen Zahlen sieht man deutlich, dass sich die einzelnen Komponenten eines aktiven Enzyms in komplexer Weise gegenseitig beeinflussen.

Besprechung der Ergebnisse.

In bezug auf die Natur der *d*-Aminosäure-oxydase ist demnach zu sagen, dass die bisherige Auffassung auf eine erweiterte Basis gestellt werden muss. Das durch die grundlegenden Arbeiten von *O. Warburg* und seinem Arbeitskreise dargestellte „Reinferment“ ist eine Präparation, welche unter bestimmten, experimentellen Bedingungen, von denen besonders die hohe Enzymkonzentration charakteristisch ist, das *d*-Alanin stark abbaut. Es liegt in der von *O. Warburg* gewählten speziellen Testmethode begründet, dass gerade diese Bedingungen gewählt wurden. Dass dieses Reinferment aber unter abgewandelten Versuchsbedingungen eine 10—50fach gesteigerte Aktivität gewinnen kann, wenn geeignete Effektoren mitwirken, haben wir in eindeutiger Weise gezeigt.

Da nun eine grosse Zahl von *l*- und *d*-Aminosäuren oder Proteine als solche Effektoren wirken, ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, dass diese auch im Leben regulierend auf die Enzymaktivität wirken werden. Nun konnten wir weiterhin zeigen, dass auch die bei der Enzymreinigung abgetrennten sogenannten „unwirksamen“ Proteinfractionen besonders wirksame Effektoren sind, denn stark verdünnte Lösungen des Reinfermentes werden durch diese Fractionen in dem Sinne beeinflusst, dass je nach Wahl der *d*-Aminosäure in vielen Fällen eine mächtige Aktivierung der Reaktion eintritt (*d*-Alanin, *d*-Phenylalanin, *d*-Isoleucin), während sie wieder bei anderen Aminosäuren unwirksam sind (*d*-Asparaginsäure).

Weiterhin zeigte sich, dass bei Änderung der Konzentration des Apofermentes immer die Änderung der Effektorenwirkung eintritt, während bei Variation der Coferment-Konzentration und konstant gehaltener Apoferment-Konzentration diese Erscheinung kaum zu beobachten ist. Es muss daraus also geschlossen werden, dass die Effektorenwirkung nur unter Mitwirkung des Proteinteiles des Reinfermentes zustande kommt.

Man kann also durch Variation der Enzymkonzentration und Wahl der Effektoren die Aktivität der *d*-Aminosäure-oxydase innerhalb weiter Grenzen beliebig beeinflussen. Diese Beeinflussung erstreckt sich sowohl auf die Abbaugrösse jeder einzelnen untersuchten *d*-Aminosäure, als auch auf die Substratspezifität des Enzyms gegenüber den verschiedenen *d*-Aminosäuren.

Die bei der Enzymreinigung abgetrennten Proteinfractionen (I und II) sind für sich allein untersucht allerdings unwirksam; sie sind jedoch essentielle Komponenten des Enzymsystems.

Schon *R. Willstätter* hat bei seinen Untersuchungen über die Lipasen den Begriff des „komplexen Adsorbates“ aufgestellt. Es handelt sich in unserem Falle auch um ähnliche Verhältnisse. Die verschiedenen Zellproteine bilden mit dem Ferment die verschiedenartigsten Komplexverbindungen, die dann jedesmal einen qualitativ und quantitativ variierten Wirkungswert zeigen.

In allen bisher untersuchten Fällen war immer der Symplex, bestehend aus Dinucleotid + Apoferment, enthalten. Geht nun dieser Symplex mit anderen Proteinen oder Aminosäuren in verschiedene Komplexe über, so entsteht jedesmal eine neue Variante der *d*-Aminosäure-oxydase.

Es muss in diesem Zusammenhange an die „One-step“-Reaktion von *L. Michaelis* erinnert werden¹⁾. Diese Vorstellung geht bekanntlich von der Annahme aus, dass es unwahrscheinlicher ist, dass gleichzeitig zwei Wasserstoffatome von relativ weit voneinander entfernten Stellen des Cofermentes (Flavin) gebunden werden, und dass es vielmehr wahrscheinlicher ist, wenn zunächst nur ein Wasserstoffatom unter vorübergehender Bildung eine Monohydroradikals mit dem Coferment reagiert, und dieses Radikal dann erst das zweite Wasserstoffatom aufnimmt.

Eine Oxydo-Reduktion verläuft dann umso leichter, je höher die mögliche Konzentration des Monohydroradikals ist. Nach den Untersuchungen von *Haas*²⁾ ist nun nach der Bindung der Flavinphosphorsäure an die Eiweisskomponente das Monohydroradikal beständig, und dadurch lässt sich die Wirkungssteigerung des Flavins nach Koppelung mit Eiweiss erklären. Es ist also die Aktivierung einer prosthetischen Gruppe oder eines Substrates durch die Erhöhung der Existenzfähigkeit von Radikalverbindungen bedingt. Überträgt man diese Vorstellung auf die oben entwickelte Anschauung über die Natur der *d*-Aminosäure-oxydase, so heisst das, dass durch die Bindung verschiedener Effektoren Komplexe gebildet werden, welche die Existenz der verschiedensten Monohydroradikale ermöglichen, so dass dadurch die Oxydation der *d*-Aminosäuren aktiviert werden muss. Die relative Spezifität der *d*-Aminosäure-oxydase wird dadurch verständlich. Es ist durchaus möglich, dass derartige relative Spezifitäten auch für andere Enzymsysteme gelten.

Wie wir schon in der 6. und gemeinsam mit *K. Schmid* in der 7. Mitteilung³⁾ erwähnten, erhebt sich nun die Frage nach der physio-

1) J. Biol. Chem. **116**, 587 (1936); *R. Kuhn*, B. **70**, 753 (1937).

2) Bioch. Z. **290**, 291 (1937).

3) Helv. **28**, 1079 (1945).

logischen Bedeutung der *d*-Aminosäure-oxydase. Wir hatten dort die Möglichkeit erörtert, dass durch Umaminierungen ständig *d*-Aminosäuren als Metabolite auftreten könnten. Besonders in der 7. Mitteilung sind eine Anzahl von Literaturangaben und eigene Beobachtungen mitgeteilt, die zeigen, dass der tierische und pflanzliche Organismus *d*-Aminosäuren verwerten kann. Als weiteres Beispiel sei hier auch auf die Untersuchung von *Ratner, Schönheimer* und *Rüttenberg*¹⁾ hingewiesen, welche mit der Isotopenmethode zeigten, dass *d*-Leucin in Form von *l*-Leucin in die Zellproteine eingebaut wird. Wenn nun die Hauptfunktion des *d*-Aminosäure-oxydase-Komplexes nur darin zu suchen wäre, die von *Kögl* postulierte optische Reinheit der normalen Zellproteine zu garantieren, so wäre zu erwarten, dass diese Enzymaktivität bei malignen Wachstumsvorgängen herabgesetzt ist. Die Untersuchungen von *Westphal*²⁾ haben aber ergeben, dass dies für Tumorratten nicht typisch ist.

Auch der oben beschriebene Stabilisierungseffekt hat wahrscheinlich eine physiologische Bedeutung bei der Regulation des Eiweiss-Stoffwechsels. Alle diese Tatsachen sprechen demnach für die von uns aufgestellte Hypothese³⁾, dass die sogenannten „unnatürlichen“ *d*-Formen der Aminosäuren im Stoffwechsel eine positive Rolle als Metabolite zu erfüllen haben.

Zusammenfassung.

1. Der Abbau verschiedener *d*-Aminosäuren durch gereinigte *d*-Aminosäure-oxydase wird durch verschiedene *l*-Aminosäuren in ganz verschiedenr Weise beeinflusst.

2. Wirkt eine *l*-Aminosäure als Effektor, so tritt beim Abbau von *d*-Aminosäuren bei niedriger Enzymkonzentration Aktivierung, bei höherer Konzentration antipodische Hemmung ein. Die *l*-Aminosäure wirkt also als Stabilisator der Abbaugrösse.

3. Bei verschiedenen Reinigungsstufen der *d*-Aminosäure-oxydase ändern sich die relativen Abbaugrössen der einzelnen *d*-Aminosäuren.

4. Bei konstanter Konzentration des Apofermentes ist die Effektorenwirkung innerhalb weiter Grenzen von der Konzentration des Cofermentes unabhängig.

5. Die bei der Reindarstellung des Symplexes abgetrennten für sich unwirksamen Proteinfractionen sind äusserst wirksame Effektoren der *d*-Aminosäure-oxydase.

Frl. *Frieda Nebiker* hat bei den Versuchen wertvolle Hilfe geleistet.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

1) J. Biol. Chem. **134**, 635 (1940).

2) Z. physiol. Ch. **281**, 94 (1944).

3) Helv. **28**, 797 (1945) und zwar S. 818.

142. Über Vinylchlorid und seine Polymerisationsprodukte.

II. Darstellung von monomerem Vinylchlorid aus Acetylen¹⁾

von H. E. Fierz-David und Hch. Zollinger.

(26. VII. 45.)

1. Allgemeines.

Sofern die beiden Dichloräthane als Ausgangsprodukte der technischen Vinylchloridherstellung nicht billig und in ausreichender Menge zur Verfügung stehen, so wird Vinylchlorid am vorteilhaftesten durch Anlagerung von Chlorwasserstoff an Acetylen gewonnen. Diese Reaktion erfolgt unter gewissen Bedingungen mit geeigneten Katalysatoren glatt und beinahe quantitativ²⁾.

Die chemische Fabrik *Griesheim-Elektron* beobachtete zuerst die Wirkung von Quecksilbersalzen auf die Vinylchloridbildung in gasförmiger Phase und in wässriger Lösung³⁾. Damit wurde sowohl der bis heute wichtigste Katalysator wie auch die beiden bedeutendsten Methoden gefunden. Die Reaktion in gasförmiger Phase erfolgt durch Leiten eines Acetylen-HCl-Gemisches über eine quecksilbersalz-haltige Kontaktmasse, vorzugsweise bei 180—200°; in wässriger Lösung wird das Gasmisch in eine salzsaure HgCl₂-Lösung eingeleitet.

Für die gasförmige Reaktion sind noch verschiedene andere Katalysatoren, so Metallsalze der 2. und 5. Gruppe des Periodischen Systems, ferner SnCl₄, FeCl₃ und AlCl₃, aktive Kohle u. a. empfohlen worden. Wie bei einzelnen derselben schon *J. P. Wibaut* und *J. Van Dalzen*⁴⁾ feststellten, steht ihre Wirkung weit hinter derjenigen der Quecksilberverbindungen zurück. Eigene Beobachtungen bestätigten jene Resultate: Einzelheiten findet man in der Diss. *Zollinger*. So zeigte es sich z. B., dass die Wirksamkeit der Erdalkalichloride durch kleinste Mengen von Quecksilber(II)-chlorid gemäss einem Patent der *Chem. Fabrik Dr. A. Wacker*⁵⁾ stark erhöht wird, fernerhin, dass bei Verwendung von Aktivkohle an Stelle der Quecksilberkontaktmassen die Ausbeute bald abnimmt. Aus diesen und weitern eigenen Versuchsergebnissen schliessen wir, dass für die Reaktion in gasförmiger Phase praktisch nur Quecksilbersalze als Katalysatoren in Frage kommen.

¹⁾ 1. Mitt. Helv. **28**, 455 (1945).

²⁾ Eine Zusammenstellung aller veröffentlichten Methoden der Vinylchlorid-Darstellung findet man in der Diss. *Zollinger*, E.T.H. 1945.

³⁾ D.R.P. 271 381, 278 249, 288 584; Frdl. **11**, 54, 1187; **12**, 24.

⁴⁾ R. **51**, 636 (1932).

⁵⁾ E.P. 868 362, C. **1942**, II, 1852.

In wässriger Lösung sind alle bisher erwähnten Massen von sehr geringer Wirksamkeit. (Im Gegensatz zu mehreren Patentangaben.) Es lassen sich jedoch nach dieser Methode mit gesättigten Kupfer(I)-chlorid-Ammoniumchlorid-Lösungen¹⁾, die noch reichlich Bодenkörper enthalten müssen, bei 70—90° Ausbeuten bis ca. 75 % erreichen. In Anbetracht dessen, dass die Menge der Nebenprodukte hier noch kleiner ist als bei Verwendung von Quecksilberkatalysatoren in gasförmiger Phase (rund 0,1—0,2 %), scheint es unseres Erachtens bei Anwendung eines Kreislaufes der nicht umgesetzten Gase auch von technischer Bedeutung zu sein²⁾.

2. Die Darstellung in gasförmiger Phase mit Quecksilberkatalysatoren.

Ausgehend von den Untersuchungen von *J. P. Wibaut* und *Van Dal'sen*³⁾ wurde eine Reihe von Versuchen durch Leiten eines gereinigten, trockenen Acetylen-Chlorwasserstoffgemisches (1:1) über einen Silicagelkatalysator, der zur Aktivierung mit einer wässrigen Quecksilber(II)-chloridlösung behandelt worden war, durchgeführt. Das Hauptaugenmerk lag dabei zunächst bei der Ausbeute. Sie war nämlich bei einer Reaktionstemperatur von 200° anfänglich im Gegensatz zu den von *Wibaut* veröffentlichten Zahlen nicht so hoch, stieg aber nach dem Durchleiten einiger Mole Gasgemisch auf annähernd 100 %. Ein späteres Nachlassen der Wirkung konnte bei sublimathaltigen Kontaktmassen auch nach intensiver und lange dauernder Verwendung nie beobachtet werden; der Umsatz blieb stets praktisch quantitativ.

Das rohe Reaktionsprodukt wurde nach der Trocknung und Entfernung der nicht umgesetzten Ausgangsstoffe mit Trockeneis kondensiert und nochmals destilliert. Als einziges⁴⁾ Nebenprodukt entsteht stets etwas 1,1-Dichlor-äthan. Seine Menge betrug bei Versuchen im Temperaturbereich von 190—200° nie über 0,4 %.

Die Tatsache, dass der Katalysator erst nach einiger Zeit seine volle Wirksamkeit erlangt, wurde verfolgt, indem bei frisch angesetzten Versuchen in kurzen zeitlichen Abständen die Menge des gebildeten Vinylchlorids gemessen wurde. Die Ausbeutekurve der Fig. 1 bestätigt die schon anfänglich gemachte Beobachtung.

Der Schluss lag nahe, dass dies darauf zurückzuführen sei, dass das Quecksilbersalz als solches gar keine aktive Wirkung hat, sondern durch die mit ihm in Berührung kommenden Gase, durch die Reak-

¹⁾ Vgl. z. B. A.P. 1 811 959, 1 812 542, *Du Pont de Nemours*; A.P. 1 934 324, *Carbide and Carbon Chem. Comp.*; *Arutjunjan* und *Marutjan*, C. 1937, II, 959; *Koslow*, C. 1938, I, 3326.

²⁾ Nach einer frdl. Mitteilung aus einem ausländischen Grossbetrieb wird dort nicht mehr mit Quecksilberkontakten, sondern nach diesem Verfahren gearbeitet.

³⁾ loc. cit.

⁴⁾ Vgl. jedoch unter 3., S. 1129.

tionstemperatur oder andere Faktoren erst allmählich in jene Form übergeführt wird, die die Vinylchloridausbeute beschleunigt.

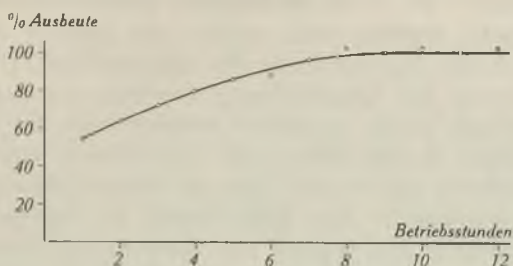


Fig. 1.

Ansteigen der Vinylchloridausbeute mit HgCl_2 -Kontakten.

Dass das Erhitzen des Katalysators nicht der Grund seiner zunehmenden Wirksamkeit sein kann, ist daran zu erkennen, dass bei Reaktionstemperaturen von $25\text{--}100^\circ$ prinzipiell die gleichen Verhältnisse vorliegen wie bei $180\text{--}200^\circ$. Dasselbe ist zu sagen von einer Kontaktmasse, die vor Beginn der Reaktion während 48 Stunden, aber ohne Durchleiten von Gasen im Reaktionsrohr auf 200° erhitzt worden war.

Hingegen war eine Veränderung der aktiven Masse, nachdem sie einige Zeit im Gebrauch gestanden hatte, schon äusserlich leicht zu erkennen: die Silicagelkörner erhielten einen leicht glänzenden und nicht abreibbaren schwarzen Überzug. Diese auch von *Wibaut* beobachtete Schwärzung erwies sich als Kohlenstoff. Seine Menge betrug rund $0,6\%$ (elementaranalytisch bestimmt). Beim Überleiten von Acetylen allein über die Kontaktmasse bildet sich im Gegensatz dazu kein Kohleüberzug: ein weiteres Zeichen dafür, dass dieser mit der Vinylchloridbildung in Beziehung steht. Weiterhin zeigte es sich, dass rund ein Drittel des Quecksilber(II)-chlorids zu Kalomel (Quecksilber(I)-chlorid) reduziert worden war. Aus diesem Grund wurde zunächst ein Katalysator hergestellt, dessen aktive Substanz ausschliesslich aus Quecksilber(I)-chlorid bestand. Die damit erhaltenen Resultate waren denjenigen mit dem Salz des zweiwertigen Quecksilbers vollkommen analog: auch hier Kohlenstoffbildung (ungefähr im gleichen Ausmasse) und allmähliches Erreichen der quantitativen Ausbeute. Da dieses Ansteigen hier nicht wesentlich rascher erfolgte, ist kaum anzunehmen, dass das Vorhandensein von Quecksilber(I)-verbindungen von entscheidender Bedeutung ist.

Der abgeschiedene Kohlenstoff kann nur durch thermische Zersetzung von Acetylen oder Vinylchlorid entstanden sein. Dass er selbst eine katalytische Wirkung haben könnte, schien nicht unwahrscheinlich, da ja die Vinylchloridherstellung mit aktiver Kohle ein bereits bekanntes Verfahren ist. Die Vermutung liegt deshalb nahe,

dass die Quecksilbersalze nur die Entstehung dieses Kohlenstoffs bewirkten und dass die Vinylchloridbildung durch die Wirkung des letztern verursacht sei. Eine gebrauchte Kontaktmasse, die quecksilberfrei gemacht worden war, erwies sich jedoch als sehr wenig aktiv. Da durch die Auswaschung der Quecksilber(II)- und die vorgängige Oxydation der Quecksilber(I)-verbindung der Kohlenstoffüberzug schwerlich stark verändert worden war, ist deshalb anzunehmen, dass diese Kohle allein nicht katalytisch wirkt.

Wir vermuteten nun weiter, dass der Wassergehalt für die Wirksamkeit des Katalysators eine Rolle spielt. Da infolge der erhöhten Reaktionstemperatur das Wasser bei Verwendung frischer Kontaktmassen allmählich ausgetrieben wird, scheint ein Zusammenhang von Wasserabgabe und Ausbeute möglich. Da es schwer ist, mit wässrigen HgCl_2 -Lösungen imprägniertes Silicagel vollkommen zu trocknen, ohne dass dabei nicht eine erhebliche Sublimation des Katalysators stattfindet, wurde eine Versuchsserie mit Massen, die mit Lösungen von HgCl_2 in niedrigersiedenden Lösungsmitteln hergestellt wurden, durchgeführt, worüber in der Diss. *Zollinger* noch nicht berichtet wurde.

Als Lösungsmittel wurde Essigsäure-äthylester und vor allem Aceton verwendet. Besonders mit letzterem ist die Trocknung auf beliebige Lösungsmittelgehalte ohne oder nur mit geringer Erwärmung (evtl. im Vakuum) leicht möglich.

Bei hohem Acetongehalt der Kontaktmasse (10—20%) ist der Verlauf der Ausbeutekurve ähnlich demjenigen von Fig. 1. Wird der Katalysator jedoch bis auf Spuren (bis unter 0,2% Aceton) getrocknet, so wird die optimale Ausbeute bereits nach 2—4 Stunden erreicht. Dass sie auch in diesem Fall nicht von Beginn an praktisch quantitativ ist, mag mit einer anfänglichen Absorption der Gase durch die Kontaktmasse zusammenhängen.

Die Schwärzung des Silicagels trat auch bei diesen Katalysatormassen ein. Es wurde auch beobachtet, dass sich bei erhöhter Temperatur bereits beim Trocknen der acetonhaltigen Kontakte Kohlenstoff bildet, der nur durch Zersetzung des Lösungsmittels entstanden sein kann. Quecksilberfreies, mit Aceton gesättigtes Silicagel zeigt diese Erscheinung nicht. Ebenso entsteht beim Trocknen im Vakuum bei 15—20° keine Schwärzung. Auf die Wirksamkeit scheint die Art der Trocknung und damit der Kohlenstoff keinen wesentlichen Einfluss zu haben: Bei gleichem Trockengehalt steigt bei beiden (d. h. einerseits Heisstrocknen bei Normaldruck, andererseits Kalttrocknen im Vakuum) die Anfangsausbeutekurve ungefähr gleich stark an.

Zusammenfassend kann deshalb gesagt werden: Die Imprägnierung der Kontaktmassen mit HgCl_2 in organischen leichtflüchtigen Lösungsmitteln, speziell Aceton, hat gegenüber der Verwendung wässriger Lösungen die Vorteile, dass der Umsatz innert kürzerer

Zeit optimal wird, und dass die dazu notwendige, möglichst weitgehende Entfernung der Flüssigkeit aus der Kontaktmasse im ersten Fall viel einfacher erreicht werden kann.

3. Bildung organischer Quecksilber-Verbindungen bei der Vinylchlorid darstellung.

In polymeren Produkten, die mit Vinylchlorid nach der im vorhergehenden Kapitel beschriebenen Methode hergestellt und dann polymerisiert worden waren, konnten durch quantitative Mikroanalysen nach *Stock*¹⁾ 0,002—0,005 % Hg nachgewiesen werden. Da weder durch alkalisches Waschen des monomeren Gases, noch durch Umlösen und Waschen der festen Polymerisate quecksilberfreie Produkte erhalten werden konnten, ist eine Verunreinigung durch etwa mitgegangene Reste der Kontaktmasse ausgeschlossen. Ein durch Sublimation entstandenes Aerosol wäre sicher, falls es nicht schon durch die alkalische Behandlung ausgefällt würde, nach der Kondensation des Vinylchlorids beim oft tage- und wochenlangen Aufbewahren desselben in Druckflaschen koaguliert worden. Bei der Entnahme aus diesen Flaschen, die stets in der Weise erfolgte, dass durch langsames Erwärmen der auf mindestens -20° abgekühlten Flasche das Vinylchlorid unter Passieren einer mit Natronlauge gefüllten Waschflasche abdestilliert wurde, ist eine erneute Aerosolbildung nicht anzunehmen.

Die Vermutung lag deshalb nahe, dass gar keine anorganische, sondern eine alkalifeste organische Quecksilberverbindung sich als Nebenreaktion im kleinsten Ausmasse an der Kontaktmasse mit dem vorbeiströmenden Gas bilden würde.

Bekräftigt wurde dieser Schluss durch die Beobachtung, dass erst nach längerer Einwirkung von Natronlauge allmählich ein Niederschlag von HgO entsteht. Es scheint sich also um eine (oder mehrere) in Gegenwart von Alkalien beschränkt haltbare Quecksilberverbindung zu handeln. Für die Bildung einer organischen Hg-Verbindung spricht fernerhin die Tatsache, dass dieselbe durch Behandeln des rohen Vinylchlorids mit gewissen organischen Lösungsmitteln, wie technisches Xylol, zu einem beträchtlichen Teil ausgewaschen werden konnte. Wegen ihrer Zersetzlichkeit gelang es jedoch nicht, die gesuchte Verbindung aus dem Xylol zu isolieren.

Ausserdem lässt sich auf Grund des Hg-Gehaltes der Dampfdruck dieser Verbindung auf Grund des Partialdruckgesetzes ganz roh²⁾ abschätzen: er ist bei der Destillationstemperatur des Vinylchlorids ($-14,8^{\circ}$) mindestens 200—500 mal grösser als derjenige von Hg und HgCl₂. Dies alles sind Beobachtungen, die für die Bildung organischer Hg-Verbindungen sprechen.

¹⁾ Wir sind dem Gerichtsmedizinischen Institut der Universität Zürich (Dir.: Prof. Dr. med. F. Schwarz) für die Ausführung dieser Analysen zu Dank verpflichtet.

²⁾ Vgl. dazu Diss. *Zollinger*.

Experimenteller Teil.

1. Apparatur.

Für alle Versuche wurde die gleiche, im folgenden beschriebene Apparatur verwendet.

Das Reaktionsrohr (schwerschmelzbares Jenaerglas, lichte Weite 18 mm) ist auf eine Länge von 50 cm mit Heizdraht umwickelt, der mit Asbestschnur und -papier isoliert ist. Die ganze heizbare Länge ist zudem noch von einem zweiten äusseren Glasrohr umgeben. Von beiden Seiten ragt ein Thermoelement ca. 10 cm in den Heizraum des Rohres hinein. Beide Elemente sind mit je einem Millivoltmeter verbunden.

Acetylen und HCl werden in einem Turm von ca. 500 cm³ Inhalt gemischt und gelangen von dort in das Reaktionsrohr. Zur Verwendung kommt „Acetylen-Dissous“, das mittels eines Reduzierventils aus der Druckflasche entnommen und durch fünf Spiralwaschflaschen geleitet wird, die der Reihe nach halbgesättigte Natriumhydrogensulfatlösung, 10% Natronlauge, eine gesättigte Lösung von Jod in Kalilauge, 10% Kupfer(II)-chlorid in Salzsäure und nochmals 10% Natronlauge enthalten. Durch einen Calciumchlorid-turm und die Kapillare des Strömungsmessers gelangt es dann in das Mischgefäss. Das auf diese Art gereinigte Acetylen ist praktisch geruchlos.

Der Chlorwasserstoff wird in einem Kipp-Apparat aus Ammoniumchlorid und konz. Schwefelsäure hergestellt und direkt von dort nach Passierung eines Tropfenfängers, eines Calciumchloridturmes und des Strömungsmessers in den Mischturm geleitet.

Anschliessend an das Reaktionsrohr werden die Gase durch einen mit Natronkalk gefüllten Turm zur Bindung des nicht umgesetzten HCl und durch einen solchen mit Calciumchlorid geleitet. Daran schliesst sich das mit einem Kohlendioxydkältegemisch gekühlte Kondensgefäss an.

Zur Herstellung der Kontaktmasse werden 120 g mit reiner konz. Salzsäure gewaschenes und getrocknetes Silicagel mit einer heissen Lösung von 10 g HgCl₂ in 100 cm³ Wasser gut verrührt und 24 Stunden bei 120—130° getrocknet. Die farblose Kontaktmasse wird in den heizbaren Teil des Reaktionsrohres eingefüllt und dasselbe auf 200° erhitzt. Darauf wird ein konstanter Strom von je 1,80 ± 0,05 l Acetylen und HCl pro Stunde durchgeleitet.

Die gebildete Menge Vinylchlorid wird stündlich gewogen. Die theoretisch zu erwartende Ausbeute beträgt bei der angegebenen Strömungsgeschwindigkeit 0,0804 Mol/Std., entsprechend 5,04 g. Das Vinylchlorid wird zur Reinigung stets noch einmal destilliert (Sdp. _{724 mm}: + 14,5° korr.).

Die Ausbeuteentwicklung mit dem obigen Katalysator ist in Fig. 1 dargestellt. Für weitere Versuche unter andern Reaktionsbedingungen sei auf die erwähnte Dissertation verwiesen.

2. Verwendung von mit Acetonlösungen imprägnierten Kontaktmassen.

120 g trockenes Silicagel werden mit einer Lösung von 10 g HgCl₂ in 100 cm³ Aceton behandelt und getrocknet (vgl. Tabelle 1). Die Kontaktmassen der Versuche Nr. 1 und 2 waren nach der Trocknung mit einer glänzenden Kohlenstoffschicht überzogen, diejenige von No. 3 fast farblos. Die Verwendung in der Vinylchloridapparatur erfolgte in der gleichen Art wie oben.

Tabelle 1.
Trocknung der HgCl₂-Aceton-Kontaktmassen.

Versuch Nr.	Trocknungsart			Trocknungsgrad nach der Trocknung	
	Temp.	Druck	Dauer	Wassergehalt	Acetongehalt
1	120°	730 mm	½ Std.	5,6%	20 %
2	120°	730 mm	4 Std.	5,6%	4,1%
3	30°	15 mm	3½ Std.	5,6%	2,7%

Tabelle 2.

Verlauf der Anfangsausbeute an Vinylchlorid mit HgCl_2 -Aceton-Kontaktmassen.

Kontakt-Nr.	Ausbeute
1	1. Std. 4,2%
	2. Std. 31,7%
	3. Std. 68,4%
	4. Std. 71,7%
	5. Std. 73,7%
2	1. Std. 63,0%
	2. Std. 96,8%
	3. Std. (102,8%)
	4. Std. 96,8%
	6. Std. 99,4%
	8. Std. (100,4%)
3	1. Std. 22,6%
	2. Std. 70,0%
	3. Std. 90,8%
	4. Std. (101,2%)
	5. Std. 94,2%

3. Quecksilberbestimmungen in mono- und polymerem Vinylchlorid.

a) Monomeres Vinylchlorid.

50,70 g reines Vinylchlorid, wie beschrieben bei 200° mit HgCl_2 -Kontaktmasse hergestellt, wird durch eine Reihe von 6 mit 2-n. reiner Natronlauge gefüllte Spiralwaschflaschen destilliert und wiederum kondensiert. Dieser Vorgang wird während 3mal 10 Stunden jeweils ohne Unterbruch wiederholt. Es scheidet sich HgO aus. Zur Kontrolle wird das Vinylchlorid nochmals während 10 Stunden durch frische Lauge getrieben: Es bildet sich nur noch in kaum wahrnehmbaren Spuren ein Niederschlag. Bei dieser „Reinigung“ wird selbstverständlich ein grosser Teil des Vinylchlorids zerstört. Die Lauge, vereinigt von allen Waschflaschen, wird mit Salzsäure angesäuert und nun in bekannter Weise alles Quecksilbersalz durch Einleiten eines schwachen H_2S -Stromes als Sulfid ausgefällt, durch einen *Gooch*-Tiegel abfiltriert und bei 105–110° der Niederschlag getrocknet:

19,3 mg HgS , entsprechend 16,6 mg Hg .

46,75 g des gleichen Vinylchlorids werden dreimal durch vier mit technischem Xylol gefüllte Spiralwaschflaschen getrieben und dann wie oben analysiert:

4,0 mg HgS , entsprechend 3,3 mg Hg .

b) Polymeres Vinylchlorid.

Produkt G 4.

Polymerisationsbedingungen: 120 g Vinylchlorid (zweimal durch zwei Waschflaschen mit NaOH 2-n. destilliert), 60 g 90-proz. Methanol und 0,964 g Di-benzoyl-peroxyd werden im Autoklaven 48 Stunden auf 55–60° erhitzt. Ausbeute: 88,5 g. Polymerisationsgrad 405 (nach *Staudinger, Schneiders*¹⁾ bestimmt).

15 g enthalten 68,7 γ Hg , entsprechend 4,6 mg/kg.

¹⁾ A. 541, 151 (1939).

Produkt G 8.

Polymerisationsbedingungen: 85 g wie oben gewonnenes Vinylchlorid, 95 g Methanol, 15 g Wasser und 0,852 g Di-benzoyl-peroxyd werden 52 Stunden auf 70° erhitzt. Das Polymerisat wird 48 Stunden in einer Pulvermühle mit angesäuertem (HCl) Wasser behandelt, in Dioxan gelöst und mit Methanol ausgefällt. Ausbeute: 69,8 g. Polymerisationsgrad: 370.

20 g enthalten 47,3 γ Hg, entsprechend 2,4 mg/kg.

Die Analyse zeigt, dass die Auswaschung und das Umlösen des Polymerisates den Hg-Gehalt nur auf rund die Hälfte senkt.

Produkt G 4 II.

Polymerisationsbedingungen: wie bei Produkt G 4, jedoch wird das Vinylchlorid wie oben beschrieben, dreimal durch Xylol geleitet. Ausbeute: 80,0 g. Polymerisationsgrad: 420.

85 g enthalten 13,6 γ Hg, entsprechend 0,16 mg/kg.

Technisches Produkt.

100 g enthalten 8 γ Hg, entsprechend 0,08 mg/kg.

Zusammenfassung.

1. In gasförmiger Phase erfolgt die Bildung von Vinylchlorid aus Acetylen und Chlorwasserstoff bei Verwendung von Quecksilbersalzkatalysatoren praktisch quantitativ. Die Wirkung aller andern in Patenten vorgeschlagenen Metallsalze ist ungenügend.

2. Von den in Lösung zur Anwendung gelangenden Katalysatoren eignet sich derjenige, der Kupfer(I)-chlorid enthält, gut.

3. Die optimale Ausbeute wird mit Hg-Kontaktmassen erst nach einiger Zeit erreicht. Der Grund dafür liegt im wesentlichen im Lösungsmittelgehalt des Katalysatorträgers. Bei Verwendung von HgCl_2 in Acetonlösung (statt Wasser) ist die Trocknung der Kontaktmasse rascher und einfacher. Statt Aceton können auch andere leichtflüchtige Flüssigkeiten mit grossem Lösungsvermögen für HgCl_2 verwendet werden.

4. Mit Quecksilberkontaktmassen hergestelltes Vinylchlorid enthält immer einige Hundertstel Prozent einer Quecksilberverbindung, welche auch im polymeren Vinylchlorid noch nachgewiesen werden kann. Verschiedene Anzeichen sprechen dafür, dass es sich dabei um eine organische Verbindung handelt. Sie kann durch Waschen des Vinylchlorid-Gases mit aromatischen Lösungsmitteln weitgehend entfernt werden.

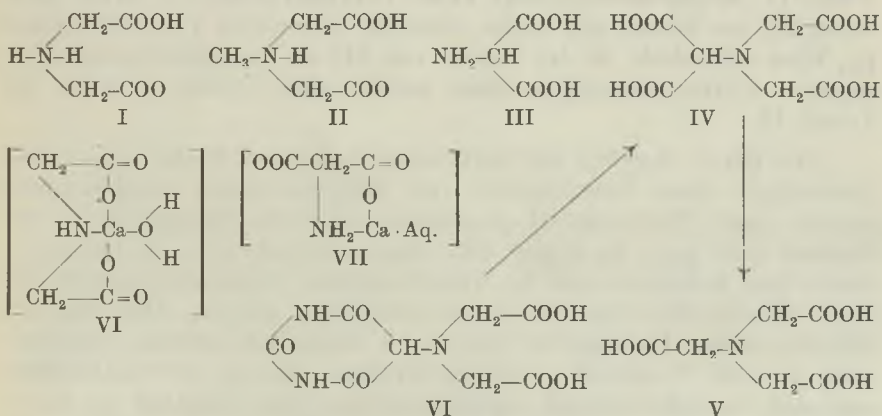
Organisch-technisches Laboratorium der
Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

143. Komplexe II. Das Komplexbildungsvermögen von Imino-diessigsäure, Methylimino-diessigsäure, Aminomalonsäure und Aminomalonsäure-diessigsäure

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

(26. VII. 45.)

Wir haben die im Titel genannten Säuren mit den Formeln I, II, III und IV untersucht, um eine Antwort zu geben auf die Frage nach den konstitutionellen Eigentümlichkeiten, welche erfüllt sein müssen, damit eine Substanz zur Bildung stabiler Erdalkalikomplexe befähigt ist. Pfeiffer und Simons¹⁾ haben die Vermutung ausgesprochen, dass hierfür zwei an demselben Stickstoffatom sitzende Essigsäurereste notwendig sind. Allerdings konnten sie bei I keine Komplexbildung nachweisen. Hingegen konnten sie zeigen, dass das Calciumsalz {CaX} der Methylimino-diessigsäure II einen Teil des Erdalkalions in komplexer Bindung enthält, da aus seiner Lösung mit Oxalat nicht alles Calciumion fällbar ist. Sie bezeichnen aber selbst die Komplexbildungstendenz von II als gering und es erhebt sich deshalb die Frage nach der Rolle der dritten Carboxylgruppe der Nitrilo-triessigsäure V, welche offensichtlich die Komplexbildungskonstante ausserordentlich erhöht, obschon sie aus sterischen Gründen kaum selbst als Koordinationspartner für das komplex gebundene Ion dienen kann.



Wir haben nun auf I, II und III das in der ersten Arbeit²⁾ erläuterte Verfahren zur Bestimmung der Komplexbildungskonstanten

¹⁾ P. Pfeiffer und H. Simons, B. 76, 847 (1943).

²⁾ G. Schwarzenbach, E. Kampitsch und R. Steiner, Komplexe I, Helv. 28, 828 (1945).

angewandt und zunächst mit Tetramethylammoniumhydroxyd als Base die Aciditätskonstanten ermittelt. Die Tabelle I unterrichtet über die Resultate.

Tabelle I.

Neg. Log. der Aciditätskonstanten, gültig für 20°		
I Imino- diessigsäure	II Methylimino- diessigsäure	III Aminomalon- säure
$p_{K_1} = 2,98$	$p_{K_1} = 2,81$	$p_{K_1} = 3,32$
$p_{K_2} = 9,89$	$p_{K_2} = 10,18$	$p_{K_2} = 9,83$

Alle drei Stoffe sind starke einprotonige Säuren. I und II unterscheiden sich im p_{K_1} -Wert kaum voneinander. Es ist dabei auffallend, dass die Werte sogar unter 3 liegen und diese beiden Säuren somit stärker sind als die Nitrilo-triessigsäure V. Dies weist darauf hin, dass ihnen Betainstruktur zukommt, wie es in den Formeln angegeben ist, während bei der Nitrilo-triessigsäure erst beim Verlust des ersten Protons ein zweites von der Carboxylgruppe an den Stickstoff übersiedelt. Da wir mit p_{K_2} die freie Energie des am N sitzenden Protons messen, ist es begreiflich, dass dieser Wert bei II etwas grösser ist als bei I, denn Methylamin ist ja auch stärker basisch als Ammoniak.

Die Aminomalonsäure III, bei der ein älterer Wert für p_{K_1} in der Literatur mit 3,11 angegeben wird¹⁾, ist wesentlich weniger acid als I und II. Möglicherweise liegt keine Betainstruktur vor. Aber auch wenn III ein Betain sein sollte, wäre der gegenüber I und II höhere p_{K_1} -Wert erklärlich, da im Betain von III die aciditätsverringende negative Carboxylatgruppe näher beim sauren Proton sitzt als bei I und II.

Die Fig. 1—3 geben die Neutralisationskurven wieder, welche bei Gegenwart eines Überschusses von Erdalkalisalzen aufgenommen worden sind. Wiederum ist es so, dass das erste Puffergebiet in der Gegend von $p_H = 3-4$ mit den Abszissenwerten $a = 0$ bis $a = 1$ durch den Salzzusatz nur so weit beeinflusst wird, als dadurch die Aktivitätskoeffizienten der Ionen erniedrigt werden. Der Einfluss auf das zweite Puffergebiet von $a = 1$ bis $a = 2$, welches den Austritt des am Stickstoff sitzenden Protons anzeigt, ist viel stärker und auf Komplexbildung zurückzuführen. Eine Analyse (s. Komplexone I, S. 838) der Kurven zeigt, dass bei den gewählten Bedingungen, d. h. bei einem Überschuss des Erdalkalions, wie bei der Nitrilo-triessigsäure, solche Komplexeilchen gebildet werden, die aus einem Erdalkalium und einem Imino-diacetation bestehen.

¹⁾ O. Lutz, B. 35, 2549 (1902).

Der bei der Neutralisation sich abspielende Prozess ist also folgendermassen zu formulieren, wenn wir den von den Protonen befreiten Rest der Säuren mit X bezeichnen:



Es entstehen also ungeladene komplexe Teilchen, welche z. B. als Imino-diacetato-calcium zu bezeichnen sind. Von I, II und III bildet die Säure II weitaus die stabilsten Komplexe, was mit den Beobachtungen von Pfeiffer und Simons im Einklang ist. Auch bei der Imino-diessigsäure I ist die Komplexbildung mit Erdalkalitionen deutlich, während sie bei der Aminomalonsäure sehr gering und sogar fraglich ist. Beim Vergleich von I und II ist weiter bemerkenswert, dass erstere mit Mg, letztere hingegen mit Ca den stabilsten Erdalkali-Komplex bildet. Diese Verhältnisse gehen auch aus der Tabelle II hervor, in welcher die Komplexbildungskonstanten K_k zusammengestellt sind. Ihre Berechnung geschah nach der im 1. Artikel beschriebenen Methode (s. S. 838), und sie haben die folgende Bedeutung:

$$K_k = \frac{(\text{MeX})}{(\text{Me}'' \cdot \text{X}'')}$$

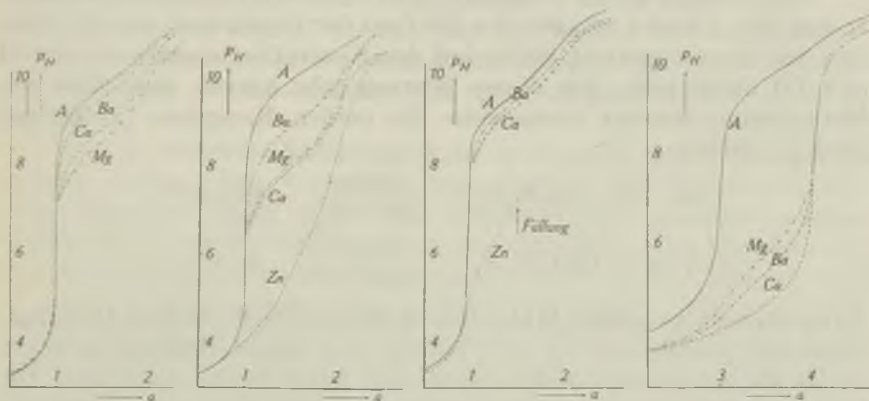


Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

Neutralisationskurven von Imino-diessigsäure (Fig. 1), Methylimino-diessigsäure (Fig. 2), Aminomalonsäure (Fig. 3) und Aminomalonsäure-diessigsäure (Fig. 4). Abszisse: a = Anzahl Äquivalente Base pro Formelgewicht Säure. Säurekonzentration $c_s = 2 \times 10^{-3}$. Kurve A: ohne Zusatz. Kurven Mg, Ca, Ba: unter Zusatz von Mg-, Ca-, Ba-Chlorid in einer Konzentration von $c = 1,7 \times 10^{-2}$. Kurve Zn: unter Zusatz von $\{\text{ZnCl}_2\}$ $c = 1,0 \times 10^{-3}$.

Es ist wahrscheinlich, dass die Erdalkalien bei der Anwendung eines Überschusses von Imino-diacetat bzw. Methylimino-diacetat noch höhere Komplexe bilden, genau so wie Ca^{++} mit überschüssigem Nitrilo-triacetat X''' das Ion $[\text{CaX}_2]'''$ zu bilden vermag¹⁾. Diese

¹⁾ G. Schwarzenbach, E. Kampitsch und R. Steiner, *Komplexone I*, Helv. 28, 828 (1945).

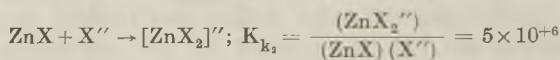
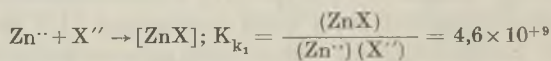
höheren Komplexionen können hingegen nur von geringer Stabilität sein, so dass sie nicht leicht nachzuweisen sein werden.

Tabelle II.

Thermodynamische Gleichgewichtskonstanten K_k des Komplexvorganges:
 $\text{Me}^{..} + \text{X}'' \rightarrow [\text{MeX}]$, $\text{X}'' = \text{Imino-diacetat}$, Methylimino-diacetat
 und Aminomalonat. Gültig für 20°.

Metallion		Mg ^{..}	Ca ^{..}	Ba ^{..}	Zn ^{..}
I Imino-diessigsäure	$K_k =$	$7,3 \times 10^{+3}$	$2,6 \times 10^{+3}$	$7,4 \times 10^{+1}$	—
	$\lg(K_k) =$	3,66	3,41	1,67	—
II Methylimino-diessigsäure	$K_k =$	$2,6 \times 10^{+4}$	$3,2 \times 10^{+4}$	$2,8 \times 10^{+3}$	$4,6 \times 10^{+9}$
	$\lg(K_k) =$	4,41	3,51	3,45	9,66
III Aminomalonsäure	$K_k =$	—	$3,2 \times 10^{+2}$	klein	$3,0 \times 10^{+6}$
	$\lg(K_k) =$	—	2,51	negativ	6,48

Viel stabiler als die Erdalkali- sind natürlich die Zink-Komplexe. In den Fig. 2 und 3 ist auch der Einfluss der Gegenwart von $\frac{1}{2}$ Atom Zn^{..} pro Formelgewicht Säure auf die Neutralisationskurven von II und III dargestellt. Aus diesen Kurven geht hervor, dass Zink mit Methylimino-diacetat stufenweise die beiden Komplexe $[\text{ZnX}]$ und $[\text{ZnX}_2]''$ bildet:



Auch Aminomalonsäure bildet den Komplex $[\text{ZnX}]$, dessen Bildungskonstante jedoch nur $3 \times 10^{+6}$ beträgt und somit 1000mal geringer ist als die entsprechende Konstante des Methylimino-diacetates. Die Bildung des höheren Komplexes $[\text{ZnX}_2]''$ kann man bei der Aminomalonsäure nicht beobachten, weil sich beim weiteren Zusatz von Base ein Niederschlag von Zinkhydroxyd oder Hydroxysalz bildet.

Aus unseren Befunden geht also deutlich hervor, dass sich die Aminomalonsäure III als Komplexbildner gegenüber Metallionen völlig anders verhält als die Imino-diessigsäuren I und II, während die p_k -Werte (s. Tabelle I) der drei Substanzen sehr ähnlich sind. Mit andern Worten: die Ionen X'' von I, II und III verhalten sich in bezug auf die Bindung von Protonen ähnlich, in bezug auf die Bindung von Metallionen aber verschieden. Dies ist natürlich darauf zurückzuführen, dass das Proton die Koordinationszahl 1 (wenn wir von Wasserstoffbrückenbindungen absehen) betätigt, während den Metallionen höhere Koordinationszahlen zukommen. Ein und das-

selbe Anion X'' von I und II kann einem Metallion drei Atome als Koordinationspartner zur Verfügung stellen, das Aminomalonat aus sterischen Gründen aber nur deren zwei. Dies wird durch die Formeln VI und VII verdeutlicht. Das Aminomalonat III muss also eher mit dem ebenfalls zwei Koordinations-Stellen besitzenden Glykokoll verglichen werden. Die Komplexbildung bei III ist aber stärker ausgeprägt als beim Glykokoll, bei dem auch nicht die geringste Bindung von Calcium nachzuweisen ist. Das zeigt, dass eine Carboxylatgruppe, auch wenn sie aus sterischen Gründen nicht als Koordinationspartner in Frage kommt, trotzdem die Komplexbildungstendenz der Partikel zu steigern vermag.

Zu demselben Schluss kommen wir nun auch bei der Betrachtung der Substanz IV im Vergleich mit Nitrilo-triessigsäure V. Die zusätzliche Carboxylgruppe von IV gegenüber V kann sicherlich nicht als Koordinationspartner bei der Komplexbildung dienen. Trotzdem ist aber die Aminomalonsäure-diessigsäure ein wesentlich stärkerer Komplexbildner als Nitrilo-triessigsäure, was aus den Kurven der Fig. 4 und aus der Tabelle III hervorgeht. Der Einfluss der zusätzlichen Carboxylgruppe von IV gegenüber V kann kaum anders als elektrostatisch gedeutet werden. Im p_H -Gebiet, in dem Komplexbildung stattfindet, ist die betreffende Gruppe eine negative Carboxylatgruppe, welche mithilft, das positive Zentralatom fester zu binden.

Unsere bisherige Erfahrung kann in folgende Regel zusammengefasst werden: Das Vermögen einer Partikel zur komplexen Bindung eines Metallions wird 1. um so grösser sein, je mehr geeignete Atome sie in solcher Bindung enthält, dass diese dem Metallion als Koordinationspartner zur Verfügung gestellt werden können, und 2. wird es um so grösser sein, je tiefer die negative Potentialmulde ist, in welche das Metallion bei der Komplexbildung sinken kann. Diese Regel deckt sich mit der bekannten Tatsache, dass innere Komplexe besonders stabil sind; denn wenn wir die ionogene Beziehung als Hauptvalenz und die koordinative Bindung als Nebenvalenz interpretieren, bilden negative Partikeln, welche einem positiven Zentralatom mehrere Koordinationsstellen anbieten, „innere“ Komplexe.

In Anwendung dieser Regel substituieren wir Wasserstoffatome des Ammoniaks durch Essigsäure-Reste, deren Carboxylgruppen als Koordinationspartner dienen können. Schon durch zwei derartige Reste wird der Stickstoff in der Imino-diessigsäure befähigt, wasserbeständige Erdalkalikomplexe zu bilden, während Ammoniak nur lose Anlagerungsverbindungen mit Erdalkalisalzen erzeugt¹⁾. Diese

¹⁾ Nach *Jannik Bjerrum*, „Metal ammine formation in aqueous solution“ Copenhagen 1941, liegt das Ca erst bei einer molaren Konzentration des Ammoniaks von 5,82 zur Hälfte als Amminkomplex vor. Bei Mg beträgt diese Zahl 3,50.

Komplexe der Imino-diessigsäure werden durch weitere negative Ionenladungen, auch wenn deren Träger nicht als Koordinationspartner dienen, stark stabilisiert. Die Wirkung der Ladung ist dabei um so grösser, je näher sie ans Zentralatom herankommen. So sind die Anionen von V, VI und IV sehr starke Komplexbildner für Erdalkali-ionen. VI zeigt, dass die zusätzliche Ionenladung nicht von einer Carboxylgruppe herzurühren braucht. Wir werden in spätern Abhandlungen auch noch einen Fall beschreiben, bei dem eine Sulfo-Gruppe diese stabilisierende Wirkung ausübt.

Schwerer erklärbar als dieses Verhalten im allgemeinen sind die speziellen Züge, welche die Aminosäuren bei der Komplexbildung zeigen, wie z. B. der beachtliche Unterschied zwischen I und II. Vielleicht handelt es sich dabei um kleine Veränderungen der Winkel der vom N ausgehenden Valenzen, welche durch den Ersatz des Wasserstoffs durch Methyl hervorgerufen werden, oder um eine Erhöhung der Basizität des Zentralstickstoffatoms.

Es ist uns leider nicht geglückt, die Aminomalonsäure-diessigsäure IV in reiner Form darzustellen. Diese Substanz besitzt offenbar eine ausserordentlich grosse Löslichkeit in Wasser, und ihrer Reindarstellung steht weiter der Umstand im Weg, dass sehr leicht Decarboxylierung eintritt. Ebensowenig konnten die Alkalisalze von IV kristallisiert erhalten werden. Wie die Salze aller Komplexe sind auch diejenigen von IV von ausserordentlich grosser Löslichkeit. Wir gewannen schliesslich durch fraktioniertes Fällen mit Alkohol Konzentrate von honigartiger Beschaffenheit, welche nach dem Trocknen im Hochvakuum ein Glaspulver darstellten, welches maximal 85% des Tri-Natrium oder Kaliumsalzes der Aminomalonsäure-diessigsäure enthielten. Mit diesen sind die Messungen ausgeführt worden.

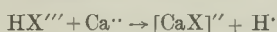
Es ist uns aber dabei gelungen, jeden Zweifel, dass es sich dabei nicht um die Aminomalonsäure-diessigsäure IV handeln könnte, zu beseitigen, indem folgendes gezeigt wurde.

1. Wird die Lösung des Alkalisalzes in der Kälte angesäuert und dann mit Alkali zurücktitriert, so erhält man die Kurven der Fig. 4. Die Substanz wird also durch Ansäuern in der Kälte nicht verändert. Wird aber nach dem Ansäuern kurz erwärmt, so entweicht CO_2 , und bei der nachfolgenden Titration wird bis zum Potentialsprung weniger Alkalihydroxyd verbraucht. Es ist dabei eine stark saure Carboxylgruppe verschwunden und nicht lediglich CO_2 aus Carbonat oder Hydrogencarbonat in Freiheit gesetzt worden. Durch Aufnahme der Neutralisationskurven in Gegenwart von Erdalkalisalzen kann gezeigt werden, dass bei dieser Zersetzung Nitrilo-triessigsäure entstanden ist, welche auch leicht aus den sauren Lösungen, wenn man etwas konzentrierter arbeitet, in kristallisierter Form abgeschieden werden kann. Es handelt sich bei dieser Zersetzung in saurer Lösung in der Wärme also um die Decarboxylierung $\text{IV} \rightarrow \text{V}$. Diese Reaktion wurde von uns neben andern Methoden auch benutzt, um den Gehalt unserer Konzentrate an Aminomalonsäure-diessigsäure zu ermitteln.

2. Wenn man Uramil-diessigsäure VI mit überschüssigem $\{\text{KOH}\}$ versetzt, die Lösung stark konzentriert und schliesslich einige Stunden auf 110° erhitzt, so entweicht NH_3 . Das Produkt enthält nun Aminomalonsäure-diessigsäure IV, welche quantitativ aus VI entstanden ist und durch Alkali in der Hitze gar nicht verändert wird. Man kann das wiederum durch Aufnahme der Neutralisationskurven bei Gegenwart von Erdalkalisalz zeigen, wobei die Kurven der Fig. 4 entstehen. Weiter konnten wir die so entstandene Verbindung IV durch Säure in der Wärme wieder decarboxylieren und in Nitrilo-triessigsäure V überführen. Auch diesmal ist diese Säure nicht nur durch die Neutralisationskurven nachgewiesen, sondern auch aus Uramil-diessigsäure in kristallisierter Form erhalten worden.

Da uns die Aminomalonsäure-diessigsäure nur in Form ihrer Salze zur Verfügung stand, konnten wir keine wirklich sauberen Neutralisationskurven mit Tetramethylammoniumhydroxyd bei genau bekannten ionalen Stärken aufnehmen. Sicherlich bildet IV auch mit Natrium Komplexe und sogar mit Kalium sind solche nicht ausgeschlossen. Zudem nimmt ein vierfach geladenes Ion an den Gleichgewichten teil, dessen Aktivitätskoeffizient kaum mit einiger Sicherheit berechnet werden kann. Wir möchten aus diesen Gründen darauf verzichten, die thermodynamischen Aciditätskonstanten der Aminomalonsäure-diessigsäure anzugeben. Wir können lediglich sagen, dass die Säure IV drei stark saure Gruppen enthält mit p_K -Werten in der Gegend von 3 und 4, deren Puffergebiete sich stark überlappen. Der p_K -Wert für das am Stickstoff gebundene 4. Proton liegt wiederum in der Gegend von 10.

Da uns für IV keine guten Aciditätskonstanten zur Verfügung stehen, können wir auch keine thermodynamischen Komplexbildungskonstanten angeben. Als Mass für die Komplexbildungstendenz kann aber die Aciditätssteigerung dienen, welche das 4. Proton durch Erdalkalizusatz erfährt, mit andern Worten: der p_H -Wert des Mittelpunktes des 4. Puffergebietes bei einer Erdalkalisalzkonzentration von 1. Dies ist die Bedeutung der Konzentrations-Komplex-Aciditätskonstanten $K_{ac \cdot k}^c$, die in der ersten Abhandlung schon für die Nitrilotriessigsäure bekanntgegeben worden sind. Für den Fall der Reaktion mit Calcium ist es die M.W.-Konstante des folgenden Prozesses, wobei, ausgenommen für das Wasserstoffion, Konzentrationen statt Aktivitäten eingesetzt werden:



$$K_{ac \cdot k}^c = \frac{(H^+) \cdot [CaX'']}{[Ca^{++}] \cdot [HX''']}$$

Tabelle III.

Konzentrations-Komplex-Aciditäts-Konstanten $K_{ac \cdot k}^c$, gültig für 20° und eine Konzentration des Erdalkalisalzes von $c = 1,7 \times 10^{-2}$

Metallion =	Mg ⁺⁺	Ca ⁺⁺	Ba ⁺⁺
Aminomalonsäure III	—	$3,2 \times 10^{-8}$	$1,7 \times 10^{-8}$
Imino-diessigsäure I	$2,0 \times 10^{-7}$	$9,8 \times 10^{-8}$	$2,0 \times 10^{-8}$
Methylimino-diessigsäure II	$5,2 \times 10^{-7}$	$6,32 \times 10^{-7}$	$7,1 \times 10^{-8}$
Nitrilo-triessigsäure V	$4,0 \times 10^{-5}$	$6,0 \times 10^{-4}$	$1,4 \times 10^{-5}$
Aminomalonsäure-diessigsäure IV	$1,3 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^{-3}$	$3,5 \times 10^{-4}$
Uramil-diessigsäure VI	$2,2 \times 10^{-2}$	$1,9 \times 10^{-2}$	$2,6 \times 10^{-4}$

Es verdient noch speziell hervorgehoben zu werden, dass im Falle der Aminomalonsäure-diessigsäure Barium einen stabileren Komplex liefert als Magnesium und in der Reihenfolge Ca, Ba,

Mg die Komplexbildungskonstante abnimmt. Diese Reihenfolge lautet bei der Imino-diessigsäure I: Mg, Ca, Ba; bei der Methylimino-diessigsäure II, und bei Nitrilo-triessigsäure V: Ca, Mg, Ba, während bei der Uramil-diessigsäure Mg wieder an erster Stelle steht. Von der Uramil-diessigsäure, welche zum Vergleich mit den übrigen Säuren ebenfalls in diese Tabelle aufgenommen worden ist, soll im nächsten Artikel, Komplexe III, die Rede sein.

Experimenteller Teil.

A. Präparate.

Imino-diessigsäure erhielten wir durch Behandeln der Nitrilo-triessigsäure (20 g) mit starker Salzsäure (20 cm³ 36-proz.) im Einschlussrohr¹⁾. Es wurde für 20 Stunden auf 160° erhitzt. Das Rohr enthielt nachher einen erheblichen CO₂-Druck, die Flüssigkeit war schwarz gefärbt und es hatten sich reichlich farblose Krystalle ausgeschieden. Diese bestehen aus dem Hydrochlorid der Imino-diessigsäure (Ausbeute 12 g). Sie wurden vorerst aus Wasser umkrystallisiert und sodann ihre konzentrierte wässrige Lösung mit starker NaOH auf p_H = 2 gebracht. Beim Stehen der Lösung scheidet sich nun weitgehend reine Imino-diessigsäure aus. Die endgültige Reinigung geschah durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Wasser, wobei viel Substanz verloren zu gehen pflegte. Schliesslich wurde ein völlig HCl-freies Präparat mit dem Äquivalentgewicht 133 erhalten.

Methylimino-diessigsäure²⁾ stellten wir durch Umsatz von Methylamin und Chloroessigsäure dar. Eine 20-proz. Lösung von 10 g Methylamin wurde mit 65 g Chloroessigsäure versetzt und dann langsam 270 cm³ 5-n. KOH eingetragen, so dass der p_H-Wert nie wesentlich über 10 stieg (Thymolblau). Nun wurde auf 100 cm³ eingedampft, in der Kälte von {KCl} abfiltriert und mit 330 cm³ 20-proz. HClO₄ versetzt. Nach der Entfernung des ausfallenden {KClO₄} wurde im Vakuum auf 50 cm³ eingedampft, worauf sich Krystalle der Methylimino-diessigsäure ausschieden. Sie wurden noch zweimal aus Wasser umkrystallisiert. Die Löslichkeit der Methylimino-diessigsäure ist wesentlich grösser als diejenige der Imino-diessigsäure. Der Reinheitsgrad wurde durch Ermittlung des Äquivalentgewichtes festgestellt. Ausbeute 10 g.

Aminomalonsäure ist von uns vorerst ausgehend von Brommalonsäure³⁾ durch Umsatz mit Ammoniak in Methanol gewonnen worden analog den Angaben von O. Lutz⁴⁾. Das dabei entstehende Gemisch von Ammoniumbromid und Ammonium-aminomalonat wurde zuerst durch Extraktion mit Methanol getrennt, die Aminomalonsäure sodann in das Bleisalz überführt, dieses mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die wässrige Lösung der Aminomalonsäure über Schwefelsäure in der Kälte im Vakuum eingedampft. Die derart erhaltenen Krystalle wurden schliesslich wieder in Wasser gelöst und mit Alkohol fraktioniert gefällt. Wir erhielten so ein Präparat, welches bei der potentiometrischen Titration mit Alkali ein Äquivalentgewicht von 120 besass, welches mit dem Formelgewicht übereinstimmt. Beim Erwärmen trat aber schon unter 100° Decarboxylierung ein, während in der Literatur angegeben ist, dass Aminomalonsäure bei 109° unter Zersetzung schmelzen soll⁵⁾. Deshalb wurde die Aminomalonsäure noch einmal ausgehend von Brommalonester (24 g) dargestellt. Dieser wurde in Äthanol (100 cm³) gelöst und unter Eiskühlung mit einer gesättigten alkoholischen Ammoniaklösung (100 cm³) versetzt. Zum entstandenen Krystallbrei wurde nach 14 Stunden NaOH (60 cm³ 5-n.)

1) W. Heintz, A. 149, 88 (1869).

2) Vergleiche auch die Darstellung über das Nitril nach Eschweiler, A. 279, 39, 42 (1894).

3) M. Conrad und H. Reinbach, B. 35, 1816 (1902).

4) O. Lutz, B. 35, 2549 (1902).

5) S. O. Lutz, l. c. und S. Ruhemann und P. Orton, Soc. 67, 1007 (1895).

gegeben und auf dem Wasserbad weitgehend eingedampft bis zum Verschwinden des NH_3 - und Äthanol-Geruches. Die tiefbraunrote alkalische Lösung wurde nun etwas verdünnt, kurze Zeit mit Aktivkohle gekocht und in der Kälte mit 0,2 Mol HCl angesäuert. Die ausfallenden Krystalle wurden durch Lösen in kaltem Wasser und fraktioniertes Fällen mit Alkohol schliesslich völlig farblos erhalten (Ausbeute 1 g) und zeigten genau die Eigenschaft des ersten Präparates. Ein Schmelzpunkt konnte auch diesmal vor der Decarboxylierung zu Glykokoll nicht beobachtet werden.

Aminomalonsäure-diessigsäure.

Es war naheliegend, vorerst den Ester dieser Säure aus Brommalonester und Imino-diessigsäure-ester zu gewinnen. Aus einem äquimolekularen Gemisch von Dimethylimino-diacetat und Diäthylbrommalonester schieden sich aber lediglich reichliche Mengen des Hydrobromides des Imino-diessigesters aus, und aus dem Filtrat liess sich kein Reaktionsprodukt gewinnen, welches Ca^{++} komplex zu binden vermochte (Nachweis mit Murexid s. u.). Ebenso ergebnislos verlief der Umsatz der beiden Ester nach Zusatz von Natriumäthylat und nach Zugabe von Pyridin.

Wurde hingegen Brommalonester in wässrig-alkalischer Lösung mit Imino-diessigsäure umgesetzt, so entstand eine Flüssigkeit, welche Ca^{++} stark zu binden vermochte. Man kann dies z. B. mit Murexid zeigen, dessen tiefviolett gefärbte alkalische Lösung durch Spuren von Ca^{++} (etwa durch Zugabe von Leitungswasser) rotgefärbt wird. Ein Komplexbildner für Ca^{++} bewirkt dann den rückwärtigen Farbumschlag. Man kann die Komplexbildung mit Ca^{++} auch dadurch nachweisen, dass man die Lösung auf etwa $p_{\text{H}} = 8$ bringt, und nachher $\{\text{CaCl}_2\}$ zusetzt, wobei ein p_{H} -Abfall eintritt, welcher durch einen geeigneten Indikator (Methylrot) sichtbar zu machen ist. Nachdem auf diese Weise die Bildung des von uns gesuchten Kondensationsproduktes aus Brommalonester, Imino-diessigsäure und Alkali wahrscheinlich gemacht worden war, wurde in zahllosen Versuchen seine Reindarstellung versucht, bis wir zur Überzeugung gelangten, dass die Aminomalonsäure-diessigsäure offenbar eine ausserordentlich lösliche Substanz sein müsse. Ebenso wenig konnten die Salze krystallin erhalten werden. Die folgende Arbeitsweise lieferte uns schliesslich diese wenigstens in stark angereicherter Form.

14,3 g Imino-diessigsäure wurden in 20 cm^3 5-n. NaOH gelöst, 24 g Brommalonester zugegeben und unter kräftiger Rührung langsam weitere 100 cm^3 5-n. NaOH zutropft. Die Reaktion wird dabei durch Tüpfeln auf Thymolphthaleinpapier verfolgt und diese schliesslich durch Erwärmen auf dem Wasserbad beschleunigt, sobald das Alkali nicht mehr mit erträglicher Geschwindigkeit verbraucht wird. Schliesslich wurde noch 1 Stunde auf dem Wasserbad belassen, dann gekühlt, mit starker HCl auf $p_{\text{H}} = 7$ gebracht und mit Alkohol fraktioniert gefällt. Wenn man vom anfänglich ausfallenden Natriumhalogenid immer wieder abfiltriert, fällt schliesslich ein öliges Produkt aus. Dieses wurde abgetrennt, mit absolutem Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure belassen. Aus dem dicken Syrup scheiden sich im Laufe vieler Tage noch kleinere Mengen $\{\text{NaCl}\}$ aus. Die davon getrennte honigartige Masse wurde sodann im Hochvakuum unter leichtem Erwärmen noch weiter entwässert, wobei sie zu einem glasartigen Körper erstarrte. Das weisse pulverisierte Produkt ist ausserordentlich hygroskopisch. Seine wässrigen Lösungen reagieren nur wenig alkalisch ($p_{\text{H}} = 8$). Nach den folgenden Befunden enthält es etwa 85% des Trinatriumsalzes der gesuchten Aminomalonsäure-diessigsäure.

a) 0,0598 g des Produktes wurden mit 5 cm^3 0,102-n. HCl versetzt und gleich darauf mit 0,1013-n. NaOH zurücktitriert. Dabei wurde Kurve A (Fig. 4) erhalten, wobei bis zum grossen Potentialsprung 3,3 cm^3 benötigt wurden. Gesamtvolum der Titrationsflüssigkeit 120 cm^3 .

b) Operation a wurde mit genau derselben Einwaage von 59,8 mg wiederholt, aber die Titration mit NaOH erst ausgeführt, nachdem die saure Lösung einige Zeit beim Kochpunkt gehalten worden war. Verbrauch bis zum grossen Potentialsprung = 1,6 cm^3 .

c) Operation a wurde zum drittenmal mit derselben Einwaage von 59,8 mg wiederholt, wieder nicht erhitzt, aber diesmal 2 cm^3 m. CaCl_2 vor der Titration zugefügt. Es wurde Kurve „Ca“ in Fig. 4 erhalten, mit Verbrauch von $5,0 \text{ cm}^3$ bis zum Potentialsprung.

d) Operation a wurde zum viertenmal wiederholt, diesmal aber wie bei b erhitzt, zugleich aber 2 cm^3 m. CaCl_2 zugefügt und erst dann mit Alkali titriert. Der Potentialsprung trat nun wieder bei $3,3 \text{ cm}^3$ auf. Er war aber kleiner als vorher, da diese Kurve bei $1,6 \text{ cm}^3$ eine deutliche Inflexion aufweist. Der Mittelpunkt des Puffergebietes zwischen $1,6 \text{ cm}^3$ und $3,3 \text{ cm}^3$ lag bei $p_{\text{H}} = 5$, wie es für Nitrilo-triessigsäure bei Anwesenheit von Ca^{++} charakteristisch ist.

Versuch b im Vergleich mit a zeigt, dass unser Produkt beim Erwärmen in saurer Lösung eine Carboxylgruppe verliert, wobei, wie d beweist, Nitrilo-triessigsäure entsteht, und zwar aus $0,0598 \text{ g}$ $1,7 \times 10^{-4}$ Mole. Genau so viel beträgt die Anzahl Mole CO_2 , welche bei der Decarboxylierung abgespalten werden, was aus der verbrauchten Masslösung bei a gegenüber b hervorgeht. Versuch c zeigt, dass unser Produkt bei der Komplexbildung mit Ca -Ionen, wie alle Komplexe, ein Proton verliert, und zwar entstehen auch hier aus $0,0598 \text{ g}$ $1,7 \times 10^{-4}$ Äquivalente Wasserstoffionen. Daraus geht eindeutig hervor, dass unser Produkt auf $0,0598 \text{ g}$ $1,7 \times 10^{-4}$ Mole Aminomalonsäure-diessigsäure enthalten haben muss. Da die Lösung des Produktes neutral reagiert, kann dieses nur als Trinatriumsalz mit dem Formelgewicht von 300 vorhanden sein. Daraus berechnet sich der Gehalt von 85%.

Zur Isolierung der Nitrilo-triessigsäure wurde 1 g des beschriebenen Produktes mit 3 cm^3 n. HCl versetzt, kurze Zeit gekocht bis zum Aufhören der CO_2 -Entwicklung und nun gekühlt. Es schieden sich dabei reichliche Mengen eines schön krystallisierten Produktes aus, welches mit Hilfe der Löslichkeit und Bestimmung des Äquivalentgewichtes gegenüber Alkali als Nitrilo-triessigsäure identifiziert wurde.

In völlig analoger Weise wie oben beschrieben, wurden auch stark angereicherte Konzentrate des Kaliumsalzes der Aminomalonsäure-diessigsäure erhalten.

B. Messdaten.

Die Neutralisationskurven wurden genau in der Art aufgenommen, wie es in der ersten Abhandlung angegeben ist. Auch die Berechnung der Aciditäts- und Komplexbildungskonstanten ist dort genau beschrieben worden. Da es verschiedene Berechnungsweisen für die Ionenaktivitäten gibt, welche zu leicht abweichenden Resultaten für die Gleichgewichtskonstanten führen, ist es notwendig, die Messdaten selbst hier festzulegen. Dies geschieht durch die folgenden Tabellen. Dabei bedeuten: c_s = Konzentration des Komplexons, c = Salzkonzentration, a = Neutralisationsgrad = Mole Base pro Mol Komplexon.

1. Kurven A, aufgenommen ohne Salz-Zusatz mit Tetramethylammoniumhydroxyd als Base für I, II und III, und $\{\text{NaOH}\}$ für IV.

	Imino-diessigsäure I $c_s = 2,08 \times 10^{-3}$						Methylimino-diessigsäure II $c_s = 2,35 \times 10^{-3}$					
a =	0,25	0,50	0,75	1,25	1,50	1,75	0,25	0,50	0,75	1,25	1,50	1,75
$p_{\text{H}} =$	3,17	3,36	3,69	9,30	9,76	10,12	3,03	3,27	3,59	9,54	9,98	10,34
$p_{\text{K}} =$	3,00	2,97	2,96	9,88	9,90	9,89	2,77	2,84	2,81	10,20	10,16	10,19
	Aminomalonsäure III $c_s = 2,67 \times 10^{-3}$						Aminomalonsäure-diessigsäure IV $c_s = 1,4 \times 10^{-3}$					
a =	0,25	0,50	0,75	1,25	1,50	1,75	3,25	3,50	3,75			
$p_{\text{H}} =$	3,29	3,52	3,87	9,25	9,69	10,07	9,20	9,66	10,07			
$p_{\text{K}} =$	3,36	3,32	3,33	9,83	9,83	9,82	—	—	—			

2. Kurven, aufgenommen in Gegenwart von Erdalkalichlorid. Hier seien lediglich die Mittelpunkte des letzten Puffergebietes bei $a = 1,50$ bzw. $3,50$ angegeben. Für die Berechnung eines guten Mittelwertes der Komplexbildungskonstante K_k dienen aber auch die Punkte mit $a = 1,25$ und $1,75$. Deshalb stimmt der hier angegebene Wert von K_k nicht genau mit demjenigen der Tabelle II überein. Der letztere ist also ein besserer Durchschnittswert.

Imino-diessigsäure I $c_s = 2,08 \times 10^{-3}$, $c = 1,7 \times 10^{-2}$ $a = 1,50$			Methylimino-diessigsäure II $c_s = 2,35 \times 10^{-3}$, $c = 1,7 \times 10^{-2}$ $a = 1,50$			
	Mg	Ca	Ba	Mg	Ca	Ba
$P_H =$	8,46	8,74	9,47	8,05	7,97	8,92
$K_k =$	$7,3 \times 10^{+3}$	$2,5 \times 10^{+3}$	74	$2,54 \times 10^{+4}$	$3,20 \times 10^{+4}$	$2,90 \times 10^{+3}$
Aminomalonsäure III $c_s = 2,42 \times 10^{+3}$, $c = 1,7 \times 10^{-2}$ $a = 1,50$			Aminomalonsäure-diessigsäure IV $c_s = 1,4 \times 10^{-3}$, $c = 1,7 \times 10^{-2}$ $a = 3,50$			
	Ca	Ba	Mg	Ca	Ba	
$P_H =$	9,26	9,55	5,69	4,62	5,25	
$K_k =$	$3,2 \times 10^{+2}$	—	—	—	—	

3. Kurven, aufgenommen in Gegenwart von Zinkchlorid.

	Methylimino-diessigsäure II $c_s = 2,27 \times 10^{-3}$, $c = 1,13 \times 10^{-3}$		Aminomalonsäure III $c_s = 2,24 \times 10^{-3}$, $c = 1,12 \times 10^{-3}$	
$a =$	1,250	1,750	1,250	
$P_H =$	4,60	6,45	6,25	
$K_k =$	$4,3 \times 10^{+9}$	$4,8 \times 10^{+6}$	$3,20 \times 10^{+6}$	

Zürich, Chemisches Institut der Universität,
Chem. Fabrik Uetikon am See.

144. Capsanthin-epoxyd und Capsochrom

von P. Karrer und E. Jucker.

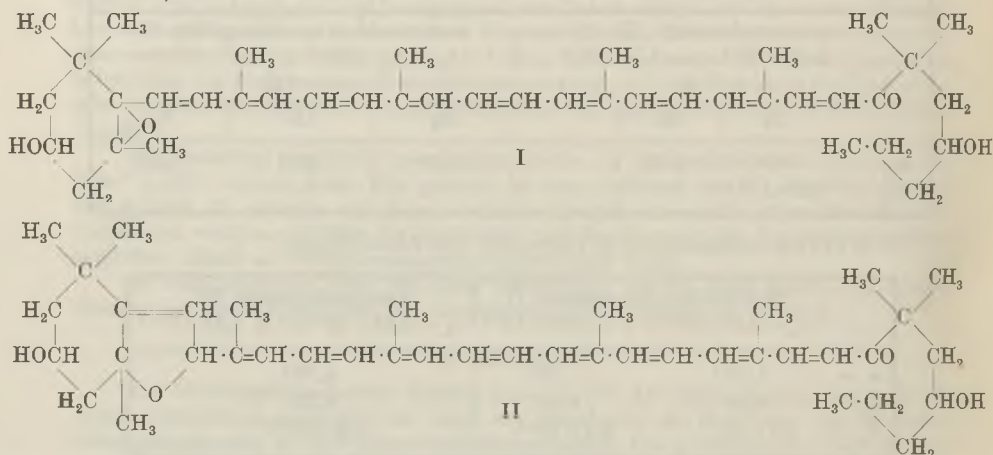
(27. VII. 45.)

Der Umstand, dass mehrere natürliche, schon längere Zeit bekannte Carotinoide als Epoxyde (Antheraxanthin, Violaxanthin), andere als furanoide Oxyde (Flavoxanthin, Chrysanthemaxanthin, Auroxanthin) erkannt worden sind¹⁾, und die Aussicht, weitere solche in den Pflanzen anzutreffen, lassen es wünschenswert erscheinen, die Epoxyde und furanoiden Oxyde aller bekannter Carotinoide mit

¹⁾ P. Karrer und E. Jucker, Helv. 28, 300, 427 (1945).

β -Iononring künstlich herzustellen und ihre Eigenschaften kennen zu lernen. Dies wird ihren Nachweis beim eventuellen Vorkommen im Pflanzen- oder Tierreich erleichtern. Einen ersten Erfolg in dieser Richtung haben wir in der Auffindung des Xanthophyll-epoxyds und α -Carotin-epoxyds, die zuerst künstlich gewonnen worden waren¹⁾, in verschiedenen Pflanzen erzielt, worüber die folgende Abhandlung Aufschluss gibt.

In dieser Mitteilung beschreiben wir die Herstellung von Capsanthin-epoxyd (I) und sein durch Einwirkung von chlorwasserstoffhaltigem Chloroform gewonnenes Umlagerungsprodukt, das furanoide Capsochrom (II). Beide Verbindungen sind gut kristallisierte Substanzen,



welche die an analog gebauten Carotinoiden mehrfach beobachteten Eigenschaften zeigen. So nimmt wässrige konz. Salzsäure, die man mit der ätherischen Lösung der beiden Pigmente schüttelt, eine tief blaue, aber nicht sehr beständige Färbung an.

Auch in der Lage der Absorptionsbanden weisen Capsanthin, Capsanthin-epoxyd und Capsochrom ganz ähnliche Unterschiede auf, wie wir sie bei anderen Carotinoiden und den von ihnen abgeleiteten Oxyden früher feststellten. In Schwefelkohlenstoff liegen die beiden längerwelligen Absorptionsmaxima wie folgt:

Capsanthin	542	503 m μ
Capsanthin-epoxyd	534	499 „
Capsochrom	515	482 „

Experimenteller Teil.

1 g Capsanthin wurde in 20 cm³ absolutem Pyridin gelöst und mit 5 g frisch destilliertem Essigsäure-anhydrid versetzt. Dieses Gemisch liess man während 5 Stunden bei 18° stehen und erwärmte es noch ½ Stunde auf 60°. Daraufhin versetzte man mit 200 cm³ Äther, wusch diese Lösung wiederholt mit Wasser, trocknete sie über frisch ausge-

¹⁾ P. Karrer und E. Jucker, Helv. 28, 300, 427 (1945).

glühtem Natriumsulfat und filtrierte zwecks weiterer Trocknung durch ein Faltenfilter. Diese ätherische Lösung von Capsanthin-diacetat wurde mit einer ätherischen Lösung von Phthalpersäure versetzt, die, auf 1 Mol Capsanthin berechnet, 1,1 Atome aktiven Sauerstoff enthielt. Nach Verlauf von ca. 45 Stunden schüttelte man die Phthalsäure wiederholt mit verdünnter Natronlauge aus und destillierte — nach kurzem Trocknen über Natriumsulfat — das Lösungsmittel im Vakuum ab. Der Rückstand wurde in wenig Äther aufgenommen und zwecks Verseifung der Acetate mit 50 cm³ einer 12-proz. methanolischen Kalilauge versetzt. Dieses Gemisch liess man 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen, erwärmte hierauf kurz auf 50°, verdünnte mit Wasser und zog mit Äther aus. Der Ätherextrakt hinterliess nach dem Waschen, Trocknen und Verdampfen des Lösungsmittels einen krystallinen Rückstand, den wir in Benzol-Äther (1 : 1) aufnahmen und an Zinkcarbonat chromatographierten (Entwicklungsflüssigkeit Benzol : Äther 1 : 1). Das Chromatogramm hatte folgendes Aussehen:

1. (oberste) Zone orange	3 cm	Absorpt. Max. in CS ₂	484,	452 mμ
2. „ karmin	2 cm	„ „ „ „	—	—
3. „ rot	20 cm	„ „ „ „	535	500 mμ
4. „ karmin	5 cm	„ „ „ „	542	507 mμ

Aus der obersten Schicht erhielt man nach der üblichen Aufarbeitung und Krystallisation aus Benzol-Petroläther ca. 10 mg eines orangen Farbstoffes. Die erhaltene Menge war jedoch zu einer weiteren Reinigung zu gering, weshalb noch keine Aussagen über die Natur dieser Verbindung gemacht werden können.

Aus der zweiten Zone konnten keine krystallinen Verbindungen gewonnen werden.

Schicht 3 ergab nach der üblichen Aufarbeitung einen noch etwas harzigen, uneinheitlichen Farbstoff, der zwecks weiterer Reinigung chromatographiert wurde. Hauptbestandteil war Capsanthin-epoxyd.

Aus der Schicht 4 erhielt man nach der Aufarbeitung und Krystallisation aus Methanol ca. 30 mg Capsanthin.

Reinigung der Capsanthin-mono-epoxydfraktion (Farbstoff aus Zone 3).

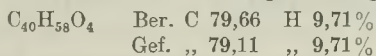
Den in einem Gemisch Benzol-Äther (1 : 1) gelösten Farbstoff haben wir an Zinkcarbonat chromatographiert und dabei folgende Schichten erhalten:

1. (oberste) Zone	8 cm	karmin	Absorpt. Max. in CS ₂	—	—
2. „	10 cm	rot	„ „ „ „	532	498 mμ
3. „	6 cm	karmin	„ „ „ „	539	503 mμ
4. „	10 cm	hellorange	„ „ „ „	—	—

Nach üblicher Aufarbeitung und zweimaliger Krystallisation aus Benzol-Petroläther erhielten wir aus der 2. Schicht reines Capsanthin-mono-epoxyd. Die Verbindung, 35 mg, schmolz bei 189° (unkorr. im Vakuum).

Absorptionsmaxima in CS ₂	534	499 mμ
„	„ Chloroform	511	481 mμ
„	„ Benzol	514	483 mμ

Schüttelt man die ätherische Lösung des Farbstoffes mit konz. wässriger Salzsäure, so nimmt diese eine tiefblaue, nicht sehr beständige Färbung an.



Umwandlung des Capsanthin-mono-epoxyds in Capsochrom.

30 mg reines Capsanthin-mono-epoxyd wurden durch Auflösen in chlorwasserstoffhaltigem Chloroform umgelagert¹⁾. Nach der üblichen Aufarbeitung hat man die Umwandlungsprodukte in Benzol-Äther 1 : 1 gelöst und an Zinkcarbonat chromatographiert.

¹⁾ Vgl. Helv. 28, 427, 434 (1945).

Die Entwicklung des Chromatogramms geschah während mehrerer Stunden mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch.

1. (oberste) Zone rot	1 cm	Absorpt. Max. in CS ₂	514	483 m μ
2. „ rot	0,5 cm	„ „ „ „	514	483 m μ
3. „ karmin	1 cm	„ „ „ „	540	505 m μ

Aus der obersten Schicht erhielt man nach der üblichen Aufarbeitung und KrySTALLISATION aus Benzol-Petroläther 15 mg Capsochrom, das nach zweimaliger UmkrySTALLISATION aus dem gleichen Lösungsmittelgemisch analysenrein war.

Schicht 2 lieferte eine sehr geringe Menge Farbstoff, der wahrscheinlich mit Capsochrom identisch ist. Für eine eingehende Untersuchung war die erhaltene Menge zu gering.

Schicht 3 enthielt Capsanthin, welches sich durch die Säureeinwirkung aus Capsanthin-epoxyd zurückgebildet hatte.

Schüttelt man die ätherische Lösung des Farbstoffs aus der ersten Zone (Capsochrom) mit konz. wässriger Salzsäure, so nimmt diese eine intensive blaue Farbe an, die jedoch nicht lange bestehen bleibt. Dasselbe Verhalten, wenn auch in etwas schwächerem Masse, zeigt der Farbstoff aus der zweiten Schicht.

Capsochrom schmilzt scharf bei 195° (unkorr. im Vakuum).

Absorptionsmaxima in CS ₂	515	482 m μ
„ „ Chloroform	492	462 m μ (unscharf)
„ „ Benzol	496	464 m μ

C ₄₀ H ₅₈ O ₄	Ber. C 79,66	H 9,71%
	Gef. „ 79,47	„ 9,48%

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

145. Zur Kenntnis der Carotinoid-epoxyde. Natürliches Vorkommen von Xanthophyll-epoxyd und α -Carotin-epoxyd

von P. Karrer, E. Jucker, J. Rutsemann und K. Steinlin.

(27. VII. 45.)

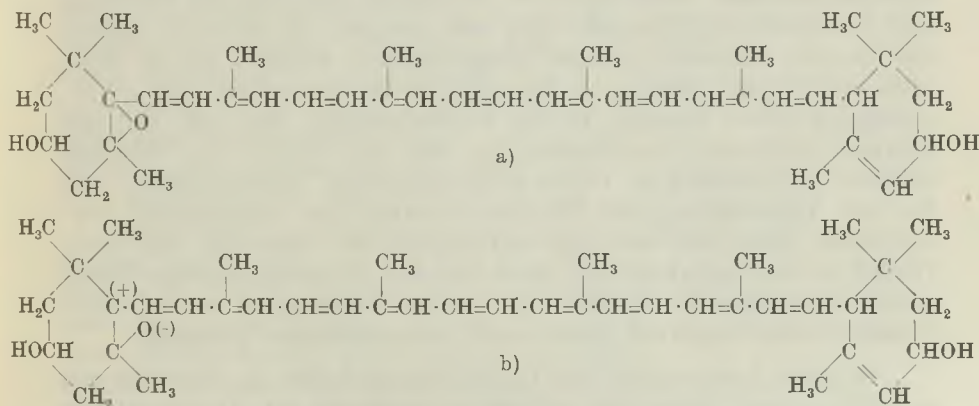
Nachdem wir die Konstitution des Antheraxanthins als Zeaxanthin-mono-epoxyd und diejenige des Violaxanthins als Zeaxanthin-di-epoxyd aufgeklärt hatten und nachdem gezeigt worden war, dass Flavoxanthin und Chrysanthemaxanthin furanoid gebaute Umlagerungsprodukte des Xanthophyll-epoxyds, Auroxanthin ein analoges Umwandlungsprodukt des Violaxanthins ist¹⁾, war es nahelegend, nach anderen Carotinoid-epoxyden im Pflanzen- und Tierreich zu suchen. Für solche Nachforschungen konnte die äusserst leicht verlaufende Umlagerungsreaktion der Epoxyde in die furanoiden Oxyde als wertvolles Hilfsmittel dienen¹⁾. Man braucht nur eine Carotinoidfraktion unbekannter Natur mit genügend scharfem

¹⁾ P. Karrer, E. Jucker, Helv. 28, 300, 427, 471 (1945); P. Karrer und J. Rutschmann, Helv. 27, 1684 (1944).

Spektrum in Chloroform, das Spuren von Chlorwasserstoff enthält, aufzulösen, nachher die Salzsäure mit NaHCO_3 auszuwaschen und den so behandelten Carotinoidfarbstoff erneut spektroskopisch zu prüfen, so kann man eindeutig feststellen, ob ursprünglich ein Carotinoid-epoxyd vorgelegen hatte. In diesem Fall ist eine Verschiebung der längstwelligen Absorptionsbande des Farbstoffs in Schwefelkohlenstoff um ca. 22—28 $\text{m}\mu$ bei Umlagerung einer Epoxydgruppe (z. B. Antheraxanthin \rightarrow Mutatoxanthin), und um ca. 40—42 $\text{m}\mu$ bei Umlagerung zweier Epoxydgruppierungen (z. B. Violaxanthin \rightarrow Auroxanthin) in der Richtung kürzerer Wellenlängen zu erwarten.

Da sich bei der Säureeinwirkung auf die Epoxyde unter Eliminierung des Sauerstoffs stets auch eine kleine Menge des dem Epoxyd zugrunde liegenden Carotinoids bildet¹⁾²⁾ und dieses längerwellig absorbiert, so beobachtet man im Absorptionsspektrum des umgelagerten Pigments oft noch eine sehr schwache, längerwellige Bande. Sofern dies der Fall ist, muss das durch Säureeinwirkung entstandene Farbstoffgemisch vor der endgültigen spektroskopischen Beurteilung durch Chromatographie an Calciumhydroxyd, Calciumcarbonat oder Aluminiumoxyd getrennt werden.

Schon unsere ersten Nachforschungen nach solchen Epoxyden im Pflanzenreich haben zu positiven Ergebnissen geführt. Aus den gelben Blüten von *Tragopogon pratensis* konnte Xanthophyll-epoxyd (Formel a bzw. b), das wir früher partialsynthetisch dargestellt hatten³⁾, in krystallisiertem, reinem Zustand gewonnen werden und ausserdem liess sich in diesen Blüten α -Carotin-epoxyd⁴⁾ mit Sicherheit nachweisen, dessen Menge jedoch zur Abscheidung in krystallisierter Form nicht ausreichte.



¹⁾ P. Karrer, E. Jucker, *Helv.* **28**, 300, 427, 471 (1945); P. Karrer und J. Rutschmann, *Helv.* **28**, 1684 (1944).

²⁾ P. Karrer, *Helv.* **28**, 474 (1945).

³⁾ *Helv.* **28**, 300 (1945). ⁴⁾ *Helv.* **28**, 471 (1945).

Weiterhin haben wir festgestellt, dass ein vor zwei Jahren¹⁾ aus den Blüten von Winterastern isoliertes Carotinoid, das aus der Adsorptionszone B₁ stammte, und von dem vermutet worden war, dass es vielleicht Taraxanthin sein könnte, in Wirklichkeit Xanthophyll-epoxyd ist. Dies liess sich durch seine durch Säure bewirkte Umlagerung in Flavoxanthin und Chrysanthemaxanthin beweisen.

Auch im Brennesselmehl, das zur Gewinnung von Carotin und Xanthophyll ein bekanntes gutes Ausgangsmaterial ist, kommt Xanthophyll-epoxyd in sehr kleiner Menge vor, was durch die Umlagerung der betreffenden Farbstoff-Fraktion in Flavoxanthin gezeigt werden konnte. Ferner sind im Brennesselkraut wahrscheinlich Spuren von Violaxanthin (Zeaxanthin-di-epoxyd) enthalten, da die Säureumwandlung einer Pigmentfraktion ein Carotinoid mit dem Absorptionsspektrum des Auroxanthins lieferte.

Schliesslich enthalten auch die Blüten des Hahnenfusses (*Ranunculus acer*) Xanthophyll-epoxyd und etwas α -Carotin-epoxyd, neben Xanthophyll, Flavoxanthin, Chrysanthemaxanthin, Taraxanthin und Flavochrom.

Die Umlagerung der Carotinoid-epoxyde in die isomeren furanoiden Oxyde verläuft unter der Einwirkung von Spuren von Mineralsäuren so leicht, dass diese unter allen Umständen völlig ferngehalten werden müssen, wenn man die Epoxyde und nicht ihre Umlagerungsprodukte fassen will. Schon die in der Laboratoriumsluft oft vorhandenen Säuredämpfe können in dieser Hinsicht schädlich wirken. Wir haben auch bemerkt, dass Zinkcarbonat, welches als Adsorbens für Carotinoidfarbstoffe viele Vorteile besitzt und von uns zu chromatographischen Trennungen oft gebraucht wird, für die Trennung und Beinigung der Epoxyde nicht sehr geeignet ist, da es oft Spuren von sauren Verunreinigungen (Zinkchlorid?) enthält, die zu einer teilweisen Isomerisierung der Epoxyde in die furanoiden Oxyde Veranlassung geben können. Es ist wahrscheinlich, dass ein Teil der furanoid gebauten Carotinoidoxyde, die man früher aus Pflanzen isolierte (Flavoxanthin, Chrysanthemaxanthin, Auroxanthin), erst bei der Aufarbeitung des Pflanzenmaterials aus ursprünglich vorhandenen Epoxyden sekundär entstanden ist; immerhin liegt kein Grund zu der Annahme vor, dass dies für die Gesamtmenge dieser isolierten Farbstoffe zutrifft, das native Vorkommen dieser Carotinoide ist im Gegenteil durch viele Beobachtungen gesichert.

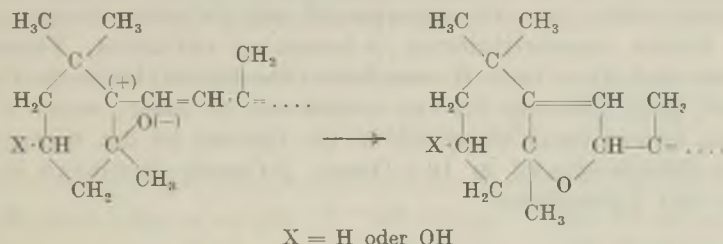
Was die Anwesenheit von Carotinoid-epoxyden im Tierreich anbetrifft, so liegt bisher eine einzige Beobachtung vor, die ein solches Auftreten möglich erscheinen lässt: der kürzlich erbrachte Nachweis, dass das „574-Chromogen“ oder Hepaxanthin des Lebertrans Vitamin-

¹⁾ P. Karrer, E. Jucker, *Helv.* **26**, 629, 630 (1943).

A-epoxyd ist¹⁾. In den Serumcarotinoiden die wir auf einen allfälligen Gehalt an Epoxyden prüften, konnten wir keine solchen auffinden.

Über die mutmassliche Bedeutung der Carotinoid-epoxyde für Pflanze und Tier.

Dass die Carotinoid-epoxyde die Vorstufen der furanoid gebauten, in Pflanzen verbreiteten Farbstoffe der Carotinreihe sind, darf wohl als sicher angenommen werden. Die Umlagerung:



vollzieht sich unter dem Einfluss von Säuren so leicht, dass sie sich ohne weiteres in sauren Zellsäften abspielen kann. Wir versuchten durch Einwirkung von Pufferlösungen auf kolloide wässrige Lösungen von Xanthophyll-epoxyd festzustellen, bei welchem p_H die Umwandlung in das isomere Flavoxanthin unter diesen Versuchsbedingungen einzutreten beginnt. Bei p_H 3 spielt sich die Reaktion innerhalb einiger Stunden weitgehend ab, bei höheren p_H -Werten scheint sie nicht oder nur unvollkommen zu verlaufen. Für nicht wässrige Lösungen wurde die wirksame Wasserstoffionenkonzentration noch nicht ermittelt.

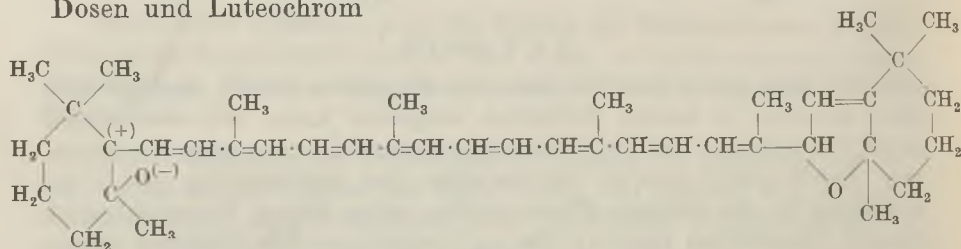
Die Umwandlung von Epoxyden in furanoide Oxyde der Carotinreihe in den Pflanzen wird in ihrem Ausmass voraussichtlich von den Umweltsbedingungen, Jahreszeit, Pflanzenentwicklung usw. beeinflusst. Wir haben z. B. festgestellt, dass die gelben Blüten des Stiefmütterchens (*Viola tricolor*) im Frühjahr neben Violaxanthin dessen furanoides Umlagerungsprodukt Auroxanthin nur in kleiner Menge enthalten, während letzteres in den Sommer- und Frühherbstmonaten, d. h. in den Blüten älterer Pflanzen, sehr stark zunimmt.

Neben der Isomerisierung der Epoxyde zu furanoiden Carotinoidoxyden spielt sich, wie früher an zahlreichen Beispielen gezeigt worden ist, bei der Einwirkung von chlorwasserstoffhaltigem Chloroform eine zweite Reaktion ab, die Abspaltung des Oxidosauerstoffs unter Regenerierung des Carotinoidfarbstoffes, von dem sich das Epoxyd ableitete. Diese leichte Sauerstoffabgabe lässt die Frage entstehen, ob die in den Pflanzen verbreiteten Carotinoid-epoxyde möglicherweise beim Sauerstofftransport, bzw. bei Oxydationsreaktionen eine Rolle spielen. Die Bedeutung der Carotinoide für den Pflanzen-

¹⁾ P. Karrer, E. Jucker, *Helv.* **28**, 717 (1945).

stoffwechsel ist bis heute völlig unbekannt; die Möglichkeit ist nicht auszuschliessen, dass einige von ihnen in der Form der Epoxyde an der Sauerstoffübertragung beteiligt sind.

Im tierischen Organismus sind wir diesen Verbindungen, wie erwähnt, bisher nicht begegnet. Dagegen war die Frage von Interesse, ob der tierische Organismus imstande ist, eine Desoxydation von Carotinoid-epoxyden zu den Oxido-sauerstoff-freien Verbindungen durchzuführen. Dieses Problem musste sich in der Weise lösen lassen, dass man prüfte, ob α -Carotin-epoxyd und β -Carotin-di-epoxyd, die beide keinen unsubstituierten β -Iononring enthalten, Vitamin A-wirksam sind. Herr Prof. *H. von Euler* (Stockholm) hatte die Freundlichkeit, diese Versuche für uns vornehmen zu lassen, wofür wir hier unseren besten Dank aussprechen. Sie führten zu der Feststellung, dass α -Carotin-epoxyd in 10 γ -Dosen, β -Carotin-di-epoxyd in 17 γ -Dosen und Luteochrom



in 18 γ -Dosen bei der Ratte volle Vitamin A-Wirkung entfalteten. Daraus ist der Schluss zu ziehen, dass sie im Organismus der Ratte teilweise zu α -Carotin bzw. β -Carotin bzw. Mutatochrom¹⁾ desoxydiert werden. Denn nach allen bisherigen Erfahrungen setzt Vitamin A-Wirkung die Existenz eines unsubstituierten β -Iononrings im untersuchten Carotinoid voraus. Da die wirksame Rattendosis für β -Carotin etwa 2,5 γ beträgt, muss ein relativ bedeutender Anteil des α -Carotin-epoxyds, β -Carotin-di-epoxyds und Luteochroms von der Ratte des Oxido-sauerstoffs beraubt werden.

Dagegen erwies sich Aurochrom, das aus β -Carotin-di-epoxyd durch Säureeinwirkung gebildete furanoide, beständige Oxyd des β -Carotins erwartungsgemäss völlig unwirksam. α -Carotin-epoxyd, β -Carotin-mono-epoxyd, β -Carotin-di-epoxyd und Luteochrom sind vier weitere Provitamine des Vitamins A.

Der *Stiftung für wissenschaftliche Forschung an der Universität Zürich* danken wir für die Gewährung von Mitteln für die vorliegende Untersuchung bestens.

Experimenteller Teil.

I. Carotinoide aus Blüten von *Tragopogon pratensis*.

500 g getrocknete und zerriebene Blüten von *Tragopogon pratensis* wurden mit Methanol, darauf zweimal mit Petroläther und schliesslich nochmals mit Methanol je

¹⁾ Formelbild vgl. Helv. **28**, 428 (1945). Dass Mutatochrom Vitamin A-Wirkung besitzt, geht aus früheren Untersuchungen hervor: Helv. **15**, 1507 (1932); **28**, 428, 430 (1945).

24 Stunden bei Raumtemperatur extrahiert. Die Auszüge wurden stark eingengt und in Petroläther mit etwas Alkohol aufgenommen. Die nun folgende Verseifung wurde durch Stehenlassen mit einer Lösung von 5 g Natrium in Äthanol vorgenommen. Nach ca. 16 Stunden haben wir die gallertig erstarrte Masse mit mehreren Portionen 90-proz. Methanols ausgeschüttelt und die verbleibende Petrolätherlösung zur Trockene verdampft (Epiphase A). Die Methanolauszüge wurden nach Zusatz von Wasser ausgeäthert, die Ätherlösung mehrmals mit Wasser gewaschen und eingedampft (Hypophase B).
Epiphase:

Der Verdampfungsrückstand A wurde in möglichst wenig Petroläther vom Sdp. 60° bis 70° aufgenommen und auf Calciumhydroxyd (Säule 3 × 50 cm) chromatographiert. Nach dem Entwickeln mit Petroläther haben wir die Adsorptionssäule wie folgt zerlegt und eluiert:

	Spektrum in CS ₂	Umwandlungs- spektrum (nach CHCl ₃ - Behandlg.)
1. (oberste) Zone 8 cm gelb .	501 471 mμ	(508) 479 450 mμ
2. „ 8 cm „ .	501 471 mμ	(508) 479 450 mμ
3. „ 8 cm „ .	501 471 mμ	(508) 479 450 mμ
4. „ 0,3 cm orange	520 487 mμ	—
5. „ 0,1 cm gelb .	—	—

Die Schichten 1—3 wurden nochmals auf gleiche Art chromatographiert. Es ergab sich eine einheitliche Zone von α-Carotin-epoxyd, das sich durch sein Spektrum, Umwandlungsspektrum (mit HCl-haltigem Chloroform → Flavochrom) und die Blaufärbung mit 25-proz. Salzsäure eindeutig identifizieren liess. Der grossen Mengen von farblosen Begleitstoffen wegen konnten wir es nicht kristallisieren.

Die Zone 4 enthielt β-Carotin.

Hypophase:

Die Lösung B zeigte in Schwefelkohlenstoff ein scharfes Spektrum mit Maxima bei 501 und 471 mμ. Das Spektrum des mit Säure entstehenden Umwandlungsproduktes war ebenfalls scharf (480, 450 mμ). Nach diesem Befund lag vorwiegend Xanthophyll-epoxyd vor.

Die Lösung B wurde aus Benzol an Zinkcarbonat (Adsorptionssäule 4,5 × 40 cm) adsorbiert, wobei z. T. Umwandlung des Epoxyds in Flavoxanthin (bzw. Chrysanthema-xanthin) eintrat.

	Spektrum in CS ₂	Spektra der Säure- umwandlungs- produkte
1. (oberste Zone) 3 cm orange	499 468 mμ	(585) 453 423 mμ
2. 6 cm gelb .	500 476 (450) mμ	479 450 mμ
3. 6 cm orange	501 474 (450) mμ	479 449 mμ
4. 6 cm orange	501 472 mμ	(508) 479 449 mμ
5. 3 cm orange	508 476 mμ	—

Zone 1 enthielt Violaxanthin (Spektrum, Umwandlung durch Chloroform-Chlorwasserstoff in Auroxanthin, starke Blaufärbung mit 20-proz. Salzsäure).

Die Zonen 2–4 enthielten Mischungen von Xanthophyll-epoxyd und mehr oder weniger Flavoxanthin. Nach dem Eluieren wurden die Farbstoffe aus wenig Methanol krystallisiert und die erhaltenen Rohprodukte (ca. 40 mg) aus Benzollösung an Calciumcarbonat chromatographiert. Aus der untersten Zone erhielten wir nach der üblichen Aufarbeitung und zweimaliger Krystallisation aus Äther-Methanol reines Xanthophyll-epoxyd vom Smp. 191°. Im Mischchromatogramm liess es sich nicht vom partial synthetisch dargestellten Xanthophyll-epoxyd trennen, mit dem es auch in allen andern Eigenschaften übereinstimmte.

Die im Calciumcarbonat-Chromatogramm oben liegenden Schichten enthielten Mischungen von Xanthophyll-epoxyd und Flavoxanthin. Die eluierten Farbstoffgemische wurden deshalb nochmals an Zinkcarbonat adsorbiert, wobei aber vollständige Umwandlung des Xanthophyll-epoxydes in Flavoxanthin und Xanthophyll eintrat. Auf die umlagernde Wirkung saurer Verunreinigungen im Zinkcarbonat auf Carotinoid-epoxyde ist in der Einleitung zu dieser Abhandlung hingewiesen worden.

II. Carotinoide aus Blüten des Hahnenfusses (*Ranunculus acer*)¹⁾.

3,3 kg getrocknete und gut gemahlene Hahnenfussblüten wurden zweimal bei Raumtemperatur während ca. 20 Stunden mit Methanol extrahiert. Sodann schlossen wir eine erschöpfende Extraktion der Blüten mit Petroläther an. Die beiden Extrakte wurden auf die folgende Weise getrennt verarbeitet:

Petroläther-Extrakt:

Nach Abdestillieren des Lösungsmittels verblieb eine geringe Menge rotgefärbtes Harz. Man nahm es in Äther auf, wusch diese Lösung wiederholt mit Wasser aus, trocknete sie über Natriumsulfat, destillierte das Lösungsmittel im Vakuum ab und nahm den Rückstand, der nun bedeutend weniger Begleitstoffe enthielt, in Petroläther auf. Diese Lösung wurde mit 200 cm 12-proz. methanolischer Kalilauge versetzt und während 6 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach Verlauf dieser Zeit war die Verseifung beendet. Hierauf arbeitete man in üblicher Weise das Verseifungsprodukt auf und trennte die Carotinoide durch Verteilung zwischen Petroläther-Methanol in epiphasische und hypophasische Pigmente. Die Farbstoffe der Epiphase wurden gemeinsam mit den entsprechenden Pigmenten des Methanol-Extraktes verarbeitet.

Trennung der hypophasischen Farbstoffe des Petroläther-Extraktes.

Die hypophasischen Carotinoide waren von einer bedeutenden Menge farbloser Stoffe begleitet, deren Abtrennung aber zum grossen Teil durch Auskochen mit Petroläther gelang. Der harzige, dunkelrote Rückstand wurde in Benzol aufgenommen und an Zinkcarbonat chromatographiert. Das Chromatogramm, mit Benzol entwickelt, zeigte folgende Schichtung:

1. (oberste) Zone	3 cm	gelb-orange	Abs. Max. in CS ₂ (502)	478	449 m μ
2.	14 cm	gelb	„ „ „ „	479	448 m μ
3.	4 cm	orange-rot	„ „ „ „	506	476 m μ
4.	3 cm	rot-karmin	„ „ „ „	509	478 m μ

Die oberste Zone enthielt nur eine sehr geringe Menge Farbstoff, der zudem noch von viel Harz begleitet war; es gelang deshalb nicht, daraus ein krystallisiertes Produkt zu erhalten.

Aus der 2. Schicht isolierten wir nach der üblichen Aufarbeitung und Krystallisation aus Benzol-Methanolgemisch 120 mg Farbstoff. Seine Reinigung erfolgte mit der entsprechenden Fraktion der Hypophase des Methanol-Extraktes, wobei festgestellt wurde,

¹⁾ Die Blüten von *Ranunculus acer* sind schon wiederholt auf Carotinoide untersucht worden: *Schunk*, Proc. Roy. Soc. **72**, 165 (1903); *Kuhn* und *Brockmann*, Z. physiol. Ch. **213**, 192 (1932). Nachgewiesen wurden: Xanthophyll, Flavoxanthin, Taraxanthin und Violaxanthin.

dass dieses Produkt ein Gemisch aus Chrysanthemaxanthin, Flavoxanthin und Xanthophyll war. Die Beschreibung der Trennung erfolgt weiter unten.

Die 4. Zone lieferte nach Elution und Krystallisation aus Benzol-Methanolgemisch 30 mg eines noch nicht einheitlichen Farbstoffes, dessen weitere Reinigung mit einer entsprechenden Fraktion der Hypophase des Methanol-Extraktes erfolgte und an der entsprechenden Stelle beschrieben wird.

Aus der 3. Schicht erhielt man eine geringe Menge uneinheitlichen, harzigen Farbstoff, der erneut in Benzol aufgenommen und an Zinkcarbonat chromatographiert wurde:

1. (oberste) Zone	4 cm	gelb-orange	Abs. Max. in CS ₂	502 472 m μ
2.	15 cm	orange-gelb	„ „ „ „	510 478 m μ
3.	5 cm	orange	„ „ „ „	509 477 m μ
4.	5 cm	rot-karmin	„ „ „ „	508 476 m μ

Die oberste Zone enthielt eine geringe Menge eines Farbstoffes, der wegen der harzigen Begleitstoffe nicht krystallin erhalten werden konnte. Alle seine Eigenschaften machen es indessen sehr wahrscheinlich, dass er mit dem Xanthophyll-mono-epoxyd identisch ist.

Absorptionsmaxima in CS ₂	502 472 m μ
„ „ Benzol	482 453 m μ
„ „ Benzin	471 442 m μ
„ „ Äthanol	473 445 m μ

Schüttelt man die ätherische Lösung des Farbstoffes mit konz. wässriger Salzsäure, so tritt nach kurzer Zeit Blaufärbung der Salzsäureschicht ein, wie dies auch bei partialsynthetischem Xanthophyll-mono-epoxyd der Fall ist.

Behandelt man den Farbstoff mit Salzsäure-haltigem Chloroform (Chloroform, das längere Zeit gestanden hatte), so bildet sich ein neues Pigment mit den optischen Schwerpunkten in CS₂ bei 480, 450 m μ .

Alle diese Reaktionen deuten darauf hin, dass der Farbstoff der ersten Zone Xanthophyll-mono-epoxyd ist; wie bereits erwähnt, gelang es uns aber nicht, das Pigment in krystallinem Zustand zu fassen.

Der Farbstoff der Zonen 2—4 wurde in der üblichen Weise eluiert und aus Benzol-Methanolgemisch krystallisiert. Seine Reinigung erfolgte mit der 4. Zone des ersten Chromatogramms gemeinsam mit der entsprechenden Fraktion der Hypophase des Methanol-Extraktes.

Methanol-Extrakt:

Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abdestilliert und der ölige Rückstand in Äther aufgenommen. Dabei fiel eine bedeutende Menge (600 g) harziger, gelber Produkte aus, die anscheinend Flavonglucoside enthalten. Die dunkelrot gefärbte ätherische Lösung wurde wiederholt mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand wie üblich mit methanolischer Kalilauge verseift. Die Verseifungsprodukte wurden wie üblich aufgearbeitet und die Carotinoide in hypophysische und epiphysische Pigmente getrennt.

Trennung der hypophysischen Carotinoide des Methanol-Extraktes.

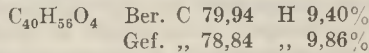
Der grösste Teil der Begleitstoffe konnte durch Auskochen mit Petroläther entfernt werden. Der dunkelrote, noch etwas harzige Rückstand wurde in Benzol aufgenommen und an Zinkcarbonat chromatographiert. Nach Entwickeln mit Benzol zeigte die Säule folgende Schichtungen:

1. (oberste) Zone	6 cm	orange	Abs. Max. in CS ₂	501 472 m μ
2.	7 cm	gelb	„ „ „ „	480 450 „
3.	4 cm	gelb-orange	„ „ „ „	502 471 „
4.	4 cm	dunkel-gelb	„ „ „ „	512 480 „
5.	3 cm	karmin-rot	„ „ „ „	507 478 „

Der Farbstoff aus der obersten Zone wurde eluiert und zwecks weiterer Reinigung erneut an Zinkcarbonat chromatographiert. Nach dem Entwickeln mit Benzol zeigte das Chromatogramm folgende Schichtungen:

1. (oberste) Zone	12 cm orange	Abs. Max. in CS ₂	499 470 m μ
2. „	4 cm gelb	„ „ „ „	480 450 „

Der Farbstoff der obersten Zone, eluiert und aus Methanol-Äthergemisch umkrystallisiert, erwies sich als noch nicht ganz reines Taraxanthin. Ausbeute 8 mg. Nach nochmaliger Krystallisation aus Methanol-Äthergemisch lag der Schmelzpunkt bei 185° (unkorr.). Im evakuierten Röhrchen schmolz der Farbstoff bei 205° (unkorr.).



Die Lösung des Taraxanthins in Äther lieferte mit konz. wässriger Salzsäure höchstens eine sehr schwache Blaufärbung. Salzsäure-haltiges Chloroform bewirkt keine Umwandlung des Farbstoffes.

Absorptionsmaxima in CS ₂	500 468 m μ
„	„ Äthanol	472 443 „
„	„ CHCl ₃	481 452 „
„	„ Benzol.	483 454 „
„	„ Ligroin	474 444 „

Aus der zweiten Zone des ersten und der zweiten Zone des zweiten Chromatogramms erhielt man nach üblicher Elution und Krystallisation aus Methanol ca. 180 mg Farbstoff (Gemisch aus Flavoxanthin, Chrysanthemaxanthin und etwas Xanthophyll), welcher nun mit den weiter oben erwähnten entsprechenden Fraktionen verarbeitet wurde. Durch Auskochen mit Petroläther wurden Begleitstoffe abgetrennt, der Rest erneut aus Methanol umkrystallisiert und die Hälfte auf Zinkcarbonat chromatographiert. Das Chromatogramm haben wir mit Benzol entwickelt; es zeigte hernach drei Zonen, von denen aus der obersten Flavoxanthin, aus der mittleren Chrysanthemaxanthin und aus der untersten Xanthophyll erhalten wurden. Die drei isolierten, aus Methanol umkrystallisierten Farbstoffe besaßen die in der Literatur angegebenen Eigenschaften.

Aus der dritten Zone konnte kein krystallisierter Farbstoff erhalten werden. Es ist aber sehr wahrscheinlich, dass sie Xanthophyll-mono-epoxyd enthält. Am Anfang der Krystallisationsversuche zeigte diese Verbindung scharfe Absorptionsmaxima bei 501, 472 m μ und nach Einwirkung von HCl-haltigem Chloroform Maxima bei 480, 449 m μ , wie dies für Xanthophyll-epoxyd beschrieben ist. Im Verlaufe der Reinigungsoperationen wurde aber das Spektrum immer unschärfer und es trat eine Absorptionsbande bei 480 m μ auf. Dies deutet auf eine Umwandlung des Epoxyds hin, die vermutlich durch Verunreinigungen des Zinkcarbonats bewirkt worden ist.

Der Farbstoff der 4. und 5. Schicht wurde eluiert und aus Benzol auskrystallisiert. Wir haben ihn mit der entsprechenden, weiter oben erwähnten Fraktion des Petroläther-Extraktes in Benzol gelöst und an Zinkcarbonat chromatographiert. Nach dem Entwickeln mit Benzol bildeten sich folgende Schichten aus:

1. (oberste) Zone	2 cm orange	Absorpt. Max. in CS ₂	502 472 m μ
2. „	8 cm orange	„ „ „ „	480 450 „
3. „	13 cm rot	„ „ „ „	508 478 „
4. „	4 cm karmin	„ „ „ „	507 477 „

Die obere Hälfte der zweiten Schicht lieferte nach üblicher Aufarbeitung reines Flavoxanthin (aus Äther-Methanol), aus der unteren Hälfte dieser Schicht erhielt man auf dieselbe Art Chrysanthemaxanthin. Die beiden Farbstoffe besaßen die in der Literatur angegebenen Eigenschaften.

Die dritte Zone ergab nach Elution und Krystallisation aus Benzol-Methanolgemisch krystallisiertes Xanthophyll.

Aus der untersten Zone krystallisierte eine bedeutende Menge farbloser Stoffe aus; Farbstoff konnte nicht erhalten werden.

Epiphasische Farbstoffe:

Die epiphasischen Farbstoffe (aus dem Methanol- und dem Petroläther-Extrakt) wurden in Petroläther gelöst und an Calciumhydroxyd chromatographiert. Nach langem Entwickeln des Chromatogramms mit dem gleichen Lösungsmittel hatten sich folgende Schichten gebildet:

1. (oberste) Zone 12 cm gelb-orange Abs. Max. in CS₂ 478 446 m μ
2. „ 10 cm orange-gelb „ „ „ „ 504 478 „
3. „ 1 cm gelb-orange „ „ „ „ 510 478 „

Die Farbstoffe der einzelnen Zonen wurden eluiert, wie üblich aufgearbeitet und zwecks weiterer Reinigung erneut an Calciumhydroxyd chromatographiert.

Chromatogramm der ersten Zone:

- 1a (oberste) Zone 6 cm gelb Abs. Max. in CS₂ 479 448 m μ
- 2a „ 6 cm orange „ „ „ „ 503 473 „

Der Farbstoff der Zone 1a) wurde nach üblicher Aufarbeitung mit dem Farbstoff der obersten Schicht des nächstfolgenden Chromatogramms gemeinsam aufgearbeitet.

Aus der Schicht 2a) erhielt man eine geringe Menge rot gefärbten Öles, welches mit der entsprechenden Fraktion des nächsten Chromatogramms erneut chromatographiert wurde. Die weitere Reinigung zeigte, dass der Farbstoff der Zone 1a) Flavochrom, derjenige der Schicht 2a) α -Carotin-mono-epoxyd ist.

Chromatogramm der zweiten Zone:

- 1b (oberste) Zone 2 cm gelb Abs. Max. in CS₂ 479 448 m μ
- 2b „ 3 cm orange „ „ „ „ 503 472 „

Nach der üblichen Elution wurde der Farbstoff der Schicht 1b) gemeinsam mit dem Pigment der Zone 1a) des vorhergehenden Chromatogramms an Calciumhydroxyd chromatographiert, wobei sich ähnliche Schichten entwickelten. Die Hauptmenge der Farbstoffe bestand jedoch aus der Verbindung mit den Absorptionsmaxima 479, 448 m μ . Dieses Pigment konnte wegen öligen Begleitstoffen nicht in kristallinem Zustande gefasst werden, doch zeigen seine Eigenschaften wie Absorptionsmaxima, Verteilung zwischen Methanol-Petroläther und die sehr schwache Blaufärbung, die beim Unterschichten seiner ätherischen Lösung mit konz. Salzsäure eintritt, dass es sich um Flavochrom handelt. Dies wurde auch durch das Mischchromatogramm bewiesen, indem sich nur eine einzige gelbe Schicht ausbildete.

Der Farbstoff der Zone 2b) wurde mit der entsprechenden Fraktion des vorhergehenden Chromatogramms (2a) auf Calciumhydroxyd chromatographiert und das Chromatogramm mit Petroläther entwickelt. Es trat wiederum eine Trennung in Flavochrom und den Farbstoff mit den optischen Schwerpunkten 503, 473 m μ ein. Die Lage im Chromatogramm — Flavochrom befindet sich oberhalb —, Absorptionsmaxima und schliesslich die Umwandlung mit Salzsäure-haltigem Chloroform in Flavochrom sprechen dafür, dass dieses Pigment α -Carotin-mono-epoxyd ist. Seine Darstellung in Kristallform gelang infolge Materialmangels und ölicher Begleitsubstanzen nicht.

Chromatogramm der dritten Zone:

Der Farbstoff der untersten Schicht wurde in Petroläther aufgenommen und an Calciumhydroxyd chromatographiert. Nach langem Entwickeln mit Petroläther bildeten sich zwei Zonen aus, von denen die obere das Absorptionsspektrum 520, 488 m μ besass, die untere dagegen bei 509, 478 m μ absorbierte. Die Lage im Chromatogramm, sowie die optischen Eigenschaften machen es sehr wahrscheinlich, dass es sich um β -Carotin bzw. um α -Carotin handelte.

III. Xanthophyll-mono-epoxyd aus Winterastern.

Bei der Isolierung der Carotinoide aus Blüten einer Winteraster hatten wir s. Zt. 24 mg einer kristallisierten Farbstoff-Fraktion aus der Chromatogrammschicht B₄¹⁾

1) Helv. 26, 629, 630 (1943).

erhalten, von der nach der Lage der Absorptionsmaxima (500 und 469 $m\mu$ in CS_2) vermutet werden konnte, dass es sich um Taraxanthin handelte. Dies hat sich nicht als richtig erwiesen. Bei der Behandlung dieses Farbstoffs mit chlorwasserstoffhaltigem Chloroform bildeten sich nämlich aus ihm Flavoxanthin und Chrysanthemaxanthin (Absorptionsmaxima in CS_2 479, 449 $m\mu$), so dass Xanthophyll-epoxyd vorliegen muss, das allerdings nicht ganz rein war, da der Schmelzpunkt etwas zu tief gefunden wurde. Versetzt man die ätherische Lösung dieses Farbstoffs mit konz., wässriger Salzsäure, so färbt sich die Salzsäureschicht nach einiger Zeit schwach blau, wie dies vom Xanthophyll-epoxyd bekannt ist.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

146. Zur Konfiguration der natürlichen und partialsynthetisierten Carotinoide: Flavoxanthin, Chrysanthemaxanthin, Auroxanthin

von P. Karrer, E. Jucker und J. Rutschmann.

(27. VII. 45.)

Im Zusammenhang mit den Partialsynthesen des Flavoxanthins, Chrysanthemaxanthins und Auroxanthins¹⁾ war noch die Frage zu prüfen, ob die synthetischen Farbstoffe mit den natürlichen nicht nur in der Struktur, sondern auch in der Konfiguration übereinstimmen²⁾. Wir haben daher die optischen Drehungen der natürlichen und partialsynthetisch hergestellten Pigmente verglichen und dabei folgendes festgestellt.

Flavoxanthin, partialsynthetisches Produkt.

5 mg Substanz in 6 cm^3 Benzol zeigten im 1 dm-Rohr eine Drehung von $+0,14^{\circ}$ bis $0,13^{\circ}$ (18° , 642 $m\mu$).

Daraus berechnet sich $[\alpha]_D^{20}$ zu $+190$ — 180° .

Nach *Kuhn* und *Brockmann* besitzt natürliches Flavoxanthin in Benzollösung die spez. Drehung $+190^{\circ}$ ³⁾.

Chrysanthemaxanthin.

Die optische Drehung des Chrysanthemaxanthins ist von derjenigen des Flavoxanthins in den zur Untersuchung anwendbaren Konzentrationen nicht zu unterscheiden; Naturprodukt und partialsynthetische Verbindung stimmen in der Grösse der Drehung überein.

Auroxanthin.

Eine Lösung von 5 mg Auroxanthin aus den Blüten von *Viola tricolor* in 6 cm^3 Benzol lässt im 1 dm-Rohr keine sicher messbare Drehung erkennen. Ebenso verhält sich der partialsynthetisierte Farbstoff.

¹⁾ P. Karrer, E. Jucker, *Helv.* **28**, 300 (1945).

²⁾ *Helv.* **28**, 306 (1945).

³⁾ *Z. physiol. Ch.* **213**, 192 (1932).

Aus diesen Feststellungen ergibt sich, dass die partialsynthetisierten Carotinoide Flavoxanthin, Chrysanthemaxanthin und Auroxanthin mit den entsprechenden natürlichen Pigmenten auch in der Konfiguration höchst wahrscheinlich übereinstimmen, was als weitere Stütze dafür angesehen werden darf, dass sie in vitro und in vivo auf analoge Weise entstanden sind.

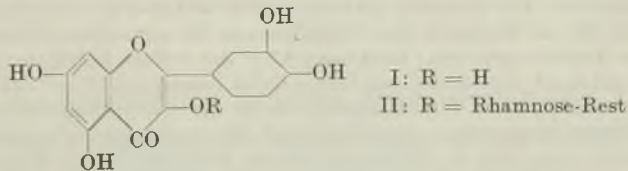
Chemisches Institut der Universität Zürich.

147. Über den gelben Farbstoff der Forsythia-Blüten

von O. Schindler.

(17. VIII. 45.)

Im Laufe einer Untersuchung über die pharmakologischen Eigenschaften von Flavon- und Flavonolderivaten beschrieb *Czimmer*¹⁾ das Vorkommen eines Quercetinfarbstoffes in den Blüten des auch in unsern Gegenden weit verbreiteten Zierstrauches *Forsythia suspensa* Vahl (Oleaceae). Der Farbstoff liess sich durch Kochen mit verdünnten Säuren in Quercetin I und einen nicht identifizierten Zucker zerlegen. Ausserdem erkannte er, dass das Glucosid vom Rhamnosid des Quercetins, dem Quercitrin II verschieden sei.



Wir möchten im folgenden über den genauern Aufbau dieses Farbstoffes berichten.

Zur Extraktion des Farbstoffes fanden wir Methanol besser geeignet als das von *Czimmer*¹⁾ empfohlene Äthylacetat. Da die Versuche, aus dem eingedampften Methanolextrakt das Blütenpigment direkt zu krystallisieren, nicht zum Ziele führten, fällten wir das Flavonol-glucosid mit Bleiacetat. Nach dem Zerlegen der Bleifällung mit Schwefelwasserstoff konnten wir schliesslich den Blütenfarbstoff in feinen, an beiden Enden zugespitzten Nadeln erhalten. Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Wasser blieb der Schmelzpunkt bei 178°—180° konstant. *Czimmer*¹⁾ fand das Glucosid optisch inaktiv, während wir die spez. Drehung $[\alpha]_D^{23} = -51,8^\circ$ bestimmten. Mit Eisen(III)-chlorid färbt sich die hellgelbe wässrige Lösung blaugrün; mit Alkalien wird die Lösung goldgelb gefärbt.

¹⁾ A. G. *Czimmer*, *Naunyn-Schmiedeberg's Ar. exp. Path. Pharmak.* **183**, 587 (1936).

Die saure Hydrolyse bestätigte die Angaben von *Czimmer* (loc. cit.), dass das Aglucon des Glucosides Quercetin I darstellt. Es wurde als solches, wie auch nach Acetylierung als Pentaacetyl-quercetin identifiziert. Der abgespaltene Zucker wurde in das Osazon übergeführt, wobei *d*-Glucosazon erhalten wurde. Leider standen uns nicht mehr Blüten zur Verfügung, so dass wir den Entscheid zwischen der *d*-Glucose und den zu ihr epimeren Zuckern auf einen spätern Zeitpunkt aufchieben müssen.

Die Menge des bei der sauren Hydrolyse abgespaltene Quercetins entspricht derjenigen, die sich auf zwei Mol. Hexose berechnet. Die Analyse des Glucosides bestätigte, dass an einem Mol. Quercetin zwei Mol. Glucose (evtl. zwei Mol. Mannose) gebunden sind.

Experimenteller Teil¹⁾.

Isolierung des Quercetin-glucosides.

Frische Forsythia-Blüten wurden während 14 Stunden bei 55° getrocknet. 100 g der getrockneten Blüten (entsprechend zirka 800 g frischer Blüten) wurden mit 2,5 Liter Methanol während 4 Stunden bei 50° ausgerührt. Es wurde noch warm genutscht und mit etwas Methanol nachgewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum bei 30° auf ein Volumen von 150 cm³ eingedampft und die eingeengte Lösung mit einer warm bereiteten Lösung von 10 g neutralem Bleiacetat in Wasser versetzt. Die Fällung wird durch Zusatz von etwas 25-proz. Ammoniak vervollständigt. Der intensiv gelb gefärbte Bleiniederschlag wurde abgenutscht und mit Methanol gewaschen. Zur Zerlegung wurde er in 300 cm³ Methanol suspendiert und unter Rühren während einer Stunde Schwefelwasserstoffgas eingeleitet. Das Bleisulfid nutschten wir ab und kochten es zweimal während 15 Minuten mit 100 cm³ Methanol unter Rückfluss aus. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum zur Trockene gebracht; Rückstand 9,3 g. Zur weitem Reinigung lösten wir diesen Rückstand in 80 cm³ Alkohol und fällten durch Zusatz von 15 cm³ Äther eine farblose, an der Luft zerfliessende Verunreinigung aus, die durch Zentrifugieren abgetrennt wurde. Diese Fällung wiederholten wir noch zweimal. Die so erhaltene gelbe Lösung wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit der 200fachen Menge Wasser für kurze Zeit in ein siedendes Wasserbad gestellt. Beim Abkühlen krystallisierte das Flavonol-glucosid in hellgelb gefärbten Nadeln aus, die abgesaugt und mit Wasser gewaschen wurden. Nach dreimaligem Umkrystallisieren lag der Schmelzpunkt bei 178°—180°. Ausbeute: 800 mg.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -51,8^{\circ} \pm 8^{\circ} \quad (c = 0,486 \text{ in Methanol})$$

$$0,0486 \text{ g Subst. zu } 10,00 \text{ cm}^3; \quad l = 0,9504 \text{ dm}; \quad \alpha_{\text{D}}^{23} = -0,24^{\circ} \pm 0,05^{\circ}$$

Zur Analyse wurde während 5 Stunden bei 75°/12 mm vorgetrocknet und unmittelbar vor der Verbrennung 6 Stunden über P₂O₅ bei 100° getrocknet. Den etwas zu hohen Wasserstoffgehalt in der folgenden Analyse führen wir darauf zurück, dass der Stoff hartnäckig Wasser zurückhält.

3,646 mg Subst. gaben 6,942 mg CO₂ und 1,708 mg H₂O

Quercetin + 1 Glucose C₂₁H₂₀O₁₂ (464,37) Ber. C 54,30 H 4,33%

Quercetin + 2 Glucosen C₂₇H₂₉O₁₇ (626,50) Ber. „ 51,84 „ 4,67%

Gef. „ 51,96 „ 5,24%²⁾

¹⁾ Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

²⁾ Wir verdanken die Ausführung der Mikroanalyse dem Mikroanalytischen Labor. der Eidg. Technischen Hochschule Zürich.

Saure Hydrolyse des Glucosides.

180 mg des nach obenstehender Vorschrift isolierten Glucosides wurden in 90 cm³ 5-proz. Schwefelsäure warm gelöst und zuerst eine Stunde auf das siedende Dampfbad, anschliessend drei Stunden in den Thermostaten bei 50° gestellt. Dabei schieden sich zu Büscheln angeordnete Nadeln ab. Sie wurden abgenutscht, mit Wasser gewaschen und trocken gesaugt. Ausbeute 83 mg. (Für ein Glucosid mit einer Glucose berechnen sich 117 mg, für ein solches mit zwei Glucosen 86 mg.) Smp.: 305°—308°; mit authentischem Quercetin vom Smp. 310° gab das Aglucon keine Schmelzpunktserniedrigung.

Identifizierung des Quercetins: 40 mg des Aglucons wurden in 0,5 cm³ Pyridin und 0,5 cm³ Acetanhydrid während zwei Stunden bei 60°—65° acetyliert. Die übliche Aufarbeitung lieferte 60 mg Krystalle, die nach dreimaligem Umkrystallisieren aus 95-proz. Äthanol und Chloroform-Äther bei 190°—192° schmolzen und mit authentischem Quercetin-acetat vom Smp. 192° keine Schmelzpunktserniedrigung gaben.

Identifizierung des Zuckerteiles: Die vom Aglucon abfiltrierte schwefelsaure Zuckerlösung wurde mit frisch bereitetem, neutralem Bariumcarbonat neutralisiert. Nach Abnutschen des Bariumsulfates über einem mit Bariumcarbonat gedichteten Filter wurde die wässrige Lösung bei 30°—40° im Vakuum zur Trockene gebracht. Der Rückstand wurde in wenigen cm³ Äthanol aufgenommen, über wenig ausgekochter Kohle filtriert und erneut eingedampft. Rückstand 120 mg Sirup. 108 mg davon wurden mit 220 mg Phenylhydrazin-hydrochlorid und 330 mg kryst. Natriumacetat in 2,2 cm³ Wasser nach üblicher Methode ins Osazon übergeführt. Es wurden 100 mg Nadeln erhalten, die die typische Form des Glucosazons zeigten. Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Pyridin-Wasser¹⁾ und Äthanol blieb der Schmelzpunkt bei 207° konstant. Mischprobe mit authentischem *d*-Phenyl-glucosazon vom Smp. 206° gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Laboratorium der *Gaba AG.*, Basel.

148. Beiträge zur Kenntnis von Oxy- und Hydrocellulose II²⁾.

Der Nachweis der Carbonylgruppen der Oxycellulose und der Aldehydgruppen in Halbacetalbindung der Hydrocellulose mit Silber-, Gold(III)-, Eisen(III)-, Quecksilber(II)- und Palladium(II)-Salzen

von Ernst Geiger.

(25. VIII. 45.)

Die Carbonylgruppen der Oxycellulose reduzieren alkalische Silberdiamminlösungen³⁾, saure Gold(III)-chloridlösungen⁴⁾, *Nessler's* Reagens⁵⁾, Kaliumhexacyanoferrat(III)⁶⁾ und *Fehling's*che Lösung. Um das Reduktionsvermögen zu erhöhen bzw. die Intensität der er-

¹⁾ *C. Neuberg*, B. 32, 3384, (1899).

²⁾ 1. Mitt. Helv. 28, 283 (1945).

³⁾ *G. Bumcke* und *K. Wolfenstein*, B. 32, 2493 (1899).

⁴⁾ *R. Haller*, Helv. 14, 578 (1931).

⁵⁾ *H. Ditz*, J. pr. [2] 78, 343 (1908); *G. Witz*, Bull. Soc. ind. Rouen 1882, 416; 1883, 169.

⁶⁾ *W. B. F. Ermen*, J. Soc. Dyers Col. 44, 303 (1928); 51, 127 (1935).

zielten Färbungen verstärken zu können, behandelte *F. Müller*¹⁾ die Oxycellulose in der Hitze mit Natriumdithionit. Es bildet sich ein Sulfoxyolat, welches stärker reduziert als unbehandelte Oxycellulose. Auf diese Weise konnte er den Nachweis von Oxycellulose mit Gold-(III)-chlorid und Eisen(III)-sulfat, Kaliumhexacyanoferrat(III) ganz wesentlich verbessern.

Mit Natriumdithionit reagieren die Carbonylgruppen in Halbacetalbindung nicht. Nur mit alkalischen Auratlösungen²⁾ konnten bis heute Oxy- und Hydrocellulose mit Metallsalzen getrennt nachgewiesen werden. Es wurde nun gefunden, dass die Oxime, Hydrazone und ihre Kupplungsprodukte mit Diazosalzen (Echtschwarzsatz B), Semicarbazone und Hydrazide im Vergleich zu den freien Carbonylgruppen gegen Metallsalze ein erhöhtes Reduktionsvermögen besitzen. Da die Carbonylgruppen in Halbacetalbindung, wie in der 1. Mitteilung gezeigt werden konnte, ebenfalls mit Hydroxylamin, Hydrazinen, Hydraziden und Semicarbazid kondensiert werden können, so wird es nun möglich, auch mit Metallsalzen Aldehydgruppen in Halbacetalbindung bzw. Hydrocellulose nachzuweisen. Das Kondensationsvermögen dieser Verbindungen ist so gross, dass der Umsatz mit den freien und mit den Aldehydgruppen in Halbacetalbindung in der Kälte vorgenommen werden kann. Eine klare Trennung zwischen freien Aldehyd- und Ketongruppen und Aldehydgruppen in Halbacetalbindung ist allerdings nicht immer möglich. Während Phenylhydrazin-p-sulfosäure bei gewöhnlicher Temperatur und einem p_H 1—2,0 auch nach 150stündiger Einwirkung nur mit den freien Carbonylgruppen reagiert, so kondensiert sich Trimethyl-acethydrazid-ammoniumchlorid³⁾ in geringem und Semicarbazid noch in vermehrtem Masse mit den Aldehydgruppen in Halbacetalbindung bzw. der Hydrocellulose. Das Reduktionsvermögen dieser Kondensationsprodukte ist gegenüber Metallsalzen verschieden. Es nimmt vom Semicarbazon über das Hydroxyd des Trimethyl-acethydrazid-ammoniumchlorids zum Hydrazon der Phenylhydrazin-p-sulfosäure ab. Für den Nachweis von Oxycellulose fallen die beiden ersten, infolge der geringen Kondensation mit Hydrocellulose, ausser Betracht. Sie eignen sich aber sehr gut für den Nachweis der Hydrocellulose. Die Intensität der erzielten Färbungen zeigt die Tabelle 1. Die Farbtiefe nimmt von 1 bis 5 ab.

Mit Phenylhydrazin-p-sulfosäure vorbehandeltes Material reduziert eine 1-proz. Platin(IV)-chloridlösung nur schwach. Eine 1-proz. Palladium(II)-chloridlösung vom p_H 4 gibt schwarze Niederschläge. Bezüglich Farbtiefe und Kontrastwirkung steht dieser Nachweis un-

¹⁾ Helv. **22**, 213 (1939).

²⁾ *E. Geiger*, Helv. **28**, 283 (1945).

³⁾ *A. Girard* und *G. Sandulesco*, Helv. **19**, 1105 (1936).

mittelbar nach demjenigen mit saurer Gold(III)-chloridlösung. Praktisch kommt wegen der Billigkeit, der grossen Empfindlichkeit, und der klaren Trennung zwischen Oxy- und Hydrocellulose nur die Vorbehandlung mit Phenylhydrazin-p-sulfosäure in Frage. Werden diese Reaktionen auf Hydrocellulose, welche nach *Husemann* und *Weber*¹⁾ mit 0,1-n. Jod in 1,0-n. Na₂CO₃ oxydiert worden ist, angewandt, so fallen sie negativ aus. Die Oxydation der Aldehyd-Halbacetal-Gruppe zur COOH-Gruppe verläuft quantitativ. *Fehling*'sche Lösung wird erst bei Temperaturen über 50° reduziert. Eine Unterscheidung von Oxy- und Hydrocellulose ist damit nicht möglich.

Tabelle 1.

Vorbehandlung	Kondensation bei	Fe ₂ (SO ₄) ₃ -K ₃ [Fe(CN) ₆]	alkalische Auratlösung p _H 9,2	AuCl ₃ p _H 4,0	K ₂ [HgJ ₄] p _H 13	alkalische Silberdiammin-Lösung
Hydroxylamin . . .	p _H = 13	1	2	gering	gering	gering
	p _H = 1,5	2	1	„	„	3
Phenylhydrazin-p-sulfosäure . . .	p _H = 1,0	2	1	4	3	5
	p _H = 8,5	2	1	4	3	5
Semicarbazid . . .	p _H = 1,5	3	1	2	4	5
	p _H = 8,5	3	1	2	4	5
Trimethyl-acet-hydrazid-ammoniumchlorid . . .	p _H = 1,5	3	1	2	5	4
	p _H = 8,5	4	1	3	2	5

Experimenteller Teil.

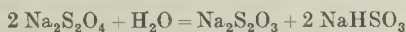
mitbearbeitet von *Paul Künzler*.

Die nachstehend beschriebenen Reaktionen wurden ausgearbeitet, um auf Textilien und Textilgeweben Schäden, die durch Oxydation oder durch Säurehydrolyse entstanden sind, nachzuweisen. Sie können auf alle Fasern, die aus nativer oder regenerierter Cellulose bestehen, angewandt werden. Sie bilden eine Ergänzung der bereits früher publizierten Nachweisreaktionen.

Das Prüfmaterial wird mit einer Natriumdithionit- oder einer Phenylhydrazin-p-sulfosäurelösung vorbehandelt.

Vorbehandlung mit Natriumdithionit.

Zu 100 cm³ destilliertem Wasser von 80° gibt man 5 cm³ gesättigte Calciumhydroxyd-lösung und 1 g Natriumdithionit. Sofort, nachdem Lösung eingetreten ist, fügt man das Prüfmaterial hinzu und erhitzt rasch zum Sieden. Nach ½—1 Minute wird es herausgenommen und gewässert. Die Anlagerung des Dithionites an die freien Carbonylgruppen nimmt mit steigender Temperatur zu. Ein Erhitzen bis zum Siedepunkt ist von Vorteil. In der Hitze tritt, besonders in Lösungen, die kein freies Alkali enthalten, sehr rasch eine Selbstzersetzung unter Bildung von Natriumthiosulfat und Natriumhydrogensulfid ein²⁾.



¹⁾ J. pr. [2] **161**, 1 (1942).

²⁾ *J. Meyer*, Z. anorg. Ch. **34**, 56 (1903); *E. Jellineck*, Z. physikal. Ch. **93**, 325 (1919).

Die Dithionitlösungen sind gelblich; nach der Selbstzersetzung sind sie farblos. Das Prüfmaterial muss, solange die Lösung noch gelblich ist, herausgenommen werden. In siedenden Lösungen, die kein Natriumdithionit mehr enthalten, zersetzt sich das Sulf-oxylat der Oxycellulose sehr rasch.

Phenylhydrazin-p-sulfosäure.

p_H 1,0: 1 g Phenylhydrazin-p-sulfosäure wird in 100 cm³ 0,1-n. Schwefelsäure gelöst. Das Prüfmaterial wird während 5 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur eingelegt und gewässert.

p_H 8,5: 2 g Phenylhydrazin-p-sulfosäure werden in einem 100 cm³ Messkolben mit Natronlauge neutralisiert. Hernach wird mit Natriumtetraborat-Salzsäure-Pufferlösung von p_H 8,5¹⁾ bis zur Marke aufgefüllt. Das Prüfmaterial wird während 2 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur eingelegt und dann gewässert.

Reaktionen.

Berlinerblaureaktion.

Das vorbehandelte Material gibt man in das Reagens, welches aus gleichen Volumina 0,1-n. Kaliumhexacyanoferrat(III), Eisen(III)-sulfat und Ammoniumsulfatlösung besteht. Nach 15 Minuten wird dasselbe herausgenommen und solange gewässert, bis sich die grüne Farbe in ein Blau verwandelt hat. Durch eine Behandlung mit einer Lösung, welche in 100 cm³ 1 g Seignettesalz und 1 g Ammoniumcarbonat enthält, kann das auf ungeschädigter Cellulose niederschlagene Berlinerblau zum grössten Teil weggelöst werden.

Nachweis mit alkalischer Kaliumquecksilber(II)-jodidlösung.

Das vorbehandelte Material wird mit einem Reagens, welches aus 95 cm³ 1,0-n. NaOH und 5 cm³ 50-proz. Kaliumquecksilber(II)-jodidlösung besteht, während einigen Minuten behandelt und nachher während 4 Minuten gewässert. Die Gelbfärbung des Grundes wird durch Behandlung mit einer 1-proz. Kaliumjodidlösung entfernt.

Nachweis mit alkalischer Silberdiamminlösung.

In einen 100 cm³ Messkolben werden 10 cm³ 1,0-n. AgNO₃-Lösung und 50 cm³ 1,0-n. NH₃-Lösung gegeben und mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Zu 5 cm³ dieser Lösung werden 100 cm³ 0,1-n. NaOH zugesetzt. Das Prüfmaterial wird während 30 Min. bei gewöhnlicher Temperatur eingelegt, eine Minute gewässert, während 20 Minuten mit 0,1-n. Natriumthiosulfatlösung behandelt, 15 Min. gewässert und getrocknet.

Nachweis mit Gold(III)-chlorid

Saure Lösung p_H 4,0

1,0 g Gold(III)-chlorid wird in 100 cm³ destilliertem Wasser gelöst. Das Prüfmaterial wird während 30 Minuten bei gewöhnlicher Temperatur eingelegt und gewässert. Das Gold scheidet sich mit violetter Farbe ab.

Alkalische Auratlösung p_H 9,2.

Zu 1 cm³ 1-proz. Gold(III)-chloridlösung werden 8 cm³ 0,07-n. CaCl₂-Lösung und 90 cm³ Natriumtetraborat-Pufferlösung von p_H 9,2 zugesetzt. In der siedenden Lösung wird das Prüfmaterial 40 Minuten gekocht und dann gewässert. Alkalische Auratlösungen geben grössere Kontraste als saure Gold(III)-chloridlösungen. Das Gold fällt fast immer schwarz aus. Der Grund, d. h. die ungeschädigte Cellulose, bleibt rein weiss.

¹⁾ F. Küster, A. Thiel, Logarithmische Rechentafeln 46.—50. Aufl. S. 154—157.

Tabelle 2.
I. Nachweis der freien Carbonylgruppen.

	p_H	Reaktions-Temp. °	Oxy-cellulose	Hydro-cellulose	Kontrast zwischen geschädigter und ungeschädigter Cellulose	¹⁾ Empfindlichkeit
a) Vorbehandlung mit Natriumdithionit						
Eisen(III)-sulfat, Kaliumhexacyanoferrat(III)	2,2	18	—	—	sehr gross	4
Gold(III)-chlorid	4	18	+	—	ziemlich gross	7
alkalische Auratlösungen	9,2	98	+	—	sehr gross	3
alkalische Silberdiamminlösungen	13	18	+	—	mittelmässig	10
Kaliumquecksilber(II)-jodidlösungen	13	18	+	—	gross	5
b) Vorbehandlung mit Phenylhydrazin-p-sulfosäure p_H 1,0						
Eisen(III)-sulfat, Kaliumhexacyanoferrat(III)	2,2	18	+	—	sehr gross	2
Gold(III)-chlorid	4	18	+	—	ziemlich gross	8
alkalische Auratlösungen	9,2	98	+	—	sehr gross	1
alkalische Silberdiamminlösungen	13	18	+	—	mittelmässig	9
alkalische Kaliumquecksilber(II)-jodidlösungen	13	18	+	—	gross	6

II. Nachweis der freien Carbonylgruppen und der Carbonylgruppen in Halbacetalbindung.

Vorbehandlung mit Phenylhydrazin-p-sulfosäure p_H 8,5

	p_H	Reaktions-Temp. °	Oxy-cellulose	Hydro-cellulose	Kontrast zwischen geschädigter und ungeschädigter Cellulose	¹⁾ Empfindlichkeit
Eisen(III)-chlorid, Kaliumhexacyanoferrat(III)	2,2	18	+	+	sehr gross	2
Gold(III)-chlorid	4	18	+	+	ziemlich gross	4
alkalische Auratlösungen	9,2	98	+	+	sehr gross	1
alkalische Silberdiamminlösungen	13	18	+	—	mittelmässig	5
alkalische Kaliumquecksilber(II)-jodidlösungen	13	18	+	+	gross	3

¹⁾ Einteilung nach der erzielten Farbtiefe und Kontrastwirkung. Die sehr viel angewandte alkalische Silberdiamminlösung ist die unempfindlichste Reaktion.

Die Vorbehandlung mit Phenylhydrazin-p-sulfosäure bei einem p_{H} von 8,5 erfasst alle Carbonylgruppen. Bei Gemischen von Oxy- und Hydrocellulose werden mit dieser Vorbehandlung die stärksten Färbungen erzielt.

Chemisches Laboratorium der
Société de la Viscose Suisse S.A., Emmenbrücke.

149. *d*-Galaktose-3-methyläther¹⁾

von F. Reber und T. Reichstein.

(25. VIII. 45.)

4,6-Benzal- α -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VI)^c^d^a) liefert bei partieller Tosylierung ein Gemisch, aus dem früher^a) neben etwas unverändertem Ausgangsmaterial (VI) und dem Ditosylat (II) hauptsächlich das 3-Monotosylat (V) erhalten wurde. Durch chromatographische Trennung der Mutterlaugen konnten wir auch etwas 2-Monotosylat (VII) isolieren, das kürzlich von *Wiggins*^e) auf anderem Wege bereitet wurde, der die Konstitution weitgehend sicherstellt. Den Beweis für die Konstitution von (V) und (VII) haben wir vor Kenntnis der *Wiggins*'schen Arbeit wie früher erwähnt^a) in folgender Weise erbracht. (V) und (VII) gaben bei Methylierung mit CH_3J und Ag_2O nach *Purdie*²⁾³⁾⁴⁾ die zwei deutlich voneinander verschiedenen Methyläther (IX) und (VIII). (IX) zeigt in Schmelzpunkt und Drehung gute Übereinstimmung mit einem von *Bell* und *Williamson*^g) beschriebenen Präparat, das nach der Herstellungsart nur der 2-Methyläther (IX) sein kann. (VIII) ist inzwischen auch von *Wiggins*^e) beschrieben worden. Reduktive Detosylierung⁵⁾⁶⁾ von (IX) und (VIII) mit NaHg lieferte die zwei isomeren Monomethyläther (X) und (XII), die wiederum deutlich voneinander verschieden waren und von denen (X) in Smp. und Drehung mit dem von *Bell* und *Williamson*^g) beschriebenen Stoff dieser Formel gut übereinstimmte. Da (X) und (XII) bei weiterer Methylierung dasselbe Dimethyl-Derivat (XI) gaben, das sich auch direkt aus (VI) bereiten lässt^d), sind die Formeln von (X) und (XII), somit auch die von (IX) und (VIII) sowie von (V) und (VII) gesichert. (VII) gab dementsprechend durch Benzoylierung das früher^b) beschriebene 2-Tosylat-3-benzoat (IV). Beim Erwärmen mit NaOCH_3 ging (VII) glatt ins 4,6-Benzal-2,3-anhydro- α -

¹⁾ Die mit ^{a-k}) bezeichneten Fussnoten vgl. Formelseite.

²⁾ *Th. Purdie, W. Pitkeathly, Soc. 75, 153* (1898).

³⁾ *Th. Purdie, J. C. Irvine, Soc. 83, 1021* (1903).

⁴⁾ *Th. Purdie, R. C. Bridgett, Soc. 83, 1037* (1903).

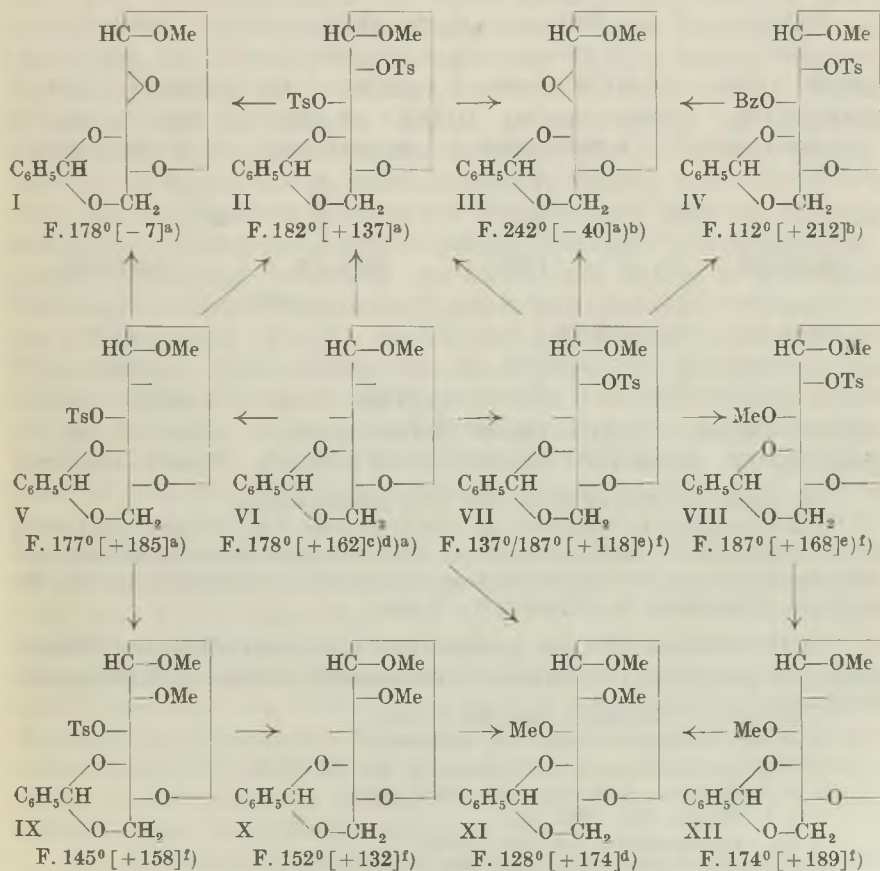
⁵⁾ *K. Freudenberg, F. Brauns, B. 55, 3233* (1922).

⁶⁾ *P. A. Levene, J. Compton, Am. Soc. 57, 2306* (1935).

methyl-*d*-talosid-⟨1,5⟩ (III) über, das früher als Nebenprodukt aus (II)^{a)}, in guter Ausbeute aus (IV)^{b)} erhalten wurde. Dies steht im Widerspruch zu Angaben von *Wiggins*^{c)}, der diese Reaktion trotz mehrfacher Versuche nicht durchführen konnte. Da (VI) bei partieller Tosylierung^{a)} und partieller Benzoylierung^{b)} bevorzugt die 3-Mono-acyl-Derivate liefert, wurde noch versucht, eine partielle Methylierung durchzuführen.

Sowohl mit Dimethylsulfat und KOH¹⁾ unter den von *West* und *Holden*²⁾ angegebenen Bedingungen als auch mit CH₃J und Ag₂O nach *Purdie* (l. c.) entstanden aber Gemische, aus denen neben unverändertem Ausgangsmaterial (VI) nur das Dimethyl-Derivat (XI) isoliert werden konnte.

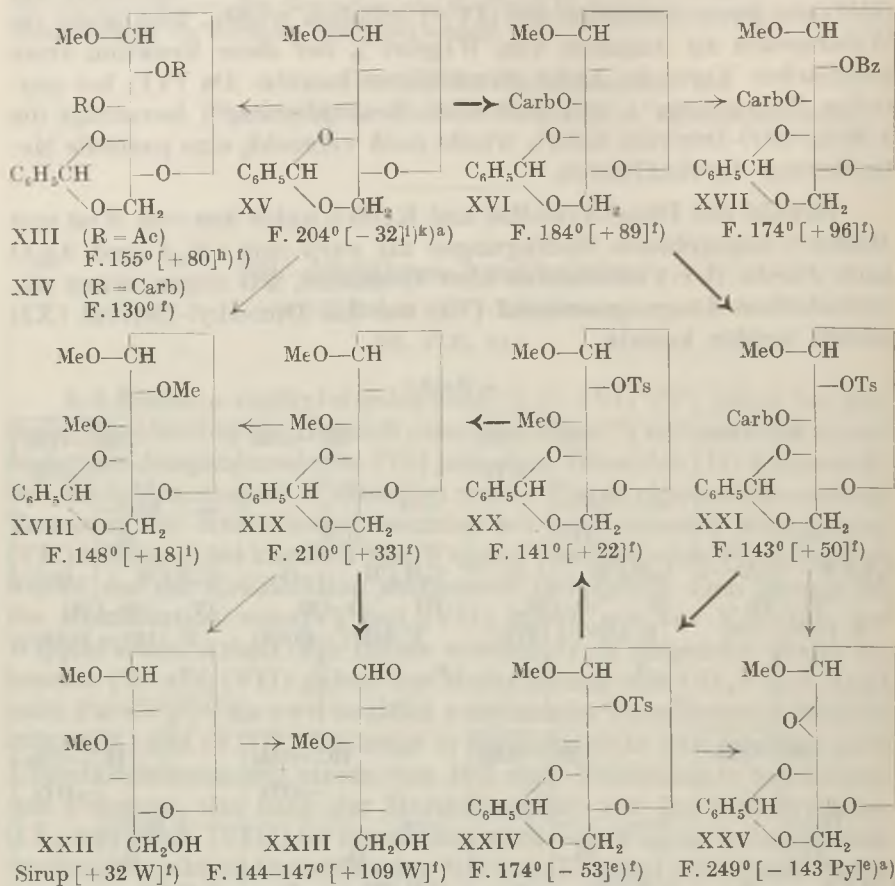
α-Reihe



¹⁾ W. N. Haworth, Soc. 107, 8 (1915).

²⁾ E. S. West, R. F. Holden, Am. Soc. 56, 930 (1940).

β-Reihe



Der präparative Weg ist durch fette Pfeile gekennzeichnet.

Abkürzungen: Ac = CH₃CO—; Bz = C₆H₅CO—; Me = CH₃—; Carb = C₂H₅OCO—; Ts = p—CH₃C₆H₄SO₂—. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: ohne Bezeichnung = Chloroform; Py = Pyridin; W = Wasser.

(XII) wäre an sich ein geeignetes Zwischenprodukt zur Gewinnung des gesuchten *d*-Galaktose-3-monomethyläthers (XXIII) gewe-

^{a)} E. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 1 (1945).

^{b)} M. Gyr, T. Reichstein, Helv. 28, 226 (1945).

^{c)} W. A. van Ekenstein, J. J. Blanksma, R. 25, 153 (1906).

^{d)} G. J. Robertson, R. A. Lamb, Soc. 1934, 1321.

^{e)} L. F. Wiggins, Soc. 1944, 522.

^{f)} Vgl. experimentellen Teil dieser Arbeit.

^{g)} D. J. Bell, S. Williamson, Soc. 1938, 1196.

^{h)} A. Müller, M. Moriez, G. Verner, B. 72, 745 (1939).

ⁱ⁾ J. W. H. Oldham, D. J. Bell, Am. Soc. 60, 323 (1938).

^{k)} J. S. D. Bacon, D. J. Bell, H. W. Kosterlitz, Soc. 1939, 1248.

sen, nur hätte noch die präparative Bereitung von (VII) (z. B. via IV oder einen analogen Ester) verbessert werden müssen, denn auch der von *Wiggins*^{e)} angegebene Weg ist wenig ergiebig. Da aber die partielle Acylierung von (VI) nicht ganz einheitlich verläuft und zudem die Detosylierung von (VIII) zu (XII) wegen der geringen Löslichkeit von (VIII) in Methanol unbequem ist, zogen wir es vor, die analogen Umsetzungen in der β -Reihe durchzuführen.

Die besten Resultate zur Gewinnung von (XIX) gab folgender Weg. 4,6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XV)^{1)k) a)} wurde partiell carbäthoxyliert und lieferte in guter Ausbeute das 3-Monocarbäthoxy-Derivat (XVI). Mit überschüssigem Chlorameisensäure-äthylester entstand das Dicarbäthoxy-Derivat (XIV). Die bei der Bereitung von (XVI) anfallenden Mutterlaugen enthalten zur Hauptsache (XV) und (XIV) und lassen sich durch Alkali leicht wieder zu (XV) verseifen, das für einen neuen Ansatz dienen kann. Tosylierung von (XVI) gab den 2-Tosyl-3-carbäthoxy-ester (XXI); analog entstand bei Benzoylierung der 2-Benzoyl-3-carbäthoxy-ester (XVII). Beim Erwärmen mit NaOCH₃ in CH₃OH, ja sogar schon bei längerem Kochen mit K₂CO₃ in wässrigem Methanol geht (XXI) fast quantitativ in 4,6-Benzal-2,3-anhydro- β -methyl-*d*-talosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XXV)^{a) e)} über. Bei umgekehrter Stellung der Estergruppen wäre die Bildung des entsprechenden 2,3-Anhydro-gulosid-Derivates^{a)} zu erwarten gewesen. Vorsichtige Verseifung von (XXI) mit K₂CO₃ in wässrigem Methanol bei Zimmertemperatur¹⁾ gab in fast quantitativer Ausbeute das 2-Monotosylat (XXIV), das kürzlich von *Wiggins*^{e)} auf anderem Wege bereitet wurde und in dem die Stellung der Tosylgruppe gesichert ist. Die Richtigkeit der Konstitution von (XXIV) folgt schon aus der Tatsache, dass es vom 3-Monotosylat^{a)}, dessen Konstitution bewiesen wurde^{a)}, deutlich verschieden ist (Drehung, Mischprobe), aber bei weiterer Tosylierung dasselbe Ditosylat (wie XIII jedoch R = Ts)^{2) a)} liefert wie dieses. Auch der folgende Verlauf der Methylierung ist für die Konstitution beweisend. Wie (XXI) geht auch (XXIV) mit NaOCH₃ oder Alkali leicht in (XXV)^{a) e)} über. Methylierung von (XXIV) mit CH₃J und Ag₂O gab den 4,6-Benzal-2-tosyl- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -methyläther-(3) (XX), der bei reduktiver Detosylierung in den 3-Monomethyläther (XIX) überging. Da (XX) zum Unterschied von (VIII) in Methanol leicht löslich ist, war diese Reaktion hier bequem durchführbar. (XIX) ist vom bekannten 2-Monomethyläther^{a) a)} deutlich verschieden und ging bei weiterer Methylierung in den ebenfalls bekannten Dimethyläther (XVIII)¹⁾ über, wodurch seine Konstitution gesichert ist.

Bei der Druckhydrierung mit *Raney*-Nickel in Methanol lieferte (XIX) β -Methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (XXII), der

¹⁾ J. von Euw, T. Reichstein, Helv. 21, 1181 (1938).

²⁾ J. S. D. Bacon, D. J. Bell, J. Lorber, Soc. 1940, 1147.

bisher nicht kristallisierte; daneben entstand etwas Hexahydrobenzal-Verbindung, die nicht untersucht wurde. Durch Hydrolyse von (XXII) oder einfacher von (XIX) mit verdünnter H_2SO_4 entstand der gesuchte *d*-Galaktose-3-methyläther (XXIII), der in Krystallen erhalten wurde. Der Zucker schmolz nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol-Aceton bei 144—147° und zeigte eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{24} = +150,6^\circ$ (nach 20 Minuten) $\rightarrow +108,6^\circ \pm 1^\circ$ (konst. nach 24 Std., $c = 2,165$ in Wasser). Nach der absteigenden Mutarotation lag zur Hauptsache die α -Form vor. Der aus (XXIII) bereitete *d*-Galaktosazon-3-methyläther gab bei der Analyse einen etwas zu tiefen C-Wert und schmolz je nach Erhitzungsgeschwindigkeit zwischen 178° und 200° unter Zersetzung. Genau gleich verhielt sich ein nach *Robertson* u. *Lamb*^{d)} bzw. *Oldham* u. *Bell*ⁱ⁾ aus *d*-Galaktose-dimethyläther-(2,3) gewonnenes Vergleichspräparat und ebenso die Mischprobe.

Da die partielle Veresterung von (XV) relativ leicht gelingt, wurde noch versucht, ausgehend vom Diacetat (XIII)^{h)} oder vom 2-Benzoat-3-carbäthoxy-ester (XVII) durch partielle Verseifung zum 2-Monoacetat oder 2-Monobenzoat von (XV) zu gelangen. Diese Versuche brachten jedoch keinen Erfolg, da ausser unverändertem Ausgangsmaterial in beiden Fällen lediglich das total verseifte Produkt (XV) erhalten wurde. Der für die präparative Bereitung von (XXIII) in der β -Reihe benützte Weg ist auf der Formelseite durch fette Pfeile gekennzeichnet.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze ca. $\pm 2^\circ$. Substanzproben für Analyse und Drehungen wurden, wo nichts anderes bemerkt, im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

α -Methyl-*d*-galaktosid-⟨1,5⟩¹⁾ und β -Methyl-*d*-galaktosid-⟨1,5⟩¹⁾.

210 g trockene *d*-Galaktose, Smp. 166—168° wie früher beschrieben^{a)} umgesetzt, gaben aus abs. Äthanol 131 g (= 58%) rohes Isomerengemisch, Smp. 82—84°. Die schwierige Fraktionierung gelang am besten, wenn durch Animpfen der übersättigten keimfreien Lösung in abs. Äthanol oder Methanol-Essigester zuerst die β -Form rasch abgeschieden und die Mutterlaugen vor erneutem Animpfen mit reiner β - oder α -Form gar nicht eingengt wurden. Erst wenn sich beim Stehen nichts mehr abschied, wurde eingengt und analog verfahren. Ausbeute 29 g β -Methyl-*d*-galaktosid-⟨1,5⟩, Smp. 179—180° sowie 76 g α -Methyl-*d*-galaktosid-⟨1,5⟩, Smp. 116—117°. Die Umsetzung beider Produkte mit Benzaldehyd wurde wie früher^{a)} vorgenommen. Das 4,6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid (XV) schmolz bei 204—205°.

2-Tosyl-4,6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid-⟨1,5⟩ (VII) neben (II) und (V) aus (VI).

10 g 4,6-Benzal- α -methyl-*d*-galaktosid (VI) (Smp. 176—178°) in 20 cm³ abs. Pyridin bei 0° tropfenweise mit 8,6 g (= 1,3 Mol) gereinigtem²⁾ *p*-Toluolsulfochlorid in

¹⁾ Literatur siehe bei *E. Sorokin*, *T. Reichstein*, *Helv.* **28**, 1 (1945).

²⁾ Technisches Produkt in viel Äther gelöst, mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 kurz getrocknet, eingedampft, aus Benzol umkrystallisiert, sofort im Vakuum getrocknet, im Exsikkator über $CaCl_2$ aufbewahrt.

10 cm³ abs. Pyridin versetzt, dann unter H₂O-Ausschluss 3 Tage bei 18° stehen gelassen. Mit 2 cm³ Eiswasser versetzt, 2 Stunden stehen gelassen, im Vakuum zum Sirup eingengt, in Chloroform-Äther aufgenommen, je dreimal mit 2-n. HCl, Na₂CO₃ und H₂O gewaschen und kurz über Na₂SO₄ getrocknet. Ausschütteln der Waschwässer mit Chloroform gab 0,9 g Ausgangsmaterial (VI). Aus der Chloroform-Ätherlösung kristallisierte bald 1,4 g rohes Ditosylat (II), nach Rekrystallisation aus Aceton-Methanol Smp. 176—178° (Mischprobe ebenso). Vereinigte Mutterlaugen im Vakuum eingedampft gaben 12,7 g Sirup. Aus Aceton-Methanol nochmals 2,1 g Ditosylat (II), Smp. 177—178°. Verbleibende Mutterlaugen (10,6 g) in abs. Benzol gelöst und über 300 g alkalifreies Al₂O₃¹⁾ nach der Durchlaufmethode chromatographiert, wobei 52 Fraktionen mit je 1 Liter Lösungsmittel abgefangen wurden. Die mit abs. Benzol sowie Benzol-Äther 99 : 1 eluierten Fraktionen 1—17 (1,63 g) gaben aus Aceton-Methanol 1,38 g Ditosylat (II). Die mit Benzol-Äther 98 : 2 sowie 96 : 4 eluierten Fraktionen 18—28 (1,84 g) enthielten hauptsächlich das 2-Monotosylat (VII) (vgl. weiter unten). Die ebenfalls mit Benzol-Äther 96 : 4 abgelösten Fraktionen 29 und 30 (0,48 g) waren Gemische. Die folgenden mit Benzol-Äther und reinem Äther gewonnenen Fraktionen 31—50 (6,17 g) gaben wie früher ^{a)} reines 3-Monotosylat (V), Smp. 177—178°. Die zwei letzten mit Äther-Methanol und Methanol abgelösten Fraktionen (0,40 g) bestanden zur Hauptsache aus Ausgangsmaterial (VI).

(VII) aus Aceton-Äther und Benzol-Äther, flache lanzettförmige Stäbchen, meist mit Doppelschmelzpunkt 137—138° unter Trübung und Wiedererstarren, dann 187—188°. $[\alpha]_D^{13} = +116,6 \pm 2^\circ$ ($c = 1,1835$ in CHCl₃).

29,821 mg Subst. zu 2,5197 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +1,38^\circ \pm 0,02^\circ$

3,826 mg Subst. gaben 8,076 mg CO₂ und 1,952 mg H₂O

5,244 mg Subst. verbr. 2,321 cm³ 0,01-n. KOH (S-Best. nach Pregl)

C₂₁H₂₄O₈S (436,46) Ber. C 57,78 H 5,54 S 7,35%

Gef. „ 57,60 „ 5,67 „ 7,10%

Die Mischprobe mit (V) schmolz bei 150—160°. Wiggins^{e)} fand für sein Präparat Smp. 179—180° (unkorr.), $[\alpha]_D^{18} = +117,8^\circ$ ($c = 0,9$ in CHCl₃).

2-Tosyl-3-benzoyl-4,6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉 (IV) aus (VII).

50 mg 2-Tosyl-4,6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉 (VII) vom Smp. 137°/187° in 2 cm³ abs. Pyridin mit 30 mg Benzoylchlorid versetzt und 3 Std. bei 18° stehen gelassen. Nach Zusatz von 1 cm³ Methanol wurde noch ½ Std. stehen gelassen, im Vakuum eingedampft, mit Chloroform aufgenommen, neutral gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Rückstand (65 mg) gab aus Methanol 45 mg farblose Stäbchen, Smp. 111—112°. Mischprobe mit früher vorbereitetem Präparat ^{b)} ebenso.

2,3-Ditosyl-4,6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉 (II) aus (V) und aus (VII).

50 mg 3-Tosyl-4,6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉 (V) vom Smp. 177—178° in 2 cm³ absolutem Pyridin mit 45 mg reinem *p*-Toluolsulfochlorid versetzt und 3 Tage bei 30° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung^{a)} und Umkrystallisieren aus Chloroform-Methanol gab 55 mg farblose Würfel, Smp. 180—181°. Mischprobe mit früher beschriebenem Präparat^{a)} ebenso.

Gleiche Tosylierung von 40 mg (VII) vom Smp. 137°/187° gab 45 mg Ditosylat (II), Smp. 181°, Mischprobe 179—180°.

3-Tosyl-4,6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉-methyläther-(2) (IX) aus (V).

1 g 3-Tosyl-4,6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉 (V) vom Smp. 175—177° mit 0,6 g Ag₂O²⁾ und 25 g CH₃J 5 Stunden unter Rückfluss gekocht. CH₃J abdestilliert, Rück-

¹⁾ Vgl. J. von Euw, A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 1287 (1944), s. S. 1292, Fussnote 2.

²⁾ Im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.

stand in Chloroform^e gelöst, filtriert und eingedampft. Rückstand (0,96 g) gab aus Aceton-Äther 0,92 g Nadeln, Smp. 145°. *Bell* und *Williamson* ^e) fanden 145°.

4, 6-Benzal- α -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ -methyläther-(2) (X) aus (IX).

2,13 g 3-Tosyl-4, 6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ -methyläther-(2) (IX) in 40 cm³ 80-proz. Methanol gelöst, mit 13 g frisch bereitetem 4-proz. Na-Amalgam 15 Std. bei 18° geschüttelt. Von Hg abdekantierte Lösung mit CO₂ neutralisiert. Von Na₂CO₃ abfiltriert, Filtrat eingedampft, Rückstand in Chloroform aufgenommen, mit wenig H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, eingedampft. Rückstand (1,41 g) gab aus Aceton-Äther 1,23 g (= 88%) farblose Nadeln. Smp. 152°. *Bell* und *Williamson* ^e) fanden Smp. 152°.

2, 3-Anhydro-4, 6-benzal- α -methyl-*d*-talosid- $\langle 1, 5 \rangle$ (III) aus (VII).

0,1 g 2-Tosyl-4, 6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ (VII) wurden mit 3 cm³ 0,9-n. NaOCH₃-Lösung in Methanol 15 Minuten unter Rückfluss gekocht. Nach Erkalten mit wenig Wasser versetzt, abgeschiedene Nadeln abgenutzt, mit H₂O gewaschen, getrocknet. 55 mg (= 92%), Smp. 240–242°, Mischprobe mit früher beschriebenem Präparat ^a) ebenso.

2-Tosyl-4, 6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ -methyläther-(3) (VIII).

2 g 2-Tosyl-4, 6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ (VII) mit 50 g CH₃J und 3 g Ag₂O (über P₂O₅ getrocknet) 4 Stunden unter Rückfluss gekocht. CH₃J abdestilliert, Rückstand mit Chloroform ausgekocht, filtrierte Lösung eingedampft. Aus Chloroform-Äther 2,03 g (= 98%) farblose Prismen, Smp. 187–188°, $[\alpha]_D^{13} = +168,0^0 \pm 2^0$ ($c = 1,5769$ in CHCl₃).

15,800 mg Subst. zu 1,0020 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +2,65^0 \pm 0,02^0$

3,670 mg Subst. gaben 7,805 mg CO₂ und 1,874 mg H₂O

4,338 mg Subst. verbr. 1,999 cm³ 0,01-n. KOH (S-Best. nach *Pregl*)

6,081 mg Subst. verbr. 8,074 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (*Zeisel-Vieböck*)

C₂₂H₂₆O₈S (450,49) Ber. C 58,65 H 5,82 S 7,12 —OCH₃ 13,78%

Gef. „ 58,04 „ 5,71 „ 7,39 „ 13,73%

Wiggins ^e) fand für dieselbe Substanz Smp. 185°, $[\alpha]_D^{18} = +164,4^0$ ($c = 1,435$ in CHCl₃).

4, 6-Benzal- α -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (XII).

1,99 g 2-Tosyl-4, 6-benzal- α -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ -methyläther-(3) (VIII) wurden in 90 cm³ 80-proz. Methanol heiss gelöst, rasch abgekühlt (Hauptmenge fällt aus), mit 38 g gepulvertem frisch bereitetem 4-proz. Na-Amalgam versetzt und 3 Tage bei 18° geschüttelt. Filtration der abdekantierten Lösung gab 1,5 g unverändertes Ausgangsmaterial. Filtrat wie bei (X) verarbeitet lieferte aus Chloroform-Äther 235 mg (= 18% auf umgesetztes Material berechnet) Nadeln, Smp. 174–175°, $[\alpha]_D^{13} = +188,6^0 \pm 2^0$ ($c = 0,9015$ in CHCl₃).

9,033 mg Subst. zu 1,0020 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +1,70^0 \pm 0,02^0$

3,716 mg Subst. gaben 8,274 mg CO₂ und 2,260 mg H₂O

3,258 mg Subst. verbr. 6,454 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃¹⁾

C₁₅H₂₀O₈ (296,31) Ber. C 60,79 H 6,80 —OCH₃ 20,94%

Gef. „ 60,76 „ 6,81 „ 20,50%

Die Mischprobe von (XII) mit (VI) schmolz bei 140–150°. Bei einem weiteren Versuch wurde (VIII) in Benzol gelöst und in die turbinierte heisse Suspension von Na-Amalgam in 80-proz. Methanol eingetrofft. Die Ausbeute war nur wenig besser.

¹⁾ Der richtige Methoxylwert wurde erst erhalten, als bei der Methoxylbestimmung der HJ wie bei der Methylimidbestimmung nach *Herzig-Meyer* (B. 27, 319 (1894)) abdestilliert wurde.

4,6-Benzal- α -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -dimethyläther-(2,3)
(XI) aus (XII).

50 mg 4,6-Benzal- α -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (XII) wurden wie bei (VIII) beschrieben methyliert. Aus Äther 45 mg farblose Prismen, Smp. 128—129°. Dasselbe Produkt (Mischprobe) wurde aus (VI) sowie aus (X) in gleicher Weise erhalten. Robertson und Lamb^d) fanden Smp. 123—124°.

Versuche zur partiellen Methylierung von 4,6-Benzal- α -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VI).

a) Mit Dimethylsulfat¹⁾. 1 g 4,6-Benzal- α -methyl-*d*-galaktosid (VI) vom Smp. 176—178° in 100 cm³ CCl₄ heiss gelöst, mit 7,5 cm³ 30-proz. KOH versetzt, unter Turbinieren bei 80° 2 g (= 4 Mol) Dimethylsulfat zuge tropft und bei 80° noch 3 Stunden weitergerührt. CCl₄ abgetrennt. Wässrige Schicht mit H₂SO₄ neutralisiert, im Vakuum eingedampft, Rückstand mit CHCl₃ ausgekocht. CHCl₃-Auszug hinterliess 0,2 g Rückstand, aus CCl₄-Lösung wurden 0,22 g gewonnen. Beide zusammen (0,42 g) über 13 g Al₂O₃ chromatographisch getrennt. Die mit Benzol-Äther (9:1) eluierten Anteile (75 mg) gaben Krystalle vom Smp. 116—124°, nach Mischprobe identisch mit Dimethyl-Derivat (XI). Von den späteren Fraktionen gaben erst die mit Äther-Methanol (1—20% CH₃OH) abgelösten wägbare Rückstände (total 345 mg). Alle schmolzen bei 176—178° und waren Ausgangsmaterial (VI).

b) Mit CH₃J und Ag₂O. 1 g (VI) in 10 cm³ trockenem Aceton gelöst, mit 250 mg Ag₂O versetzt, unter Rückfluss gekocht, 2 g (= 4 Mol) CH₃J zuge tropft und weiter (total 4 Std.) gekocht. Übliche Aufarbeitung gab 1,1 g Rohprodukt. Aus Aceton-Äther nur Krystallgemische, Smp. 145—160°. Zur Trennung wurden 970 mg Rohprodukt über 30 g Al₂O₃ chromatographiert. Gaben wie bei a) 400 mg rohe Dimethylverbindung, Smp. aus Aceton-Äther 128—129°, Mischprobe ebenso, sowie 415 mg Ausgangsmaterial (VI), Smp. 172—174° (Mischprobe). (XII) konnte nicht isoliert werden.

4,6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -diacetat-(2,3) (XIII).

2 g 4,6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XV) vom Smp. 204° mit 30 cm³ abs. Pyridin und 15 cm³ Acetanhydrid 1 Stunde auf 100° erhitzt. Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform, Neutralwaschen, Trocknen über Na₂SO₄, Eindampfen und Umkrystallisieren aus Benzol-Äther-Petroläther gab 1,96 g Nadeln, Smp. 154—155°, $[\alpha]_D^{13} = +79,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,7490$ in CHCl₃).

44,070 mg Subst. zu 2,5197 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +1,39^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,764 mg Subst. gaben 8,137 mg CO₂ und 2,025 mg H₂O

C₁₈H₂₂O₈ (366,36) Ber. C 59,01 H 6,05%

Gef. „ 59,00 „ 6,02%

Müller und Mitarbeiter^h) fanden Smp. 155°, $[\alpha]_D^{25} = +75,2^{\circ}$ ($c = 1,994$ in CHCl₃).

Versuche zur partiellen Verseifung von (XIII).

a) Mit K₂CO₃. 0,2 g Diacetat (XIII) in 8 cm³ Methanol mit 0,12 g K₂CO₃ in 1,2 cm³ H₂O vermischt und 1 Stunde bei 15° stehen gelassen. Eindampfen im Vakuum, Ausziehen mit Chloroform, Krystallisation aus Methanol-Äther gab reines (XV), Smp. 204°. Ausbeute fast quantitativ.

b) Mit KHCO₃. 16 Stunden. 0,2 g Diacetat (XIII) in 10 cm³ Methanol mit kalt bereiteter Lösung von 0,1 g KHCO₃ in 2 cm³ Wasser vermischt und 16 Stunden bei 12° geschüttelt. Aufarbeitung gab Rohprodukt vom Smp. 186—205°, fast ausschliesslich aus (XV) bestehend.

¹⁾ Bedingungen vgl. E. S. West, R. F. Holden, Am. Soc. 56, 930 (1934).

c) Mit KHCO_3 , 3 Std. Ansatz wie bei b), nur 3 Std. geschüttelt. Aufarbeitung gab 175 mg Sirup, daraus direkt nur wenig Krystalle, Smp. $160\text{--}180^\circ$ isolierbar. Ganze Menge wurde über 6 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol und Benzol-Äther (bis 20% Äther) eluierten Anteile (83 mg) gaben Nadeln, Smp. $154\text{--}155^\circ$, Mischprobe mit (XIII) ebenso. Weitere Benzol-Äther-Mischungen sowie reiner Äther eluierten nichts. Mit Äther-Methanol wurden 92 mg Material isoliert, Smp. 204° , Mischprobe mit (XV) ebenso. Ein Monoacetat wurde nicht erhalten.

3-Carbäthoxy-4, 6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ (XVI).

17,25 g 4, 6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ (XV) vom Smp. $204\text{--}205^\circ$ in 90 cm^3 abs. alkoholfreiem Chloroform und 26 cm^3 abs. Pyridin bei 0° unter Schütteln tropfenweise mit 13,2 g (= 2 Mol) Chlorameisensäure-äthylester versetzt. Dann sofort etwas Eiswasser zugegeben, bei 0° dreimal mit 2-n. HCl, einmal mit 2-n. Na_2CO_3 und dreimal mit wenig Eiswasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Krystallisation aus Methanol-Äther, dann aus Benzol und Aceton-Äther gab 14 g (= 65%) farblose Nadeln, Smp. $184\text{--}185^\circ$, $[\alpha]_D^{12} = +89,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0743$ in CHCl_3).

27,070 mg Subst. zu $2,5197\text{ cm}^3$; $l = 1\text{ dm}$; $\alpha_D^{12} = +0,96^\circ \pm 0,02^\circ$

3,699 mg Subst. gaben 7,805 mg CO_2 und 2,072 mg H_2O

$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_8$ (354,35) Ber. C 57,62 H 6,26%

Gef. „ 57,58 „ 6,27%

Die Mutterlaugen der Krystalle in Methanol mit 10-proz. wässrigem K_2CO_3 bei Zimmertemperatur (vgl. unten) verseift oder kurz gekocht gaben wieder sofort reines (XV), das für einen neuen Ansatz benützt wurde.

2, 3-Dicarbäthoxy-4, 6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ (XIV).

a) Aus XV. 0,2 g 4, 6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ (XV) vom Smp. $204\text{--}205^\circ$ in 3 cm^3 abs. Pyridin mit 1,2 g Chlorameisensäure-äthylester in 3 cm^3 alkoholfreiem Chloroform 1 Stunde auf 50° erwärmt. Aufarbeitung wie bei (XVI) und Krystallisation aus Benzol-Äther gab 0,26 g (= 86%) Prismen, Smp. $130\text{--}131^\circ$, $[\alpha]_D^{19} = +74,0^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,7284$ in CHCl_3).

68,748 mg Subst. zu $2,5197\text{ cm}^3$; $l = 1\text{ dm}$; $\alpha_D^{19} = +2,02^\circ \pm 0,02^\circ$

3,740 mg Subst. gaben 7,714 mg CO_2 und 2,049 mg H_2O

$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$ (426,41) Ber. C 56,33 H 6,15%

Gef. „ 56,29 „ 6,13%

b) Aus XVI. 0,2 g 3-Carbäthoxy-4, 6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ (XVI) vom Smp. 184° wie bei a) behandelt gaben 225 mg (= 94%) Prismen, Smp. $130\text{--}131^\circ$, Mischprobe mit Präparat nach a) ebenso.

2-Benzoyl-3-carbäthoxy-4, 6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ (XVII).

0,99 g 3-Carbäthoxy-4, 6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ (XVI) vom Smp. 184° in 2 cm^3 abs. Pyridin mit 2 g frisch dest. Benzoylchlorid in 2 cm^3 alkoholfreiem Chloroform 17 Std. bei 30° stehen gelassen. Rote Lösung mit 2 cm^3 Alkohol versetzt, nach 10 Minuten im Vakuum eingengt, in Chloroform aufgenommen, mit HCl, Na_2CO_3 und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, eingedampft. Krystallisation aus Benzol-Äther-Petroläther, dann aus Aceton-Äther gab 1,14 g (= 90%) hexagonal begrenzte Säulen, Smp. 174° , $[\alpha]_D^{13} = +95,8^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,8892$ in CHCl_3).

47,352 mg Subst. zu $2,5197\text{ cm}^3$; $l = 1\text{ dm}$; $\alpha_D^{13} = +1,80^\circ \pm 0,02^\circ$

3,710 mg Subst. gaben 8,538 mg CO_2 und 1,884 mg H_2O

$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_9$ (458,45) Ber. C 62,87 H 5,72%

Gef. „ 62,80 „ 5,68%

Versuch zur partiellen Verseifung von (XVII).

a) Mit K_2CO_3 . 150 mg 2-Benzoyl-3-carbäthoxy-4,6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XVII) vom Smp. 174° in 7 cm^3 Methanol mit Lösung von 90 mg K_2CO_3 in $0,9\text{ cm}^3$ Wasser versetzt und 14 Std. bei 12° geschüttelt. Aufarbeitung gab 90 mg Nadeln, Smp. $203\text{—}205^\circ$, Mischprobe mit (XV) ebenso.

b) Mit $KHCO_3$. 200 mg (XVII) in 20 cm^3 Methanol mit Lösung von 80 mg $KHCO_3$ in 2 cm^3 H_2O vermischt und 22 Std. bei 12° stehen gelassen. Aufarbeitung gab nur Ausgangsmaterial (XVII).

2-Tosyl-3-carbäthoxy-4,6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XXI).

15,71 g 3-Carbäthoxy-4,6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XVI) in 30 cm^3 abs. Pyridin mit 21 g (= 2,5 Mol) reinem *p*-Toluolsulfochlorid in 45 cm^3 alkoholfreiem Chloroform versetzt und 3 Tage bei 30° stehen gelassen. Nach Zusatz von 3 cm^3 Wasser wurde noch 2 Stunden bei 18° stehen gelassen, mit Chloroform verdünnt, mit 2-n. HCl, 2-n. Na_2CO_3 und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Umkrystallisieren aus Methanol-Äther gab 22,27 g (= 98%) farblose Nadeln, Smp. $143\text{—}144^\circ$. Teilweise Doppelschmelzpunkt, zunächst unter Trübung Verflüssigung bei $88\text{—}96^\circ$ und bei langsamem Wärmen Wiedererstarren, definitiver Smp. $143\text{—}144^\circ$. $[\alpha]_D^{15} = +50,3^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,8887$ in $CHCl_3$).

47,588 mg Subst. zu $2,5197\text{ cm}^3$; $l = 1\text{ dm}$; $\alpha_D^{15} = +0,95^\circ \pm 0,02^\circ$

3,700 mg Subst. gaben 7,685 mg CO_2 und 1,850 mg H_2O

8,894 mg Subst. verbr. $3,49\text{ cm}^3$ 0,01-n. KOH (S-Best. nach Pregl)

$C_{24}H_{28}O_{10}S$ (508,53) Ber. C 56,68 H 5,55 S 6,30%

Gef. „ 56,68 „ 5,60 „ 6,29%

2,3-Anhydro-4,6-benzal- β -methyl-*d*-talosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XXV) aus (XXI).

50 mg 2-Tosyl-3-carbäthoxy-4,6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XXI) vom Smp. 143° mit $1,5\text{ cm}^3$ 0,9-n. $NaOCH_3$ -Lösung in Methanol 15 Minuten unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von Wasser Nadeln abgenutscht, mit Wasser, Methanol und Äther gewaschen, 23 mg (= 88%), Smp. $248\text{—}249^\circ$. Mischprobe mit früher bereitetem Präparat^{a)} ebenso. Wiggins^{e)} fand Smp. 242° (unkorr.).

2-Tosyl-4,6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XXIV) aus (XXI).

9,39 g 2-Tosyl-3-carbäthoxy-4,6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid (XXI) vom Smp. 143° in 200 cm^3 Methanol warm gelöst, auf 18° abgekühlt, mit Lösung von 5,85 g K_2CO_3 in 58 cm^3 Wasser und 200 cm^3 Methanol versetzt. Nach kurzer Zeit begann Abscheidung von (XXIV) in Nadeln. 16 Std. bei 0° stehen gelassen. Krystalle abgenutscht, mit H_2O und Methanol gewaschen. Filtrat im Vakuum bei 20° zum dünnen Sirup eingeeengt, mit Chloroform ausgeschüttelt. Mit wenig H_2O gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknete Lösung eingedampft. Rückstand plus direkt erhaltene Krystalle gaben aus Benzol-Äther 7,07 g (= 88%) farblose Nadeln, Smp. $171\text{—}173^\circ$. Zur Analyse nochmals aus Methanol-Äther und Benzol-Äther umkrystallisiert. Smp. 174° , $[\alpha]_D^{20} = -52,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2692$ in $CHCl_3$).

31,981 mg Subst. zu $2,5197\text{ cm}^3$; $l = 1\text{ dm}$; $\alpha_D^{20} = -0,67^\circ \pm 0,02^\circ$

3,692 mg Subst. gaben 7,816 mg CO_2 und 1,811 mg H_2O

12,108 mg Subst. verbr. $5,43\text{ cm}^3$ 0,01-n. KOH (S-Best. nach Pregl)

$C_{21}H_{24}O_8S$ (436,46) Ber. C 57,78 H 5,54 S 7,35%

Gef. „ 57,78 „ 5,49 „ 7,19%

Wiggins^{e)} fand für sein auf anderem Wege bereitetes Präparat: Smp. $164\text{—}165^\circ$ (unkorr.); $[\alpha]_D^{17} = -52,8^\circ$ ($c = 2,388$ in $CHCl_3$). Wird der Verseifungsansatz höher erwärmt oder gekocht, so entsteht in ausgezeichneter Ausbeute 2,3-Anhydro-4,6-benzal- β -methyl-*d*-talosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XXV), Smp. 248° , Mischprobe ebenso.

2-Tosyl-4,6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -methyläther-(3) (XX).

7 g 2-Tosyl-4,6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XXIV) vom Smp. 174° mit 50 g CH₃J und 4 g im Vakuum über P₂O₅ getrocknetem Ag₂O 6 Std. unter Rückfluss gekocht. Abdestillieren des CH₃J, Auskochen des Rückstandes mit Chloroform, Eindampfen gab 7,03 g (= 97%) rohes (XX). Aus Aceton-Äther 5,94 g Prismen, Smp. 141—142°, $[\alpha]_D^{15} = +22,4^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ ($c = 4,1159$ in CHCl₃).

41,242 mg Subst. zu 1,0020 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +0,92^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,844 mg Subst. gaben 8,248 mg CO₂ und 2,028 mg H₂O

C₂₂H₂₆O₈S (450,49) Ber. C 58,65 H 5,82%

Gef. „ 58,55 „ 5,90%

4,6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -methyläther-(3) (XIX).

5,03 g 2-Tosyl-4,6-benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -methyläther-(3) (XX) vom Smp. 141° in 150 cm³ 90-proz. Methanol warm gelöst, rasch abgekühlt, mit 50 g 4-proz. Na-Amalgam versetzt und 24 Stunden bei 18° geschüttelt, während von Zeit zu Zeit total 15 cm³ Wasser zugegeben wurden. Aufarbeitung wie bei (X) aus (IX) gab 3 g Rohprodukt. Aus Methanol-Äther 2,8 g (= 85%) Nadeln, Smp. 210°; $[\alpha]_D^{15} = +33,0^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,0295$ in CHCl₃).

25,941 mg Subst. zu 2,5197 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,34^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 60° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,665 mg Subst. gaben 8,149 mg CO₂ und 2,239 mg H₂O

3,739 mg Subst. verbr. 7,643 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck)

C₁₅H₂₀O₆ (296,31) Ber. C 60,79 H 6,80 —OCH₃ 20,94%

Gef. „ 60,68 „ 6,84 „ 21,14%

Zur Erzielung einer guten Ausbeute muss in möglichst konzentrierter Lösung mit ganz frisch bereitetem und gepulvertem Na-Amalgam gearbeitet werden.

4,6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -dimethyläther-(2,3) (XVIII) aus (XIX).

0,22 g 4,6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (XIX) vom Smp. 210° wie bei (XX) beschrieben methyliert. Rohprodukt zur Reinigung chromatographiert. Aus Äther 0,2 g farblose Nadeln, Smp. 148—149°.

Aus 4,6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XV) vom Smp. 204° analog bereitetes Vergleichspräparat¹⁾ schmolz ebenfalls bei 148°, Mischprobe ebenso. Oldham und Bell²⁾ fanden auch 148°. Dasselbe Produkt (XVIII) (Mischprobe) wurde auch bei analoger Methylierung von 4,6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(2)³⁾ erhalten.

β -Methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -methyläther-(3) (XXII).

1,5 g 4,6-Benzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) (XIX) vom Smp. 210° wurden im Rotierautoklaven mit dem aus 1 g Ni-Al-Legierung¹⁾ bereiteten Raney-Nickel²⁾ in 10 cm³ Methanol 20 Std. bei 80° und 150 Atm. hydriert. Filtration und Eindampfen des Filtrates gaben 1,19 g (ber. 1,06 g) Rückstand. Dieser mit 8 cm³ Wasser versetzt und sechsmal mit Chloroform ausgeschüttelt. Abdampfen des Chloroforms gab 360 mg rohen 4,6-Hexahydrobenzal- β -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -monomethyläther-(3) als farblose Krystallmasse, die nicht weiter untersucht wurde. Durch Eindampfen der

¹⁾ Wir danken Herrn M. Raney, Chattanooga (USA) für dieses Material.

²⁾ Am. Pat. 1 627 190.

³⁾ L. W. Covert, H. Adkins, Am. Soc. 54, 4116 (1932).

wässrigen Phase im Vakuum 830 mg (= 79%) hygroskopischer, farbloser Sirup. $[\alpha]_D^{17} = +31,9^0 \pm 0,5^0$ ($c = 5,0171$ in Wasser).

50,271 mg Subst. zu 1,0020 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +1,60^0 \pm 0,02^0$

Zur Analyse wurde 30 Min. im Hochvakuum bei 70°, dann 72 Std. bei 18° über P₂O₅ getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,912 mg Subst. gaben 6,659 mg CO₂ und 2,758 mg H₂O

3,310 mg Subst. verbr. 9,146 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck)

C₈H₁₆O₆ (208,21) Ber. C 46,15 H 7,75 —OCH₃ 29,82%
Gef. „ 46,45 „ 7,89 „ 28,57%

d-Galaktose-monomethyläther-(3) (XXIII).

1,57 g 4,6-Benzal-β-methyl-*d*-galaktosid-⟨1,5⟩-monomethyläther-(3) (XIX) vom Smp. 210° in 45 cm³ Aceton heiss gelöst, mit 15 cm³ 2-proz. H₂SO₄ versetzt und eine Stunde unter Rückfluss erhitzt¹⁾. Dann Aceton abgedampft und den abgespaltenen Benzaldehyd durch zweimaligen Zusatz von je 5 cm³ Wasser und nachfolgendes entsprechendes Einengen im Vakuum vertrieben. Anschliessend die Lösung noch bis zur konstanten Drehung (8 Std.) auf siedendem Wasserbad erhitzt. Saure Lösung dreimal mit Äther ausgeschüttelt, im Vakuum von Ätherresten befreit, mit BaCO₃ heiss neutralisiert, durch ein mit BaCO₃ gedichtetes Filter genutscht, Filtrat im Vakuum eingedampft. Rückstand in wenig Methanol gelöst, mit abs. Alkohol versetzt, leicht trübe Lösung filtriert, Filtrat im Vakuum eingedampft. 1,06 g leicht gelblicher Sirup, gab nach 4 Wochen über CaCl₂ ersten Krystallkeim. Aus sehr wenig Methanol nach Impfen rasche Krystallisation. Mit Alkohol-Aceton gewaschen 580 mg Rohkrystalle, Smp. 124—128°. Zweimaliges Umkrystallisieren aus Äthanol-Aceton gab farblose Krystalle, Smp. 144—147°, $[\alpha]_D^{23} = +150,6^0 \pm 1^0$ (nach 20 Minuten) bzw. $+108,6^0 \pm 1^0$ ($c = 2,1650$ in Wasser, nach 24 Std. konstant).

54,553 mg Subst. zu 2,5197 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +3,26^0 \pm 0,02^0$ (nach 20')
bzw. $+2,35^0 \pm 0,02^0$ (nach 24 Std.).

Zur Analyse wurde 6 Std. im Hochvakuum bei 80° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,706 mg Subst. gaben 5,851 mg CO₂ und 2,389 mg H₂O

2,094 mg Subst. verbr. 3,694 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck)

C₇H₁₄O₆ (194,18) Ber. C 43,29 H 7,27 —OCH₃ 15,98%
Gef. „ 43,09 H 7,21 „ 18,24%

Der Zucker schmeckt leicht süss und reduziert *Fehling's*che Lösung beim Erhitzen stark. Die reinen Krystalle sind an der Luft nicht zerfliesslich.

d-Galaktosazon-monomethyläther-(3) aus (XXIII).

100 mg *d*-Galaktose-monomethyläther-(3) (XXIII) vom Smp. 144—147° in 2 cm³ Wasser, 220 mg Phenylhydrazin und 3 Tropfen Eisessig wurden 1 Stunde auf 100° erhitzt. Nach Erkalten die ausgeschiedenen Krystalle abgenutscht, mit 1-proz. Essigsäure und wenig Äther gewaschen, aus viel Äther durch Einengen umkrystallisiert. Erhalten 80 mg (= 42%) reines Produkt, Smp. bei langsamem Erhitzen 178—184° unter leichter Zersetzung, bei raschem Erhitzen ca. 200°. $[\alpha]_D^{22} = +17,2^0 \pm 3^0$ ($c = 0,8718$ in Alkohol).

8,736 mg Subst. zu 1,0020 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{12} = +0,15^0 \pm 0,02^0$

3,828 mg Subst. gaben 8,469 mg CO₂ und 2,282 mg H₂O

3,219 mg Subst. gaben 0,430 cm³ N₂ (17°; 716 mm)

4,207 mg Subst. verbr. 3,466 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck)

C₁₅H₂₄O₄N₄ (372,41) Ber. C 61,27 H 6,50 N 15,04 —OCH₃ 8,33%
Gef. „ 60,38 „ 6,67 „ 14,81 „ 8,52%

¹⁾ Bedingungen vgl. *G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193.* — *G. J. Robertson, W. Whitehead, Soc. 1940, 319.*

Eine Wiederholung der CH-Bestimmung gab fast denselben C-Wert. Ein aus *d*-Galaktose-dimethyläther-(2,3) bereitetes Vergleichspräparat^{d)} zeigte bei gleicher Erhitzungsgeschwindigkeit denselben Smp., ebenso die Mischprobe.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

150. Über Lactaroviolin, einen Farbstoff aus *Lactarius deliciosus*

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

(25. VIII. 45.)

Aus dem Pilz „echter Reizker“ (*Lactarius deliciosus* L.) hat *H. Willstaedt* vor etwa 10 Jahren¹⁾ verschiedene Farbstoffe isoliert, das rotviolette Lactaroviolin $C_{15}H_{14}O$, das blaue Lactarazulen $C_{15}H_{18}$ und das grüne Verdazulen $C_{15}H_{16}$.

Das Lactaroviolin ist eine ausgezeichnete krystallisierte Verbindung, deren Sauerstoff als Carbonyl-Sauerstoff vorliegt. Dies ergibt sich aus der Bildung eines 2,4-Dinitrophenyl-hydrazons¹⁾. Die Frage, ob es sich um eine Aldehyd- oder um eine Ketogruppe handelt, war noch nicht klar entschieden. Denn einerseits bildet Lactaroviolin mit *Girard*-Reagens P ein wasserlösliches Kondensationsprodukt, welches durch Säure leicht in die Komponenten zersetzt wird¹⁾; dieses Verhalten ist nach *Girard*²⁾ für Ketone charakteristisch, während Aldehyde im allgemeinen aus ihren Umsetzungsprodukten mit dem Reagens nicht wieder regeneriert werden können. Andererseits hat *Willstaedt* festgestellt, dass Lactaroviolin mit 1,3-Dimethyl-barbitursäure ein krystallisiertes Kondensationsprodukt $C_{21}H_{20}O_3N_2$ liefert, was nach *Akabori*³⁾ nur Aldehyde tun. Auch reagiert der Farbstoff mit Brenztraubensäure und β -Naphthylamin unter Bildung einer α -Alkyl- β -naphthocinchoninsäure¹⁾, welches Verhalten als charakteristisch für Aldehyde gilt⁴⁾.

Aus dem gleichzeitigen Vorkommen von 2 Azulenen (Lactarazulen und Verdazulen) im Pilz *Lactarius deliciosus* und der Ähnlichkeit der Bruttoformeln des Lactaroviolins $C_{15}H_{14}O$, Lactarazulens $C_{15}H_{18}$ und Verdazulens $C_{15}H_{16}$ schloss *Willstaedt*, dass im Lactaroviolin ein Azulenderivat vorliegen könnte, obwohl es nur gelungen

¹⁾ B. 68, 333 (1935); 69, 997 (1936); Atti X. Congr. int. Chim. Roma 3, 390—97; C. 1939, II, 4487.

²⁾ Helv. 19, 1095 (1936).

³⁾ B. 66, 139 (1933).

⁴⁾ *Doebner*, B. 27, 352, 2020 (1894). Weitere Literatur *H. Meyer*, Analyse u. Konstitutionsermittlung org. Verbindungen, und *Willstaedt*; Erg. d. Physiologie 35, 153 (1933).

war, 70,8% der für eine Doppelbindung berechneten Wasserstoffmenge bei der katalytischen Hydrierung an den Farbstoff anzulagern, während die Azulene 5 Äthylendoppelbindungen enthalten.

Zur weiteren Aufklärung dieser Sachlage wurden die folgenden Versuche ausgeführt.

Bei der katalytischen Hydrierung des Lactaroviolsins mit Platin-oxyd in Eisessig wurden pro Mol Farbstoff 6,5 Mol H_2 aufgenommen. Das Hydrierungsprodukt war indessen nicht einheitlich. Es bestand aus einem Alkohol $C_{15}H_{27}OH$, der sich offenbar durch normale Reduktion des Lactaroviolsins gebildet hatte, und einem Kohlenwasserstoff $C_{15}H_{28}$, der seine Entstehung der reduktiven Eliminierung des Lactaroviolsin-Sauerstoffs verdankt. An Carbonylverbindungen, deren Carbonylgruppe in Konjugation mit Äthylendoppelbindungen steht, wird die reduktive Entfernung des Sauerstoffs unter den Bedingungen der katalytischen Hydrierung öfters beobachtet.

Der Alkohol $C_{15}H_{27}OH$ bildet mit Tritylchlorid einen Trityläther, der zur Trennung von dem Kohlenwasserstoff $C_{15}H_{28}$ diente und der mit grösster Wahrscheinlichkeit diesen Alkohol als einen primären charakterisiert; denn sekundäre alkoholische Hydroxyle treten nur in äusserst seltenen Fällen mit Tritylchlorid in Umsatz.

Durch diesen Versuch ist die Aldehyd-Natur des Lactaroviolsins sichergestellt.

Um in das dem Farbstoff zugrunde liegende Kohlenstoffgerüst genaueren Einblick zu gewinnen, haben wir ihn in das Semicarbazon übergeführt und dieses nach *Wolff-Kishner* mit Natriumäthylat bei 115—120° reduziert. Dabei erhielt man in einer Ausbeute von ca. 15% ein blaues, flüssiges, mit Wasserdämpfen leicht flüchtiges Azulen der Formel $C_{15}H_{18}$, welches nach seinem spektralen Verhalten und Schmelzpunkt des Trinitro-benzolates mit Lactarazulen vielleicht identisch ist.

Lactarazulen ¹⁾	Absorpt. Max. in Petroläther	662, 632, 603, 581, 556 μ
Azulen aus Lactaroviolin	„ „ „ „	698, 661, 631, 602, 578 μ
Trinitro-benzolate aus Lactarazulen	Smp. 122 ^{0 1)} , aus Lactaroviolinazulen	122 ⁰ (unscharf).

Das so erhaltene Azulen, das wir vorläufig Lactarazulen B nennen wollen, ist um 2 H-Atome reicher als der Kohlenwasserstoff, von dem sich das Lactaroviolin $C_{15}H_{14}O$ ableitet. Diese auffallende Tatsache können wir uns nur so erklären, dass bei der Zersetzung des Lactaroviolsin-semicarbazons mit Natriumalkoholat ausser der Reduktion der Aldehydgruppe auch die einer Kohlenstoffdoppelbindung eingetreten ist. Analoge Beobachtungen bei der *Wolff-Kishner*-Reaktion sind uns nicht bekannt. Für die Richtigkeit dieser Annahme spricht aber der Umstand, dass die Zersetzung des Lactaroviolsin-semicarbazons mit Natriumäthylatlösung bei höherer Temperatur, bei 170° während 10

¹⁾ Willstaedt, B. 69, 997 (1936).

Stunden, zu einem noch wasserstoffreicheren blauen Kohlenwasserstoff Z führte, von dem wir aber nicht sicher sind, ob er einheitlich ist; es könnte sich um eine Mischung eines Azulens mit einem gesättigteren Kohlenwasserstoff handeln.

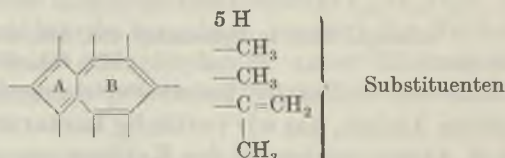
Gef. C 88,98 H 10,68%

Dieser blaue, mit Wasserdämpfen flüchtige, leicht destillierbare Kohlenwasserstoff Z besitzt ein anderes Absorptionsspektrum als Lactarazulen B. In Petroläther konnten im Spektroskop nur 2 Absorptionsbanden beobachtet werden, deren Maxima bei 642 und 588 m μ lagen.

Die Zersetzung des Lactaroviolin-semicarbazons mit Natriumäthylatlösung verläuft keineswegs glatt; es bilden sich dabei beträchtliche Mengen harzartiger Substanzen, bei 115^o Zersetzungstemperatur weniger als bei 170^o.

Schliesslich haben wir noch versucht, Lactaroviolin mit Aluminiumisopropylat nach *Meerwein-Ponndorf* zu reduzieren. Auch diese Reaktion verläuft sehr komplex und führt zur Hauptsache zu harzartigen Produkten, die sich nicht reinigen liessen. Daneben entstand aber in sehr geringer Menge ein mit Wasserdämpfen ziemlich schwer flüchtiges, violettcs Azulen. Die geringe Quantität erlaubte vorerst keine genauere Untersuchung; die relative Schwerflüchtigkeit mit Wasserdampf lässt die Vermutung zu, dass es sich um einen Azulenalkohol handelt. Die Verbindung besass in Petrolätherlösung folgende Absorptionsmaxima: 636, 581, 536 m μ .

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sprechen dafür, dass Lactaroviolin ein Aldehyd der Azulenreihe ist. Die Verbindung muss nach der Bruttoformel 6 Kohlenstoffdoppelbindungen enthalten, von denen 5 in den beiden Ringen liegen, die sechste Doppelbindung dürfte in einer Isopropylgruppe angeordnet sein. Eine der 3 Methylgruppen in der nachstehenden Formel ist im Lactaroviolin in eine Aldehydgruppe verwandelt.



Eine andere Möglichkeit, auf Grund der Bruttoformel die Konstitution des Lactaroviolins zu deuten, wäre die, dass statt der Isopropylidengruppe eine Isopropylgruppe als Substituent auftritt, dafür aber 2 C-Atome der Azulen-Kohlenstoffringe je ein Wasserstoffatom weniger enthalten, d. h. dass Ring A oder B durch eine Brückenbindung unterteilt ist. Diese Annahme scheint uns aber aus sterischen Gründen sehr wenig wahrscheinlich.

Experimenteller Teil.

Hydrierung des Lactaroviolins und Isolierung der Hydrierungsprodukte.

a) Hydrierung: 500 mg Lactaroviolin wurden in 120 cm³ Eisessig gelöst und mit Wasserstoff und 200 mg Platinoxid-Katalysator hydriert. In 3 Stunden waren 6,5 Mol Wasserstoff aufgenommen und die Lösung farblos geworden. Bei Luftzutritt trat sofort

Farbumschlag nach Grünblau ein, doch erfolgte nach weiterem Schütteln mit Wasserstoff wieder Entfärbung. Nach dem Abdampfen des Eisessigs im Vakuum haben wir den Rückstand in Petroläther aufgenommen, die Lösung getrocknet und nach Entfernung des Lösungsmittels den Rückstand im Hochvakuum destilliert. Sdp. 110—120° (0,06mm Druck) im Kugelrohr.

$C_{15}H_{28}O$ Ber. C 80,37 H 12,50%
Gef. „ 82,41 „ 12,47%

Der zu hoch gefundene Kohlenstoffgehalt liess darauf schliessen, dass bei der Hydrierung teilweise Eliminierung der Hydroxylgruppe eingetreten war.

b) Umsatz mit Tritylchlorid: Wir haben das Hydrierungsprodukt in 5 cm³ Pyridin gelöst und nach Zusatz von 500 mg Tritylchlorid die Mischung 3 Stunden auf 70—80° erwärmt. Hierauf wurde zur Zerstörung des überschüssigen Tritylchlorids Wasser zugesetzt. Dann zog man das Reaktionsgemisch mit Petroläther aus, wusch die Petrolätherlösung zwecks Entfernung des Pyridins mit verdünnter Säure und mit Wasser, trocknete sie und verdampfte das Lösungsmittel. Zur Abtrennung des beigemischten Tritanols von dem gebildeten Trityläther (C_6H_5)₃CO· $C_{15}H_{27}$ wurde der Rückstand mit wenig eisgekühltem Petroläther aufgenommen, wobei Tritanol ungelöst zurückblieb. Diese Operation wiederholten wir mehrmals. Hierauf wurde der Petrolätherrückstand im Hochvakuum (0,06 mm) aus einer Kugelhöhre destilliert, wobei der entstandene Kohlenwasserstoff $C_{15}H_{28}$ zwischen 100 und 110° übergang, während der Trityläther des Alkohols $C_{15}H_{27}OH$ als Destillationsrückstand zurückblieb.

Analyse des Kohlenwasserstoffs:

$C_{15}H_{28}$ Ber. C 86,45 H 13,54%
Gef. „ 86,53 „ 13,46%

Analyse des Trityläthers:

$C_{15}H_{27}O \cdot C(C_6H_5)_3$ Ber. C 87,55 H 9,01%
Gef. „ 87,12 „ 8,89%

c) Verseifung des Trityläthers: Der in einigen Tropfen Petroläther gelöste Trityläther wurde mit einer Mischung von 5 cm³ Alkohol und 5 cm³ 20-proz. wässriger Salzsäure eine Stunde gekocht, hierauf das Lösungsmittel im Vakuum verdampft und der Trockenrückstand mit kaltem Petroläther behandelt, wobei das gebildete Tritanol gelöst blieb. Den Petrolätherextrakt destillierte man nach Verdampfung des Lösungsmittels im Hochvakuum aus einer Kugelhöhre. Bei 100—120° und 0,06 mm Druck ging der Alkohol $C_{15}H_{27}OH$ als zähflüssiges Öl über.

$C_{15}H_{28}O$ Ber. C 80,37 H 12,50%
Gef. „ 80,78 „ 12,45%

Semicarbazon des Lactaroviolins.

1,0 g Lactaroviolin wurden mit 0,7 g Semicarbazidhydrochlorid und 0,7 g wasserfreiem Natriumacetat in 25 cm³ Alkohol 1 Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Dabei erfolgte Farbumschlag nach Grün. Die Lösung wurde hierauf mit Wasser versetzt, das auskristallisierte Semicarbazon mit Wasser und nach dem Trocknen mit Petroläther gewaschen. Es löst sich in Chloroform leicht, in Alkohol ziemlich schwer, in Wasser und Petroläther ist es praktisch unlöslich. Beim langsamen Erhitzen zersetzt es sich allmählich unter Schwarzfärbung ohne zu schmelzen. Taucht man es in den auf 200° vorgeheizten Schmelzpunktsapparat, so zersetzt es sich sofort unter starker Volumenzunahme und Verflüssigung.

Azulen aus Lactaroviolin-semicarbazon.

Je 100 mg Lactaroviolin-semicarbazon wurden mit der Lösung von 200 mg Natrium in 8 cm³ 98proz. Alkohol 8 Stunden im Bombenrohr auf 115—120° erhitzt. Hierauf setzte man zum Reaktionsprodukt Wasser und schüttelte mit Petroläther aus, bis dieser keine Substanz mehr aufnahm. Dabei blieb ziemlich viel eines grün gefärbten, verharzten Produktes zurück, welches sich in Petroläther nicht löste.

Der Petrolätherextrakt besass dunkelgrüne Farbe. Er wurde filtriert, getrocknet, das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand der Destillation mit Wasserdampf unterworfen. Dabei ging das gebildete Lactarazulen B über und sammelte sich in der Vorlage als rein blaues, auf dem Wasser schwimmendes Öl.

Aus 1 g Lactaroviolin konnten über das Semicarbazon ca. 150 mg rohes Lactarazulen B gewonnen werden. Dieses haben wir unter 0,01 mm Druck aus einer Kugelhöhre fraktioniert destilliert, wobei die Luftbadtemperatur nicht über 110° stieg. Der Destillationsrückstand besass grünblaue Farbe und hinterliess beim Lösen in Petroläther einen festen Rückstand.

Die Fraktion Sdp. 85—90° (Luftbadtemperatur) wurde durch eine zweite Destillation nochmals unterteilt und der Mittellauf analysiert (Ausbeute ca. 30 mg).

$C_{15}H_{18}$ Ber. C 90,84 H 9,16%
Gef. „ 90,18 „ 9,68%

Absorptionsmaxima in Petroläther: 699, 661, 631, 602, 577 $m\mu$.

Mikrohydrierung: 3,689 mg Lactarazulen B nahmen in Eisessig mit Platinoxyd als Katalysator bei 25,7° C und 721 mm Druck innerhalb 25 Minuten 1,87 cm^3 Wasserstoff auf, entsprechend 4,12 Mol. Dieser Befund steht im Einklang mit den Hydrierungsergebnissen an anderen Azulenen, die unter gewöhnlichen Bedingungen meistens auch nur bis zur Oktahydrostufe hydriert werden¹⁾.

Aus dem Lactarazulen B haben wir in üblicher Weise (in alkoholischer Lösung) das 2,4,6-Trinitro-benzolat hergestellt, das nach einmaligem Umkrystallisieren bei 122° etwas unscharf schmolz.

Zersetzung des Lactaroviolin-semicarbazons durch Natriumäthylatlösung bei höherer Temperatur.

Als man die Zersetzung des Lactaroviolin-semicarbazons mit Natriumäthylatlösung bei 170° statt bei 115—120° während 10 Stunden ausführte, wurde bei analoger Aufarbeitung des Reaktionsgemisches wie im vorherbeschriebenen Beispiel ein blauer Kohlenwasserstoff Z mit anderem Spektrum und anderen Analysenergebnissen erhalten:

Gef. C 88,98 H 10,68%

Absorptionsmaxima in Petroläther 642, 588 $m\mu$.

Bei der Mikrohydrierung nahm die Verbindung nur ca. 2,7 Mol Wasserstoff auf, was dafür spricht, dass es sich um eine Mischung eines Azulens mit einem gesättigteren Kohlenwasserstoff handeln könnte.

Ein daraus hergestelltes krystallisiertes Trinitro-benzolat vom Smp. 133° gab auch keine ganz genauen Analysenwerte:

$C_{15}H_{18} \cdot C_6H_3(NO_2)_3$ Ber. C 61,3 H 5,1 N 10,2%
Gef. „ 62,5 „ 5,4 „ 9,6%

Bei der Zerlegung dieses Trinitro-benzolates mit Ammoniumsulfid liess sich das Azulen nicht unverändert regenerieren. Es scheint sehr veränderlich zu sein.

Reduktion des Lactaroviolins mit Aluminiumisopropylat.

350 mg Lactaroviolin, gelöst in 1,5 cm^3 Benzol, wurden mit 2 g Aluminiumisopropylat in 10 cm^3 Isopropylalkohol bei 85—95° in Stickstoffatmosphäre 6 Stunden lang reduziert. Nach kurzer Zeit erfolgte Farbumschlag nach Grünblau. Man zersetzte hierauf das überschüssige Alkoholat mit kalter Natronlauge und schüttelte mit Petroläther aus. Dabei blieb indessen der grösste Teil des ausgeschiedenen Niederschlages in Petroläther ungelöst.

Nach dem Verdampfen des Petroläthers haben wir den geringen Rückstand mit Wasserdampf destilliert, wobei Spuren (2—4 mg) eines violetten Azulens mit den Wasserdämpfen übergingen. Dieses zeigte in Petrolätherlösung Absorptionsmaxima bei 636, 581 und 536 $m\mu$.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

¹⁾ Vgl. Helv. 14, 1109 (1931).

151. Di-[ω -phenyl-polyen]-diketone

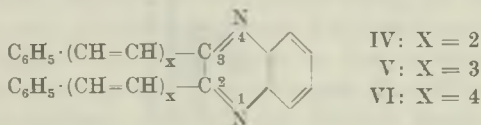
von P. Karrer und Ch. Cochand.

(25. VIII. 45.)

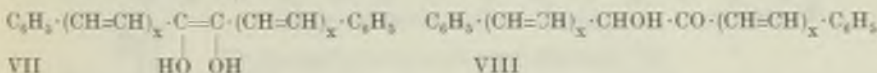
Im Zusammenhang mit Konstitutionsfragen bei natürlichen Carotinoiden schien es uns von Interesse, Polyen-diketone kennen zu lernen, in denen die Diketon-Gruppierung von dem System konjugierter Doppelbindungen eingeschlossen ist. Solche Verbindungen liessen sich aus Polyen-aldehyden und Diacetyl gewinnen. Als Kondensationsmittel eignet sich Piperidin. Aus Zimtaldehyd und Diacetyl entstand Di-[ω -phenyl-butadienyl]-diketon (I), aus Phenylpentadienal und Diacetyl Di-[ω -phenyl-hexatrienyl]-diketon (II) und aus Phenylheptatrienal und Diacetyl Di-[ω -phenyl-octatetraenyl]-diketon (III).

- I $C_6H_5 \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot CO \cdot CO \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot C_6H_5$
 II $C_6H_5 \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot CO \cdot CO \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot C_6H_5$
 III $C_6H_5 \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot CO \cdot CO \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot CH=CH \cdot C_6H_5$

Alle 3 Verbindungen sind rotgelbe bis gelbrote, gut kristallisierte Verbindungen. Mit *o*-Phenylendiamin lassen sie sich leicht zu den entsprechenden Chinoxalinderivaten (IV—VI) kondensieren.



Dagegen sind bisher alle Versuche, die Diketone zu den Dienolen VII bzw. VIII zu reduzieren, gescheitert. Weder nach der Reduktion



mit Zink und Eisessig in Pyridin, noch bei der Reduktion nach *Meerwein-Ponndorf* liessen sich kristallisierte Reduktionsprodukte fassen, so dass die interessanten Dienole VII vorläufig unbekannt sind. Auch bei der Einwirkung von Methylmagnesiumjodid auf das Diketon I wurde kein kristallisiertes Umsetzungsprodukt erhalten. Die spektroskopische Untersuchung der Lösungen der Diketone I bis III liefert keine charakteristischen Resultate. Mit Ausnahme des Diketons I, in dessen Spektrum bei ca. 488 $m\mu$ (Chloroformlösung) eine sehr flauwe Bande wahrnehmbar ist, zeigen alle Verbindungen totale Absorption gegen das kurzwellige Gebiet. Die spektrographisch aufgenommenen Absorptionsspektren in Chloroform finden sich in den Abbildungen 1—3 dargestellt. Sie sind von den Spektren der Carotinoide und der

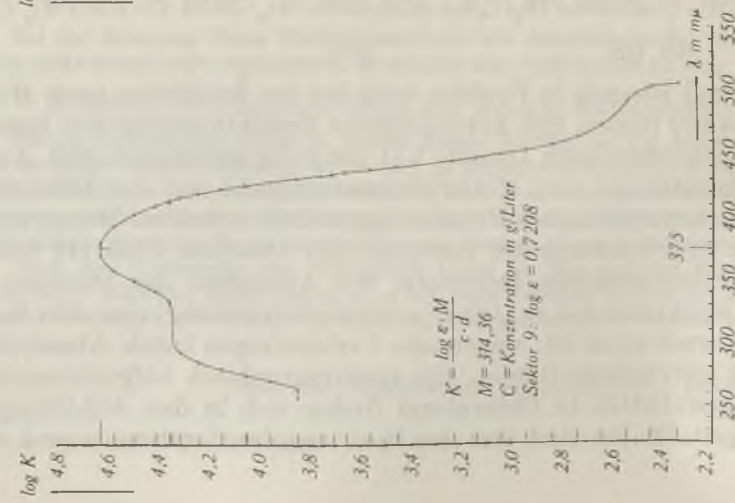


Fig. 1.

Absorptionsspektrum des Di-[o-phenylbutadienyl]-diketons.

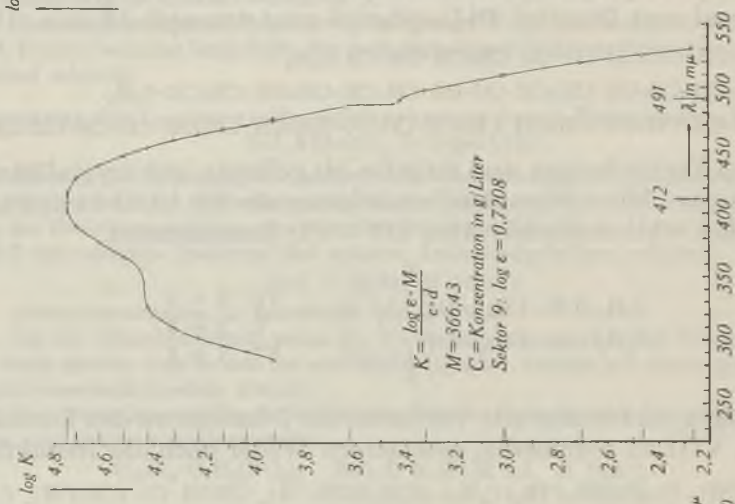


Fig. 2.

Absorptionsspektrum des Di-[o-phenylhexatrienyl]-diketons.

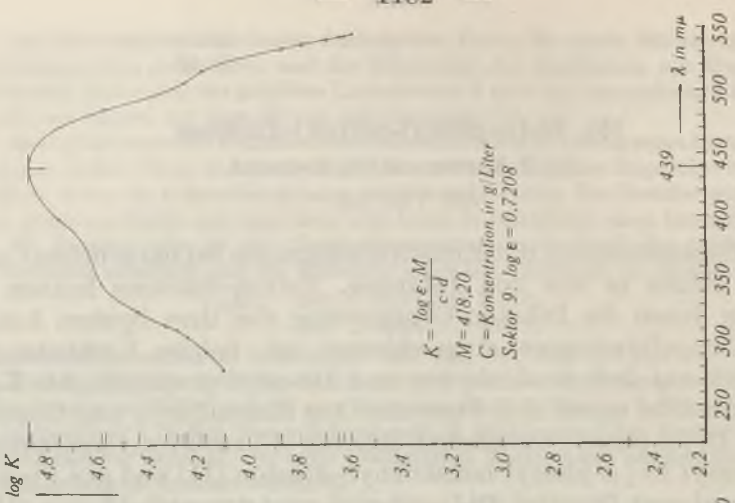


Fig. 3.

Absorptionsspektrum des Di-[o-phenyloctatetraenyl]-diketons.

Phenyl-polyene verschieden. Die stärksten Absorptionsbanden mit dem höchsten Extinktionskoeffizienten weisen bei den 3 Diketonen folgende Absorptionsmaxima auf:

Di-[ω -phenyl-butadienyl]-diketon	375 m μ log K 4,62
Di-[ω -phenyl-hexatrienyl]-diketon	412 m μ „ „ 4,75
Di-[ω -phenyl-octatetraenyl]-diketon	439 m μ „ „ 4,88

Die Absorptionskurven lassen ausserdem im kürzerwelligen und längerwelligen Gebiet je eine schwache Ausbuchtung erkennen.

Gegenüber dem Absorptionsmaximum von I ist dasjenige von II um 37 m μ verschoben, während zwischen denjenigen von II und III eine Differenz von 27 m μ liegt. Eine neu hinzutretende Doppelbindung verursacht somit in diesen Polyen-diketonen eine Verschiebung des Absorptionsmaximums von nur 14—18 m μ , während ihr Einfluss in der Carotinreihe und bei den Diphenyl-polyenen etwa 20 m μ ist.

Auch der Einfluss der beiden Carbonylgruppen auf die Lage der Absorptionsmaxima scheint in den drei in dieser Mitteilung beschriebenen Ketonen nicht normal zu sein. Die Absorptionsmaxima des Diphenyl-dodeka-hexaens (in Benzol) liegen bei 445 m μ und 420 m μ , diejenigen des Diphenyl-tetradeka-heptaens bei 465 und 435 m μ ¹). Selbst wenn man die Hauptabsorptionsmaxima des Di-[ω -phenyl-hexatrienyl]-diketons und des Di-[ω -phenyl-octatetraenyl]-diketons mit den kürzerwelligen Banden der beiden genannten Diphenyl-polyene vergleicht, liegen sie noch kürzerwellig als diejenigen der Diphenyl-polyene mit gleicher Zahl von Äthyldoppelbindungen. Der Einfluss der beiden Carbonylgruppen in den beiden Diketonen entspricht daher keineswegs den Erwartungen. Es scheint vielmehr, dass durch ihre Einschaltung zwischen das System konjugierter Äthyldoppelbindungen die Absorption nach dem kürzerwelligen Gebiet verschoben worden ist.

Experimenteller Teil.

Di-[ω -phenyl-butadienyl]-diketon (I).

1,5 g Diacetyl und 4,6 g frisch destillierter Zimtaldehyd werden in 5 cm³ absolutem Alkohol gelöst und die Mischung nach Zusatz von 2—3 Tropfen Piperidin stehen gelassen. Die zunächst hellgelbe Lösung wird allmählich orange, trübt sich nach 1—2 Stunden und erstarrt schliesslich zu einem Brei orangefarbiger Krystalle. Diese nützt man ab, wäscht sie mit etwas Alkohol und krystallisiert sie aus demselben Lösungsmittel um.

Das so dargestellte Di-[ω -phenyl-butadienyl]-diketon bildet goldgelbe, glänzende Blättchen vom Smp. 188,5—189° (unkorr.). Ausbeute ca. 25% der Theorie.

C ₂₂ H ₁₈ O ₂	Ber. C 84,07	H 5,73%
	Gef. „ 83,79	„ 6,03%

Trägt man die Verbindung in eine gesättigte Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform ein, so färbt sich diese zuerst bräunlich-grün, um nach kurzer Zeit braun zu werden. Schwefelsäure löst das Diketon mit bräunlich-violetter Farbe, die nach einigem Stehen rot wird. Ärsen-trichlorid erzeugt in der Chloroformlösung des Diketons gelbe Färbung.

¹) Smakula, Z. angew. Ch. 47, 657 (1934).

Di-[ω -phenyl-hexatrienyl]-diketon (II).

4 g Diacetyl und 15 g Phenyl-pentadienal¹⁾ wurden in 40 cm³ Alkohol gelöst, mit 2—3 Tropfen Piperidin versetzt und 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Lösung nimmt orange Farbe an und erstarrt schliesslich zum Krystallbrei. Die Krystalle werden abgenutzt, mit Alkohol gewaschen und zweimal aus Benzol umkrystallisiert. Smp. 197° (unkorr.). Ausbeute 3 g.

C₂₆H₂₂O₂ Ber. C 85,27 H 6,05%
Gef. „ 85,07 „ 5,92%

Lösungsfarbe des Diketons in Antimontrichlorid-Chloroformlösung: grünblau; in konz. Schwefelsäure: dunkelbraun-violett. Farbreaktion mit AsCl₃ in Chloroform: braunrot, nach einiger Zeit violettrot.

Di-[ω -phenyl-octatetraenyl]-diketon (III).

30 g Phenyl-heptatrienal²⁾ und 7 g Diacetyl werden in der hierfür erforderlichen Menge einer aus Äther und absolutem Alkohol bestehenden Mischung gelöst und 8—10 Tropfen Piperidin zugesetzt. Nach eintägigem Aufbewahren bei Zimmertemperatur ist die braunrot gewordene Lösung zum Krystallbrei erstarrt. Die Krystalle werden abgenutzt, mit Alkohol und Äther gewaschen und aus Toluol umkrystallisiert. Schmelzpunkt des Di-[ω -phenyl-octatetraenyl]-diketons 201—202° (unkorr.). Ausbeute 1,9 g.

C₃₀H₂₆O₂ Ber. C 86,08 H 6,27%
Gef. „ 85,88 „ 6,41%

Lösungsfarbe des Diketons in Antimontrichlorid-Chloroform-Lösung: blau; in konz. Schwefelsäure: violett; in Arsen-trichlorid-Chloroformlösung: bräunlichgrün, nach kurzer Zeit blaugrün.

Kondensationen der Diketone I, II und III mit o-Phenylendiamin.

Je 0,5 g der Diketone I, II oder III wurden in heissem Benzol gelöst, wozu im ersten Fall 80 cm³, im zweiten 150 cm³ und im dritten 650 cm³ notwendig waren. Dazu gab man die in 40—50 cm³ absolutem Alkohol gelöste Menge o-Phenylendiamin, die pro Mol Diketon ca. 1½—2 Mol Diamin entsprach (0,26 bzw. 0,22 bzw. 0,20 g), ferner 0,5 cm³ Eisessig, und erhitzte das Reaktionsgemisch 1—3 Stunden auf dem Wasserbad.

Hierauf wurde das Lösungsmittel im Vakuum zur Trockene verdampft, der Rückstand mit Wasser gewaschen und umkrystallisiert. 2,3-Di-[δ -phenyl-butadienyl]-chinoxalin (Formel IV) haben wir zuerst aus Ligroin, hierauf aus einer Mischung von Benzol-Alkohol und schliesslich aus wenig Benzol umkrystallisiert. Es bildet feine, citrongelbe Nadeln, die bei 202—203° (unkorr.) schmelzen. Ausbeute 0,3 g. Die alkoholische Lösung fluoresziert bei Tageslicht deutlich grüngelb, unter der Quarzlampe stark grüngelb. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure olivgrün.

C₂₃H₂₂N₂ Ber. C 87,00 H 5,74 N 7,26%
Gef. „ 86,98 „ 5,64 „ 7,25%

2,3-Di-[ζ -phenyl-hexatrienyl]-chinoxalin (Formel V) wurde mehrmals aus Benzol umkrystallisiert und schmolz dann bei 162—163° (unkorr.); taucht man das Schmelzpunktsröhrchen in das auf ca. 155° vorgeheizte Bad ein, so wird der Schmelzpunkt erst bei 171—172° (unkorr.) beobachtet.

Die Verbindung löst sich leicht in Benzol, Chloroform, Toluol, schwer in Alkohol und Ligroin. Die Lösungen fluoreszieren unter der Quarzlampe grüngelb. In konz. Schwefelsäure löst sich die Substanz mit olivgrüner Farbe.

C₃₂H₂₆N₂ Ber. C 87,64 H 5,98 N 6,38%
Gef. „ 87,26 „ 6,06 „ 6,28%

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

1) Kuhn und Winterstein, Helv. II, 113 (1928).

2) Kuhn und Winterstein, Helv. II, 114 (1928).

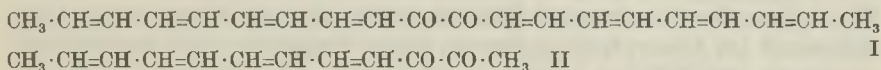
152. Über zwei weitere Polyen-diketone

von P. Karrer und Norbert Neuss.

(25. VIII. 45.)

Ähnlich wie die ω -Polyen-aldehyde lässt sich auch Octatrienal mit Diacetyl zu Polyen-diketonen kondensieren. Unter den gewählten Versuchsbedingungen bildeten sich gleichzeitig zwei Verbindungen:

Di-[ω -methyl-octatetraenyl]-diketon (I) und
[ω -Methyl-octatetraenyl]-methyl-diketon (II).



Die Trennung liess sich durch Ausziehung der Mischung der beiden Substanzen mit heissem Alkohol ausführen, in dem die Verbindung II leicht, I sehr schwer löslich ist. Das Diketon I bildet gelbrote, die Verbindung II gelbe Krystalle. Beide Substanzen sind zersetzlicher und unbeständiger als die in der vorangegangenen Abhandlung beschriebenen Di-[ω -phenyl-polyen]-diketone, was zu erwarten war, da endständige Phenylreste in Polyenen allgemein stabilisierend wirken. Die Absorptionsspektren beider Diketone im sichtbaren Bereich sind uncharakteristisch; einzelne Absorptionsbanden sind nicht sichtbar, gegen das kurzwellige Gebiet findet Totalabsorption statt.

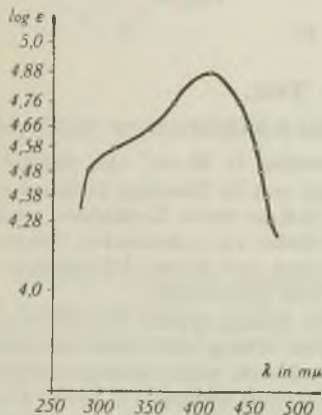


Fig. 1.

Absorptionsspektrum des Di-[ω -methyl-octatetraenyl]-diketons in Chloroform.

$c = 8,06 \times 10^{-6}$ Mol/Lt.

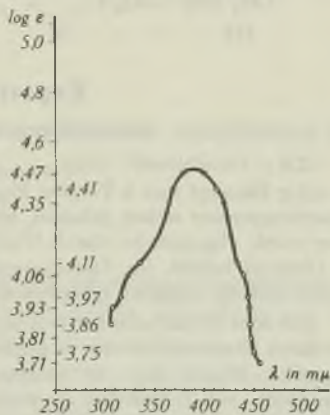


Fig. 2.

Absorptionsspektrum des [ω -Methyl-octatetraenyl]-methyl-diketons in Chloroform.

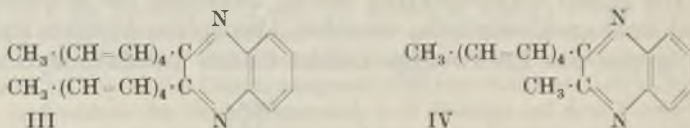
$c = 1,7 \times 10^{-5}$ Mol/Lt.

Die spektrographisch ermittelten Absorptionsspektren der beiden Diketone werden durch Fig. 1 und 2 veranschaulicht. An ihnen fällt auf,

dass das Absorptionsmaximum des Di- $[\omega$ -methyl-octatetraenyl]-diketons nur ca. 18—20 $m\mu$ langwelliger liegt als dasjenige des $[\omega$ -Methyl-octatetraenyl]-methyl-diketons (408 bzw. 390 $m\mu$). Es sieht demnach so aus, als ob das zweite Chromophor konjugierter Äthylenbindungen nur geringen Einfluss auf die Farbe dieser Verbindungen ausübt. Zu derselben Schlussfolgerung führt der Vergleich der Absorptionsspektren des in der voranstehenden Abhandlung beschriebenen Di- $[\omega$ -phenyl-octatetraenyl]-diketons und des Di- $[\omega$ -methyl-octatetraenyl]-diketons. Das Maximum der Absorptionsbande liegt bei ersterem in Chloroform bei 439 $m\mu$, bei letzterem bei 408 $m\mu$. Die Differenz von 30 $m\mu$ entspricht dem Wellenbereich, um den bei Polyenen eine Phenylgruppe die Absorption verschiebt. Die Wirkung des zweiten im Di- $[\omega$ -phenyl-octatetraenyl]-diketon vorhandenen Phenylrestes lässt sich somit im Absorptionsspektrum dieser Substanz nicht nachweisen.

Diese Überlegungen lassen erkennen, dass die Di- $[\omega$ -phenyl-polyen]-diketone und Di- $[\omega$ -methyl-polyen]-diketone Lichtabsorptionsverhältnisse aufweisen, die mit denjenigen der Diphenyl-polyene und Carotinoide nicht unmittelbar vergleichbar sind.

Die beiden Diketone I und II können mit *o*-Phenylendiamin zu Chinoxalinen (III und IV) kondensiert werden. Diese krystallisieren gut und haben hellere Farbe als die zu ihrer Synthese benützten Ketone.

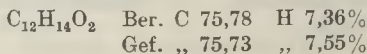


Experimenteller Teil.

Darstellung der Diketone I und II.

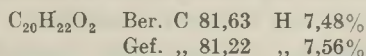
12,5 g Octatrienal¹⁾ (Sdp. $12 \text{ mm } 97\text{---}114^\circ$) wurden in 20 cm^3 abs. Alkohol gelöst, 4,5 g Diacetyl und 4 Tropfen Piperidin zugesetzt und die Mischung 18 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. In dieser hatte sich ein dicker Krystallbrei gebildet. Dieser wurde abgenutscht, durch Waschen mit Petroläther von anhaftendem Octatrienal und Diacetyl befreit, im Vakuumexsikkator getrocknet, mit 50 cm^3 Äthylalkohol ausgekocht und die ungelöst gebliebenen Anteile (B) heiss abgenutscht.

Aus dem Filtrat schieden sich noch während des Absaugens gelbe Krystalle aus, die man durch Erwärmen wieder in Lösung brachte. Diese Lösung blieb zuerst bei Zimmertemperatur, hierauf bei -10° stehen. Die auskrystallisierte gelbe Substanz haben wir abgenutscht, mit Petroläther gewaschen und hierauf noch zweimal aus wenig Alkohol umkrystallisiert. Smp. $130\text{---}132^\circ$. Ausbeute ca. 0,7 g. Die Verbindung ist das $[\omega$ -Methyl-octatetraenyl]-methyl-diketon (II). Sie bildet hellgelbe, feine Nadeln, die in Alkohol, Benzol, Chloroform und Äther leicht löslich sind.



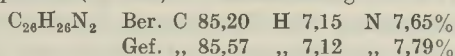
¹⁾ R. Kuhn, M. Hoffer, B. 63, 2164 (1930); T. Reichstein, C. Ammann, G. Trivelli, Helv. 15, 261 (1932).

Der Anteil B des Kondensationsproduktes aus Octatrienal und Diacetyl, der sich in Alkohol auch in der Hitze sehr schwer löst, stellt das rohe Di-[ω -methyl-octatetraenyl]-diketon (I) dar. Es wurde nach nochmaligem Auskochen mit Alkohol aus viel heissem Benzol wiederholt umkrystallisiert. Smp. oberhalb 300° unter Zersetzung. Die Verbindung bildet gelbrote feine Krystalle, die sich in allen gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln schwer lösen.

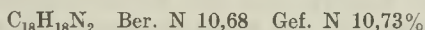


Kondensation der beiden Diketone I und II mit *o*-Phenylendiamin.

200 mg Di-[ω -methyl-octatetraenyl]-diketon wurden in 150 cm³ heissem Benzol gelöst; dazu gab man 180 mg *o*-Phenylendiamin-hydrochlorid und 320 mg wasserfreies Natriumacetat, beide in je 50 cm³ absolutem Alkohol gelöst, und erhitzte die Mischung während einer Stunde im Stickstoffstrom. Dann engten wir sie auf ein kleines Volumen ein und setzten Wasser hinzu. Dabei schied sich das entstandene Chinoxalinderivat III (2,3-Di-[δ -methyl-octatetraenyl]-chinoxalin) in gelben Flocken aus. Die Verbindung wurde nach dem Trocknen aus wenig kochendem Alkohol umkrystallisiert, ein anderer Teil aus Benzol. Smp. 142° (unkorr.). Ausbeute 260 mg.



Zur Herstellung des Chinoxalinderivates IV (2-Methyl-3-[δ -methyl-octatetraenyl]-chinoxalins) sind wir wie im vorherbeschriebenen Beispiel verfahren. Die Kondensation wurde mit 150 mg Diketon II, 142 mg *o*-Phenylendiamin-hydrochlorid und 328 mg wasserfreiem Natriumacetat in alkoholischer Lösung ausgeführt. Das gebildete Chinoxalinderivat IV haben wir aus wenig Alkohol umkrystallisiert. Smp. 154—157° unter Zersetzung (unkorr.).



Zürich, Chemisches Institut der Universität.

153. Über wasserlösliche Inhaltsstoffe von *Papaver somniferum* L.

II. Mitteilung

von H. Schmid.

(25. VIII. 45.)

In einer früheren Mitteilung¹⁾ haben wir über eine Untersuchung der wasserlöslichen, nicht basischen Inhaltsstoffe der Mohnart *Papaver somniferum* L. berichtet und dabei neben zahlreichen anderen Verbindungen zwei in der Natur bisher noch nicht angetroffene Stoffe, als „J“ und „Fx“ bezeichnet, isolieren können. Ihre Konstitution war noch unbekannt. Die folgenden Ausführungen beschäftigen sich nun mit der näheren chemischen Untersuchung dieser beiden Verbindungen.

Die Darstellung der Substanz „J“, die zuerst behandelt werden soll, aus dem neutralen Ätherextrakt des Eluates I (Säurefraktion

¹⁾ H. Schmid und P. Karrer, Helv. 28, 722 (1945).

P II) ist bereits in der ersten Mitteilung beschrieben. Dieselbe Verbindung lässt sich auch aus der entsprechenden, ähnlich zusammengesetzten Fraktion des Eluates II (Säureextrakt III) gewinnen. Der Aufarbeitungsgang ist im experimentellen Teil näher beschrieben. Die Substanz „J“ wird dabei als Methylester erhalten, der, im Kugelröhrchen bei einem Druck von 0,02 mm destilliert, den Sdp. 175—180° besitzt. Die der Substanz „J“ zugrunde liegende freie Säure ist im Hochvakuum nicht mehr destillierbar. Der Ester stellt ein viskoses, leicht gelb gefärbtes Öl dar und ist optisch aktiv ($[\alpha]_D^{22} = -2,11^\circ$ in Methanol). Obwohl es uns nicht gelungen ist, die Verbindung „J“ selbst oder ihren p-Nitrobenzoesäure-ester in krystallisierter Form abzuscheiden, besteht an ihrer strukturellen Einheitlichkeit kein Zweifel. Für diese Annahme spricht einmal die Tatsache, dass die zwei unabhängig voneinander gewonnenen Präparate in jeder Hinsicht (Siedepunkt, Analysen, usw.) miteinander übereinstimmen. Auch bei den verschiedenen Reaktionen wie Verseifung, Veresterung, oxydativer Abbau usw. hat sich die Substanz „J“ stets wie ein einheitlicher Körper verhalten. Ihre geringe Neigung zur Bildung krystallisierter Derivate dürfte vielmehr darauf beruhen, dass sie zwar in struktureller, nicht aber in sterischer Hinsicht einheitlich ist. Wir werden darauf später noch zurückkommen.

Auf Grund der Analyse und der Molekulargewichtsbestimmung kommt der Substanz „J“ die Bruttoformel $C_{20}H_{36}O_5$ oder $C_{20}H_{34}O_5$ zu. Die letztere liess sich durch den weiteren Abbau der Verbindung ausschliessen. Bei der katalytischen Hydrierung mit Platinoxid in Eisessig wird rasch das zwei Doppelbindungen entsprechende Volumen Wasserstoff aufgenommen. Die Verbindung enthält ferner zwei Methoxylgruppen. Mindestens eine davon muss in Form einer Carbo-methoxygruppe vorliegen, denn die Verbindung konnte ja aus den zwei Säurefraktionen erst nach der Methylierung mittels Methanol und Schwefelsäure isoliert werden. Für die zweite Methoxylgruppe war schon aus dem Verhalten der Substanz bei der Isolierung eine ätherische Verknüpfung anzunehmen. Die Fraktionen, aus denen die Verbindung gewonnen wird, enthalten nämlich bis auf eine Ausnahme ausschliesslich Monocarbonsäuren. In Übereinstimmung mit dieser Annahme wird bei der Einwirkung von Alkali auf Substanz „J“ nur ein Äquivalent Lauge verbraucht. Die verschiedenartige Bindung der beiden Methoxylgruppen wird durch den folgenden Versuch bestätigt: Die Substanz „J“ wird hydriert und anschliessend alkalisch verseift. Man erhält eine ölige Tetrahydro-carbonsäure mit dem der Formel $C_{17}H_{34}O_2 \left\{ \begin{array}{l} OCH_3 \\ COOH \end{array} \right.$ (I) entsprechenden Methoxylgehalt. Diese Tetrahydro-carbonsäure lässt sich mit Diazomethan methylieren und liefert dann den bei 170° im Hochvakuum übergehenden Tetrahydro-methylester $C_{17}H_{34}O_2 \left\{ \begin{array}{l} OCH_3 \\ COOCH_3 \end{array} \right.$ (II).

Durch diese Ergebnisse sind drei der fünf Sauerstoffatome in ihrer Funktion festgelegt. Die beiden anderen können nicht in Form von Carbonylgruppen vorliegen, da durch Einwirkung von Hydroxylaminacetat auf die Substanz „J“ keine Reaktion erfolgte. Sie liegen als Hydroxylgruppen vor. Die Bestimmung nach *Zerewitinoff* lieferte Werte, die etwa 1,5 aktiven Wasserstoffatomen entsprechen. Auch die Analyse des allerdings nicht völlig rein erhaltenen Di-p-nitrobenzoesäure-esters sprach für das Vorliegen von zwei Hydroxylgruppen. Ihren sicheren Nachweis erbrachte schliesslich die Glykoltitration der Tetrahydro-carbonsäure (I) mit Bleitetra-acetat, bei der 0,93 Mol dieses Reagens verbraucht wurden. Damit ist zugleich bewiesen, dass die beiden Hydroxylgruppen benachbart liegen müssen.

Entscheidend für die Aufklärung der Konstitution der Substanz „J“ war schliesslich ihr oxydativer Abbau.

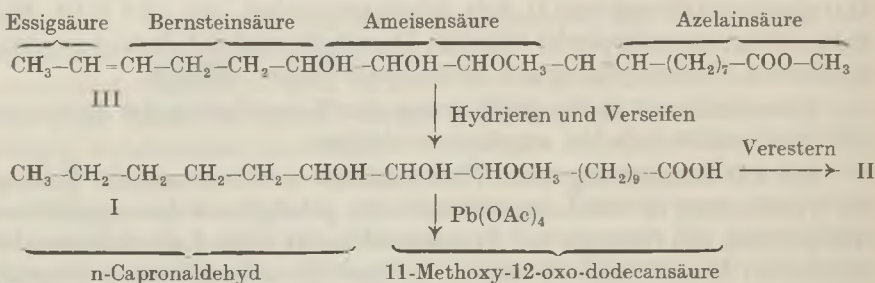
Bei der Einwirkung eines Überschusses von Ozon auf die Lösung der Verbindung in Tetrachlorkohlenstoff, gefolgt von der oxydativen Aufspaltung des Ozonids mit Wasserstoffperoxyd und anschliessender alkalischer Verseifung entstand als schwer flüchtige Säure in 49-proz. Ausbeute Azelainsäure neben wenig Bernsteinsäure. Die mit Wasserdampf leicht flüchtigen sauren Abbauprodukte erwiesen sich als Ameisensäure (als S-Benzyl-thiuroniumsalz identifiziert) und als Essigsäure (als Anilid isoliert).

Ein fünftes Spaltstück, nämlich der n-Capronaldehyd, liess sich isolieren, als die Tetrahydro-carbonsäure (I) mit Bleitetra-acetat oxydiert und das Oxydationsgemisch der Wasserdampfdestillation unterworfen wurde. Der n-Capronaldehyd ging dabei mit dem Wasserdampf über und liess sich als Dimedonderivat fassen. Im Destillationsrückstand befand sich das zweite, schwer flüchtige Spaltstück, das noch die ätherartig gebundene Methoxylgruppe enthalten musste. Es zeigte sich indessen, dass ein Teil der Methoxylgruppe bei der Destillation des stark essigsäuren Oxydationsgemisches mit Wasserdampf aus Gründen, auf die wir noch zu sprechen kommen werden, bereits eliminiert worden war.

Die erhaltenen Resultate erlauben nunmehr eine Aussage über die Konstitution der Substanz „J“.

In der Verbindung liegt der Methylester einer geradkettigen C_{18} -Carbonsäure vor. Sämtliche Kohlenstoffatome, mit Ausnahme des die Methoxylgruppe tragenden, sind durch die aufgefundenen Abbauprodukte, nämlich n-Capronaldehyd bzw. Essigsäure und Bernsteinsäure einerseits und durch die Azelainsäure andererseits erfasst. Die Substanz „J“ muss ein Abkömmling der Octadecadien-(9,16)-säure sein, was aus dem reichlichen Auftreten der Azelainsäure und der Essigsäure folgt. Die Stellung der zueinander 1,2-ständigen Hydroxylgruppen legt der bei der *Criegee*-Spaltung isolierte n-Capronaldehyd

an den C-Atomen 12 und 13 fest. Die Lage der beiden Hydroxylgruppen wird durch die aufgefundene Bernsteinsäure bestätigt, deren Bildung aus den Kohlenstoffatomen 13—16 bei der Ozonisation und anschliessender Oxydation mit Wasserstoffperoxyd leicht verständlich ist. Für die Methoxylgruppe bleibt daher einzig noch das C-Atom 11 der Octadecadien-(9,16)-säure übrig. Auf Grund der vorstehenden Erörterungen kann daher der Substanz „J“ nur mehr die Formel III des 11-Methoxy-12,13-dioxy-octadecadien-(9,16)-methylesters zukommen.



Die neben der Essigsäure noch aufgefundene Ameisensäure entsteht in erklärlicher Weise aus dem die Hydroxylgruppen tragenden Mittelstück der Verbindung III.

Die gegenüber Alkali stabile Methoxylgruppe am Kohlenstoffatom 11 steht in Allylstellung zu der 9-ständigen Doppelbindung. Eine derartige Äthergruppe ist gegenüber sauren Agenzien nur wenig widerstandsfähig. So wird z. B. der Äthyläther des Allylalkohols schon beim Kochen mit 2-proz. wässriger Schwefelsäure gespalten¹⁾. Durch einen Versuch haben wir festgestellt, dass dies auch bei der Verbindung „J“ der Fall ist: die ätherartig gebundene Methoxylgruppe wird schon beim Kochen mit einem verdünnten wässrigen Essigsäure-Salzsäuregemisch zum grössten Teil eliminiert.

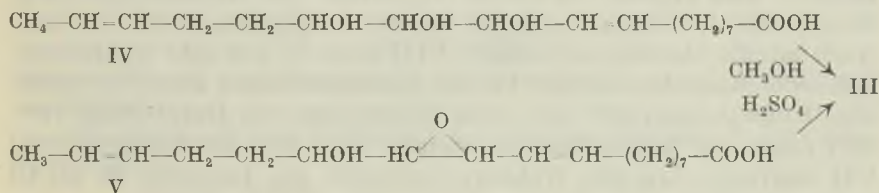
Diese Stellung der Methoxylgruppe bringt es mit sich, dass bei der *Criegee*-Spaltung der Säure I das zu erwartende schwerflüchtige Spaltstück, nämlich die 11-Methoxy-12-oxo-dodecansäure, nach dem Abdestillieren des n-Capronaldehyds bereits im Gemisch mit der methoxylfreien Form vorliegt. Die Methoxylgruppe ist in diesem Fall durch die benachbarte Aldehydgruppe noch stärker aktiviert.

Der 11-Methoxy-12,13-dioxy-octadecadien-(9,16)-säure-methylester (III) besitzt ausser den zwei Doppelbindungen 3 asymmetrische Kohlenstoffatome, so dass zahlreiche Isomere möglich sind. Man muss erwarten, dass sich diese Stereoisomeren, besonders in ihrem Siedepunkt, nur wenig voneinander unterscheiden. Die Auftrennung eines eventuellen Gemisches dürfte daher, besonders wenn nur wenig Sub-

¹⁾ *Eltekoff*, B. 10, 1903 (1877).

stanz zur Verfügung steht, durch Destillation kaum möglich sein. Es ist daher ungewiss, ob die von uns aus *Papaver somniferum* isolierte Verbindung diesbezüglich einheitlich ist oder ob sie ein Isomeren-gemisch darstellt. Die Abneigung der Substanz „J“, kristallisierte Derivate zu bilden, könnte als Bestätigung der letzteren Annahme aufgefasst werden.

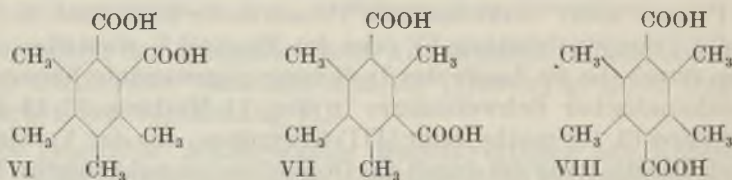
Die 11-Methoxy-12,13-dioxy-octadecadien-(9,16)-säure (Ester = III) ist, wie schon erwähnt, bisher noch nicht in der Natur aufgefunden worden. Von den zahlreichen möglichen Oxycarbonsäuren mit 18 C-Atomen ist bisher erst ein natürlicher Vertreter bekannt, nämlich die γ -Oxy-ölsäure oder Ricinolsäure, deren Glycerid den wesentlichen Bestandteil des Ricinusöls bildet. Die verschiedenen heute bekannten Di- und Trioxy-stearinsäuren stellen dagegen synthetische Produkte dar. Da unsere Säure ausser den zwei Hydroxylgruppen noch eine Methoxygruppe besitzt, stellt sich die Frage, ob sie überhaupt in dieser Form in der Pflanze vorkommt oder ob sie nicht ein während der Aufarbeitung verändertes Sekundärprodukt darstellt. Als solche in der Pflanze nativ vorkommende Primärstoffe kann man sich entweder die Trioxyverbindung IV oder das Epoxyd V vorstellen. Beide könnten durch die im Laufe der Isolierung angewendete Veresterung mit methanolischer Schwefelsäure in den 11-Methoxy-12,13-dioxy-octadecadien-(9,16)-methylester (III) übergehen; aus der Verbindung IV durch Verätherung des durch die Doppelbindung aktivierten Hydroxyls, aus dem Oxyd V durch Ringsprengung unter Bildung eines Glykoläthers.



Bereits in der ersten Mitteilung haben wir über die Isolierung einer als „Fx“ bezeichneten Säure aus dem Eluat I' des Mohnstrohextraktes berichtet¹⁾. Die geringen Mengen erlaubten damals keine nähere Untersuchung. Inzwischen haben wir den gleichen Stoff auch aus dem Ätherextrakt P des Eluates I gewinnen können (ca. 80 mg). Obwohl eine vollständige Konstitutionsaufklärung mit diesen Mengen nicht möglich war, berichten wir über die bisher erzielten Resultate, da die synthetische Lösung des Problems noch geraume Zeit beanspruchen wird.

¹⁾ H. Schmid und P. Karrer, *Helv.* **28**, 722 (1945).

Die bisher unbekannte Verbindung „Fx“ ist eine Säure, schmilzt unter Zersetzung bei 269—270° und ist im Hochvakuum bei 200—220° sublimierbar. Sie besitzt die Bruttoformel $C_{12}H_{14}O_4$. Die vier Sauerstoffatome liegen in Form zweier Carboxylgruppen vor; mit methanolischer Salzsäure entsteht der im Hochvakuum bei 140—145° destillierbare Dimethylester $C_{10}H_{12} \cdot (COOCH_3)_2$ vom Smp. 99—100°. Wird die freie Säure mit überschüssigem Kalk erhitzt, so bildet sich ein nach Rohpetroleum riechender Kohlenwasserstoff vom ungefähren Sdp. 200° unter Normaldruck. Unter Berücksichtigung der Bruttoformel $C_{12}H_{14}O_4$ beweisen diese Angaben, dass es sich bei der Verbindung „Fx“ um ein Derivat einer Phtalsäure handeln muss. (Eine substituierte Phenyllessigsäure oder ein Homologes derselben kann nicht vorliegen, da diese bei der Destillation mit Kalk Ketone liefern müssten.) Der hohe Schmelzpunkt der Verbindung schliesst wiederum Phtalsäuren mit langer Seitenkette aus, so dass in erster Linie die drei isomeren Tetramethyl-phthalsäuren (VI, VII und VIII) als mögliche Konstitutionsformeln zur Diskussion stehen.



Von diesen ist bisher einzig die Prehnitol-dicarbonssäure VI bekannt¹⁾. Man gewinnt sie durch Oxydation von Hexamethylbenzol. Sie schmilzt bei 249°, ist also mit unserer Verbindung nicht identisch. Auch um die Duroidicarbonssäure VIII kann es sich sehr wahrscheinlich nicht handeln, weil der bei der Kalkdestillation aus „Fx“ erhaltene Kohlenwasserstoff sich trotz Einimpfens von Durol (Smp. 79—80°) nicht zur Krystallisation bringen liess. Der der Dicarbonssäure VII zugrunde liegende Kohlenwasserstoff, das Isodurool, ist als Öl beschrieben.

Es ist bemerkenswert, dass sich die Säure „Fx“ einmal aus dem Eluat I' und das andere Mal aus dem Ätherextrakt P isolieren liess. Die letzte Fraktion enthält aber ausser Neutralstoffen und Phenolen nur Monocarbonsäuren, während sich die im Papaver somniferum enthaltenen Dicarbonssäuren ausschliesslich im Eluat I befinden. Daraus folgt, dass es sich bei der Verbindung „Fx“ um eine schwache Dicarbonssäure handeln muss (die gewöhnliche Phtalsäure z. B. findet man ausschliesslich im Eluat I'). Die Formel VII der Isoduroolcarbonssäure, die wir arbeitshypothetisch als Konstitutionsformel für die Substanz „Fx“ aufstellen, lässt eine solche Aciditätsverminderung

¹⁾ Jacobsen, B. 22, 1216 (1889).

infolge sterischer Hinderung durch die orthoständigen Methylgruppen erwarten.

Die endgültige Lösung dieses Problems muss aber, wie schon erwähnt, auf synthetischem Weg erfolgen.

Experimenteller Teil.

I. Teil.

Die Isolierung der Substanz „J“ aus einem wässerigen Extrakt des Strohs von *Papaver somniferum* L. haben wir schon früher beschrieben. Die genannte Verbindung liess sich dabei aus der „Säurefraktion P II“ des Eluates I in Form des öligen Methylesters gewinnen. Sie stellt ein viskoses, leicht gelb gefärbtes Öl dar, siedet, im Kugelhörchen destilliert, bei 180—190° und 0,3 mm und gab die folgenden Analysenwerte:

Gef. C 67,30 H 9,73 OCH₃ 16,92%. Mol.-Gewicht (in Campher): 356.

Die gleiche Substanz lässt sich aus dem Säureextrakt III des Eluates II herstellen: Durch Behandeln mit Methanol und Schwefelsäure wird diese Fraktion zunächst in einen Neutralteil S III und einen Phenolteil S III zerlegt. Die Verbindung „J“ kann aus dem ersteren durch fraktionierte Destillation im Hochvakuum isoliert werden:

Fraktion I bis 150° (Badtemperatur) und 0,02 mm Druck
 Fraktion II 160—185° („ „) „ 0,02 „ „
 etwas Rückstand

Die Fraktion II haben wir erneut bei 0,02 mm Druck im Kugelhörchen sorgfältig fraktioniert und als Hauptmenge die bei 170—180° (Badtemperatur) übergehenden Anteile aufgefangen. Nach nochmaliger Destillation erhielten wir schliesslich bei 175° ein viskoses Öl, das in allen seinen Eigenschaften mit demjenigen des Eluates I übereinstimmte. (2,1 g).

Gef. C 67,25 H 9,93 OCH₃ 16,89%. Mol.-Gew. (in Campher): 350.

Beide Präparate sind optisch aktiv:

$$[\alpha]_D^{22} = \frac{-0,13 \times 100}{1,0,8054 \times 7,653} = -2,11^{\circ}$$

in Methanol. Für die weitere Untersuchung standen uns insgesamt 4,1 g der Substanz „J“ zur Verfügung.

Die Substanz „J“ besitzt auf Grund der mitgeteilten Analysendaten die Bruttoformel C₂₀H₃₆O₅.

C₂₀H₃₆O₅ (356,29) Ber. C 67,36 H 10,18 OCH₃ 17,42%

Die *Zerewitinoff*-Bestimmung lieferte 0,415% aktiven Wasserstoff; auf Grund der angegebenen Bruttoformel berechnen sich für 1 aktives H-Atom 0,283%, für 2 aktive H-Atome 0,566%.

Die Verbindung „J“ enthält zwei Doppelbindungen. 10,082 mg Substanz nahmen in Eisessig mit Platin als Katalysator in etwa 15 Minuten 1,43 cm³ H₂ auf (16,5°, 712 mm). Für die Absättigung von zwei Doppelbindungen errechnet sich ein Wasserstoffverbrauch von 1,44 cm³.

Die Verbindung enthält eine Carbomethoxygruppe: 109,8 mg wurden in 8 cm³ absolutem Alkohol gelöst, mit 10,0 cm³ 0,1-n. wässriger Natronlauge versetzt und in einem verschlossenen Gefäss unter Lichtausschluss 24 Stunden bei 30° stehen gelassen. Nach der angegebenen Zeit waren von der Substanz 3,13 cm³ 0,1-n. Natronlauge verbraucht worden, was durch potentiometrische Titration festgestellt wurde. Für die Anwesenheit einer Carbomethoxygruppe berechnet sich ein Laugeverbrauch von 3,08 cm³.

Die Substanz „J“ enthält keine mit Hydroxylamin nachweisbare Carbonylgruppe.

Versuche, die Substanz „J“ in ein kristallisiertes Derivat überzuführen, schlugen fehl. So konnte das p-Nitrobenzoylderivat nur als Öl erhalten werden. Beim Versuch, dieses durch Chromatographie an Aluminiumoxyd zu reinigen, trat eine teilweise Zersetzung ein. Die Analyse eines derartigen Produktes lässt aber den Schluss zu, dass pro Molekel Ausgangssubstanz zwei p-Nitrobenzoylreste aufgenommen worden sein müssen.

$C_{37}H_{42}O_{11}N_2$ (654,4) Ber. N 4,28 OCH_3 9,48%
 Gef. „ 4,56 „ 8,91%

Die bisher ausgeführten Befunde werden noch durch den folgenden Versuch ergänzt: 0,231 g Substanz „J“ wurden in 6 cm³ absolutem Alkohol gelöst und mit 30 mg Platin-oxyd als Katalysator hydriert. Nach der Aufnahme von 2 Molen Wasserstoff kam die Hydrierung zum Stillstand (verbrauchtetes Volumen: 30 cm³; ber. Volumen 32 cm³)

Nach dem Abfiltrieren des Katalysators liess man die klare Lösung 2 Tage mit 60 cm³ 2-n. Natronlauge stehen. Nach zweistündigem Erwärmen auf 60° hat man den Alkohol im Vakuum entfernt und die alkalische Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Dieser Ätherauszug enthielt keinen Rückstand. Man säuerte hierauf mit Salzsäure an und ätherte aus. Das nach der üblichen Aufarbeitung in fast quantitativer Ausbeute anfallende Öl wurde nach dem Trocknen (60°, 0,02 mm Phosphorpentoxyd) direkt der Methoxylbestimmung unterworfen.

$C_{19}H_{18}O_5$ (346,50) Ber. OCH_3 8,95 Gef. OCH_3 8,53%

Die freie Säure ist, gleich wie die ungesättigte Verbindung, im Hochvakuum nicht destillierbar.

Zur Wiedergewinnung des Methylesters liessen wir die hydrierte Säure mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung längere Zeit stehen. Nach dem Filtrieren wurde eingedampft und das erhaltene, farblose Öl im Hochvakuum destilliert, wobei es unter einem Druck von 0,01 mm im Kugelhörchen bei 165—170° (Luftbadtemperatur) überging.

$C_{20}H_{40}O_5$ (360,22) Ber. C 66,92 H 11,19 OCH_3 17,24%
 Gef. „ 66,99 „ 10,89 „ 18,24%

Bemerkenswert ist die relativ geringe Säure-Beständigkeit der zweiten, ätherartig gebundenen Methoxylgruppe in der Substanz „J“. Darüber orientiert der folgende Versuch. 100 mg Substanz wurden mit einem Gemisch von 3 cm³ Eisessig, 2 cm³ Wasser und 2 cm³ konz. Salzsäure 2,5 Stunden zum gelinden Sieden erwärmt. Dabei trat Dunkel-färbung auf. Nachher wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Alkohol gelöst und zur eventuellen Verseifung der Carbomethoxygruppe zwei Tage mit 7 cm³ 2-n. Natronlauge im Dunkeln stehen gelassen. Nach dem Ansäuern haben wir in der gewohnten Weise aufgearbeitet und vom so erhaltenen, etwas dunkel gefärbten Öl nach dem Trocknen den Methoxylgehalt bestimmt.

Gef. OCH_3 2,75% statt Ber. OCH_3 9,07%

Abbau der Substanz „J“ mit Ozon.

0,912 g gelöst in 6 cm³ absolutem Tetrachlorkohlenstoff wurden bei -5° mit 24 Liter eines Ozon-Sauerstoffgemisches behandelt, das pro Liter 0,038 g Ozon enthielt. Nach beendetem Durchleiten haben wir das Lösungsmittel im Vakuum bei 30° unter Feuchtigkeitsausschluss verdampft und anschliessend das Ozonid mit 20 cm³ Wasser und 2 cm³ 30-proz. Wasserstoffperoxyd 12 Stunden stehen gelassen. Hierauf fügte man weitere 2 cm³ Wasserstoffperoxyd hinzu und erwärmte 1 Stunde unter Rückfluss zum Sieden. Dann wurde eine Lösung von 2 g Kaliumhydroxyd in 5 cm³ Wasser zugegeben und nach 24-stündigem Stehen 2 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure wurden durch einen absteigenden Liebig-Kühler etwa 20 cm³ der Lösung abdestilliert, die 3,35 cm³ 1-n. Kalilauge zur Neutralisation benötigten. Weitere 15 cm³ Destillat, die nach Zugabe von 20 cm³ Wasser gewonnen worden waren, verbrauchten noch 0,3 cm³ 1-n. Lauge zur Neutralisation. Der gesamte Laugeverbrauch beträgt also 3,65 cm³.

Die beiden mit Kalilauge neutralisierten Destillate wurden vereinigt, im Vakuum zur Trockene gebracht und der Rückstand dreimal mit Äther ausgekocht. Hierauf nahm man ihn in 1,5 cm³ Wasser auf, kühlte auf 0° ab und versetzte mit einer gesättigten wässrigen Lösung von 0,77 g S-Benzylthiuroniumchlorid. Nach dem Stehen über Nacht bei 0° wurde das auskrystallisierte Salz abgesaugt und mit ganz wenig Eiswasser nachgewaschen. Beim Waschen mit Aceton ging ein Teil des Thiuroniumsalzes in Lösung.

Der der Menge nach geringere, acetonlösliche Teil des Salzes wurde nach dem Eindampfen im Vakuum (Badtemperatur 30°) aus Aceton-Äther und anschliessend noch zweimal aus Aceton und wenig Methanol umkrystallisiert. Smp. 144°. Im Gemisch mit dem S-Benzylthiuroniumsalz der Ameisensäure (Smp. 144°) trat keine Schmelzpunkts-erniedrigung auf.

$C_9H_{12}O_2N_2S$ (212,17) Ber. C 50,95 H 5,70 N 13,21%
Gef. „ 51,00 „ 6,07 „ 13,00%

Der nach dem Waschen mit Aceton im Filter verbleibende Teil der Thiuroniumsalze wurde dreimal aus Aceton-Methanol umgelöst. Smp. 135—136°. Der Schmelzpunkt des entsprechenden Salzes der Essigsäure liegt bei 136°. Da aber die Analyse dieser Substanz (offenbar infolge teilweiser Zersetzung beim Umkrystallisieren) keine scharfen Analysenwerte lieferte,

$C_{10}H_{14}O_2N_2S$ (226,29) Ber. C 53,07 H 6,24 N 12,39%
Gef. „ 52,47 „ 6,15 „ 13,72%

haben wir die Bestimmung der Essigsäure wie folgt wiederholt: 0,783 g Substanz „J“ wurden, wie oben geschildert, ozonisiert und weiter verarbeitet. Die festen Kaliumsalze der flüchtigen Säuren wurden in wenig Wasser gelöst, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und nach dem Sättigen mit Ammoniumsulfat mit wenig Äther erschöpfend extrahiert. Den Ätherauszug versetzte man mit 2 cm³ frisch destilliertem Anilin. Der Äther wurde dann vorsichtig abgedampft und der Rückstand 15 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen goss man in 200 cm³ 1-proz. wässrige Salzsäure und unterwarf diese Lösung einer erneuten Ätherextraktion. Dieser Ätherauszug wurde eingedampft und der ölige Rückstand bei 1 mm Druck im Kugelröhrchen destilliert. Nach einem geringen Vorlauf ging bei 100—115° (Luftbadtemperatur) ein Öl über, das alsbald erstarrte. Es wurde aus Äther umkrystallisiert. Die erhaltenen Krystalle zeigten nach nochmaligem Umlösen aus wenig Äther den Smp. 115—116°. Im Gemisch mit dem Anilid der Essigsäure trat keine Schmelzpunktserniedrigung auf.

Die aus den Mutterlaugen des Anilids gewonnenen Krystalle schmolzen unscharf bei etwa 70° und bestanden aus einem Gemisch der Anilide der Essig- und Ameisensäure.

Der von den leicht flüchtigen Bestandteilen befreite, etwa 8 cm³ betragende Rückstand der Ozonisation wurde mit Ammoniumsulfat gesättigt und mit Äther extrahiert. Die Ätherlösung haben wir durch ein doppeltes Faltenfilter gegossen, abgedampft und den Rückstand zweimal mit absolutem Benzol übergossen und das Lösungsmittel abdestilliert. Schliesslich liess sich der Rückstand aus Äther-Petroläther krystallisieren. Nach längerem Stehen im Eisschrank hat man die überstehende Lösung abpipettiert, die noch unreinen Krystalle mit Petroläther gewaschen und unter Zusatz von Norit aus Wasser umkrystallisiert. Nach dem Nachwaschen mit wenig Wasser erhielt man 80 mg Krystalle, die zur weiteren Reinigung bei 0,01 mm und 170° (Badtemperatur) destilliert wurden. Smp. 106°. Im Gemisch mit Azelainsäure keine Schmelzpunktserniedrigung.

$C_9H_{16}O_4$ (188,22) Ber. C 57,43 H 8,57%
Gef. „ 57,62 „ 8,49%

Die ursprüngliche Mutterlauge hat man nach dem Eindampfen im Kugelröhrchen bei 0,02 mm destilliert und dabei die folgenden Fraktionen aufgefangen:

sehr geringer, teilweise sublimierender Vorlauf, Sdp. bis 175°
Hauptmenge Öl, später erstarrend, Sdp. 180—190° (156 mg)
sehr geringer Nachlauf.

Die Hauptmenge erwies sich als bereits recht reine Azelainsäure, deren Gesamtausbeute demnach 236 mg, d. h. 49% der Theorie beträgt.

Die im Vorlauf erhaltenen Krystalle wurden durch vorsichtiges Waschen mit wenigen Tropfen kalten Äthers von anhaftendem Öl befreit und erneut im Hochvakuum sublimiert. Nach einem geringen Vorlauf sublimierten bei 130—140° etwa 4 mg farblose Krystalle, die bei 183° schmolzen und sich durch Mischschmelzpunkt als identisch mit Bernsteinsäure erwiesen.

Oxydation mit Bleitetra-acetat.

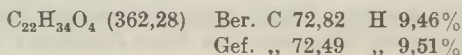
0,773 g Substanz „J“ hat man, wie vorher beschrieben, hydriert und anschliessend verseift. Man erhielt 0,6728 g freie, hydrierte Säure. Diese 0,6728 g wurden in 5,0 cm³ Eisessig gelöst und mit 30 cm³ einer Lösung von 1,6636 g reinem Bleitetra-acetat in 50 cm³ Eisessig versetzt. (Der Eisessig war durch Kochen über Chromsäure und durch anschliessende Destillation gereinigt worden.) Nach 48-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur waren 0,93 Mol Bleitetra-acetat verbraucht worden.

Hierauf versetzte man die Eisessiglösung mit 20 cm³ sauerstofffreiem Wasser und destillierte 20 cm³ davon in eine Lösung von 1,0 g Dimedon (Dimethyl-dihydroresorcin) in 200 cm³ Wasser. Zum Abstumpfen der Essigsäure fügte man festes Natriumacetat hinzu und liess dann die gegenüber Lackmus deutlich sauer reagierende Lösung 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Die nach dieser Zeit abgeschiedenen Krystalle wurden abgesaugt und mit Wasser gewaschen (0,12 g vom Smp. 95—97°). In der gleichen Weise haben wir nach der Zugabe von Wasser ein zweites Destillat erzeugt und mit einer Dimedonlösung stehen gelassen. Auch nach längerer Zeit konnte eine Fällung nicht mehr beobachtet werden.

Die erhaltenen 0,12 g des Dimedonkondensationsproduktes wurden in wenig siedendem Petroläther gelöst, die Lösung filtriert, das Filtrat eingedampft und der Rückstand mehrmals aus Methanol-Wasser umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt lag dann bei 100—101°, wobei eine ganz geringe Trübung erst bei etwa 120° verschwand; diese liess sich trotz mehrmaligem Umlösen nicht beseitigen. Auf Grund der Analyse und des Schmelzpunktes kann es sich bei diesem Produkt nur um das Dimedonderivat des n-Valeraldehyds oder des n-Capronaldehyds handeln. Ersteres schmilzt bei 104,5°, letzteres bei 106°. Obwohl die Schmelzpunkts-Erniedrigungen der verschiedenen Dimedonderivate untereinander nur gering sind (Mischschmelzpunkt Dimedonderivat des n-Valer- und des n-Capronaldehyds: 101—102°) liess sich unser Produkt, trotz des durch eine geringe Verunreinigung etwas herabgesetzten Schmelzpunktes, mit dem Dimedonderivat des n-Capronaldehyds identifizieren.

Mischschmelzpunkt unserer Verbindung mit dem Dimedonderivat des n-Valeraldehyds: 94—96°.

Mischschmelzpunkt unserer Verbindung mit dem Dimedonderivat des n-Capronaldehyds: 101—102°.



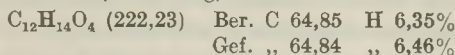
Die von dem leicht flüchtigen Aldehyd befreite Lösung der Bleitetra-acetat-Oxydation versetzte man mit Wasser und ätherte gründlich aus. Den Ätherauszug hat man mit Wasser, mit einer Kaliumjodid enthaltenden Natriumacetatlösung, mit Thiosulfatlösung und endlich wiederum mit Wasser sorgfältig gewaschen. Nach dem Trocknen wurde der Äther abdestilliert. Das verbleibende dickflüssige Öl haben wir im Hochvakuum getrocknet; es reduziert bereits in der Kälte Tollens-Reagens und enthält 7,5% OCH_3 . Es ist in 8-proz. Sodalösung vollständig löslich.

II. Teil.

Die Verbindung „Fx“ haben wir zum ersten Mal aus der Fraktion „LT“ des Eluates I unseres Mohnstrohextraktes, in allerdings nur sehr geringer Menge isoliert. Inzwischen haben wir noch 118 mg der Substanz aus dem „Ätherextrakt P“ des Eluates I gewinnen können. Dieser Ätherextrakt wurde erhalten, als die Ammoniumsalze des Eluates I im Wasser gelöst und mit Äther extrahiert worden waren. In dieser Fraktion befanden sich

Neutralstoffe, Phenole und Monocarbonsäuren, während die Fraktion „LT“ zur Hauptsache Dicarbonsäuren enthielt.

Der „Ätherextrakt P“ blieb längere Zeit in einem verschlossenen Gefäß sich selbst überlassen. Nach etwa 3 Wochen hatten sich gelbe Krystalle abgeschieden (118 mg), die abgesaugt und mit Äther gewaschen wurden. Man krystallisierte sie aus Methanol-Wasser um und reinigte sie durch eine sorgfältige Hochvakuumsublimation weiter. (200—220°, 0,01 mm Druck, Kugelhörchen). Der Schmelzpunkt der schwach gelbgefärbten Verbindung lag dann bei 269—270° (Zersetzung).



Die Verbindung „Fx“ ist Stickstoff-frei und enthält keine Methoxylgruppe. Sie ist in verdünnter Lauge (ohne Farbvertiefung) sowie in verdünntem Ammoniak leicht löslich. Diese Lösungen zeigen im Licht der Quarzlampe keine Fluoreszenz.

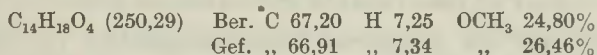
Methylester: 26 mg Substanz wurden mit 15 cm³ 3-proz. methanolischer Salzsäure 5 Stunden gekocht, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, einmal mit absolutem Methanol verdampft und der ölige Rückstand bei einem Druck von 0,02 mm im Kugelhörchen destilliert.

Spuren Vorlauf: Sdp. bis 140° (Luftbadtemperatur).

Hauptmenge: Sdp. 140—145° (Luftbadtemperatur).

Kein Nachlauf.

Das bei 140—145° übergegangene Öl erstarrte nach einiger Zeit und wurde durch Umlösen aus Äther-Petroläther und nochmalige Hochvakuumdestillation gereinigt. Smp. 99—100°.



Decarboxylierung.

37 mg „Fx“ hat man mit Calciumoxyd verrieben und über der freien Flamme erhitzt. Man erhielt ein nach Rohpetroleum riechendes farbloses Öl vom ungefähren Sdp. 200° (760 mm). Es liess sich trotz längerem Stehen im Eisschrank, auch nach dem Anpfeifen mit Durol, nicht zur Krystallisation bringen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

154. Über Vinylchlorid und seine Polymerisationsprodukte.

III. Zur Kenntnis der Polymerisation von Vinylchlorid in Lösung¹⁾

von H. E. Fierz-David und Hch. Zollinger.

(30. VIII. 45.)

1. Einleitung.

Die Zahl der in den letzten 15 Jahren auf dem Gebiete der Vinylhalogenidpolymerisation eingereichten Patente allein zeigt, welchen Umfang diese Industrie angenommen hat. Demgegenüber ist die Zahl der wissenschaftlichen Veröffentlichungen noch recht bescheiden. Arbeiten von *Staudinger*, *Marvel* u. a. konnten wohl einige Aufklärung

¹⁾ I und II vgl. Helv. 28, 455, 1125 (1945).

über die Konstitution dieser Makromolekeln bringen, lassen aber heute noch wesentliche Fragen (Endgruppenkonstitution, Verzweigungsgrad usw.) offen. Aus den unzähligen Patentangaben können nur schwer Anhaltspunkte über die Abhängigkeit des für die technische Verwendbarkeit dieser Produkte wichtigen Polymerisationsgrades von den Reaktionsbedingungen klar erkannt werden. Es war deshalb der Zweck dieser Arbeit, die Polymerisationsbedingungen systematisch zu untersuchen. Die Untersuchungen wurden dabei auf die Lösungspolymerisation von Vinylchlorid beschränkt. Nicht nur andere Vinylverbindungen, sondern auch die technisch bedeutenden Mischpolymerisate wurden nicht behandelt, da dies den Rahmen dieser Arbeit überschreiten würde. Wir wählten für unsere Versuche die Methode der Polymerisation in organischen Lösungsmitteln, ob schon heute technisch wohl fast ausschliesslich das sog. Emulsionsverfahren, d. h. die Polymerisation in wässriger Emulsion, zur Anwendung kommt. In Lösung lässt sich der Reaktionsverlauf besser verfolgen und zusätzliche Einflüsse (Art der Emulgatoren, Tröpfchengrösse usw.) müssen nicht berücksichtigt werden.

2. Polymerisationsbedingungen.

Die Zahl der als geeignete Dispersionsmittel für die Vinylchloridpolymerisation bezeichneten Lösungsmittel ist sehr gross, da man schon bald, nachdem man sich mit dieser Reaktion in grösserm Masstabe beschäftigte, erkannte, dass sich die Blockpolymerisation (d. h. des unverdünnten Vinylchlorids) nicht bewährte, weil die freiwerdende Reaktionswärme nur ungenügend abgeleitet werden konnte. Als Lösungsmittel sind sozusagen alle gebräuchlichen organischen Flüssigkeiten in Patenten erwähnt worden, da sich monomeres durch Druck oder Kühlung verflüssigtes Vinylchlorid mit allen diesen unbegrenzt mischen lässt. Das Polymere dagegen zeichnet sich durch eine äusserst geringe Löslichkeit aus. Gut wird es einzig in Tetrahydrofuran und ähnlichen Heterocyclen gelöst. Die in mehreren Patenten¹⁾ zu findende Bemerkung, dass als Verdünnungsmittel ein solches verwendet werden solle, welches „das Monomere leicht, das Polymere schwer“ löst, scheint deshalb überflüssig und unerklärlich zu sein.

Nähere Untersuchungen, die mit verschiedenen Lösungsmitteln gemacht wurden, zeigten jedoch, dass diese Aussage in zwar etwas unklarer Ausdrucksweise eine wichtige Tatsache enthält: Bei Verwendung von Stoffen, in denen das Polymere praktisch überhaupt nicht löslich ist (niedere Paraffinkohlenwasserstoffe, aliphatische Alkohole u. a.) entstehen nämlich schon rein äusserlich „besser“ aus-

¹⁾ Vgl. z. B. A. P. 2 057 429 und D.R.P. 671 749, *Carbide and Carbon*, Frdl. 25, 1104; E.P. 366 897, *Imp. Chem. Ind. Ltd.*, C. 1932, I, 2776.

sehende, rein weisse Polymerisate. Im Gegensatz dazu bildet sich bei sonst gleichen Bedingungen mit Toluol, Dioxan und Essigester, die ein grösseres (absolut gemessen aber immer noch sehr kleines) Lösevermögen für Polyvinylchlorid besitzen, spröde, unansehnliche braune oder graue Massen, deren Polymerisationsgrad¹⁾ weniger hoch ist. Der gegenüber dem theoretischen Wert zu kleine Chlorgehalt des Polymerisates deutet auf eine weitgehende Zersetzung der Molekel hin. Wir haben bereits in anderm Zusammenhang auf die diesbezüglichen Versuche hingewiesen und einige Beispiele angegeben²⁾.

Die erwähnte unklare Umschreibung des Lösungsmittels scheint demnach so auszulegen zu sein, dass nur solche Flüssigkeiten in Frage kommen, die das Polymere extrem schlecht lösen, nicht aber solche, die Polyvinylchlorid wenn auch schlecht, aber für diesen Zweck doch noch zu leicht lösen. Zur Gewinnung von Produkten mit niederm oder mittlerem Polymerisationsgrad stehen neuerdings noch andere Methoden zur Verfügung, die die Nachteile der Polymerisation in einer relativ gut lösenden Flüssigkeit nicht besitzen (siehe unten). Zur Erzielung höchster Polymerisationsgrade dagegen eignen sich Lösungsmittel wie Methanol, niedere Paraffine und ähnliche. Ein noch schlechteres Lösevermögen als diese hat Wasser, und es versteht sich, dass man versucht hat es zur Darstellung von sehr hochpolymerem Vinylchlorid zu verwenden. Da es sich aber auch mit dem Monomeren nicht mischen lässt, entwickelte sich daraus das Emulsionsverfahren, auf dessen heutige Bedeutung bereits hingewiesen wurde.

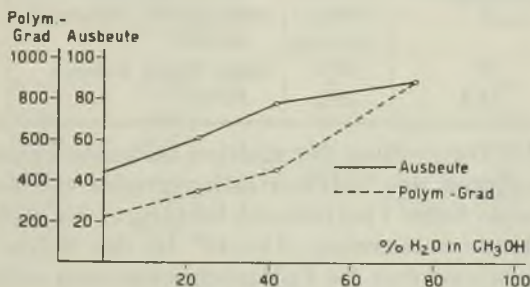


Fig. 1.

Wirkung der Wasserzugabe zum Lösungsmittel (Methanol) auf den Polymerisationsgrad und die Ausbeute.

Den Übergang zu den Emulsionsverfahren bildet ein Patent von *E. Hanschke*³⁾, nach welchem mit bis zu 40% Wasserzusatz zu Methanol grössere Ausbeuten und Produkte höherer Viskosität erhalten werden. Figur 1 zeigt, dass durch den Wasserzusatz nicht nur der Polymerisationsgrad unter sonst gleichen Bedingungen erhöht wird, son-

¹⁾ Viskosimetrisch bestimmt nach *H. Staudinger, J. Schneiders, A. 541, 151 (1939)*.

²⁾ Vgl. Tab. 3, *Helv. 28, 460 (1945)*.

³⁾ D.R.P. 676 627, *I. G. Farbenindustrie A.G., Frdl. 24, 1327*.

dern dass der Umsatz beträchtlich höher wird. Ausserdem verläuft die Reaktion rascher, was *Staudinger* und *W. Frost*¹⁾ bei ähnlichen Reaktionen schon untersucht haben.

Der Polymerisationsvorgang erfolgt bei Verwendung einer stark konzentrierten Vinylchloridlösung rascher und mit grösserer Ausbeute als bei Mischungen, bei denen der Anteil des Lösungsmittels überwiegt. Andererseits fällt bei diesen das Polymerisat in feinerer Pulverform aus, wodurch die Gewähr eines homogenen Reaktionsverlaufs eher gegeben ist.

Technisch sind natürlich Produkte mit möglichst kleinem Polydispersitätsgrad erwünscht — die Erreichung dieses Zieles bereitet aber Schwierigkeiten, da dazu eine starke Verdünnung des Monomeren durch Lösungs- oder Emulsionsmittel nötig ist, was (wenigstens im erstern Fall) wiederum ein Produkt mit kleinerem Polymerisationsgrad und zudem mit schlechterer Ausbeute pro Zeiteinheit ergibt. Diese Nachteile treten beim Emulsionsverfahren viel weniger in Erscheinung. Die Tabelle 1 gibt Angaben über eine Versuchsserie mit verschiedenen grossen Anteilen Lösungsmittel unter sonst gleichen Bedingungen.

Tabelle 1.
Einfluss der Lösungsmittelmenge auf die Polymerisation.

Produkt	Teil Methanol pro 1 T. Vinylchlorid ²⁾	Ausbeute	Aussehen der Polymerisate	Polymerisationsgrad
B 3	0 (Blockpolym.)	93%	hart, spröde, glasig, inhomogen, braun	180—320
B 45	1	76%	weiss, spröde, Klumpen bildend	250
B 46	2	36%	weiss, feines, lockeres	170
B 47	4,2	12%	Pulver	130

Die von der Darstellung der meisten hochmolekularen Stoffe bekannte Abhängigkeit des Polymerisationsgrades von der Reaktionstemperatur wurde beim Vinylchlorid bestätigt: Sie stehen im umgekehrten Verhältnis zueinander; 35—40° ist die tiefste Temperatur, bei der mit Katalysatoren die Polymerisation noch erfolgt, es bilden sich dabei relativ hochpolymere Körper (Tab. 2).

Tabelle 2.
Abhängigkeit des Polymerisationsgrades von der Reaktionstemperatur.

Produkt	Temperatur	Polym.-grad
G 10	110°	110
G 9	70°	250
B 32	40°	850

¹⁾ B. 68, 2351 (1935).

²⁾ Gewichtsteile Methanol und Vinylchlorid.

Für die Lösungspolymerisation ist Di-benzoyl-peroxyd der gebräuchlichste Katalysator. Es wurde hier als Standardkatalysator benützt. Nach Patentangaben der *Carbide and Carbon*¹⁾ soll es aber den Nachteil haben, dass die Entfernung der relativ grossen Mengen (0,8—3% Di-benzoyl-peroxyd, bezogen auf Vinylchlorid) aus den polymeren Massen zusätzliche Massnahmen notwendig macht. Dies soll durch Verwendung von Acetyl-benzoyl-peroxyd vermeidbar sein. Die damit erhaltenen Produkte sollen auch eine grössere Widerstandsfähigkeit gegen Hitze und Licht haben. Eigene Versuche erwiesen, dass in gleichen Mengen Acetyl-benzoyl- und Di-benzoyl-peroxyd ungefähr denselben Einfluss haben, dass aber beim Acetyl-derivat die Minimalkonzentration, bei der unter mässiger Erwärmung die Polymerisation eintritt, etwa dreimal kleiner (0,25%) ist als beim Di-benzoylderivat (Tab. 3). Dies ist von Bedeutung für die Tatsache, dass der Polymerisationsgrad im umgekehrten Sinne abhängig ist von der Katalysatorkonzentration, was bei allen Vinylpolymerisaten der Fall ist. Acetyl-benzoyl-peroxyd ermöglicht also, dank seiner Anwendung in kleinern Mengen, die Gewinnung höherpolymerer Produkte²⁾.

Tabelle 3.
Abhängigkeit des Polymerisationsgrades von der Katalysatormenge und -art

Produkt	Katalysatormenge		Polymerisationsgrad
	Di-benzoyl-peroxyd	Acetyl-benzoyl-peroxyd	
B 44	2,88%	—	110
B 43	2,07%	—	125
B 41	1,75%	—	170
G 11	—	1,25%	220
B 45	1,07%	—	250
G 4	0,80%	—	405
B 29	—	0,25%	760

3. Polymerisationsinhibitoren.

Stoffe, welche je nach Menge und Wirksamkeit die Polymerisation hemmen oder ganz verunmöglichen, werden Inhibitoren genannt. Ohne auf die Vorteile der Emulsionspolymerisation zu verzichten, ist es möglich, durch Zusatz von solchen Inhibitoren weniger hochmolekulare Produkte zu bekommen. Es werden dafür unter andern kleine Mengen Ascorbinsäure, Phenole (besonders Hydrochinon und Pyrogallol), Pyridin, aromatische Amine, Harnstoff, Nitrobenzol und verschiedene Schwefelverbindungen (CS₂,

¹⁾ D.R.P. 636 315, Frdl. 21, 1628; A.P. 1 985 886 und D.R.P. 637 814, Frdl. 23, 95; A.P. 2 057 429 und D.R.P. 671 749, Frdl. 25, 1104.

²⁾ Versuche mit weitem Katalysatoren, jedoch in Emulsion, wobei Polymerisationsgrade bis über 2000 erzielt werden konnten, sind in der Diss. des einen von uns (Z.) beschrieben.

H₂S, SO₂) gebraucht. Dieses Verfahren kommt hauptsächlich zur Darstellung von Polymerisaten, die in Lösung verwendet werden sollen (Lacke), in Frage. Ausserdem benützt man die Inhibitoren seit längerer Zeit zur Stabilisierung von monomeren Vinylverbindungen, Aldehyden etc., die ja alle leicht zur Polymerenbildung neigen. Neben den bereits aufgezählten Stoffen kommt als Stabilisator für die Lichtpolymerisation des Vinylchlorids nach *Kutscherow*¹⁾ auch Jod in Betracht.

Diese letzte Beobachtung schien uns interessant, weil andererseits bei Styrol Jod katalytisch wirken soll. Da zudem die gebräuchlichsten Polymerisationsbeschleuniger Oxydationsmittel sind, schien die gegenteilige Wirkung des Jodes bei Vinylchlorid unerklärlich. Die Mitteilung von *Kutscherow* kann aber bestätigt werden: Nicht nur bei der durch Licht hervorgerufenen Reaktion, sondern auch in Lösung, mit oder ohne Zusatz von Di-benzoyl-peroxyd, erfolgt nie eine Polymerisation des Vinylchlorids. Brom hat dagegen fast keinen Einfluss, es verhindert die Polymerisation nur in unbedeutendem Masse. Wie zu erwarten, reagiert es jedoch ziemlich rasch mit dem Monomeren unter Bildung von 1,2-Dibrom-1-chlor-äthan. Dies sind neue Beweise für die Ansicht von *A. Guyer* und *H. Schütze*²⁾, nach der sowohl bei den Katalysatoren wie bei den Inhibitoren Stoffe von ganz verschiedenem chemischen Charakter anzutreffen sind, so dass also auf Grund des Verhaltens keine sichern Angaben über den Einfluss irgendeiner Verbindung auf Polymerisationsvorgänge gemacht werden können.

Zufällige Beobachtungen regten uns dazu an, verschiedene Amine als Zusatz zu Polymerisationsansätzen zu verwenden. Aromatische, aliphatische wie heterocyclische Amine hemmten alle in mehr oder weniger starkem Masse die Polymerisation auch dann, wenn sie in sehr kleinen Mengen zur Anwendung kamen neben den üblichen Peroxydzusätzen. Die Annahme, dass das Peroxyd die Amine oxydiert hätte und deshalb jenes seine Aufgabe als Polymerisationskatalysator nicht mehr erfüllen könnte, erwies sich als falsch: Die hemmende Wirkung ist auch dann vorhanden, wenn das Peroxyd im Überschuss (Molverhältnis Amin: Peroxyd = 1:10) vorhanden ist. Ausserdem tritt die Polymerisation normalerweise ja auch ohne Katalysatoren ein, wenn auch viel langsamer.

Nicht alle untersuchten Amine sind gleich starke Inhibitoren: Sehr ausgeprägt ist die Wirkung vor allem beim Anilin, fast ebenso stark beim Methylanilin und bei Pyrazolderivaten und zwei Sapaminprodukten der *Ciba*. Acetanilid hemmt in weniger grossem Masse und Dimethylanilin erwies sich als ziemlich milder Antikatalysator, ob schon sich auch in diesem Falle noch eine deutliche Erschwerung der Polymerisation durch schlechte Ausbeute, kleinen Polymerisationsgrad und trägern Reaktionsverlauf bemerkbar macht.

Erwähnt seien noch Versuche, die in anderm Zusammenhang ausgeführt wurden³⁾, bei denen Vinylchlorid mit m, m'- und p, p'-

¹⁾ B. 14, 1533 (1881).

²⁾ Helv. 17, 1545 (1934).

³⁾ Vgl. Helv. 28, 461/462 (1945).

Dinitro-dibenzoyl-peroxyd als Katalysator polymerisiert werden sollte. Die Reaktion erfolgte aber in keinem Falle: die hemmende Wirkung der Nitrogruppe ist hier offenbar besonders gross, was nicht verwunderlich ist, da ja auch Nitrobenzol ein technisch verwendbarer Polymerisationsinhibitor ist¹⁾.

Experimenteller Teil.

Polymerisationsversuche.

Da Vinylchlorid bei $-14,5^{\circ}$ siedet und die Polymerisationstemperatur $40-110^{\circ}$ beträgt, muss die Reaktion unter Druck ausgeführt werden. Nach einer Druck-Temperatur-tabelle von Dana, Burdick und Jenkins²⁾ beträgt der Druck bei diesen Temperaturen im Minimum 6 Atm. (40°), bei 110° ca. 20 Atm.

Als Druckgefässe verwendeten wir bei kleinen Ansätzen Bombenrohre, für grössere Mengen Glasautoklaven von ca. 300 cm^3 nutzbarem Inhalt. Vinylchlorid und sämtliche Zusätze (Dispersionsmittel, Katalysatoren etc.) wurden unterhalb des Siedepunktes des Vinylchlorids eingefüllt. Die Erhitzung des Glasautoklaven erfolgte in einem Luftbad mit elektrischer Heizung. Das ganze Luftbad konnte im Bedarfsfalle geschüttelt werden (Emulsionsversuche!)

Zusammenstellung der beschriebenen Versuche

No.	Ansatz				Versuch		Polymerisat	
	$\text{C}_2\text{H}_5\text{Cl}$ g	CH_3OH g	H_2O g	Di- benzoyl- peroxyd g	Dauer Std.	Tem- peratur	Ausbeute	Polym- grad
B 1	21,1	19,0	—	0,175	48	$60-80^{\circ}$	77%	310
B 3	24,0	—	—	0,243	36	57°	93%	180—320
B 10	10,3	30,0 ³⁾	—	0,101	20	85°	73%	87
B 11	10,1	30,0 ⁴⁾	—	0,103	21	80°	28%	295
B 12	10,4	30,0 ⁵⁾	—	0,108	20 $\frac{1}{2}$	80°	81%	100
B 29	14,8	16	3	0,037 ⁴⁾	19	$50-52^{\circ}$	55%	760
B 32	9,5	22	6	0,148	42	40°	—	850
B 41	5,7	21,5	—	0,100	44	60°	92%	170
B 43	5,6	17,5	—	0,116	15	57°	30%	125
B 44	5,5	19	—	0,158	15	55°	33%	110
B 45	6,5	6,3	—	0,069	36	57°	76%	250
B 46	8,5	16,5	—	0,091	36	57°	36%	170
B 47	7,7	31,0	—	0,840	36	57°	12%	130
B 48	9,0	14,0	—	0,090	20	55°	44%	215
B 49	10,1	15,5	7,0	0,100	20	55°	61%	345
B 50	14,0	22,0	16,5	0,142	20	55°	78%	450
B 59	6,6	10,5	35,0	0,067	24	$55-57^{\circ}$	89%	890
G 4	120	54	6,0	0,964	48	$55-60^{\circ}$	74%	405
G 9	82	75	15	0,992	8	70°	73%	250
G 10	35	42	—	0,220	14	110°	75%	110
G 11	52	50	5	0,651 ⁶⁾	25	55°	80%	220

1) I.P. 382 509, Alex. Wacker, C. 1942, I, 3149.

2) Am. Soc. 49, 2802 (1927).

3) Toluol.

4) Hexan.

5) Dioxan.

6) Acetyl-benzoyl-peroxyd.

Die im Bombenrohr ausgeführten Versuche wurden fortlaufend mit B 1, B 2 . . . , diejenigen im Glasautoklav mit G 1, G 2 . . . bezeichnet. Die Öffnung der Druckgefäße erfolgte jeweils wiederum bei Temperaturen unter $-14,5^{\circ}$. Die Polymerisate halten hartnäckig Lösungsmittelreste zurück; sie dürfen jedoch nicht bei erhöhter Temperatur getrocknet werden, da Polyvinylchlorid temperaturempfindlich ist. Die Trocknung bis zur Gewichtskonstanz erfordert 4—10 Tage ununterbrochener Hochvakuumbehandlung (0,01—0,1 mm) bei Zimmertemperatur.

Nähere Angaben über diese Versuche sowie über diejenigen, welche die Wirkung der Inhibitoren betreffen, finden sich in der Diss. *Zollinger*, ETH. 1945.

Zusammenfassung

1. Zur Lösungspolymerisation von Vinylchlorid mit Peroxydkatalysatoren eignen sich besonders jene Lösungsmittel, welche das Polymere praktisch überhaupt nicht lösen.

2. Durch Wasserzusatz zum Dispersionsmittel werden Produkte mit höherem Polymerisationsgrad erhalten.

3. Polymerisationsgrad und Lösungsmittelmenge stehen im umgekehrten Verhältnis zueinander.

4. Ein hoher Polymerisationsgrad lässt sich ausserdem durch Anwendung tiefer Reaktionstemperaturen ($35-40^{\circ}$) und mit Acetyl-benzoyl-peroxyd als Katalysator erzielen.

5. Jod, sowie mehrere aliphatische, aromatische und heterocyclische Amine hemmen die Polymerisation in verschieden starkem Masse. Brom wirkt kaum auf den Polymerisationsvorgang ein, es wird an das Monomere angelagert.

Organisch-technisches Laboratorium
der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

155. Observations sur la photolyse de l'oxyde diazotique¹⁾ (protoxyde d'azote) à l'état comprimé

par E. Briner et H. Karbassi.

(1er IX 45)

Dans de précédentes publications²⁾, nous avons étudié, en nous servant d'un appareillage approprié, l'action des radiations ultraviolettes sur l'oxygène, plus ou moins comprimé, en vue de la production de l'ozone. Il a été constaté dans les essais que, contrairement à ce que l'on avait cru, la compression de l'oxygène n'était pas favorable à la formation d'ozone. Voulant nous rendre compte si cet effet présentait une certaine généralité, nous avons soumis, dans des conditions expérimentales semblables, le gaz oxyde diazotique (protoxyde d'azote) à la photolyse.

Celle-ci a fait l'objet de quelques travaux de la part d'auteurs, notamment *J. Y. Macdonald*³⁾ et *Noyes*⁴⁾, qui ont opéré à des pressions inférieures à la pression atmosphérique.

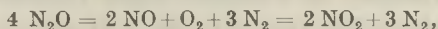
¹⁾ Pour la nomenclature comparer *Helv.* **23**, 1014 (1940).

²⁾ *Helv.* **28**, 496 et 1014 (1945).

³⁾ *Soc.* **1928**, 1.

⁴⁾ *J. Chem. Physics* **5**, 807 (1937).

Macdonald a utilisé, comme source de radiations ultraviolettes, soit la lampe à vapeur de mercure, soit l'étincelle condensée entre électrodes d'aluminium. Les produits de décomposition trouvés répondent à l'équation :



avec cependant un petit excès d'oxygène sur ces quantités. Cette équation justifierait approximativement la valeur 3,9 calculée pour le rendement quantique. Quant aux radiations actives, l'arrêt de la décomposition constaté lorsqu'une lame de gélatine est interposée démontre qu'elles doivent avoir des longueurs d'onde inférieures à 2000 Å.

Noyes, qui s'est servi aussi de l'étincelle de l'aluminium, conclut à l'intervention, comme processus primaire, de la décomposition selon $\text{N}_2\text{O} = \text{N}_2 + \text{O}$, mais avec possibilité du processus $\text{N}_2\text{O} = \text{NO} + \text{N}$.

Au sujet de l'influence de la pression, nous relevons, dans le tableau des résultats des essais de *Macdonald*, que le gaz étant soumis aux radiations pendant 10 minutes à des pressions initiales variant de 21 à 607 mm. Hg, les quantités de N_2O décomposées (mesurées en mm. de pression) commencent par augmenter, pour passer par un maximum (8,3 mm.) à la pression initiale de 553 mm.

Il y a lieu de relever ici, à titre de comparaison, comme l'a fait aussi *Macdonald*, les caractéristiques de la décomposition thermique de N_2O au-dessus de 500°. La plupart des auteurs qui l'ont étudiée ont envisagé surtout la décomposition selon l'équation $2 \text{ N}_2\text{O} = 2 \text{ N}_2 + \text{O}_2$. Ainsi, *Hunter*¹⁾ a constaté que la décomposition correspondait bien à ce processus bimoléculaire. Cet expérimentateur, de même que *Hinshelwood* et *Burk*²⁾, ont cependant noté la production de faibles proportions d'oxydes supérieurs qui sont formés à partir de NO. De fait dans un travail effectuée dans ce laboratoire³⁾, il a été reconnu que les proportions d'oxyde d'azote formé pouvaient être relativement fortes puisque, en augmentant la température, elle correspondent, dans les conditions des expériences, à plus de 20% de N_2O détruit à 1300° pour diminuer ensuite rapidement aux températures supérieures.

Dans nos expériences, nous nous sommes servis de la lampe à vapeur de mercure et avons opéré dans des conditions qui seront exposées plus loin, dans la partie expérimentale. Il convient cependant de noter ici que les quantités de N_2O décomposées étant relativement faibles, on a eu recours, pour les mesurer, à une méthode très sensible et suffisamment exacte: le procédé de dosage colorimétrique de l'ion NO_2' par le réactif de *Gries-Ilosvay*. Mais cette méthode ne peut fournir des indications sur les quantités de NO produites que si celles-ci se trouvent en présence d'assez d'oxygène pour donner lieu à leur absorption, dans une solution alcaline, sous forme de nitrite ou d'un mélange de nitrite et de nitrate. Le procédé nous a conduits cependant aux données nécessaires pour nous fixer sur le caractère de la décomposition de l'oxyde diazotique et sur l'effet qu'il éprouve du fait de la compression. C'est ainsi que les quantités d'oxyde d'azote obtenues attestent la présence, dans les produits de la photolyse, de l'oxyde d'azote et de l'oxygène. Cette constatation est donc en faveur d'une décomposition du protoxyde d'azote simultanément en azote et oxygène et en oxyde d'azote et azote.

¹⁾ Z. physikal. Ch. 53, 441 (1895).

²⁾ Proc. Roy. Soc. [A] 106, 284 (1924).

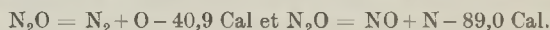
³⁾ *Briner, Meiner et Rothen*, J. Chim. phys., 23, 608 (1926) et Helv. 9, 409 (1926).

En ce qui concerne l'effet de la compression, les résultats trouvés sont semblables à ceux qui ont été enregistrés dans le cas de la production photochimique de l'ozone: dans l'intervalle de pression exploré (5 à 40 atm.), les quantités de N_2O décomposées, après des durées d'éclairement égales et mesurées comme on vient de l'indiquer, diminuent notablement avec l'accroissement de la pression. Il semble donc que, d'une façon générale, de trop fortes compressions des gaz ne sont pas favorables à leur transformation photochimique.

D'autre part — et c'est un résultat que nous avons également observé dans le cas de la production de l'ozone — l'interposition d'un filtre, arrêtant les radiations de longueurs d'onde inférieures à 2200 Å, annule pratiquement l'effet photochimique. Relevons ici que, dans ces régions du spectre, l'absorption de la lumière par le protoxyde d'azote comporte¹⁾ précisément, à la pression ordinaire, des bandes continues. En nous référant aussi aux résultats enregistrés par *Macdonald*, nous sommes amenés à attribuer l'effet photochimique aux deux raies de l'arc au mercure 1942 et 1849 Å, qui sont particulièrement intenses.

Quant au mécanisme de la photolyse, il a fait l'objet de discussions dans les mémoires précités²⁾. Les remarques suivantes préciseront cependant quelques points d'un problème, qui demande encore d'autres études pour être complètement élucidé.

D'après les résultats expérimentaux, il paraît vraisemblable que les deux processus chimiques primaires déclanchés simultanément par les radiations sont, avec leur tonalité énergétique:



Ces tonalités thermiques ont été calculées à partir des données énergétiques suivantes:



Les radiations actives devant avoir des longueurs d'onde inférieures à 2000 Å, le quantum d'énergie qui leur correspond, rapporté à une molécule-gramme, est $E = 142,4 \text{ Cal.}$; il est calculé par la relation $E = 284\,800/\lambda$ (E en Cal. et λ en Å) déduite du principe d'équivalence photochimique d'*Einstein*.

Les processus photochimiques primaires doivent donc être plus endoénergétiques que ceux indiqués plus haut. Il faut alors admettre que les produits de ces réactions se trouvent à l'état activé, comme c'est le cas dans la dissociation photochimique des molécules d'iode

¹⁾ Voir à ce sujet notamment *Wulf et Melwin*, *Phys. Rev.* **39**, 180 (1932); *Manning et Noyes*, *Am. Soc.* **54**, 3907 (1932).

²⁾ *Macdonald*, loc. cit.; *Noyes*, loc. cit.

ou de brome, où l'un des deux atomes ressort activé de la dissociation. Notons même que, dans le premier des deux processus ci-dessus il ne serait pas suffisant que l'atome O soit à l'état actif (¹D) souvent pris en considération¹) car, l'énergie correspondant à cette activation étant de 45,7 Cal., on obtient un total de 86,6 Cal., bien inférieur encore à la valeur requise (égale ou supérieure à 142,4). Les deux particules issues du processus doivent être donc à l'état activé; ou, si une seule des deux l'est, il s'agira alors d'un état d'activation supérieur. Mais en se basant toujours sur le fait expérimental que les radiations actives ont des longueurs d'onde inférieures à 2000 Å, il faut admettre que l'action photochimique qui est à l'origine des processus chimiques, c'est-à-dire l'absorption, par la molécule N₂O, d'un quantum d'énergie $E \geq 142,4$ Cal. (rapporté à la molécule/gramme), doit la porter à un niveau d'activation particulièrement élevé. Dès lors, l'effet défavorable exercé par une trop forte compression du gaz sur les transformations photochimiques dont il est le siège s'expliquerait par des processus de désactivation par choc; ces processus sont, en effet comme on le sait, favorisés jusqu'à un certain point par les accroissements de concentration²), résultant dans le cas des gaz de l'élévation de pression.

Comme dans la production photochimique de l'ozone — et c'est ce que montrent bien, dans l'un et l'autre cas, les courbes représentant (voir les figures) les concentrations des produits formés (NO ou O₃) en fonction des durées d'éclairement — les concentrations atteignent des limites réalisées lorsque la lumière détruit autant de molécules de NO (ou de O₃) qu'elle n'en forme. La décomposition de NO donne en effet surtout de l'azote et un peu de N₂O³).

Il faut relever enfin que, dans les deux cas, les concentrations limites des produits formés sont plus faibles et atteintes après des durées d'éclairement plus courtes aux fortes pressions qu'aux faibles pressions; ceci s'interprète aussi par une diminution, avec la pression croissante, de la vitesse de production de l'un et l'autre corps telle que cette diminution résulte de l'influence des chocs désactivants envisagés plus haut.

1) Plusieurs auteurs (voir sur ce sujet *Briner et Karbassi*, *Helv.* **28**, 496 (1945)) le font intervenir pour expliquer la production photochimique de O₃.

2) On peut rapprocher cette constatation de l'optimum de concentration observé dans les phénomènes de fluorescence et que l'on explique aussi par l'intervention des processus de désactivation.

3) *Macdonald*, loc. cit. Il faut rappeler à ce sujet que la décomposition thermique de NO aux hautes pressions — elle est rapide déjà à la température ordinaire si la pression est suffisamment élevée, supérieure à 300 atm. — donne aussi de l'oxyde diazotique (*Briner et Boubnoff*, *J. Chim. phys.* **11**, 592 (1913)) alors que, à la pression ordinaire, il ne se forme pas de N₂O (*Briner, Meiner et Rothen*, loc. cit.).

Partie expérimentale.

Le dispositif expérimental est celui qui a été décrit dans un mémoire précédent¹⁾.

Le tube de silice transparente ayant servi de chambre de réaction a les dimensions suivantes: longueur 15 cm., diamètre intérieur 0,6 cm., diamètre extérieur 1 cm.

La longueur éclairée par la lampe à vapeur de mercure étant de 12,5 cm., le volume éclairé v est égal à 3,53 cm³. Le gaz circule dans la chambre à la pression p (en atm.) et le volume du ballon dans lequel le gaz est recueilli à la pression atmosphérique étant V (5000 cm³), la durée de remplissage du ballon étant Θ en minutes, on en déduit la durée T en minutes, pendant laquelle le gaz a été soumis aux radiations, par la formule:

$$T = \frac{3,53 p \Theta}{v}$$

L'oxyde diazotique utilisé est le produit préparé pour les anesthésies; il a donc été spécialement bien purifié. Il est extrait d'un tube²⁾ qui le renferme à l'état liquide, pour le remplissage d'un petit cylindre, d'où il parvient dans la chambre à réaction, à la pression p . Comme on l'a dit plus haut, le mode d'analyse employé consiste à déterminer les quantités d'oxyde d'azote formée donnant du nitrite de sodium par réaction avec l'oxygène et contact avec une solution de soude caustique. Le dosage se fait par le procédé colorimétrique de *Gries-Ilosvay*³⁾.

Il faut relever que la présence de nitrite est en accord avec la production par la photolyse d'oxyde d'azote, d'oxygène et d'azote, selon les processus indiqués plus haut. Il y a lieu cependant de remarquer que, si l'oxygène est en excès sur les proportions $\text{NO} - \frac{1}{2} \text{O}_2$ et si la durée pendant laquelle les deux gaz sont en présence est suffisamment longue, NO sera entièrement à l'état peroxydé et la réaction avec la soude caustique donnera une molécule de nitrate et une molécule de nitrite. C'est le cas réalisé dans nos opérations après la durée de contact de 24 heures. En effet, une addition d'oxygène au système n'a pas modifié les quantités d'oxyde d'azote trouvées. Dès lors, nous avons été amenés à doubler les quantités d'oxyde d'azote correspondant au nitrite trouvé.

Si l'oxygène est en quantité insuffisante, ou si la durée de contact avec l'oxyde d'azote n'est pas assez longue, on pourra trouver davantage de nitrite pour une même quantité de NO , car il y aura moins de nitrate formé. C'est ce que nous avons constaté dans des essais où la durée de contact n'avait été que d'une demi-heure.

Du fait de ces réactions, les quantités de nitrite trouvées et les concentrations de NO formé qui en sont déduites, ne sont pas exactes en valeurs absolues; mais leurs valeurs relatives sont suffisantes pour fournir, ainsi qu'on l'a relevé plus haut, les indications désirées quant à l'allure de la photolyse de N_2O et à l'influence exercée sur elle par la compression du gaz.

Les résultats de nos essais sont condensés dans le tableau I, dans lequel les abréviations ont les significations suivantes:

N^0 , numéro d'ordre de l'essai;

p , pression en atmosphères;

Θ , durée en minutes de l'essai;

T , durée pendant laquelle le gaz a été soumis aux radiations; elle a été calculée par la formule indiquée plus haut;

V , volume du gaz recueilli à la fin de l'essai dans le ballon collecteur; ce volume est constant, égal à 5000 cm³;

¹⁾ *Briner et Karbassi*, *Helv.* **28**, 496 (1945); voir aussi, pour plus de détails, la thèse de *H. Karbassi*, Genève, 1944.

²⁾ Ce tube a été mis obligeamment à notre disposition par la *Société Carba*, à Berne-Liebfeld, que nous tenons à remercier ici.

³⁾ Il est indiqué dans le *Traité de chimie analytique de Treadwell*, traduction française, 1932, **2**, 321; un exposé détaillé est donné aussi dans la thèse de *H. Karbassi* déjà signalée.

n, nombre de cm³ d'une solution de nitrite de sodium; 0,01816 gr./litre correspondant à la quantité de ce corps formée par réaction entre le gaz après qu'il a été soumis aux radiations avec la solution de soude caustique; pour tous ces essais la durée de contact entre le gaz et la solution a été de 24 h.;

C, concentration volumétrique de l'oxyde d'azote évaluée d'après le nitrite trouvé, ainsi qu'il a été indiqué plus haut; la concentration volumétrique en % s'obtiendrait naturellement en multipliant C par 100.

La température du tube soumis aux radiations est un peu plus élevée que la température ordinaire du fait de la chaleur dégagée par la lampe à vapeur de mercure. Cette température est de 30° environ.

Tableau I.

N°	p	Θ	T	n	C × 10 ²
1	40	414	11,7	600	14,1
2	40	170	4,8	360	8,5
3	40	94	2,66	300	5,6
4	40	52	1,47	128,6	3,0
5	20	410	5,8	940	22
6	20	213	3	555	13
7	20	114	1,61	250	5,8
8	20	74	1,04	175	4,1
9	10	122	0,86	266,6	6,3
10	5	282	1,0	667	15,6
11	40	—	0	0,1	—

L'essai à blanc (n° 11), c'est-à-dire sans éclaircissement, donne une valeur de n très faible par rapport à celle enregistrée lorsque le gaz est soumis aux radiations; cette valeur est de l'ordre des erreurs de dosage par la méthode employée.

Ce tableau fait apparaître les particularités de l'action exercée par la compression, soit: 1° la diminution, avec l'élévation de pression et après des durées d'éclaircissement égales, des quantités de N₂O décomposées, mesurées par les quantités de NO formées; 2° la tendance à la limitation des concentrations de NO produites par la photolyse lorsque la durée d'éclaircissement s'accroît. Ces caractères se manifestent d'une façon plus visible dans le graphique de la figure 1, où l'on a porté en abscisse les durées en minutes et en ordonnée les concentrations de l'oxyde d'azote; la courbe A se rapporte à la pression 40 atm. et la courbe B à la pression 20 atm. (voir page 1210).

D'après ces courbes, la limite de réaction correspond à des concentrations plus faibles de NO, atteintes après des durées plus courtes à 40 atm. qu'à 20 atm.

Le tableau II met en évidence l'effet exercé par l'interposition du filtre VG8¹⁾, qui supprime les radiations de longueur d'onde inférieures à 2200 Å.

Tableau II.

N°	p	Θ	T	n	C	Observations
12	40	91	2,5	0,30	7 × 10 ⁻⁷	avec filtration
13	40	87	2,5	233	5,6 × 10 ⁻⁴	sans filtration

¹⁾ Fourni par Schott & Gen., Iéna.

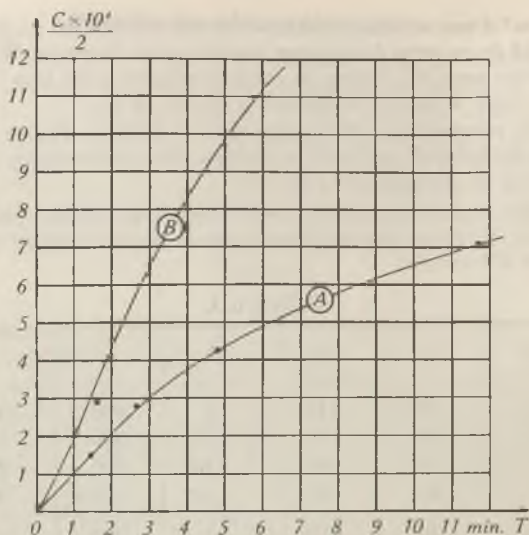


Fig. 1.

Ainsi les radiations actives sont celles dont la longueur d'onde est inférieure à 2200 Å. On peut conclure de ces résultats et de ceux trouvés par *Macdonald* dans ses essais avec filtration que les deux raies de la lampe à mercure qui sont responsables de la photolyse de N_2O sont les raies 1942 et 1849 Å, particulièrement intenses.

RÉSUMÉ.

En nous servant de la lampe à vapeur de mercure comme source de rayons ultraviolets, nous avons étudié la photolyse de l'oxyde diazotique (protoxyde d'azote) comprimé à des pressions allant de 5 à 40 atm.

Comme pour la production de l'ozone par action des radiations ultraviolettes sur l'oxygène comprimé, on a constaté qu'à durée égale d'éclairement, les quantités de substance transformées diminuent avec la pression croissante, que la réaction est limitée et que la limite est abaissée par l'élévation de la pression. L'interposition d'un filtre a montré que la photolyse est due à des radiations de longueurs d'onde inférieures à 2200 Å. Tenant compte des observations faites par un autre auteur¹⁾, on peut conclure que les radiations actives de la lampe à vapeur de mercure sont celles qui correspondent aux longueurs d'onde 1942 et 1849 Å.

Le quantum d'énergie — rapporté à une molécule/gramme — correspondant à la région active du spectre étant de $E = 142,4$ Cal., on est conduit à admettre que les deux réactions simultanées provoquées par la lumière (décomposition en azote et en oxygène et décomposition en oxyde d'azote et azote) doivent fournir des produits à l'état actif.

¹⁾ *Macdonald*, loc. cit.

Les particularités de l'action de la pression peuvent s'interpréter par des processus de désactivation des molécules d'oxyde diazotique portées à des niveaux d'activation supérieurs par l'action des radiations ultraviolettes.

Laboratoires de Chimie technique, théorique et d'Electrochimie de l'Université de Genève, Août 1945.

156. Beitrag zum Problem der Decarboxylierung

1. Mitteilung

von H. Schenkel und A. Klein.

(3. IX. 45.)

Einleitung.

Das Thema der Decarboxylierung hat schon mannigfache Bearbeitung erfahren. Die zahlreichen Beobachtungen des präparativen Chemikers über die Abspaltung von Kohlendioxyd aus Carbonsäuren wurden von den verschiedensten Gesichtspunkten aus genauer untersucht.

Ausgehend von der klassischen Lehre über den Einfluss von Substituenten auf die Reaktionsfähigkeit von Molekeln wurden substituierte Benzoe- und Naphtoesäuren auf ihre Fähigkeit zu decarboxylieren untersucht¹⁾²⁾³⁾.

Die Tautomerielehre gab Anlass zu der Frage, ob bei den leicht zersetzlichen Ketosäuren die Decarboxylierung mit der Enolisierung zusammenhänge⁴⁻⁷⁾.

Auf dem Gebiete der physikalischen Chemie hat die Theorie der elektrolytischen Dissoziation zu vergleichenden Untersuchungen geführt über die CO₂-Abspaltung von undissoziierter Säure und Säureanion. Speziell wurde dazu die p_H-Abhängigkeit der Decarboxylierungsgeschwindigkeit in wässrigen Lösungen untersucht⁵⁾⁶⁾⁸⁻¹⁶⁾.

¹⁾ M. P. Cazeneuve, Bl. [3] 7, 550 (1892).

²⁾ M. P. Cazeneuve, Bl. [3] 15, 72 (1896).

³⁾ F. v. Hemmelmayr, M. 34, 365 (1913).

⁴⁾ J. Bredt, Ann. Acad. sci. Fenn. [A] 29, No. 2 (1927).

⁵⁾ K. J. Pedersen, Am. Soc. 51, 2089 (1929).

⁶⁾ K. J. Pedersen, Am. Soc. 58, 240 (1936).

⁷⁾ N. O. Engfeld, Diss. Stockholm 1920.

⁸⁾ H. v. Euler und A. Ölander, Z. anorg. Ch. 147, 295 (1925).

⁹⁾ K. J. Pedersen, Trans. Faraday Soc. 23, 316 (1927).

¹⁰⁾ J. F. Heubeger, Svensk. kem. Tidskr. 38, 364 (1927); Diss. Upsala 1928.

¹¹⁾ K. J. Pedersen, Am. Soc. 53, 18 (1931).

¹²⁾ K. J. Pedersen, J. Phys. Chem. 38, 559 (1934).

¹³⁾ J. Muus, J. Phys. Chem. 39, 343 (1935).

¹⁴⁾ A. Locke, Am. Soc. 46, 1246 (1924).

¹⁵⁾ E. M. P. Widmark, Acta med. Skand. 53, 393 (1920).

¹⁶⁾ F. v. Hemmelmayr, Sber. Akad. Wien [IIb] 124, 13 (1915).

Weiter finden wir eine grosse Zahl von Untersuchungen über den Einfluss des Lösungsmittels und von Katalysatoren auf die Decarboxylierungsgeschwindigkeit. Neben Untersuchungen chemisch-reaktionskinetischer Art¹⁾²⁻¹¹⁾ stehen hier vor allem Fragen von biologisch-chemischem Interesse im Vordergrund. Es werden wirksamste Katalysatoren für Modellreaktionen biochemischer Prozesse gesucht¹²⁾. Es wird die Lösungsmittelabhängigkeit, speziell p_H -Abhängigkeit, katalysierter Decarboxylierungsreaktionen untersucht¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾. Von der biochemischen Spezifität der Enzyme ausgehend, wird das Problem der optisch-aktiven Synthese durch optisch-aktive Katalysatoren anhand von Decarboxylierungen behandelt¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾.

In rein physikalisch-chemischer Hinsicht wurde die Decarboxylierungsreaktion herangezogen, um die Eignung mechanischer Reaktionsmodelle zu beurteilen¹⁹⁾²⁰⁾.

Ferner diente sie dazu, den Einfluss des Aggregatzustandes auf die Reaktionsgeschwindigkeit festzustellen²¹⁾.

Vom Standpunkt der Elektronentheorie der Struktur aus ist versucht worden, den Substituenteneinfluss auf die Decarboxylierungsgeschwindigkeit zu erklären²²⁾. Von ihr aus ist auch eine Formel für den Decarboxylierungsmechanismus aufgestellt worden²³⁾²⁴⁾.

Doch auch mit diesen modernen Formulierungen scheint es nicht möglich, die so verschiedenartigen experimentellen Befunde zu ordnen. Es schien uns deshalb angezeigt, zur weiteren Klärung

¹⁾ K. J. Pedersen, Am. Soc. **51**, 2089 (1929).

²⁾ G. Bredig und R. W. Balcolm, B. **41**, 740 (1908); R. W. Balcolm, Diss. Heidelberg 1905.

³⁾ H. Goldschmidt und R. Bräuer, B. **39**, 109 (1906).

⁴⁾ J. Linder, M. **28**, 1041 (1907).

⁵⁾ R. A. Joyner, Diss. Karlsruhe 1913.

⁶⁾ H. J. M. Creighton, Z. physikal. Ch. **81**, 543 (1913).

⁷⁾ W. Pastanogoff, Z. physikal. Ch. **112**, 448 (1934).

⁸⁾ E. Müller und F. Müller, Z. El. Ch. **31**, 45 (1925).

⁹⁾ E. O. Wiig, J. Phys. Chem. **32**, 961 (1928).

¹⁰⁾ K. J. Pedersen, Am. Soc. **60**, 595 (1938).

¹¹⁾ G. Bredig, Z. El. Ch. **24**, 285 (1918).

¹²⁾ W. Langenbeck und K. Weissenborn, B. **72**, 724 (1929) und vorherige Mitteilungen über Carboxylasemodelle.

¹³⁾ N. O. Engfeld, Diss. Stockholm 1920.

¹⁴⁾ G. Ljunggren, Diss. Lund 1925.

¹⁵⁾ E. M. P. Widmark und C. A. Jeppsson, Scand. Arch. Physiol. **42**, 43 (1922).

¹⁶⁾ G. Bredig, Z. El. Ch. **24**, 285 (1918).

¹⁷⁾ G. Bredig und K. Fajans, B. **41**, 752 (1908).

¹⁸⁾ K. Fajans, Z. physikal. Ch. **73**, 25 (1910); Diss. Heidelberg 1910.

¹⁹⁾ A. L. Bernoulli und W. Wege, Helv. **2**, 511 (1919); Diss. Berlin 1919.

²⁰⁾ A. L. Bernoulli und H. Jakubovicz, Helv. **4**, 1018 (1921); Diss. Basel 1922.

²¹⁾ C. N. Hinshelwood, Soc. **117**, 156 (1920).

²²⁾ C. Naegeli, A. Tyabji, L. Conrad und F. Litwan, Helv. **21**, 1100 (1938).

²³⁾ P. Dyson und D. Ll. Hammick, Soc. **1937**, 1724.

²⁴⁾ R. F. Ashworth, R. P. Daffern und D. Ll. Hammick, Soc. **1939**, 809.

dieses Reaktionstypus vom Standpunkt der heutigen Anschauungen über den Mechanismus von Reaktionen aus, neues experimentelles Material zu liefern.

Experimentelle Anordnung.

Zur experimentellen Bestimmung der Decarboxylierungsgeschwindigkeit wurden bis jetzt drei Verfahren angewandt: die volumetrische, die manometrische und die gravimetrische Bestimmung des gebildeten Kohlendioxyds nach Absorption. Wir haben eine Methode gewählt, bei welcher das bei der Decarboxylierung gebildete CO_2 aus offenem Gefäß entweicht und der dadurch bedingte Gewichtsverlust durch Wägen festgestellt wird. Eine analoge Methode wurde zuerst von *Guichard* zum Entwässern von Salzhydraten verwendet¹⁾. Dazu sei folgendes bemerkt:

Die Bestimmungen lassen sich mit 0,1—0,2 g Substanz durchführen, wobei der Gewichtsverlust auf 0,2 mg genau bestimmt werden kann. Es lässt sich somit, z. B. im Falle der Picolinsäure mit einem Totalverlust von 35,8% CO_2 , die Gewichtsabnahme auf 0,3—0,6% genau feststellen. Speziell klein wird der Wägefehler dann, wenn die Decarboxylierung bei einer Temperatur vorgenommen wird, die höher liegt, als der Siedepunkt der decarboxylierten Substanz. Es entweicht dann neben CO_2 auch der Rest der Molekel, wobei also der Gewichtsverlust der gesamten decarboxylierten Substanz entspricht. Als Fehlerquelle dieser Methode ist zu berücksichtigen, dass Gewichtsverluste durch blosses Verdampfen der Säure entstehen können, um so mehr als durch die CO_2 -Entwicklung ein Gasstrom entsteht. Um dies zu vermeiden, haben wir als Reaktionsgefässe lang- und enghalsige Glaskölbchen verwendet. Der Hals wird mit Glaswolle gestopft und kann gegebenenfalls zum Ofen herausragen. Auch lassen sich leicht zwischen zwei Glaswollepfropfen Absorptionsmittel einfüllen, beispielsweise mit konz. Schwefelsäure getränkte Bimssteinstückchen für flüchtige Basen.

Die Skizze (Fig. 3, S. 1214) bringt eine schematische Darstellung der Apparatur, deren Aufbau kurz besprochen werden soll. — Als Wage wählen wir eine Analysenwage mit Kettengewicht. Der Vorteil gegenüber einer solchen mit Reiter besteht darin, dass die Einstellung bei schwingender Wage durchgeführt werden kann. Die eine Wageschale trägt an der Unterseite ein Häkchen, woran durch ein Loch im Bodenbrett, an dünnem Draht das Reaktionsgefäß in den darunter befindlichen Ofen gehängt wird. Der Ofen besteht aus zwei senkrecht gestellten, 35 cm langen Eisenrohren, die gemeinsam mit dem Heizdraht unwickelt sind. Dieser Heizkörper steht in einem weiten Zylinder aus Asbest. Zur Wärmeisolation ist der Zwischenraum mit Glaswolle angefüllt. Zum Schutz gegen momentane Temperaturschwankungen (Zugluft) steht dieser Ofen in einem Gehäuse aus Pavatexplatten. Das weitere der Eisenrohre mit einem Durchmesser von 4,5 cm ist zur Aufnahme des Reaktionsgefäßes und des Thermometers bestimmt. Im andern Rohr von 3 cm Durchmesser ist der Thermoregulator untergebracht. Die Heizung geschieht über zwei regulierbare Widerstände. Der Hauptwiderstand von 230 Ω dient dazu, die Temperatur des Ofens (Eigenwiderstand 74 Ω) ungefähr einzustellen, und zwar 1—2° tiefer als zur Decarboxylierung gewünscht. Der Feinwiderstand von 690 Ω ist dem Hauptwiderstand parallel geschaltet und erhöht die Temperatur des Ofens, wenn dauernd eingeschaltet, um etwa 3°. Er dient dazu, die Ofentemperatur auf der gewünschten Höhe konstant zu halten und wird zu diesem Zweck von dem im Ofen befindlichen Thermoregulator (Fig. 1) aus- und eingeschaltet. Wir verwenden einen Hg-Regulator, dessen Hg-Reservoir die Form eines Hohlzylinders hat. Es wird damit ein sehr rasches Ansprechen auf Temperaturänderungen erhalten. Diesem Gefäß ist die Kapillare mit Kontaktstift und ein KPG-Rohr mit einge-

¹⁾ *M. Guichard*, Bl. [4] 33, 258 (1923); Ann. chim. [11] 9, 323 (1938).

passtem Graphitzylinder angeschmolzen. Durch Verschieben des Zylinders mittels einer Schraube lässt sich das Hg-Niveau in der Kapillare verschieben und damit die Schalttemperatur einstellen. Wirklich einwandfreies Funktionieren des Regulators erhält man auf die Dauer nur bei sehr kleinem Regulatorstrom, weil bei grösseren Stromstärken (10 mA) beim Stromunterbruch ein Öffnungsfunke entsteht, was zur Oxydation der Hg-Oberfläche führt und den Kontakt zwischen Pt-Stift und Hg unzuverlässig macht.

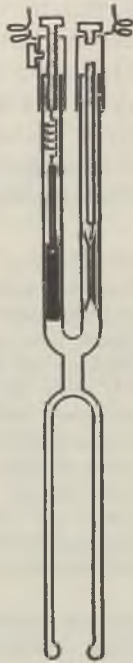


Fig. 1.

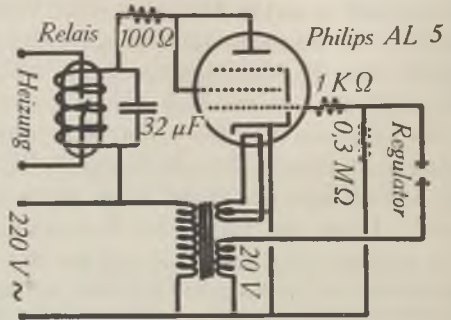


Fig. 2.

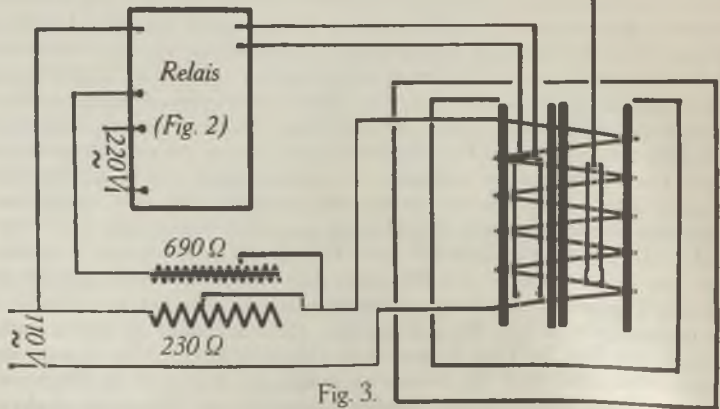


Fig. 3.

Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3.
Apparative Anordnung.

Die von uns verwendete Anordnung ist dem Schaltschema (Fig. 2) zu entnehmen: Dem Relais (Vertex Type 15) ist eine Verstärkerröhre (*Philips AL5*) vorgeschaltet. Diese wird mit 220 Volt Wechselstrom betrieben. Im Gitterkreis der Röhre liegt der Thermoregulator. Wird der Gitterkreis durch den Regulator geschlossen — bei zu hoher Temperatur — so besitzt das Gitter ein Potential von ungefähr -20 Volt, die Röhre wird gesperrt. Es fließt kein Anodenstrom, und das durch die Röhre gesteuerte Relais unterbricht dann den zusätzlichen Heizstrom. Wird der Gitterkreis vom Regulator unterbrochen — bei zu niedriger Temperatur — so besitzt das Gitter das Potential Null. Es fließt dann der volle Anodenstrom, und das Relais schaltet den zusätzlichen Heizstrom ein. Die Gittervorspannung wird einem kleinen Transformator entnommen, und zwar gegenphasig zur primären Wechselspannung. In der stromführenden Phasenhälfte des Wechselstromes — die Röhre als Gleichrichter lässt nur die eine Hälfte des Wechselstromes durch — besitzt dann diese Spannung den gewünschten negativen Betrag. Mit dieser Anordnung lässt sich die Temperatur des Ofens bis zu 300° auf $\pm 0,1^{\circ}$ genau einstellen.

Auswertung der Messungen.

Um unsere Apparatur auf ihre Brauchbarkeit und das übliche Verfahren zur Auswertung kinetischer Messungen von Decarboxylierungsreaktionen auf ihre Fehler zu prüfen, haben wir Versuche mit Malonsäure durchgeführt, da darüber exakte Angaben von *Hinshelwood*¹⁾ vorliegen. Fig. 4 gibt drei unserer, zur Prüfung der Apparatur aufgenommenen, Messkurven wieder. Es wurde aufgetragen der Gewichtsverlust x als Funktion der Zeit t .

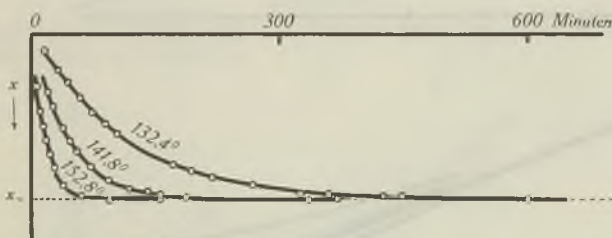


Fig. 4.
Malonsäure.

Zur Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten k wird der experimentell bestimmte Reaktionsendwert x_{∞} (Volumen, Druck usw.) benötigt. Die Differenz zwischen x_{∞} und dem zu einer beliebigen Zeit t gemessenen Reaktionswert x ($x_{\infty} - x$) entspricht dann der zur Zeit t noch vorhandenen, nicht decarboxylierten Substanzmenge. Diese wird bei exakten Messungen nie aus der eingewogenen Substanz berechnet, da sich vom Moment des Einbringens in den Ofen bis zur Erreichung der Temperaturkonstanz die Messgröße durch verschiedene Faktoren in unkontrollierbarer Weise verändert. Deshalb wird auch als Nullpunkt der Zeitrechnung nicht die Zeit zu Beginn des Versuches, sondern der Zeitpunkt des erreichten Temperaturausgleichs gewählt.

¹⁾ C. N. Hinshelwood, Soc. 117, 156 (1920).

Die Geschwindigkeitskonstante k berechnet sich dann nach einer der folgenden Formeln:

$$k = -\frac{1}{t} \log \frac{x_{\infty} - x}{x_{\infty}} \quad (1)$$

oder

$$k = -\frac{1}{t_2 - t_1} \log \frac{x_{\infty} - x_2}{x_{\infty} - x_1} \quad (2)$$

(bei unseren Rechnungen ist $t =$ Minuten und \log_{10} benützt worden).

Bei langdauernden Experimenten konnten wir den x_{∞} -Wert nicht mehr einwandfrei bestimmen. Wir haben deshalb versucht, den k -Wert aus dem mittleren Hauptstück der Reaktionskurve zu bestimmen. Dies lässt sich auf graphischem Wege durchführen (Fig. 5).

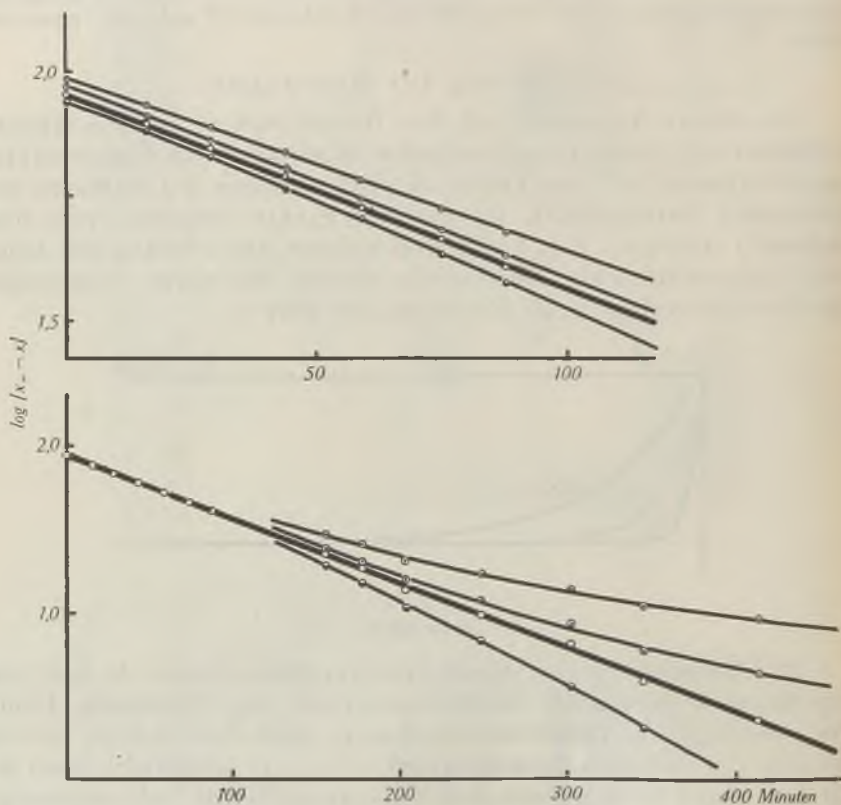


Fig. 5.

- $\log x_{\infty} = 1,98$ und $1,97$ zu gross
- $\log x_{\infty} = 1,955$ richtig
- $\log x_{\infty} = 1,94$ zu klein

obere Fig.: linke obere Ecke der untern Fig. dreifach vergrössert.

$\log(x_{\infty} - x)$ (Ordinate) als Funktion von t (Abszisse) aufgetragen sollte eine Gerade mit der Neigung $-k$ sein, welche die Ordinatenachse im Abstand $\log x_{\infty}$ schneidet.

$$\log(x_{\infty} - x) = \log x_{\infty} - kt$$

Tragen wir diese Funktion mit einem experimentell bestimmten, nicht ganz richtigen x_{∞} -Wert auf, so erhalten wir keine Gerade mehr. Bei zu kleinem x_{∞} (Fig. 5, Kurve \bullet) erhalten wir eine zur Geraden nach unten, bei zu grossem x_{∞} (Fig. 5, Kurve \circ) eine nach oben gekrümmte Kurve. Je nach der Abweichung von der Geraden können wir den x_{∞} -Wert korrigieren. Mit diesem korrigierten Wert tragen wir die gleiche Funktion erneut auf und vergleichen mit einer Geraden. Wir wiederholen dieses Verfahren eventuell mehrmals und greifen aus der Kurvenschar diejenige heraus, deren Punkte am besten auf einer Geraden liegen. Ihr entspricht das richtige x_{∞} und der richtige Wert für k . Bei mittlerer Zersetzungstemperatur lässt sich so der $\log x_{\infty}$ -Wert auf 1% genau als der beste erkennen, und der k -Wert lässt sich auf $\pm 2\%$ genau bestimmen. In Fig. 6 sind die so aus den Messpunkten der Fig. 4 erhaltenen logarithmischen Kurven aufgezeichnet.

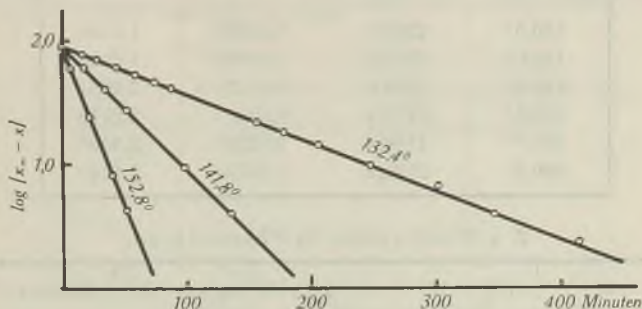


Fig. 6.
Malonsäure.

Fig. 7 gibt den Vergleich unserer k -Werte (\bullet) mit denjenigen *Hinshelwood's* (\circ). Die Übereinstimmung ist recht gut.

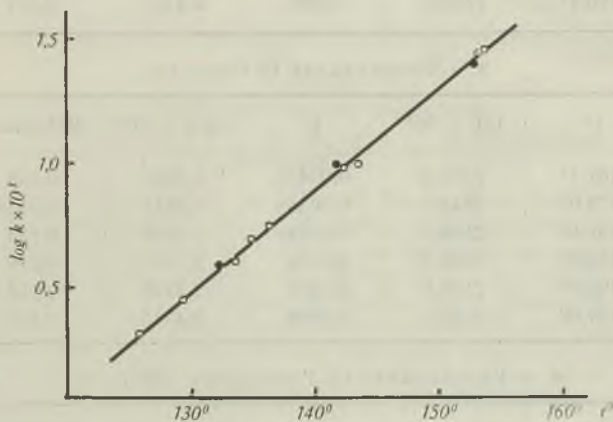


Fig. 7.

Malonsäure

\circ *Hinshelwood's* Werte \bullet unsere Werte

Versuche mit Pyridin-2-carbonsäure.

Während Pyridin-3- und -4-carbonsäure erst oberhalb 250° decarboxylieren und das nur unter gleichzeitiger Destillation resp. Sublimation, findet bei der Pyridin-2-carbonsäure CO_2 -Abspaltung schon bei 160° statt. Unsere Resultate an Picolinsäure ge-

schmolzen und in Lösung werden im folgenden mitgeteilt. Die Versuche sind alle in langhalsigen, dünnwandigen Glaskölbchen durchgeführt worden. Der Hals ragte teilweise aus dem Ofen heraus und enthielt in diesem Teil Bimssteinstückchen mit konz. H_2SO_4 getränkt, zur Absorption des entweichenden Pyridins. Bei den Versuchen mit SbJ_3 als Lösungsmittel wurde darüber noch Bimsstein getränkt mit KJ-Lösung gefüllt, zur Absorption von Jod und Jodwasserstoff, welche infolge der Sublimation des SbJ_3 in die H_2SO_4 -Absorptionsschicht zuweilen entstanden.

1. α -Picolinsäure geschmolzen.

t°	$1/T \times 10^6$	k	$\log k \times 10^4$
165,5 ^o	2280,5	0,00260	1,4150
172,0 ^o	2247,2	0,00497	1,6964
183,4 ^o	2191,0	0,0125	2,0951
185,8 ^o	2179,6	0,0165	2,2175
190,7 ^o	2156,4	0,0229	2,3598
196,2 ^o	2131,2	0,0375	2,5740

2. α -Picolinsäure in Phenanthren.

t°	$1/T \times 10^6$	k	$\log k \times 10^4$	Molarität
165,5 ^o	2280,5	0,00192	1,283	0,148
174,8 ^o	2233,1	0,00470	1,672	0,154
183,4 ^o	2191,0	0,00913	1,9605	0,167
187,9 ^o	2169,6	0,0137	2,136	0,143
196,4 ^o	2129,0	0,0261	2,416	0,167

3. α -Picolinsäure in Chinolin.

t°	$1/T \times 10^6$	k	$\log k \times 10^4$	Molarität
167,1 ^o	2272,2	0,00216	1,3345	0,143
173,0 ^o	2242,1	0,00348	1,5416	0,1455
183,8 ^o	2189,1	0,00948	1,9768	0,133
189,2 ^o	2163,5	0,0154	2,1875	0,139
195,2 ^o	2135,8	0,0206	2,3139	0,132
197,0 ^o	2127,1	0,0296	2,4713	0,167

4. α -Picolinsäure in Tetrahydro-chinolin.

t°	$1/T \times 10^6$	k	$\log k \times 10^4$	Molarität
166,4 ^o	2275,8	0,00278	1,4440	0,154
175,0 ^o	2232,1	0,00647	1,8109	0,161
182,7 ^o	2194,3	0,0122	2,0864	0,1315
188,0 ^o	2169,2	0,0200	2,3010	0,152
192,4 ^o	2148,6	0,0259	2,4130	0,154

5. α -Picolinsäure in SbJ_3 .

t°	$1/T \times 10^6$	k	$\log k \times 10^4$	Molarität
182,0 ^o	2197,8	0,000320	0,505	0,172
201,7 ^o	2106,6	0,00145	1,161	0,204
227,3 ^o	1998,8	0,00703	1,847	0,200

Bei noch höherer Temperatur lässt sich kein k -Wert mehr bestimmen, da nach einer schnellen Zersetzung zu Beginn des Experimentes die Reaktionsgeschwindigkeit langsamer als exponentiell abnimmt. Schon die Konstante bei 227,3^o konnte nicht mehr mit der üblichen Genauigkeit bestimmt werden.

6. α -Picolinsäure in 100-proz. H_2SO_4 .

Selbst bei 320^o konnte keine Decarboxylierung festgestellt werden.

Fig. 8 gibt die Resultate in graphischer Darstellung wieder,

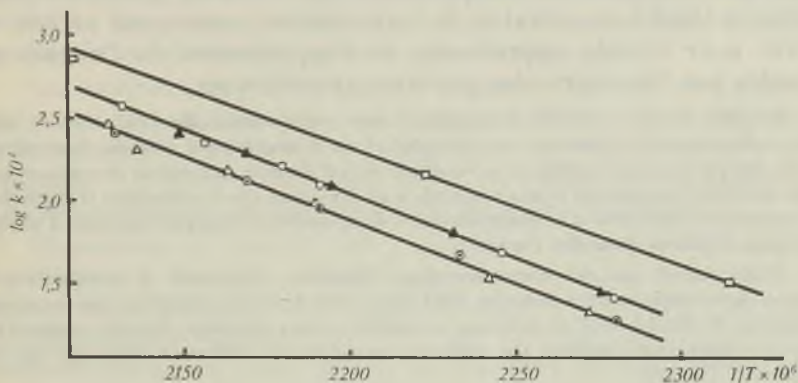


Fig. 8.

Decarboxylierung der Picolinsäure.

- geschmolzen
- △ in Chinolin
- ◻ in Phenanthren
- ▲ in Tetra-hydrochinolin
- ◻ in SbJ_3

und zwar $\log k \times 10^4$ als Funktion von $1/T \times 10^6$. Um die Werte der Versuche mit SbJ_3 als Lösungsmittel in der gleichen Fig. zur Darstellung zu bringen (oberste Gerade), wurde für sie der Koordinatenursprung um 1,0 Einheiten nach oben und um 117,5 Einheiten nach rechts verschoben. Die Versuchsreihen ergeben Gerade, die unter sich parallel sind. Die Punkte der Versuche an Picolinsäure geschmolzen und in Tetrahydrochinolin liegen auf derselben Geraden. Dasselbe gilt für die Versuche in Chinolin und Phenanthren. Sogar die Gerade für die SbJ_3 -Versuche hat noch angenähert dieselbe Neigung, obwohl die Temperaturen rund 50^o höher liegen. Die Aktivierungsenergie für die Decarboxylierung der α -Picolinsäure in den untersuchten Lösungsmitteln ist deshalb überall dieselbe, nämlich 17 100 kcal/Mol.

Theoretische Betrachtungen über die Decarboxylierung werden wir erst später im Zusammenhang mit weiteren experimentellen Untersuchungen anstellen.

Dem Kuratorium der „Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie“ dankt der eine von uns (H. S.) für die Gewährung eines Stipendiums.

Basel, Anstalt für Anorganische Chemie.

157. Etudes sur les matières végétales volatiles. XXXIV¹⁾.

Sur la composition de l'huile essentielle de lavandin

par Y. R. Naves.

(25 VIII 45)

La composition de l'essence du lavandin, hybride de l'aspic et de la lavande, a été peu étudiée avant 1942 et uniquement en vue de fonder des méthodes d'analyse. A vrai dire, la connaissance que nous avons des essences de l'aspic et de la lavande éclairait déjà notablement cette composition. Entre 1942 et 1945, l'interruption à peu près complète de l'importation des matières premières habituelles du linalol, du citral et de leurs dérivés a provoqué un très vif intérêt pour l'étude approfondie et l'exploitation de l'essence de lavandin par l'industrie des parfums synthétiques.

En 1937, *Ripert* a identifié le camphre²⁾ dans cette essence. En 1941, *Angla* et moi-même avons signalé la présence du *d*-bornéol et du *d*-camphène à côté du *d*-camphre³⁾. A cette époque et jusqu'à présent, la considération d'intérêts industriels et commerciaux liés au problème sus-énoncé nous a conduits à ne divulguer que les résultats d'étude dont la connaissance était utile à la compréhension de nouvelles techniques optiques d'analyse dont nous désirions répandre l'usage⁴⁾.

Etant donné que des communications détaillées concernant la composition de l'essence de lavandin ont été faites en 1943 et en 1944 de divers côtés⁵⁾ et que les sources habituelles de linalol sont à nouveau accessibles, nous pouvons dévoiler aujourd'hui quelques observations inédites qui viennent compléter ou redresser celles qui ont été relatées par ailleurs.

Le processus fondamental de notre étude a été le suivant: la fraction d'essence saponifiée insoluble dans la lessive alcaline a été traitée par le borate triéthylique selon *Kaufmann*⁶⁾. Les cétones ont été extraites sous la forme de semicarbazones des produits non boratisés. Les alcools libérés des esters boriques ont été classés par phtalisation en présence de pyridine et par distillation. Dans les fractions ainsi isolées, nous avons caractérisé notamment le *d*-camphre, le *l*-alpha-terpinéol, le *d*-bornéol, le lavandulol, le nérol, l'alcool *l*-pénillique, des mélanges de *l*-alpha-pinène et de *d*-alpha-pinène, de *l*-camphène et de *d*-camphène, de *l*-limonène et de dipentène; le *d*-alpha-pinène et le *d*-camphène l'emportent pondéralement sur leur énanti-

¹⁾ XXXIIIème communication: *Helv.* **28**, 278 (1945).

²⁾ *Ann. Falsificat.* N° **342**, 284 (1937).

³⁾ *Ann. chim. anal.* **23**, 203 (1941); *Naves*, *Fette u. Seifen* **49**, 187 (1942).

⁴⁾ *Naves*, *Angla*, *C. r.* **213**, 570 (1941); *Naves*, *Fette u. Seifen* **49**, 187 (1942).

⁵⁾ *Igolen*, *Bl. [5]* **10**, 221, 298 (1943); Thèse doct. Marseille (1944); *Sfiras*, *Vanderstreek*, *Parfumerie* **1**, 235 (1943).

⁶⁾ *B. Helv.* 150 611; *D.R.P.* 582 917 (1929); *Frdl.* **19**, 735 (1932). Le traitement par l'acide borique déshydrate une partie des alcools tertiaires (ex. linalol).

morphes. Nous avons aussi décelé, mais en proportions parfois différentes de celles annoncées, des constituants mentionnés par d'autres auteurs. De telles variations de la composition sont particulièrement caractéristiques de la nature hybride du lavandin¹).

Enfin, nous avons rencontré, en outre de tous ces produits, l'époxylynalol et son ester acétique; ces corps font l'objet des deux communications suivant celle-ci.

Le linalol et l'alpha-terpinéol contenus dans l'essence de lavandin sont tous deux de même signe (lévogyres), fait important pour la conception des processus biogénétiques et assez peu fréquent chez les essences pour qu'il convienne de le souligner²). Le pouvoir rotatoire du linalol que nous avons isolé de l'essence de lavandin et purifié au moyen de son p-nitrobenzoate est $[\alpha]_D^{20} = -20,35^\circ$, très proche de celui observé sur l'alcool purifié par le phényluréthane³) ($-20,37^\circ$) ou par le phtalate⁴) ($-20,27^\circ$), les produits isolés par distillation de diverses essences⁵) étant moins purs.

La composition des fractions à terpènes témoigne des présences conjointes du *l*-alpha-pinène et du *d*-alpha-pinène, du *l*-camphène et du *d*-camphène. En effet, les racémiques de l'alpha-pinène⁶) et du camphène⁷) n'ont pas été observés et l'on sait que l'énantiomorphe le moins abondant est concentré dans les têtes de distillation.

Bouchardat et *Voiry*⁸) ont annoncé la présence du camphène dans l'essence d'aspic. A nos yeux, elle n'est pas démontrée. Ces auteurs ont obtenu un chlorhydrate p. de f. = 129° , dont une partie est difficilement saponifiable⁹) et qui conduit au camphène par déchlorhydratation. Ceci indique la présence d'alpha-pinène, car il s'agit de chlorure de bornyle¹⁰); la chlorhydratation du camphène conduit en effet au chlorure d'isobornyle p. de f. = $158-159^\circ$, tautomère avec le chlorhydrate de camphène instable p. de f. = $125-127^\circ$.

¹) Cfr. *Naves, Angla*, Ann. chim. anal. **23**, 201 (1941).

²) Ess. d'orange: *Stephan*, J. pr. [2] **62**, 530 (1900); *Naves*, Parf. France **10**, 172 (1932); Ess. de feuille d'oranger doux (petit-grain portugais): *Glichitch, Naves*, Parf. France **7**, 226 (1929); Ess. de feuille de cannellier: *Glichitch*, Parf. France **2**, 66 (1924); **3**, 122 (1925); Ess. de *Baeckea frutescens* L.: *Spoelstra*, R. **50**, 433 (1931).

³) *Schimmel*, Bl. sem. oct. **1911**, 141.

⁴) *Ets. Chiris*, Contribution à la connaissance des huiles essentielles, 16, Grasse (1929).

⁵) $[\alpha]_D = -20,12^\circ$ (*Gildemeister*, Arch. Pharm. **233**, 179 (1895)); $-19,33^\circ$ (*Stephan*, J. pr. [2] **62**, 530 (1900)); $-19,92^\circ$ (*Naves*, Parf. France **10**, 172 (1932)); $-20,12^\circ$ (voir 3); $-21,53^\circ$ (*Bénézet*, Parfumerie **1**, 157 (1934)); $-21,01^\circ$ (*Igolen*, Thèse, 65, Marseille (1944)).

⁶) *Dupont, Desalbres*, Bl. [4] **33**, 1252 (1923); *Dupont*, Ann. chim. [10] **1**, 228 (1924); Cfr. *Delépine*, Bl. [4] **35**, 1482 (1925).

⁷) *Brus*, Thèse doct., 146, Toulouse (1929).

⁸) *Bouchardat, Voiry*, C. r. **106**, 551 (1888); *Bouchardat*, C. r. **117**, 53, 1094 (1893).

⁹) Cfr. *Hesse*, B. **41**, 1092 (1908); A. **383**, 1 (1911); A. **410**, 222 (1915).

¹⁰) *Meerwein, van Emster*, B. **53**, 1815 (1920); Cfr. *Brus*, Thèse, 97 et suiv., Toulouse (1929).

La composition de l'essence de lavande a fait l'objet d'études publiées récemment¹). Elle diffère notamment de celle de l'essence de lavandin par l'absence de proportions importantes de constituants dextrogyres: camphre, bornéol, camphène, particularité que nous avons été en mesure de souligner dès 1941 en exposant les fondements de l'application des mesures de dispersion du pouvoir rotatoire optique à la distinction analytique rapide des essences de lavande et de lavandin²): dispersion par variation de la longueur d'onde, dispersion influencée par des solvants.

Entre temps, *Igolen*, que nous avons initié à la première technique, et son collaborateur *Gilly*³) et nous-mêmes avons multiplié les mesures.

De l'ensemble des observations, notamment de l'étude de la fréquence de valeurs numériques et de la considération des limites d'erreur de mesure, il résulte que les deux techniques présentent des intérêts du même ordre, souvent complémentaires. L'une et l'autre permettent de distinguer nettement une essence de lavandin d'une essence de lavande. La dispersion en fonction de la longueur d'onde dépend essentiellement des teneurs en camphre, en bornéol, en camphène, en pinène dextrogyres, alors que la dispersion sous l'influence d'alcool, de cyclohexane, d'alcool benzylique est fortement dépendante non seulement de la présence du camphre et du camphène, mais aussi de celles de l'époxylinol et de l'acétate d'époxylinol⁴). On peut, suivant le cas, déceler le coupage de l'essence de lavande par des proportions d'essence de lavandin dépassant 10 à 50 %, les déductions tirées de l'emploi des deux techniques s'appuyant réciproquement.

Des études parallèles de l'essence de lavandin saponifiée et de la fraction non alcoolique saponifiée de la même essence nous ont montré que la presque totalité du bornéol existe à l'état libre dans l'essence initiale. C'est pourquoi, dès 1941, nous n'avons pas tenu compte de la présence d'esters du bornéol dans nos considérations relatives aux pouvoirs rotatoires de l'essence de lavandin.

L'absence d'esters du bornéol en proportion notable fournit une nouvelle distinction de l'essence de lavandin d'avec l'essence de lavande⁵). Dans cette dernière, la proportion d'alcools primaires et

¹) *Crabalona*, Recherches, **2**, 155 (1938); **3**, 15 (1939); *Schinz, Seidel*, Helv. **25**, 1572, 1591 (1942); *Ets. Chiris*, Bl. [5] **10**, 454 (1943); *Bénézet*, Parfumerie, **1**, 153 (1943); *Bénézet, Igolen*, ibid. 208; *Seidel, Schinz, Müller*, Helv. **27**, 663, 738 (1944); *Müller*, Diss. E.P.F. (1943).

²) *Naves, Angla*, Ann. chim. anal. **23**, 203 (1941); *Naves*, Fette u. Seifen, **49**, 187 (1942).

³) *Gilly, Igolen*, Ann. chim. anal. **25**, 130 (1943); *Igolen*, Thèse, Marseille (1944).

⁴) Cfr. communications suivantes XXXV et XXXVI des «études sur les matières végétales volatiles», Helv. **28**, (1945).

⁵) On a mentionné la présence de bornéol et d'acétate de bornyle dans l'essence de lavande (Bl. *Schimmel*, Avr. **1903**, 51). L'examen du compte-rendu très détaillé des travaux publiés ne livre aucun élément certain établissant la présence d'acétate de bornyle.

secondaires par rapport aux alcools totaux est sensiblement la même parmi les alcools libres et parmi les alcools estérifiés. Au contraire, et en raison de la présence de bornéol, elle est plus élevée chez les alcools libres que chez les alcools estérifiés dans l'essence de lavandin.

L'absence des esters du bornéol est remarquable du point de vue de la physiologie végétale. La présence de bornéol découle essentiellement de la parenté de l'hybride lavandin avec l'aspic. Dans l'essence d'aspic, 10 à 12 % des alcools sont sous la forme d'esters, alors que cette proportion varie communément entre 40 et 65 % dans l'essence de lavande¹⁾.

Partie expérimentale.

Les microanalyses ont été effectuées par Mlle D. Hohl.

Les p. de f. sont corrigés. α_1 , α_v , α_j , représentent les pouvoirs rotatoires pour les radiations principales de l'arc au mercure.

L'étude a porté sur 15 kg. d'une essence présentant les caractères suivants :

$$d_4^{20} = 0,8870; n_D^{20} = 1,4630; \alpha_1 = -5,83^{\circ}; \alpha_v = -5,07^{\circ};$$

$$\alpha_j = -4,61^{\circ}; \alpha_1/\alpha_v = 1,14; \alpha_1/\alpha_j = 1,26; I. \text{ acides} = 0,5;$$

Esters % ($C_{12}H_{20}O_2$) = 23,0; Alcools libres % (par formylation; $C_{10}H_{18}O$) = 44,2; Cétones % (par oximation selon *Vandoni* et *Desseigne*; $C_{10}H_{16}O$) = 6,2.

d-camphre. — Le camphre isolé par distillation du produit régénéré des semicarbazones, recristallisé dans la ligroïne, a été identifié par l'odeur, le p. de f. = 178°, la préparation de la dinitro-2,4-phénylhydrazone p. de f. = 178° (essai de mélange) et la mesure de la dispersion rotatoire :

$$\alpha_1/\alpha_v = 2,45_4; \alpha_1/\alpha_j = 2,98_6 \text{ (sur la solution benzénique; } c = 10^2\text{)}.$$

d-bornéol. — La majeure partie du bornéol a été extraite de la fraction d'alcools non phtalisée²⁾ par distillations et essorages. Il a été recristallisé dans la ligroïne.

100 gr. des fractions dextrogyres essorées ont été agitées durant 4 jours avec l'acide sulfurique à 5%. Du produit de réaction, nous avons isolé l'hydrate de la cis-terpine p. de f. = 116—117°, se déshydratant en terpine p. de f. = 104—105°, et du bornéol⁴⁾. La proportion totale de bornéol peut être estimée à 2,3% de l'essence, en tenant compte de la fraction phtalisée.

Le pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ dans différents solvants a déjà été décrit⁵⁾. $\alpha_1/\alpha_v = 1,73_3$; $\alpha_1/\alpha_j = 1,97_2$ (benzène; $c = 20$). L'identification a été parfaite par le p. de f. = 205—206°, et par la préparation du p-nitrobenzoate de bornyle p. de f. = 135,5—136°.

¹⁾ Cette proportion doit être beaucoup plus élevée dans la plante; on sait en effet que le traitement rapide de petites charges de matière végétale par la vapeur surchauffée livre des essences beaucoup plus riches en esters et pauvres en alcools que la distillation du même matériau dans les conditions techniques (*Voy. Parf. France* **10**, 296 (1932); *Naves, M. Igolen, Parf. France* **13**, 208 (1935)). La proportion des alcools combinés atteint alors 75—80%. L'hydrolyse de l'acétate de bornyle ne saurait être particulièrement privilégiée par les conditions de la distillation.

²⁾ Les valeurs $[\alpha]_D$ en différents solvants ont été publiées: *Naves, Fette u. Seifen* **49**, 187 (1942); $[\alpha]_D$ (alcool; $c = 5$) = +40,30°. *Igolen* (Thèse, 77) trouve +36,40° (alcool; $c = 10$); *Sfiras* et *Vanderstreek* +38,40° (alcool; $c = 50$).

³⁾ Taux de phtalisation du bornéol: *Glichitch, Naves, Parf. France* **11**, 239 (1933); *Striegler, Diss.* p. 14, Leipzig (1936).

⁴⁾ Cfr. *Simonsen, Indian Forest Record* **10**, I, 7 (1923).

⁵⁾ *Helv.* **27**, 942 (1944); $[\alpha]_D = +36,18^{\circ}$ (alcool; $c = 10$); *Igolen* (Thèse, 66) trouve +27°.

l- α -terpinéol. — Le solde des fractions lévogyres essorées (232 gr.) a été traité à deux reprises par phtalisation en présence de pyridine. Les produits non estérifiés (164 gr.) ont été distillés sur nickel *Raney* à la pression ordinaire. Le camphre formé au dépens du bornéol subsistant a été éloigné comme semicarbazone et le mélange de terpènes et d'alcools a été rectifié dans une colonne *Widmer* de 20 tores. Il a été obtenu 62 gr. de produit riche en terpinéol:

$$p. \text{ d'éb.} = 80-84^{\circ}/3,8 \text{ mm.}; d_4^{20} = 0,9276; n_D^{20} = 1,4692; \alpha_D = 36,35^{\circ}.$$

Nous en avons préparé le nitrosochlorure p. de f. = 108° (crist. acétate d'éthyle) et le nitrolpipéridide p. de f. = $151-152^{\circ}$ (essai de mélange).

La proportion de terpinéol contenue dans l'essence paraît moindre que 1%.

l-lavandulol. — Les alcools phtalisés (465 gr.) ont été traités par le chlorure de calcium à deux reprises, selon une technique inédite. Le produit (332 gr.) débarassé de la majeure partie du géranol a été fractionné par distillation sous 2,8 à 3 mm. Les fractions distillant au-dessus de 65° représentent 1,4% de l'essence.

Après essorage de la majeure partie du bornéol, les fractions p. d'éb. = $65-78^{\circ}$ ont été traitées durant 15 minutes à 200° par l'anhydride phtalique¹⁾. Les alcools régénérés des phtalates ont été convertis en allophanates, et après un traitement laborieux, selon *Schinz* et *Seidel*²⁾, nous avons isolé 8,1 gr. d'allophanate de lavandulyle p. de f. = 120 à 121° .

3,590 mgr. subst. ont donné 7,898 mgr. CO_2 et 2,686 mgr. H_2O

3,808 mgr. subst. ont donné $0,4087 \text{ cm}^3$ corr. N_2 ($27,5^{\circ}$; 728 mm.)

$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{N}_2$ Calculé C 60,00 H 8,33 N 11,66%

Trouvé „ 60,00 „ 8,37 „ 11,68%

L'alcool régénéré avait:

$$p. \text{ d'éb.} = 64-65^{\circ}/2,8 \text{ mm.}; d_4^{20} = 0,876; n_C^{20} = 1,46324; n_D^{20} = 1,46680;$$

$$n_F^{20} = 1,47544; (n_F - n_C) \times 10^4 = 122,0; \alpha_D = -9,88^{\circ}.$$

La proportion de lavandulol dans l'essence semble être nettement inférieure à 0,1%.

Nérol. — La fraction p. d'éb. = $82-86^{\circ}/2,8 \text{ mm.}$ pouvant contenir du nérol, satellite habituel du géranol, 3 gr. ont été bromés de la manière habituelle, en solution acétique. Après séparation des produits non bromés par distillation sous 0,25 mm., nous avons isolé par cristallisation 0,35 gr. de tétrabromure de nérol p. de f. = $117-118^{\circ}$ (essai de mélange).

Alcool l-périllique. — La fraction p. d'éb. = $88-92^{\circ}/2,8 \text{ mm.}$ était exempte de proportion notable de bornéol et pesait 34 gr. Elle a été traitée par l'acide formique afin de détruire le nérol et le géranol subsistants. Des esters formiques, nous avons régénéré 5,1 gr. d'alcools:

$$p. \text{ d'éb.} = 88-89^{\circ}/2,8 \text{ mm.}; d_4^{20} = 0,953; n_C^{20} = 1,49270; n_D^{20} = 1,49630;$$

$$n_F^{20} = 1,50502; (n_F - n_C) \times 10^4 = 123,2; \alpha_D = -18,42^{\circ}.$$

Oxydé par le mélange chromique, ce produit a donné l'aldéhyde périllique, identifié par sa semicarbazone p. de f. = $200-201^{\circ}$ (essai de mélange), et l'acide périllique p. de f. = $133-133,5^{\circ}$.

4,015 mgr. de subst. ont donné 10,595 mgr. CO_2 et 3,080 mgr. H_2O

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2$ Calculé C 72,24 H 8,49%

Trouvé „ 71,97 „ 8,58%

L'acide périllique a été identifié en outre par oxydation en acide cuminique p. de f. = $117-117,5^{\circ}$ (essai de mélange), au moyen d'acide nitrique de $d = 1,2$.

Terpènes. — La fraction terpénique, débarassée de la presque totalité des alcools par boratisation, a été traitée par la solution de résorcine à 50%, en vue d'extraire le cinéol. Les 380 gr. subsistants ont été rectifiés systématiquement sous 12 mm., à l'aide

¹⁾ *Schinz, Seidel, Helv. 25, 1583 (1942).*

²⁾ *Ibid. 1572.*

d'une colonne *Widmer* de 30 tores. Le pouvoir rotatoire α_D croît de $+18^\circ$ à $+40^\circ$, devient fortement lévogyre (-16°), puis décroît ensuite. Nous n'exposons ici que l'étude de trois fractions caractéristiques, l'identification de l'ocimène et de l'allo-ocimène dans les dernières fractions n'apportant plus de faits nouveaux. Après rectification sur sodium, les caractères des deux premières fractions étaient :

	p. d'éb.	d_D^{20}	n_C^{20}	n_D^{20}	n_F^{20}
1) Têtes	153—154 ⁰ /732	0,8586	1,46225	1,46554	1,47353
2) fr. dextrog. . .	158—159 ⁰ /734	0,8659	1,46153	1,46841	1,47280

$(n_F - n_C) \times 10^4$	α_D	α_i/α_v	α_i/α_j
112,8	+18,56 ⁰	1,70 ₈	1,93 ₇
113,3	+37,26 ⁰	1,79 ₂	2,04 ₁

α -pinènes. — Les caractères de la première fraction indiquent le pinène. Par oxydation permanganique nous avons obtenu un mélange d'acides dont la fraction majeure p. d'éb. = 165—170⁰/3 mm. a donné de l'acide cis-pinonique inactif p. de f. = 103—104⁰ (essai de mélange), semicarbazone p. de f. = 206—207⁰ (déc.) et, plus soluble dans le benzène, de l'acide cis-pinonique droit, cristallisant bien de l'éther de pétrole, p. de f. = 68—69⁰; $[\alpha]_D = +98^\circ$ (CHCl₃; c = 1,8)¹.

*Camphènes*². — L'oxydation permanganique de la fraction la plus dextrogyre, en présence d'anhydride carbonique, nous a donné un mélange d'acides huileux dont nous avons pu obtenir l'oxime de l'acide cis-pinonique inactif p. de f. = 150⁰ (essai de mélange) après cristallisation dans le méthanol.

Des produits non oxydés, rectifiés dans la vapeur d'eau, nous avons isolé par distillation et cristallisations du camphène à peu près pur :

p. de f. = 46—47⁰; $[\alpha]_D = +60,23^\circ$ (CHCl₃; c = 10); $\alpha_i/\alpha_v = 1,86_8$; $\alpha_i/\alpha_j = 2,12_6$.

Cette même fraction a été oxydée en milieu alcalin selon *Aschan*³. Du mélange d'acides nous avons isolé, au moyen du sel de sodium, l'acide camphène-camphorique (camphénique). L'acide cis-camphénique recristallisé dans l'alcool dilué, $[\alpha]_D = +1,66^\circ$ (alcool 20%; c = 20); p. de f. = 142—143⁰, était accompagné d'un dixième environ d'acide *d,l*-cis-camphénique plus soluble, p. de f. = 135—136⁰ (essai de mélange). Traité selon *Lipp, Küppers, Holl*⁴ par le chlorure de benzoyle, le camphène a donné du benzoyl-bornéol, identifié par la préparation de la semicarbazone p. de f. = 210—212⁰ (essai de mélange).

¹ On a mentionné que la lavande contient du *l*- α -pinène, à la suite de l'étude de fractions hétérogènes de pouvoir rotatoire $-6^\circ 10'$ (Bl. *Schimmel*, avr. 1903, 49) et également $-6^\circ 10'$ (*Crabalona*, Recherches, 3, 68 (1939)). Or ces fractions pouvaient contenir d'autres produits, spécifiquement lévogyres; il n'est donc pas établi que l'essence de lavandin diffère de l'essence de lavande par la prédominance du *d*- α -pinène sur son énantiomorphe.

² Nous n'utilisons pas la preuve du camphène selon *Bertram-Walbaum*, car le pinène donne du bornéol et de l'isobornéol. Cfr. *Fujita*, J. chem. Soc. Japan 50, 70 (1929); *Penfold*, J. proc. Roy. Soc. New South Wales 64, 273 (1931); *Gattefossé, Igolen*, C. r. 214, 886 (1942).

³ A. 375, 350 (1910); Cfr. *Langlois*, Ann. chim. [9] 12, 193 (1919).

⁴ B. 60, 1578 (1927).

L'évaluation du camphène dans la fraction $[\alpha]_D = +37,26^\circ$ a été effectuée récemment par oxydation à l'acide sélénieux¹⁾, indiquant 38%.

l-limonène-dipentène. — Les fractions lévogyres ont été traitées par l'acide hexacyanoferrique(II) en solution chlorhydrique, en vue d'écarter le reste du cinéol et la majeure partie des terpènes bicycliques, puis par l'anhydride maléique, en présence de benzène bouillant, afin d'éliminer l'ocimène et l'allo-ocimène. Après saponification, distillation dans la vapeur d'eau et rectification sur sodium, le produit suivant a été isolé:

p. d'éb. = 174—175,5°/728 mm.; $d_4^{20} = 0,8430$; $n_D^{20} = 1,46858$; $n_D^{20} = 1,47250$;
 $n_F^{20} = 1,48200$; $(n_F - n_C) \times 10^4 = 134,2$; $\alpha_D = -15,14^\circ$; $\alpha_i/\alpha_v = 1,63_2$; $\alpha_i/\alpha_j = 1,86_3$.

Nous en avons obtenu le dichlorhydrate p. de f. = 50—51° et le diiodhydrate p. de f. = 78—79° du dipentène. L'identification a été parfaite par la détermination de l'effet Raman.

On peut admettre que la fraction terpénique de l'essence de lavandin renferme approximativement: 60% de pinènes, 20% de camphènes, 10% de limonène et dipentène et 10% d'ocimène et d'allo-ocimène (ce dernier étant probablement engendré in vitro).

Alcools primaires et secondaires dans les essences de lavande et de lavandin. Le pourcentage en alcools primaires et secondaires a été déterminé par acétylation en présence de pyridine²⁾, celui en alcools totaux par formylation selon Béhal-Glichitch, sur les essences brutes et sur les essences saponifiées. La saponification entraîne l'éloignement des acides et des lactones. Nous avons constaté que, dans les meilleures conditions, le pourcentage en alcools totaux déterminé sur l'essence saponifiée dépasse irrégulièrement la valeur que l'on peut déduire de l'analyse de l'essence initiale.

Rapport des alcools I et II aux alcools totaux	Sur les alcools libres	Dans l'essence saponifiée
ess. de lavande (7 éch.)	7,9 à 9,3	7,6 à 8,8
ess. de lavandin (6 éch.) (E % = 20,4 à 23,3)	14,3 à 19,1	11,4 à 15,6

RÉSUMÉ.

La présence dans l'essence de lavandin de *d*-camphre, de *d*-bornéol et de *d*-camphène, annoncée dès 1941, est confirmée ici. Aux constituants signalés de divers côtés, il convient d'ajouter le *l*- α -terpinéol, le *l*-lavandulol, le nérol, l'alcool *l*-périllique, décelés dans l'essence saponifiée, le *l*- α -pinène, le *l*-camphène, le *l*-limonène et le dipentène.

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

¹⁾ Marie, Dupont, Dulou, Bl. [5] 11, 421 (1944).

²⁾ L'emploi de la phtalidine pyridinée (*Igolen*, Thèse, 49) est ici moins favorable, en raison de la prédominance des alcools secondaires, irrégulièrement phtalisables (Cfr. Naves, Helv. 26, 1994, note 5 (1943)). Pour 47,5 à 53,8% d'alcools libres totaux dans l'essence de lavandin, *Igolen* trouve 3,08 à 7,80% d'alcools phtalisables.

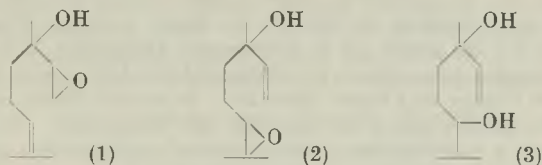
158. Etudes sur les matières végétales volatiles XXXV¹⁾.
 Sur la constitution du soi-disant „linaloloxyle“ (époxy-linalol)

par Y. R. Naves et P. Bachmann.

(25 1 44)²⁾

Les chimistes de la Maison *Schimmel & Cie.* ont isolé, en 1908, des essences de linalolé du Mexique et de bois de rose de Cayenne, un époxyde du linalol $C_{10}H_{18}O_2$ (formule 1 supposée)³⁾, identique au produit obtenu par *Prileshajew*⁴⁾, par la réaction de l'acide perbenzoïque sur le linalol.

La formule proposée ne correspond pas à la réalité. La fixation d'oxygène peroxydique se fait sur la liaison éthéroïdique la plus malaisément hydrogénable, conformément à la règle usuelle⁵⁾ (formule 2).



Nous avons préparé l'époxy-linalol en traitant l'alcool soit par l'acide perbenzoïque, selon *Prileshajew*, soit par l'acide monoperphthalique. Les caractères du produit obtenu sont en tous points très proches de ceux relatés par les chimistes de MM. *Schimmel & Cie.*

La réduction de l'époxy-linalol au moyen de sodium et d'alcool a conduit au diméthyl-2,6-octène-7-diol-(3,6) (formule 3), la coupure de l'anneau époxydique se produisant, en accord avec les observations usuelles, auprès de l'atome de carbone le plus substitué. Les caractères de ce glycol sont voisins de ceux du diméthyl-2,6-octène-2-diol-(6,8) préparé par *Pfau* et *Plattner*⁶⁾, par *Ruzicka* et *Roethlisberger*⁷⁾, par *Seidel* et *Schinz*⁸⁾.

Par l'action de l'anhydride phtalique, ce glycol se révèle secondaire-tertiaire⁹⁾. Sa formation est accompagnée de celle d'un oxyde

1) XXXIVe Communication: *Helv.* **28**, 1220 (1945).

2) Date de dépôt du pli cacheté; ouvert par la rédaction, à la demande du déposant, Maison *L. Givaudan & Cie. S.A.*, le 4 sept. 1945.

3) *Ber. Schimmel*, Okt. 1908, 80.

4) *B.* **42**, 4913 (1909).

5) Cfr. *Meerwein, Ogait, Prang, Serini*, J. pr. [2] **113**, 9 (1926); hydrogénation: *Dupont, Desreux, Dulou*, Bl. [5] **4**, 2021 (1937).

6) *Helv.* **15**, 1250 (1932).

7) *Helv.* **18**, 439 (1935).

8) *Helv.* **25**, 1576 (1942).

9) Cfr. *Helv.* **26**, 1994 (1943).

furanique ou pyranique $C_{10}H_{20}O_2$, dont l'étude a été provisoirement délaissée. L'ozonolyse de l'époxylinolol met en évidence la présence d'un groupement méthylène terminal dont la présence n'est expliquée que par la formule 2. Il existe en effet une forte probabilité de la formule β du linalol¹).

Enfin, la spectrographie *Raman* indique que la liaison éthénoïdique de l'époxylinolol est celle située en α, β de la fonction alcool du linalol (fréquence 1634 cm^{-1}). Les effets d'origine peroxydique sont vraisemblablement traduits par les fréquences $1273, 1282 \text{ cm}^{-1}$, très intenses malgré l'attache tertiaire de l'un des atomes de carbone peroxydiques²).

Partie expérimentale.

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

δ représente la dispersion spécifique de la réfraction dans l'intervalle F—C, à la puissance 10^4 .

Préparation de l'époxylinolol au moyen d'acide mono-perphthalique. Cet acide a été préparé suivant les indications de *Böhme*³). Le linalol provenait d'essence de bois de rose de Guyane, il a été purifié par la boratisation d'échange⁴). Il a été utilisé 110% de la théorie d'oxygène peroxydique, en solution éthérée à 1%, entre 0 et 5°. Le linalol a été introduit en l'espace de 1 heure. Après 18 h. de contact, l'acide mono-perphthalique avait disparu. Le produit brut a été fractionné par distillation.

Epoxylinolol. A partir de 235 gr. de linalol il a été obtenu 214 gr. d'époxylinolol, liquide incolore, mobile, à odeur de bornéol et de fenchole.

3,450 mgr. de subst. ont donné 8,900 mgr. CO_2 et 3,330 mgr. H_2O

$C_{10}H_{18}O_2$	Calculé C	70,53	H	10,665%
	Trouvé „	70,36	„	10,80 %

p. d'éb. = $53-53,5^0/3,5 \text{ mm.}$; $d_4^{20} = 0,9439$; $n_D^{20} = 1,44978$; $n_D^{20} = 1,45225$;

$n_D^{20} = 1,45823$; $(n_F - n_C) \times 10^4 = 84,5$; $\delta = 89,5$; $\frac{(n_F - n_C)}{n_C - 1} \times 10^4 = 187,6$; $RM_D = 48,65$

(Calculée = 48,88, avec $O = 1,643^5$); $M \times n_D^{20} = 247,08$ (Calculé = 248,34); $[\alpha]_D = -5,85^0$; $[\alpha]_D = -4,01^0$ (alcool éthylique, $c = 20$); $-6,93^0$ (alcool benzylique, $c = 20$); $-5,23^0$ (cyclohexane, $c = 20$); $\gamma_{20} = 27,53 \text{ dyn/cm.}$; $\gamma_{60} = 24,39 \text{ dyn/cm.}$ ($d_4^{60} = 0,9283$); d'où parachors = 412,9 et 410,3 (Calculé [*Sugden*] = 419,0); énergie superficielle moléculaire = 878,5 et 787,0 ergs/cm. d'où k (*Eötvos*) = 2,28; viscosités: dynamique = 6,242 centipoises; cinématique = 6,613 centistokes, à 20^0 ; constante diélectrique ϵ $24,7^0 = 5,78$, d'où μ , suivant *Böttcher* = 2,12 debyes.

Spectre Raman. 267 (3), 302 (3), 337 (3), 410 (3), 434 (3), 484 (4), 545 (24), 669 (3), 782 (16), 844 (4), 884 (2), 922 (6), 979 (4), 999 (5), 1043 (4), 1083 (4), 1120 (2), 1184 (12), 1219 (3), 1249 (3), 1273 (9), 1282 (9), 1302 (2), 1358 (1), 1400 (5), 1438 (14), 1477 (3), 1500 (2), 1532 (2), 1579 (4), 1634 (20), 2857 (16), 2914 (16), 2964 (25), 3032 (6).

¹) *Dupont, Desreux, Dulou*, loc. cit.

²) Cfr. *Lespieau, Gredy*, Bl. [4] 53, 771 (1933), ég. *Kohlrausch, Reitz*, Proc. Indian Acad. Sc. [A] 8, 255 (1938); *Linnett, Avery*, J. chem. Physics, 6, 692 (1938); *Ballaus, Wagner*, Z. physikal. Ch. [B] 45, 272 (1940).

³) B. 70, 379 (1937); *Organic Syntheses* 20, 70, New-York, London (1940).

⁴) *Kaufmann*, Br. fr. 702 154 (1930).

⁵) *Pummerer, Reindel*, B. 66, 336 (1933) admettent pour exaltation d'époxydes $E\Sigma = 0,35$.

Acétate de l'époxylinolol. 30 gr. d'époxyde et 60 cm³ d'anhydride acétique ont été chauffés 2 heures à reflux. L'acétate obtenu est un liquide incolore, dont l'odeur rappelle celles des acétates de bornyle et de fenchyle.

3,335 mgr. subst. ont donné 8,320 mgr. CO₂ et 2,900 mgr. H₂O.

C₁₂H₂₀O₃ Calculé C 67,87 H 9,50%
 Trouvé ,, 67,63 ,, 9,67%

(p. d'éb. = 86—87°/4,2 mm.; d₄²⁰ = 0,9749; n_D²⁰ = 1,44432; n_C²⁰ = 1,44672; n_F²⁰ = 1,45253; (n_F—n_C) × 10⁴ = 82,1; δ = 84,2; (n_F—n_C) × 10⁴/n_C—1 = 184,8; RM_D = 58,11 (Calculée = 58,24); M × n_D²⁰ = 306,93 (Calculé = 306,37); [α]_D = —5,96°; [α]_D = —3,06° (alcool, c = 20); —3,49° (alcool benzylique, c = 20); —6,13° (cyclohexane, c = 20); γ₂₀ = 28,23 dyn/cm.; γ₀₀ = 24,43 dyn/cm. (d₄⁰ = 0,9432), d'où parachors = 501,6 et 500,1 (calculé [Sugden] = 506,0).

La saponification de cet ester est malaisée. 1 gr. traité par 115% de la quantité calculée de potasse (alcool, 0,5 n.), à reflux, durant 30 minutes a consommé 85,6% de réactif, par 200%, à reflux, en 4 heures, 94,6%. En présence de 200% de potasse en solution n-butylique, à reflux, en 4 heures, la consommation d'alcali a atteint 103%.

Produit secondaire isomère de l'époxyde de linalol. Les fractions de produit brut qui distillent après l'époxylinolol, p. d'éb. = 80—82°/4 mm., se sont solidifiées à la température du laboratoire; recristallisées dans le pentane elles ont p. de f. = 97,5—98° (corr.), pèsent 30,3 gr. et se présentent en un feutre léger d'aiguilles incolores.

3,810 mgr. subst. ont donné 9,830 mgr. CO₂ et 3,560 mgr. H₂O

C₁₀H₁₈O₂ Calculé C 70,53 H 10,665%
 Trouvé ,, 70,36 ,, 10,45 %

Ozonolyse de l'époxylinolol. Pratiquée suivant *Dæuvre*¹⁾, elle a conduit à 54% d'aldéhyde formique, et le linalol, traité identiquement, a livré 52% de ce produit, chiffre qui confirme les indications de cet auteur.

Combinaison hexacyanoferrique(II)²⁾ de l'époxylinolol. 1,5 gr. d'époxylinolol ont été ajoutés sous agitation à la solution limpide de 4,25 gr. d'hexacyanoferrate(II) de potassium dans 20 cm³ d'eau additionnée de 50 cm³ d'acide chlorhydrique au dixième. Le précipité blanc essoré, lavé à l'acide chlorhydrique dilué, a été séché à la température du laboratoire, au vide, d'abord sur silicagel, ensuite sur chaux sodée. La poudre blanche résultante est aisément décomposée par les alcalis dilués et régénère l'époxyde.

4,095 mgr. subst. ont donné 8,101 mgr. CO₂; 2,470 mgr. H₂O; 0,630 mgr. Fe₂O₃
 6,030 mgr. subst. ont donné 0,808 cm³ N₂ corr. (20°; 727,5 mm)

2 C₁₀H₁₈O₂, H₄[Fe(CN)₆] Calculé C 56,09 H 7,25 N 15,11 Fe₂O₃ 15,03%
 Trouvé ,, 53,95 ,, 6,75 ,, 14,94 ,, 15,38%

Dans les mêmes conditions, l'acide hexacyanoferrique(III) ne donne pas de précipité.

Combinaison hexacyanoferrique(II) de l'ester acétique. Elle a été préparée à partir de 2,0 gr. d'ester de la même manière que celle de l'époxyalcool, elle présente le même aspect et décomposée par les alcalis dilués elle régénère l'acétate.

3,300 mgr. subst. ont donné 6,170 mgr. CO₂; 1,660 mgr. H₂O; 0,610 mgr. F₂O₃
 3,320 mgr. subst. ont donné 0,565 cm³ N₂ corr. (20°; 740 mm.)

C₁₂H₂₀O₃, H₄[Fe(CN)₆] Calculé C 50,45 H 5,65 N 19,64 Fe₂O₃ 18,65%
 Trouvé ,, 50,99 ,, 5,63 ,, 19,30 ,, 18,49%

¹⁾ Bl. [5] 3, 616 (1936).

²⁾ Pour la nomenclature comparer Helv. 23, 1020 (1940).

Réduction de l'époxylinolol par le sodium et l'alcool *n*-butylique. 40 gr. d'époxylinolol dissous dans 390 cm³ de *n*-butanol bouillant ont été additionnés de 30 gr. de sodium. Il a été obtenu 25 gr. de produit p. d'éb. = 53—54°/2,8 mm. et 14 gr. de produit p. d'éb. = 108—109°/3,4 mm.

Oxydo-alcool C₁₀H₂₀O₂. La première fraction est un liquide mobile, incolore, à vive odeur menthée et rosée.

3,350 mgr. subst. ont donné 8,560 mgr. CO₂ et 3,500 mgr. H₂O

5,730 mgr. subst. ont donné 0,78 cm³ corr. CH₄ (20°; 739 mm.)

C₁₀H₂₀O₂ Calculé C 69,70 H 11,71%

Trouvé „ 69,69 „ 11,69%; 1,05 H actif

$d_4^{20} = 0,9342$; $n_D^{20} = 1,44509$; $n_D^{20} = 44733$; $n_F^{20} = 45276$; $(n_F - n_C) \times 10^4 = 76,7$;
 $\delta = 82,10$; $(n_F - n_C) \times 10^4/n_C - 1 = 172,3$; $RM_D = 49,27$ (Calculée, C₁₀H₂₀O₂ saturé = 49,35); $\alpha_D = -2,10^0$; $\gamma_{20} = 27,45$ dyn/cm.; $\gamma_{60} = 23,91$ dyn/cm. ($d_4^{60} = 0,9028$), d'où
 parachors = 421,8; 421,7 (Calculé [Sugden], sans incréments de cyclisation = 430,0).

Combinaison hexacyanoferrique(II). Elle a été préparée à partir de 1,7 gr. d'oxydo-alcool de la même manière que celle de l'époxylinolol. Elle est une poudre blanche, aisément décomposée par les alcalis dilués.

3,500 mgr. subst. ont donné 7,105 mgr. CO₂; 3,500 mgr. H₂O; 0,520 mgr. Fe₂O₃

4,170 mgr. subst. ont donné 0,554 cm³ N₂ corr. (20°; 728 mm.)

2 C₁₀H₂₀O₂, H₄[Fe(CN)₆] Calculé C 55,69 H 7,92 N 15,00 Fe₂O₃ 14,25%

Trouvé „ 55,36 „ 7,99 „ 14,83 „ 14,86%

Glycol. Il se présente comme un liquide visqueux, incolore, d'odeur rosée faible.

$d_4^{20} = 0,941$; $n_D^{20} = 1,46568$; $n_D^{20} = 1,46835$; $n_F^{20} = 1,47481$; $(n_F - n_C) \times 10^4 = 91,3$;
 $\delta = 97,0$; $(n_F - n_C) \times 10^4/n_C - 1 = 196,0$; $\alpha_D = +0,56^0$; $RM_D = 50,89$ (Calculée = 50,96);
 $M \times n_D^{20} = 252,78$ (Calculé = 252,81).

3,170 mgr. subst. ont donné 8,095 mgr. CO₂ et 3,270 mgr. H₂O

C₁₀H₂₀O₂ Calculé C 69,70 H 11,71%

Trouvé „ 69,66 „ 11,54%

Titration par phtalisation pyridinée (4 fois théorique d'anhydride phtalique), 18 h. t. labo.: 30,1%, 72 h. t. labo.: 67,2%; 1 h. bain-marie: 65,6%; 2 h. bain-marie: 82,7%.

RÉSUMÉ.

L'époxylinolol est l'époxy-2,3-diméthyl-2,6-octène-7-ol-(6). Il est hydrogéné par le sodium et l'alcool en un mélange de diméthyl-2,6-octène-7-ol-(3,6) et d'un oxyfurane ou oxypyrane. Le spectre *Raman* de l'époxyde a été déterminé.

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

Laboratoires de Chimie théorique et d'Electrochimie
 de l'Université de Genève.

159. Etudes sur les matières végétales volatiles XXXVI¹⁾.

Présence d'époxylinolol dans les huiles essentielles

par Y. R. Naves.

(9 III 44)²⁾

Lorsque les chimistes de *Schimmel & Cie.* annoncèrent la présence d'époxylinolol dans les essences de linalolé du Mexique et de bois de rose de Cayenne³⁾, ils ne surent reconnaître si ce produit provient du chimisme végétal ou s'il résulte de l'oxydation de l'essence au cours du stockage. La méthode qu'ils appliquèrent à l'isolement et à la caractérisation de l'époxylinolol est longue et ardue, peu sensible; elle entraîne la destruction d'une grande part du produit.

Nous avons reconnu que l'acétate de l'époxylinolol donne avec l'acide hexacyanoferrique(II), un complexe équimoléculaire, aisément essorable⁴⁾. Ce complexe est insoluble dans l'acétate de linalyle et dans le benzène. En vue de reconnaître la présence d'époxylinolol dans une essence, après avoir écarté la plupart sinon la totalité des produits satellites réagissant avec l'acide hexacyanoferrique(II), nous avons imaginé d'isoler la fraction alcoolique, par exemple par l'intermédiaire des esters boriqes, selon *Kaufmann*⁵⁾, d'acétyler cette fraction et de traiter le mélange d'esters par la solution chlorhydrique d'acide hexacyanoferrique(II).

La recherche de l'époxylinolol par l'hydrogénation en diméthyl-2,6-octène-7-diol(3,6), au moyen de sodium et d'alcool, n'a pas donné des résultats aussi satisfaisants. Parmi les méthodes purement physiques, la spectrographie *Raman* est peu appropriée à la recherche de petites proportions d'époxylinolol. Le spectre de l'époxyde est caractérisé par les effets 434 cm^{-1} et 669 cm^{-1} intenses, 1500 cm^{-1} et 1532 cm^{-1} plus faibles, alors que les effets 545 cm^{-1} et 1184 cm^{-1} intenses se confondent avec des effets de fréquence voisine du spectre du linalol. Le problème de photométrie qu'il conviendrait de résoudre en vue de la caractérisation de l'époxyde est certes délicat.

Les influences discordantes des solvants tels que l'alcool éthylique et l'alcool benzylique sur les pouvoirs rotatoires du linalol et de l'époxylinolol offrent de nouvelles ressources à l'analyse⁶⁾. Toute-

¹⁾ XXXVe communication: *Helv.* **28**, 1227 (1945).

²⁾ Date de dépôt du pli cacheté; ouvert par la rédaction, à la demande du déposant, Maison *L. Givaudan & Cie. S.A.*, le 4 sept. 1945.

³⁾ *Ber. Schimmel*, Okt. 1912, 80.

⁴⁾ *Naves, Bachmann, Helv.* **28**, 1227 (1945).

⁵⁾ *Br. fr.* 702 154 (1930).

⁶⁾ *Naves, Angla, C. r.* **213**, 570 (1941); *Naves, Fette u. Seifen* **49**, 183 (1942).

fois il faut considérer la présence d'autres corps actifs; cette technique n'est appropriée qu'à l'examen de mélanges simples qui ne renferment qu'un petit nombre de corps actifs en proportion notable.

En fin de compte nous avons préparé le complexe hexacyanoferrique(II) d'acétate d'époxylinallyle et régénéré l'ester. Nous avons pu ainsi déceler l'époxylinanol dans l'essence de shiu et, à côté d'acétate d'époxylinallyle, dans les deux essences de lavandin examinées.

Par contre nous n'avons décelé ni époxylinanol ni acétate d'époxylinallyle dans des lots de linalol et d'acétate de linalyle oxydés à l'air humide et à la lumière ou à l'obscurité, au contact de verre ou de tôle galvanisée. Cette constatation paraît trancher le dilemme évoqué au début de la présente communication.

Partie expérimentale.

L'étude des spectres *Raman* a été effectuée avec la collaboration de *P. Bachmann*. En vue de l'économie des frais d'impression, seuls les travaux susceptibles d'application sont détaillés ici.

Séparation d'un mélange d'acétate de linalyle et d'acétate d'époxylinallyle. Afin de rendre l'étude plus aisée, il a été fait usage d'acétate d'époxylinallyle actif $[\alpha]_D = -5,96^\circ$, précédemment décrit, et d'acétate de *d, l*-linalyle:

$$d_4^{20} = 0,9055; n_D^{20} = 1,44700; n_D^{20} = 1,44982; n_F^{20} = 1,45665; (n_F - n_C) \times 10^4 = 96,5; \\ \delta = 106,4; \epsilon_{150m}^{20} = 4,438; \text{Ester } \% \text{ (par saponification)} = 99,7.$$

Le mélange de 8,2 gr. d'acétate d'époxylinallyle et de 21,8 gr. d'acétate de linalyle a été agité 30 minutes avec la solution de 1,25 équimolécules d'acide hexacyanoferrique(II) (20,4 gr. d'hexacyanoferrate(II) de potassium; 100 cm³ d'eau; 30 gr. d'acide chlorhydrique concentré). Le complexe a été lavé par 4 fois 25 cm³ de benzène, ensuite décomposé par un excès d'une solution de soude à 10%. La fraction non combinée était de l'acétate de linalyle pur (21,6 gr.; $\alpha_D = \pm 0^\circ$), la fraction libérée du complexe était de l'acétate d'époxylinallyle sensiblement pur (7,8 gr.; $d_4^{20} = 0,9747; n_D^{20} = 1,44668; \alpha_D = 82,0; [\alpha]_D = -5,90^\circ$).

Le traitement répété sur le mélange de 0,5 gr. d'acétate d'époxylinanol et de 24,5 gr. d'acétate de linalyle a livré de l'acétate de linalyle pur et 0,30 gr. d'acétate d'époxylinallyle. A partir de 0,25 gr. d'acétate d'époxylinallyle et de 24,75 gr. d'acétate de linalyle il n'a pu être isolé substantiellement du premier.

Technique utilisée pour la recherche dans les essences. L'essence de shiu a été acétylée directement. Deux essences de lavandin, contenant respectivement 22,4 et 23,6% d'ester ont été traitées par le borate de butyle de la manière classique, en vue d'isoler les alcools libres. La fraction non alcoolique a été saponifiée et ensuite traitée de la même manière.

Les fractions alcooliques ont été acétylées selon *Boulez*. Les produits acétylés ont été traités par l'acide hexacyanoferrique(II) dans les mêmes conditions que ci-dessus. En règle générale un premier traitement a été effectué sur l'hypothèse de la présence de 2% d'acétate d'époxylinallyle, et dans le cas d'une formation abondante du complexe l'opération a été répétée sur l'hypothèse de 5, puis de 10%, pour contrôle. On peut appliquer directement le réactif correspondant à 10%, la perte provoquée par l'emploi grand excès du réactif peut être négligée dans une étude à buts techniques.

Nous avons trouvé les teneurs suivantes :

Essence de shiu de Formose, époxylinolol libre	2,4%
Essence de shiu d'origine inconnue, époxylinolol libre	1,6%
Essence de lavandin N° 1, époxylinolol libre	3,3%
Essence de lavandin N° 1, époxylinolol, acétate	4,2%
Essence de lavandin N° 2, époxylinolol libre	2,8%
Essence de lavandin N° 2, époxylinolol, acétate	0,5% (env.)

Le contrôle a été effectué dans les cinq premiers cas en régénérant l'acétate d'époxylinolol lévogyre, opération dont le résultat confirme l'essai direct de l'acétate de bornyle; la présence de cet ester ne trouble pas la recherche de l'acétate d'époxylinolol dans les conditions expérimentales réalisées.

RÉSUMÉ.

L'époxylinolol libre ou estérifié existe dans l'essence de lavandin, libre dans l'essence de shiu. L'acétate d'époxylinolol est séparé quantitativement des esters acétiques des alcools satellites au moyen de son complexe hexacyanoferrique(II).

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

160. Die Krystalstruktur von Adamantan (symm. Tri-cyclo-decan)

von Werner Nowacki.

(4. IX. 45.)

1. Einleitung.

Adamantan (I) (*ἀδάμαντς* = der Unbesiegbare, auch Diamantan genannt) ist ein Kohlenwasserstoff der Zusammensetzung $C_{10}H_{16}$, der am ersten Male von *S. Landa* und *V. Macháček*¹⁾ aus Naphtha von Adonin (Mähren) isoliert wurde. Die Krystalle wurden von *M. Ullrich* in ¹⁾ wie folgt beschrieben:

kubisch, Durchmesser 0,2—0,4 mm, Oktaeder (111), deren Ecken häufig von den Würfelflächen (100) abgeschnitten sind, farblos, oft Gas- und Flüssigkeitseinschlüsse, zwischen gekreuzten Nicols vollkommen isotrop.

Es sind von der Substanz auch Pulveraufnahmen hergestellt, die nicht im einzelnen ausgewertet worden. Die Lichtbrechung ist durch: $n_{Na} = 1,568 \pm 0,003$; die Dichte $d \sim 1,07$. Adamantan ist sehr leichtflüchtig, schlägt sich sofort an kalten Stellen als Kryalle nieder und weist einen intensiven Geruch nach Campher oder Terpentinöl auf. Die Schmelztemperatur beträgt 268° C. — In *Lukes* wurde die Konstitution von (I) intuitiv als symm. Tri-cyclo-decan erkannt (Fig. 1). Das C-Gerüst von (I) bildet einen Teil

¹⁾ Collect. Trav. chim. Tchecosl. 5, 1—5 (1933).

des Diamantgitters. (I) gehört zu den „diamantoiden“ Stoffen. Betrachtet man eine Elementarzelle dieses Gitters, so kommen den Atomen folgende Koordinaten zu (Fig. 2):

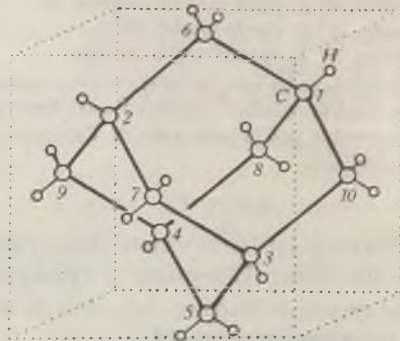


Fig. 1.

Konstitution der Adamantan-Molekel [1—4 = Tetraeder-, 5—10 = Oktaederecken; punktierter Würfel = Elementarzelle des entsprechenden Diamantgitters].

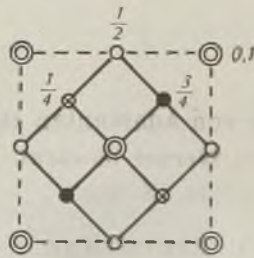


Fig. 2.

Kohlenstoffgerüst der Adamantan-Molekel als Teil des Diamantgitters [Projektion auf (001); die Zahlen geben die Höhe über 001, in Einheiten der Gitterkonstanten gemessen an].

Ecken = 000, 001, 100, 101, 010, 011, 110, 111, Flächenmitten = $\frac{1}{2}0\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}0$, $\frac{1}{2}\frac{1}{2}$, $0\frac{1}{2}\frac{1}{2}$, $1\frac{1}{2}\frac{1}{2}$, Zentren der Würfel von halber Kantenlänge = $\frac{1}{4}\frac{1}{4}$, $\frac{3}{4}\frac{3}{4}$, $\frac{1}{4}\frac{3}{4}$, $\frac{3}{4}\frac{1}{4}$ (die identischen Gitterpunkte sind ausnahmsweise mit angegeben worden). Die 6 + 4 = 10 Punkte $\frac{1}{2}\frac{1}{2}0$, $\frac{1}{2}\frac{1}{2}1$, $\frac{1}{2}0\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}1\frac{1}{2}$, $0\frac{1}{2}\frac{1}{2}$, $1\frac{1}{2}\frac{1}{2}$ + $\frac{1}{4}\frac{1}{4}$, $\frac{3}{4}\frac{3}{4}$, $\frac{1}{4}\frac{3}{4}$, $\frac{3}{4}\frac{1}{4}$ des Gitters bilden das C-Gerüst des Adamantans (s. unten, Synthese, Krystalstrukturbestimmung).

Die Synthese von Adamantan gelang aus Bicyclo-[1,3,3]-nonandion-(2,6)-dicarbonsäure-(3,7)-dimethylester *V. Prelog* und *R. Seiwert*¹⁾. Die physikalischen Eigenschaften des synthetischen Produktes sind mit denen des natürlichen (in ²⁾) weitgehend identisch: $d = 1,06-1,08$, Smp. = $267,5-269^{\circ}$ C. Die kristallographische Untersuchung, von *L. Barić* ausgeführt, ergab wieder vollkommen isotrope Krystalle, meist mit der (111)-Fläche auf der Glasfläche aufliegend [Fig. 2 in¹⁾]. Infolge äusserer Ereignisse konnten die natürliche

¹⁾ *V. Prelog* und *R. Seiwert*, *B.* **74**, 1644—8, 1769—72 (1941).

²⁾ *Collect. Trav. chim. Tchécosl.* **5**, 1—5 (1933).

und die synthetische Substanz noch nicht direkt miteinander verglichen werden; an ihrer Identität ist aber wohl nicht zu zweifeln. Als wesentliches Resultat ist der experimentell-chemische Beweis der Konstitution der Adamantan-Molekel entsprechend Fig. 1 zu nennen.

2. Morphologisch-optische Beobachtungen.

Im Polarisationsmikroskop wurde an Kryställchen¹⁾, die durch Sublimation und Niederschlagen auf einem kalten Deckglas gewonnen worden waren, vollkommene Isotropie festgestellt. Es wurden „Oktaeder“, „Oktaeder“ mit durch Würfelflächen abgestumpften Ecken, „Oktaeder“, bei denen vier Flächen gross und vier Flächen klein ausgebildet waren (Fig. 3) und (selten) auch reine Tetraeder beobachtet. Im Hinblick auf die Möglichkeit des Vorhandenseins von Verzerrungen und des zufälligen Fehlens von Flächen, wollen wir die Krystallklasse noch unbestimmt lassen und alle 5 kubischen Klassen (T , T_d ; T_h , O , O_h) den folgenden Betrachtungen zu Grunde legen.

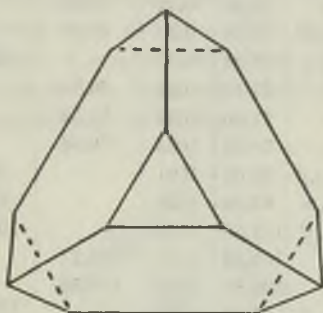


Fig. 3.

Combination von positivem und negativem Tetraeder als beobachtete Krystallform von Adamantan [Projektion auf (111)].

3. Röntgenographische Messungen.

Wegen der extremen Flüchtigkeit wurde versucht, mit Pulveraufnahmen auszukommen, was gelang, da (I) zu den wenigen kubisch kristallisierenden organischen Verbindungen gehört. Pulverdiagramme mit Fe- und Cu-Strahlung liessen sich kubisch indizieren (Tab. 1) und ergaben eine Gitterkonstante von $a = 9,426 \pm 0,008 \text{ \AA}$ (Ag als Vergleichssubstanz hinzugefügt). Mit der angegebenen mittleren Dichte oder vollkommen $d = 1,07 \text{ gcm}^{-3}$ folgen damit gemäss

$$Z = \frac{d \cdot V}{M \cdot m_H} = 3,99 \approx 4$$

¹⁾ Das von uns untersuchte Material ist dasjenige von V. Prelog und R. Seiwert. (1947).

Tabelle 1.

Pulveraufnahme an Adamantan+Silber.

Film 1945—58. FeK, 12 mA, 30 kV, 7 h. 0,2 mm Markröhrchen. Kameraradius = 31,83 mm

Nr.	I _{rel.}	hkl	Ad., Ag α, β	2 s' in mm	Δ	2s = 2s' — Δ	2s (Ag) ber.	φ	a in Å
1	m ⁺		β	20,78					
2	sst ⁺⁺	111	α	22,84	0,09	22,75		10° 14'	9,42 ₁
3	s		β	24,06					
4	st	200	α	26,44	0,12	26,32		11 51	9,42 ₀
5	s ⁻	220	α	37,90	0,20	37,70		16 58	9,37 ₁
6	ss		β	40,04					
7	s		β	42,02					
8	m-s	113	α	44,46	0,24	44,22		19 54	9,42 ₀
9	m	222	α	46,50	0,25	46,25		20 49	9,42 ₅
10	m ⁻		Ag, β	48,86	0,27		48,59		
11	st ⁺	400	Ag, α, β	54,14	0,25		53,89		
12	s		Ag, β	56,90	0,31		56,59		
13	s ⁺	331	α	59,38	0,32	59,06		26 35	9,41 ₈
14	sss	420	α, β	60,66	0,32	60,34		27 09	9,47 ₃
15	m ⁺		Ag, α	63,24	0,33		62,91		
16	s	422	α	67,10	0,34	66,76		30 03	9,46 ₀
17	s	333, 115	α	71,86	0,34	71,52		32 11	9,43 ₁
18	ss	440	α	78,98	0,34	78,64		35 23	9,44 ₃
19	s-m	531	Ag, α, β	83,60	0,01		83,59		
20	m		Ag, α	93,84	0,25		93,59		
21	s-m		Ag, β	101,36	0,29		101,07		
22	s ⁻	117, 551	α	104,54	0,27	104,27		46 55	9,45 ₂
23	ss	640	α	105,86	0,27	105,59		47 31	9,45 ₃
24	s ⁻		Ag, β	107,04	0,07		106,97		
25	m ⁺		Ag, α	115,44	0,22		115,22		
26	m ⁻		Ag, α	122,88	0,16		122,72		
27	ss	228, 660	α	134,30	0,07	134,23		60 24	9,43 ₄
28	ss	751, 555	α	139,00	0,01	138,99		62 33	9,43 ₄
29	ss	842	α	155,20	0,21	154,99		69 45	9,44 ₄

Molekeln pro Elementarzelle ($V = a^3 =$ Volumen der Elementarzelle, $M =$ Molekulargewicht, $m_H =$ Masse eines Wasserstoffatoms). Die röntgenographische Dichte wird gleich 1,07₃ gcm⁻³. Da nur ungemischte Indizes (hkl) beobachtet wurden, ist eine flächenzentrierte Anordnung der $Z = 4$ Molekelschwerpunkte am wahrscheinlichsten. Dies ist nur in den Raumgruppen T^2 , T_d^2 , T_h^3 , O^3 und O_h^5 möglich. In diesen Raumgruppen wird die Molekelsymmetrie gleich T , T_d , T_h , O bzw. O_h . Die Möglichkeiten für die Zähligkeiten der C- und H-Atome sind demnach 4, 6, 8, 12, 24 oder 48. Es können daher nicht alle 10 C- und nicht alle 16 H-Atome kristallographisch

gleichwertig sein; sondern es ergibt sich die Aufteilung in $10 = 4 + 6$ und $16 = 4 + 12$ (wie man sogleich erkennt, scheidet $8 + 8$ aus) Atome. M. a. W.: die C-Atome der Adamantan-Molekel besetzen die Ecken eines Tetraeders und diejenigen eines Oktaeders mit gemeinsamem Schwerpunkt. Als Symmetrie der Einzelmolekel sind nur die Krystallklassen T und T_d möglich, da in T_h , O und O_h das Tetraeder nicht auftritt. Die Raumgruppen reduzieren sich auf $T^2 - F 23$ oder $T_d^2 - F \bar{4}3m$, die Krystallklassen auf $T - 23$ oder $T_d - \bar{4}3m$.

Die von *M. Ullrich* in ¹⁾ und uns beobachteten „Oktaeder“ können daher keine Oktaeder in streng krystallographischem Sinne sein, sondern stellen die Kombination von positivem mit negativem Tetraeder dar, die äusserlich von einem (eventuell verzerrten) Oktaeder nicht zu unterscheiden ist.

Die einzige Annahme, welche wir zur Konstitutions- und Krystallstrukturbestimmung machen wollen, ist diejenige der tetraedrischen Natur der Kohlenstoffvalenzen. Macht man sie, so wird man eindeutig und unabhängig von speziellen chemischen Untersuchungen zu folgender Molekelkonstitution geführt: Fig. 4, d. h. man erhält genau die von *V. Prelog* und *R. Seiwert*²⁾ durch Synthese auf chemischem Wege bewiesene Konstitution. Was noch röntgenographisch-strukturell zu bestimmen ist, sind die absolute Grösse der Molekel und die genaue Orientierung im Gitter.

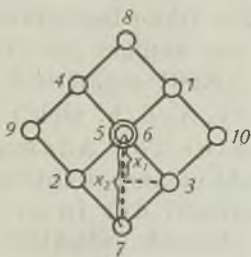


Fig. 4.

Adamantan-Molekel, auf Grund krystallographisch-struktureller Daten abgeleitet [1—4 = Ecken eines Tetraeders, 5—10 = Ecken eines Oktaeders, so dass $x_2 = 2 x_1$ wird. Projektion auf (001)]. An den C-Atomen 1—4 sitzen noch je ein H-, an den 5—10 je 2 H-Atome.

Als Raumgruppe sei T_d^2 angenommen (T^2 ist ihre kubische Untergruppe). In ihr sind vier Molekeln $C_{10}H_{16}$ oder $4 \times (4 + 6)$ C- und $4 \times (4 + 12)$ H-Atome unterzubringen. Dafür bietet sich nur eine Möglichkeit: 16 C in (16e) = $x_1 x_1 x_1, \dots$, 24 C in (24f) = $x_2 00, \dots$, 16 H in (16e) = $x_3 x_3 x_3, \dots$ und 48 H in = $x_4 x_4 z_4, \dots$ (vgl. ³⁾).

¹⁾ Collect. Trav. chim. Tchecosl. 5, 1—5 (1933).

²⁾ V. Prelog und R. Seiwert, B. 74, 1644—8, 1769—72 (1941).

³⁾ Internationale Tabellen zur Bestimmung von Krystallstrukturen, Bd. I, S. 325—7; Gebr. Borntraeger, Berlin, 1935.

Es gilt vor allem, die C-Parameter x_1 und x_2 zu bestimmen. Wegen der kleinen Streuwirkung der H-Atome bleiben die Werte von x_3 , x_4 und z_4 offen. Wie schon in der Legende zu Fig. 4 erwähnt, wird bei Annahme von tetraedrischen C-Atomen $x_2 = 2x_1$. Dies soll im folgenden vorausgesetzt werden, so dass sich die Parameterbestimmung auf x_1 beschränken wird.

Die Berechnung der Intensitäten geschah mittels der Formel:

$$I \sim \frac{1 + \cos^2 2\vartheta}{\sin^2 \vartheta \cdot \cos \vartheta} \cdot p \cdot |F|^2$$

(ϑ = Glanzwinkel, p = Flächenhäufigkeitsfaktor, F = Strukturamplitude =

$$\sum_k f_k (A_k + iB_k);$$

Absorptions- und Temperaturfaktor wurden vernachlässigt). Die A- und B-Werte wurden aus¹⁾, Bd. I, S. 325, entnommen; ebenso die f-Werte (Bd. II, S. 571).

Die beste Übereinstimmung zwischen beobachteten und berechneten Intensitäten wurde für $x_1 = 0,094_4 \pm 0,001$ gefunden (Tab. 2). Die relativen Intensitäten wurden aus 5 verschiedenen Aufnahmen visuell mittels Vergleichsstreifen²⁾ bestimmt. Die sehr kleinen Intensitäten werden dabei immer zu hoch geschätzt, da das Auge Kontraste sieht, wo beinahe keine mehr vorhanden sind. Bei der Berechnung der Tab. 2 wurden die H-Atome mitberücksichtigt, indem ein Abstand C—H = 1,08 Å angenommen wurde [vgl. z. B. *L. Pauling*³⁾, p. 158]; dadurch erhalten die H-Atome die Parameter $x_3 = 0,161$ und $z_4 = 0,255$. Ohne Berücksichtigung der H-Atome ist die Übereinstimmung etwas weniger gut (Tab. 2). — Mit dem Parameterwert $x_1 = 0,094_4 \pm 0,001$ ergibt sich ein (C—C)-Abstand von ($\sqrt{3} x_1 a$) Å = 1,54₁ ± 0,01₆ Å, d. h. gleich wie im Diamanten.

Die Krystallstruktur von Adamantan ist in Fig. 5 dargestellt worden. Sie besteht in einer (kubisch-)dichtesten Packung (= flächenzentriertes Gitter) der in erster Näherung kugelförmigen Molekeln; deshalb reflektiert auch die (111)-Ebene, welche am dichtesten besetzt ist, am intensivsten. Die früher⁴⁾ gefundenen Gesetzmässigkeiten für den Aufbau von Krystallen organischer Verbindungen gelten hier natürlich nicht mehr, da die dort gemachten Voraussetzungen (niedrige Molekelsymmetrie, Dipolmoment usw.) nicht erfüllt sind. Adamantan gehört — krystallstrukturell gesehen — zu einer Sonderklasse von organischen Verbindungen, zu denen mit hoher Symmetrie der Einzelmolekel.

¹⁾ Siehe Fussn. ³⁾, S. 1237.

²⁾ Herrn Prof. Dr. A. Liechti (Bern) danke ich herzlich für die Möglichkeit, dass ich mit Hilfe seiner Röntgenapparatur einen solchen Vergleichsstreifen herstellen konnte (Variation der Intensität durch Variation der Belichtungszeit bei sonst gleichen Bedingungen, Bereich 1 : 500).

³⁾ *L. Pauling*, The nature of chemical bond. Ithaca, N. Y., Cornell Univ. Press, 1939.

⁴⁾ *W. Nowacki*, Helv. 25, 863 (1942); 26, 459 (1943); 28, 664 (1945).

Tabelle 2.

Vergleich von beobachteten und berechneten relativen Intensitäten.
(I_{111} ist überall gleich 100 gesetzt worden.)

hkl	$I_{\text{beob.}}$	$I_{\text{ber.}}$ (mit H)	$I_{\text{ber.}}$ (ohne H)
111	100	100	100
200	32	31	34,5
220	$\leq 0,9$	0,07	0,00 ₁
113	5,5	6	5
222	12	14	12
400	$\leq 0,9$	0,14	0,00 ₁
331	2	1,6	2,6
420	$\leq 0,3$	0,08	0,3
422	5	5	5,5
333 + 115	2,5	3,7	3,9
440	1	1,8	1,8
531	0,8	0,8	0,0 ₁
117 + 551	5	5,5	6,8
640	3	3	3,8
228 + 660	2	3,4	3,5
751 + 555	2	2,5	2,8

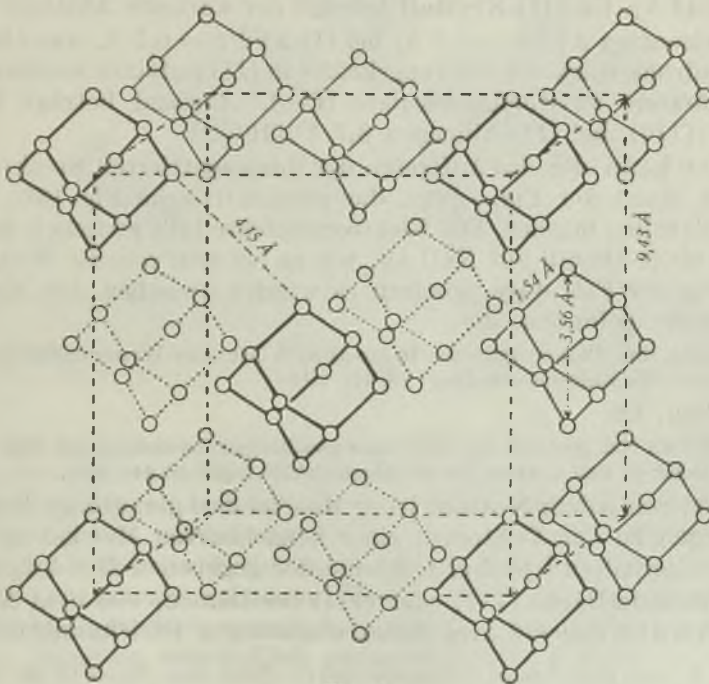


Fig. 5.

Krystallstruktur von Adamantan [ohne H-Atome].

4. Vergleich der Krystallstrukturen von Adamantan und Hexamethylen-tetramin (Urotropin).

Während der Zusammenhalt des Krystallgitters bei Adamantan (I) rein durch *van der Waalssche* Kräfte geschieht, welche additiv sind, so dass eine dichteste Packung der Molekeln auch a priori zu erwarten ist, besteht beim Hexamethylen-tetramin $C_6N_4H_{12}$ (II), dessen Molekelkonstitution hinsichtlich der (C + N)-Lagen mit derjenigen von (I) grundsätzlich identisch ist (Punkte 5—10 in Fig. 1 = C-, Punkte 1—4 = N-Atome), ausserdem die Möglichkeit des Wirkens von stärkeren Bindungen (Wasserstoff- oder Elektronenbindungen) von einer Molekel zu den benachbarten, wie sie von *R. Brill, H. G. Grimm* u. M.¹⁾ ²⁾ mittels *Fourier-Synthese* gefunden worden sind. (II) ist übrigens diejenige Substanz, bei der zum ersten Male die Lage einzelner H-Atome röntgenographisch sichtbar gemacht werden konnte. Das Auftreten von zwischenmolekularen Bindungen (verschieden von *van der Waalsschen* Bindungen) bewirkt eine kubisch-innenzentrierte und nicht mehr flächenzentrierte Anordnung der Molekelschwerpunkte; (II), ebenfalls von der Molekelsymmetrie T_d —43 m, krystallisiert, im Gegensatz zu (I), in der innenzentrierten Raumgruppe T_d^3 — $I\bar{4}3m$ ($a = 7,02 \text{ \AA}$) und nicht in T_d^2 — $F\bar{4}3m$ ($a = 9,43 \text{ \AA}$). Im (II)-Krystall beträgt der kürzeste Abstand zweier Molekelzentren $a\sqrt{3}/2 = 6,1 \text{ \AA}$, bei (I) $a\sqrt{2}/2 = 6,7 \text{ \AA}$, was ebenfalls als Ausdruck stärkerer Bindungskräfte in (II) gedeutet werden muss. Der kürzeste zwischenmolekulare (C—C)-Abstand beträgt bei (I) $4,1_5 \text{ \AA} \parallel [110]$, bei (II) hingegen $3,7 \text{ \AA} \parallel [100]$.

Man kann sich das Auftreten der innenzentrierten Struktur von (II) an Hand der Fig. 6 [vgl. die perspektivische Fig. 10 b, S. 439 in ¹⁾] plausibel machen. Die Elektronendichte fällt zwischen den Molekeln nicht überall auf Null ab, wie es bei rein *van der Waalsscher* Bindung der Fall wäre, sondern es wurden zwischen den Molekeln „Brücken“ gefunden, die

„vielleicht eine Alternativlage des H-Atoms nach Art einer Wasserstoffbindung oder eine schwache Elektronenbindung“ (S. 441 in¹⁾)

darstellen. Da

„die Brücke fast genau in der Mitte einer geradlinigen Verbindung von dem N-Atom eines Moleküls zum C-Atom des Nachbarmoleküls liegt“ (S. 444 in¹⁾),

so gehen von jedem N-Atom jeder Molekel drei geradlinige Brückenbindungen zu den C-Atomen einer benachbarten Molekel und umgekehrt „erhalten“ je drei C-Atome der gegebenen Molekel, welche eine Tetraederfläche (111) oder ($\bar{1}\bar{1}\bar{1}$) bestimmen, von dem N-Atom einer Nachbarmolekel drei Brückenbindungen (strichpunktierte Li-

¹⁾ *R. Brill, H. G. Grimm, C. Hermann* und *Cl. Peters*, *Ann. Physik* [5] **34**, 393—445 (1939), speziell S. 435—444.

²⁾ *H. G. Grimm*, *Naturwiss.* **27**, 1—11 (1939).

nien in Fig. 6). Von jedem N-Atom gehen drei, von jedem C-Atom zwei Brücken aus. Es hat sich ergeben, dass jede Brücke die Ladung $1/6$ Elektron tragen soll. Da von jeder Molekel 4×3 (N—C)- plus 6×2 (C—N)-Bindungen ausgehen, so kommt jeder Molekel allein eine Bindungsladung von $(4 \times 3 + 6 \times 2) \times 1/6 \times 1/2 = 2$ Elektronen zu, weil jede Ladung nur zur Hälfte zur gegebenen, zur anderen Hälfte zur benachbarten Molekel gehört (Faktor $1/2$).

„Es liegt nahe, diese Zahl mit den Nebervalenzkräften des Hexamethylentetramins zu vergleichen, die gerade zur Bindung eines Moleküls Br_2 , Cl_2 , HCl usw. ausreichen. Nimmt man an, dass bei der Addition das addierte Molekül dissoziiert wird, so sind in der Tat gerade 2 Elektronen zur Bindung erforderlich“ (S. 444 in¹).

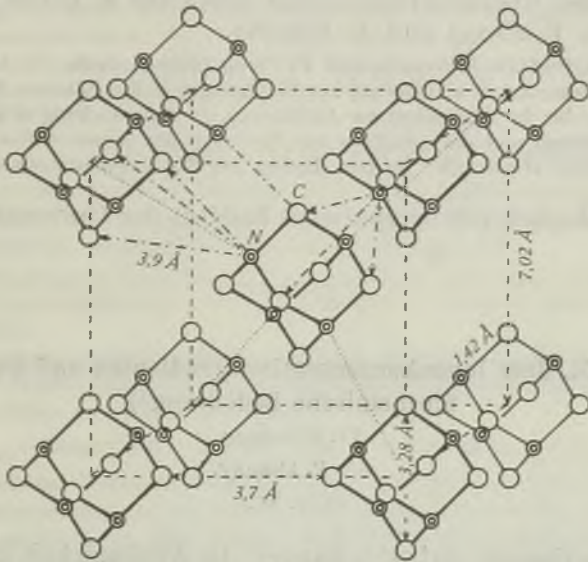


Fig. 6.

Kristallstruktur von Hexamethylen-tetramin (ohne H-Atome) [nach Brill, Grimm u. M., vgl. Fig. 10b in l. c.]. Einzelne Brückenbindungen (strichpunktirt) sind eingezeichnet. Die punktierten Geraden geben die Richtungen der Schwerlinien der von den N-Atomen ausgehenden Bindungen an; sie weisen zu den Ecken eines Würfels (innenzentrierte Struktur!).

Setzt man nun a priori voraus, dass von den N-Atomen irgendwelche besondere zwischenmolekulare Kräfte ausgehen könnten, was im Einklang mit allen bisherigen kristallstrukturell-chemischen Erfahrungen stehen würde, so müssten die Schwerlinien dieser Kraftrichtungen wohl die Richtungen der Raumdiagonalen (in Fig. 6 punktiert gezeichnet) aufweisen. Diese sind aber auf die Ecken eines Würfels hin gerichtet, womit das Auftreten der kubisch-innenzentrierten Struktur verständlich gemacht werden könnte.

¹) R. Brill, H. G. Grimm, C. Hermann und Cl. Peters, Ann. Physik [5] 34, 393—445 (1939), speziell S. 435—444.

5. Zusammenfassung.

Adamantan $C_{10}H_{16}$ kristallisiert in der kubisch-flächenzentrierten Raumgruppe T_d^2-F43m mit $a = 9,426 \pm 0,008 \text{ \AA}$ und $Z = 4$ Molekeln pro Elementarzelle. Die röntgenographisch bestimmte Dichte ist gleich $1,07_3 \text{ gem}^{-3}$. Die C-Atome befinden sich in den Punktlagen $(16e) = x_1 x_1 x_1, \dots$ und $(24f) = x_2 00, \dots$ mit $x_1 = 0,094_4 \pm 0,001$ und $x_2 = 2 x_1$. Die Molekel hat die Konstitution von Fig. 1, der Krystall die Struktur von Fig. 5. Die Ableitung geschah auf rein kristallographisch-röntgenographischem Wege unter Voraussetzung von tetraedrischen C-Atomen. Die Resultate sind in vollkommener Übereinstimmung mit denen von *S. Landa* und *V. Macháček* bzw. *V. Prelog* und *R. Seiwert*.

Den HH. Prof. Dr. *L. Ruzicka* und *V. Prelog* (Zürich) danke ich bestens für die Anregung zu dieser Arbeit und das mir zur Verfügung gestellte Material, Herrn Prof. Dr. *H. Huttenlocher* für die Möglichkeit zur Ausführung der Untersuchung und das entgegengebrachte Interesse und der „Stiftung zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung an der Bernischen Hochschule“ für den Ausbau des Röntgenlaboratoriums.

Mineralogisch-petrographisches Institut der Universität Bern.

161. Über Ionenkonzentrationsgradienten und ihre biochemische Bedeutung¹⁾

VI. Mitteilung

von **F. Almasy**.

(5. 9. 45.)

§ 1. Vorliegende Arbeit behandelt die Abhängigkeit der Einstelldauer des *Donnan*-Gleichgewichtes im $[H^+]$ -Gradientenfeld von der Grösse des Feldes sowie von den Dissoziationskonstanten der (in freier und Salzform) beteiligten Säuren und Basen [vgl. IV. Mitt., § 1²⁾]. Die in den Mitteilungen I—V²⁾ nach und nach zur Abklärung gelangten Grundlagen³⁾ fassen wir einleitend in 3 Punkten zu-

¹⁾ Arbeit mit Unterstützung der *Jubiläumsspende für die Universität Zürich*.

²⁾ *Helv.* **24**, 1025 (1941), I. Mitt.; **24**, 1480 (1941), II. Mitt.; **25**, 508 (1942), Nachtr. z. II. Mitt.; **25**, 1255 (1942), III. Mitt.; **27**, 1590 (1944), IV. Mitt.; **28**, 406 (1945), V. Mitt.

³⁾ Die im Nachtrag zur II. Mitt. eingeführten und in der III. Mitt. benutzten Grundlagen mussten in der IV. Mitt. insofern berichtigt werden, als sie unvollständig dissoziierte Säuren und Basen betreffen. Ferner sind in der IV. Mitt. (Fussnote 2 auf S. 1597) irrtümliche Ausführungen der III. Mitt. betreffend die Diffusionswärme richtiggestellt worden. Schliesslich wurden in der IV. Mitt. die Voraussetzungen berücksichtigt, nach deren Massgabe das Diffusionsfeld einer fermentativen Oxydoreduktion die Beziehungen (59) erfüllt, welche in der III. Mitt. als bis auf verschwindend kleine Abweichungen gültig angenommen worden sind. Die weitere Abklärung des Gültigkeitsbereiches dieser Beziehungen bildet den Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

sammen. Diese beruhen auf der klassischen Ionentheorie und setzen konstante Temperatur sowie konstanten Aussendruck voraus, was auch für die nachfolgenden Überlegungen gilt.

1. Unstationäre p_H -Gradienten rufen in einer Elektrolytlösung unausgesetzt Gradienten des Konzentrationslogarithmus der undissoziierten Säure- und Basenmolekeln hervor und induzieren hierdurch Diffusionsströme, welche homogene Verteilungen der Säure- und Basenmolekeln:

$$\text{grad ln } [AH_n] = 0 \qquad \text{grad ln } [B(OH)_p] = 0 \qquad (59)$$

im $[H^+]$ -Gradientenfeld einzustellen suchen.

2. Falls die Einstellgeschwindigkeit dieser homogenen Verteilungen sehr gross im Vergleich zur Änderungsgeschwindigkeit von $\text{grad } p_H$ ist, unterscheidet sich der Verteilungszustand von Säure- und Basenmolekeln, für die das Diffusionsfeld quellenfrei ist, (auch beim Zustandekommen bedeutender Änderungen des p_H -Gefälles) stets nur sehr wenig von einer homogenen Verteilung. Die Verteilung der zugehörigen Säureanionen und Basenkationen erfüllt nach Massgabe der Gültigkeit der Gleichungen (59) in jedem Feldpunkt die Beziehungen:

$$\text{grad ln } [AH_{n-1}^+] = -i \text{ grad ln } [H^+] \qquad \text{grad ln } [B(OH)_{p-k}^{k+}] = -k \text{ grad ln } [OH^-], \quad (60)$$

was zu erkennen gibt, dass diese Ionen mit der zeitlichen Änderung des p_H -Gefälles und des entgegengesetzt gleichen p_{OH} -Gefälles eine stetige Folge inhomogener Verteilungszustände durchlaufen, die angenähert *Donnan*-Verteilungen sind.

3. $[H^+]$ -Gradientenfelder der unter 2 angenommenen Art dürften realerweise durch fermentative Oxydoreduktionen unterhalten werden — eventuell auch durch andere Fermentprozesse.

Die Umsetzung zweier aus unvollständig dissoziierten Säuren (Basen) bestehenden Redoxsysteme ox_1/red_1 und ox_2/red_2 geht mit der Freisetzung bzw. Bindung von: $B_H = f(p_H)$ Mol H^+ -Ionen pro Mol Umsatz einher:

$$(\text{Säure total})_{red_1} + (\text{Säure total})_{ox_2} = (\text{Säure total})_{ox_1} + (\text{Säure total})_{red_2} + B_H H^+ \quad (61)$$

Der spezifische Verlauf der Funktion $B_H(p_H)$ wird durch die elektrolytischen Dissoziationskonstanten von red_1 , ox_2 , ox_1 und red_2 bestimmt (s. z. B. Fig. 1 der II. Mitt.). In dem Masse als die $B_H(p_H)$ -Kurve eines Oxydoreduktionssystems in dessen physiologischem p_H -Bereich horizontal verläuft, wird die Umsetzung des Systems an einer Fermentmolekel (bei konstanter Reaktionsgeschwindigkeit) als stationäre Quelle oder Senke von H^+ -Ionen wirken und im umgebenden Diffusionsfeld entsprechend langsam veränderliche p_H -Gradienten sowie angenäherte *Donnan*-Verteilungen unterhalten. Im Grenzfall konstanter H^+ -Ergiebigkeit gelangt ein stationäres $[H^+]$ -Gradientenfeld und die zugehörige exakte *Donnan*-Verteilung zur Einstellung.

In Anbetracht der submikroskopischen Dimensionen der Diffusionsfelder, die hier ins Auge gefasst werden, unterliegen die erwähnten Verteilungen bedeutenden statistischen Schwankungen.

Selbst in viel einfacheren Fällen als den betrachteten, sind die partiellen Differentialgleichungen unstationärer Diffusionsvorgänge zu kompliziert, um auch nur approximativ gelöst werden zu können. Bei wesentlicher Vereinfachung — etwa der Annahme homogener, durch Unstetigkeitsflächen getrennter Teilgebiete des Diffusionsfeldes, in denen die Konzentrationsvariablen nur noch mit der Zeit veränderlich sind — gelingt es an Stelle der Problemlösung ein primitives Modellbild zu erhalten, das unter Umständen aber noch nütz-

liche Auskünfte liefern kann¹). Mit Hilfe solcher Modellvorstellungen, welche den Verhältnissen im realen Diffusionsfeld stufenweise angeglichen werden, unternehmen wir im folgenden den Versuch, unter möglichst einfachen Bedingungen den Einfluss

- a) der Grösse des $[H^+]$ -Gradientenfeldes,
- b) der Säuredissoziationskonstanten

auf die Einstelldauer des homogenen Verteilungszustandes der Molekeln und des *Donnan*-Gleichgewichtes der Anionen einer einwertigen Säure zu ermitteln. Das analoge Verhalten von Basen wird nicht speziell behandelt.

§ 2. Wir denken uns in eine homogene Lösung der zwei Redoxsysteme ox_1/red_1 , ox_2/red_2 und des Alkalisalzes der einwertigen, praktisch vollständig dissoziierten Säure AH zum Zeitpunkt t_0 eine Fermentmolekel eingebracht, welche die Oxydoreduktion Gl. (61) katalysiert. Das von diesem Zeitpunkt an vom Fermentprozess unterhaltene Diffusionsfeld sei für die Säure AH quellenfrei, die Säure wird somit in keinem chemischen, adsorptiven oder dergleichen Prozess verbraucht oder produziert. Wir nehmen nun an, die Fermentreaktion rufe in einer das Ferment konzentrisch umgebenden Flüssigkeitskugel vom Durchmesser a (demgegenüber die Abmessungen der Fermentmolekel zu vernachlässigen seien) innerhalb des Zeitintervalles t_0 bis $t_0 + \Delta t$ einen gewissen Anstieg der Wasserstoffionenkonzentration hervor, während ausserhalb der Kugel $[H^+]$, $[A']$ und $[AH]$ die Anfangswerte $[H^+]_0$, $[A']_0$ und $[AH]_0$ unverändert beibehalten mögen. Ferner nehmen wir an, dass im Verlauf der Δt Sekunden weder H^+ noch A' und AH aus der Kugel herausdiffundieren.

Der Anstieg der Wasserstoffionenkonzentration bewirkt in der Kugel eine Verschiebung des elektrolytischen Gleichgewichtes. Falls, über die Kugel gemittelt, $[H^+]$ von $[H^+]_0$ auf $u[H^+]_0$ zunimmt, sinkt $[A']$ von $[A']_0$ auf $[A']_0 - x$, und $[AH]$ wächst von $[AH]_0$ auf $[AH]_0 + x$. Gemäss: $[H^+][A']/[AH] = K$ schreiben wir:

$$\frac{u[H^+]_0([A']_0 - x)}{[AH]_0 + x} = K$$

und finden durch Auflösen nach x :

$$x = \frac{u[H^+]_0[A']_0 - K[AH]_0}{u[H^+]_0 + K}$$

Für u -Werte, die nicht viel grösser als 1 sind (z. B.: $u = 10$), gilt in Anbetracht der Annahme praktisch vollständiger Dissoziation der Säure:

$$K \gg u[H^+]_0,$$

so dass mit angenäherter Gültigkeit geschrieben werden darf:

$$x = (u[H^+]_0[A']_0 - K[AH]_0)/K$$

$$x/[AH]_0 = (u[H^+]_0[A']_0/[AH]_0 - K)/K = u - 1$$

$$[AH]_0 + x = u[AH]_0$$

¹) *Rashevsky, N., Mathematical Biophysics, Chicago 1938.*

Falls somit unter den genannten Bedingungen $[H^+]$ in Δt Sekunden auf $u[H^+]_0$ anwächst, nimmt $[AH]$ angenähert auf $u[AH]_0$ zu. Infolgedessen wird gegenüber der Umgebung der Flüssigkeitskugel (vom Durchmesser a cm) ein durchschnittlicher $[AH]$ -Gradient der Grössenordnung:

$$[AH]_0(u-1)/a \text{ Mol pro ltr pro cm} = 10^{-3} [AH]_0(u-1)/a \text{ Mol cm}^{-4}$$

erzeugt. (Vgl. zur vorliegenden Überlegung¹⁾, S. 12 u. ff.). Unter dem Einfluss dieses Konzentrationsgradienten möge nach Ablauf der Δt Sekunden das Herausdiffundieren von AH aus der Kugel einsetzen. Gleichzeitig möge der Anstieg der Wasserstoffionenkonzentration zum Stillstand kommen. Im vorläufigen, am weitesten vereinfachten Modellbild nehmen wir ferner auch an, dass das Herausdiffundieren von AH das elektrolytische Gleichgewicht der Säure in der Kugel nicht verschiebe.

Unter diesen Umständen sinkt die in der Kugel enthaltene AH -Menge in dem Masse, als AH herausdiffundiert. Der Diffusionsstrom durch die gesamte Oberfläche der Kugel hat zu Beginn des Diffusionsvorganges die Grössenordnung:

$$-10^{-3} D_{AH} a^2 [AH]_0 (u-1)/a = -10^{-3} D_{AH} a [AH]_0 (u-1) \text{ Mol sek}^{-1}$$

und sinkt in der Folge proportional zur Abnahme des $[AH]$ -Überschusses, $[AH] - [AH]_0$, der Kugel. Für einen beliebigen späteren Zeitpunkt:

$$t' = t - (t_0 + \Delta t)$$

gilt entsprechend:

$$\begin{aligned} \frac{d[AH]}{dt'} a^3 &\sim -D_{AH} a ([AH] - [AH]_0) \\ \frac{d[AH]}{dt'} &\sim \frac{-D_{AH}}{a^2} ([AH] - [AH]_0) \end{aligned} \quad (62)$$

Die Integration ergibt:

$$[AH] \sim [AH]_0 \left[1 + (u-1) e^{-\frac{D_{AH} t'}{a^2}} \right], \quad (63)$$

wobei wir erinnern, dass $u[AH]_0$ den Wert von $[AH]$ zum Zeitpunkt: $t' = 0$ (oder: $t = t_0 + \Delta t$) des Beginnes der Diffusion bedeutet.

Die Grössenordnung der Diffusionskonstanten einiger wichtigen Metaboliten in Zellplasma beträgt $10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ sek}^{-1}$ [1], S. 43—53]. Für diesen Wert von D_{AH} zeigt die Abklingdauer τ_0 [sek], innerhalb welcher der $[AH]$ -Überschuss der Kugel gemäss Gl. (63) jeweils auf $1/e$ seines Wertes abnimmt, die in der Tab. 1 angegebene grössenordnungsmässige Abhängigkeit vom Kugeldurchmesser a [cm]. In dem in der dritten Horizontalreihe der Tabelle angegebenen Zeitraum von $10 \tau_0$ Sekunden sinkt der $[AH]$ -Überschuss der Kugel auf $1/e^{10}$ ($\sim 5 \times 10^{-5}$) und gleicht sich daher praktisch vollständig aus.

¹⁾ Rashevsky, N., Mathematical Biophysics, Chicago 1938.

Tabelle 1.

a	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻¹	1
τ ₀	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻¹	10	10 ³	10 ⁵	10 ⁷
10 τ ₀	10 ⁻⁶	10 ⁻⁴	10 ⁻²	1	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁸

§ 3. Um in Vervollkommnung des Modells die elektrolytische Gleichgewichtsverschiebung zu berücksichtigen, welche in der Kugel durch das Herausdiffundieren der Säuremolekeln hervorgebracht wird, ergänzen wir die rechte Seite der Differentialgleichung (62) um einen Term Q_{AH} (vgl. ¹⁾), der die Ergiebigkeit des Kugelinhaltes an AH in Form einer entsprechenden Funktion der über die Kugel gemittelten Konzentrationsvariablen $[AH]$ und $[A']$ ausdrückt. Q_{AH} hat gleich $d[AH]/dt'$ und $-D_{AH}([AH]-[AH]_0)/a^2$ die Dimension Mol pro ltr pro sek. An Stelle der Gl. (62) tritt somit die Beziehung:

$$\frac{d[AH]}{dt'} \sim \frac{-D_{AH}}{a^2} ([AH]-[AH]_0) + Q_{AH} \quad (64)$$

Die Funktion $Q_{AH}([AH],[A'])$ ist so zu wählen, dass Gl. (64) nachstehende Eigenschaft des nunmehrigen Modells erfasst.

Beim Herausdiffundieren der Säuremolekeln AH werden in der Kugel durch die Ionenreaktion: $A' + H^+ \rightarrow AH$ neue AH-Molekeln nachgeliefert, die gleichfalls herausdiffundieren, was eine abermalige Nachlieferung zur Folge hat usf., bis $[AH]$ unter entsprechender Senkung von $[A']$ und $[H^+]$ auf $[AH]_0$ gesunken ist. Wir tragen der Senkung von $[H^+]$ vorläufig noch nicht Rechnung und nehmen auch hier an, dass das Verteilungsverhältnis:

$$[H^+]_{Kugel} : [H^+]_{Umgebung} = u[H^+]_0 : [H^+]_0 = u : 1, \quad (65)$$

nachdem es einmal erreicht ist, unverändert bleibt. $[A']$ nähert sich dann dem Grenzwert:

$$[AH]_0 K / u [H^+]_0 = [AH]_0 ([H^+]_0 [A']_0 / [AH]_0) / u [H^+]_0 = [A']_0 / u$$

in dem Masse, als $[AH]$ seinem Grenzwert $[AH]_0$ zustrebt, wobei schliesslich das Verteilungsverhältnis resultiert:

$$[A']_{Kugel} : [A']_{Umgebung} = [A']_0 / u : [A']_0 = 1 : u \quad (66)$$

Die Gleichungen (65) und (66) geben zu erkennen, dass entsprechend unserer Annahme eines stationären $[H^+]$ -Gefälles die *Donnan*-Verteilung zur Einstellung gelangt:

$$[A']_{Kugel} : [A']_{Umgebung} = [H^+]_{Umgebung} : [H^+]_{Kugel} = 1 : u \quad (67)$$

Wir wählen $Q_{AH}([AH],[A'])$ daher wie folgt:

$$Q_{AH} = \frac{D_{AH}}{a^2} ([AH]-[AH]_0) \left[1 - \frac{[AH]}{[AH]+[A']-[A']_0/u} \right] \quad (68)$$

¹⁾ Rashevsky, N., *Mathematical Biophysics*, Chicago 1938.

In Anbetracht der Voraussetzung: $[A'] \gg [AH]$ (praktisch vollständige Dissoziation) bringt dieser Ansatz bei Ausschluss sehr kleiner Werte von $u-1$, auf die wir im § 4 zurückkommen, zum Ausdruck, dass Q_{AH} betragsmässig solange an $-D_{AH}([AH]-[AH]_0)/a^2$ heranreicht, als $[A']-[A']_0/u$ noch gross gegen $[AH]$ ist, und $[AH]/([AH]+[A']-[A']_0/u)$ darnach gegen 1 vernachlässigt werden kann. Im entsprechenden Zeitabschnitt sinkt $[AH]$ gemäss Gl. (64) nur sehr wenig unter den Ausgangswert $u[AH]_0$, und der Diffusionsstrom der Säuremolekeln durch die Kugeloberfläche behält die Anfangsgeschwindigkeit von $-10^{-3} D_{AH} a [AH]_0 (u-1)$ Mol pro Sekunde praktisch unvermindert bei. Mit der Annäherung an das *Donnan*-Gleichgewicht nimmt $[A']-[A']_0/u$ gegen Null ab, $[AH]/([AH]+[A']-[A']_0/u)$ wird gleich 1, und Q_{AH} verschwindet. Gl. (64) bringt für diesen Endabschnitt ein Abklingen des Diffusionsstromes zur Darstellung, das bis auf eine abnehmende Verzögerung demjenigen nach Gl. (62) gleicht. Die erwähnten Eigenschaften des Modells gehen selbstverständlich auch aus der folgenden Differentialgleichung hervor, welche aus Gl. (64) durch Einführen des Ansatzes (68) für Q_{AH} und einfache Umformung erhalten wird:

$$\frac{d[AH]}{dt} \sim \frac{-D_{AH}}{a^2} \frac{[AH]-[AH]_0}{1 + ([A']-[A']_0/u)/[AH]}$$

Als Beispiel betrachten wir eine Säure mittlerer Stärke, $K = [H^+][A^-]/[AH] = 10^{-2}$ Mol pro ltr, beim physiologischen p_H 7 und wählen: $u = 10$. Die bei der Einstellung des *Donnan*-Gleichgewichtes aus der Kugel herauszubefördernde Säuremenge beträgt grössenordnungsmässig:

$$10^{-3} a^3 ([A']_0 - [A']_0/10) = 10^{-3} a^3 (1 - 0,1)10^{-2} [AH]_0/10^{-7} \sim 10^{-3} a^3 10^5 [AH]_0 \text{ Mol.}$$

Nachdem sich $[A']$ seinem Grenzwert $[A']_0/10$ bis auf eine Differenz genähert hat, die das 9fache von $[AH]$ beträgt, müssen zur schliesslichen Einstellung des *Donnan*-Gleichgewichtes nur noch ungefähr $10^{-3} a^3 9[AH]_0$ Mol Säure aus der Kugel austreten, somit weniger als 1/10 000 der insgesamt zu befördernden Säuremenge. Q_{AH} ist nach Gl. (68) bis dahin aber erst auf das 0,9fache der pro Liter und Sekunde aus der Kugel herausdiffundierenden Säuremenge gesunken, und die Diffusionsgeschwindigkeit hat daher noch nicht ganz auf das 0,9fache ihres Anfangswertes abgenommen.

Wie das Beispiel zeigt, gelangt innert eines Zeitabschnitts grössenordnungsmässig unverminderter Diffusionsgeschwindigkeit die Einstellung des *Donnan*-Gleichgewichtes (oberhalb etwa: $K = 10^{-5}$) bis auf einen zu vernachlässigenden Rest zum Abschluss. Die Dauer dieses Zeitabschnitts ergibt sich als der Quotient,

$$\tau_{\text{stat. Donnan}} \sim \frac{-10^{-3} a^3 [A']_0 (1-1/u)}{-10^{-3} D_{AH} a [AH]_0 (u-1)} = \frac{a^2}{u D_{AH}} \frac{[A']_0}{[AH]_0} = \frac{a^2}{u D_{AH}} \frac{K}{[H^+]_0} \quad (69)$$

der insgesamt aus der Kugel austretenden Säuremenge und der anfänglichen Diffusionsgeschwindigkeit von ΔH^1).

Gl. (69) ergibt für: $u = 10$, $D_{AH} = 10^{-7}$ cm² sek⁻¹ und $[H^+] = 10^{-7}$ Mol ltr⁻¹ folgende grössenordnungsmässige Abhängigkeit der Einstelldauer $\tau_{stat. Donnan}$ [sek] vom Kugeldurchmesser a [cm] und der Dissoziationskonstanten K [Mol ltr⁻¹].

Tabelle 2.

$K \backslash a$	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
10^{-5}	10^{-6}	10^{-4}	10^{-2}	1	10^2
10^{-3}	10^{-4}	10^{-2}	1	10^2	10^4
10^{-1}	10^{-2}	1	10^2	10^4	10^6
10	1	10^2	10^4	10^6	10^8

Die Dauer der Einstellung des *Donnan*-Gleichgewichtes

$$[A]_{Kugel} : [A]_{Umgebung} = [H^+]_{Umgebung} : [H^+]_{Kugel} = 1 : 10 \quad (70)$$

oder

$$\log [A]_{Kugel} - \log [A]_{Umgebung} = p_{H,Kugel} - p_{H,Umgebung} = -1 \quad (70a)$$

zwischen einer Kugel von beispielsweise 10^{-5} cm Durchmesser und der umgebenden Lösung beträgt darnach grössenordnungsmässig 0,01 Sekunden für: $K = 10^{-5}$ ²⁾, 1 Sekunde für: $K = 10^{-3}$ und 10000 Sekunden für: $K = 10$ ³⁾. Wir entnehmen daraus den bedeutenden Einfluss, den die Dissoziationskonstante neben dem Kugeldurchmesser a und der Wasserstoffionenkonzentration auf die Einstelldauer des *Donnan*-Gleichgewichtes ausübt.

§ 4. Zur weiteren Angleichung des Modells an die Verhältnisse im realen Diffusionsfeld führen wir jetzt die Vorstellung ein, dass sich die Wasserstoffionenkonzentration in der Kugel mit der Zeit fortgesetzt ändere, und dass hierbei die Säuremolekeln von Anfang an ungehindert herausdiffundieren können. Die zeitliche Änderung von $[H^+]$ sei durch die Funktion: $[H^+] = u(t)[H^+]_0$ gegeben. Ausserhalb der Kugel mögen $[H^+]_0$, $[A^+]_0$ und $[AH]_0$, wie in den bisherigen

¹⁾ Der Index „stat. Donnan“ weist auf die Voraussetzung eines stationären $[H^+]$ -Gefälles hin, als dem wesentlichen Kennzeichen des vorliegenden Modells.

²⁾ Beim physiologischen p_H 7 weist $[A^+]/[AH]$ den Wert: $10^{-5}/10^{-7} = 10^2$ auf, es handelt sich um das Übergangsgebiet zu unvollständiger Dissoziation.

³⁾ Bei p_H 7 hat $[A^+]/[AH]$ den Wert 10^8 , es handelt sich um die stärksten Säuren. Redlich (Z. physikal. Ch. [A] 182, 42 (1938)) hat auf Grund von Chédin's (Ann. chim. [11], 8, 243 (1937)) Untersuchung der Konzentrationsabhängigkeit des Raman-Effektes der Salpetersäure die Dissoziationskonstante von HNO_3 zu 24 geschätzt in Übereinstimmung mit lichtelektrischen Absorptionsmessungen von v. Halban und Seiler (Z. physikal. Ch. [A] 181, 70 (1937)), die mit Sicherheit auf einen Wert oberhalb 20 hinweisen.

Modellen, unverändert bleiben. Falls die Änderungsgeschwindigkeit $d([\text{H}^+]_{\text{Kugel}}/[\text{H}^+]_{\text{Umgebung}})/dt$ [sek^{-1}] um mehrere Grössenordnungen kleiner ist als die reziproke Einstelldauer (Einstellgeschwindigkeit oder besser Einstellfrequenz) [sek^{-1}] des *Donnan*-Gleichgewichtes, durchlaufen im vorliegenden Modell die Säureanionen A' eine stetige Folge von Verteilungszuständen, die angenähert *Donnan*-Verteilungen sind (s. § 1).

Wenn $u(t)$, ausgehend zur Zeit: $t = 0$ vom Wert: $u = 1$, fortgesetzt zunimmt, durchläuft der Ausdruck $[A'] - [A']_0/u$ in Gl. (68) zunächst beliebig kleine Werte. Solange diese gegen $[\text{AH}]$ zu vernachlässigen sind, bleibt die Ergiebigkeit Q_{AH} verschwindend klein; in diesem anfänglichen Zeitabschnitt verhält sich das Modell somit ähnlich wie jenes, das unter Vernachlässigung der durch den Diffusionsvorgang bedingten elektrolytischen Gleichgewichtsverschiebung im § 2 erörtert worden ist. Insbesondere würde sich bei Stillstand des $[\text{H}^+]$ -Anstiegs der jeweilige $[\text{AH}]$ -Ueberschuss der Kugel in $10 \tau_0$ Sekunden (s. Tab. 1) praktisch vollständig ausgleichen. Sobald $u(t)$ soweit zugenommen hat, dass $[A'] - [A']_0/u$ mit $[\text{AH}]$ vergleichbar wird, spricht Q_{AH} , zur ungefähren Zeit $t_{Q_{\text{AH}}}$, an und erreicht die Grössenordnung der pro Liter und Sekunde aus der Kugel herausdiffundierenden Säuremenge (vgl. § 3).

Zur Schätzung der (im folgenden nicht mehr benötigten) Dauer $t_{Q_{\text{AH}}}$ des anfänglichen Zeitabschnitts nehmen wir der Einfachheit halber eine lineare zeitliche Zunahme von $[\text{H}^+]$ an:

$$[\text{H}^+] = u(t)[\text{H}^+]_0 = (1 + \beta t)[\text{H}^+]_0 \quad (71)$$

Im Laufe des Anstiegs von $u(t)$ wird $[A'] - [A']_0/u$, wie man sich leicht überzeugt, bei:

$$u(t_{Q_{\text{AH}}}) = \frac{[A']_0}{[A'] - [\text{AH}]} = \frac{[A']_0}{[A']} \left(1 + \frac{[\text{AH}]}{[A']} + \frac{[\text{AH}]^2}{[A']^2} + \dots \right) \quad (72)$$

mit $[\text{AH}]$ vergleichbar. Da für: $u(t) < u(t_{Q_{\text{AH}}})$ der Quotient $[A']_0/[A']$ nahezu 1 beträgt, indem $[A']$ vor dem Ansprechen von Q_{AH} nur sehr wenig unter $[A']_0$ sinkt, und da ferner $[\text{AH}]^2/[A']^2$ sowie die höheren Reihenglieder in Anbetracht der Annahme praktisch vollständiger Dissoziation zu vernachlässigen sind, folgt:

$$u(t_{Q_{\text{AH}}}) \sim 1 + [\text{AH}]/[A'] \quad (72a)$$

Unter Hinweis auf Gl. (71) setzen wir:

$$u(t_{Q_{\text{AH}}}) = 1 + \beta t_{Q_{\text{AH}}} \sim 1 + [\text{AH}]/[A']$$

und finden:

$$t_{Q_{\text{AH}}} \sim [\text{AH}]/[A'] \beta \quad (73)$$

Für nicht zu grosse Änderungen von $[\text{H}^+]$, wie sie hier vorausgesetzt werden können, gilt gemäss Gl. (71) angenähert:

$$\beta = \frac{d[\text{H}^+]/[\text{H}^+]_0}{dt} \sim \frac{d[\text{H}^+]/[\text{H}^+]}{dt} = d \ln [\text{H}^+]/dt = -2,30 d p_{\text{H}}/dt$$

Daher ergibt sich:

$$t_{Q_{AH}} \sim \frac{-1}{2,30 d p_H/dt} \frac{[AH]}{[A']} = \frac{-1}{2,30 d p_H/dt} \frac{[H']}{K} \quad (74)$$

Wir stellen uns die zeitliche Zunahme der p_H -Differenz zwischen Kugel und Umgebung nun so vor, als ob sie stufenweise erfolgen würde, und zwar in Sprüngen von einer p_H -Einheit, die im Zeitabstand $\tau_{\Delta(p_H, \text{Umgebung} - p_H, \text{Kugel}) = 1}$ aufeinanderfolgen. Wie vorstehend gezeigt wurde, lässt sich die Einstelldauer des der einzelnen Stufe entsprechenden *Donnan*-Gleichgewichtes in drei Abschnitte zerlegen. Im anfänglichen und im Endabschnitt gleicht sich das $[AH]$ -Gefälle ungefähr nach Gl. (62) aus, was jeweils etwa $10 \tau_0$ Sekunden erfordert (s. §§ 2 und 3). Im mittleren Zeitabschnitt wird die Dauer dieses Konzentrationsausgleichs infolge der mit ihm verbundenen elektrolitischen Gleichgewichtsverschiebung durch $\tau_{\text{stat. Donnan}}$ bestimmt (s. § 3).

Ein Vergleich der Tab. 1 und 2 zeigt, dass beim physiologischen p_H 7 für: $K = 10^{-5}$ (Übergangsgebiet zu unvollständiger Dissoziation) $\tau_{\text{stat. Donnan}}$ mit $10 \tau_0$ übereinstimmt. Für: $K = 10^{-4}$ beträgt $10 \tau_0$ ein Zehntel, und für: $K = 10^{-3}$ nur noch ein Hundertstel von $\tau_{\text{stat. Donnan}}$. Bei praktisch vollständiger Dissoziation ist die Einstelldauer des *Donnan*-Gleichgewichtes bis hinab zu etwa p_H 5 auf jeder Stufe von der gleichen Grössenordnung wie $\tau_{\text{stat. Donnan}}$. Im Hinblick auf die Wahl einer Stufenhöhe von einer p_H -Einheit ist die Tab. 2 unter der Annahme: $u = 10$ berechnet worden. Die in der Tabelle angegebenen $\tau_{\text{stat. Donnan}}$ -Werte bringen also den Einfluss von a und K auf die Einstelldauer des *Donnan*-Gleichgewichtes zum Ausdruck, welches einer Zunahme der Differenz $p_{H, \text{Umgebung}} - p_{H, \text{Kugel}}$ von Null auf 1 entspricht. Die gleichen Einstelldauern ($\tau_{\text{stat. Donnan}}$ -Werte) sind offensichtlich auch dann zu erwarten, wenn die Differenz $p_{H, \text{Umgebung}} - p_{H, \text{Kugel}}$ ausgehend von einem von Null verschiedenen Wert um 1 zunimmt, was dem Übergang eines bereits bestehenden in ein neues *Donnan*-Gleichgewicht entspricht, das sich vom erstern durch einen zehnfach erhöhten Wert von $[H']_{\text{Kugel}}/[H']_{\text{Umgebung}}$ unterscheidet.

Damit im vorliegenden Modell die Einstellung des *Donnan*-Gleichgewichtes mit der zeitlichen Zunahme von $p_{H, \text{Umgebung}} - p_{H, \text{Kugel}}$ Schritt halten kann, muss der Zeitabstand zweier aufeinanderfolgender Stufenübergänge den Wert von $\tau_{\text{stat. Donnan}}$ um einige Grössenordnungen überschreiten, d. h. es muss gelten:

$$\tau_{\Delta(p_H, \text{Umgebung} - p_H, \text{Kugel}) = 1} > 100 \tau_{\text{stat. Donnan}} \text{ bis } 1000 \tau_{\text{stat. Donnan}}$$

Nach Tab. 2 hängt diese untere Grenze von $\tau_{\Delta(p_H, \text{Umgebung} - p_H, \text{Kugel}) = 1}$ [sek] für: $D_{AH} = 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ sek}^{-1}$ und: $[H'] = 10^{-7} \text{ Mol ltr}^{-1}$ folgender-

massen vom Kugeldurchmesser a [cm] und der Dissoziationskonstanten K [Mol ltr⁻¹] ab.

Tabelle 3.

$\frac{a}{K}$	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
10^{-5}	10^{-4} bis 10^{-3}	10^{-2} bis 10^{-1}	1 bis 10	10^2 bis 10^3	10^4 bis 10^5
10^{-3}	10^{-2} 10^{-1}	1 „ 10	10^2 „ 10^3	10^4 „ 10^5	10^6 „ 10^7
10^{-1}	1 „ 10	10^2 „ 10^3	10^4 „ 10^5	10^6 „ 10^7	10^8 „ 10^9
10	10^2 „ 10^3	10^4 „ 10^5	10^6 „ 10^7	10^8 „ 10^9	10^{10} „ 10^{11}

In die Tabelle ist eine Treppenlinie eingetragen, welche die zellphysiologisch besonders interessierenden Änderungen des p_H -Gefälles von mehr als etwa einer Einheit pro 100 bis 1000 Sekunden (= mehr als Verzehnfachung von $[H^+]_{Kugel}/[H^+]_{Umgebung}$ in Minuten bis Viertelstunden) von den langsameren Änderungen trennt. Für die oberhalb der Treppenlinie gelegenen Wertepaare von a und K folgt die Einstellung des *Donnan*-Gleichgewichtes zeitlichen Änderungen des p_H -Gefälles von einer Einheit pro 100 bis 1000 Sekunden praktisch verzögerungsfrei. In diesem Bereich scheinen die Voraussetzungen gegeben zu den im Abschnitt D der III. Mitt., S. 1279—83, erwähnten biologischen Prozessen, wie der aktiven Diffusion, endergonen Synthesen u. a. m. Die unterhalb der Treppenlinie gelegenen Wertepaare von a und K kennzeichnen jenes Gebiet, in welchem die Einstellung des *Donnan*-Gleichgewichtes mit einer zeitlichen Änderung des p_H -Gefälles um eine Einheit pro 100 bis 1000 Sekunden nicht mehr Schritt zu halten vermag. In extremen Fällen, z. B. für: $K = 10$, $a > 10^{-4}$ cm, sind hierbei nicht einmal Andeutungen einer inhomogenen Verteilung der Säureanionen (Basenkationen) zu erwarten. Am Ende weisen wir anhand der Gl. (69) auf den physiologisch wahrscheinlich bedeutsamen Einfluss hin, den die (durchschnittliche) Wasserstoffionenkonzentration auf die Lage der Grenzlinie der beiden Wertebereiche von a und K ausübt.

Physikalisch-chemisches Institut
der Universität Zürich.

es Donnan-Gew
- p_H von sehr
folgender Stuf
rössenordnung

 $\tau_{stat. Donnan}$

- p_H von
- 1 folgend

162. Nachtrag zur Abhandlung

„Oxydation von Desoxycholsäure-methylester-diacetat mit Chromsäure.

III. Untersuchung der „ketonfreien“ Anteile“

von H. Reich¹⁾.

(5. IX. 45.)

Das bei der obigen Reaktion erhaltene Abbauprodukt mit 16 C-Atomen erwies sich als Δ^2 -2,13-Dimethyl-dodekahydro-phenanthrol-(7 α)-on-(1). Es wurde gesagt, dass analoge Stoffe ausser dem genannten 2,13-Dimethyl-perhydro-phenanthrol-(7 β)-on-(1) von *Achtermann*²⁾ bisher beim Abbau von Sterinen nicht gefunden wurden, was jedoch nicht den Tatsachen entspricht. Leider habe ich übersehen, dass *Köster* und *Logemann*³⁾ aus den Mutterlaugen der CrO₃-Oxydation von Cholesteryl-acetat-dibromid das analog gebaute 1-Oxo-2,13-dimethyl- Δ^9 ,¹⁴-dodekahydro-phenanthrol-(7 β)-on-(1) isolieren konnten.

Basel, Pharmazeutische Anstalt der Universität.

163. Über Steroide.

(42. Mitteilung⁴⁾).Ein einfacher Abbau der Gallensäuren-Seitenkette zur
Methylketonstufe II

von Ch. Meystre, L. Ehmann, R. Neher und K. Miescher.

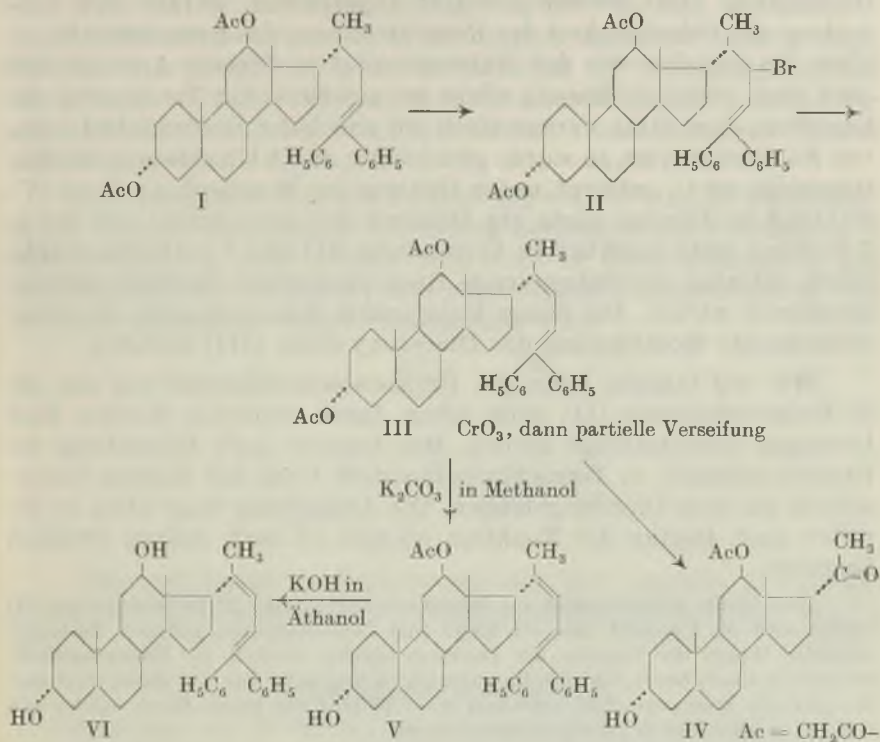
(7. IX. 45.)

In der 1. Mitteilung dieser Reihe⁵⁾ beschrieben wir einen neuen, ganz wesentlich vereinfachten Weg zur Überführung einer Gallensäure in das entsprechende Steroid-methylketon. Ausgehend von der Desoxy-cholsäure stellten wir das Δ^{23} -3 α ,12 β -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholen (I) her, bromierten es in α -Stellung zur Äthylenlücke mit Bromsuccinimid unter Bildung von Δ^{23} -3 α ,12 β -Diacetoxy-22-brom-24,24-diphenyl-cholen (II), spalteten HBr ab, oxydierten das entstandene Dien (III) mit Chromsäure und erhielten nach partieller Verseifung das 3 α -Oxy-12 β -acetoxy-pregnanon-(20) (IV).

Trotzdem wir bei der Bromierung das Bromsuccinimid im Überschuss verwandten, verlief die Umsetzung nur teilweise in der gewünschten Richtung. Auch bei günstigstem Verlauf der Reaktion

¹⁾ Helv. 28, 892 (1945).²⁾ Z. physiol. Ch. 225, 141 (1934).³⁾ B. 73, 298 (1940).⁴⁾ 41. Mitteilung, siehe Helv. 28, 991 (1945).⁵⁾ Ch. Meystre, H. Frey, A. Wettstein und K. Miescher, Helv. 27, 1815 (1944).

wurde etwa 74% des Ausgangsmaterials zurückgewonnen. Dabei betrug die Ausbeute an Dien 10% ohne oder 38% mit Berücksichtigung des regenerierten Ausgangsstoffs.



Es gelang nun insbesondere die Halogenierungsstufe in erheblichem Masse zu verbessern, nachdem sich gezeigt hatte, dass Licht die Bromierung wesentlich erleichtert.

Erhitzt man nämlich die Äthylenverbindung (I) mit der berechneten Menge Bromsuccinimid in Tetrachlorkohlenstoff unter starker Belichtung, z. B. mit einer Quecksilberdampfplampe oder einfacher mit einer starken Glühbirne, so ist das Bromsuccinimid nach 10 bis 15 Minuten Kochen schon vollständig umgesetzt und die sich sonst abspielenden Nebenreaktionen treten stark zurück.

Unsere erneuten Bemühungen, auf Grund der verbesserten Methodik die Bromverbindung (II) in reiner Form zu isolieren, führten jetzt, wenigstens teilweise, zum Erfolg. Unter möglichst schonender Aufarbeitung erhielten wir sie in Form eines nahezu farblosen Pulvers, dessen Analyse allerdings, wohl infolge der leichten Zersetzlichkeit, nur angenäherte Werte lieferte.

Alle Versuche, ausgehend von dieser Bromverbindung doppelte Umsetzungen mit verschiedenen Reagentien zu erzielen, schlugen trotz vorsichtiger Arbeitsweise fehl¹⁾. In jedem Fall wurde unter Dienbildung bloss Bromwasserstoff abgespalten, woraus sich ohne weiteres die Schwierigkeit der Reindarstellung des Bromderivates erklärt. So erhielten wir mit Natriumacetat in Eisessig-Acetanhydrid oder auch schon in Eisessig allein bei gewöhnlicher Temperatur das Diacetoxy-dien (III). Verwendeten wir eine kalte alkoholische Lösung von Natriumäthylat, so wurde gleichzeitig durch Umesterung die Acetylgruppe an C₃ entfernt unter Bildung des Monoacetoxy-diens (V), während in Alkohol allein ein Gemisch der acetylierten mit der in 3-Stellung nicht acetylierten Verbindung (III und V) erhalten wurde, indem offenbar der freiwerdende Bromwasserstoff ebenfalls teilweise umesternd wirkte. Bei dieser Gelegenheit liess sich auch die höher schmelzende Modifikation des Diacetoxy-diens (III) isolieren.

Wie wir fanden, kann die Bromwasserstoffabspaltung aus der 22-Bromverbindung (II) auch schon durch einfaches Kochen ihrer Lösungen bewerkstelligt werden. Man braucht nach Einwirkung des Bromsuccinimids in Tetrachlorkohlenstoff bloss das Kochen fortzusetzen, um zum Dien zu gelangen. Die Abspaltung fängt etwa 15 Minuten nach Beginn der Reaktion an und ist nach einigen Stunden beendigt.

Diese leichte Abspaltbarkeit von Bromwasserstoff aus der 22-Bromverbindung (II) erklärt auch den Umstand, dass wir früher ohne Lichtenwendung geringere Ausbeuten erhielten. Wegen der Trägheit der Reaktion beginnt nämlich die Bromwasserstoffabspaltung schon, bevor sich alles Bromsuccinimid umgesetzt hat. Auf dieses wirkt aber der gebildete Bromwasserstoff zerstörend unter Bildung von freiem Brom, welches sich sofort an vorhandene Doppelbindungen anlagert.

Nach dem verbesserten Verfahren erhielten wir das krystallisierte Dien-diacetat (III) aus Aceton in einer Ausbeute von 75,6% der Theorie. Die Mutterlaugen gaben nach dem Kochen mit Dimethylanilin und folgender Reacetylierung noch 6,4% Dien-diacetat, so dass die totale Ausbeute an Dien 82% der Theorie betrug. Sie erreichte also das 8fache der Ausbeute ohne Anwendung von Licht und immer noch über das Doppelte, wenn man beim alten Verfahren das Regenerat in Rechnung zieht.

Unter Berücksichtigung der früheren Befunde beträgt jetzt die Gesamtausbeute an Methylketon-monoacetat (IV) 48% der Theorie in Bezug auf die Äthylenverbindung (I) und 35,5% in Bezug auf Desoxycholsäure-methylester, also rund 5 mal mehr als nach *Hoehn* und *Mason*²⁾ unter Verwendung des *Wieland*'schen Abbaus.

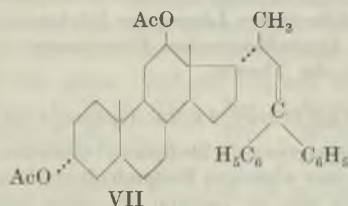
¹⁾ Die in unserer letzten Mitteilung erwähnte Methoxyverbindung konnte bei der jetzigen Versuchsanordnung nicht mehr reproduziert werden.

²⁾ *W. M. Hoehn* und *H. L. Mason*, *Am. Soc.* **60**, 1493 (1938) (weitere Literaturangaben in unserer ersten Mitteilung).

Auch mit Bromphthalimid, das von Ziegler¹⁾ als weniger geeignetes Bromierungsmittel erachtet wurde, konnten in Gegenwart von Licht ähnliche Ausbeuten wie mit Bromsuccinimid erzielt werden.

Während die totale Verseifung von $\Delta^{20,23}$ -3 α -Oxy-12 β -acetoxy-24,24-diphenyl-choladien (V) in kochendem Methanol nicht gelingt, lässt sie sich in Äthanol glatt durchführen. $\Delta^{20,23}$ -3 α ,12 β -Dioxy-24,24-diphenyl-choladien (VI) krystallisierte aus Methanol in feinen Nadeln, die unscharf bei 124° schmolzen und vermutlich noch Wasser enthielten, $[\alpha]_D^{21} = +101^\circ \pm 4^\circ$.

Nur bemerkt sei, dass die Bromierung von Δ^{22} -3 α ,12 β -Diacetoxy-23,23-diphenyl-norcholen (VII) analog derjenigen der Verbindung I trotz Belichtung nicht gelang. Dies steht in Übereinstimmung mit der Feststellung von Ziegler, dass ein tertiäres Wasserstoffatom von Bromsuccinimid nur schwer angegriffen wird.



Die verbesserte Abbaumethode hat sich dagegen in anderen Fällen sehr günstig ausgewirkt, worüber demnächst berichtet werden soll.

Experimenteller Teil²⁾.

1. Umsetzung von Δ^{23} -3 α ,12 β -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholen (I) mit Bromsuccinimid unter Belichtung und Abspaltung von HBr.

100 g Δ^{23} -3 α ,12 β -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholen und 30 g Bromsuccinimid übergoss man in einem Glaskolben mit 1000 cm³ Tetrachlorkohlenstoff. Die Lösung wurde mit einer Glühbirne von unten zugleich bestrahlt und erhitzt. Nach etwa 15 Minuten Kochen am Rückflusskühler entwickelte sich Bromwasserstoff. Die Lösung wurde abgekühlt und das gebildete Succinimid abgenutscht.

Das erhaltene klare Filtrat wurde unter Calciumchloridverschluss 4 Stunden lang am Rückflusskühler bis zum Aufhören der Bromwasserstoffentwicklung gekocht und hierauf eingedampft.

2. Isolierung des 3 α ,12 β -Diacetoxy-24,24-diphenyl-choladiens (III).

Den erhaltenen, im Vakuum getrockneten Rückstand löste man in Aceton auf. Beim Stehen krystallisierte das Dien-diacetat (III) aus. Erhalten wurden 75,4 g. Wie früher erwies sich das Diacetat als dimorph; es schmolz bei 140—142° und bei nochmaligem Umkrystallisieren bei 144—146°, erstarrte dann wieder zu kleinen Nadeln und schmolz endgültig bei 184°.

¹⁾ K. Ziegler, A. Späth, E. Schaaß, W. Schumann und E. Winkelmann, A. 551, 80 (1942).

²⁾ Alle Schmelzpunkte wurden nach Kofler unter dem Mikroskop thermoelektrisch bestimmt und sind somit korrigiert.

Die Mutterlaugen wurden im Vakuum eingedampft, 10 Minuten lang in 30 cm³ Dimethylanilin gekocht und in Äther aufgenommen. Die ätherische Lösung wusch man mit Salzsäure und Wasser, trocknete sie und dampfte sie ein. Der Rückstand wurde 1 Stunde auf dem Wasserbad mit 50 cm³ Pyridin und 30 cm³ Essigsäure-anhydrid reacctyliert. Die Lösung dampfte man im Vakuum ein, löste in Äther, wusch die Lösung mit 2-n. Salzsäure und Wasser, trocknete mit Natriumsulfat und dampfte wieder ein. Aus Aceton und wenig Wasser erhielten wir weiter 6,4 g Dien-diacetat, so dass die totale Ausbeute 82% der Theorie betrug.

3. Umsetzung der Cholenverbindung mit Bromphtalimid.

10 g Δ^{23} -3 α ,12 β -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholen (I) und 4,02 g 94,5-proz. Bromphtalimid (aus Benzol umkrystallisiert) wurden in 150 cm³ Tetrachlorkohlenstoff gemäss dem vorhergehenden Beispiel zugleich belichtet und erhitzt. Auch die Aufarbeitung geschah in gleicher Weise. So erhielten wir 6,90 g oder 69,2% der Theorie an reinem Dien-diacetat.

Die gelben Mutterlaugen des Dien-diacetats wurden in wässrigem Methanol 1 Stunde lang mit 1 g Pottasche am Rückfluss zum Sieden erhitzt. Hierauf dampfte man den Alkohol im Vakuum ein, nahm in Äther-Chloroform auf, wusch mit Wasser, trocknete und dampfte ein. Aus der ätherischen Lösung des Rückstandes erhielten wir 1,1 g oder 11,8% der Theorie an gut krystallisierendem Dien-monoacetat (V). Die Totalausbeute an Dien betrug somit 81% der Theorie.

4. Δ^{20} ,23-3 α ,12 β -Dioxy-24,24-diphenyl-choladien (VI).

1 g Δ^{20} ,23-3 α -Oxy-12 β -acetoxy-24,24-diphenyl-choladien (V) versetzte man in 25 cm³ Äthanol mit 5 cm³ einer wässrigen Kaliumhydroxydlösung und kochte 2 Stunden am Rückfluss. Nun dampfte man im Vakuum ein, nahm den Rückstand in Äther auf, wusch die ätherische Lösung mit Wasser, trocknete und dampfte sie ein. Zur Reinigung wurde das erhaltene Öl in ätherischer Lösung mit etwas Kohle behandelt, dann über wenig Aluminiumoxyd filtriert und aus Methanol umkrystallisiert. Die erhaltenen feinen Nadeln schmolzen unscharf ab 124° und enthielten vermutlich etwas Wasser. Zur Analyse musste daher 4 Stunden lang bei 120° im Hochvakuum getrocknet werden.

3,554 mg Subst. gaben 11,02 mg CO₂ und 2,91 mg H₂O

C₃₅H₄₆O₂ Ber. C 84,65 H 9,07%
Gef. „ 84,62 „ 9,16%

$[\alpha]_D^{21} = +101^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (c = 1,02 in Chloroform)

Das freie Dien (VI) ist im Gegensatz zum Monoacetat (V) sehr leicht in Äther löslich und krystallisiert nicht mehr aus diesem Lösungsmittel aus.

5. Δ^{23} -3 α ,12 β -Diacetoxy-22-brom-24,24-diphenyl-cholen (II). Isolierungs- und Umsetzungsversuche.

a) Isolierung. 5 g Δ^{23} -3 α ,12 β -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholen (I) wurden mit 2,3 g Bromsuccinimid in 70 cm³ Tetrachlorkohlenstoff unter Belichtung (7 Minuten) zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen saugte man ab und dampfte bei Raumtemperatur im Vakuum ein. Der Rückstand bestand aus einem hellgelben Pulver, welches in 100 cm³ Hexan aufgenommen wurde. Nach Abfiltrieren von Ungelöstem liess man die Lösung durch eine kleine Säule Floridin XS laufen und erhielt nach Abjagen des Hexans bei Raumtemperatur im Vakuum das Δ^{23} -3 α ,12 β -Diacetoxy-22-brom-24,24-diphenyl-cholen (II) als ein nahezu farbloses Pulver. Unter Erweichen zersetzte es sich zwischen 85° und 90°.

3,865 mg Subst. gaben 10,24 mg CO₂ und 2,82 mg H₂O

3,825 mg Subst. verbrauchten 0,86 cm³ 0,1-n. NH₄CNS, f = 0,55

C₄₀H₅₁O₄Br Ber. C 71,09 H 7,61 Br 11,83%
Gef. „ 72,29 „ 8,15 „ 12,28%

Eine weitere Reinigung gelang nicht, da sich offenbar das sehr labil gebundene 22-Bromatom als Bromwasserstoff unter Bildung von $\Delta^{20,23}$ -3 α ,12 β -Diacetoxy-24,24-diphenyl-choladien (III) allzu leicht abspaltete.

b) Umsetzung von Δ^{23} -3 α ,12 β -Diacetoxy-22-brom-24,24-diphenyl-cholen (II) mit Natriumäthylat und Äthanol. Aus 5 g Δ^{23} -3 α ,12 β -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholen (I) hergestelltes rohes Bromid (II) wurde in Hexanlösung zu einer alkoholischen Natriumäthylatlösung (0,17 g Na) gegeben. Nach mehrstündigem Stehen wurde vom Natriumbromid abgesaugt, im Vakuum bei niedriger Temperatur eingengt, der teilweise krystallinische Rückstand mit Alkohol behandelt und abgesaugt. Aus Alkohol krystallisierte 3-Oxy-12-acetoxy-dien (V) vom Smp. 222—226° aus. Neben vollständiger HBr-Abspaltung war Umesterung an der 3-Oxy-Gruppe eingetreten.

c) Umsetzung mit Äthylalkohol allein. Man übergoss 4,7 g Rohprodukt (II) mit 20 cm³ absol. Alkohol und filtrierte von Ungelöstem ab. Das aus dem stark sauren Ansatz bald auskrystallisierende Produkt wurde nach mehrstündigem Stehen abgesaugt und mit wenig Alkohol nachgewaschen. Nach Umkrystallisieren aus Benzol-Hexan chromatographierte man die Substanz in Benzol-Hexan über Aluminiumoxyd und gewann aus dem ersten Eluat mit Alkohol Krystalle vom doppelten Smp. 144—146° und 179—180°, identisch mit $\Delta^{20,23}$ -3 α ,12 β -Diacetoxy-24,24-diphenyl-choladien (III). Aus dem 2. und 3. Eluat erhielt man nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol eine Verbindung vom Smp. 173—175°, die mit (III) identisch sein musste:

4,716 mg Subst. gaben	13,83 mg CO ₂	und	3,66 mg H ₂ O
Dien: C ₄₀ H ₅₀ O ₄ (III)	Ber. C 80,76	H 8,47%	
22-Äthoxyverb.: C ₄₂ H ₅₆ O ₅	Ber. „ 78,71	„ 8,81%	
	Gef. „ 80,13	„ 8,69%	

$$[\alpha]_D^{22} = +184^\circ \pm 4^\circ \quad (c = 0,774 \text{ in Chloroform})$$

Der etwas niedere Schmelzpunkt, die zu tiefe Drehung und der nicht ganz übereinstimmende Kohlenstoffwert deuten auf eine schwer abtrennbare Verunreinigung hin. In allen seinen Reaktionen stimmte aber das Produkt mit der reinen Verbindung überein. Auch gab die Zeisel-Bestimmung ein negatives Resultat. Nachacetylierung brachte keine weitere Reinigung hervor, was beweist, dass das Nebenprodukt nicht etwa dem Monoacetat (V) entsprach.

d) Umsetzung mit Eisessig-Acetanhydrid und Natriumacetat oder Eisessig allein. Das aus 5 g Δ^{23} -3 α ,12 β -Diacetoxy-24,24-diphenyl-cholen (I) hergestellte rohe Bromid (II) wurde in Hexan bei Raumtemperatur mit einer Lösung von 0,7 g Natriumacetat in 30 cm³ Eisessig und 10 cm³ Acetanhydrid 6 Stunden geschüttelt. Natriumbromid schied sich in Form eines feinen Niederschlages ab. Es wurde vorsichtig in Wasser gegossen, ausgeäthert, die Ätherlösung neutralgewaschen und getrocknet. Nach Abdestillieren des Äthers trocknete man den Rückstand im Vakuum und unterwarf das hellgelbe Pulver einer fraktionierten Krystallisation aus Methanol-Wasser und hierauf aus Aceton-Wasser. Neben geringen, noch etwas halogenhaltigen Anteilen erhielt man die niedriger schmelzende Modifikation des Diacetoxy-diens (III):

3,680 mg Subst. gaben	10,89 mg CO ₂	und	2,88 mg H ₂ O
C ₄₀ H ₅₀ O ₄ (III)	Ber. C 80,76	H 8,47%	
	Gef. „ 80,79	„ 8,76%	

Die partielle Verseifung führte wieder zu $\Delta^{20,23}$ -3 α -Oxy-12 β -acetoxy-24,24-diphenyl-choladien (V). Auch die Lösung des rohen Bromids in Eisessig allein ergab nach einigem Stehen Diacetoxy-dien (III).

Die Analysen und die Bestimmung der Drehungen wurden in unserem Laboratorium unter der Leitung von Hrn. Dr. Gysel durchgeführt.

164. De la protection contre l'hydrolyse enzymatique exercée
par les groupes phosphoryles II.

Sur la préparation de quelques peptides dérivés de la phosphotyrosine
et sur leur dégradation enzymatique

par Théodore Posternak et Sigrid Grafl.

(11 IX 45)

Dans la communication I¹⁾, nous avons montré que la présence de groupes phosphoryles dans le voisinage de liaisons peptidiques ou glucosidiques protège ces dernières contre l'action des hydrolases. Cette action protectrice explique la formation des fragments riches en phosphore et résistants à l'action des ferments (phosphopeptones, phosphopolyoses) qu'on observe lors de la dégradation enzymatique des phosphoprotéides ou de certaines espèces d'amidon. Les substances phosphorylées simples que nous avons étudiées à l'époque étaient, d'une part, le phosphotétraose obtenu à partir de l'amidon de pomme de terre, d'autre part, l'acide phosphoséryl-glutamique formé par hydrolyse acide ménagée des phosphopeptones de la caséine. Ces substances résistent à l'action respectivement de l'amylase et de la dipeptidase, mais se laissent, par contre, dégrader dès que leur phosphore a été éliminé sous l'action d'une phosphatase.

Il nous a paru intéressant d'étendre ces recherches à d'autres substances phosphorylées de constitution simple et bien déterminée. Nous avons donc préparé quelques peptides dérivés du glycocolle et d'un oxyamino-acide phosphorylé qui, jusqu'à présent à vrai dire, n'a pas été décelé dans la nature: la *l*-phosphotyrosine (I).

Si l'on ne connaissait pas encore des peptides dérivés de la phosphotyrosine, cette dernière, par contre, avait déjà été préparée par deux méthodes différentes. *Levene* et *Schormüller*²⁾ l'obtinrent par l'action de l'oxychlorure de phosphore sur la formyl-tyrosine en milieu aqueux, en présence de magnésie. *Plimmer*³⁾ la synthétisa avec un bien meilleur rendement en traitant la tyrosine à chaud par l'anhydride phosphorique en solution dans l'acide phosphorique. Les produits obtenus par les deux méthodes diffèrent d'ailleurs considérablement par leur point de fusion et leur rotation spécifique.

Dans nos premiers essais de synthèse de peptides phosphorylés nous nous sommes adressés à la phosphotyrosine préparée d'après *Plimmer* et nous avons essayé de la transformer en glycyphosphotyrosine par les méthodes classiques. Ces essais ont échoué en raison de l'inertie remarquable qu'oppose la substance: par exemple, elle ne se laisse pas condenser, du moins dans les conditions habituelles, avec le chlorure de chloracétyle ou le chlorure de carbobenzoyle.

1) *Th. Posternak et H. Pollaczek, Helv. 24, 921 (1941).*

2) *J. Biol. Chem. 100, 583 (1933).*

3) *Biochem. J. 35, 461 (1941).*

Des essais de phosphorylation directe de la glycyl-*l*-tyrosine par l'anhydride phosphorique en solution dans l'acide phosphorique échouèrent également. A froid, il ne se produit aucune réaction; à chaud, on obtient seulement de la phosphotyrosine par suite d'une dégradation du dipeptide résultant sans doute d'une phosphorolyse.

Nous avons élaboré finalement la méthode suivante:

Nous nous adressons à l'ester méthylique ou éthylique d'un N-carbobenzoxy-peptide dérivé de la tyrosine et nous le phosphorylons d'après la méthode classique d'*Emil Fischer* par l'oxychlorure de phosphore en solution pyridique. Le produit phosphorylé est ensuite saponifié par la soude caustique avec formation d'un N-carbobenzoxy-phosphopeptide, dont il s'agit alors d'éliminer par réduction le reste carbobenzoxy pour obtenir le phosphopeptide libre.

Cette dernière opération nous a réservé quelques difficultés. L'hydrogénation catalytique à laquelle on recourt habituellement, n'ayant pas donné de bons résultats, pas plus que l'emploi du sodium dans l'ammoniac liquide¹), nous avons employé finalement, avec succès, l'iodure de phosphonium dans l'acide acétique glacial²).

C'est ainsi qu'à partir de l'ester éthylique de la N-carbobenzoxy-*l*-tyrosine³) nous avons obtenu de la *l*-phosphotyrosine; notre produit avait un point de fusion (227°) et une rotation spécifique ($[\alpha]_D = -8,8^{\circ}$) analogues à ceux du produit de *Plimmer*⁴) (224—225°; $[\alpha]_D = -9,2^{\circ}$); nous n'avons donc pu confirmer les données de *Levene* et *Schormüller*⁴) qui indiquent un p. de f. de 253° et $[\alpha]_D = -2,0^{\circ}$.

Nous avons obtenu également la phosphotyrosine en phosphorylant d'après *E. Fischer* l'ester éthylique de la *l*-tyrosine sans protéger le groupe amino et en saponifiant ensuite par la soude caustique. Lorsque l'oxychlorure de phosphore se trouve en excès, il se forme, en outre, un produit de rapport at. P/N = 3 qui consiste probablement, avant tout, en acide tyrosine-triphosphorique II. Il perd facilement sous l'action ménagée des acides minéraux deux restes phosphorylés; nous pensons qu'il s'agit de ceux qui sont fixés à l'azote.

Nous avons préparé, d'autre part, les deux phospho-dipeptides VI et X et les deux phospho-tripeptides XIII et XVI.

Glycyl-l-phosphotyrosine VI. Elle a été obtenue à partir de l'ester éthylique de la carbobenzoxy-glycyl-*l*-tyrosine III⁵) par l'intermédiaire de la carbobenzoxy-glycyl-*l*-phosphotyrosine (IV).

l-Phosphotyrosyl-glycine X. Nous sommes partis de l'ester méthylique de la N-carbobenzoxy-O-acétyl-tyrosyl-glycine (VII)⁵). Par désacétylation au moyen de l'acide chlorhydrique en solution dans l'alcool méthylique, on obtient facilement l'ester méthylique de la N-carbobenzoxy-tyrosyl-glycine (VIII). Ce dernier peut encore être préparé par une autre méthode en faisant réagir l'azide de la N-carbo-

¹) *Harington* et *Mead*, *Biochem. J.* **29**, 1602 (1935); **30**, 1598 (1936).

²) *Harington* et *Mead*, loc. cit.

³) *Bergmann* et *Zervas*, *B.* **65**, 1199 (1932).

⁴) Loc. cit.

⁵) *Bergmann* et *Fruton*, *J. Biol. Chem.* **118**, 405 (1937).

benzoxy-*l*-tyrosine avec l'ester méthylique du glyocolle. La substance, après phosphorylation suivie de saponification et de décarboxylation, nous a fourni le phosphodipeptide X cherché.

l-Phosphotyrosyl-glycyl-glycine XIII. Elle a été préparée à partir de l'ester éthylique de la N-carbobenzoxy-tyrosyl-glycyl-glycine XI qui était déjà connu¹).

Glycyl-*l*-phosphotyrosyl-glycine XVI. L'ester de la carbobenzoxy-glycyl-*l*-tyrosine (III) a été transformé en hydrazide (V) puis en azide. Ce composé traité par l'ester éthylique du glyocolle nous a donné l'ester éthylique de la N-carbobenzoxy-glycyl-*l*-tyrosyl-glycine (XIV). Ce dernier produit nous a fourni enfin, par application de notre méthode, la glycyl-*l*-phosphotyrosyl-glycine (XVI).

Les N-carbobenzoxy-phosphopeptides obtenus intermédiairement dans ces synthèses sont des substances amorphes, mais ils ont été préparés, dans certains cas, à l'état analytiquement pur. Les phosphopeptides obtenus comme produits finaux sont, à l'état pur, des substances microcristallines. Ils ne donnent pas la réaction de *Millon* et sont tous dextrogyres en solution acide. Ils se laissent titrer nettement à la soude caustique, en solution aqueuse en présence de phénolphtaléine, comme des acides bibasiques. Leurs sels alcalino-terreux sont solubles dans l'eau, leurs sels de métaux lourds sont insolubles.

Chez les phosphopeptides, dont le groupe amino libre ne fait pas partie d'un reste de glycine (phosphotyrosyl-glycine X, phosphotyrosyl-glycyl-glycine XIII), les teneurs en azote aminé déterminées d'après *van Slyke* sont en accord satisfaisant avec la théorie. Chez les deux autres phosphopeptides, on observe, par contre, comme on devait s'y attendre, des teneurs en azote aminé trop fortes²). Après hydrolyse acide énergique tout l'azote des phosphopeptides passe à l'état aminé; à côté de l'acide phosphorique, on peut alors isoler de la tyrosine et du glyocolle.

Essais biochimiques. Nous avons soumis nos substances à l'action des peptidases contenues dans l'extrait glycéринé de la muqueuse intestinale de porc, en présence et en l'absence de phosphatase des reins de porc. Pour mesurer la dégradation enzymatique, nous avons recouru principalement à la méthode de *van Slyke*, et parfois, avec des résultats d'ailleurs analogues, à celle de *Willstaetter* et *Waldschmidt-Leitz*.

Dans les 4 figures, la formation de P min. en % de P total est représentée: en l'absence de phosphatase des reins par les courbes I; en présence de cette phosphatase par les courbes II. L'augmentation de N aminé en % de N aminé primitif est donnée: en l'absence de phosphatase des reins par les courbes III, en présence de cette phosphatase par les courbes IV.

¹) *Bergmann* et *Fru-ton*, loc. cit.

²) *Abderhalden* et *van Slyke*, Z. physiol. Ch. 74, 505 (1911).

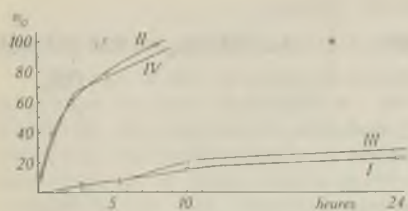


Fig. 1
Phosphotyrosyl-glycine

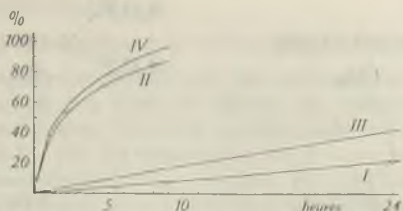


Fig. 2
Glycyl-phosphotyrosine

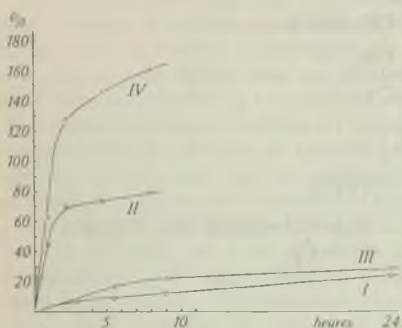


Fig. 3
Phosphotyrosyl-glycyl-glycine

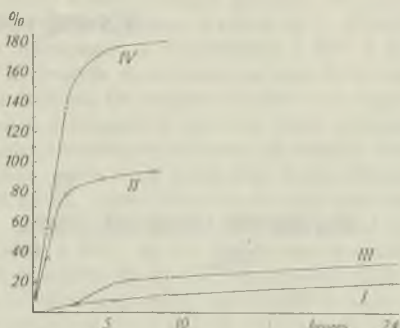
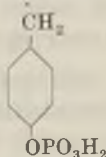
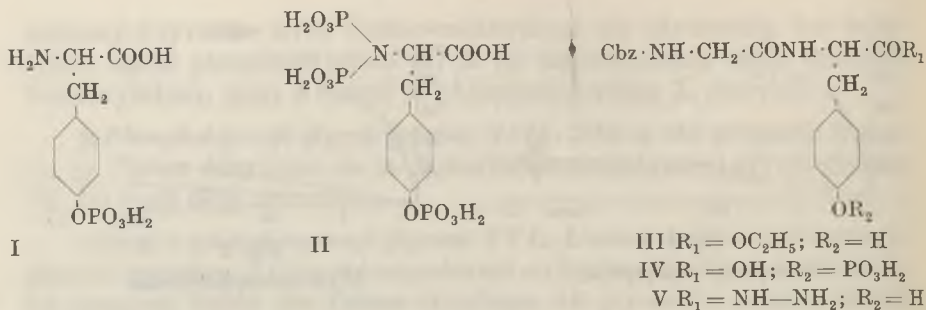


Fig. 4
Glycyl-phosphotyrosyl-glycine

Les courbes III des fig. 1—4 montrent qu'en l'absence de phosphatase des reins, nos substances résistent ou tout au moins ne se laissent dégrader que très lentement par les peptidases. Il faut noter qu'il se produit toujours dans ces expériences une légère minéralisation du phosphore (courbes I) due à la présence de petites quantités de phosphatase dans l'extrait glycériné de muqueuse intestinale; il est très probable que c'est cette faible déphosphorylation qui permet une dégradation lente par la peptidase et que les substances se montreraient encore plus résistantes si on les soumettait à l'action d'une peptidase rigoureusement exempte de phosphatase.

En présence de phosphatase des reins, par contre, la déphosphorylation rapide qui se produit (courbes II) s'accompagne parallèlement d'une dégradation rapide (courbes IV): l'azote aminé tend, comme on devait s'y attendre, à doubler dans le cas des dipeptides et à tripler dans celui des tripeptides.

Les peptides de la phosphotyrosine se comportent donc comme l'acide phosphoséryl-glutamique étudié autrefois. Le groupe phosphore fixé à l'hydroxyle de la tyrosine protège contre l'hydrolyse enzymatique la liaison peptidique voisine, bien que cette dernière soit plus éloignée que chez le peptide de la phosphosérine.



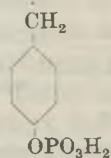
VI



VII $\text{R}_1 = \text{CH}_3$; $\text{R}_2 = \text{Ac}$

VIII $\text{R}_1 = \text{CH}_3$; $\text{R}_2 = \text{H}$

IX $\text{R}_1 = \text{H}$; $\text{R}_2 = \text{PO}_3\text{H}_2$

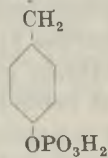


X



XI $\text{R}_1 = \text{C}_2\text{H}_5$; $\text{R}_2 = \text{H}$

XII $\text{R}_1 = \text{H}$; $\text{R}_2 = \text{PO}_3\text{H}_2$

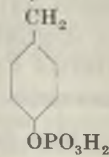


XIII



XIV $\text{R}_1 = \text{C}_2\text{H}_5$; $\text{R}_2 = \text{H}$

XV $\text{R}_1 = \text{H}$; $\text{R}_2 = \text{PO}_3\text{H}_2$



XVI



PARTIE EXPÉRIMENTALE ¹⁾.

Préparation de la l-phosphotyrosine 1 à partir de l'ester éthylique de la carbobenzoxy-l-tyrosine.

500 mgr. d'ester éthylique de la carbobenzoxy-l-tyrosine²⁾ sont dissous dans 1 cm³ de pyridine anhydre. On refroidit à -15° et ajoute peu à peu, en agitant, une solution de 245 mgr. d'oxychlorure de phosphore (1,1 mol.) dans 2,5 cm³ de pyridine anhydre et abandonne, pendant 30 minutes, en maintenant à -15°. On laisse encore 2 ½ h. à température ordinaire et ajoute ensuite en refroidissant environ 10 gr. de glace. Par addition d'acide sulfurique dilué jusqu'à réaction acide au congo, on précipite un produit huileux qui représente l'ester éthylique de la carbobenzoxy-phosphotyrosine. Il est extrait au chloroforme; après évaporation du dissolvant à température ordinaire, on le soumet directement à la décarbobenzoylation.

Le produit (300 mgr.) est dissous dans 16 cm³ d'acide acétique anhydre. On ajoute 0,4 gr. d'iode de phosphonium et on fait passer durant 75 min., à raison de 1—2 bulles par seconde, un courant d'hydrogène sec, en maintenant la température à 35°. A leur sortie, les gaz sont dirigés dans une solution d'hydroxyde de baryum; au bout de 45 min. déjà le dégagement de CO₂ a considérablement diminué. On évapore ensuite à sec dans le vide, reprend par l'eau, neutralise à l'ammoniaque et évapore de nouveau. Cette opération est répétée trois fois de suite, de manière à éliminer complètement l'iode de benzyle. Pour finir, on reprend encore par l'eau, filtre et ajoute, après avoir neutralisé éventuellement par l'ammoniaque, 2,5 cm³ d'acétate de baryum à 10%. Après filtration, on concentre dans le vide à 5 cm³ et précipite par 3 vol. d'alcool. Le sel de baryum est redissous dans 4 cm³ d'eau; on précipite par 2 cm³ d'acétate de plomb à 20%. Le sel plombique est ensuite décomposé par l'hydrogène sulfuré et le filtrat du sulfure de plomb est concentré dans le vide à 2 cm³ environ. On neutralise alors, à la phénolphtaléine, par NaOH n, puis on ajoute encore le double du volume de soude caustique employée et on laisse séjourner 15 minutes à température ordinaire, afin de saponifier l'ester éthylique évent. présent. Après introduction de la quantité de HCl n correspondant à la soude et addition d'alcool (2 vol.), il cristallise un produit identique à la phosphotyrosine de *Plimmer*³⁾. P. de f. et p. de f. de mélange 227°.

12,83; 10,31 mgr. subst. ont donné 0,634; 0,500 cm³ N₂ (20°, 713 mm.; 19°, 712 mm.)

11,9; 6,35 mgr. subst. ont donné 0,1893; 0,1037 gr. SPBa⁴⁾

23,9 mgr. subst. ont consommé (phénolphtaléine) 1,86 cm³ NaOH 0,1-n.

C ₉ H ₁₂ O ₆ NP	Calculé N 5,32	P 11,84%	Pds. équiv. 130,5
	Trouvé ,, 5,40; 5,31	,, 11,76; 12,06%	,, 128,5

Polarimétrie: a) après neutralisation à la phénolphtaléine par NaOH.

c = 0,928; l = 2 dm.; $\alpha_D^{20} = -0,10 \pm 0,02$; $[\alpha]_D^{20} = -5,5 \pm 1$

b) dans HCl 2 n.:

c = 1,017; l = 2 dm.; $\alpha_D^{20} = -0,18 \pm 0,02$; $[\alpha]_D^{20} = -8,8 \pm 1$

Plimmer indique pour la phosphotyrosine, en accord avec nos propre observations: p. de f. 224—225°; $[\alpha]_D$ (dans HCl 2 n) = -9,19°. *Levene* et *Schormüller* donnent: p. de f. 253°; $[\alpha]_D = -2,0$. Les produits de *Levene* et de *Plimmer* avaient été préparés par des méthodes différentes de la nôtre.

Phosphorylation de l'ester de la l-tyrosine

l-Phosphotyrosine. On dissout 300 mgr. de chlorhydrate de l'ester éthylique de la l-tyrosine dans 1 cm³ de pyridine anhydre, puis on ajoute lentement, en agitant et en refroidissant à -15°, 190 mgr. d'oxychlorure de phosphore (1 mol.) dissous dans 1 cm³ de pyridine. Après un séjour d'une demi-heure dans un mélange réfrigérant, on laisse pendant

¹⁾ Tous les produits ont été séchés à 110° avant l'analyse, dans le vide, sur l'anhydride phosphorique.

²⁾ *Bergmann* et *Zervas*, B. 65, 1199 (1932). ³⁾ Loc. cit.

⁴⁾ SPBa = sulfo-phosphomolybdate de baryum; voir Bl. [4] 27, 507 et 564 (1920).

4 h. à température ordinaire. On ajoute ensuite, en refroidissant extérieurement, 6—7 gr. de glace et on abandonne à la glacière durant la nuit. Le lendemain, on introduit de la baryte cristallisée jusqu'à réaction fortement alcaline à la phénolphtaléine et on filtre. On concentre ensuite fortement dans le vide, on ajoute de l'eau et on répète cette opération jusqu'à élimination complète de la pyridine. La solution est ensuite filtrée et additionnée de quelques vol. d'alcool. Le précipité formé (400 mgr.) est débarrassé des ions Cl⁻ par plusieurs dissolutions dans l'eau suivies de reprécipitations par l'alcool.

Les sels de baryum sont ensuite redissous dans 10 parties d'eau; le produit phosphorylé est reprécipité comme sel de plomb par addition d'acétate de plomb à 20%. Après décomposition de ce sel de plomb par l'hydrogène sulfuré et concentration de la solution, on traite 15 min. par la soude caustique de la manière indiquée précédemment, afin de saponifier l'ester éthylique. On ajoute ensuite la quantité d'acide chlorhydrique correspondant à la soude caustique introduite. Après concentration dans le vide à 2—3 cm³ et addition de 2 vol. d'alcool, il cristallise 150 mgr. de *l*-phosphotyrosine pure (p. de f. du produit et p. de f. du mélange avec un échantillon préparé d'après *Plimmer*: 224°).

Acide triphosphorique. Si le chlorhydrate de l'ester de la tyrosine est phosphorylé en solution pyridique par 2—3 mol. d'oxychlorure de phosphore, les composés phosphoorganiques donnent en majeure partie des sels de baryum insolubles dans l'eau. Après alcalinisation par la baryte (phénolphtaléine) de la solution pyridique aqueuse, on essore le précipité qu'on lave à l'eau; le filtrat contient une certaine quantité de phosphotyrosine qu'on isole comme il a été indiqué précédemment. Les sels de baryum insolubles sont redissous dans HCl 2,5 n et reprécipités par l'alcool; cette opération est répétée plusieurs fois dans le but d'éliminer les phosphates minéraux. Il faut éviter de laisser la substance trop longtemps en solution dans l'acide minéral, en raison de la facilité avec laquelle elle se déphosphoryle. On obtient ainsi un produit de composition assez variable (N 1,8—2,4%; P 13—15%; Ba 38—42%; calculé pour l'acide libre: P 22,5—24,0%; N 3,2—3,8%) mais chez lequel le rapport at. P/N est toujours voisin de 3. La formule la plus probable est celle de l'acide tyrosine-triphosphorique II (C₉H₁₄O₁₂NP₃ calculé: N 3,33%; P 22,1%), bien que les chiffres trouvés soient systématiquement trop élevés. La substance semble optiquement inactive. Par titrage au formol (*Sørensen*), on ne peut déceler de groupe amino libre. La méthode de *van Slyke* est inapplicable, car l'action de l'acide nitreux s'accompagne d'une minéralisation importante du phosphore. En solution dans HCl n à 37°, la substance perd rapidement $\frac{2}{3}$ de son phosphore.

Durée en h.	P min. en % de P total
2	47,1
4	61,6
8	66,1
24	68,5

Glycyl-l-phosphotyrosine VI.

Carbobenzoxy-glycyl-l-phosphotyrosine IV. 200 mgr. d'ester éthylique de la carbobenzoxy-glycyl-*l*-tyrosine III¹⁾ sont dissous dans 1 cm³ de pyridine anhydre. On ajoute, à -15°, une solution de 77 mgr. d'oxychlorure de phosphore dans 1 cm³ de pyridine. Après un séjour de 30 minutes à -15° et de 2½ h. à température ordinaire, on additionne le liquide brun clair, en refroidissant extérieurement, de 6 gr. de glace concassée. Après un séjour de 15 h. à la glacière, la solution est fortement concentrée dans le vide. Par acidification au congo par l'acide sulfurique, on précipite une huile qu'on extrait au chloroforme. La solution chloroformique est lavée à l'acide dilué, puis à l'eau et ensuite séchée sur du sulfate de sodium anhydre et évaporée à sec. Le résidu huileux qui représente l'ester

¹⁾ *Bergmann et Fruton, J. Biol. Chem.* 118, 405 (1937).

éthylque brut de la carbobenzoxy-glycyl-phosphotyrosine, ne doit pas donner de réaction de *Millon*. On saponifie par la soude caustique de la manière décrite précédemment. Après acidification par l'acide chlorhydrique, la carbobenzoxy-glycyl-phosphotyrosine IV précipite sous forme d'une huile qui, contrairement à son ester, est peu soluble dans le chloroforme. L'analyse a été effectuée sur le sel de baryum qu'on a préparé comme suit: on dissout le produit huileux par addition de soude caustique jusqu'à début de réaction alcaline (phénolphtaléine); par addition d'acétate de baryum, le sel de baryum précipite en flocons qu'on lave à l'alcool et sèche.

48,9 mgr. subst. ont consommé (*Kjeldahl*) 1,61 cm³ H₂SO₄ 0,1-n.

12,2 mgr. subst. ont donné 0,0802 gr. SPBa

61,1 mgr. subst. ont donné 0,0256 gr. BaSO₄

C₁₉H₁₉O₉N₂PBa Calculé N 4,77 P 5,28 Ba 23,38%

Trouvé ,, 4,61 ,, 4,86 ,, 24,65%

Glycyl-l-phosphotyrosine VI. 400 mgr. de carbobenzoxy-glycyl-phosphotyrosine (acide libre) et 0,4 gr. d'iode de phosphonium sont dissous dans 18 cm³ d'acide acétique anhydre. On chauffe à 50° dans un courant d'hydrogène sec; le dégagement d'anhydride carbonique est terminé au bout de 30 minutes. Le produit phosphorylé est ensuite isolé par l'intermédiaire de son sel de baryum puis de son sel de plomb dans les conditions décrites plus haut (voir préparation de la phosphotyrosine, à partir du dérivé carbobenzoxy). Après décomposition du sel de plomb par l'hydrogène sulfuré, le filtrat du sulfure de plomb est concentré dans le vide à 3 cm³ environ. Par addition de 7 cm³ d'alcool, la glycyl-phosphotyrosine cristallise (150 mgr.). On la purifie par dissolution dans l'eau suivie d'addition d'alcool. Poudre micro-cristalline fondant avec décomposition à 224—225° (chauffe rapide). Le mélange avec la phosphotyrosine de p. de f. 225—227° fond vers 214°. Réaction de *Millon* négative.

3,89; 4,31 mgr. subst. ont donné 0,304; 0,343 cm³ N₂ (18°, 716 mm.; 18,5°, 731 mm.)

8,40; 5,89 mgr. subst. ont donné 0,1086; 0,0785 gr. SPBa

62,72 mgr. subst. ont donné (*van Slyke*) 6,50 cm³ N₂ (21°, 697 mm.)

0,1043 gr. subst. ont consommé (phénolphtaléine) 0,66 cm³ NaOH n.

C₁₁H₁₅O₇N₂P Calculé N 8,81 P 9,76 NH₂-N 4,40% Pds. équiv. 159

Trouvé ,, 8,64; 8,96 ,, 9,55; 9,85 ,, 5,50% ,, ,, 158

c = 0,860 (dans H₂SO₄ n); l = 2 dm.; α_D²⁰ = +0,48° ± 0,02°; [α]_D²⁰ = +27,9° ± 1°

Le sel neutre de sodium de la substance ne présente pas de rotation optique appréciable.

Hydrolyse acide. La substance est chauffée 20 h. à l'ébullition à reflux avec 20 parties d'acide sulfurique à 25%. Tout l'azote se trouve alors sous forme aminée et le phosphore est quantitativement minéralisé. Après élimination quantitative des acides sulfurique et phosphorique par addition d'hydroxyde de baryum, le filtrat, qui ne doit pas contenir d'ions Ba⁺⁺, est concentré dans le vide, ce qui amène la cristallisation de la tyrosine (p. de f. 320°). Les eaux-mères fortement concentrées fournissent, par addition d'alcool méthylique, du glycocole; on le débarrasse des traces de tyrosine entraînées par dissolution dans un peu d'eau suivie de filtration et de précipitation par l'alcool méthylique (p. de f. 285°).

l-Phosphotyrosyl-glycine X.

Ester méthylique de la N-carbobenzoxy-O-acétyl-l-tyrosyl-glycine VII. La N-carbobenzoxy-O-acétyl-l-tyrosine a été préparée d'après *Bergmann* et *Zervas*¹⁾. Par recristallisation dans l'alcool méthylique dilué, nous avons obtenu un produit fondant nettement à 128—129°, alors que les auteurs cités indiquent une fusion peu nette vers 120—121°. Le produit a été transformé en chlorure d'acide et condensé avec l'ester méthylique du glycocole d'après la méthode de *Bergmann* et *Fruton*²⁾ qui ont effectué la même réaction avec

¹⁾ Z. physiol. Ch. **224**, 17 (1934).

²⁾ J. Biol. Chem. **118**, 405 (1937).

l'ester éthylique du glycocole; nous avons, toutefois, laissé les réactifs deux fois plus longtemps en présence que ne l'indiquent les auteurs. P. de f. 137—138°.

6,86 mgr. subst. ont donné 0,420 cm³ N₂ (19°, 718 mm.)

C₂₂H₂₄O₇N₂ Calculé N 6,54 Trouvé N 6,76%

Ester méthylique de la N-carbobenzoxy-l-tyrosyl-glycine VIII. a) On chauffe 20 min. à l'ébullition à reflux 2 gr. du produit précédent avec 28 cm³ d'une solution 0,6 n de gaz chlorhydrique dans l'alcool méthylique absolu. Après refroidissement, on évapore rapidement à sec dans le dessiccateur à vide sur l'acide sulfurique et la potasse en pastilles. Le résidu est recristallisé dans l'ester acétique. Rendement 90%; p. de f. 139°.

6,40 mgr. subst. ont donné 0,430 cm³ N₂ (20°, 713 mm.)

C₂₀H₂₂O₆N₂ Calculé N 7,25 Trouvé N 7,34%

b) On fait réagir l'azide de la carbobenzoxy-tyrosine avec l'ester méthylique du glycocole dans les conditions décrites par *Bergmann et Fruton*¹⁾ qui ont traité la même azide par l'ester éthylique de la glycyglycine. On obtient ainsi un produit identique à celui que fournit le procédé a).

Carbobenzoxy-l-phosphotyrosyl-glycine IX. — On dissout 2,3 gr. d'ester méthylique de la carbobenzoxy-l-tyrosyl-glycine VIII dans 10 cm³ de pyridine anhydre, et on introduit peu à peu, en refroidissant à -15°, une solution de 1,8 gr. (2 mol.) d'oxychlorure de phosphore dans 10 cm³ de pyridine anhydre. Après un séjour de 30 minutes à -15° et de 2½ h. à température ordinaire, on ajoute, en refroidissant extérieurement, 60 gr. de glace concassée, puis on abandonne pendant 15 h. à la glacière. Après acidification au congo par l'acide nitrique, on élimine les ions Cl⁻ par l'oxyde d'argent puis les ions Ag⁺ par l'hydrogène sulfuré. La solution filtrée, aérée et neutralisée à l'ammoniaque est additionnée de 15 cm³ d'acétate de plomb à 20%. Le précipité est essoré et lavé avec de petites quantités d'eau; on le remet ensuite en suspension dans un peu d'eau. Ce sel plombique est ensuite transformé de la manière suivante en sel de sodium: on ajoute peu à peu, en triturant continuellement, une solution de carbonate de sodium à 10%, jusqu'à coloration rose persistante du papier à la phénolphtaléine, et on essore. Dans ces conditions, seuls les sels de plomb phospho-organiques sont décomposés, le phosphate minéral de plomb reste, par contre, inaltéré. A ce moment, le produit phosphorylé peut être précipité, si l'on acidifie au congo par l'acide chlorhydrique (éviter tout excès) la solution du sel sodique et si l'on sature ensuite de sel marin. Il est, toutefois, préférable de reprécipiter le produit sous forme de son sel de plomb qu'on décompose ensuite par l'hydrogène sulfuré. Après concentration dans le vide, suivie de saponification par la soude caustique, dans les conditions déjà décrites, on précipite la carbobenzoxy-phosphotyrosyl-glycine comme sel de plomb qu'on décompose par l'hydrogène sulfuré. Le filtrat du sulfure de plomb, dans lequel le rapport at. N/P = 2,056 (calculé N/P = 2,00), laisse par évaporation à sec dans le vide, un résidu solide amorphe suffisamment pur pour la suite. Réaction de *Millon* négative.

l-Phosphotyrosyl-glycine X. 300 mgr. du produit précédent bien sec et 0,3 gr. d'iodeure de phosphonium sont dissous dans 15 cm³ d'acide acétique anhydre. On maintient la température à 55° durant 1 h. en faisant passer un courant d'hydrogène sec. Après distillation dans le vide et neutralisation à l'ammoniaque suivies de plusieurs évaporations dans le vide, on isole le produit de la manière habituelle, en passant par ses sels de baryum et de plomb. La substance (150 mgr.) est purifiée par dissolution dans 14 parties d'eau suivie d'addition de 2 vol. d'alcool. Après 3 ou 4 reprécipitations, la phosphotyrosyl-glycine se sépare à l'état micro-cristallin. Le produit est assez hygroscopique et fond en se décomposant à 178°; réaction de *Millon* négative.

9,39; 10,69 mgr. subst. ont donné 0,750; 0,850 cm³ N₂ (19°, 708 mm.; 19°, 713 mm.)

5,17; 6,32 mgr. subst. ont donné 0,0676; 0,0835 gr. SPBa

49,9 mgr. subst. ont donné (*van Slyke*) 4,30 cm³ N₂ (19°, 696 mm.)

0,1500 gr. subst. ont consommé (phénolphtaléine) 0,95 cm³ NaOH n.

C ₁₁ H ₁₅ O ₇ N ₂ P	Calculé N 8,81	P 9,76	NH ₂ —N 4,40%	Pds. équiv. 159
Trouvé „	8,70; 8,72	„ 9,66; 9,76	„ 4,61%	„ „ 158

¹⁾ Loc. cit.

Polarimétrie: a) après neutralisation (phénolphtaléine) par NaOH:

$$c = 1,25; l = 2 \text{ dm.}; \alpha_D^{25} = +0,50^0 \pm 0,02^0; [\alpha]_D^{25} = +20,0^0 \pm 1^0$$

b) dans H₂SO₄ n:

$$c = 0,500; l = 2 \text{ dm.}; \alpha_D^{23} = +0,20^0 \pm 0,02^0; [\alpha]_D^{23} = +20,0^0 \pm 2^0$$

Après 20 h. d'ébullition en présence de H₂SO₄ à 25%, on peut isoler, de la manière décrite plus haut, du glycocole et de la tyrosine.

l-Phosphotyrosyl-glycyl-glycine XIII.

Carbobenzoxy-l-phosphotyrosyl-glycyl-glycine XII. On prépare d'après *Bergmann et Fruton*¹⁾ l'ester éthylique de la carbobenzoxy-tyrosyl-glycyl-glycine XI. 1,2 gr. de ce produit sont dissous dans 6 cm³ de pyridine anhydre. On ajoute peu à peu, en refroidissant à -15°, une solution de 800 mgr. d'oxychlorure de phosphore dans 6 cm³ de pyridine anhydre. Après un séjour de 30 minutes à -15° et de 2 h. à température ordinaire, on ajoute 40 gr. de glace concassée et on abandonne 15 h. à la glacière. Par acidification au congo à l'acide nitrique, on précipite une huile peu soluble dans les dissolvants organiques habituels, qui représente une partie seulement du produit phosphorylé. On laisse se déposer, décante la solution et lave l'huile avec de petites quantités d'acide nitrique dilué, puis d'eau froide. Le reste du produit phosphorylé est isolé de la manière suivante: on débarrasse la solution des ions Cl' par l'oxyde d'argent; après élimination des ions Ag' en excès par l'hydrogène sulfuré suivie d'aération et de neutralisation à l'ammoniaque, on précipite par 10 cm³ d'acétate de plomb à 20%. Le sel plombique est essoré, lavé soigneusement et suspendu dans un peu d'eau. On le décompose par le carbonate de sodium à 10%, dans les conditions déjà décrites. On acidifie ensuite la solution du sel sodique par l'acide chlorhydrique et sature de sel marin. L'huile ainsi précipitée est réunie à la première et le tout est saponifié par la soude caustique normale de la manière habituelle. Après acidification à l'acide chlorhydrique, on sature de sel marin pour précipiter le produit phosphorylé. On le purifie par dissolution dans l'alcool absolu ou dans l'acide acétique glacial suivie de filtration et de concentration du filtrat. On obtient ainsi le carbobenzoxy-phosphopeptide sous forme d'un solide amorphe (0,9—1 gr.). Réaction de *Millon* négative.

66,4 mgr. subst. ont consommé (*Kjeldahl*) 3,90 cm³ H₂SO₄ 0,1 n

5,83 mgr. subst. ont donné 46,7 mgr. SPBa

C₂₁H₂₄O₁₀N₃P Calculé N 8,25 P 6,10%

Trouvé ,, 8,22 ,, 5,92%

l-Phosphotyrosyl-glycyl-glycine XIII. Une solution de 800 mgr. du produit précédent et de 800 mgr. d'iodure de phosphonium dans 8 cm³ d'acide acétique anhydre est chauffée 45 minutes à 65° dans un courant d'hydrogène sec. Le composé phosphorylé est ensuite isolé comme d'habitude par l'intermédiaire de son sel de baryum puis de son sel de plomb. La substance (300 mgr.), purifiée par précipitation par l'alcool de sa solution aqueuse concentrée, est une poudre indistinctement cristalline et hygroscopique fondant à 182°; réaction de *Millon* négative.

2,41 mgr. subst. ont donné 0,245 cm³ N₂ (18°, 714 mm.)

5,37; 5,35 mgr. subst. ont donné 61,0; 61,2 mgr. SPBa

61,88 mgr. subst. ont donné (*van Slyke*) 4,15 cm³ N₂ (18°, 700 mm.)

0,1537 gr. subst. ont consommé (phénolphtaléine) 0,83 cm³ NaOH n

C₁₃H₁₈O₈N₃P Calculé N 11,20 P 8,27 NH₂-N 3,73% Pds. équiv. 188

Trouvé ,, 11,20 ,, 8,39; 8,45 ,, 3,62% ,, ,, 185

Polarimétrie: a) après neutralisation (phénolphtaléine) par NaOH:

$$c = 1,655; l = 2 \text{ dm.}; \alpha_D^{23} = +0,19^0 \pm 0,02^0; [\alpha]_D^{23} = +5,7^0 \pm 0,6^0$$

b) dans H₂SO₄ n:

$$c = 1,00; l = 2 \text{ dm.}; \alpha_D^{23} = +0,15^0 \pm 0,02^0; [\alpha]_D^{23} = +7,5^0 \pm 1^0$$

1) Loc. cit.

Après 20 h. de traitement à l'ébullition par H_2SO_4 à 25%, on isole de la tyrosine et du glyocolle.

Glycyl-l-phosphotyrosyl-glycine XVI.

Hydrazide de la carbobenzoxy-glycyl-l-tyrosine V. 1,5 gr. d'ester éthylique de la carbobenzoxy-glycyl-l-tyrosine III sont dissous dans 10 cm³ d'alcool absolu chaud. On ajoute 0,45 cm³ d'hydrate d'hydrazine et abandonne la solution pendant 24 h. à la température ordinaire. Le précipité gélatineux est essoré et recristallisé dans l'alcool chaud. Aiguilles très fines (1,5 gr.) fondant à 176°.

3,23 mgr. subst. ont donné 0,431 cm³ N₂ (20°, 714 mm.)

C₁₉H₂₂O₅N₄ Calculé N 14,51% Trouvé 14,61%

Ester éthylique de la carbobenzoxy-glycyl-l-tyrosyl-glycine XIV. 1,8 gr. du produit précédent sont suspendus dans 25 cm³ d'eau. On dissout la substance par addition de 8 cm³ d'acide chlorhydrique concentré. On ajoute alors à 0°, en agitant, du nitrite de sodium à 10% (3,2 cm³) jusqu'à réaction bleue du papier iodo-amidonné. L'azide formée est extraite en deux fois par l'ester acétique (20 cm³ au total); on lave la solution successivement à l'eau, à l'hydrogencarbonate et de nouveau à l'eau et on la sèche rapidement sur du sulfate de sodium anhydre. On la mélange ensuite à une solution de 0,70 gr. (1,5 mol.) d'ester éthylique du glyocolle dans 10 cm³ d'éther acétique. Après 15 heures de séjour à température ordinaire, on lave la solution à l'acide chlorhydrique dilué, puis à l'hydrogencarbonate et enfin à l'eau; ensuite on la sèche et on l'évapore dans le vide. Le résidu (600 mgr.) est recristallisé dans un mélange d'éther acétique et d'éther de pétrole. P. de f. 169°.

8,66 mgr. subst. ont donné 0,732 cm³ N₂ (18°, 718 mm.)

C₂₂H₂₇O₇N₃ Calculé N 9,19 Trouvé N 9,37%

Carbobenzoxy-glycyl-l-phosphotyrosyl-glycine XV. On dissout 1,5 gr. du produit précédent dans 7,5 cm³ de pyridine anhydre et traite à -15° par une solution de 1 gr. d'oxychlorure de phosphore dans 7,5 cm³ de pyridine anhydre. Après un séjour de 30 min. à -15° et de 2½ h. à température ordinaire, on ajoute 40—50 gr. de glace concassée et on laisse 15 h. à la glacière. Par acidification à l'acide nitrique une partie de la substance phosphorylée précipite en flocons huileux qu'on lave à l'acide très dilué. Le reste est isolé de la manière suivante: on élimine les ions Cl' par l'oxyde d'argent et les ions Ag' en excès par l'hydrogène sulfuré et on précipite, après aération et neutralisation à l'ammoniaque, par l'acétate de plomb. Le sel plombique est décomposé par le carbonate de sodium dans les conditions déjà indiquées. On acidifie la solution sodique par l'acide chlorhydrique et sature de sel marin. Le produit précipité est centrifugé et réuni aux flocons huileux obtenus précédemment. On saponifie alors dans les conditions habituelles par la soude caustique, puis on acidifie et sature de sel marin. Après centrifugation, on reprend le produit brut par l'alcool ou l'acide acétique glacial, on filtre et on évapore à sec. On obtient ainsi env. 1,5 gr. de produit phosphorylé sous forme d'un solide amorphe; réaction de *Millon* négative.

9,85 mgr. subst. ont donné 0,725 cm³ N₂ (21°, 713 mm.)

10,40 mgr. subst. ont donné 83,4 mgr. SPBa

C₂₁H₂₄O₁₀N₃P Calculé N 8,25 P 6,10%

Trouvé „ 8,02 „ 5,93%

Glycyl-l-phosphotyrosyl-glycine XVI. 1 gr. du produit précédent et 1 gr. d'iodure de phosphonium sont dissous dans 10 cm³ d'acide acétique anhydre et sont chauffés 1½ h. à 65° dans un courant d'hydrogène sec. Le produit phosphorylé est isolé comme d'habitude par l'intermédiaire de son sel de baryum puis de son sel de plomb. On le purifie par précipitation en additionnant la solution aqueuse concentrée de quelques volumes d'alcool. Rendement 300 mgr.; poudre indistinctement cristalline, fondant en se décomposant vers 198° (chauffe rapide); réaction de *Millon* négative.

7,02 mgr. subst. ont donné 0,739 cm³ N₂ (20°, 714 mm.)
 4,25 mgr. subst. ont donné 46,8 mgr. SPBa
 55,84 mgr. subst. ont donné (*van Slyke*) 4,37 cm³ N₂ (18°, 700 mm.)
 0,1555 mgr. subst. ont consommé (phénolphtaléine) 0,83 cm³ NaOH n
 C₁₃H₁₈O₅N₃P Calculé N 11,20 P 8,27 NH₂-N 3,73% Pds. équiv. 188
 Trouvé ,, 11,52 ,, 8,14 ,, 4,22% ,, ,, 187

Polarimétrie: a) après neutralisation (phénolphtaléine) par NaOH:
 pas de rotation appréciable (c = 10; l = 2 dm.)

b) dans H₂SO₄ n:

$$c = 1,01; l = 2 \text{ dm.}; \alpha_D^{23} = +0,16^0 \pm 0,02^0; [\alpha]_D^{23} = +8,0^0 \pm 1^0$$

Après 20 h. d'ébullition, en présence de H₂SO₄ à 25%, on a isolé, comme dans le cas des autres phosphopeptides, du glycocole et de la tyrosine.

Action des ferments.

Préparation des ferments. La phosphatase des reins de porc a été préparée d'après E. et A. Albers¹⁾.

La solution de peptidase (de p_H 7,8) a été obtenue à partir de l'extrait glycéринé de muqueuse intestinale de porc de la manière décrite dans notre communication précédente²⁾.

Activité de l'amino-peptidase³⁾. 2,0 cm³ de l-leucyl-glycyl-glycine 0,1-m + 6 cm³ d'enzyme; p_H = 7,0; scission après 45 min. à 36°: 40%.

Activité de la dipeptidase⁴⁾: 41,6 mgr. de d, l-leucyl-glycine (0,24 millimol.) + 1 cm³ d'enzyme; p_H 7,8; scission après 1 h. à 40°: 25%. 1 cm³ de solution d'enzyme contient donc 1 DiE.

Méthodes analytiques. Les dosages de P total et de P min. ont été effectués d'après la méthode de S. Posternak⁵⁾.

Pour estimer l'action des peptidases, nous avons employé principalement la méthode de *van Slyke* et parfois, avec des résultats analogues, celle de *Willstaetter* et *Waldschmidt-Leitz*. Les deux méthodes nécessitent des corrections:

En effet, le glycocole et les peptides chez lesquels le glycocole porte le groupe amino libre, donnent, d'après la méthode de *van Slyke*, des teneurs trop fortes en azote aminé. Nous avons observé régulièrement les quantités suivantes d'amino-N en % de la théorie: glycocole 119; glycyl-phosphotyrosine 125; glycyl-phosphotyrosyl-glycine 111. En nous basant sur ces chiffres, nous avons donc corrigé les teneurs en N aminé observés.

D'autre part, l'acide phosphorique minéral titré à la phénol- ou à la thymol-phtaléine consomme, en solution dans l'alcool à 90%, davantage d'alcali (environ 10%) qu'en solution aqueuse, ce qui nécessite des corrections lors de l'emploi de la méthode titrimétrique.

Disposition des expériences. Les peptides phosphorylés étaient sous forme de solutions neutralisées (phénol-phtaléine) par la soude caustique. En voici les concentrations:

	mgr. P par cm ³	mgr. N par cm ³
Phosphotyrosyl-glycine	1,37	1,24
Phosphotyrosyl-glycyl-glycine	1,52	2,06
Glycyl-phosphotyrosine	1,37	1,24
Glycyl-phosphotyrosyl-glycine	1,77	2,39

¹⁾ Z. physiol. Ch. 237, 193 (1935).

²⁾ Th. Posternak et H. Pollaczek, Helv. 24, 927 (1941).

³⁾ Willstaetter et Grassmann, Z. physiol. Ch. 153, 250 (1926).

⁴⁾ Grassmann et Dickerkhoff, Z. physiol. Ch. 179, 41 (1928).

⁵⁾ Bl. [4] 27, 507 et 564 (1920); Helv. 24, 1205 (1941).

Série I. 1) 8 cm³ de solution de peptide phosphorylé + 24 cm³ de solution de peptidase + 416 P. E.¹⁾ p_H = 7,8. 2) 8 cm³ d'eau + 24 cm³ de solution de peptidase + 416 P. E. p_H = 7,8.

Série II. Comme la série I, mais sans phosphatase.

On ajoute partout quelques gouttes de toluène. Température 36°. Le p_H se maintient assez constant pour qu'il soit inutile d'introduire des mélanges-tampons.

Les dosages de P minéral sont effectués dans 2 cm³ de liquide; ceux d'azote aminé (*van Slyke*) et les titrations d'après *Willstaetter* et *Waldschmidt-Leitz* dans 4 cm³.

Les chiffres des essais 2) sont soustraits des chiffres correspondants des essais 1).

Lausanne, Laboratoire de Chimie organique de l'Université.

165. Über die reduktive Spaltung von m-Phenylendiamin-Disazofarbstoffen zu Derivaten des Tetra-aminobenzols

(31. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte²⁾)

von Paul Ruggli † und Roland Fischer.

(11. IX. 45.)

Bei unserer Studie über die Struktur des Toluylenbrauns G³⁾ war zur Ergänzung noch eine Prüfung erwünscht, ob die Kupplungs-orte des m-Phenylendiamins (I) als gesichert betrachtet werden können. In diesem 1,3-Diamin kommen prinzipiell die Stellen 2, 4 und 6 als Kupplungsorte in Betracht, wobei die letzteren beiden Stellen als bevorzugt gelten. Dass die 4-Stellung als erster Kupplungs-ort (II) unter allen Bedingungen feststeht, haben wir durch Einwirkung von einer Molekel Diazo-p-bromanilin bestätigt, wobei in mineralsaurer, essigsaurer und ätzalkalischer Lösung dieselbe Farb-base, nämlich p-Brom-chrysoidin und durch Acetylierung dasselbe Acetylderivat entstand.

Über die Kupplungsorte des 1,3-Phenylendiamins bei Einwirkung von zwei Mol Diazokomponente gehen die Angaben auseinander⁴⁾. Im allgemeinen wird eine „symmetrische“ 4,6-Kupplung (V) angenommen; in einzelnen Fällen konnte aber auch die „unsymmetrische“ 4,2-Kupplung⁵⁾ (VI) belegt werden, wenn nämlich mit je einem Mol verschiedener Diazoverbindungen je nach der Reihenfolge der Ein-

¹⁾ P. E. = Phosphatase-Einheit, voir *Albers*, loc. cit. La phosphatase a été introduite sous forme de poudre.

²⁾ Letzte Mitteilung *Helv.* **28**, 850 (1945).

³⁾ *Helv.* **28**, 445 (1945).

⁴⁾ *H. E. Fierz-David*, Künstliche organische Farbstoffe (Berlin 1926) S. 103, 194; *Fierz-Blangey*, Grundlegende Operationen der Farbenchemie, 5. Auflage (Wien 1943) S. 271—273; *R. Möhlau* und *H. Th. Bucherer*, Farbenchemisches Praktikum, 3. Auflage (Berlin 1926) S. 134; *A. Brunner*, Analyse der Azofarbstoffe (Berlin 1929) S. 25, 26.

⁵⁾ Wir gebrauchen diese Reihenfolge der Zahlen, weil die 4-Stellung zuerst kuppelt.

wirkung verschiedenartige Farbstoffe entstehen. Auch bei Anwendung von zwei Mol derselben Diazokomponente (Diazo-anilin) wurde symmetrischer und unsymmetrischer Disazofarbstoff (Typus V und VI) beobachtet¹⁾. *M. P. Schmidt* und *A. Hagenböcker*²⁾ fanden bei soda-alkalischer Kupplung mit zwei Mol Diazo-anilin neben 50% symmetrischem Disazofarbstoff (V) in der Mutterlauge noch eine grössere Menge des leichter löslichen unsymmetrischen Disazofarbstoffs (VI), so dass sie beide Arten der zweiten Kupplung als ungefähr gleich begünstigt ansahen. Sie betonen, „dass die Doppelkupplung des m-Phenylendiamins nicht einheitlich verläuft“.

Da „die bekannten Spaltmethoden nicht zum Ziele führten“, haben die genannten Autoren die Struktur der beiden isomeren Farbstoffe durch Überführung in das lineare bzw. angulare Diphenyl-benzotriazol (III bzw. IV) bewiesen, doch waren die Ausbeuten an diesen Triazolen „im allgemeinen unbefriedigend“.

Da solche Fragen der Isomerie für die wissenschaftliche und technische Bearbeitung der Azofarbstoffe eine erhebliche Bedeutung haben, erschien es uns wünschenswert, auf eine gute Ausbeute an Beweismaterial hinzuarbeiten. Die oben erwähnte Oxydation von o-Amino-azofarbstoffen zu Benz-triazolen (III, IV) gibt schlechte Ausbeute bzw. unreine Produkte. Wir sind daher zu der auch sonst gebräuchlichen reduktiven Spaltmethode zurückgekehrt, die wir seit einigen Jahren nur noch auf katalytischem Wege durchführen, nämlich durch Hydrierung in Gegenwart von *Raney-Nickel*³⁾, und zwar bei präparativen Fällen am besten unter Hochdruck, wozu möglich bei Zimmertemperatur. Für wasserlösliche Farbstoffe verwenden wir eine ziemlich konz. wässrige Lösung oder gar Suspension (bis 10-proz.); in manchen Fällen erweist sich ein Zusatz von Dioxan als erwünscht. In beiden Fällen hat man den Vorteil, dass sich nach Abfiltrieren des Katalysators unverzüglich Acylierungen oder ähnliche Operationen anschliessen lassen.

Dass die reduktive Spaltung gerade bei Disazofarbstoffen mit m-Phenylendiamin als Kupplungskomponente bisher wenig befriedigend verlief, hat seinen Grund in der Unbeständigkeit der entstehenden Tetra-aminobenzole. So ist das 1,3,4,6-Tetra-aminobenzol (VII) bisher nur auf anderm Wege als Hydrochlorid sowie in Form von Derivaten erhalten worden. *R. Nietzki*⁴⁾ ging zuerst von der Nitrirung des Diacetyl-m-phenylendiamins (Bildung von VIII) aus;

1) *R. Möhlau* und *Th. Bucherer*, *Farbenchemisches Praktikum*, 3. Auflage (1926) S. 134, 135.

2) *B.* 54, 2201 (1921).

3) Zur Reduktion von Azokörpern mit Wasserstoff und *Raney-Nickel* vgl. u. a. *W. F. Whitmore* und *A. J. Revukas*, *Am. Soc.* 62, 1687 (1940); *C.* 1940, II. 3176.

4) *B.* 20, 2114 (1887).

besser geeignet war seine spätere Methode¹⁾, wonach 1,3-Dichlor-4,6-dinitrobenzol mit alkoholischem Ammoniak im Rohr erhitzt und das erhaltene Dinitro-diamin (IX) nach *R. Nietzki* und *E. Hagenbach*²⁾ mit salzsaurem Zinn(II)-chlorid zum Tetramin (VII) reduziert wird. Das erhaltene Zinnkomplexsalz wurde durch mehrmaliges Lösen in Wasser und Fällen mit Salzsäure in das zinnfreie Tetrahydrochlorid übergeführt, was nach unseren Versuchen nur mit grossen Verlusten möglich ist. Das Salz ist wenig haltbar, noch weniger das freie Tetramin (VII), das sich äusserst leicht — präparativ am besten mit Eisen(III)-chlorid — in das 2,5-Diamino-chinon-diimin verwandelt. Später³⁾ wurde das Tetramin (VII) als Tetra-acetyl-derivat sowie in Form von Chinoxalinen⁴⁾ stabilisiert.

Wir haben diese Arbeiten wiederholt und in einigen Punkten vervollständigt. So lässt sich 1,3,4,6-Tetra-aminobenzol (VII) heute bequemer durch katalytische Hydrierung des 4,6-Dinitro-m-phenyldiamins (IX) mit *Raney-Nickel* in Essigester erhalten und sofort als Hydrochlorid fällen oder in die Tetra-acetylverbindung überführen. Bei diesem Anlass wurden noch das 4,6-Dinitro-1,3-diacetamino-benzol (VIII) und daraus durch Hydrierung und Benzoylierung das 1,3-Di-acetamino-4,6-di-benzoylamino-benzol (X) dargestellt. Das 4,6-Dinitro-1,3-di-benzoylamino-benzol (XII) wurde ebenfalls hydriert, gab aber bei der anschliessenden Benzoylierung ein noch nicht sichergestelltes Tri-benzoylderivat, vielleicht XIII oder XIV. Die Per-benzoylierung verläuft also nicht immer so glatt, wie man nach der Literatur vermuten könnte⁵⁾. Wohl aber gelang die Reaktion glatt, wenn man 4,6-Dinitro-m-phenyldiamin (IX) in wässriger Suspension hydrierte und die Reduktionslösung in der unten beschriebenen Weise benzoylierte.

Das 1,3,4,6-Tetra-benzoylamino-benzol (XI) ist viel leichter zu erhalten, wenn man von einem wasserlöslichen Disazofarbstoff entsprechender Konstitution ausgeht. Wir wählten hierzu das Kupplungsprodukt aus 2 Mol Diazo-sulfanilsäure mit 1 Mol m-Phenyldiamin (Typus V), wobei anfangs mineralisäure, dann soda-alkalische und schliesslich ätzalkalische Reaktion vorlag. Der Farbstoff zeigte im Chromatogramm keinen Hinweis auf zwei Isomere, sondern gab unter der dunkel rotbraunen Hauptzone nur eine geringfügige gelbe Zone von Monoazofarbstoff (Sulfochrysoidin, Typus II). Der Disazofarbstoff (V) liess sich in 10-proz. wässriger Lösung bzw. Suspension unter 90 Atm. bei Zimmertemperatur glatt hydrieren. Da

¹⁾ *R. Nietzki* und *A. Schedler*, B. **30**, 1667 (1897).

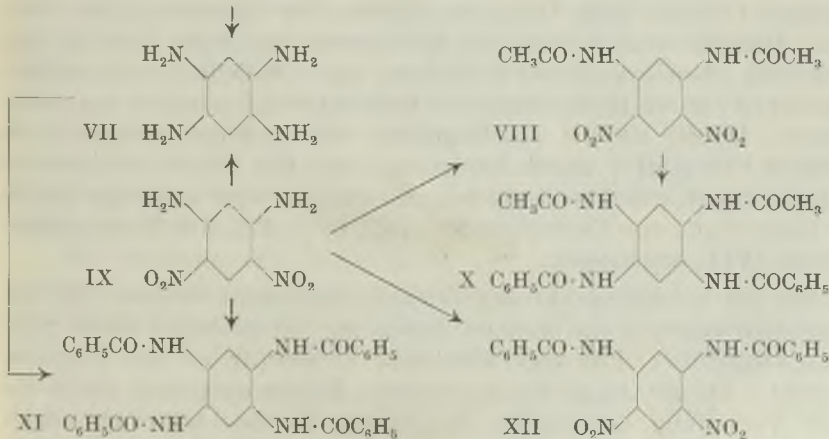
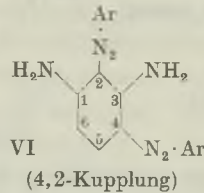
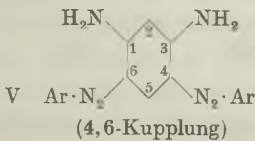
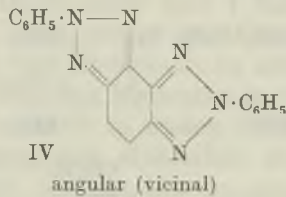
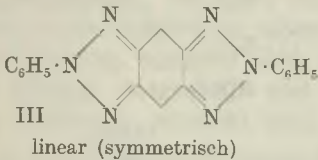
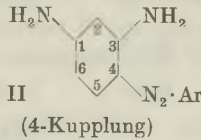
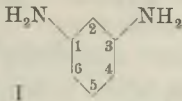
²⁾ B. **20**, 333 (1887).

³⁾ *R. Nietzki* und *E. Müller*, B. **22**, 440 (1889).

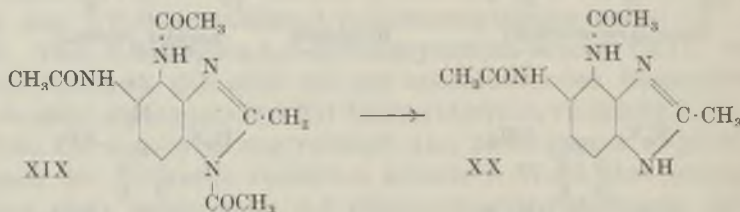
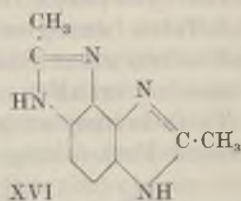
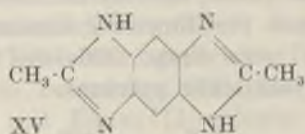
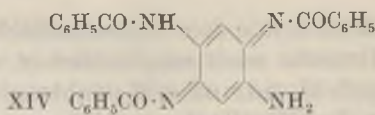
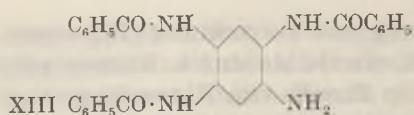
⁴⁾ Vgl. auch *A. Heckendorn*, Helv. **12**, 50 (1929).

⁵⁾ Vgl. *A. Brunner*, Analyse der Azofarbstoffe, S. 28 (Berlin 1929).

die entstehende fast wasserhelle Lösung des Tetramins (VII) durch Alkalizusatz noch empfindlicher wird, wurde sie durch Rühren mit Benzoylchlorid und erst nachträglichem Zusatz von Natronlauge tief unter die Oberfläche total benzoyliert und mit 85% Ausbeute das 1,3,4,6-Tetra-benzoylamino-benzol (XI) erhalten. Dieses hat die Eigenschaften einer Säure und wird als (analysiertes) farbloses Dinatriumsalz¹⁾ erhalten, aus dem man mit verdünnter Salzsäure das freie Tetra-benzoylamino-benzol (XI) vom Smp. 366—367° (anschliessend Verkohlung) in weissen Kryställchen gewinnt.



¹⁾ Dieses kann mit konz. Natronlauge ein höheres gelbes Natriumsalz bilden, das mit genügend Alkohol wieder ins Di-natriumsalz übergeht.



Diese Darstellung ist bequem und ergiebig; sie erfordert nur reichlich Chinolin zum Umkrystallisieren der schwerlöslichen Substanz. Dieselbe wurde durch die Mischprobe mit einem Produkt, das nach dem oben erwähnten Verfahren aus 4,6-Dinitro-m-Phenylendiamin (IX) durch Hydrierung und Benzoylierung erhalten war, identifiziert. Damit ist die 4,6-Kupplung des m-Phenylendiamins in unserem Farbstoff V durch Isolierung eines mit hoher Ausbeute erhaltenen Spaltproduktes bewiesen und zugleich eine ergiebige Quelle zur Darstellung von Derivaten des 1,3,4,6- (= 1,2,4,5-)Tetra-aminobenzols (VII) erschlossen.

Da der Schmelzpunkt des Tetra-benzoylamino-benzols (XI) für Identifizierungen etwas hoch ist, haben wir Verseifungen dieser Substanz ausgeführt. Für eine alkalische Verseifung ist die Prognose schlecht¹⁾. Da mit Alkali wenig definierte Körper entstehen, wurde die saure Verseifung untersucht. Tagelanges Kochen mit konz. Salzsäure und Eisessig greift die Substanz kaum an. Nur konz. Schwefel-

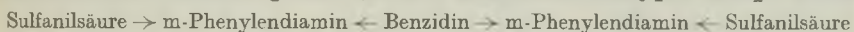
¹⁾ Vgl. hierzu die Notiz von R. Nietzki und E. Müller, B. 22, 441 (1889).

säure löst den Körper bei 50° auf; die erhaltenen Substanzen zeigten aber gegen alle Erwartung keinen höheren, sondern vielmehr einen niederen Stickstoffgehalt; dies deutet nicht auf eine gewöhnliche Verseifung, sondern eher auf eine hydrolytische Abspaltung ganzer Benzoylaminogruppen hin.

Um das bei der Farbstoff-Hydrierung erhaltene Tetramin (VII) noch auf andere Art zu identifizieren, haben wir bei weiteren Versuchen die klare Hydrierlösung in Essigsäure-anhydrid eingetragen, und den entstandenen Niederschlag mit Salzsäure gekocht, und so das lineare Dimethyl-bis-imidazo-benzol (XV) erhalten¹⁾. Diese Substanz ist von mehreren Autoren auf sicherem Wege erhalten und von dem gleichfalls bekannten, niedriger schmelzenden angularen Isomeren (XVI) leicht zu unterscheiden.

Zum Schluss haben wir noch zwei weitere Fälle untersucht. 1. Wir haben den Farbstoff aus 2 Mol Diazo-anilin und 1 Mol m-Phenylendiamin, bei dem *Schmidt* und *Hagenböcker* zwei Isomere fanden, nicht nach dem alten Verfahren von *P. Griess*²⁾ in alkoholischer Lösung, sondern nach den heute üblichen Methoden in wässriger Lösung dargestellt und gefunden, dass er in diesem Falle in guter Ausbeute entsteht und chromatographisch einheitlich ist.

2. Angeregt durch einen Isomeriefall³⁾, bei dem der Kupplungsart von der Reihenfolge der Operationen abhängt, haben wir zwei isomere Farbstoffe hergestellt, die beide dem Grundtypus entsprechen:



Bei Farbstoff A (XVII) wurde Tetrazo-benzidin mit 2 Mol Phenylendiamin gekuppelt, worauf man nachträglich 2 Mol Diazo-sulfanilsäure einwirken liess. Bei Farbstoff B (XVIII) wurde Diazo-sulfanilsäure mit Phenylendiamin zu „Sulfo-chrysoidin“ gekuppelt, worauf man auf 2 Mol dieses Farbstoffs 1 Mol Tetrazo-benzidin einwirken liess. Farbstoff A ist dunkelbraun und bildet im Chromatogramm eine festhaftende, schwer eluierbare Schicht, während Farbstoff B rot ist und die Säule rasch passiert. Hieraus geht hervor, dass solche Isomere mit offenbar verschiedenem Kupplungsort chromatographisch gut trennbar sind. A (XVII) ist substantiv, B (XVIII) nicht, was durch Ausfärbungen bestätigt wurde.

Wir konnten für Farbstoff A die 4,6-Kupplung (XVII) beweisen, da durch hydrierende Spaltung und nachfolgende Einwirkung von Essigsäure-anhydrid das lineare Dimethyl-bis-imidazo-benzol (XV) entstand. Farbstoff B ergab nach hydrierender Spaltung und

¹⁾ Die Stellung der Wasserstoffatome und damit der Doppelbindungen in den Seitenkernen bleibt im Sinne einer Mesomerie unbestimmt.

²⁾ B. 16, 2028 (1883).

³⁾ Beschrieben ist z. B. die Isomerie beim Dianilbraun 3 GN, *Fierz-Blangey*, Grundlegende Operationen der Farbenchemie, Berlin, 5. Auflage 1943, S. 271—273.

Acetylierung zwar nicht das angulare Bis-imidazol (XVI), wohl aber das gleichfalls bekannte¹⁾ 1-Acetyl-2-methyl-4,5-di-acetamino-benzimidazol (XIX) und durch partielle Verseifung das 2-Methyl-4,5-di-acetamino-benzimidazol (XX), aus deren gesicherter Struktur hervorgeht, dass das vicinale 1,2,3,4-Tetra-aminobenzol vorgelegen hatte, mithin die Farbstoffkupplung in diesem Falle vicinal in 4,2-Stellung im Sinne der Formel XVIII erfolgt war. Unsere Interpretation ist also etwas abweichend von dem in der Literatur beschriebenen ähnlichen Falle des Dianilbrauns 3 GN, wo beiden Isomeren eine vicinale Kupplung, wenn auch in verschiedenem Sinne, zugeschrieben wird. Von experimentellem Interesse ist übrigens, dass man die Benzidin-farbstoffe des Typus XVIII fraktioniert spalten kann. Hydriert man in wässriger Lösung, so zerfallen sie in Sulfanilsäure und den unlöslichen Disazofarbstoff Benzidin → 2 m-Phenylendiamin. Hydriert man in wässrigem Dioxan, so verläuft die Spaltung vollständig. Wir gedenken mit der oben beschriebenen Methodik noch einige weitere Fälle von Farbstoff-Isomerie zu untersuchen. Auch dürfte sich die fraktionierte Spaltung bei der Strukturaufklärung in manchen Fällen als nützlich erweisen.

Experimenteller Teil.

Diacetyl-m-phenylendiamin.

Abweichend von der Methode *G. A. Barbaglia*²⁾ versetzt man 1 Mol m-Phenylendiamin mit 2,25 Mol Essigsäure-anhydrid. Wenn die starke Erwärmung vorüber ist, setzt man Wasser zu und erhält quantitativ das Diacetylderivat vom Smp. 191°. Das oftmalige Umkrystallisieren fällt dann weg. Ähnlich scheinen *N. Waljaschko* und *M. Bottina*³⁾ gearbeitet zu haben.

4,6-Dinitro-m-phenylendiamin (IX).

Das erforderliche 1,3-Dichlorbenzol wurde aus m-Chloranilin nach *Sandmeyer* dargestellt, ist aber auch nach *Hodgson* und *Walker*⁴⁾ direkt aus m-Phenylendiamin zugänglich. Nach erfolgter Dinitrierung erfolgte der Ersatz der Chloratome durch Aminogruppen nach *R. Nietzki* und *A. Schedler*⁵⁾. Das Erhitzen mit Ammoniak im Rohr auf 150° muss 8 Stunden lang erfolgen, da sonst beträchtliche Mengen Chlor-amino-dinitrobenzol entstehen. Grössere Ansätze, z. B. mit 10 g Dinitro-dichlorbenzol werden zweckmässig im Autoklaven dargestellt.

Die Reduktion zum Tetra-amin VII wurde anfangs mit Zinn(II)-chlorid, später viel besser durch katalytische Hydrierung mit *Raney-Nickel* in Essigester durchgeführt. Die anschliessende Fällung mit Chlorwasserstoff gab das Tetra-hydrochlorid und durch dessen Acetylierung das bekannte Tetra-acetylderivat; seidige Nadelchen vom Smp. 284—285° aus Eisessig. Will man das Tetra-benzoylderivat (XI) erhalten, so muss man anders vorgehen, wie weiter unten beschrieben wird.

4,6-Dinitro-1,3-di-benzoylamino-benzol (XII).

Anfangs wurde versucht, das Dinitro-diamin (IX) in Pyridin durch Kochen mit Benzoylchlorid zu benzoylieren. Das entstehende gelbe Krystallpulver (Smp. 250°) war

¹⁾ Beide Körper wurden von *R. Nietzki* und *L. Schmidt* dargestellt, B. 22, 1648 (1889).

²⁾ B. 7, 1257 (1874). ⁴⁾ Soc. 1935, 530.

³⁾ C. 1915, II. 463. ⁵⁾ B. 30, 1667 (1897).

aber nicht das gesuchte Produkt, sondern entsprach nach seiner Analyse der bisher unerklärten Formel $C_9H_{10}O_4N_4$, obwohl das einfache o-Nitranilin mit Benzoylchlorid und Tertiärbasen glatt benzylierbar ist¹⁾. Zum Erfolg führte schliesslich blosses Kochen mit Benzoylchlorid ohne Pyridin, wie dies in der Reihe der Amino-anthrachinone üblich ist.

0,8 g 4,6-Dinitro-m-phenylendiamin (IX) werden mit 12 cm³ Benzoylchlorid am Steigrohr 10 Minuten gekocht, wobei die Substanz mit gelber Farbe in Lösung geht. Beim Erkalten scheidet sich das gewünschte Benzoylderivat (XII) in gelben Krystallen ab. Nach Absaugen und Waschen mit Alkohol wird das Produkt (1,7 g) aus 250 cm³ kochendem Eisessig umkrystallisiert; gelbe Nadelchen vom Smp. 247—248°.

3,465; 3,729 mg Subst. gaben 7,528; 8,108 mg CO₂ und 1,131; 1,184 mg H₂O
3,373 mg Subst. gaben 0,405 cm³ N₂ (18°, 735 mm)

$C_{20}H_{14}O_6N_4$ Ber. C 59,11 H 3,44 N 13,79%
Gef. „ 59,25; 59,30 „ 3,65; 3,55 „ 13,66%

Erwähnt sei, dass auch die Reaktion des Dinitro-diamins (IX) mit Benzaldehyd grosse Störungen der Kondensationsfähigkeit durch die Nitrogruppen zeigt, wie dies ähnlich auch beim o-Nitranilin der Fall ist²⁾. So wurde bei kurzem Kochen keine Reaktion erzielt; wurde das Dinitro-diamin (IX) 8 Stunden mit überschüssigem Benzaldehyd auf 160° erhitzt, so entstand ein aus Nitrobenzol-Alkohol-Gemisch unlösbarer amorpher Körper, der bis 360° nicht schmolz.

Die Hydrierung von 1 g Dinitro-di-benzoylamino-benzol (XII) erfolgte mit Raney-Nickel in 30 cm³ Pyridin, worin die Substanz teils gelöst, teils suspendiert war; die Hydrierung war nach einer Stunde beendet. Nach Zusatz von 3 cm³ Benzoylchlorid (Selbsterwärmung und Farbumschlag nach Rot) und Stehen über Nacht liessen sich mit Wasser 0,8 g braunrotes Pulver ausspritzen, das aus kochendem Phenol umkrystallisiert nach Waschen mit Alkohol schöne hellgelbe mikroskopische Nadelchen von sehr hohem Zersetzungspunkt bildete. Die auch aus sehr viel Eisessig umkrystallisierbare Substanz stimmte gut auf die Formel $C_{27}H_{20}O_3N_4$, d. h. auf ein Tribenzoylderivat. Von den in Betracht gezogenen Formeln XIII und XIV würde die erstere mit der Nichthydrierbarkeit, die letztere mit der gelben Farbe harmonieren. Demnach sind beide Formeln noch fraglich. — Eine Acetylierung der pyridinischen Hydrierlösung gab ein ziegelrotes Pulver, das nicht mit dem weiter unten beschriebenen Diacetyl-dibenzoylderivat (X) identisch war.

4,6-Dinitro-1,3-di-acetamino-benzol (VIII).

Kocht man 4,6-Dinitro-m-phenylendiamin (IX) mit der 20fachen Menge Essigsäureanhydrid 5 Minuten am Steigrohr, so scheiden sich beim Erkalten in quantitativer Ausbeute feine gelbe Nadelchen ab, die mit Wasser gewaschen und auf dem Wasserbad getrocknet werden; Smp. 247—248°. Der Schmelzpunkt ist also derselbe wie bei Substanz XII, doch geben beide bei der Mischprobe eine starke Schmelzpunktserniedrigung.

4,330 mg Subst. gaben 0,764 cm³ N₂ (20°, 739,5 mm)

$C_{10}H_{10}O_6N_4$ Ber. N 19,84 Gef. N 20,00%

4,6-Di-benzoylamino-1,3-di-acetamino-benzol (X).

1 g Dinitro-di-acetamino-benzol (VIII) konnte in 20 cm³ Pyridin suspendiert mit Raney-Nickel bei Zimmertemperatur in 50 Minuten hydriert werden. Das braune Filtrat, das beim Verdunsten einer Probe Krystalle ergab, wurde sofort mit Benzoylchlorid versetzt (Selbsterwärmung) und nach 12-stündigem Stehen der weisse krystalline Niederschlag abgesaugt, mit Alkohol ausgekocht und auf dem Wasserbad getrocknet. Aus der 50-fachen Menge Nitrobenzol umkrystallisiert weisse mikroskopische Krystalle, die sich auch aus Chinolin umkrystallisieren lassen und bis 330° nicht schmelzen.

2,673 mg Subst. gaben 0,310 cm³ N₂ (18°, 736 mm)

$C_{24}H_{22}O_4N_4$ Ber. N 13,02 Gef. N 13,07%

¹⁾ F. Witt, B. 45, 2380 (1912).

²⁾ C. K. Ingold und H. A. Piggot, Soc. 1922, 2793.

Disazofarbstoff aus 2 Mol Sulfanilsäure und 1 Mol
m-Phenylendiamin (V, Ar = C₆H₄·SO₃Na).

Der Farbstoff wurde aus reinsten Materialien dargestellt, wobei zunächst mineral-sauer gekuppelt wurde. Dann wurde allmählich mit Sodalösung neutralisiert und schliesslich alkalisch gemacht. Nach insgesamt 48-stündigem Rühren und anschliessendem Erwärmen auf 70° wurde die violett-schwarze Farbsäure gefällt und nach Lösen in Alkali heiss ausgesalzen. Reduktionsversuche mit Natriumdithionit oder Titantrichlorid erwiesen sich als ungünstig, wenigstens ergab die Benzoylierung nur geringe Ausbeute an nicht einheitlichen Produkten. Erfolgreich war hingegen die katalytische Hydrierung bei Zimmertemperatur unter Hochdruck.

1,3,4,6 (= 1,2,4,5)-Tetra-benzoylamino-benzol (XI).

a) Darstellung durch hydrierende Farbstoffspaltung. 40 g trockener Farbstoff V (Natriumsalz, 64-proz.) werden in den Glaseinsatz einer Hochdruckhydrier-bombe gefüllt, mit 400 cm³ warmem Wasser übergossen und durch einstündiges Einstellen in kochendes Wasser grossenteils gelöst. Nach Erkalten versetzt man mit einem Teelöffel alkoholfuchtem *Raney*-Nickel, setzt die Apparatur zusammen und schüttelt bei 90 Atm. Wasserstoffdruck fünf Stunden bei Zimmertemperatur. Nach Absaugen des Katalysators wird das fast wasserhelle Filtrat, das sich in 2 Minuten nicht nennenswert verfärbt, sofort auf 80 cm³ Benzoylchlorid gegossen, die in einem Stutzen mechanisch gerührt werden. Darauf gibt man durch einen Tropftrichter tief unter die Oberfläche auf einmal 20—30 cm³ 30-proz. Natronlauge hinzu und hält die Lösung durch weiteres Zutropfen nach Bedarf alkalisch. Nach etwa einer Stunde soll die Alkalität dauernd bestehen bleiben und der Geruch nach Benzoylchlorid verschwunden sein.

Von Anfang an scheidet sich ein ockergelber Niederschlag ab, der nach Beendigung der Reaktion abgesaugt wird¹⁾. Er wird mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen und wiederholt mit Alkohol ausgekocht, bis sich das Gewicht nicht mehr vermindert. Die verbleibenden 24,8 g rohes Natriumsalz des Tetra-benzoylamino-benzols werden zweimal mit je 120 cm³ Chinolin ausgekocht und das Ungelöste mit heissem Alkohol bis zur Entfernung des Chinolins gewaschen; Ausbeute etwa 20 g weisses, zunächst noch amorphes Dinatriumsalz.

Zur Analyse wurden 5 g dieses Natriumsalzes in 500 cm³ kochendem Alkohol²⁾ suspendiert, mit etwa 20 cm³ 30-proz. Natronlauge versetzt und nochmals aufgeköcht, wobei das Salz rasch in Lösung ging. Nach Filtration krystallisierten aus der hellgelben Lösung weisse Nadelchen, die abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und auf dem Wasserbad getrocknet wurden. Ausbeute 4,3 g, Smp. 352—354°.

1,425 mg Subst. gaben 0,353 mg Na₂SO₄
C₃₄H₂₄O₄N₄Na₂ Ber. Na 7,61 Gef. Na 7,61%

Die erwähnte gelbe Farbe der alkalischen Lösung beruht auf der Bildung einer höheren Natriumverbindung, die auch in fester Form erhalten wird, wenn man das farblose Dinatriumsalz mit stärkerer Natronlauge und Alkohol erwärmt; es entsteht ein ocker-gelbes Pulver, das beim Verreiben mit reinem Alkohol infolge Alkoholyse wieder in das farblose Dinatriumsalz übergeht.

Zur Darstellung des freien 1,3,4,6-Tetra-benzoylamino-benzols (XI) werden die oben erwähnten 20 g amorphes Dinatriumsalz in 250 cm³ siedendem Alkohol suspendiert, durch Zugabe von etwa 30 cm³ 30-proz. Natronlauge gelöst und sofort in eine Mischung von 400 cm³ Wasser und 30 cm³ konz. Salzsäure eingetropft. Das zunächst amorphe, freie Tetra-benzoylamino-benzol wird abgesaugt, mit Wasser und Alkohol gewaschen und auf dem Wasserbad getrocknet, Ausbeute etwa 13 g. In dieser Form ist die Substanz für Umsetzungen genügend rein.

¹⁾ Das Filtrat ergab nach Ansäuern und Eindampfen neben Benzoesäure hellbraune Nadelchen von Benzoyl-sulfanilsäure, die nach Abtrennen der Benzoesäure als Sulfochlorid vom Smp. 176° identifiziert wurde.

²⁾ Die grosse Alkoholmenge ist nur zur Erzielung schöner Krystalle erforderlich.

Durch Umkrystallisation der zuvor fein gepulverten Substanz aus der 20-fachen Menge kochenden Chinolins erhält man das reine Präparat. Die Erscheinungen beim Erhitzen sind derart, dass bei etwa 150° eine undurchsichtige, zähe Masse entsteht, die weiterhin dünnflüssig und erst nach 5 Minuten Kochen klar wird. Beim Erkalten wird sie wieder zäh, erst nach Zusatz des gleichen Volumens Alkohol können die weissen Nadeln abgesaugt werden. Sie werden weiter mit Alkohol bis zum Verschwinden des Chinolingeruches gewaschen; nach Trocknen auf dem Wasserbad erhält man 11,6 g weisse Kryställchen vom Smp. 366—367° (anschliessend Verkohlung); eingetaucht wurde in ein Bad von 340°, da sonst schon früher Zersetzung eintritt.

3,798 mg Subst. gaben 10,194 mg CO₂ und 1,692 mg H₂O

3,417 mg Subst. gaben 0,310 cm³ N₂ (23,5°, 741 mm)

C₃₄H₂₆O₄N₄ Ber. C 73,64 H 4,73 N 10,10%

Gef. „ 73,20 „ 4,98 „ 10,18%

b) Darstellung aus 4,6-Dinitro-m-phenylen-diamin (IX). 3 g Dinitro-m-phenyldiamin wurden in 180 cm³ Wasser suspendiert, mit einem Teelöffel alkoholfeuchtem Raney-Nickel versetzt und zwei Stunden bei Zimmertemperatur mit 90 Atm. Wasserstoff geschüttelt. Nach Absaugen des Katalysators wurde die klare Lösung mit 10 cm³ Benzoylchlorid versetzt und unter Rühren unter die Oberfläche 30-proz. Natronlauge bis zur Alkalität zuge tropft. Dann wurde eine Stunde lang in Zwischenräumen nach Bedarf weitere Natronlauge hinzugegeben. Der von Anfang an abgeschiedene ockergelbe Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser, verdünnter Sodälösung und wieder mit Wasser gewaschen und auf dem Wasserbad getrocknet; Rohausbeute 4,4 g. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie bei Methode a) und ergab nach Reinigung und Umkrystallisieren 2,5 g weisse, filzige Nadeln vom Smp. 365—367° (Eingehen ins Bad bei 340°), anschliessend sofort Verkohlung. Der Mischsmp. lag bei 364—365°.

Verseifungsversuche. a) Beim Erwärmen mit konz. Schwefelsäure im Wasserbad tritt nach einer Minute Lösung ein. Nach 4 Minuten ergab die Aufarbeitung ein Sulfat, aus dem wenigstens teilweise Diamino-chinon-diamin erhalten wurde. b) Erwärmt man mit konz. Schwefelsäure auf 50°, so tritt erst in 10 Minuten Lösung ein; nach weiteren 5 Minuten wurde gekühlt und auf Eis gegossen. Es entstand ein heller Niederschlag, der nach Umlösen aus Eisessig 8,85% Stickstoff enthielt, also weniger als das Tetra-benzoylderivat XI (10,10% N). Erwärmt man den Körper mit Benzaldehyd kurz auf 120°, so krystallisiert aus der Lösung ein neues Produkt, das aus Eisessig weisse Krystalle vom Smp. 300—305° (Zersetzung) gibt. Letztere stimmen auf die Formel C₃₄H₂₇O₆N₃. c) Lässt man 1 g Tetra-benzoylamino-benzol (XI) mit 8 cm³ konz. Schwefelsäure bei Zimmertemperatur stehen und giesst nach 24 Stunden die dunkelbraune Lösung auf Eis, so entsteht ein Niederschlag, der nach Auskochen mit Alkohol und Umlösen aus heissem Eisessig eine weisse mikrokrySTALLINE Substanz vom Stickstoffgehalt 5,06% ergibt. Daraus ist zu folgern, dass nicht Benzoylreste, sondern in hohem Betrage ganze Benzoylaminogruppen abgespalten werden. d) Wurde das Tetra-benzoylamino-benzol nach Lösung in konz. Schwefelsäure bei 100° mit Benzil versetzt, so gab die Aufarbeitung nach weiteren 15 Minuten Erwärmung auf 120° stickstofffreie rote Kryställchen vom Smp. 72—75°, die auf C₉H₈O₂ stimmen. Eine nähere Beschreibung und Diskussion dieser Produkte findet sich in der Diss. R. Fischer, Basel 1945.

lin. 2,2'-Dimethyl-di-imidazolo-benzol (XV).

20 g symmetrischer Disazofarbstoff V aus 2 Mol Diazo-sulfanilsäure und 1 Mol m-Phenyldiamin (Natriumsalz, 64-proz.) werden in 200 cm³ Wasser hydriert, wie es oben bei der Darstellung des Tetra-benzoylamino-benzols (XI, Methode a) beschrieben ist. Die Hydrierung bei 90 Atm. erfordert bei Zimmertemperatur 5 Stunden, bei 60° 15 Minuten. Das kalte wässrige Filtrat wird in 74 g Essigsäure-anhydrid gegossen und unter Rühren erwärmt. Bei 60° fällt ein weisser Niederschlag aus. Es wird schliesslich 25 Minuten lang zum Kochen erhitzt, nach Erkalten abgesaugt, mit Wasser und Alkohol gewaschen und auf dem Wasserbad getrocknet. Ausbeute 2,8 g weisse mikroskopische Nadelchen,

entsprechend 63% der Theorie. Durch Kochen der Substanz mit der 50-fachen Menge Salzsäure (1:4 verdünnt) und Neutralisation mit Ammoniak kann aus der sich allmählich rotfärbenden Lösung die Substanz (XV) als flockiger Niederschlag gewonnen werden. Sie ist nach dem Auswaschen und Trocknen analysenrein. Die Kryställchen werden zwischen 280 und 350° gelbbraun und schmelzen bei noch höherer Temperatur ohne Zersetzung. (Die angulare Verbindung¹⁾ schmilzt bei 210°.)

Die Substanz wurde von *R. Nietzki* und *E. Hagenbach*²⁾ durch Behandeln von Dinitro-di-acetamino-benzol mit salzsaurem Zinn(II)-chlorid dargestellt; Schmelzpunkt „über der Thermometergrenze“. *O. Kym* und *L. Ratner*³⁾ erhielten sie durch Kochen von 2-Methyl-5,6-diamino-benzimidazol mit Eisessig und Natriumacetat mit dem Schmelzpunkt „über 300°“. Entsprechend der Beschreibung in der Literatur ist unsere Substanz aus wässrigem Alkohol (nicht aus reinem Wasser oder Alkohol) umkrystallisierbar. Sie löst sich in heissen verdünnten Säuren mit hellgelber Farbe und wird durch Ammoniak gefällt.

Ferner löst sich der Körper in warmer verdünnter Natronlauge oder in heissem Alkohol bei Zusatz von etwas konz. Natronlauge. Giesst man die alkalische Lösung in verdünnte Salzsäure, so entsteht eine weisse Gailerte, ebenso beim Umlösen aus Eisessig, Pyridin oder Chinolin. Erhitzt man einige mg in konz. Schwefelsäure, so entsteht eine violette Färbung, die rasch nach gelb umschlägt. Bei Anwendung von mehr Substanz ist die Endfarbe rotbraun⁴⁾.

Spaltung des Benzidinfarbstoffs XVII (4,6-Kupplung).

10 g Farbstoff (Natriumsalz, 70-proz.) wurden in einer Mischung von 40 cm³ Dioxan und 60 cm³ Wasser mit *Raney-Nickel* bei 100 Atm. Wasserstoffdruck bei Zimmertemperatur in 5 Stunden hydriert und das Filtrat in 80 cm³ Essigsäure-anhydrid gegossen. Nach der schon vorher beschriebenen, analogen Behandlung schied sich ein weisser Niederschlag von lin. 2,2'-Dimethyl-di-imidazolo-benzol (XV) ab, der abgesaugt und durch Digerieren mit verdünntem Ammoniak von Sulfanilsäure befreit wurde. Aus der Mutterlauge wurde ein weiterer Anteil neben Diacetyl-benzidin isoliert.

Wird die Hydrierung in reinem Wasser ausgeführt, so wird nur Sulfanilsäure abgespalten.

Spaltung des Benzidinfarbstoffs XVIII (vicinale Kupplung).

Die Hydrierung und Acetylierung erfolgte in der soeben beschriebenen Weise. Die fraktionierte Krystallisation ergab neben Sulfanilsäure und Diacetylbenzidin 1-Acetyl-2-methyl-4,5-di-acetamino-benzimidazol (XIX) in farblosen Nadelchen vom richtigen Smp. 260°⁵⁾. Durch Lösen in verdünnter Salzsäure und Fällung mit Ammoniak konnten wir entsprechend der Literatur die 1-ständige Acetylgruppe abspalten und das 2-Methyl-4,5-di-acetamino-benzimidazol (XX) vom Smp. 176° darstellen.

Universität Basel, Anstalt für organische Chemie.

¹⁾ B. 20, 336 (1887).

²⁾ B. 20, 336 (1887). Die Autoren erwähnen auch, dass das trockene Tetra-hydrochlorid des Tetra-amins (VII) beim Kochen mit Essigsäure-anhydrid und Natriumacetat in das Tetra-acetylderivat übergeht. Unsere Versuche ergänzen dies in dem Sinne, dass das freie Tetraamin in wässriger Lösung mit Essigsäure-anhydrid den doppelten Imidazolring schliesst.

³⁾ B. 45, 3251 (1913). Vgl. einen ähnlichen Körper mit nur einer Methylgruppe bei *M. A. Phillips*, Soc. 1930, 1409. Letztere Autorin sagt u. a., dass die wässrige Lösung des Tetra-hydrochlorids des Tetra-amino-benzols mit Ammoniak und Acetanhydrid die Tetra-acetylverbindung gibt.

⁴⁾ Der eine von uns (*R. F.*) dankt Hrn. *Bernhard Prijs*, der nach Abschluss dieser Arbeit noch das sym. Dinitro-diamino-benzol (IX) in das lin. 2,2'-Dimethyl-di-imidazolo-benzol (XV) übergeführt und in analysenreiner Form isoliert hat.

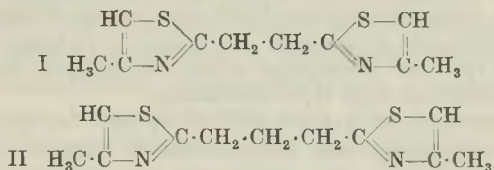
⁵⁾ Von *R. Nietzki* und *L. Schmidt*, B. 22, 1648 (1889), durch Erwärmen des vicinalen Tetraamin-sulfats mit Essigsäure-anhydrid und Natriumacetat erhalten.

166. Zur Kenntnis der Dithioamide der Bernstein- und Glutarsäure

von H. Lehr, W. Guex und H. Erlenmeyer.

(11. IX. 45.)

Im Anschluss an frühere Untersuchungen über Dithioamide aliphatischer Dicarbonsäuren¹⁾ wird in vorliegender Arbeit über die Darstellung der Dithioamide der Bernstein- und Glutarsäure berichtet. Im weiteren wurden die erhaltenen Dithioamide mit Chloraceton und ω -Bromacetophenon zu den entsprechenden Thiazolverbindungen kondensiert.



Bernsteinsäure-dithioamid.

5 g Äthylencyanid werden in 50 cm³ mit Ammoniak gesättigtem Methylalkohol gelöst. Nachdem in diese Lösung unter guter Kühlung 1 Stunde lang Schwefelwasserstoff eingeleitet worden war, wird das Reaktionsgemisch im verschlossenen Gefäss vorsichtig auf 50—60° erwärmt. Nach 2—3 Stunden färbt sich die Lösung tief dunkelbraun, wobei sich bereits Krystalle von Bernsteinsäure-dithioamid abscheiden können. Ist dies nicht der Fall, so wird nach dem Abkühlen neuerdings Schwefelwasserstoff eingeleitet und wieder auf 50—60° erwärmt bis schliesslich Krystallisation erfolgt. Von Vorteil ist Animpfen mit einigen Krystallen von Bernsteinsäure-dithioamid, die man vorher in einem kleinen Versuch dargestellt hat. Zur Reinigung wird das rohe Dithioamid sehr vorsichtig aus absolutem Alkohol umkrystallisiert. Man erhält auf diese Weise schöne, farblose Prismen, die einen Zersetzungspunkt von 140° zeigen. Bernsteinsäure-dithioamid zersetzt sich spontan beim Erwärmen mit Wasser, langsamer mit 96-proz. Alkohol unter Braunfärbung und H₂S-Entwicklung.

Bernsteinsäure-dithioamid und Chloraceton.

0,5 g Bernsteinsäure-dithioamid werden in überschüssigem Chloraceton gelöst und auf dem Wasserbad auf 60—70° erwärmt. Nach kurzer Zeit beginnen sich Krystalle abzuscheiden und nach etwa 1 Stunde ist die Reaktion beendet. Das gebildete Hydrochlorid des α, ω -Di-[4-methylthiazolyl-(2)]-äthans (I) wird durch Absaugen und Auswaschen mit absolutem Alkohol vom überschüssigen Chloraceton befreit. Durch Behandeln mit verdünnter Natriumcarbonatlösung gewinnt man leicht die freie Base. Die zunächst ölig ausfallende Verbindung erstarrt nach kurzem Stehen und kann aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert werden. Die farblosen Krystalle zeigen einen Schmelzpunkt von 68—69°.

2,947 mg Subst. gaben 0,321 cm³ N₂ (21°, 741 mm)

C₁₀H₁₂N₂S₂ Ber. N 12,49 Gef. N 12,29%

¹⁾ Helv. 27, 412 (1944); 27, 970 (1944); 28, 165 (1945).

Bernsteinsäure-dithioamid und ω -Bromacetophenon.

1,5 g Bernsteinsäure-dithioamid und 2 g ω -Bromacetophenon werden in wenig Alkohol gelöst und 1 Stunde auf 60—70° erwärmt. Nach dem Erkalten wird mit verdünnter Natriumcarbonatlösung neutralisiert, wobei ein halbfestes Produkt ausfällt, das rasch zu weisslichen Krystallen erstarrt. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol erhält man das α, ω -Di-[4-phenylthiazolyl-(2)]-äthan in Form von farblosen Nadeln, die einen Schmelzpunkt von 120° zeigen.

4,446 mg Subst. gaben 0,295 cm³ N₂ (14,5°; 752 mm)

C₂₀H₁₆N₂S₂ Ber. N 8,04 Gef. N 7,76%

Glutarsäure-dithioamid.

Eine Lösung von 3 g Trimethylcyanid in 50 cm³ Methanol wird bei Zimmer-temperatur mit Ammoniak gesättigt. Dann wird bei -15° H₂S eingeleitet und im verschlossenen Gefäss auf 50—60° erwärmt, bis Krystallisation einsetzt. Nötigenfalls wird nach einigen Stunden Erhitzungsdauer neuerlich mit H₂S gesättigt. Nach Absaugen des gebildeten Glutarsäure-dithioamids erhält man aus den Mutterlaugen nach Abdestillieren des Lösungsmittels unter vermindertem Druck noch weitere Mengen dieser Substanz.

Glutarsäure-dithioamid krystallisiert aus Wasser in farblosen Nadeln, die einen Schmelzpunkt von 120—121° (Zersetzung) zeigen. Bei längerem Kontakt mit Wasser zersetzt sich die Verbindung unter H₂S-Entwicklung.

4,148 mg Subst. gaben 0,639 cm³ N₂ (23°; 744 mm)

C₅H₁₀N₂S₂ Ber. N 17,27 Gef. N 17,25%

Glutarsäure-dithioamid und Chloraceton.

1,5 g Glutarsäure-dithioamid werden in wenig Alkohol gelöst, mit der berechneten Menge Chloraceton versetzt und 1 Stunde auf 60° erwärmt. Nach dem Abdunsten des Lösungsmittels bleibt das Hydrochlorid des α, ω -Di-[4-methylthiazolyl-(2)]-propans (II) in Form von Krystallwarzen zurück. Die durch verdünnte Natriumcarbonatlösung in Freiheit gesetzte, flüssige Base wird mit alkoholischer Pikrinsäure in das Dipikrat übergeführt. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol erhält man die Verbindung in gelben Krystallen vom Smp. 200° (Zersetzung).

1,788 mg Subst. gaben 0,2575 cm³ N₂ (21,5°; 742 mm)

C₂₃H₂₀O₁₄N₈S₂ Ber. N 16,09 Gef. N 16,30%

Glutarsäure-dithioamid und ω -Bromacetophenon.

1,5 g Glutarsäure-dithioamid und 1 g ω -Bromacetophenon werden in wenig Alkohol 1 Stunde auf 70° erwärmt. Nach dem Erkalten fällt man die Dithiazolylverbindung mit verdünnter Natriumcarbonatlösung aus. Das Rohprodukt ist meistens fest, fällt es jedoch ölig aus, so kann es durch Behandeln mit Wasser fest erhalten werden. α, ω -Di-[4-phenylthiazolyl-(2)]-propan krystallisiert aus Alkohol in farblosen Nadeln, die bei 91—92° schmelzen.

3,921 mg Subst. gaben 0,274 cm³ N₂ (23°; 746 mm)

C₂₁H₁₈N₂S₂ Ber. N 7,73 Gef. N 7,91%

Die Mikroanalysen wurden in unserem Laboratorium durch Frl. E. Beck ausgeführt.

Universität Basel, Anstalt für Anorganische Chemie.

167. Über Ergotamin.

(10. Mitteilung über Mutterkornalkaloide¹⁾)

von Arthur Stoll.

(11. IX. 45.)

1. Einleitung.

Die Entdeckung des Ergotamins fiel in das Frühjahr 1918. Seine erste Reindarstellung und Charakterisierung wurde in Patent-schriften veröffentlicht²⁾. Seither ist in chemisch und medizinisch orientierten Vorträgen und Zusammenfassungen über Ergotamin oft berichtet worden, das erstemal 1920 bei Anlass der Jahresversammlung der Schweiz. Naturforsch. Gesellschaft in Neuenburg im Schosse der Schweiz. chem. Gesellschaft³⁾, ferner 1921 in einem Vortrag in der Basler Naturforsch. Gesellschaft⁴⁾ u. a. m.⁵⁾. Für einschlägige Kapitel von Handbüchern⁶⁾ sind den Autoren in Form von privaten Mitteilungen Angaben über Ergotamin zur Verfügung gestellt worden, ebenso für die schöne Monographie von *G. Barger* „Ergot and Ergotism“⁷⁾, wo die Differenzierung gegenüber Ergotoxin eine Rolle spielt.

Seit seiner Entdeckung vor 27 Jahren ist das Ergotamin mit fortschreitender Entwicklung der Untersuchungsmethodik immer wieder bearbeitet worden; es haben sich dabei meine Mitarbeiter: *E. Burckhardt*, *W. Kussmaul*, *W. Kreis*, *F. Müller*, *B. Brenken*, *E. Wiedemann*, *B. Becker*, *W. Schlienz* und *A. Hofmann* der Reihe nach in dieser oder jener Weise beteiligt, wofür ihnen verbindlich gedankt sei. In der vorliegenden Arbeit ist nicht beabsichtigt, die umfangreichen Laboratoriumsaufzeichnungen aus der langen Reihe von Jahren auch nur auszugsweise zu veröffentlichen, oder von den

¹⁾ 9. Mitt. Helv. **26**, 2070 (1943).

²⁾ Schweiz. Pat. Nr. 79879 (1918), Anmeldung vom 9. April 1918, Nr. 86321 (1919); D.R.P. 357 272 (1922), Anmeldung v. 27. III. 1919, Beispiel 2 u. a.

³⁾ Ref. in Verh. Schweiz. Naturf. Ges. **1920**, S. 190.

⁴⁾ Schweiz. Apoth. Ztg. **60**, 341, 358 u. 374 (1922).

⁵⁾ Naturwiss. **11**, 697 u. 720 (1923); Schweiz. med. Wschr. **57**, 106 (1927); Verh. dtsh. Pharmakol. Ges., Arch. exp. Path. Pharmakol. **138**, 111 (1928); Naturwiss. **20**, 752 (1932); „Ein Gang durch biochemische Forschungsarbeiten“, Berlin, Springer 1935; Mitt. Lebensmittelunters. Hyg. **25**, 196 (1934); Schweiz. med. Wschr. **65**, 1077 (1935); Bull. sci. pharmacol. **43**, 465 (1936); Wiener klin. Wschr. **49**, 1513 (1936); Bull. Féd. inter. pharmaceutique **18**, 115 (1937); J. Pharm. Chim. **28**, 226 (1938); Mitt. Naturf. Ges. Bern **1942**, 45.

⁶⁾ *E. Schmidt's* ausführliches Lehrbuch der Pharm. ergänzt und fortgesetzt von *J. Gadamer*, 6. Auflage (1922) **2**, 2. Abtl., S. 1976 u. ff.; *A. Tschirch*, Handbuch der Pharmakognosie, 3. Lieferung, S. 151, Leipzig 1923.

⁷⁾ *Gurney and Jackson*, London (1931), S. 134 u. ff.

mannigfachen Aufgaben: Beschaffung von geeigneten Drogen und Lösungsmitteln am Ende des letzten Weltkrieges, Übertragung des Laboratoriumsverfahrens in den technischen Maßstab, Darstellung geeigneter Salze für den therapeutischen Gebrauch, Schwierigkeiten bei der Analyse infolge der festen Bindung von Krystalllösungsmitteln und der Hygroskopizität im Hochvakuum getrockneter Substanzen, Empfindlichkeit des Ergotamins gegenüber chemischen Agenzien, Licht und Luftsauerstoff u. a. m. ausführlich zu berichten. Ergotamin lässt sich heute wie viele andere empfindliche Naturstoffe darstellen und handhaben und chemisch in Spaltstücke zerlegen.

Mein Mitarbeiter, Herr Dr. *A. Hofmann*, hat es übernommen, die Darstellung des Ergotamins aus Mutterkorn, die physikalische und chemische Charakterisierung des Ergotamins sowie seiner Spaltprodukte nach den neuesten Methoden zu überarbeiten. Die Beschreibung seiner Versuche bildet im wesentlichen den experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit, wobei die früheren Angaben über Ergotamin bestätigt wurden.

2. Die Problemstellung.

Wenn heute die Mutterkornalkaloide vom Typus des Ergotamins durch ihren eigenartigen Bau als Polypeptide (siehe z. B. die 8. Mitt. dieser Reihe¹⁾) und durch ihren charakteristischen Hauptbestandteil, die Lysergsäure, das Interesse des organisch orientierten Chemikers beanspruchen, so war die Reindarstellung und die Beschreibung der Wirkstoffe des Mutterkorns doch ursprünglich in erster Linie von medizinisch-pharmazeutischer Bedeutung. Als *A. Tschirch* 1917²⁾ seine Übersicht „100 Jahre Mutterkornforschung“ schrieb, herrschte über die chemische Natur der wirksamen Stoffe des Mutterkorns noch Unsicherheit. Die Meinungen über diese Frage hatten – wie die ältere Literatur zeigt – oft gewechselt. Auch die Isolierung und Beschreibung des „ergotinine cristallisée“ und des „ergotinine amorphe“ von *C. Tanret* in den Jahren 1875–79³⁾, wie die Darstellung des „Hydro-ergotinin“ von *F. Kraft*⁴⁾ und des damit identischen zu gleicher Zeit gewonnenen „Ergotoxins“ von *G. Barger* und *F. H. Carr*⁵⁾, an dem *H. H. Dale*⁶⁾ nicht nur die für Mutterkorn typische kontrahierende Wirkung auf den Uterus nachwies, sondern auch die bedeutungsvolle dämpfende Wirkung auf die sympathisch gesteuerten Funktionen des vegetativen Nervensystems eingehend studierte, haben nicht vermocht, die Unsicherheit über die chemische

1) *Helv.* **26**, 1602 (1943).

2) *Schweiz. Apoth. Ztg.* **55**, 305, 317, 329, 345, 357 (1917).

3) *C. r.* **81**, 896 (1875); *Ann. chim. phys.* [5] **17**, 493 (1879).

4) *Arch. Pharm.* **244**, 336 (1906); **245**, 644 (1907).

5) *Soc.* **91**, 337 (1907).

6) *J. Physiol.* **34**, 163 (1906).

Natur der Mutterkornwirkstoffe zu beseitigen. Man war vielmehr geneigt, einfachere Substanzen vom Typus der biogenen Amine (Tyramin, Histamin) als Träger der Mutterkornwirkung anzusprechen, und baute auf dieser Annahme synthetische Handelspräparate (z. B. „Tenosin“ und „Uteramin“) auf. *F. Kraft*¹⁾ spricht in den Schlussfolgerungen seiner Abhandlung auf Grund pharmakologischer Versuche von *E. Jaquet* sowohl Ergotin in wie Ergotoxin jeden Anteil an dem therapeutischen Nutzen der Droge ab und bezeichnet sie als „krampf- und gangrän erzeugende Gifte“. In bezug auf die Bereitung von Mutterkornextrakten schreibt *Kraft*: „Nach meinen Ausführungen werden die Darsteller gut tun, diese Alkaloide noch sorgfältiger zu entfernen.“ Im „British Pharmaceutical Codex“ kommt noch 1923 die Meinung zum Ausdruck, dass Ergotoxin nicht der spezifisch wirksame Bestandteil des Mutterkorns sei. Viele Vorschriften der Arzneibücher führten denn auch zu Präparaten, die wohl kleine und schwankende Mengen des wasserlöslichen Ergobasins, jedoch keine Alkaloide vom Typus des Ergotoxins oder Ergotamins enthalten konnten.

Altbekannte Erfahrungen mit der natürlichen Droge führten den Verfasser dieser Arbeit zu einer Arbeitshypothese, die von der damals allgemein geltenden Auffassung abwich:

1. Das Mutterkorn verliert beim Altern, namentlich in feuchtem Zustand, seine Wirksamkeit und muss daher in den Apotheken jährlich erneuert werden.
2. Die kontrahierende Wirkung des Mutterkorns auf die glatte Muskulatur der Gebärmutter zeichnet sich durch anhaltende Wirkung aus, was für die Stillung der Blutung bei drohender Atonie von lebensrettender Bedeutung sein kann.

Daraus konnte geschlossen werden, dass der Wirkstoff des Mutterkorns leicht zersetzlich und daher mit schonenden Methoden zu fassen sei und dass er am Ort seiner Wirkung fest haften musste, was auf einen in Wasser wenig löslichen, höhermolekularen Stoff hindeutete.

Der Zersetzlichkeit des Wirkstoffs wurde dadurch Rechnung getragen, dass man ihn bei der Abtrennung von Begleitstoffen möglichst lange im Schutze der amphoteren Zellsubstanz, die als Puffer wirkt, beließ und ihn alsdann ohne direkte Einwirkung chemischer Mittel mit indifferenten Lösungsmitteln in fast reinem Zustand aus der Droge extrahierte. Nach der Ausscheidung beim Eindampfen des Lösungsmittels bei niedriger Temperatur liefert das Ergotamin aus wasserhaltigem Aceton eine charakteristische Krystallisation, die eine vollständige Abtrennung von Begleitstoffen auch von nahverwandten Alkaloiden gestattet.

¹⁾ Loc. cit.

Ein glücklicher Umstand fügte es, dass wir infolge der Kriegsverhältnisse 1917/18 genötigt waren, mit Mutterkorn zentraleuropäischer Provenienz zu arbeiten, das als Hauptalkaloid Ergotamin enthält, während im Mutterkorn des internationalen Handels aus Spanien oder aus Russland anstelle von Ergotamin die Alkaloide der Ergotoxingruppe enthalten sind. In ungarischem und bulgarischem Mutterkorn können beide Typen nebeneinander vorkommen.

Der Gehalt an Wirkstoffen des Mutterkorns unterliegt nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ ausserordentlichen Schwankungen, abgesehen von dem relativ raschen Schwund der Wirkung bei unzureichendem Aufbewahren der Droge. Die Bedeutung der spezifischen Alkaloide für das Zustandekommen der Mutterkornwirkung wird heute und nicht zuletzt dank den ausgedehnten praktischen Erfahrungen mit Ergotamin allgemein anerkannt, und so wird denn auch die Qualität des Mutterkorns nach seinem Gehalt an Alkaloiden beurteilt. 45 von Mitte Juli bis Mitte September 1938 nacheinander bei uns eingegangene frische Proben des Handels wurden in unserem Laboratorium von *B. Brenken* analysiert und zeigten die in folgender Tabelle 1 aufgeführten Prozentzahlen für den Alkaloidgehalt.

Tabelle 1.
Analysenresultate von Mutterkornmustern
verschiedener Provenienz.

Muster	Alkaloid- gehalt in %	Muster	Alkaloid- gehalt in %	Muster	Alkaloid- gehalt in %
1.	0,102	16.	0,002	31.	0,135
2.	0,099	17.	0,105	32.	0,115
3.	0,017	18.	0,000	33.	0,179
4.	0,010	19.	0,092	34.	0,195
5.	0,087	20.	0,089	35.	0,181
6.	0,122	21.	0,066	36.	0,036
7.	0,000	22.	0,127	37.	0,102
8.	0,124	23.	0,043	38.	0,111
9.	0,042	24.	0,075	39.	0,151
10.	0,195	25.	0,198	40.	0,021
11.	0,006	26.	0,206	41.	0,011
12.	0,117	27.	0,087	42.	0,050
13.	0,100	28.	0,015	43.	0,005
14.	0,068	29.	0,002	44.	0,110
15.	0,109	30.	0,096	45.	0,186

Es gibt also Mutterkornsorten, die schon in frischem Zustand praktisch frei von Alkaloiden sind. Diese Gehaltsschwankungen und das Schwinden der Wirksamkeit beim Lagern machten die Darstellung der Reinstoffe für eine zuverlässige Dosierung am Krankenbett besonders notwendig.

Die chemische Bearbeitung des Mutterkorns lässt noch mancherlei Fragen offen. Wir besitzen zwar auf Grund experimenteller Bearbeitung über die Konstitution des Polypeptidanteils, der sich beim Ergotamin aus Ammoniak, Brenztraubensäure, *l*-Phenylalanin und *d*-Prolin zusammensetzt, und über dessen Verknüpfung mit der Lysergsäure ziemlich sichere Vorstellungen, die indessen durch die Synthese noch bewiesen werden sollen. Andererseits haben *F. C. Uhle* und *W. A. Jacobs*¹⁾ durch eine originelle Totalsynthese der Dihydrolysergsäure die seinerzeit von *Jacobs*²⁾ angegebene Lysergsäure-Formel bestätigt. Doch steht die Synthese der einfach ungesättigten Lysergsäure, die den Grundkörper aller bisher bekannten Mutterkornalkaloide darstellt, noch aus. Die Totalsynthese dieser medizinisch wichtigen und auch vom chemischen Gesichtspunkt aus interessanten Naturstoffe ist immerhin in den Bereich der Möglichkeit gerückt.

3. Ergotamin in Pharmakologie und Klinik.

Auch auf dem Gebiete der experimentellen und der klinischen Medizin sind die Untersuchungen über Ergotamin und seine verwandten Alkaloide noch nicht abgeschlossen. Ein exaktes Arbeiten ist indessen durch die Reindarstellung der genuinen Mutterkornwirkstoffe und ihrer Derivate und damit die Erschliessung neuer Indikationsgebiete möglich geworden. So wurden bis in die allerletzte Zeit neue Indikationen für Ergotamin auf neuro-vegetativem Gebiet gefunden. Die wichtigsten Ergebnisse, die in den 25 Jahren seit den ersten klinischen Untersuchungen mit Ergotamin auf physiologischem Gebiet gewonnen wurden, werden im folgenden in groben Zügen mitgeteilt.

Die Entdeckung des Ergotamins im Jahre 1918 fiel auf keinen günstigen Boden. Die Pharmazeuten und die Mediziner hatten, wie oben ausgeführt wurde, ungeachtet der wichtigen Befunde von *H. H. Dale*³⁾ die Alkaloide als spezifische Wirkstoffe des Mutterkorns abgelehnt. Die Ärzte waren an die dunkelbraun gefärbten Rohextrakte aus Mutterkorn gewöhnt und begegneten den wasserklaren Lösungen von Ergotamintartrat vielfach mit Misstrauen. Bei unrichtiger Indikation des Ergotamins vor der Geburt kam es zu Tetanus uteri und Gefährdung der Frucht, infolge von Überdosierungen häufig zum Erbrechen; das neue Präparat schien zu gefährlich. So mussten in langen vortastenden klinischen Versuchen sowohl die geeigneten Dosierungen wie die richtigen Indikationen abgeklärt werden.

Das Ergotamin war ohne Kontrollversuche an tierischen Organen nur unter Beiziehung der *Keller*'schen Eisen(III)-chlorid-Reaktion

¹⁾ J. Biol. Chem. **157**, 76 (1945).

²⁾ Am. Soc. **60**, 1701 (1938).

³⁾ Loc. cit.

in Eisessig-Schwefelsäure rein dargestellt worden. *K. Spiro* veranlasste auf Grund pharmakologischer Versuche¹⁾, die er in unserem Laboratorium ausführte, eine Reihe namhafter Gynäkologen, wie *Hans Guggisberg*, Bern²⁾, *Paul Hüssy*, Aarau³⁾, *Paul Jung*, St. Gallen⁴⁾, *A. Hamm*, Strassburg, *M. Hofmeier*, Würzburg⁵⁾, u. a., zu eingehenden Versuchen im Wochenbett. Bereits in seinem 1920 in Neuenburg gehaltenen Vortrag konnte *Spiro* seinen Eindruck dahin präzisieren, dass er erklärte⁶⁾:

„Es besteht also die begründete Hoffnung, im Ergotamin ein Präparat zu haben, durch das alle therapeutischen Indikationen, zu denen bisher das Mutterkorn verwendet wurde, erfüllt werden können“.

Die erste ausführliche Veröffentlichung einer klinischen Arbeit über „Gynergen-Sandoz“ (Ergotamintartrat), die ebenfalls von *K. Spiro* veranlasst wurde, erfolgte aus der Schweiz. Pflegerinnenschule in Zürich von *Erna Gyr*⁷⁾ und brachte eine gewisse Abklärung der schwierigen Fragen der Dosierung und der Indikationen in Geburtshilfe und Gynäkologie, während andererseits *Hans Guggisberg* in Bern als Autorität auf dem Gebiete der Wehenmittel durch seine eingehenden Untersuchungen⁸⁾ an dem grossen Bestand seiner Klinik zur endgültigen Einführung des Ergotamins in die Frauenheilkunde wesentlich beigetragen hat.

Der altbekannten wichtigen Indikation (Blutstillung durch Kontraktion der Gebärmutter) in Geburtshilfe und Gynäkologie vermochte das Ergotamin zuverlässig zu genügen, wenn es bei bedrohlichen Fällen auch nötig war, das Medikament (z. B. 0,25 mg Ergotamintartrat in 0,5 cm³) intravenös zu verabreichen, um eine momentane Wirkung zu erzielen, weil die Resorption auf oralem Wege nur langsam erfolgt. Das 1935 im Mutterkorn in kleinen Mengen aufgefundene und rein dargestellte Ergobasin (Ergometrin)⁹⁾, das in Wasser leicht löslich ist und auch bei oraler Verabreichung schnell zur Wirkung kommt, ergänzt die Wirkung des Ergotamins in willkommener Weise. Die Kombination („Neogynergen“) des langsam aber

1) Verh. Schweiz. Naturf. Ges. Neuenburg 1920, 235; Schweiz. med. Wschr. 51, 525 (1921), ebenda 737.

2) Schweiz. med. Wschr. 51, 750 (1921).

3) Schweiz. Rundschau f. Medizin 21, 422 (1921).

4) „Zur Wirkung des ‚Gynergen‘“ von Sekundärarzt Dr. Th. Frey, Schweiz. med. Wschr. 52, 18 (1922).

5) „‚Gynergen‘, ein neues Mittel zur Bekämpfung der Atonia uteri“ von Dr. Karl Böwing, Assistent der Klinik Hofmeier, Münch. med. Wschr. 69, 266 (1922).

6) Loc. cit.

7) Schweiz. med. Wschr. 51, 898 (1921).

8) Schweiz. med. Wschr. 54, 97 (1924).

9) Siehe z. B. A. Stoll und E. Burckhardt, Schweiz. med. Wschr. 66, 353 (1936) und A. Stoll und A. Hofmann, Z. physiol. Ch. 251, 155 (1938) mit ausführlichen Literaturzitate.

anhaltend wirksamen Ergotamins mit dem auch peroral schnell aber flüchtiger wirkenden Ergobasin zeigt die Vollwirkung des Mutterkorns auf Grund von zweckmässig dosierten Reinsubstanzen (Einzeldosis z. B. 0,25 mg Ergotamintartrat + 0,125 mg Ergobasintartrat in 1 cm³) bei minimaler Gefahr toxischer Erscheinungen. Die Mutterkorntherapie lässt daher, was die alten Indikationen in Geburtshilfe und Gynäkologie anbetrifft, heute kaum noch wesentliche Fragen offen¹⁾.

Weniger abgerundet ist das Bild über die Wirkung des Ergotamins auf neurovegetativem Gebiet, wo experimentelle Untersuchungen als Grundlage für die Klinik erst etwas später, am eingehendsten von *E. Rothlin*, in mehr als 20jähriger Forschung durchgeführt wurden. Für die folgende kurze Übersicht über die umfangreiche experimentelle und klinische Literatur²⁾ ist zu beachten, dass die Wirkung des Ergotamins wie seiner verwandten polypeptidartig gebauten Alkaloide komplexer Natur ist. Die hervorstechendsten Wirkungen sind:

1. Die Wirkung auf die glatte Muskulatur (Uterus, Gefässe, Magen, Darm usw.)
2. Die hemmende Wirkung auf die sympathischen Funktionen des vegetativen Nervensystems.

Etwas weniger scharf lässt sich die periphere von der zentralen Wirkung des Ergotamins abgrenzen.

Die Wirkung auf die glatte Muskulatur ist abhängig von der leicht hydrierbaren ungesättigten Bindung im Lysergsäurerest. Sättigt man diese mit Wasserstoff ab, was leicht geschehen kann, so verschwindet die Wirkung aller Mutterkornalkaloide auf die glatte Muskulatur des Uterus. Die Alkaloide vom Typus des Ergobasins werden zu praktisch unwirksamen Substanzen, während den polypeptidartig gebauten Basen bei der Hydrierung die sympathikolytische Wirkung erhalten bleibt oder sogar verstärkt wird³⁾. Die Hydrierung der Mutterkornalkaloide ermöglicht also nicht nur den Beweis, dass die Wirkung auf die glatte Muskulatur und die Sympathikolyse verschiedenen Teilen der Molekel zugehören; sie lässt die Dämpfung sympathischer Funktionen von der Wirkung auf die glatte Muskulatur loslösen, ja verstärken und mit Vorteil da zur Anwendung bringen, wo eine Wirkung auf Organe mit glatter Muskulatur unerwünscht ist.

¹⁾ Siehe z. B. die neuste Arbeit von *H. Guggisberg*, *Ärztl. Monatsh.* 1, Juliheft, S. 14, besonders S. 26 (1945).

²⁾ Es sind uns mehr als 450 experimentelle und mehr als 650 klinische Originalarbeiten über Ergotamin, bzw. „Gynergen“ bekannt; wir zitieren davon im folgenden in freier Wahl nur wenige, die für die Mehrzahl der Leser der *Helv.* leicht zugänglich erscheinen.

³⁾ *E. Rothlin*, *Helv. physiol. pharmacol. acta* 2, C 48 (1944); *J. Brügger*, ebenda 3, 117 (1945).

Die vielseitige Wirkung des Ergotamins auf den ganzen Organismus oder einzelne Organe sei im folgenden nach funktionellen Gesichtspunkten unterteilt und mit einigen Beispielen belegt. Es sei vorausgeschickt, dass die besten Methoden zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung des Ergotamins auf physiologischem Wege auf seiner antagonistischen Wirkung gegenüber Adrenalin, dem typischen Stimulans sympathischer Funktionen, beruht. Durch diesen Antagonismus gegenüber Adrenalin greift das Ergotamin ein in das hormonale Geschehen, was von therapeutischer Bedeutung sein kann.

Die Wirkung auf die glatte Muskulatur.

1. Ergotamin wirkt auf den Uterus *in vivo* und *in vitro*. Seine Wirkung ist gekennzeichnet durch eine Zunahme des Tonus und eine Verstärkung der rhythmischen Kontraktionen, die je nach Verabreichung nach kürzerer oder längerer Latenzzeit eintreten und mehrere Stunden anhalten. Orale und subcutane Darreichung führen bei der graviden Katze zum Abort¹⁾. Da die Kontraktionen auch an isolierten Streifen der Uterusmuskulatur ausgelöst werden können, muss der Angriffspunkt des Ergotamins peripher, wahrscheinlich in den Muskelzellen selbst, liegen.

2. Die Wirkung auf die glatte Muskulatur äussert sich auch am Gefässapparat. Nach Verabreichung kleiner Dosen von Ergotamin tritt beim Kaninchen in Narkose eine schwache aber anhaltende Erhöhung des Blutdruckes ein. Bei der Katze und beim Hund in Narkose verursachen schwache und starke Dosen eine Blutdruckerhöhung²⁾. Auch bei der decapitierten Reflexkatze bewirkt Ergotamin eine Blutdrucksteigerung³⁾, die offensichtlich auf einer Kontraktion der kleinen Blutgefässe beruht. Da die Wirkung also auch nach Ausschaltung der Vasomotorenzentren eintritt, handelt es sich hier wohl ebenfalls um eine direkte muskuläre Wirkung.

Wird Ergotamin (0,25 mg/kg) Hunden intra-arteriell in eine Extremität injiziert, so erfolgt eine Kontraktion der Blutgefässe dieser Extremität⁴⁾. Die intravenöse Injektion von Ergotamin verengert die Hautgefässe am sympathektomierten Bein anhaltend⁵⁾.

3. An der Katze bewirkt Ergotamin eine ausgesprochene Miosis, die auf einer direkten Beeinflussung des Irissphincters beruht⁶⁾.

¹⁾ E. Rothlin, Arch. int. Pharmacod. **27**, 459 (1923), Zbl. Gynäk. **49**, 914 (1925).

²⁾ E. Rothlin, Arch. int. Pharmacod. **27**, 459 (1923).

³⁾ E. Rothlin, Schweiz. med. Wschr. **63**, 971 (1933).

⁴⁾ T. Gotsev, Arch. exper. Path. **197**, 419 (1941).

⁵⁾ T. J. C. von Storch, J. Dupe und R. Jung, zitiert nach von Storch, Nervenarzt **10**, 469 (1937).

⁶⁾ W. R. Hess, Klin. Monatsschr. Augenheilk. **75**, 295 (1925).

Die sympathikolytische Wirkung des Ergotamins.

Wie oben erwähnt, wird die Ansprechbarkeit der Erfolgsorgane auf sympathische bzw. adrenergische Reize durch Ergotamin gehemmt, und zwar erstreckt sich diese sympathikolytische Wirkung, wie *E. Rothlin* zeigen konnte¹⁾, sowohl auf sympathisch geförderte als auch auf sympathisch gehemmte Funktionen.

Die Adrenalin-hemmende Wirkung des Ergotamins am isolierten Organ.

1. Die Hemmung der fördernden (kontrahierenden) Adrenalinwirkung lässt sich z. B. an isolierten Gefäßstreifen der Arteria mesenterica des Rindes nachweisen. Andererseits wird die hemmende Wirkung des Adrenalins an der A. coronaria cordis durch Ergotamin gedämpft. Am künstlich durchströmten Kaninchenohr und an der hintern Extremität des Frosches wird die Gefässverengerung nach Adrenalin durch Ergotamin aufgehoben bzw. in eine Gefässerweiterung verwandelt.

2. Besonders deutlich lässt sich die sympathikolytische Wirkung am Uterus demonstrieren. Uteri verschiedener Tiere reagieren auf Adrenalinreiz teils mit Kontraktion, teils mit Erschlaffung. Am Kaninchenuterus, der zur ersten Gruppe gehört, gelingt es, mit Ergotamin diese Adrenalinwirkung sowohl in vivo als auch in vitro vollständig zu hemmen²⁾. Diese Ergotaminwirkung ist so typisch, dass sie in der Methode von *W. A. Broom* und *A. J. Clark*³⁾ für die biologische Auswertung von Mutterkornpräparaten Verwendung gefunden hat. Beim Meerschweinchen wird andererseits die uterus-hemmende Wirkung des Adrenalins durch Ergotamin aufgehoben. Ergotamin hemmt also, wie schon einleitend erwähnt, sowohl adrenergisch geförderte als auch adrenergisch gehemmte Funktionen. Das lässt sich ganz besonders gut am isolierten Dünn- und Dickdarm nachweisen. Nach Adrenalin hören die rhythmischen Pendelbewegungen am isolierten Dünn- und Dickdarm auf und der Tonus nimmt ab. Verabfolgt man nach Auswaschen des Testobjektes Ergotamin und nachfolgend Adrenalin, so wird die normalerweise eintretende hemmende Wirkung des Adrenalins durch Ergotamin völlig aufgehoben⁴⁾.

3. Noch zuverlässiger lässt sich die sympathikolytische Wirkung an der Samenblase des Meerschweinchens, die durch Adrenalin kontrahiert wird, nachweisen⁵⁾. Kleinste Mengen von Ergotamin

¹⁾ *E. Rothlin*, *Klin. Wschr.* **4**, 447 (1925); *J. Pharmacol.* **36**, 657 (1929).

²⁾ *E. Rothlin*, *Zbl. Gynäk.*, **49**, 914 (1925); *Arch. Gynäk.* **166**, 89 (1937).

³⁾ *Pharmaceut. J.* **111**, 89 (1923).

⁴⁾ *E. Rothlin*, *J. Pharmacol.* **36**, 657 (1929).

⁵⁾ *E. Rothlin*, *Rev. Pharmacol.* **1**, 212 (1929).

bewirken sowohl in vivo als auch in vitro eine vollständige Aufhebung der Adrenalinwirkung, jedoch nie eine Umkehr, d. h. Erschlaffung unter den Normaltonus. *J. Brügger*¹⁾ hat im Laboratorium von *E. Rothlin* die isolierte Samenblase des Meerschweinchens als biologisches Testobjekt zur quantitativen Differenzierung der sympathikolytischen Wirkung der Mutterkornalkaloide eingehend studiert und u. a. gefunden, dass es von Ergotamin 60mal weniger Molekeln braucht als von dem hochwirksamen Adrenalin, um die Wirkung des letzteren an der isolierten Samenblase in ausgesprochener Weise zu hemmen.

Diese biologische Methode ist auch chemischen Farbreaktionen und dem Nachweis von Mutterkornalkaloiden durch ihre Fluoreszenz im ultravioletten Licht an Empfindlichkeit überlegen. Die *Keller*'sche Eisen(III)-chlorid-Reaktion in Eisessig-Schwefelsäure lässt 25 γ Ergotamin, die Fluoreszenz 10 γ in 1 cm³ noch gerade erkennen, während die biologische Methode, mit der Samenblase des Meerschweinchens als Testobjekt, noch 0,05 γ Ergotamin nachweisen lässt. Die Genauigkeit für den quantitativen Vergleich von genuinen Mutterkornalkaloiden beträgt bei Konzentrationen von 1:60 000 000 bis 1:300 000 000 der Alkaloide in der Nährlösung des überlebenden Organs $\pm 15\%$.

Auch auf den fördernden Adrenalin- resp. Sympathikusreiz am Herzen des Kaltblütlers zeigt Ergotamin eine hemmende Wirkung, die seinerzeit von *O. Loewi* bei seinen Untersuchungen über den Vagus- und den Sympathikusstoff, d. h. die hormonalen Überträger der vegetativen Reize, verwertet wurde. *O. Loewi* und besonders sein Schüler *E. Navratil*²⁾ beobachteten an isolierten Esculenten- und Krötenherzen, dass vorausgehende Ergotaminisierung die frequenzbeschleunigende Wirkung leichter Acceleransreizung aufheben kann. Wird die in den Herzen enthaltene *Ringer*-Lösung auf nicht ergotaminisierte Herzen übertragen, so tritt Beschleunigung der Schlagfolge ein, wie wenn deren Accelerans direkt gereizt worden wäre. Zusatz von kleineren Mengen Adrenalin zu ergotaminisierten Herzen hatte keine die Frequenz beschleunigende Wirkung, wogegen die gleiche Adrenalin-*Ringer*-Lösung an weitem nicht ergotaminisierten Herzen die Frequenz erhöhte. Damit war die Identität von Accelerans resp. Sympathikusreizstoff und Adrenalin wahrscheinlich gemacht. Andererseits wurde gleichzeitig abgeklärt, dass Ergotamin nicht, wie früher angenommen, an den Sympathikusendigungen, sondern direkt am Erfolgsorgan angreift und dieses für die Einwirkung von Adrenalin resp. des Sympathikusstoffes unempfindlich macht.

¹⁾ *Helv. physiol. pharmacol. acta* **3**, 117 (1945).

²⁾ *Pflüger's Arch. Physiol.* **193**, 201 (1922); **217**, 610 (1927).

Die Sympathikus- und Adrenalin-hemmende Wirkung des Ergotamins am ganzen Tier.

1. Die vasokonstriktorische blutdrucksteigernde Wirkung, die durch elektrische Reizung des Sympathikus (N. splanchnicus) und nach Adrenalingaben zustande kommt, wird durch Ergotamin gehemmt oder umgekehrt¹⁾.

2. Nach zentraler Reizung des Nervus depressor tritt beim Kaninchen eine Blutdrucksenkung ein. Ergotamin intravenös hebt diesen Depressorreflex auf, während Belladonna ihn verstärkt, die nachfolgende Ergotamindosis reduziert die Blutdrucksenkung auf ein Minimum. Daraus konnte geschlossen werden, dass der periphere zentrifugale Anteil des Depressorreflexes sympathisch und nicht parasymphatisch gesteuert ist²⁾.

3. Die durch Druck auf die Carotis ausgelöste Gehirnasphyxie bewirkt durch zentrale Reizung des Sympathikus sofortige Zunahme des Blutdrucks und gleichzeitig starke Verengung der Gefässe. Ergotamin hemmt diese Erscheinung, die Gefässweite bleibt gleich und der Blutdruck steigt nach Carotisabklemmung nur geringfügig³⁾.

4. In den grundlegenden Arbeiten von *C. Heymans* über den Carotissinusreflex, in die auch Ergotamin einbezogen wurde, kommen *C. Heymans*, *P. Regniers* und *J. J. Bouckaert*⁴⁾ zum Schlusse, dass Ergotamin in kleinen Dosen peripher und nicht zentral angreift.

Diese Beispiele, die den Antagonismus gegenüber Adrenalin bzw. die Hemmung gegenüber Reizen auf sympathische Funktionen zeigen, könnten aus der vorhandenen Literatur noch stark vermehrt werden, doch erkennt man schon aus den wenigen zitierten Arbeiten, dass das Ergotamin auch für die experimentelle Medizin auf dem Gebiete des vegetativen Nervensystems ein wichtiges Hilfsmittel geworden ist.

Zentrale Wirkung des Ergotamins.

W. R. Hess hat durch seine bedeutenden Untersuchungen bewiesen, dass die gesamte Leistung des vegetativen Nervensystems sich wie beim animalen System zusammensetzt aus den Sinnesfunktionen (rezeptorische Phase), dem intrazentralen Vorgang (ordnende Phase) und den motorischen Leistungen (effektorische Phase). Die Frage, ob Ergotamin auch in die zentral ordnende Phase des vegetativen Nervensystems eingreift, war lange Zeit umstritten. Heute weiss man, dass eine Wirkung auf das Zentralnervensystem sicher besteht. Das hatten schon die Versuche von *E. Rothlin*⁵⁾ ergeben, der

¹⁾ *E. Rothlin*, Schweiz. med. Wschr. **50**, 978 (1922).

²⁾ *E. Rothlin*, Klin. Wschr. **4**, 1437 (1925).

³⁾ *G. Ganter*, Arch. exp. Path. **113**, 129 (1926).

⁴⁾ Arch. int. Pharmacod. **39**, 213 (1930).

⁵⁾ Klin. Wschr. **1**, 2294 (1922).

nach grossen Dosen von Ergotamin psychische Erregung, Krämpfe, Atembeschleunigung und pilomotorische Erregung, also typisch zentrale sowohl animale wie auch vegetative Erscheinungen feststellte. Als weitere zentrale Ergotamin-Wirkung beobachteten *H. H. Dale* und *K. Spiro*¹⁾ Somnolenz. *W. R. Hess*²⁾ hat diese schlafmachende Wirkung des Ergotamins besonders eingehend geprüft. Er fand, dass nach Injektion von 1 mg Ergotaminbase in den Gehirnsseitenventrikel oder in den 3. Gehirnvtrikel der Katze ein Schlafzustand von 2–6 Stunden Dauer auftritt, der vollständig dem normalen gleicht. Das Tier nimmt Schlafstellung ein, reagiert auf leichtes Kitzeln am Ohr mit Abwehrreflex und kann vorübergehend geweckt werden. Erwähnt sei hier, dass diese schlafmachende Wirkung von *E. Rominger* und *E. Krüger*³⁾ auch nach subcutanen Gaben von 0,1–0,25 mg Ergotamin beim Kinde beobachtet wurde.

R. Rigler und *E. Silberstern* u. a. zeigten⁴⁾, dass Ergotamin die Temperatur senkt und zwar am stärksten bei intracranieller Applikation. *H. T. A. Haas*⁵⁾ beobachtete, dass schon eine Dosis von 0,1 mg Ergotamin intracisternal verabreicht beim Kaninchen die Temperatur zentral beeinflusst, während intravenös für die gleiche Wirkung 1 mg benötigt wird.

Über das zentrale Nervensystem wenigstens teilweise, in der Hauptsache allerdings peripher, greift die blutzuckersenkende Wirkung des Ergotamins an. Die experimentelle Adrenalinhyperglykämie lässt sich durch Ergotamin hemmen bzw. unterdrücken, wobei seine Wirkung, wie in anderen Fällen, diejenige des Adrenalins überdauert. Der hypoglykämische Effekt des Insulins wird dagegen durch Ergotamin nicht eindeutig verstärkt.

Für eine zentrale Ergotamin-Wirkung sprechen auch zahlreiche klinische Erfahrungen. Es sei hier nur die Bekämpfung der Migräne, die wahrscheinlich durch einen zentralen vegetativen Mechanismus hervorgerufen wird, erwähnt.

Die Toxizität des Ergotamins.

Die mittlere letale Dosis beträgt bei intravenöser Applikation bei der weissen Maus ca. 50 mg pro kg⁶⁾, bei der Ratte 80 mg/kg⁷⁾, beim Kaninchen 3,5 mg/kg⁸⁾ und bei der Katze 3 mg/kg⁹⁾. Subcutan

¹⁾ Arch. exper. Path. **95**, 337 (1922).

²⁾ Neur. u. psych. Abh. aus Schw. Arch. Neur. u. Psych. **1925**, H. 2, S. 3.

³⁾ Klin. Wschr. **11**, 1096 (1932).

⁴⁾ Arch. exper. Path. **121**, 1 (1927).

⁵⁾ Arch. exper. Path. **191**, 119 (1938); **192**, 117 (1939); Klin. Wschr. **18**, 1357 (1939).

⁶⁾ *E. Rothlin*, Schweiz. med. Wschr. **68**, 971 (1938) und *White*; siehe *G. Barger*, Hdb. d. exp. Pharmakologie, Ergänzungswerk 1938, Bd. **6**, S. 103.

⁷⁾ *E. Rothlin*, Helv. physiol. acta **2**, 48 (1944).

⁸⁾ Privatmitteilung von *E. Rothlin*.

⁹⁾ *E. Rothlin*, Schweiz. med. Wschr. **68**, 971 (1938).

verabreicht wirken bei der Katze erst 20 mg/kg letal¹⁾. Beim Hahn tritt nach intramuskulärer Applikation von 2—3 mg/kg Cyanose am Kamme auf²⁾.

Die klinische Anwendung des Ergotamins.

Im Interesse der Raumersparnis wollen wir uns im Rahmen dieser Arbeit auf eine kurze Aufzählung der wichtigsten Indikationsgebiete, wie sie sich im Laufe von 25 Jahren herausgebildet haben, beschränken³⁾. Wenn wir dabei unterscheiden zwischen Geburtshilfe und Gynäkologie, den ältesten Anwendungsgebieten für Mutterkorn einerseits und innerer Medizin und Neurologie andererseits, so deckt sich diese Einteilung nicht scharf mit den physiologischen Begriffen, wie sie im vorhergehenden Abschnitt auseinandergehalten wurden:

1. Wirkung auf die glatte Muskulatur und
2. Sympathikolyse.

Bei der Rückbildung der Gebärmutter im Wochenbett, die durch die uteruskontrahierende Wirkung des Ergotamins gefördert wird, oder bei Blutungen im Klimakterium und in der Pubertät können Wirkungen über das vegetative Nervensystem eine Rolle spielen. Andererseits dürfte die direkte Wirkung auf die glatte Muskulatur z. B. bei der Behandlung von Magen- und Darmatonien neben der Sympathikolyse mitverantwortlich sein.

Am reinsten tritt wohl die Wirkung des Ergotamins auf die glatte Muskulatur zutage bei drohender Verblutungsgefahr bei Atonie des Uterus unmittelbar nach der Geburt oder nach Kaiserschnitt. 0,5 bis 1,0 cm³ mit 0,25 bzw. 0,5 mg Ergotamin-tartrat, intramuskulär oder subcutan, in dringenden Fällen intravenös oder bei Sectio caesarea direkt in den Uterusmuskel injiziert, regen diesen zur Dauerkontraktion an und stillen bzw. verhindern dadurch die Blutung. Für die Förderung der Involution des Uterus im Wochenbett oder nach Abort, ferner bei menorrhagischen und metrorrhagischen Störungen und bei Hämorrhagien z. B. im Klimakterium genügt die Einnahme von täglich 2—4 mg Ergotamin-tartrat in Form von Tropfen oder Tabletten. Ähnliche Dosierungen gelten auch für die im folgenden erwähnten Indikationen.

Die sympathikolytische Wirkung des Ergotamins wurde in der inneren Medizin zuerst mit sichtlichem Erfolg bei der Basedow'schen Krankheit verwendet, wo das Alkaloid imstande ist, Erregungszustände des vegetativen Nervensystems (Zit-

¹⁾ E. Rothlin, loc. cit.

²⁾ H. H. Dale und K. Spiro, Arch. exp. Path. Pharmakol. 95, 348 (1923).

³⁾ Eine ausführlichere Zusammenfassung unter Berücksichtigung aller wichtigeren klinischen Arbeiten soll später a. a. O. veröffentlicht werden.

tern, Herzklopfen, hoher Puls) zu dämpfen und den erhöhten Grundumsatz herabzusetzen. Auch vor Struma-Operationen wird Ergotamin gegeben, um die während des chirurgischen Eingriffs infolge von vermehrter Adrenalinausschüttung einsetzende Tachykardie und gesteigerte Angstzustände zu bekämpfen. Aber nicht nur Tachykardien auf thyreotoxischer Grundlage, sondern auch rein nervöse und paroxysmale sowie durch Infektionskrankheiten (Tuberkulose) bedingte Tachykardien können durch Ergotamin (bzw. Gynergen) beherrscht werden. In der Cardiologie hat sich Ergotamin als diagnostisches Hilfsmittel nützlich erwiesen; es erlaubt z. B. zu unterscheiden, ob eine Veränderung im Elektrokardiogramm funktionell oder organisch bedingt ist.

Auf die regulierende Wirkung des Ergotamins bei Störungen der Motilität des Magen-Darmtrakts sei nur hingewiesen, ebenso wie auf seine Indikationen in der Dermatologie bei Urticaria, Prurigo und Pruritus. Wie die in manchen Fällen frappante Heilung der Gürtelrose (Herpes zoster), einer Viruskrankheit, mit Ergotamin zustande kommt, ist noch unabgeklärt.

Das bedeutendste Indikationsgebiet in der inneren Medizin ist die Migräne. Dass der Sympathikus bei der Entstehung der Migräne eine Rolle spielt, wird vielfach angenommen und findet in der Gynergentherapie eine Stütze, doch ist man über die Ursachen der Migräneschmerzen und ihrer Begleiterscheinungen wie Erbrechen usw. noch im unklaren. Die Wirkung des Ergotamins auf den Migräneanfall kann als spezifisch bezeichnet werden; denn nicht-migränöse Kopfschmerzen werden davon nicht beeinflusst. Im allgemeinen genügt die subcutane Einspritzung von $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ mg Ergotamintartrat in 0,5 bis 1 cm³ Wasser, um den Migräneanfall in 10—30 Minuten zu kupieren. Die Erfolgsquote beträgt bei parenteraler Applikation ca. 90%, bei oraler Verabreichung 60 bis 70%.

In das Gebiet der Psychiatrie gehört die Behandlung von Angstzuständen bei depressiven Patienten mit hypersympathischer Erregbarkeit, bei denen Ergotamin die Angstzustände schlagartig beseitigt. Die beruhigende und tonisierende Wirkung des Ergotamins wird in einem viel gebrauchten Kombinationspräparat, dem „Bellergal“, verwertet. In ihm ist das Mutterkornalkaloid mit den vagusdämpfenden Belladonna-Alkaloiden¹⁾ und der zentral beruhigenden Phenyläthyl-barbitursäure im klinisch ermittelten optimalen Verhältnis (0,3 mg Ergotamintartrat + 0,1 mg Belladonna-Alkaloide + 20 mg Phenyläthyl-barbitursäure) kombiniert.

Die Reihe der heute bekannten Indikationsgebiete des Ergotamins ist mit dieser Aufzählung noch unvollständig, doch ist damit die

¹⁾ Im wesentlichen *l*-Hyoscyamin.

Vielseitigkeit der Wirkung, die sowohl in das hormonale Geschehen wie in Funktionen des vegetativen Nervensystems direkt eingreift, veranschaulicht.

4. Physikalische und chemische Beschreibung des Ergotamins.

Der Empfindlichkeit des Ergotamins gegenüber chemischen Agenzien, Licht, Luftsauerstoff und höherer Temperatur wurde schon bei seiner ersten Isolierung Rechnung getragen. Die direkte Einwirkung von Säuren und Alkalien wurde vermieden, indem man das Alkaloid bis zur fast vollständigen Abtrennung von löslichen Begleitstoffen unter dem Schutze der amphoteren Zellsubstanz der Mutterkorndroge belies und es dann mit einem indifferenten organischen Lösungsmittel extrahierte. Die Aufarbeitung der Rohlösungen erfolgte rasch, vor direktem Licht geschützt, unter Eindampfen bei niederer Temperatur im Vakuum und Stehen zur Kristallisation unter Stickstoff. Ergotaminlösungen färben sich beim Stehen unter Luftzutritt zuerst gelb, dann braun, an direktem Sonnenlicht auch bei Abwesenheit von Sauerstoff schon in kurzer Zeit grün. — Im Ultravioletten Licht zeigt Ergotamin, wie übrigens alle Derivate der Lyserg- und der Isolysergsäure, eine lebhaft, hellviolette Fluoreszenz, mit der Trennungsvorgänge bei der chromatographischen Adsorptionsanalyse leicht verfolgt werden können.

Besonders in alkoholischen Lösungen erfolgt, durch Spuren von Säuren stark beschleunigt, die Umwandlung des Ergotamins, das in Chloroform linksdrehend ist, in das stark rechtsdrehende, physiologisch viel weniger wirksame Isomere, das Ergotaminin. Ergotaminin ist in organischen Lösungsmitteln äusserst schwer löslich und bedingt dadurch leicht Verluste an Alkaloids substanz, dass es mit Verunreinigungen (Flocken, Harzen usw.) ausfällt oder beim Aufarbeiten auf Filtern, an Glaswänden usw. haften bleibt.

Im experimentellen Teil wird an einem Beispiel gezeigt, wie Ergotamin zuerst isoliert wurde und wie es heute noch vorteilhaft gewonnen werden kann. Nur nebenbei sei erwähnt, dass wir infolge des vermehrten Bedarfs an Ergotamin für neue Indikationen und durch die erschwerte Zufuhr von Mutterkorn während des Krieges veranlasst wurden, durch künstliche Infektion von Roggenähren mit Sporen des Mutterkornpilzes hochwertige, d. h. ergotaminreiche Droge in Mengen von über 20 000 kg jährlich zu züchten¹⁾ und der Ergotaminfabrikation zuzuführen.

Es gelingt heute, freilich mit wechselnder Ausbeute, auf verschiedene Arten, auch mit altbekannten Verfahren zur Gewinnung

¹⁾ Über unsere Erfahrungen bei der Mutterkornzucht wird später a. a. O. ausführlich berichtet; vorläufige Mittlg.: A. Stoll und A. Brack, Pharm. acta Helv. 19, 118 (1944); ferner dieselben, Ber. Schweiz. Botan. Ges. 54, 252 (1944).

von Pflanzenalkaloiden Ergotamin darzustellen, immer unter der Voraussetzung, dass man von Drogen ausgeht, die das Alkaloid in unversehrtem Zustand enthalten, und dass man die Empfindlichkeit der Base berücksichtigt. Die Ausbeuten betragen bei natürlich anfallendem Mutterkorn pro kg 1 bis 2 g Ergotamin (Base) und können bei Drogen, die durch künstliche Infektion mit ausgewählten Pilzstämmen gewonnen wurden, noch etwas höher sein.

Die für die vollständige Reindarstellung des Ergotamins wichtigste Eigenschaft bedeutete von Anfang an seine spezifische Krystallisierbarkeit aus wasserhaltigem Aceton, aus dem sich die Base in grossen, stark lichtbrechenden Prismen mit 2 Mol Aceton und 2 Mol Wasser abscheidet (siehe Tafel I, Fig. 1). Schon die erste Reindarstellung des Ergotamins geschah über die Aceton-Wasser-Krystallisation und ermöglichte die Aufstellung der heute gut fundierten Bruttoformel $C_{33}H_{35}O_5N_5$ und die Beschreibung der Eigenschaften, die auch nach weiteren Reinigungsoperationen mit neuen Methoden, z. B. mit der chromatographischen Adsorptionsanalyse oder über die di-(p-toluyll)-weinsauren Salze nur bestätigt werden konnten. Unsere Ergotaminpräparate haben sich auch diesen Kriterien gegenüber als einheitlich erwiesen. Nachdem es gelungen war, das jahrzehntelang als einheitlich geltende „Ergotoxin“ in drei voneinander verschiedene Alkaloide aufzuteilen¹⁾, und sich demzufolge auch Ergotininpräparate als uneinheitlich erwiesen, war es angezeigt, Ergotamin auf Einheitlichkeit nachzuprüfen. Durch die Isolierung des Ergotamins 1918 wurde, wie sich in den letzten Jahren herausgestellt hat, zum ersten Mal ein spezifischer Wirkstoff des Mutterkorns einheitlich und rein dargestellt.

Auch die Krystallisationen aus anderen organischen Solventien, aus Alkoholen oder Benzol enthalten Krystalllösungsmittel. Anscheinend ist das eine Vorbedingung für die Leichtigkeit, mit der Ergotaminpräparate krystallisieren, und die auch den Salzen des Ergotamins eigen ist. Die Analyse wurde dadurch anfänglich erschwert; die letzten Spuren von Wasser werden von der Base und den Salzen des Ergotamins hartnäckig zurückgehalten, und die Substanzen müssen unter Ausschluss von Feuchtigkeit zur Elementar-Analyse gebracht werden. Im Gegensatz hierzu kann Ergotaminin, das ohne Krystalllösungsmittel krystallisiert und auch keine Feuchtigkeit zurückhält, geradezu als Testsubstanz für Mikro-Stickstoffbestimmungen nach *Dumas* empfohlen werden.

Der Eigenschaft, Krystalllösungsmittel zu binden, begegnet man übrigens auch bei anderen Mutterkornalkaloiden, z. B. beim Ergobasin (Ergometrin), das Trichloräthylen²⁾ so fest zurückhält, dass es mit den

¹⁾ A. Stoll und A. Hofmann, *Helv.* **26**, 1570 (1943).

²⁾ A. Stoll und E. Burekhardt, *Bull. Sc. Pharmacol.* **42**, 257 (1935).

üblichen Trocknungsmethoden nicht gelingt, das Lösungsmittel zu entfernen, oder bei den Alkaloiden der Ergotoxingruppe: Ergocristin, Ergokryptin und Ergocornin, die mit Krystallbenzol isomorph krystallisieren und als Benzolkrystallisation die Einheitlichkeit von „Ergotoxin“-Präparaten vortäuschen¹⁾.

Als Molekelverbindungen von mehr oder weniger grosser Beständigkeit krystallisieren linksdrehende mit rechtsdrehenden Mutterkornalkaloiden. Wir haben bereits früher auf diese Erscheinung, die dazu führte, dass zusammengesetzte Alkaloidpräparate („Sensibamin“, „Ergoclavin“) anfänglich als neue Mutterkornalkaloide angesehen wurden, hingewiesen²⁾. Nachdem „Ergotoxin“ und „Ergotin“ als Gemische erkannt sind, erfordert dieses Kapitel eine neue experimentelle Bearbeitung und wir beschränken uns hier auf die Erwähnung der Doppelverbindung Ergotamin-Ergotaminin („Sensibamin“³⁾), die die beiden Komponenten in einfach molekularem Verhältnis enthält. „Sensibamin“ entsteht leicht beim Zusammengeben der beiden Komponenten in gelöster Form und Krystallisation; es wird aber auch als technisches Nebenprodukt besonders bei der Verarbeitung von ungarischem Mutterkorn erhalten. Seine optische Drehung $[\alpha]_D^{20} = +125^{\circ}$ (in Chloroform) entspricht ungefähr dem arithmetischen Mittel der Drehungen von Ergotamin und Ergotaminin. Schon unter den Bedingungen der chromatographischen Adsorptionsanalyse mit Aluminiumoxyd (nach *Brockmann*) als Adsorptions- und Chloroform als Lösungsmittel zerfällt „Sensibamin“ in seine Komponenten⁴⁾. Das in Chloroform zwar leichter lösliche Ergotamin wird zurückgehalten, während Ergotaminin glatt durchläuft.

Wie bereits erwähnt, tritt die Umwandlung des Ergotamins in Ergotaminin und umgekehrt sehr leicht ein, wie im experimentellen Teil an Beispielen gezeigt wird. Sie ist mit bemerkenswerten Änderungen der Eigenschaften verbunden, wie aus dem folgenden Vergleich hervorgeht.

Vergleich der Eigenschaften von Ergotamin und Ergotaminin.

Die Verschiedenheit in der Krystallisation der beiden Isomeren wird durch die Photographien der Tafel I (Fig. 1 und 2) veranschaulicht, auch wenn die Krystalle in verschiedenen Lösungsmitteln gewachsen sind. Dass Ergotamin immer mit und Ergotaminin

¹⁾ *A. Stoll und A. Hofmann*, *Helv.* **26**, 1570 (1943).

²⁾ *A. Stoll*, *Bull. Fédération Internat. Pharm.* **18**, 115 (1937) und *Mitt. Naturf. Ges. Bern* **1942**, S. 45 u. besonders S. 63; *A. Stoll und E. Burckhardt*, *Z. physiol. Ch.* **250** .1 (1937).

³⁾ *Chinoïn A. G. und E. Wolf*, *Schweiz. Pat.* Nr. 160898.

⁴⁾ *D.R.P.* Nr. 627027 (1936).

ohne Krystalllösungsmittel krystallisiert, ist ein charakteristischer Unterschied.

Ausgeprägt sind auch die Löslichkeitsunterschiede. Das krystalllösungsmittelfreie Ergotamin löst sich bei gewöhnlicher Temperatur in etwa der 300fachen Menge Äthanol, in 70 Teilen Methanol und 150 Teilen Aceton, während Ergotaminin erst in etwa 1500 Teilen kochendem Methanol und 1000 Teilen siedendem Äthanol löslich ist. Weitere Angaben über die Löslichkeit der beiden Isomeren sind dem experimentellen Teil dieser Arbeit zu entnehmen.

Obschon die Schmelzpunkte, weil sie eigentlich Zersetzungspunkte sind, keine Konstanten darstellen und stark von der Art des Erhitzens abhängen, so tritt doch für die beiden Paarlinge ein Unterschied zutage. Während die Ergotamin-Aceton-Wasser-Krystalle nach vorheriger Verwitterung durch Verflüchtigung des Krystalllösungsmittels bei 180° unter Zersetzung schmelzen, tritt bei Ergotaminin die Zersetzung erst bei 241—243°¹⁾ ein.

Am auffallendsten ist der Unterschied in der optischen Drehung der beiden Isomeren, der übrigens bei sämtlichen Isomerenpaaren der Mutterkornalkaloide beobachtet wird und durch den Unterschied in der Struktur des Lysergsäurerestes bedingt ist; denn auch Lysergsäure und Isolysergsäure zeigen den nämlichen gewaltigen Unterschied in der optischen Drehung, wie er bei organischen Struktur-Isomeren wohl selten beobachtet wird und wofür eine plausible Erklärung bisher fehlt und wohl auch erst nach der restlosen Abklärung der Struktur beider Isomere gegeben werden kann.

Optische Drehung des Ergotamins in Chloroform (c = 1,0)

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -160^{\circ} (\pm 1^{\circ}); [\alpha]_{5461}^{20} = -192^{\circ} (\pm 1^{\circ})$$

Optische Drehung des Ergotaminins in Chloroform (c = 0,5)

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +369^{\circ} (\pm 1^{\circ}); [\alpha]_{5461}^{20} = +462^{\circ} (\pm 1^{\circ})$$

In Pyridin zeigt Ergotamin eine viel geringere negative optische Drehung, während sie bei Ergotaminin noch stärker ist als in Chloroform (siehe experimenteller Teil).

Charakteristisch unterscheiden sich die beiden Isomeren in der Salzbildung. Während es leicht gelingt, von Ergotamin mit irgendwelchen Säuren schön krystallisierte und relativ beständige Salze, von denen mehrere im experimentellen Teil beschrieben und analysiert und in der Tafel I (Fig. 3 bis 6) abgebildet sind, herzustellen, so ist es bisher nicht gelungen, ein beständiges Salz von Ergotaminin zu fassen. Andererseits müssen wir annehmen, dass z. B. in saurem wässrigem Medium, wo Ergotaminin sich in verdünnter Lösung hält, eine salzartige Bindung besteht. Dabei ist allerdings zu beachten, dass

¹⁾ Die Schmelzpunkte dieser Arbeit sind korrigiert.



Fig. 1.
Ergotamin
(aus 90-proz. Aceton).



Fig. 2.
Ergotaminin
(aus Methanol).



Fig. 3.
Ergotamin-hydrochlorid
(aus 90-proz. Alkohol).



Fig. 4.
Ergotmain-sulfat
(aus 80-proz. Methanol).



Fig. 5.
Ergotamin-phosphat
(aus 90-proz. Alkohol).



Fig. 6.
Ergotamin-tartrat
(aus 80-proz. Methanol).

ergotamin si
einem Gleich
st, in Ergota

D

Die Hydro
K. Timmis¹⁾
ten. Die bei
stamins mit
no andere
ten. Die am
Vorausfolgend
stamin-Molek
stamin. Zusam
3 Molekeln
el $C_{28}H_{35}O_7N$
Ly
Br
H
d.

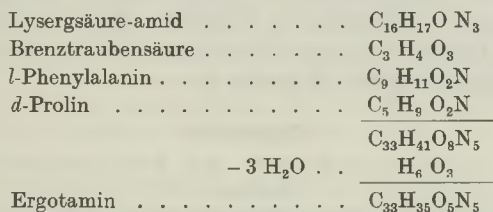
E

is Ergotamin
Ergotamin
enische Sp
diese Mitt
aminosäuren
stehen. Be
tügen Schin
allische Fra
und die Bef
aus der J
realisierte,
Ergotamin
tügen Papi
weder wir
1) No. 132.
2) No. 133.
3) No. 134.
4) Die Erwe
von Molek
5) A. J. J. J.
6) J. J. J. J.
7) J. J. J. J.
8) J. J. J. J.
9) J. J. J. J.
10) J. J. J. J.

Ergotaminin sich unter diesen Versuchsbedingungen beim Stehen bis zu einem Gleichgewicht, das stark auf der Seite der Lysergsäureform liegt, in Ergotamin umwandelt.

Die Spaltstücke des Ergotamins.

Die Hydrolyse des Ergotamins ist zuerst von *S. Smith* und *G. M. Timmis*¹⁾ und von *W. A. Jacobs* und *L. C. Craig*²⁾ durchgeführt worden. Die beiden ersten Forscher konnten nach der Spaltung des Ergotamins mit methylalkoholischer Kalilauge in gleicher Ausbeute wie bei anderen Mutterkornalkaloiden Ergin (*d*-Isolysergsäure-amid) isolieren. Die amerikanischen Autoren ermittelten durch alkalische und darauffolgende saure Hydrolyse auch die übrigen Bausteine der Ergotamin-Molekel, nämlich Brenztraubensäure, *d*-Prolin und *l*-Phenylalanin. Zusammenfügen dieser 4 Spaltstücke ergibt unter Austritt von 3 Molekeln Wasser die seinerzeit von uns aufgestellte Bruttoformel $C_{33}H_{35}O_5N_5$, wie die folgende Aufstellung veranschaulicht:



In Ergänzung des hydrolytischen Abbaues haben wir nun auch mit Ergotamin wie früher mit Ergokryptin und Ergocornin³⁾ die thermische Spaltung im Hochvakuum durchgeführt. Es gelingt mit dieser Methode auf einfache Weise, das α -Ketosaure-amid und die Aminosäuren aus der Alkaloid-Molekel herauszubrechen und zu identifizieren. Bei der Spaltung von Ergotamin wird so als leichter flüchtiges Sublimat Brenztraubensäure-amid⁴⁾ und als schwer destillierbare Fraktion *l*-Phenylalanyl-*d*-prolin-lactam erhalten, womit die Befunde von *Jacobs* und *Craig* bestätigt werden.

Aus der Lactam-Fraktion wurde in geringer Menge eine schön krystallisierte, neutrale Substanz isoliert, die aus Brenztraubensäure, Phenylalanin und Prolin aufgebaut ist und die demnach den vollständigen Peptid-Teil des Ergotamins darstellt. Über deren Struktur werden wir in einer folgenden Arbeit berichten.

¹⁾ Soc. 1932, 1543.

²⁾ Science 81, 256 (1935); J. Org. Chem. 1, 245 (1937).

³⁾ Helv. 26, 1602 (1943).

⁴⁾ Die Brenztraubensäure ist damit in Form des Brenztraubensäure-amids zum ersten Mal in analysierbarer Menge als Spaltstück des Ergotamins isoliert worden. *W. A. Jacobs* und *L. C. Craig* (l. c.) hatten diese Ketosaure nur in Spuren als Phenylhydrazon fassen können. Die Substanzmenge reichte indessen für die Elementaranalyse nicht aus. Die Identifizierung erfolgte durch Schmelzpunkt und Farbreaktionen.

Systematik der Mutterkornalkaloide mit Polypeptidnatur.

Bis heute sind 5 Isomerenpaare dargestellt und beschrieben worden; sie lassen sich auf Grund ihres chemischen Aufbaus in zwei Gruppen einteilen:

1. Ergotamingruppe: Ergotamin —Ergotaminin (1918)¹⁾
Ergosin —Ergosinin (1936)
2. Ergotoxingruppe: Ergocristin —Ergocristinin (1937)
Ergokryptin—Ergokryptinin (1943)
Ergocornin —Ergocorninin (1943)

Allen Alkaloiden sind Lysergsäure, bzw. Isolysergsäure als charakteristischer Hauptbestandteil, ferner Ammoniak und *d*-Prolin eigen. Die Variabilität ist bedingt durch die Ketosäure—Brenztraubensäure in den Alkaloiden der Ergotamingruppe und Dimethyl-brenztraubensäure (Isobutyryl-ameisensäure) in den Basen der Ergotoxingruppe — und eine weitere Aminosäure: *l*-Phenyl-alanin im Ergotamin- und im Ergocristinpaar, *l*-Leucin im Ergosin- und im Ergokryptinpaar und *l*-Valin im Ergocorninpaar. Tabellarisch zusammengestellt ergibt sich daraus folgendes Bild (Tabelle 2):

Tabelle 2.

Anordnung der Mutterkornalkaloide mit Polypeptidnatur nach ihrem Aufbau.

Allen gemeinsame Bestandteile: Lysergrest, NH₃, *d*-Prolin.

	Mit Brenztraubensäure: Ergotamingruppe		Mit Dimethyl-brenztraubensäure: Ergotoxingruppe	
	Mit Lysergsäure:	Mit Isolysergsäure:	Mit Lysergsäure:	Mit Isolysergsäure:
Mit <i>l</i> -Phenyl alanin:	Ergotamin \rightleftharpoons Ergotaminin C ₃₃ H ₃₅ O ₅ N ₅		Ergocristin \rightleftharpoons Ergocristinin C ₃₅ H ₃₉ O ₅ N ₅	
Mit <i>l</i> -Leucin	Ergosin \rightleftharpoons Ergosinin C ₃₀ H ₃₇ O ₅ N ₅		Ergokryptin \rightleftharpoons Ergokryptinin C ₃₂ H ₄₁ O ₅ N ₅	
Mit <i>l</i> -Valin:			Ergocornin \rightleftharpoons Ergocorninin C ₃₁ H ₃₉ O ₅ N ₅	

Durch diese tabellarische Darstellung sind die auf den ersten Blick etwas kompliziert erscheinenden verwandtschaftlichen Beziehungen der Mutterkornalkaloide vereinfacht worden. Zugleich veranschaulicht sie, dass das Alkaloidpaar in der Gruppe des Ergotamins, das dem Ergocornin-Ergocorninin-Paar entspricht und *l*-Valin als variable Aminosäure enthält, noch nicht aufgefunden worden ist, ob-

¹⁾ Die in Klammern angegebenen Jahreszahlen bedeuten die Daten der ersten Reindarstellung.

schon die Lücke in der Systematik auf seine Existenz hinweist. Andererseits zeigt diese Anordnung, wie zahlreich die Möglichkeiten für die Bildung weiterer Alkaloide schon sind, wenn die bisher aufgefundenen variablen Aminosäuren durch andere Vertreter dieser grossen Körperklasse ersetzt werden.

5. Experimenteller Teil.

(Neubearbeitet von *Albert Hofmann*)

Darstellung des Ergotamins. In dem folgenden Beispiel wird gezeigt, wie Ergotamin aus frischem oder gut konserviertem Mutterkorn geeigneter Provenienz im Laboratoriumsmaßstab hergestellt werden kann. Wie weiter oben ausgeführt wurde, ist der Alkaloidgehalt bei verschiedenen Mutterkornsorten auch in frischem Zustand je nach der Provenienz sowohl quantitativ wie qualitativ grossen Schwankungen unterworfen.

2 kg Mutterkorn werden grob gemahlen und mit einer Lösung von 200 g krystallisiertem Aluminiumsulfat in 300 cm³ Wasser sorgfältig vermischt und darauf mit einer Schokolademühle, deren Walzen gekühlt werden können, fein gemahlen; hierauf wird mit 1 ½ Liter Benzol befeuchtet und im Perkolator mit Benzol extrahiert, bis eine Probe beim Abdampfen nur noch kleinste Spuren eines Rückstandes hinterlässt. Der Abdampfückstand soll beim Aufnehmen in Eisessig, der Spuren von Eisen(III)-chlorid enthält, beim Unterschichten, bzw. Mischen mit konzentrierter Schwefelsäure keine oder nur eine schwache kornblumenblaue Farbreaktion zeigen, was beweist, dass das Ergotamin bei der Vorextraktion in der angesäuerten Droge zurückgehalten wird. Das Benzol nimmt an Mutterkornöl, Sterinen, Farbstoffen und anderen neutralen und sauren, in Benzol löslichen Begleitstoffen 700—900 g auf.

Das mit Benzol erschöpfte Extraktionsgut wird hierauf mit 4 Litern Benzol angerührt und durch Einleiten von Ammoniakgas bis zu schwach alkalischer Reaktion der Zellsubstanz behandelt. Nach einer Stunde saugt man auf einer Porzellannutsche ab und wäscht mit Benzol so lange nach, bis eine zur Trockene eingedampfte Probe von 5 cm³ des Filtrats die *Keller'sche* Farbreaktion mit eisenchloridhaltigem Eisessig und Schwefelsäure nicht mehr zeigt.

Beim Einengen des so gewonnenen Hauptextrakts, der das Alkaloid mit nur noch wenig Verunreinigungen enthält, im Vakuum bei niedriger Temperatur auf 50 bis 100 cm³ scheidet sich die Hauptmenge des Alkaloids zum grossen Teil in krystalliner, fast farbloser Form aus. Aus der Benzol-Mutterlauge lässt sich nach dem Abfiltrieren der Rest des Alkaloids mit Petroläther als weniger reine Fraktion ausfällen. Die im Vakuum sorgfältig getrocknete Rohbase löst sich in der 5—10fachen Menge Aceton glatt auf. Man filtriert von kleinen Mengen unlöslicher Flocken, die zum Beispiel auch während der Operation gebildetes Ergotaminin enthalten können und setzt der klaren Lösung 10% Wasser zu, worauf alsbald eine reichliche Krystallisation von stark lichtbrechenden Prismen der Aceton-Wasser-Krystallisation des Ergotamins einsetzt. Die Ausbeute beträgt je nach der Qualität der Droge 1—2 g pro kg angewandter Droge. Zur weiteren Reinigung des Ergotamins durch Umkrystallisation aus wässrigem Aceton ist es nötig, das Aceton aus den Krystallen zu entfernen, da sie krystalllösungsmittelhaltig in Aceton recht schwer löslich sind und es besser ist, von Auflösen durch Erwärmen abzusehen. Man löst daher die Acetonkrystalle in ungefähr der 20fachen Menge Chloroform, das 5% Methanol enthält, in der Kälte auf und verdampft die Lösung im Vakuum möglichst rasch zur Trockene, um eine Krystallisation zu vermeiden. Der amorphe Rückstand ist nun in 90-proz. wässrigem Aceton leicht löslich. Er löst sich darin in der 10fachen Menge glatt auf und erscheint sogleich in den schönen, gerade abgeschnittenen, vielflächigen glänzenden Prismen (siehe Tafel I, Figur 1). Sie enthalten 2 Mol. Aceton und 2 Mol. Wasser als Krystalllösungsmittel, das beim Trocknen im Vakuum oder auch schon bei Temperaturen unterhalb 100° leicht abgegeben wird. Schon bei längerem Aufbewahren an der Luft verwittern die Krystalle.

Analyse und Eigenschaften des Ergotamins. Für die Elementaranalyse der Aceton-Wasser-Krystallisation wurden frisch abgenutzte, noch wasserklare Krystalle verwendet.

3,111 mg Subst. gaben 7,332 mg CO₂ und 1,952 mg H₂O
 3,518 mg Subst. gaben 0,300 cm³ N₂ (20°, 747 mm)
 C₃₃H₃₅O₅N₅ · 2 CH₃COCH₃ · 2 H₂O Ber. C 63,81 H 7,01 N 9,55%
 Gef. „ 64,28 „ 7,02 „ 9,77%

Zur Analyse der krystalllösungsmittelfreien Base wird im Hochvakuum bei 80° bis zur Konstanz getrocknet. Der Gewichtsverlust betrug 20,6%; 20,0% (ber. 20,7%). Die Substanz zieht in diesem Zustand aus der Luft begierig Wasser an und lieferte anfangs zu niedrige Werte, bis sie unter Feuchtigkeitsausschluss eingewogen wurde.

4,372; 3,989 mg Subst. gaben 10,950; 9,975 mg CO₂ und 2,360; 2,095 mg H₂O
 3,077; 3,030 mg Subst. gaben 7,725; 7,602 mg CO₂ und 1,722; 1,698 mg H₂O
 3,368; 3,210 mg Subst. gaben 0,355; 0,343 cm³ N₂ (21°, 748 mm)
 C₃₃H₃₅O₅N₅ Ber. C 68,12 H 6,07 N 12,05%
 Gef. „ 68,31; 68,20 „ 6,04; 5,88 „ 12,04; 12,21%
 Gef. „ 68,47; 68,43 „ 6,26; 6,27%

Die getrennte Bestimmung des Krystallwasser- und des Acetongehalts sowohl qualitativ wie quantitativ wurde auf folgende Weise durchgeführt:

a) Wassergehalt: Frisch hergestellte, durch Abspülen mit ein wenig Äther von der Mutterlauge befreite Krystalle wurden gewogen und im U-Rohr unter Durchleiten von trockenem Wasserstoff auf 50—60° erwärmt. Das ausgetriebene Wasser wurde in einem angeschlossenen, ebenfalls bei 60° gehaltenen Bariumoxyd-Rohr absorbiert und gewogen.

1,1655; 0,7392 g Krystallisat gaben 0,0596; 0,0384 g H₂O

Für C₃₃H₃₅O₅N₅ · 2 CH₃COCH₃ · 2 H₂O Ber. H₂O 4,9 Gef. H₂O 5,1; 5,2%

b) Acetongehalt: Wir arbeiteten nach der Methode von *W. Dirscherl* und *F. Hanusch*¹⁾, wobei die bei der Oximildung mit überschüssigem Hydroxylamin-hydrochlorid freiwerdende Salzsäure in alkoholischer Lösung mit Kalilauge und Bromphenolblau als Indikator titriert wurde. Der Säureverbrauch des Alkaloids wurde im Blindversuch unter diesen Bedingungen als genau 1 Äquivalent ermittelt und war zu berücksichtigen.

0,100; 0,063 g Krystallisat verbrauchten 3,12; 1,81 cm³ 0,0895-n. KOH.

Für C₃₃H₃₅O₅N₅ · 2 CH₃COCH₃ · 2 H₂O Ber. Aceton 15,8 Gef. Aceton 16,2; 15,0%

Das krystalllösungsmittelfreie Ergotamin löst sich bei Zimmertemperatur in ungefähr der 300fachen Menge Äthanol, der 70fachen Menge Methanol und der 150fachen Menge Aceton. In Chloroform ist es leicht, in Essigester massig und in Benzol schwer löslich. In Wasser ist Ergotamin praktisch unlöslich. Aus der 800fachen Menge kochenden Benzols krystallisiert das Ergotamin beim Erkalten in langen, dünnen Prismen, die bei 212 bis 214° unter Zersetzung schmelzen. Das Aceton-Wasser-Krystallisat schmilzt unter Zersetzung unscharf bei 180°.

Aus der grossen Zahl von Messungen der optischen Drehungen von Ergotaminpräparaten geben wir hier nur die folgenden wieder, die mit reinsten, im Hochvakuum zur Gewichtskonstanz getrockneten Präparaten ermittelt und sehr oft bestätigt wurden. Die Streuungen der Messungen sind in Klammern angegeben:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -160^{\circ} (\pm 1^{\circ})$ $[\alpha]_{5461}^{20} = -192^{\circ} (\pm 1^{\circ})$ (c = 1,0 in CHCl₃)
 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -12,7^{\circ} (\pm 0,2^{\circ})$ $[\alpha]_{5461}^{20} = -8,6^{\circ} (\pm 0,2^{\circ})$ (c = 1,0 in Pyridin)

Auffallend erscheint die abnormale Rotationsdispersion in Pyridinlösung. Während das optische Drehvermögen der Alkaloide der Ergotoxingruppe, wie es bei optisch aktiven Substanzen fast ausnahmslos der Fall ist, mit Abnahme der Wellenlänge des Lichts zunimmt, ist der spezifische Drehwert des Ergotamins in Pyridinlösung bei der Wellenlänge der D-Linie grösser als beim kurzwelligeren Hg-Licht.

¹⁾ Z. physiol. Ch. 233, 27 (1935).

Salze des Ergotamins. Nachdem sich die di-(p-toluyll)-l-weinsäuren Salze für die Trennung der Alkaloide der Ergotoxingruppe so ausgezeichnet bewährt hatten¹⁾, war es naheliegend, auch die Salze des Ergotamins mit Di-(p-toluyll)-l-weinsäure herzustellen und damit zugleich die Einheitlichkeit unserer Ergotaminpräparate zu verifizieren. Mit der fraktionierten Krystallisation, deren Fraktionen identisch waren, wurde die Einheitlichkeit des Ergotamins bestätigt.

Ergotamin-di-(p-toluyll)-l-tartrat. Zur Darstellung dieses Salzes löst man 5,81 g Ergotamin (1/100 Mol) in 300 cm³ Methanol ohne zu erwärmen auf und neutralisiert mit einer Lösung von 1,98 g Di-(p-toluyll)-l-weinsäure (1/200 Mol) in 20 cm³ Methanol. Das Salz krystallisiert sogleich in reinweissen, rechteckigen, glitzernden Blättchen aus. Nach zweistündigem Stehen bei 0° wird abgenutscht und mit Methanol nachgewaschen. Ausbeute 7,2 g.

Das Ergotamin-di-(p-toluyll)-l-tartrat löst sich in der Siedehitze in der 80fachen Menge Äthanol oder der 140fachen Menge Methanol und krystallisiert beim Erkalten wieder fast vollständig aus. Smp. 190° (unter Zersetzung). In den Mutterlaugen liess sich kein anderes Alkaloid nachweisen.

Für die Elementaranalyse wurde die Krystallisation aus Methanol im Hochvakuum bei 100° getrocknet, wobei sie 5,8% an Gewicht verlor.

3,172 mg Subst. gaben 7,775 mg CO₂ und 1,672 mg H₂O
 3,177 mg Subst. gaben 0,244 cm³ N₂ (20°, 748 mm)
 (C₃₃H₃₅O₅N₅)₂ · C₂₀H₁₈O₈ Ber. C 66,63 H 5,73 N 9,04%
 Gef. „ 66,85 „ 5,90 „ 8,81%
 [α]_D²⁰ = +79° (c = 0,2 in Alkohol)

Ergotamin-tartrat. Dieses Salz ist relativ stabil und in Wasser verhältnismässig leicht löslich und stellt daher die Form des Ergotamins dar, die in den pharmazeutischen Präparaten²⁾ Verwendung gefunden hat und in der es im Supplement der Ph. Helv. V Aufnahme finden soll.

1,0 g Ergotamin-Aceton-Wasser-Krystalle und 0,102 g d-Weinsäure werden zusammen fein verrieben und unter kurzem Aufkochen in 20 cm³ 80-proz. Methanol gelöst. Beim Erkalten krystallisiert das Salz in dicken, rhombischen Tafeln (siehe Tafel I, Fig. 6). Es schmilzt bei 203° unter Zersetzung.

Für die Elementaranalyse wurde das Salz im Hochvakuum bei 80° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, wobei ein Gewichtsverlust von 4,9%, entsprechend 2 Mol CH₃OH, eintrat (Theorie für 2 Mol CH₃OH: 4,65%).

3,132; 3,139 mg Subst. gaben 7,350; 7,400 mg CO₂ und 1,638; 1,713 mg H₂O
 3,208; 3,357 mg Subst. gaben 0,314; 0,322 cm³ N₂ (20°, 21°, 746 mm)
 (C₃₃H₃₅O₅N₅)₂ · C₄H₈O₆ Ber. C 63,99 H 5,84 N 10,67%
 Gef. „ 64,00; 64,29 „ 6,01; 6,11 „ 11,19; 10,93%

Ergotamin-phosphat. 1,0 g Ergotamin-Aceton-Wasser-Krystalle wurden in 30 cm³ 90-proz. Alkohol gelöst und mit 1,36 cm³ 1-molarer 90-proz. alkoholischer Phosphorsäure tropfenweise versetzt. Die entstehende weisse, amorphe Fällung wurde durch gelindes Erwärmen wieder in Lösung gebracht, worauf sich nach kurzer Zeit das krystallisierte Salz abzuschneiden begann. Es wurde in der 30-fachen Menge siedendem 90-proz. Alkohol gelöst und schied sich aus der erkaltenden Lösung in dünnen, meist zu Drusen vereinigten Platten mit sechsseitiger oder dem Längsschnitt eines Fasses ähnlicher Begrenzung (siehe Tafel I, Fig. 5) ab. Smp. 200° (Zersetzung).

Bei der Trocknung im Hochvakuum verlor das Salz bei 20° 6,5% an Gewicht, was 1 Mol C₂H₅OH entspricht (Theorie 6,35%). Für die Phosphorsäurebestimmung wurde es

¹⁾ A. Stoll und A. Hofmann, Helv. 26, 1570 (1934).

²⁾ „Gynergen“, „Neogynergen“, „Bellergal“.

auf dem Wasserbad mit wässrigem Ammoniak erwärmt, das freigesetzte Alkaloid abfiltriert, die Phosphorsäure aus dem Filtrat als Ammonium-magnesium-phosphat gefällt und als $Mg_2P_2O_7$ bestimmt.

0,3005; 0,3784 g Subst. gaben 0,0465; 0,0594 g $Mg_2P_2O_7$
 $C_{33}H_{35}O_5N_5 \cdot H_3PO_4$ Ber. H_3PO_4 14,4 Gef. H_3PO_4 13,6; 13,8%

Ergotamin-hydrochlorid. Die halogenwasserstoffsauren Salze eignen sich gut für die Molekulargewichtsbestimmung des Ergotamins durch Titration.

1,0 g Ergotamin-Aceton-Wasser-Krystalle werden kalt in 20 cm³ absolutem Alkohol gelöst, mit 1,36 cm³ n.alkoholischer Salzsäure neutralisiert und das Salz durch Verdünnen mit 20 cm³ Äther zur Krystallisation gebracht. Nach dem Lösen in der 20fachen Menge 90-proz. Alkohol durch kurzes Aufkochen krystallisiert das Ergotamin-hydrochlorid beim Erkalten in schräg abgeschnittenen, langen, dünnen Platten und Prismen (siehe Tafel I, Fig. 3) vom Smp. 212° (Zersetzung). Ergotamin-hydrochlorid ist in Wasser schwer, in Alkohol mässig, in wässrigem Alkohol leicht löslich. Molekulargewichtsbestimmung mit der im Hochvakuum bei 100° zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz durch Halogen-Titration nach Volhard:

0,2167; 0,2261 g Subst. verbrauchten 35,1; 36,4 cm³ 0,01-n. $AgNO_3$
 $C_{33}H_{35}O_5N_5 \cdot HCl$ Ber. Mol.-Gew. 617,8 Gef. Mol.-Gew. 617; 620

Die Halogenwasserstoffsäure ist dem Ergotamin offenbar nicht zuträglich; bei längerem Aufbewahren färbt sich das Hydrochlorid auch unter Ausschluss von Luft und Licht leicht rötlich.

Ergotamin-hydrobromid. Darstellung und Krystallisation verlaufen wie beim Hydrochlorid. Smp. 213° (Zersetzung). Für die Molekulargewichtsbestimmung wurde das Salz im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

0,2027; 0,1454 g Subst. verbrauchten 30,6; 21,9 cm³ 0,01-n. $AgNO_3$
 $C_{33}H_{35}O_5N_5 \cdot HBr$ Ber. Mol.-Gew. 662,2 Gef. Mol.-Gew. 662; 664

Ergotamin-sulfat. 1,46 g Ergotamin-Aceton-Wasser-Krystalle wurden in 70 cm³ Methanol gelöst und mit 20 cm³ 0,1-n. wässriger Schwefelsäure neutralisiert, worauf das neutrale Ergotaminsulfat alsbald in glitzernden, rhombenförmigen Tafeln mit abgeschnittenen stumpfen Winkeln auskrystallisierte (siehe Tafel I, Fig. 4). Das Salz lässt sich aus der 70-fachen Menge kochendem 80-proz. Methanol umkrystallisieren. Smp. 205° (Zersetzung).

Für die Sulfat-Bestimmung wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

0,2192; 0,2524 g Subst. gaben 0,0401; 0,0471 g $BaSO_4$
 $(C_{33}H_{35}O_5N_5)_2 \cdot H_2SO_4$ Ber. H_2SO_4 7,78 Gef. H_2SO_4 7,68; 7,84%

Ergotamin-methansulfonat. Die Salze der Mutterkornalkaloide mit einfachen Alkylsulfonsäuren zeichnen sich im allgemeinen durch besonders gute Krystallisierbarkeit und relativ gute Löslichkeit in Wasser aus. Beim Neutralisieren von 1,5 g Ergotamin-Aceton-Wasser-Krystallen in 20 cm³ Alkohol mit 1,0 cm³ 2-n. wässriger Methansulfonsäure krystallisierte das Salz sogleich in reinweissen, sehr dünnen, sechseckigen Blättchen aus. Nach dem Auflösen in der 10fachen Menge kochendem absolutem Alkohol krystallisiert es beim Erkalten wieder fast vollständig aus. Smp. 210° (Zersetzung).

Ergotamin-äthansulfonat. Darstellung und Krystallisation wie Methansulfonat. Smp. 207° (Zersetzung).

Umlagerung von Ergotamin in Ergotaminin.

Dem Übergang der Lysergsäure-Struktur in die Isolysergsäure-Struktur entspricht die Umwandlung des Ergotamins in Ergotaminin. Beim Stehen in hydroxylhaltigen Lösungsmitteln, rascher in der Wärme, stellt sich zwischen Lysergsäure- und Isolysergsäure-Derivaten ein Gleichgewicht ein. Diese Isomerisierung wird durch saure oder alkalische Agenzien beschleunigt. Da Ergotaminin in den meisten Lösungsmitteln ausserordentlich schwer löslich ist, gelingt es leicht, Ergotamin nahezu vollständig in sein Isomeres umzu-

lagern, weil dieses rasch auskrystallisiert und dadurch das Gleichgewicht bis zur praktisch vollständigen Umwandlung des Ergotamins stört. Nachstehende Arbeitsweise hat sich für diese Umlagerung gut bewährt.

1,25 g Ergotamin-Aceton-Wasser-Krystalle werden in 50 cm³ Methanol, dem 0,1 cm³ Eisessig zugesetzt sind, unter Rückfluss in Stickstoffatmosphäre gekocht. Schon nach 10 Minuten beginnt das Ergotamin auszukrystallisieren. Man kocht noch 50 Minuten lang weiter und nutsch nach dem Stehen über Nacht im Eisschrank ab. Ausbeute 0,95 g reines Ergotaminin.

Das Ergotaminin ist das am schwersten lösliche Mutterkornalkaloid. Es löst sich erst in ungefähr 1500 Teilen kochendem Methanol oder in 1000 Teilen siedendem Äthanol. Auch in Aceton, Benzol oder Essigester ist es nur sehr wenig löslich, etwas besser dagegen in Chloroform, verhältnismässig leicht in Pyridin und in Eisessig. Aus der heissgesättigten Lösung in Methanol scheidet es sich beim Erkalten in typischen rhombenförmigen, dünnen Plättchen mit abgeschnittenen Winkeln (siehe Tafel I, Fig. 2) aus. Die Krystalle sind wegen ihrer Schwerlöslichkeit von grosser Reinheit; sie enthalten kein Krystalllösungsmittel und ziehen keine Luftfeuchtigkeit an, so dass sie sehr gute Analysenwerte liefern. Sie schmelzen relativ hoch, aber unter Zersetzung bei 241—243°.

5,530; 4,590 mg Subst. gaben 13,800; 11,485 mg CO₂ und 3,005; 2,480 mg H₂O
4,485; 4,236 mg Subst. gaben 0,480; 0,451 cm³ N₂ (20°, 733; 737 mm)

C₃₃H₃₅O₅N₅ Ber. C 68,12 H 6,07 N 12,05%
Gef. „ 68,06; 68,24 „ 6,08; 6,05 „ 12,02; 12,06%

$[\alpha]_D^{20} = +369^{\circ} (\pm 1^{\circ})$; $[\alpha]_{5461}^{20} = +462^{\circ} (\pm 1^{\circ})$ (c = 0,5 in Chloroform)

$[\alpha]_D^{20} = +397^{\circ} (\pm 1^{\circ})$; $[\alpha]_{5461}^{20} = +497^{\circ} (\pm 1^{\circ})$ (c = 0,5 in Pyridin)

Die Rückverwandlung von Ergotaminin in Ergotamin gelingt präparativ nach dem gleichen Prinzip wie die Umlagerung des Ergotamins in Ergotaminin, indem man das neu gebildete Isomere in schwer löslicher Form zur Abscheidung bringt. Als geeignete, sehr schwer lösliche Verbindung des Ergotamins hat sich für diesen Zweck das Sulfat erwiesen mit Eisessig-Methanol als umlagerndes Medium.

6 g Ergotaminin werden in 10 cm³ Eisessig unter gelindem Erwärmen gelöst und mit 49 cm³ Methanol, das 0,49 g H₂SO₄ enthält, versetzt. Man impft mit Ergotaminsulfat-Krystallen und lässt einen Tag im Dunkeln stehen, wobei ungefähr 5 g Ergotaminsulfat auskrystallisieren.

Thermische Spaltung des Ergotamins.

Über diese Methode des Abbaus von Mutterkornalkaloiden mit Polypeptidnatur haben wir in unserer 8. Mitteilung dieser Reihe, wo auch die Apparatur¹⁾ abgebildet ist, ausführlich berichtet.

1,0 g Ergotamin wurde im Vakuum einer Ölpumpe (0,05 mm) rasch auf 220—230° erhitzt und während 10 Minuten bei dieser Temperatur gehalten, was für die vollständige Spaltung ausreicht. Im gekühlten Rohr der Vorlage hatte sich ein Sublimat in weissen Krystallschuppen niedergeschlagen, das den typischen Brenzgeruch aufwies. Ausbeute 30 mg. Smp. 115°. Für die Elementaranalyse wurde das Brenztraubensäure-amid noch einmal im Vakuum (15 mm) bei 120—130° Badtemperatur sublimiert und aus Benzol umkrystallisiert.

3,561 mg Subst. gaben 5,405 mg CO₂ und 1,838 mg H₂O
2,141 mg Subst. gaben 0,301 cm³ N₂ (18°, 720 mm)

C₃H₅O₂N Ber. C 41,36 H 5,79 N 16,09%
Gef. „ 41,44 „ 5,77 „ 15,62%

¹⁾ Helv. 26, 1610 (1943).

Das hellgelbe, von Krystallen durchsetzte, glasig erstarrte Öl in der Vorlage wog 0,38 g. Beim Aufnehmen in 1,5 cm³ Methanol krystallisierten 80 mg einer in Methanol mässig, in Wasser schwerlöslichen Substanz aus. Beim Umkrystallisieren aus Methanol erschien sie in massiven Platten und Prismen, die bei 183° schmolzen und eine optische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +138^\circ$ (in Alkohol) zeigten. Die Verbindung, auf die wir in einer folgenden Arbeit zurückkommen werden, spaltet schon mit schwach alkalischen Mitteln Brenztraubensäure ab und geht dabei zum Teil in Phenylalanyl-prolin-lactam über.

Der beim Eindampfen der Methanol-Mutterlauge hinterbliebene Rückstand wurde in 5 cm³ Wasser gelöst, die Lösung durch wenig Talk blank filtriert, im Vakuum eingedampft und der Rückstand in möglichst wenig Alkohol gelöst. Bei langsamem Verdünnen mit Äther krystallisierte das *l*-Phenylalanyl-*d*-prolin-lactam in langgestreckten, rechteckigen Platten und Prismen (0,21 g) aus, die in Wasser mit neutraler Reaktion spielend löslich sind. Für die Elementaranalyse wurde das Lactam nochmals im Hochvakuum bei 200—220° destilliert.

3,080; 3,038 mg Subst. gaben 7,810; 7,702 mg CO₂ und 1,915; 1,835 mg H₂O
 3,310; 3,222 mg Subst. gaben 0,338; 0,334 cm³ N₂ (21°, 745 mm; 23°, 745 mm)
 C₁₄H₁₆O₂N₂ Ber. C 68,81 H 6,61 N 11,48%
 Gef. „ 69,16; 69,14 „ 6,96; 6,76 „ 11,62; 11,68%

$[\alpha]_D^{20} = +92^\circ$; $[\alpha]_{5461}^{20} = +110^\circ$ (c = 1,0 in Wasser)

Die saure Hydrolyse führten wir durch Kochen von 0,2 g Lactam in 15 cm³ konz. Salzsäure während 16 Stunden unter Rückfluss durch. Dann wurde die Salzsäure im Vakuum abgedampft, der Rückstand in 5 cm³ Wasser gelöst, mit Silbercarbonat entchlort und in Lösung gegangenes Silber mit Schwefelwasserstoff entfernt. Die durch Aufkochen mit etwas Tierkohle und Filtration durch Talk geklärte Lösung schied beim Einengen auf ein kleines Volumen das *l*-Phenylalanin in weissen Krystallnadelchen (0,095 g) ab. Beim Umkrystallisieren aus wenig heissem Wasser wurden glitzernde viereckige Blättchen vom Smp. 230° (Zersetzung) erhalten. $[\alpha]_D^{20} = -32^\circ$ (c = 2 in Wasser).

Für die Elementaranalyse wurde die Substanz im Hochvakuum bei 180° sublimiert.

3,195 mg Subst. gaben 7,700 mg CO₂ und 1,918 mg H₂O
 3,942 mg Subst. gaben 0,294 cm³ N₂ (20°, 747 mm)
 C₉H₁₁O₂N Ber. C 65,42 H 6,72 N 8,49%
 Gef. „ 65,73 „ 6,72 „ 8,54%

Zur Gewinnung des Prolins wurde der durch Eindampfen gewonnene Rückstand der wässerigen Mutterlauge des Phenylalanins mit 2 cm³ Alkohol verrieben, von weiter ausgedehntem Phenylalanin abgenutscht und die alkoholische Lösung wieder zur Trockene verdampft. Der glasige Rückstand wog 0,09 g und zeigte eine optische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +50^\circ$ (c = 1 in Wasser). Zur weiteren Reinigung und Charakterisierung wurde das *d*-Prolin in das Cadmiumchlorid-Doppelsalz übergeführt¹⁾, das aus wässrigem Alkohol in langen, dünnen Prismen krystallisierte, bei 180° sinterte und bei 211° unscharf schmolz.

Chemisch-pharmazeutisches Laboratorium
 „Sandoz“, Basel.

¹⁾ A. Winterstein, Klein's Handbuch der Pflanzenanalyse 4, 70 (J. Springer, Wien, 1933).

168. Identification des cations de l'arsenic et de quelques éléments voisins: Antimoine, étain et cérium

(1ère partie¹)

par P. Wenger, R. Duckert et J. Renard.

(12 IX 45)

Nous nous sommes proposés de faire une étude des réactifs de l'arsenic sous ses deux stades d'oxydation, et cela du point de vue analytique, en envisageant d'une façon détaillée le problème de l'identification de ses cations.

Il était intéressant d'étudier les réactions de coloration de l'arsenic (As^{+3} , As^{+5}) avec une série organique déterminée; un travail de ce genre peut présenter, en effet, à lui seul un intérêt documentaire, d'autant plus que les études dans ce domaine sont rares.

D'autre part, les trois stades de valence de l'élément, As^{-3} , As^{+3} , As^{+5} , permettent l'examen de systèmes oxydo-réducteurs qui présentent un intérêt du point de vue de la connaissance de l'arsenic comme de celle des corps (organiques en particulier) participant au système rédox. Il y avait peut-être, dans ce dernier cas, la possibilité de découvrir un indicateur rédox applicable à l'un des équilibres existant entre les 3 formes ioniques de l'arsenic citées plus haut. Il était également permis d'espérer trouver un réactif spécifique de chacun des stades d'oxydation.

Voici ce que nous apporte la bibliographie.

S'il est possible de déceler aisément, et sans confusion avec les deux stades supérieurs, l'anion As^{3-} , il est malaisé de distinguer l'un de l'autre les ions oxygénés (As^{+3} et As^{+5}).

La recherche qualitative de l'ion As^{3+} se fait facilement par dégagement de l'hydrogène arsénié que l'on fait réagir ensuite sur des cations tels que Ag^+ , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} et Au^{3+} . Les arséniures qui prennent naissance se reconnaissent à leur coloration²⁻⁷.

Pour l'arsenic trivalent et pentavalent positif, les réactifs spécifiques sont moins nombreux.

Il est toujours possible de faire une recherche qualitative des deux cations de l'arsenic ou des deux anions qui leur correspondent par des méthodes de réduction d'une part (méthode de *Marsh*) ou par oxydation d'autre part (précipitation d'un arséniate typique); mais ces deux procédés ne permettent guère une distinction précise de l'arsenic sous ses deux valences. Notons cependant qu'une réduction en milieu alcalin par l'aluminium en vue d'obtenir l'hydrogène arsénié n'atteint que l'arsenic trivalent, tandis que les réductions, en milieu acide, mettent en jeu l'arsenic sous ses 2 valences positives.

¹) Thèse de doctorat présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Genève par J. Renard. Thèse No. 1078, 1945.

²) G. Gutzeit, Pharm. Ztg. **24**, 263 (1879).

³) Ch. R. Sanger et O. F. Black, J. Soc. Chem. Ind. **26**, 1115 (1907); C. **1908**, I, 169.

⁴) F. Feigl, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, 3e éd., Leipzig 1938, p. 189.

⁵) L. W. Winkler, Z. angew. Ch. **30**, 113 (1917).

⁶) C. J. van Nieuwenburg et G. Dulfer. A short Manual of systematic qualitative Analysis by means of modern drop reactions. 2e éd. D. B. Centens Uitgavers Maatschappij Amsterdam 1935.

⁷) Dauvé, Ann. Chim. anal. appl. [3] **10**, 320 (1928).

Dans la plupart des cas, les réactions des deux cations sont identiques. Dans d'autres cas, les caractéristiques des réactions de chaque ion ne diffèrent pas suffisamment pour qu'on puisse établir une méthode d'identification sûre et sensible. C'est ce qui se produit pour un certain nombre de réactions microcristalloscopiques, intéressantes d'autre part. En fait, il ne reste comme réactif spécifique d'un des cations que 6 réactifs qui seront cités en détail plus loin.

En résumé, il y a très peu de réactifs qui puissent être utilisés pour la différenciation des cations As^{+++} et As^{++++} . Il était donc intéressant de chercher un réactif du cation pentavalent aussi bien que du cation trivalent.

Nous avons étudié les réactions d'un certain nombre de polyphénols et d'acides phénols de la série benzénique. Comme nous nous sommes aperçus rapidement que les réactions de coloration obtenues étaient liées à des phénomènes d'oxydo-réduction, nous avons jugé intéressant de développer notre étude dans de nouvelles directions pour approfondir le sujet. C'est ainsi que nous avons examiné les réactions des deux cations de l'antimoine avec les différents réactifs utilisés pour l'arsenic, ce qui nous a permis de nous rendre compte que les colorations étaient dues à des oxydo-réductions et non à une action spécifique des cations As^{+++} ou As^{++++} ou des anions correspondants, l'antimoine, dans un grand nombre de cas, réagissant de la même façon que l'arsenic. Il a été aussi possible de tirer des conclusions concernant le potentiel oxydant de l'arsenic(V) et de l'antimoine(V).

En poursuivant les comparaisons avec l'étain (Sn^{+2} , Sn^{+4}), de même qu'avec le cérium (Ce^{+3} , Ce^{+4}), nous étions en mesure de compléter l'étude critique des réactions de l'arsenic.

Examens critiques des réactifs qualitatifs de l'arsenic

Nous nous sommes basés sur la liste des réactifs de la „Commission Internationale des Réactions et Réactifs analytiques nouveaux” de l'Union Internationale de Chimie¹⁾; nous l'avons complétée par nos recherches bibliographiques qui ont porté principalement sur les années 1937—1944.

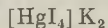
Nous avons estimé que le premier choix fait par les membres de la Commission Internationale des Réactifs nous dispensait d'une étude de tous les réactifs proposés jusqu'à 1936 (la liste de la Commission Internationale n'est pas une énumération complète).

Nous avons, d'autre part, tenu compte également de l'étude détaillée des réactifs qualitatifs de l'arsenic que le Prof. *C. J. van Nieuwenburg* a faite pour le Deuxième Rapport de la Commission Internationale des Réactifs²⁾.

Nous donnons ici le résultat de cet examen critique rapide dont le but essentiel est de faire ressortir les possibilités de discrimination des deux valences positives de l'arsenic.

1° Nous avons éliminé totalement de nos recherches, après un premier essai, les réactifs suivants:

Tétraiodomercure (II) dipotassique (mercuriiodure de potassium), Réactif de *Nessler*
N° 14³⁾ (*G. Denigès*⁴⁾)



Ce réactif se rapporte à l'anion As^{+++} . Il pourrait être utilisé, après réduction de l'arsenic par l'hydrogène, comme cela se fait d'autre part (voir plus loin).

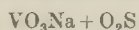
¹⁾ Tableaux des réactifs pour l'analyse minérale; Premier Rapport de la Commission Internationale des Réactions et Réactifs analytiques nouveaux de l'Union Internationale de Chimie. *Akademische Verlagsgesellschaft*, Leipzig 1938, p. 53 à 57.

²⁾ Réactifs pour l'analyse qualitative minérale; Deuxième Rapport de la Commission Internationale des Réactions et Réactifs analytiques nouveaux de l'Union Internationale de Chimie. *B. Wepf*, Bâle 1945, p. 28 à 31.

³⁾ Ces numéros correspondent à ceux du Premier Rapport de la Commission Internationale des Réactions et Réactifs analytiques nouveaux.

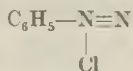
⁴⁾ Pour la bibliographie, se reporter à la thèse de *J. Renard*.

Métavanadate de sodium + anhydride sulfureux (N° 27), (L. Rossi)



La coloration jaune vert (le réactif est lui-même bleu) est assez peu nette et l'équivoque est aisée. L'arsenic(V) seul réagit, mais on ne peut pas se baser sur ce procédé.

Chlorure de diazobenzène (N° 31) (A. Gutmann)



Nous avons éliminé ce réactif pour des raisons d'ordre pratique uniquement: le réactif ne se trouve pas dans le commerce, la préparation n'en est pas rapide et ce qui est aussi important, la recherche analytique doit se faire à -5° , pour raisons de stabilité.

Oxalate de sodium (N° 38) (R. Biewend)

Hydroxyde de sodium + formiate de sodium (N° 39) (A. C. Vournasos)



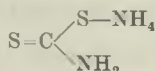
Ces deux réactifs sont destinés à la sublimation de l'anhydride arsénique contenu dans des substances manufacturées solides et peu attaquables (verre). Il s'agit donc là d'une technique d'attaque.

2° Une série de réactifs se comportent pratiquement de la même façon avec les deux cations de l'arsenic (ou les deux anions oxygénés), si bien qu'on ne peut distinguer l'un des stades d'oxydation de l'autre.

Ce sont:

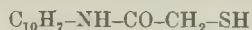
Dithiocarbamate d'ammonium (N° 4) (W. Parri)

Précipité blanc en milieu acide.



β -Aminonaphtalide de l'acide thioglycolique (thionalide) (N° 5) (R. Berg et W. Roebeling)

Précipité blanc en milieu acide.



Chlorure d'étain(II) (N° 8) (A. Bettendorff)

Précipité brun noir en milieu acide.



Dihydrogène-hypophosphite de sodium (N° 10) (J. Bougault)

Précipité brun en milieu acide.



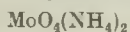
Dithionite de sodium (N° 12) (D. R. Staddon)

Précipité brun en milieu acide.



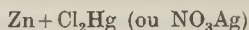
Molybdate d'ammonium (N° 13) (M. C. Sneed)

Précipité jaune en milieu acide (NO_3H).



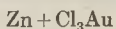
Zinc + chlorure de mercure (II) ou nitrate d'argent (N° 23) (G. Gutzeit sen.)

Coloration brune (ou jaune, évoluant vers le noir, dans le cas de Hg⁺). Excellente réaction générale de l'arsenic.



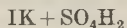
Zinc + chlorure d'or (III) (N° 24) (L. W. Winkler)

Coloration rouge à bleu. Très bonne réaction générale de l'arsenic.



Iodure de potassium + acide sulfurique (N° 11) (G. Bressanin)

Précipité jaune en milieu acide concentré (SO₄H₂). L'arsenic(V) réagit moins bien que l'arsenic(III).



3° Il est évident que, pour les réactions exécutées sous le microscope, les deux cations As⁺⁺⁺ et As⁺⁺⁺⁺ ou les deux anions AsO₃^{'''}, AsO₄^{'''}, réagissent différemment en ce sens que les formes cristallines ne sont pas les mêmes. Il y a donc possibilité de discrimination qui cependant est assez limitée dans le cas où l'un des ions est en quantité très supérieure à l'autre. Dans ce cas la technique est tout à fait strictement définie; on ne peut en aucune façon se passer de la loupe ou du microscope.

Relevons quelques réactifs dignes d'intérêt:

Hydroxy-8-quinoléinesulfate de potassium (quinosol). (N° 3)¹⁾.



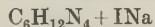
L'arsenic(III) et l'arsenic(V) réagissent de façon aussi nette l'un que l'autre. On obtient, en milieu neutre, des cristaux en aiguilles très fines, incolores et groupées en buissons. Il n'est pas possible de distinguer les deux cations l'un de l'autre.

Chlorure de césium (N° 9)²⁾³⁾.



L'arsenic trivalent fournit une cristallisation très fine, dans laquelle on reconnaît de petits hexagones incolores (milieu neutre). L'arsenic pentavalent ne donne que des cristaux très petits et peu abondants, qu'on ne peut que difficilement distinguer du réactif cristallisé par évaporation.

Hexaméthylènetétramine (urotropine) + iodure de sodium. (N° 19)⁴⁾.



Dans le cas de l'arsenic pentavalent, on obtient des cristaux assez gros et bien développés, prismatiques, incolores. L'arsenic trivalent ne permet pas d'obtenir facilement des cristaux. Il faut évaporer partiellement le liquide, ce qui provoque une cristallisation des réactifs et de la combinaison de l'arsenic simultanément; la recherche de l'arsenic (III) n'est donc pas possible.

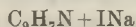
¹⁾ N. Schoorl, Pharm. Weekb. 56, 325 (1919); C. 1919, II, 891; Abstr. 1919, 3115.

²⁾ H. L. Wheeler, Am. J. Sci. [3] 46, 88 (1893); C. 1893, II, 560.

³⁾ E. H. Ducloux, Mikroch. 2, 108 (1924).

⁴⁾ A. Martini et B. Berisso, Mikroch. 19, 181 (1936).

Quinoléine + iodure de sodium (N° 20)¹.



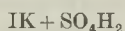
Cette réaction permet d'obtenir une cristallisation rapide et abondante avec l'arsenic à ses deux états d'oxydation. Il se forme une quantité d'aiguilles très fines, groupées en buisson. Il n'y a aucune possibilité de distinction entre l'arsenic tri- et pentavalent.

Acide nitrique (N° 1)².



L'arsenic trivalent fournit des cristaux octaédriques incolores, assez petits, alors que l'arsenic pentavalent donne des cristaux cubiques assez rares. Les deux réactions ne sont pas à recommander.

Iodure de potassium + acide sulfurique (N° 11)³⁴.

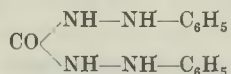


Cette réaction peut se faire aussi en éprouvette (voir plus haut); sous le microscope, l'arsenic(III) donne des hexagones jaunes bien formés. Avec l'arsenic pentavalent les hexagones se forment aussi, mais ils sont plus petits.

4° Il reste quelques réactifs permettant de discriminer chacun des deux stades oxydés de l'arsenic.

Nous pouvons donc citer:

$[As^{+3}]$ *sym-Diphénylcarbazine (N° 18)⁵.*



L'arsenic trivalent précipite seul en blanc jaunâtre, le milieu étant peu acide. L'arsenic pentavalent ne réagit pas du tout.

Ce réactif ne présente que peu d'intérêt, étant trop général; la plupart des ions du groupe de l'acide sulfhydrique précipitent.

$[As^{+3}]$ *Hydroxy-8-quinoléine (oxine) + chlorure de fer(III) (N° 33)⁶.*



La réaction effectuée sur un papier filtre (à chaud) en milieu nettement chlorhydrique, conduit à une coloration bleu vert assez fugace, due à l'arsenic trivalent seul. La recherche est délicate et la sensibilité peu élevée.

¹) A. Martini et B. Berisso, Mikroch. 19, 181 (1936).

²) Behrens-Kley, Mikrochemische Analyse, L. Voss, Leipzig 1921, p. 134.

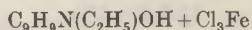
³) G. Bressanin, G. 42, I, 451 et 494 (1912); C. 1912, 2220 et 2218.

⁴) A. Mazuir, Ann. chim. anal. appl. [2] 2, 9 (1920).

⁵) W. Parri, Giorn. Farm. Chim. 73, 207 (1924); C. 1924, II, 2683; Abstr. 1925, 223.

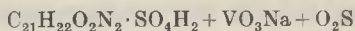
⁶) G. Gulzeit, Helv. 12, 829 (1929).

$\boxed{\text{As}^{+3}}$ *N-Ethylhydroxy-8-tétrahydroquinoléine* (kairine) (N° 34)¹⁾²).



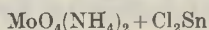
Comme dans le cas précédent, la recherche se fait sur papier filtre à chaud. La tache qui apparaît en milieu nettement chlorhydrique, est de couleur brun jaune. La réaction est très sensible (0,001 γ); mais le réactif ne se trouve pas dans le commerce.

$\boxed{\text{As}^{+5}}$ *Sulfate de strychnine + métavanadate de sodium + anhydride sulfureux* (N° 32)³⁾⁴).



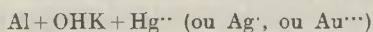
La réaction porte sur les métavanadates alcalins réduits par l'anhydride sulfureux. L'anion arsénique seul réagit en provoquant en milieu neutre, le virage de la solution bleue de vanadium(IV) au rouge. La réaction est délicate; elle permet cependant la recherche de l'anion arsénique en présence de l'anion phosphorique.

$\boxed{\text{As}^{+5}}$ *Molybdate d'ammonium + chlorure d'étain(II)* (N° 26)⁵⁻⁷⁾.



L'arsenic pentavalent seul, par la formation d'acide arsénomolybdique, est encore réductible, en milieu nettement acide, en un composé bleu. La réaction est excellente et ne permet aucun doute quant à la valence de l'arsenic. Elle est cependant très délicate, le chlorure d'étain(II) seul pouvant réduire le molybdène dans des milieux de moindre acidité. On a aussi utilisé l'hydroquinone comme réducteur⁸⁾.

$\boxed{\text{As}^{+3}}$ *Aluminium + hydroxyde de potassium + chlorure de mercure(II)* (N° 25)⁹⁾¹⁰).



Réaction As, B dans le Deuxième Rapport de la Commission des Réactifs.

L'arsenic trivalent seul est réduit en milieu alcalin par l'aluminium. L'anion As''' ainsi formé est identifié d'une façon ordinaire

1) *G. Gutzeit*, *Helv.* **12**, 829 (1929).

2) *W. Rappmann*, *Z. anal. Ch.* **99**, 180 (1934).

3) *L. Rossi*, *Quim. Ind.* **3**, 173 (1926); *C.* **1926**, II, 2464; *Abstr.* **1926**, 3661.

4) *G. Gutzeit*, *Helv.* **12**, 713 (1929).

5) *F. Feigl* et *F. Neuber*, *Z. anal. Ch.* **62**, 369 (1923).

6) *F. Feigl*, *Mikroch.* **1**, 4 (1923).

7) *G. Denigès*, *C. r.* **171**, 802 (1920).

8) *H. Wachsmuth*, *J. Pharm. Belg.* **29**, 575 et 631 (1937); *C.* **1937**, II, 3626.

9) *C. J. van Nieuwenburg* and *G. Dulfer*. *A short Manual of systematic qualitative Analysis by means of modern drop reactions*. 2e éd. D. B. Centens Uitgavers Maatschappij Amsterdam 1935.

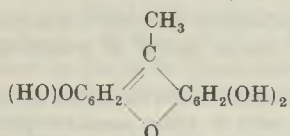
10) *Dauvé*, *Ann. chim. anal. appl.* [3] **10**, 320 (1928).

par la coloration d'une tache produite sur un papier filtre imbibé d'un sel de mercure(II), d'argent ou d'or.

Cette réaction est excellente, précise, sensible et d'une exécution simple et rapide.

5° Nous complétons cette série par deux réactifs indiqués plus récemment dans la littérature :

Méthyl-9-trihydroxy-2,3,7-fluorone-6¹).



L'arsenic trivalent seul est précipité en milieu légèrement chlorhydrique sous la forme d'un précipité rouge foncé fin. L'antimoine(III) réagit de la même façon. Ce réactif présente un intérêt avant tout pour l'antimoine; nous ne pouvons le conseiller pour l'arsenic.

Molybdate de fer(II)².



Réaction As, C dans le Deuxième Rapport de la Commission des Réactifs.

Il faut rapprocher cette réaction de celle vue précédemment: molybdate d'ammonium + chlorure d'étain(II). Le réducteur n'est plus le cation Sn^{2+} mais le cation Fe^{2+} . De ce fait, la réaction est moins délicate, le fer bivalent ne réduisant que lentement, lorsqu'il est seul, le molybdène en bleu de molybdène. Ainsi le molybdate de fer(II) est un excellent réactif sensible de l'arsenic, qu'il faut évidemment préparer soi-même, sans difficulté d'ailleurs.

En conclusion, les réactifs qui permettent une discrimination aisée et sûre des deux stades d'oxydation sont peu nombreux. Nous ne pouvons citer que l'aluminium (As^{+3}) et le molybdate de fer(II) (As^{+5}) qui présentent une sensibilité assez grande et une spécificité étendue.

Il était donc intéressant de s'attacher à découvrir d'autres possibilités analytiques.

Remarquons enfin que, bien qu'il existe des réactifs permettant l'identification de chaque stade de valence positive de l'arsenic, le problème de la discrimination des stades As^{+3} et As^{+5} , spécialement l'un en présence de l'autre, n'a jamais été nettement posé.

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

¹) P. Wenger, R. Duckert et Cl.-P. Blancpain, Helv. 20, 1438 (1937).

²) J. H. van der Meulen, R. 58, 841 (1939); C. 1939, II, 4287; Abstr. 1939, 8142².

169. Nouvelle méthode d'analyse générale des cations reposant sur l'emploi de l'éthylxanthate de potassium¹⁾

(1ère partie)

par P. Wenger, R. Duckert et E. Ankadji.

(12 IX 45)

Les méthodes classiques d'analyse qualitative minérale ont toutes ce point commun d'utiliser l'hydrogène sulfuré comme réactif de précipitation des cations des éléments dits lourds.

L'hydrogène sulfuré est certainement un réactif de bonne qualité chimique, mais il possède un regrettable défaut : celui de n'être maniable qu'avec désagrément et de ne pas permettre un contrôle rigoureux des quantités utilisées.

C'est pourquoi, depuis bien des années déjà, les chimistes cherchent à le remplacer. On a eu recours, généralement, à des méthodes dont le principe fondamental est essentiellement différent de celui de la méthode classique. Mais, plus récemment, certains auteurs ont fait appel à des substances qui se comportent comme l'hydrogène sulfuré, mais qui ne présentent pas l'inconvénient d'être gazeuses.

Le but de ce travail est de rechercher une méthode d'analyse qualitative qui permette d'éviter l'emploi de l'hydrogène sulfuré. Nous nous sommes proposés également d'avoir recours d'une façon étendue aux nouveaux réactifs de l'analyse microchimique qui offrent des possibilités non encore étudiées.

Nous n'avons pas cherché à maintenir une répartition des différents cations en groupes identiques à ceux qui ont été formés jusqu'ici ; nous avons préféré nous laisser guider par les possibilités mêmes du réactif, tout en retenant certaines des caractéristiques de l'analyse classique.

Dans le cas présent, sans avoir pu chercher les moindres détails d'une méthode complète d'analyse de tous les cations rares et usuels, nous avons tenu à donner un schéma qui est applicable à l'analyse tout à fait générale.

Bibliographie²⁾.

Dans la littérature, on rencontre un grand nombre de méthodes d'analyse des cations usuels. Il est possible dans ce cas, de trouver quantité de solutions plus ou moins intéressantes, mais dès que l'on s'attaque au problème des éléments rares, il y a beaucoup de méthodes de l'analyse simple qui ne sont plus applicables. Nous ne ferons donc que citer ici, très rapidement, les méthodes générales d'analyse des cations et celles où l'hydrogène sulfuré est remplacé par un corps analogue.

A. Purgotti³⁾ utilise le pentasulfure de phosphore solide, introduit directement dans la solution peu acide. Il obtient ainsi un dégagement régulier d'hydrogène sulfuré qui lui permet de faire une analyse de type classique, car en rendant la solution alcaline par l'ammoniaque, après filtration du précipité, il se forme du sulfure d'ammonium comme par la méthode ordinaire. E. Defrance parvient à un résultat peu différent en utilisant l'anion

¹⁾ Voir aussi thèse de doctorat présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Genève, par E. Ankadji. Thèse n° 1074, 1945.

²⁾ Pour les détails, consulter la thèse de E. Ankadji.

³⁾ A. Purgotti, G. 42, II, 58 (1912).

thiosulfurique en milieu légèrement acide; il ne procède cependant pas à une précipitation de sulfure en milieu alcalin¹⁾.

R. Schiff et *N. Tarugi*²⁾ et plus tard *E. Selvatici*⁴⁾⁵⁾ substituent à l'hydrogène sulfuré l'acide thio-acétique CH_3COSH . Ils réalisent ainsi, en milieu acide, une précipitation analogue à celle de l'hydrogène sulfuré; il se forme, en effet, les sulfures dont l'analyse peut être faite selon les procédés bien connus.

Notre étude ayant porté sur une analyse assez générale, il est intéressant de comparer nos recherches aux travaux déjà faits sur l'analyse complète des cations.

La méthode classique utilisant l'anion S'' en milieu acide et alcalin (méthode de *Fresenius*) se retrouve souvent. Elle représente le type le plus général; elle permet l'analyse sûre de tous les cations avec possibilité d'élimination des anions perturbants.

Une étude très approfondie en a été faite par *A. A. Noyes* et *W. C. Bray*⁶⁻¹⁰⁾. Elle se trouve exposée également dans les traités de Chimie analytique pratique tels que ceux de *P. Wenger* et *G. Gutzeit*¹¹⁾ et de *F. P. Treadwell*¹²⁾. La méthode de *Noyes* et *Bray* nous a servi de terme de comparaison.

Outre cette méthode, il a été proposé quelques autres que nous relevons ici:

*E. Pozzi-Escot*¹³⁾ forme les sous-groupes suivants: Anion chlorhydrique, anion sulfhydrique (en milieu acide), anion phosphorique (en milieu alcalin et oxydant) et enfin groupe des éléments non précipités.

W. Fischer et *W. Dietz*¹⁴⁾, de même que *W. Lohrer*¹⁵⁾ ont donné une étude détaillée de la recherche des éléments du groupe du sulfure d'ammonium applicable aux cations rares et usuels.

Choix du réactif.

Nous avons à disposition une collection de réactifs immense, généralement peu étudiés (voir le 1er Rapport de la Commission Internationale des Réactifs¹⁶⁾).

Notre choix s'est arrêté sur l'éthylxanthate de potassium. Ce corps n'est pas, à vrai dire, un réactif nouveau. L'analyse à la touche l'a introduit comme réactif du molybdène(VI) par exemple. Puis récemment, des xanthates variés ont été proposés comme collecteurs de flottage des minerais sulfurés, ceux du molybdène en particulier.

Les études microchimiques soit qualitatives, soit quantitatives, entreprises au Laboratoire de Microchimie de l'Université de Genève, ont d'ailleurs montré que ce réactif était d'un réel intérêt¹⁷⁾¹⁸⁾.

D'autre part, l'acide xanthique présente certaines analogies avec l'hydrogène sulfuré par le groupe — SH ionisable que contient sa molécule.

¹⁾ *E. DeFrance*, *J. Pharm. Belg.* **13**, 771 (1931); *C.* **1931**, II, 3123.

²⁾ *R. Schiff* et *N. Tarugi*, *B.* **27**, 3437 (1894).

³⁾ *R. Schiff* et *N. Tarugi*, *G.* **24**, II, 551 (1894).

⁴⁾ *E. Selvatici*, *Boll. Chim. Pharm.* **47**, 73 (1908); *C.* **1908**, I, 1491.

⁵⁾ *E. Selvatici*, *Ass. Chim. Sucreries* **27**, 361 (1909); *C.* **1910**, I, 1290.

⁶⁾ *A. A. Noyes*, *Chem. N.* **93**, 134, 146, 156 et 171 (1906); *C.* **1906**, II, 71.

⁷⁾ *A. A. Noyes* et *W. C. Bray*, *Am. Soc.* **29**, 137 (1907).

⁸⁾ *A. A. Noyes*, *W. C. Bray* et *E. B. Spear*, *Am. Soc.* **30**, 481 (1908).

⁹⁾ *W. C. Bray*, *Am. Soc.* **31**, 611 (1909).

¹⁰⁾ *A. A. Noyes* et *W. C. Bray*, *Chem. Reviews* **1**, 277 (1924).

¹¹⁾ *P. Wenger* et *G. Gutzeit*, *Manuel de Chimie analytique qualitative minérale*.

¹²⁾ *F. P. Treadwell*, *Kurzes Lehrbuch der analytischen Chemie*.

¹³⁾ *E. Pozzi-Escot*, *Bl. Soc. chim. Belg.* **22**, 327 (1908); *C.* **1908**, II, 1125.

¹⁴⁾ *W. Fischer* et *W. Dietz*, *Angew. Chem.* **49**, 720 (1936).

¹⁵⁾ *W. Lohrer*, *Z. anal. Ch.* **124**, 1 (1942).

¹⁶⁾ Premier Rapport de la Commission internationale des Réactions et Réactifs analytiques nouveaux. *Akad. Verlagsgesellschaft*, Leipzig 1938.

¹⁷⁾ *P. Wenger*, *Z. Besso* et *R. Duckert*, *Mikroch.* **31**, 145 (1943).

¹⁸⁾ *P. Wenger*, *Z. Besso* et *R. Duckert*, *Helv.* **27**, 291 (1944).

L'éthylxanthate de potassium, réactif de l'analyse des cations.

Ce fut premièrement *R. Grassini*¹⁾ en 1900 qui proposa l'identification des cations des deux groupes de l'hydrogène sulfuré et du sulfure d'ammonium au moyen de l'amyloxanthate de sodium. Puis *E. Rupp* et *L. Krauss*²⁾, de même que *B. Oddo*³⁾ proposèrent un dosage du cuivre par l'éthylxanthate de potassium; les deux premiers par précipitation et dosage iodométrique, le dernier par simple précipitation.

Quelques années plus tard, *N. Tarugi* et *F. Sorbini*⁴⁾ donnaient un dosage de l'arsenic au moyen de l'éthylxanthate de potassium, qui, traité par l'aniline, fournit du trisulfure d'arsenic et de la diphénylthiourée. *L. Compin*⁵⁾ proposa encore une séparation du nickel et du cobalt par dissolution dans l'ammoniaque du xanthate de nickel seul soluble. Une série d'études fut commencée par *S. L. Malowan*⁶⁾), soit sur l'identification qualitative du molybdène, soit sur le dosage de cet élément; d'autres chercheurs continuèrent les études dans cette même direction⁸⁾9). Le travail de *J. Koppel*¹⁰⁾ est particulièrement détaillé, les questions de spécificité y étant largement traitées.

Citons enfin qu'une méthode de recherche et de dosage du sulfure de carbone par formation d'éthylxanthate de cuivre ou de fer, a été proposée il y a déjà une quarantaine d'années.

D'un point de vue proche de celui de l'analyse, il faut signaler l'étude du pouvoir collecteur de divers xanthates de même que l'utilisation industrielle de certains d'entre eux pour le flottage des minerais sulfurés¹¹⁻¹³⁾.

Outre les recherches strictement analytiques ou relevant du domaine de la flottation, une série d'articles concernent l'étude des sels de l'acide éthylxanthogénique, étude déjà assez étendue¹⁴⁾.

Le Réactif.

Sans vouloir décrire un corps connu, nous nous permettons de donner quelques indications concernant des propriétés utiles du point de vue analytique.

L'éthylxanthate de potassium en feuillets brillants et soyeux de couleur paille très claire, est très facilement soluble dans l'eau et dans les dissolvants organiques oxygénés, soit en particulier dans les alcools méthylique, éthylique, dans l'acétone. Sa solubilité est déjà moindre dans l'éther, le benzène, pour devenir quasi nulle dans le tétrachlorure de carbone, le chloroforme et le sulfure de carbone¹⁵⁾.

Les solutions alcooliques sont assez stables; par contre, l'eau amène toujours une certaine décomposition surtout à chaud, et avec le temps. Les produits qui prennent naissance sont les suivants: sulfure de carbone, alcool éthylique, sulfure de diéthyle, di-sulfure de diéthyle, hydrogène sulfuré, anhydride carbonique, carbonate de potassium¹⁶⁾¹⁷⁾

1) *R. Grassini*, *L'Orosi* **22**, 369 (1899); *C.* **1900**, I, 922.

2) *E. Rupp* et *L. Krauss*, *B.* **35**, 4157 (1902).

3) *B. Oddo*, *G.* **33**, II, 134 (1903).

4) *N. Tarugi* et *F. Sorbini*, *Boll. Chim. Farm.* **51**, 361 (1912); *C.* **1912**, II, 1398.

5) *L. Compin*, *Bl. Sci. Pharmacol.* **27**, 129 (1920); *C.* **1920**, IV, 314.

6) *S. L. Malowan*, *Z. anorg. Ch.* **108**, 73 (1919).

7) *S. L. Malowan*, *Z. anal. Ch.* **79**, 201 (1929) et **80**, 202 (1930).

8) *Th. Grosset*, *Ann. Soc. Sci. Bruxelles* **53** B, 16 (1933); *C.* **1933**, II, 94.

9) *H. Leitmeier* et *F. Feigl*, *Mineral-petrogr. Mitt.* **47**, 313 (1936); *C.* **1936**, II, 1394.

10) *J. Koppel*, *Ch. Z.* **43**, 777 (1919).

11) *R. B. Martini*, *Eng. Min. J.* **1928**, 125, 779, 861 et 900.

12) *W. Petersen*, *La flottation*, *Dunod*, Paris 1938, p. 202—211.

13) *E. W. Mayer* et *H. Schranz*, *Flottation*, *S. Hirzel*, Leipzig 1931, p. 245—253.

14) Se reporter à la thèse de *E. Ankadji*.

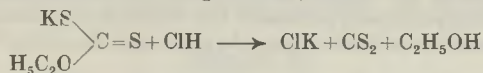
15) *J. P. Couerbe*, *Ann. chim.* [2] **61**, 225 (1836).

16) *A. Fleischer* et *W. Hanko*, *B.* **10**, 1297 (1877).

17) *W. Ch. Zeise*, *Ann. chim. physique* [3] **17**, 338 (1846).

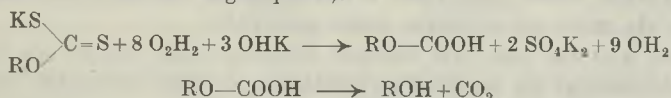
et même selon certains auteurs, les thiocarbonate et thiosulfate de potassium. L'oxygène de l'air n'est pas étranger à ces transformations.

Les solutions aqueuses et diluées des acides et des bases forts dissolvent le xanthate de potassium en grande quantité. Il n'y a pas plus d'altération à froid que dans l'eau. Les acides concentrés provoquent tout d'abord le déplacement de l'acide xanthogénique qui apparaît sous la forme de gouttelettes huileuses. Puis une décomposition plus profonde peut intervenir, donnant lieu, dans beaucoup de cas, à l'apparition de sulfure de carbone sous l'aspect de gouttelettes huileuses également¹⁾.



Les oxydants décomposent toujours le xanthate de potassium; les produits qui résultent de cette action sont variés, mais il se forme très aisément l'anion sulfurique. C'est en particulier le cas lorsqu'on utilise le permanganate de potassium, l'eau oxygénée ou l'acide nitrique concentré.

Le peroxy d'hydrogène produit tout d'abord un remplacement du soufre thionique par l'oxygène, puis une altération pouvant conduire, en milieu alcalin, à une décomposition totale de la molécule organique²⁻⁵⁾.



Les solutions aqueuses, acides ou alcalines s'altèrent peu à peu au contact de l'oxygène de l'air; il y a oxydation progressive qui amène la formation d'un léger trouble qui d'ailleurs peut se redissoudre dans certains cas. Les réducteurs n'exercent que très peu d'action sur les xanthates.

Il est encore utile d'examiner les propriétés de l'acide xanthogénique parce qu'il prend naissance par déplacement au moyen des acides forts couramment utilisés dans l'analyse qualitative.

L'acide xanthogénique est un liquide huileux dont le point de fusion est situé à $-53^{\circ}6$).

La constante de dissociation à 0° a la valeur de 0,030 (*H. von Halban* et *W. Hecht*⁶⁾). *A. Hantzsch* et *W. Bucerius*⁸⁾ indiquent la valeur $2,8 \times 10^{-2}$, ce qui place donc l'acide xanthogénique parmi les acides forts.

La solubilité dans l'eau est cependant faible; elle atteint 0,02 mol/l à 0° , ce qui représente 2,44 gr./l⁹⁾.

Le caractère chimique essentiel de l'acide xanthogénique est sa décomposition très rapide, par l'alcool, en sulfure de carbone et alcool éthylique (ce qui ne se produit pas pour les sels des cations alcalins)¹⁰⁾¹¹⁾.



Il est intéressant de noter les différences essentielles qui existent entre les xanthates alcalins et alcalino-terreux d'une part et des xanthates de tous les autres cations d'autre

¹⁾ *W. Hirschkind*, Eng. Mining J. Press **119**, 968 (1925).

²⁾ *R. Kitamura*, J. Pharm. Soc. Japan **54**, 1 (1934); C. **1934**, I, 3345.

³⁾ *R. Kitamura*, C. **1934**, I, 3891.

⁴⁾ *R. Kitamura*, J. Pharm. Soc. Japan **57**, 29 et 37; Abstr. **1934**, I, 3345.

⁵⁾ *J. Herrera*, An. Soc. Españ. fis. quim. **33**, 877 (1935); C. **1936**, II, 2129.

⁶⁾ *H. von Halban* et *A. Kirsch*, Z. physikal. Ch. **82**, 342 (1913); B. **45**, 2418 (1913).

⁷⁾ *H. von Halban* et *W. Hecht*, Z. El. Ch. **24**, 73 (1918).

⁸⁾ *A. Hantzsch* et *W. Bucerius*, B. **59**, 793 (1926).

⁹⁾ *H. von Halban* et *W. Hecht*, Z. El. Ch. **24**, 73 (1918).

¹⁰⁾ *H. von Halban* et *A. Kirsch*, Z. physikal. Ch. **82**, 342 (1913); B. **45**, 2418 (1913).

¹¹⁾ *A. Hantzsch* et *E. Scharf*, B. **46**, 3570 (1913).

part. Tandis que les premiers sont des électrolytes forts, présentant tous les caractères des sels minéraux équivalents, en particulier la solubilité et une faible hydrolyse, vu la force assez grande de l'acide xanthique, les seconds ne présentent en rien les caractères des électrolytes; ce sont dans la plupart des cas des complexes de structure compliquée, présentant des solubilités particulières et étendues dans les dissolvants organiques. A première vue, on peut déjà établir qu'il se fera aisément une séparation entre ces deux catégories du fait même de leurs propriétés chimiques et de leurs structures essentiellement différentes. Il est évident que certains cations n'entrent dans aucune des deux catégories et font transition. Nous pensons en particulier aux cations du béryllium, du zinc et de l'aluminium (et des éléments de la 3ème colonne du tableau de *Mendeleeff*¹⁾).

Description des réactions des cations.

Nous avons suivi comme ordre la classification périodique des éléments qui permet d'établir des analogies intéressantes. Nous avons généralement utilisé des solutions de chlorures, de nitrates ou de sulfates. Nous avons évité d'introduire des anions pouvant amener des perturbations, nous réservant d'indiquer au cours de ce travail une méthode de mise en solution assez générale.

Nous n'avons pas pris chaque élément sous toutes ses valences, mais uniquement au stade d'oxydation que l'on rencontre ordinairement dans l'analyse qualitative.

Nous avons étudié, pour les cations, les éléments suivants:

Ag, Hg, Pb, Cu, Ru, Rh, Pd, Os, Bi, Cd, As, Sb, Sn, Au, Ir, Pt, Se, Te, Ge, Mo, W, V, éléments des terres rares, Ce, Y, Sc, Th, Al, Fe, Cr, U, Nb, Ta, Ti, Zr, Be, Tl, Ga, In, Zn, Mn, Re, Co, Ni, Ba, Sr, Ca, Mg, Li, Na, K, Rb, Cs, NH₄⁺.

Groupes d'éléments dont les cations ne réagissent pas.

Groupe 1a: Li⁺, Na⁺, K⁺, Rb⁺, Cs⁺, NH₄⁺.

Groupe 2a: Be²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺.

Groupe 3a: Al³⁺, Sc³⁺, Y³⁺, terres rares Me³⁺, Ce³⁺.

Groupe 4a: Ti⁴⁺, Th⁴⁺, Zr⁴⁺, Hf⁴⁺, Th⁴⁺.

Groupe 7a: Mn²⁺, Re³⁺, ReO₄⁻.

Température: 10° à 100°.

Il n'y a en aucun cas précipitation (exception faite des hydroxydes à partir de leur p_H de précipitation). Il n'y a pas de coloration. Le cation Ce³⁺, en milieu acide, donne un précipité blanc. Quant au rhénium(III) ou (VII), il précipite en noir par chauffage prolongé.

Groupes d'éléments dont les cations réagissent.

Groupe 1b.

t = 15°	p _H < 7	p _H = 7	p _H > 7	p _H > 7 + NH ₄ ⁺
Cu ⁺	↓ jaune	↓ jaune	↓ jaune	↓ jaune
Cu ²⁺	↓ jaune	↓ jaune	↓ jaune brun	↓ jaune
Ag ⁺	↓ jaune pâle	↓ jaune brun	↓ jaune brun	↓ jaune brun à noir
Au ³⁺	↓ jaune brunâtre	↓ jaunâtre	— ²⁾	↓ brunâtre violacé

¹⁾ L. Malatesta, *Chimica e Industria* **23**, 319 (1941); C. **1942**, II, 1437.

²⁾ Un — signifie: pas de réaction avec le réactif mais seule réaction de l'ion dans le milieu considéré.

Il n'y a pas de redissolution dans un excès de réactif. Les précipités sont fortement colorés et volumineux. La redissolution à chaud ne se produit que dans le cas de l'or. Par contre, il peut y avoir évolution vers d'autres teintes (autres produits) ou réduction plus ou moins profonde (Ag, Au). Cette évolution ne fera que reproduire, plus rapidement, ce qui peut être observé à froid déjà. L'or ne précipite guère en milieu alcalin qu'en présence de cations NH_4^+ .

Groupe 2b.

$t = 15^\circ$	$\text{pH} < 7$	$\text{pH} = 7$	$\text{pH} > 7$	$\text{pH} > 7 + \text{NH}_4^+$
Zn $^{++}$	—	↓ blanc	—	—
Cd $^{++}$	—	↓ blanc	—	—
Hg $_2^{++}$	↓ noir brunâtre	↓ noir brunâtre	—	—
Hg $^{++}$	↓ blanc	↓ blanc	↓ jaunâtre	↓ blanc jaunâtre

Les deux xanthates de zinc et de cadmium sont solubles à chaud et reprécipitent à froid. Cette solubilisation n'existe plus pour le cation Hg $^{++}$ en milieu neutre ou acide; en milieu basique, il y a solubilisation. Quant au mercure(I), il donne un composé noirâtre se rapprochant, par l'aspect, de ce que l'on obtient avec le cation seul en milieu alcalin.

Groupe 3b.

$t = 15^\circ$	$\text{pH} < 7$	$\text{pH} = 7$	$\text{pH} > 7$	$\text{pH} > 7 + \text{NH}_4^+$
Ga $^{+++}$	—	—	—	—
In $^{+++}$	↓ blanc	↓ blanc	—	—
Tl $^+$	↓ jaune clair	↓ jaune clair	↓ jaune clair	↓ jaune clair
Tl $^{+++}$	↓ jaune	↓ jaune	—	↓ jaune

Le précipité de l'indium est soluble à chaud.

Le précipité du cation Tl $^+$, en milieu acide, n'est modifié que d'aspect par chauffage (il devient caillebotté). Par contre, en milieu alcalin, il y a transformation en un précipité noir fin; dans le cas de l'ammoniaque, on n'obtient qu'une teinte grise sur le précipité.

Le cation Tl $^{+++}$ réagit de façon très intense. Le précipité jaune en milieu acide ou neutre devient brun rouge puis gris brunâtre foncé à chaud et se dissout totalement. Il y a dissolution dans les solutions d'hydroxydes alcalins. La précipitation en présence de cations NH_4^+ est analogue à celle en milieu acide. L'ébullition fait disparaître l'abondant précipité qui se réduit à des parcelles jaune clair, ayant l'aspect du soufre, mais solubles dans l'acide chlorhydrique.

Groupe 4b.

t = 15°	p _H < 7	p _H = 7	p _H > 7	p _H > 7 + NH ₄
Ge ⁺⁺⁺	—	—	—	—
Sn ^{··}	↓ jaune	↓ jaune	—	—
Sn ^{····}	↓ jaune	↓ jaune	—	—
Pb ^{··}	↓ blanc jaunâtre	↓ blanc jaunâtre	(↓ noir)	(↓ noir)
Pb ^{····}	↓ blanc jaunâtre	↓ blanc jaunâtre	(↓ noir)	(↓ noir)

Dans le cas des cations de l'étain, le précipité se dissout dans les hydroxydes alcalins et l'ammoniaque concentrée. Dans ce dernier cas, il apparaît cependant un précipité d'hydroxyde d'étain(II) ou (IV). La solution alcaline du xanthate restituée par acidification, non pas le xanthate, mais le sulfure d'étain.

Pour le plomb, la redissolution se produit également, avec cette différence que, à chaud, il apparaît au bout d'un certain temps un fort précipité noir de sulfure de plomb(II).

Groupe 5a.

t = 15°	p _H < 7	p _H = 7	p _H > 7	p _H > 7 + NH ₄
V ^{··}	—	—	—	—
V ^{····}	↓ brun gris	↓ brun gris	—	—
V ^{·····}	↓ brun	↓ jaune	—	↓ jaune à verdâtre
Nb ⁺⁵	—	—	—	—
Ta ⁺⁵	—	—	—	—

A chaud, en milieu ammoniacal, le xanthate de vanadium(V) évolue de façon variable suivant les proportions de réactif. Il y a dissolution partielle et apparition d'une teinte bleu verdâtre peu caractéristique.

Groupe 5b.

t = 15°	p _H < 7	p _H = 7	p _H > 7	p _H > 7 + NH ₄
As ^{··}	↓ blanc	↓ blanc	—	—
As ^{····}	↓ blanc	↓ blanc	—	—
Sb ^{··}	↓ jaune pâle	↓ jaune pâle	—	—
Sb ^{····}	↓ jaune pâle	↓ jaune pâle	—	—
Bi ^{··}	↓ jaune vif	↓ jaune vif	—	—

La redissolution des précipités dans les hydroxydes alcalins est aisée, même à froid; les acides reprécipitent les sulfures. Il faut noter qu'à chaud le xanthate de bismuth se dissout dans les hydroxydes alcalins, tout d'abord, puis donne progressivement un précipité brun

noirâtre de sulfure de bismuth. L'ammoniaque ne provoque pas cette réaction; la redissolution n'est que partielle dans le cas du bismuth.

Groupe 6a.

t = 15°	p _H < 7	p _H = 7	p _H > 7	p _H > 7 + NH ₃
Cr ⁺⁺⁺	—	—	—	—
Cr ⁺⁶	↓ brun vert	—	—	—
Mo ⁺⁶	↓ violet rouge	↓ violet rouge	—	—
Mo ⁺⁶	↓ violet rouge	↓ violet rouge	—	—
W ⁺⁶	—	—	—	—
O ₂ U ^{··}	—	↓ rouge orange	—	—

A chaud, le précipité brun vert de l'anion CrO₄^{''} coagule; avec les hydroxydes alcalins, il évolue vers le jaune vert très net. Les précipités du molybdène se dissolvent à chaud dans les hydroxydes alcalins; les acides précipitent de cette solution le sulfure S₂Mo. Le xanthate d'uranium se transforme, à chaud, en un autre, de couleur jaune clair.

Groupe 6b.

t = 15°	p _H < 7	p _H = 7	p _H > 7	p _H > + NH ₃
Se ⁺⁴	↓ blanc jaunâtre	↓ blanc jaunâtre	↓ rouge	↓ jaune rougeâtre
Se ⁺⁶	—	—	—	—
Te ⁺⁴	↓ orange rouge	↓ orange rouge	—	—
Te ⁺⁶	—	—	—	—

Pour le sélénium(IV), en milieu alcalin, il y a réduction à l'état élémentaire. Dans le cas du tellure, la précipitation ne se produit que si l'on a tout d'abord formé le précipité orange rouge avec le xanthate. L'ammoniaque réagit de la même façon. Mais ces précipités, tant du sélénium que du tellure, se dissolvent à chaud.

Groupe 8a.

t = 15°	p _H < 7	p _H = 7	p _H > 7	p _H > 7 + NH ₃
Fe ^{··}	↓ brunâtre	↓ brunâtre	—	—
Fe ^{···}	↓ brun sâle	↓ brun sâle	—	—
Co ^{··}	↓ noir verdâtre	↓ noir verdâtre	↓ noirâtre	↓ noirâtre
Ni ^{··}	↓ brun jaune	↓ brun jaune	—	—

Le sel du fer(II) fonce assez rapidement. Pour les deux cations du fer, il y a solubilisation à chaud, et d'autant mieux que le milieu est plus acide.

Le précipité du cobalt évolue très facilement en milieu alcalin avec dissolution partielle et passage à des précipités noirs floconneux dans des solutions verdâtres (ammoniaque) ou bleuâtres (hydroxydes alcalins); les faits varient beaucoup suivant les proportions des réactifs. Par chauffage, les précipités sont plus nets sans être plus abondants. Les solutions obtenues en milieu alcalin par traitement au xanthate précipitent progressivement en noirâtre (sulfure). Cette précipitation est accélérée à chaud. Le précipité du nickel est stable à chaud; il se dissout à froid dans les hydroxydes alcalins et l'ammoniaque. A chaud, les solutions alcalines précipitent progressivement en brun puis noirâtre par prolongation du chauffage (formation de sulfure).

Groupe 8b.

t = 15°	$P_H < 7$	$P_H = 7$	$P_H > 7$	$P_H > 7 + NH_4$
Ru ⁺⁺⁺	—	—	—	—
Ru ⁺⁶	—	—	—	—
Rh ⁺⁺⁺	100° ↓ jaune	100° ↓ jaune	100° ↓ jaune brun	100° ↓ jaune brun
Pd ⁺⁺	↓ jaune clair	↓ jaune clair	↓ jaune clair	↓ jaune clair
Os ⁺⁴ , Os ⁺⁶	↓ brunâtre	↓ brunâtre	↓ jaune sale	↓ jaune sale
Ir ⁺⁺⁺	trouble jaunâtre	trouble jaunâtre	trouble jaunâtre	trouble jaunâtre
Pt ⁺⁺⁺	↓ jaune brun	↓ jaune brun	↓ jaune	↓ jaune brun

Le précipité du rhodium devient foncé en milieu alcalin. Celui du platine est soluble dans les hydroxydes alcalins à chaud. Dans beaucoup de cas, il y a progressivement réduction à l'état métallique (Rh, Pd, Os).

Réactions des anions.

Un certain nombre d'anions ont déjà été étudiés avec les cations étant donné les équilibres amphotères; mais il était indispensable, pour permettre de donner une méthode précise d'analyse qualitative, d'examiner de près les possibilités de perturbation dues aux anions seuls.

Nous avons utilisé pour cette étude les sels de sodium ou de potassium des anions suivants:

BO₂' , CO₃'' , SiO₃'' , TiO₃'' , GeO₃'' , SnO₂'' , SnO₃'' , VO₄''' , NbO₃' , TaO₃' , NO₂' , NO₃' , PO₃H'' , PO₄''' , P₂O₇'''' , PO₃' , AsO₃H'' , AsO₄''' , SbO₄'' , CrO₄'' , MoO₄'' , WO₄'' , UO₄'' , S'' , SO₃'' , SO₄'' , S₂O₃'' , S₂O₈'' , Se'' , SeO₃'' , SeO₄'' , Te'' , TeO₃'' , TeO₄'' , MnO₄' , ReO₄' , F' , Cl' , ClO' , ClO₂' , ClO₃' , ClO₄' , Br' , BrO' , BrO₃' , I' , IO' , IO₃' , IO₄' , RuO₄'' , OsO₄'' , [IrCl₆]'' , [PtCl₆]'' .

Il n'y a en général aucune réaction. Nous relevons cependant les faits suivants:

V⁺⁵ précipité jaune en milieu acide, soluble à chaud et en milieu alcalin.

S₂O₈'' trouble blanc, décomposition partielle du réactif.

MnO₄' oxydation du xanthate; en milieu alcalin, précipitation de l'oxyde O₂Mn.

ClO' , IO' , IO₃' et IO₄' , troubles blancs ou jaunâtres qui disparaissent à chaud.

Destruction du réactif.

Cette opération est rendue nécessaire par le fait que certains cations restent en solution et qu'il faut les rechercher avec des réactifs appropriés. Il est prudent de détruire les xanthates alcalins pour éviter des réactions secondaires ou des précipitations fâcheuses du réactif utilisé pour la recherche des cations.

Dans la littérature, on relève les données les plus précises pour l'oxydation (peroxyde d'hydrogène par exemple). Il y a formation d'anion $\text{SO}_4^{''}$; il faudra donc tenir compte de sa présence, si l'on procède de cette façon.

C'est l'apparition éventuelle de cet anion sulfurique qui nous a poussé à précipiter tout au début de l'analyse les cations alcalino-terreux comme sulfates, leur recherche devenant la même que s'ils restaient en solution après la précipitation du xanthate. Il était souhaitable, en effet, de séparer le plus tôt possible des cations amenant des perturbations en présence de l'anion phosphorique.

L'eau régale (avec évaporation au bain-marie) forme également l'anion $\text{SO}_4^{''}$.

Transformation des xanthates en sulfures et thiosels.

Il est beaucoup plus avantageux d'avoir recours à un procédé tout autre où le soufre du xanthate ne soit pas oxydé.

Un traitement avec un hydroxyde alcalin permet d'y arriver d'une façon très simple et très rapide, de beaucoup préférable à une destruction par oxydation à l'eau régale ou au peroxyde d'hydrogène. Ce traitement alcalin produit immédiatement des sulfures ou, dans le cas des cations fortement hydrolysables, des hydroxydes. On se retrouve donc dans les conditions de l'analyse classique.

Dans le cas des xanthates précipités, on peut procéder à une destruction oxydante (eau régale, acide nitrique concentré, peroxyde d'hydrogène); mais il est également beaucoup plus avantageux (et rapide) de faire le même traitement que sur la solution avec un hydroxyde alcalin.

En chauffant modérément pendant une vingtaine de minutes, on sépare un précipité de sulfures insolubles et une solution de thiosels solubles, tout comme dans le cas de l'analyse classique.

Ainsi, la destruction du xanthate permet une subdivision en sous-groupes fort avantageuse.

Genève, Laboratoire de Chimie analytique
et de Microchimie de l'Université

170. Über die Diamin-oxydase der Smegmabazillen

von F. Roulet und E. A. Zeller.

(12. IX. 45.)

W. Franke und A. Schillinger beschrieben vor kurzem den Abbau von Histamin und Putrescin durch *Mycobacterium lacticola*¹⁾, womit der erste Hinweis auf die Existenz der Diamin-oxydase (DO) in säurefesten Bakterien gegeben war. Schon vorher wurde dieses Enzym in mehreren Bakterien wie *Pseudomonas pyocyanea*²⁾, *B. coli*³⁾, *B. proteus*³⁾ usw. nachgewiesen. Die DO ist in der Natur sehr weit verbreitet⁴⁾ und findet sich ausser in Bakterien in Organen von Säugern, Vögeln⁵⁾, Reptilien⁶⁾, Pilzen³⁾ und in den Wurzeln von höhern Pflanzen⁷⁾. Sie wurde 1938 in der Schweineniere entdeckt⁸⁾ und als identisch mit der Histaminase (*Best*)⁹⁾ erkannt¹⁰⁾. Ihre Eigenschaften, besonders der Spezifitätsbereich und verschiedene Hemmungsreaktionen, wurden in einer Reihe von Publikationen genauer erforscht¹¹⁾.

Wir stellten uns die Aufgabe, eine Bakterien-DO in ähnlich eingehender Weise wie die Säuger-DO zu prüfen und die Ergebnisse mit den früheren zu vergleichen. Es sollte damit die Frage beantwortet werden, ob die beiden Fermente — „Säuger“- und „Bakterien“-DO — sich je nach ihrer Herkunft gleich oder verschieden verhalten.

Als geeignetes Material für unsere Untersuchungen erwies sich das *Mycobact. smegmatis*, das eine beträchtliche DO-Aktivität aufweist, auf synthetischen Nährboden leicht zu züchten ist und in reichlicher Menge zur Verfügung stand.

¹⁾ W. Franke und A. Schillinger, *Bioch. Z.* **316**, 313 (1944).

²⁾ E. F. Gale, *Biochem. J.* **36**, 64 (1942).

³⁾ E. Werle, *Bioch. Z.* **309**, 61 (1941).

⁴⁾ Zusammenfassungen: a) E. A. Zeller: Diamin-oxydase. *Advanc. in Enzymol.* (New York) **2**, 93 (1942). b) E. Werle: Histaminase = Diamin-oxydase, *Fermentf.* **17**, 128 (1943).

⁵⁾ E. A. Zeller, H. Birkhäuser, H. Mislín und M. Wenk, *Helv.* **22**, 1381 (1939).

⁶⁾ Unveröffentlichte Versuche von E. A. Zeller und A. Maritz über die DO der Ringelnatterleber und -niere.

⁷⁾ B. T. Cromwell, *Biochem. J.* **37**, 722 (1943).

⁸⁾ E. A. Zeller, *Naturwiss.* **26**, 282 (1938).

⁹⁾ C. H. Best, *J. Physiol.* **67**, 256 (1929).

¹⁰⁾ E. A. Zeller, *Helv.* **21**, 880 (1938).

¹¹⁾ 10. Mitteilung über den enzymatischen Abbau von Polyaminen: E. A. Zeller, *Helv.* **24**, 539 (1941).

Methodik.

Die Smegmabazillen wurden auf *Sauton*-Lösung gezüchtet, auf der sie in Form von trockenen Schichten rasch gediehen. Diese wurden abgehoben, zwischen Filtrierpapier getrocknet und gewogen. Je 40 mg dieses Materials wurden in 1 cm³ m/15-Phosphatpuffer, p_H 7,2, suspendiert. Substrate und Inhibitoren wurden im gleichen Puffer gelöst und der Ansatz auf 2 cm³ ergänzt. Alle Konzentrationsangaben beziehen sich auf dieses Volumen. Sauerstoffverbrauch und Kohlendioxydbildung wurden in mit Sauerstoff durchströmten *Warburg*-Manometern, die Ammoniakproduktion in den *Conway*-units gemessen.

In den eben beschriebenen Versuchsansätzen trat auch ohne Zugabe eines Substrats ein Sauerstoffverbrauch auf, der je nach dem Alter der Kultur, der die Bakterien entnommen wurden, verschieden gross war und pro Stunde 5—100 mm³ betrug. Wurde ein geeignetes Substrat wie Putrescin- und Cadaverin-dihydrochlorid, Agmatinsulfat, Sperminphosphat, Histamin-dihydrochlorid¹⁾ zugesetzt, so nahm der Sauerstoffverzehr gegenüber den jedesmal mitgeführten Kontrollansätzen beträchtlich zu. — Weitere methodische Einzelheiten finden sich in den folgenden Abschnitten.

Ergebnisse.

1. Abhängigkeit der Diamin-oxydase vom Alter der Bakterienkultur.

Wenn wir von einer Smegmabazillen-Kultur vom 2. Tag an alle zwei Tage Proben entnehmen und diese auf ihre Fähigkeit prüfen, Diamine zu oxydieren, so stellen wir fest, dass diese ständig und für alle Substrate in ungefähr derselben Weise abnimmt (Figur 1).

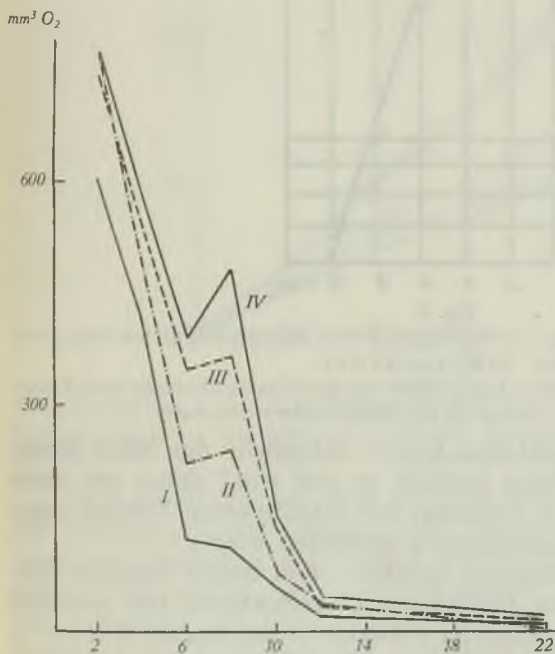


Fig. 1.
Abhängigkeit der DO-Aktivität vom Alter der Bakterienkultur.
Abszisse: Alter der Kultur.
Ordinate: Sauerstoffverbrauch nach 5 Stunden in Kubikmillimetern. Pro Ansatz werden 40 mg Bakterienbrei und 1 mg Substrat verwendet. Kurve I: Kontrollversuch, Kurve II: Cadaverin, Kurve III: Agmatin, Kurve IV: Putrescin.

¹⁾ Für die Überlassung der Substrate sind wir der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Cie. A.G.*, Basel, zu grossem Dank verpflichtet.

Der am 8. Tag erfolgende Unterbruch der Kurven ist weniger auf die eigentliche DO-Reaktion als auf die später zu behandelnden Sekundär-oxydationen zurückzuführen.

Aber nicht nur die Oxydation der Amine, sondern auch der durch die Bakterien allein bedingte Sauerstoffverbrauch folgt der gleichen Gesetzmässigkeit. Sie lässt sich hier in besonders einfacher Weise darstellen, wenn die Oxydationsgeschwindigkeit als Logarithmus in ein Koordinatensystem aufgetragen wird. Dann nimmt die Zeit-Aktivitäts-Kurve für die Zeit vom 2. bis 10. Tag verhältnismässig genau die Form einer Geraden an (Figur 2).

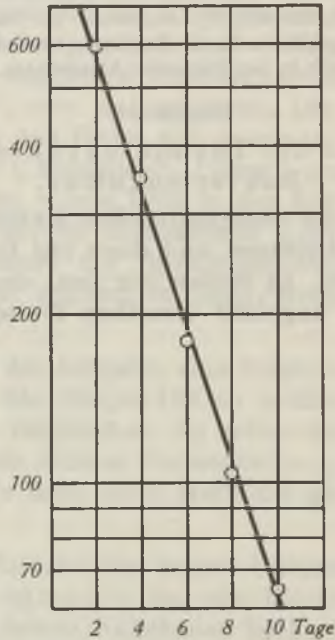


Fig. 2.

Abhängigkeit der Atmungsgeschwindigkeit von Smegmabazillen vom Alter der Bakterienkultur.

Abszisse: Alter der Kultur. Ordinate: Logarithmus des Sauerstoffverbrauchs nach 5 Stunden. Pro Ansatz werden 40 mg Bakterienbrei verwendet.

Die in Figur 1 dargestellte Kurve entspricht der einer monomolekularen Reaktion. Doch handelt es sich wohl sicher um einen wesentlich komplizierteren Vorgang, der zufällig einen Verlauf zeigt, wie er häufig in der Fermentkinetik gefunden wird¹⁾.

Bei den Bakterienproteasen wurden schon früher ähnliche Verhältnisse bekannt. Manche Peptidasen „verschwinden fast plötzlich oder allmählich entweder ganz oder teilweise wieder aus der Kultur“²⁾.

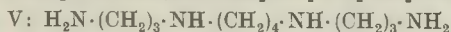
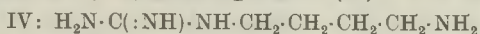
¹⁾ D. D. van Slyke: The Kinetics of Hydrolytic Enzymes and their Bearing on Methods for Measuring Enzyme Activity. *Advanc. in Enzymol.* (New York) **2**, 33 (1942).

²⁾ E. Maschmann: Bakterien-Proteasen, *Ergebn. Enzymf.* (Leipzig) **9**, 155 (1944).

Der Einblick in diese Verhältnisse gestattet es, die günstigste Zeitspanne für die DO-Versuche zu wählen. Wie aus der Figur 1 ohne weiteres hervorgeht, umfasst diese die Zeit vom 6. bis 8. Tag, während welcher die Leer- im Vergleich zu den Substratwerten verhältnismässig klein sind.

2. Spezifität der Diamin-oxydase der Smegmabazillen.

In Gegenwart der „Säuger“-DO wird u. a. die Oxydation der Di- und Polyamine Putrescin (Tetramethylen-diamin (I)), Cadaverin (Pentamethylen-diamin (II)), Histamin (β -[Imidazolyl-4-(5)]-äthylamin (III)), Agmatin (IV) und Spermin (V)



beschleunigt, also von Stoffen, die mindestens 2 basische Gruppen aufweisen¹). Von diesen werden I, II, IV und V auch in Gegenwart der Smegmabazillen von Sauerstoff leicht angegriffen (Figur 3).

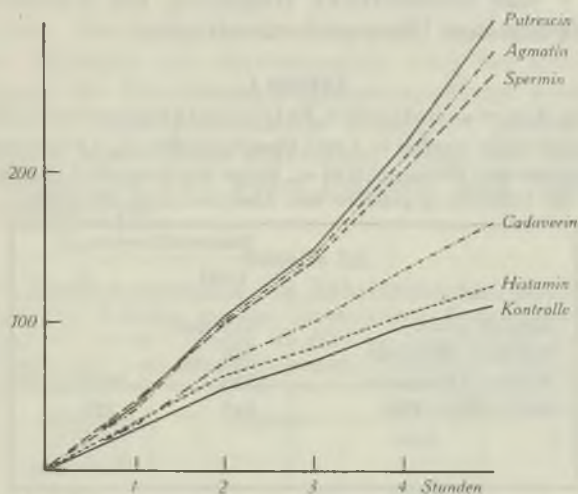


Fig. 3.

Enzymatischer Abbau von Diaminen und Spermin durch Smegmabazillen. Es werden je 40 mg Bakterienbrei verwendet. Substrate 0,005-m. Dauer des Versuchs 4 Stunden.

Hier stoßen wir auf einen ersten deutlichen Unterschied zwischen der „Smegma“- und „Säuger“-DO: Während bei der letztern Cadaverin und Histamin hinsichtlich der Oxydationsgeschwindigkeit an erster Stelle stehen, finden sie sich bei der „Smegma“-DO an letzter. Die Änderung der Cadaverinkonzentration zwischen 0,08—0,01-m. brachte keine Steigerung der Abbaugeschwindigkeit.

¹) E. A. Zeller, Helv. 21, 880 (1938); vgl. auch zusammenfassende Darstellungen über die Diamin-oxydase, l. c.

Einen weiteren Unterschied zwischen den beiden Fermenten brachte der Vergleich der Histaminoxydationen zutage. Während Histamin durch die „Säuger“-DO mit einer eher grösseren Geschwindigkeit wie Putrescin angegriffen wird, sofern nicht überoptimale Konzentrationen verwendet werden¹⁾, setzt in der Mehrzahl der Fälle der Zusatz von Histamin den Sauerstoffverbrauch der Bakteriensuspensionen nicht herauf, sondern herab, und zwar um so mehr, je grösser die Histaminkonzentration gewählt wurde (Tabelle II). Immerhin konnte mehrmals eine eindeutige Steigerung des Sauerstoffverzehrs registriert werden. So verschwanden beispielsweise nach Zusatz von $0,5 \times 10^{-5}$ Mol Histamin in 5 Stunden 42 mm^3 Sauerstoff und wurden 8γ Ammoniak-Stickstoff (11% des Amino-Stickstoffs) frei. Aber auch in den Versuchen, in denen Histamin scheinbar keine Veränderung erleidet, lässt sich im Konkurrenzversuch mit andern Substraten eine gut messbare Affinität desselben zur „Smegma“-DO nachweisen. Als Beispiel findet sich in der Tabelle I eine beträchtliche Hemmung des Putrescin-Abbaues durch eine äquimolare Histaminkonzentration.

Tabelle I.

Hemmung des enzymatischen Putrescinabbaues durch Histamin. Je 40 mg Smegmabazillen werden in 2 cm^3 Phosphatpuffer $p_H 7,2$ suspendiert. Konzentration des Putrescins und Histamins 0,01-m. Dauer des Versuchs 5 Stunden. Δ bedeutet die Differenz gegenüber den Ansätzen ohne Putrescin.

	Sauerstoffverbrauch	
	total	Δ
Bazillen allein	115 mm^3	—
Bazillen + Histamin . .	120 „	—
Bazillen + Putrescin . .	1120 „	1005 mm^3
Baz. + Hist. + Putr. . . .	845 „	725 „
		= 27% Hemmung

Ähnliche Verhältnisse fand *E. F. Gale*²⁾ bei der DO von *Ps. pyocyanea* vor, die wohl die Oxydation von I, II und IV, nicht aber die von Histamin katalysierte. Wenn dagegen die Bazillen auf Histamin-haltigen Nährböden gezüchtet wurden, dann trat auch der Histaminabbau deutlich zutage. Wir übertrugen diese Versuche auf die Smegmabazillen und liessen diese auf histaminhaltiger Sauton-Nährlösung wachsen. Parallel dazu wurden Kulturen ohne Histamin gewonnen. Die Fähigkeit zur Histaminoxydation ist für beide Kulturen verschieden stark ausgeprägt (Tabelle II).

¹⁾ *E. A. Zeller, B. Schar und S. Staehlin, Helv. 22, 837 (1939), Figuren 5 und 6.*
²⁾ *E. F. Gale, l. c.*

Tabelle II.

Einfluss des Histamingehalts der Nährlösung auf den Histamin-Abbau. Smegmabazillen werden auf gewöhnlicher und histaminhaltiger (0,002-m.) Sauton-Lösung 6 Tage lang gezüchtet. Pro Ansatz wurden 40 mg Bazillen verwendet. Dauer des Versuchs 5 Stunden. Δ bedeutet die Differenz gegenüber den Ansätzen ohne Histamin.

Histamin	Sauerstoffverbrauch			
	ohne Histamin kultiviert		mit Histamin kultiviert	
	total	Δ	total	Δ
—	198 mm ³	—	195 mm ³	—
0,005-m.	192 „	— 6 mm ³	256 „	61 mm ³
0,01-m.	191 „	— 7 „	250 „	55 „
0,02-m.	184 „	— 14 „	240 „	45 „
0,1-m.	184 „	— 14 „	197 „	2 „

Mit steigender Histaminkonzentration nimmt die Oxydationsgeschwindigkeit ab (Tabelle II, letzte Spalte). Wie bei der „Säuger“ DO liegt auch hier die Erscheinung eines Optimums der Histaminkonzentration vor¹⁾.

Im ersten Abschnitt wurde dargelegt, dass die Fähigkeit zum Abbau von Diaminen mit zunehmendem Alter der Kultur abnimmt. Wenn hingegen der Nährlösung Putrescin zugesetzt wird, dann ist die Putrescin- und Agmatinoxidation wesentlich grösser als die der ohne Putrescin kultivierten Bakterien. Wenn wir der Nährlösung Agmatin zufügen, so wird weder Putrescin noch Agmatin rascher oxydiert (Tabelle III).

Tabelle III.

Einfluss der Zusammensetzung der Nährlösung auf den Diamin-Abbau. Es wurden 3 parallele Kulturen angelegt, Sauton-Lösung I ohne Zusatz, Lösung II mit 1 mg Putrescin.2 HCl pro cm³, Lösung III mit 1 mg Agmatinsulfat pro cm³. Es werden je 40 mg Bakterien und 1 mg Substrat verwendet. Dauer des Versuchs 6 Stunden.

Nährlösung	Substrat	Sauerstoffverbrauch	
		total	Δ
I normal	—	5 mm ³	—
	Putr.	36 „	31 mm ³
	Agmat.	45 „	40 „
II mit Putr. . . .	—	36 „	—
	Putr.	160 „	124 „
	Agmat.	173 „	137 „
III mit Agmat. . .	—	32 „	—
	Putr.	52 „	20 „
	Agmat.	53 „	21 „

Wenn alle diese Ergebnisse zusammengefasst werden, so kann mit Sicherheit daraus geschlossen werden, dass auch die Smegma-

¹⁾ E. A. Zeller, B. Schär und S. Staehlin, l. c., Figur 6.

bazillen die Oxydation von Histamin zu beschleunigen vermögen; nur ist die Geschwindigkeit oft so klein, dass sie bei dem verhältnismässig grossen Sauerstoffverbrauch durch die Bakterien nicht immer nachweisbar ist (vgl. Diskussion der Ergebnisse). Durch Steigerung der DO-Aktivität durch Zusatz eines geeigneten Diamins zur Nährlösung wird auch der Histaminabbau deutlicher. Doch scheint es sich nicht um eine spezifische Reaktion für Histamin wie bei *Ps. pyocyanea*¹⁾ zu handeln, da bei diesem das zur Nährlösung hinzugefügte Histamin im wesentlichen nur eine Oxydationssteigerung für Histamin bewirkt. Wir können also bei den Smegmabazillen im Gegensatz zu den Pyocyaneusbakterien den Histaminabbau als adaptativen Enzymvorgang nicht von der Diamin-Oxydation im engeren Sinn als konstitutivem Prozess abtrennen²⁾.

Nachdem nun gezeigt worden ist, dass die Smegmabazillen die wichtigsten Substrate der DO zu oxydieren vermögen, muss die Frage entschieden werden, ob es sich beim Abbau aller erwähnten Amine um ein und dasselbe Ferment handelt. Hinweise für die Identität aller in Frage kommenden Enzyme liefern schon mehrere der bisher angeführten (vgl. z. B. Figur 1, Tabelle III) und in den nächsten Abschnitten (z. B. die Hemmungsreaktion) dargestellten Versuche. Am leichtesten lässt sich das Problem mit Hilfe der üblichen Konkurrenzversuche lösen, auch wenn darauf hingewiesen werden muss, dass diese auch positiv ausfallen können, wenn die zwei zu vergleichenden Fermente zwar verschieden sind, aber gemeinsame Komponenten aufweisen, wie z. B. Dehydrasen, die den Wasserstoff an die gleichen Pyridin- oder Flavinfermente zum Weitertransport abgeben.

Tabelle IV.

Konkurrenzierungsversuche mit verschiedenen Diaminen und Spermin. Es werden je 40 mg Bakterienbrei verwendet. Alle Substrate 0,01-m. Dauer der Versuche 5 Stunden. Δ bedeutet die Differenz gegenüber den Versuchen ohne Substrat, Σ die Werte, die durch Summation der Einzelwerte entstehen müssten.

Substrate	Sauerstoffverbrauch			NH ₃ -Bildung	
	total	Δ	Σ	NH ₃ -N	Σ
—	140 mm ³	—		0 γ	
Putrescin	1060 „	920 mm ³		38 „	
Cadaverin	310 „	170 „		6 „	
Spermin	550 „	410 „		10 „	
Putr. + Cad. . . .	765 „	625 „	1090 mm ³	26 „	44 γ
Putr. + Sper. . .	1240 „	1100 „	1330 „	34 „	48 „

¹⁾ E. F. Gale, l. c.

²⁾ H. Karström: Enzymatische Adaptation bei Mikroorganismen, *Ergebn. Enzymf.* 7, 350 (1938).

Alle Konkurrenzversuche führten nicht zu einer Summationswirkung, sondern zu einer Konkurrenzierung der verschiedenen Substrate um das Ferment. Ein Beispiel ist in der Tabelle IV angeführt.

Aus in Abschnitt 4 II näher erörterten Gründen wurden gleichartige Versuche auch in Gegenwart von Natriumazid durchgeführt, die wiederum zu den gleichen Ergebnissen führten (Tabelle V).

Tabelle V.

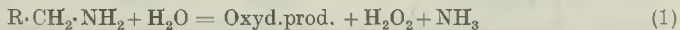
Konkurrenzversuche in Gegenwart von Natriumazid.
NaN₃ 0,01-m., die übrigen Angaben genau wie bei Versuch Tabelle 4.

Substrat	Sauerstoffverbrauch		
	total	Δ	Σ
ohne NaN ₃			
—	180 mm ³	—	
Putrescin	1160 „	980 mm ³	
Cadaverin	395 „	215 „	
Putr.+ Cad. . . .	975 „	795 „	1195 mm ³
mit NaN ₃			
—	355 mm ³	—	
Putrescin	555 „	200 mm ³	
Cadaverin	405 „	50 „	
Putr.+ Cad. . . .	485 „	130 „	250 mm ³

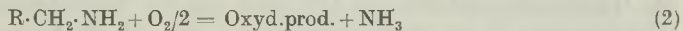
Alle Resultate lassen sich am einfachsten mit der Annahme erklären, dass die angeführten Substrate durch ein einziges Ferment oxydiert (und desaminiert) werden.

3. Verlauf der enzymatischen Diamin-oxydation.

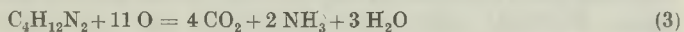
Die Oxydation der Diamine in Gegenwart der „Säuger“-DO verläuft nach folgender Gleichung



In Gegenwart von Katalase wird das Peroxyd zersetzt und an Stelle der Gleichung (1) tritt die Gleichung (2).



Wenn Diamine wie z. B. das Putrescin vollständig oxydiert werden, wie das bei *P. pyocyanea* der Fall ist¹⁾, dann gilt die Gleichung (3)



I. Desaminierung. Die Oxydation der Diamine ist in Gegenwart der „Säuger“- wie der „Smegma“-DO ausnahmslos mit einem Freiwerden von Ammoniak verknüpft. (Tabellen IV, VI, VIII.)

¹⁾ E. F. Gale, l. c.

Die Desaminierung erfolgt ungefähr parallel der Grösse des Sauerstoffverbrauchs. Wird dieser durch einen Inhibitor (vgl. Abschnitt 4) verkleinert, dann nimmt auch die Ammoniak-Bildung ab. Natriumazid, das nicht die eigentliche DO-Reaktion als vielmehr die weitere Oxydation des Produktes der DO-Reaktion hemmt, übt einen geringen Einfluss auf die Desaminierung aus.

Eine genauere Übereinstimmung zwischen Sauerstoffverzehr und Ammoniakbildung ist nicht möglich, weil nach der Desaminierung das Reaktionsprodukt mit einer für die verschiedenen Substrate abweichenden Geschwindigkeit weiter oxydiert wird.

Wenn die Reaktion mehrere Stunden lang in Gang gehalten wird, dann finden wir neben der Desaminierung, die der eigentlichen DO-Reaktion zugeschrieben werden muss, und die bei den Diaminen wie Putrescin und Cadaverin nur die Hälfte des Aminostickstoffes betrifft (Tabelle VI), noch eine weitere. Diese ist auf die oben erwähnten sekundären Oxydationen und beim Agmatin auf den Abbau der Guanidingruppe zurückzuführen.

Tabelle VI.

Geschwindigkeit von Oxydation und Desaminierung der Polyamine durch Smegmabazillen.

Pro Ansatz 40 mg Bakterienbrei. Substrate 0,005-m. Q_{O_2} resp. Q_{NH_3} geben den pro mg Bakterienmasse und 1 Stunde verbrauchten Sauerstoff in mm^3 resp. gebildetes Ammoniak in γ an.

Substrat	Q_{O_2}	Q_{NH_3}	Mol NH_3 pro Mol Substrat
Histamin	0,06	0,11	0,15
Cadaverin	0,28	0,16	0,22
Spermin	0,78	0,25	0,36
Agmatin	0,85	0,90	1,28
Putrescin	0,96	0,60	0,86

II. Bildung von Peroxyd. Für den Nachweis von Peroxyd als Reaktionsprodukt der DO und für die Entscheidung, welche der Gleichungen (1) oder (2) einzusetzen ist, ist die Gegenwart oder Abwesenheit von Katalase von ausschlaggebender Bedeutung. In den von uns verwendeten Stämmen aus *Mycobact. smegmatis* lässt sich dieses Ferment sehr leicht feststellen und quantitativ bestimmen. Wenn im Manometergefäss die übliche Bakteriensuspension zu einer Wasserstoffperoxyd-Lösung gekippt wird, dann erfolgt ein aussergewöhnlich rascher Druckanstieg, der schon nach einer Minute sein Maximum erreicht hat. Durch Erhitzen abgetötete Bakterien üben keine derartige Wirkung aus (Figur 4).

Bis zur 7. Minute entspricht der Verlauf der Reaktion recht gut dem einer monomolekularen. Die Reaktionskomponente k schwankt zwischen 0.066 und 0.069. Sie kann somit zur quantitativen Erfassung der Katalase dienen¹⁾. Das hier angegebene Verfahren stellt somit eine ausserordentlich einfache Katalasebestimmung dar.

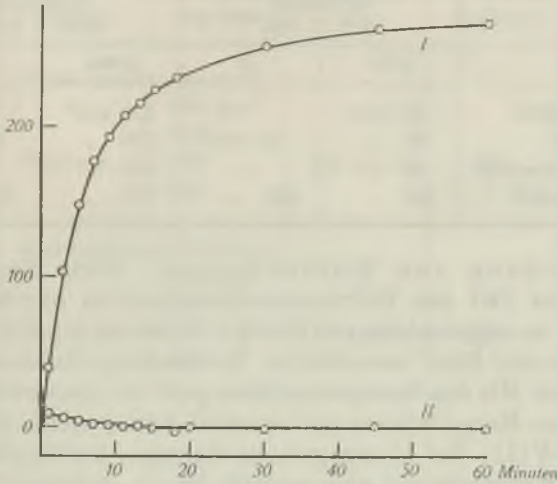


Fig. 4.

Zersetzung von Wasserstoffperoxyd durch Smegmabazillen.

Pro Ansatz werden 4 mg Bakteriensuspension verwendet, die zu einer ca. 0,01-m. H_2O_2 -Lösung (Endkonzentration) gekippt werden. Es können ca. 10^{-5} Mol O_2 maximal in Freiheit gesetzt werden. Kurve I bezieht sich auf lebende Bakterien, Kurve II auf solche, die durch 15 Minuten dauerndes Kochen abgetötet worden sind. Die entsprechenden Leerversuche ohne Peroxyd, deren Kurven sich praktisch vollständig mit Kurve II decken, haben wir der Übersichtlichkeit halber weggelassen.

Abszisse: Zeit, Ordinate: Menge des gebildeten Sauerstoffs.

Der Nachweis von Peroxyd neben einer so aktiven Katalase kann auf direktem Wege kaum durchgeführt werden. Durch Heranziehung der Sekundäroxydation (coupled oxidation) lässt sich aber die Bildung von Peroxyd dennoch zeigen. Dazu verwendeten wir, wie es seinerzeit mit der „Säuger“-DO geschah²⁾, Äthylalkohol, der durch das entstehende Peroxyd oxydiert wird. Die Katalase soll bei diesem Vorgang eine peroxydatische Funktion ausüben³⁾. Der erwartete Mehrverbrauch an Sauerstoff ist sehr gross (Tabelle VII), weil offenbar nicht nur bei der ersten Oxydationsstufe, sondern auch bei den folgenden Peroxyde entstehen.

1) K. Zeile: Katalase. Die Methoden der Fermentforschung. Leipzig 1941, S. 2615.
 2) E. A. Zeller, Helv. 21, 880 (1938).
 3) D. Keilin und E. F. Hartree, Proc. Roy. Soc. [B] 119, 114 (1936).

Tabelle VII.

„Coupled oxidation“ von Äthylalkohol durch die Smegma-Diamin-oxydase.

Je 40 mg Bakterienbrei einer 8 Tage alten Kultur gelangen zur Verwendung. Cadaverin 0,005-m. 0,1 cm³ einer 10-proz. Äthanol-Lösung in Phosphatpuffer.

	Sauerstoffverbrauch nach 2 Std.		Sauerstoffverbrauch nach 5 Std.	
	total	Δ	total	Δ
ohne Substrat	50 mm ³	—	110 mm ³	—
Cadaverin	70 „	20 mm ³	170 „	60 mm ³
Alkohol, ohne Cad.	35 „	—	155 „	—
Cad. + Alkohol	255 „	220 „	770 „	615 „

III. Bildung von Kohlendioxyd. Wenn die Diamine in Gegenwart der DO aus Schweinsnierenextrakten oxydiert werden, dann werden im allgemeinen pro Molekel Substrat 2—3 Atome Sauerstoff verbraucht. Eine wesentliche Kohlendioxydbildung ist dabei nicht zu finden. Mit den Smegmabazillen geht der Sauerstoffverbrauch weit über diese Menge hinaus und erreicht 7 und mehr Atome Sauerstoff (Tabelle VIII). Bei diesem grossen Ausmass der Oxydation ist die Bildung von Kohlendioxyd zu erwarten, was in einfacher Weise nachgewiesen werden kann, wenn in den Manometergefässen die Lauge zur Adsorption des Kohlendioxyds weggelassen wird¹⁾. Die Druckabnahme ist in denselben viel weniger gross als in den andern mit Lauge versehenen Gefässen. Aus der Differenz lässt sich unter Berücksichtigung der Adsorptionskoeffizienten für Kohlendioxyd und Sauerstoff die gebildete Kohlendioxydmenge berechnen. In weniger als einer Stunde beginnt schon eine messbare Kohlendioxydproduktion.

Gegen diese Art der Bestimmung von Kohlendioxyd kann der Einwand erhoben werden, dass die beiden Systeme nicht ohne weiteres vergleichbar sind. In dem einen wird das Kohlendioxyd absorbiert und somit aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt, im andern nicht. Mit Hilfe der Isotopen-Methodik wurde in den letzten Jahren festgestellt, dass die CO₂-Bildung bei Bakterien einen reversiblen Vorgang darstellt. Die Eliminierung des Kohlendioxyds müsste demnach den Oxydationsprozess beschleunigen. In unsern Versuchen scheint aber dieser Effekt nicht messbar zu sein, weil die Ammoniakbildung in beiden Fällen innerhalb der Fehlergrenze dieselbe ist; im Gefäss, in dem das Kohlendioxyd nicht absorbiert wurde, war sie zufälligerweise sogar etwas grösser (Tabelle VIII). Zum gleichen Ergebnis führten alle andern entsprechenden Versuche.

¹⁾ E. A. Zeller und A. Maritz, Helv. 27, 1888 (1944).

Tabelle VIII.

Kohlendioxyd und Ammoniakbildung beim Putrescinabbau durch Smegma-
bazillen.

40 mg Bakterienbrei, 10^{-5} Mol Putrescin (0,005-m.). Die Ausbeute wird in Prozent der
nach Gleichung (3) möglichen Menge und in Mol pro Mol Substrat angegeben. Alle Werte
wurden doppelt bestimmt.

Substrat	Ergebnis	Δ	Ausbeute
Sauerstoffverbrauch			
—	400 mm ³		
	443 „		
Putrescin .	1250 „	803 mm ³	65%
	1200 „		7,1/2 Mol
Kohlendioxydbildung			
—	241 mm ³		
	249 „		
Putrescin .	577 „	347 mm ³	39%
	606 „		1,55 Mol
Ammoniakbildung			
—	3,2 γ		
	2,8 γ^*)		
Putrescin .	200 γ	201 γ	72%
	208 γ^*)		1,4 Mol

*) Ansätze ohne Kohlendioxydabsorption.

4. Inhibitoren der „Smegma“-Diaminoxydase.

Von den vielen untersuchten Inhibitoren der „Säuger“-DO wurden hauptsächlich die für dieses Enzym sehr charakteristische Gruppe der Carbonylreagenzien geprüft.

I. Carbonylreagenzien. Alle Stoffe, die mit Carbonylgruppen zu reagieren vermögen, besitzen einen hemmenden Einfluss auf die „Säuger“-DO¹⁾). Unter ihnen ragt das Semicarbazid durch seine besonders hohe Inhibitorwirkung hervor, die das Vielfache derjenigen von Hydroxylamin beträgt. Auch die „Pyocyanea“-DO wird durch dieses Agens im gleichen Sinn beeinflusst. Alle bisher geprüften Stoffe dieser Gruppe erweisen sich auch als Inhibitoren der „Smegma“-DO. Aus vielen Beispielen ist in Figur 5 die Hemmung des Sperminabbaues durch verschiedene Inhibitoren dargestellt.

An dem in vorstehender Figur dargestellten Versuch fällt auf, dass Hydroxylamin viel stärker hemmend wirkt als Semicarbazid,

¹⁾ E. A. Zeller, Helv. 21, 880, 1645 (1938).

²⁾ E. Werle, Bioch. Z. 304, 201 (1940).

was im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der „Säuger“-DO steht. Das gilt nicht nur für das Spermin, sondern für alle andern Substrate.

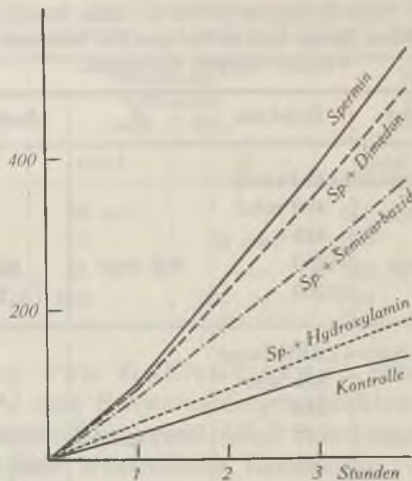


Fig. 5.

Hemmung des enzymatischen Sperminabbaues durch Carbonylreagenzien. 40 mg Bakteriensuspension, Sperminphosphat, Dimedon (Dimethyl-cyclohexan-dion) 0,01-m., Semicarbazid und Hydroxylamin 0,001-m., Substrate je 1 mg. Abszisse: Zeit. Ordinate: Sauerstoffverbrauch.

Eine 0,001-m. Konzentration von Hydroxylamin schaltete den enzymatischen Abbau von Agmatin vollständig aus, und selbst die zehnfach kleinere Konzentration blockierte die „Smegma“-DO fast gänzlich (Putrescin 0,01-m.). Erst nach 2 Stunden begann der Abbau deutlich zu werden, der dann nach 4 Stunden fast die normale Geschwindigkeit erreichte. Dieser Vorgang hängt offensichtlich mit dem früher beschriebenen Abfangen des Carbonylreagens durch das primäre Reaktionsprodukt der DO zusammen¹⁾.

Einige Werte, die aus vielen Versuchen zusammengestellt wurden, sind in der Tabelle IX vereinigt.

Tabelle IX.

Hemmung des Diaminabbaues durch Carbonylreagenzien. 40 mg Bakteriensuspension, Substrate 0,01-m. Ergebnis nach 4—5 Stunden Reaktionsdauer abgelesen. Die Zahlen geben die Hemmung in Prozenten an.

Substrat	Dimedon	Semicarbazid		Hydroxylamin	
		0,0001-m.	0,001-m.	0,0001-m.	0,001-m.
Putrescin . . .	23%	39%	62%	>90%	>90%
Agmatin . . .		17%	74%	>90%	>90%

¹⁾ E. A. Zeller, Helv. 23, 1418 (1940).

Da es sich bei der Desaminierung um einen primären Vorgang der DO-Reaktion handelt, muss sie durch diese Inhibitoren in gleichem Masse wie der Sauerstoffverzehr betroffen werden, was, wie aus dem Versuch der Tabelle X hervorgeht, auch wirklich eintritt.

Tabelle X.

Hemmung der Desaminierung durch Carbonylreagenzien.
Bakteriensuspension 40 mg, Putrescin 0,01-m. Dauer 5 Stunden.

Substrat	Hydroxyl-amin	Q _{O₂}	Q _{NH₃}	Semicar-carbazid	Q _{O₂}	Q _{NH₃}
—	—	1,2	0,02	—	0,9	0,005
Putrescin .	—	5,0	1,18	—	5,7	1,10
—	0,01-m.	1,3	0,07	—	—	—
Putrescin .	0,01-m.	1,3	0,07	0,01-m.	1,1	0,15
Putrescin .	0,001-m.	1,2	0,06	0,001-m.	2,7	0,46
Putrescin .	0,0001-m.	1,8	0,22	0,0001-m.	5,6	1,13

Es besteht somit kein Zweifel, dass Carbonylreagenzien auch auf die „Smegma“-DO einen hemmenden Einfluss ausüben, und dass auch bei dieser eine Carbonylgruppe vermutet werden kann, die für den Reaktionsablauf notwendig ist.

Diese eben beschriebene Reaktion kann verwendet werden, um zu erfahren, ob die DO für die Smegmabazillen lebenswichtig ist. Es wurde den *Sauton*-Nährlösungen Hydroxylamin zugesetzt. Bei einer Konzentration von 0,01-m. trat für 5 Tage eine vollständige Hemmung des Wachstums ein. Dann begann dieses deutlich zu werden, um schliesslich nach weiteren 5—6 Tagen die Kontrollansätze einzuholen. Die Konzentrationen von 0,001-m. hatte eine Wachstumsverzögerung für einen Tag, 0,0001-m. überhaupt keine zur Folge. Die Überwindung der Wachstumshemmung hängt möglicherweise mit dem eben erwähnten Mechanismus zusammen: Die wenigen, der Blockierung entgangenen DO-Teilchen bilden aus Diamin kleine Mengen von Aldehyden, die sich mit dem Hydroxylamin verbinden. Damit ist die Möglichkeit für eine autokatalytische Ausschaltung desselben gegeben.

II. Natriumazid und Natriumfluorid. Bei der „Säuger“-DO übt Natriumazid nur einen geringen hemmenden Einfluss aus, der erst nach einiger Zeit zutage tritt. Er ist damit nicht auf die eigentliche DO zu beziehen, sondern auf sekundäre Oxydationsvorgänge. Wir hofften, die gleiche Wirkung bei der „Smegma“-DO zu finden, um die in vielen Fällen die Auswertung störende Weiteroxydation auszuschalten. Tatsächlich kann mit 0,01-m. NaN₃ die Smegma-DO gehemmt werden, ohne die Ammoniakbildung, wie

erwähnt, wesentlich zu vermindern. Der Sauerstoffverbrauch überschreitet während mehrerer Stunden nicht den Wert von ungefähr einem Atom pro Molekel Substrat. Später allerdings kommt es zu einer mächtigen Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit, so dass die Ansätze mit Natriumazid diejenigen ohne Inhibitor übertreffen. Es ist dann auch Kohlendioxydbildung trotz der Anwesenheit von NaN_3 festzustellen. Offenbar kommt es zu einer Aufspaltung und damit Entthemmung von Fermentsystemen. Es sei in diesem Zusammenhang an die bekannte Tatsache erinnert, dass die Schwermetallatmung die schwermetallfreie Respiration bremst, und dass Natriumazid mehrere Häminfermente hemmt.

Diese Schwierigkeit, verbunden mit einer Steigerung der Leeratmung, verhinderte eine völlige Erfüllung unserer Hoffnung, dass mit Hilfe des Natriumazids die DO von den Fermenten, die die Produkte der DO-Reaktion weiter abbauen, abgeschirmt werden könne. Immerhin gelingt das bis zu einem gewissen Grade, wie der Versuch der Tabelle X zeigt.

Natriumfluorid (0,001-m.) verändert weder bei der „Säuger“- noch bei der „Smegma“-DO die Reaktionsgeschwindigkeit.

Diskussion der Ergebnisse.

Für den Abbau der verschiedenen Di- und Polyamine unter der Einwirkung von *Mycobact. smegmatis* ist ein einziges Ferment, die „Smegma“-DO, verantwortlich zu machen. Zu dieser Schlussfolgerung führen nicht nur die Konkurrenzversuche, sondern auch die Ergebnisse zahlreicher anderer Experimente wie Einflüsse von Inhibitoren, Verlauf der Oxydation, Art der Reaktionsprodukte, Zusammenhänge zwischen Alter der Kulturen und der DO-Aktivität usw. Diese „Smegma“-DO weist alle wesentlichen Eigenschaften auf, die von der DO der Säugetiere bekannt geworden waren. Genaue Analyse und Vergleiche weisen aber auf einige sehr deutlich ausgeprägte Unterschiede hin. So oxydiert das eine Ferment nur sehr schwer Substrate, die vom andern leicht angegriffen werden, und umgekehrt. Ebenso ist die Grösse der Inhibitorwirkung von Hydroxylamin und Semicarbazid bei beiden Fermenten vertauscht. „Smegma“- und „Säuger“-DO sind also nicht gleich im Sinne einer chemischen Identität. Die Bezeichnung Diamin-oxydase ist somit ein Gruppenbegriff, wie das für krystallisierte Proteasen¹⁾ und für die Serum-ChE²⁾ schon früher bekannt geworden ist.

¹⁾ J. H. Northrop: Crystalline Enzymes. New York 1939, S. 31.

²⁾ E. A. Zeller, *Helv.* **25**, 216 (1942), Fig. 4; *Helv. physiol. pharmacol. acta* **2**, C, 23 (1944). Zur Vermeidung von Verwechslungen sei noch erwähnt, dass hier nicht der Unterschied zwischen e- und s-Cholinesterase („Pseudo“- und „echte“ Cholinesterase), bei der es sich eigentlich um 2 voneinander abzugrenzende Fermente handelt, gemeint ist, sondern die Differenzierungen innerhalb der s-Cholinesterase.

Es wird nicht selten ein Ferment, das mehrere Substrate angreift, nur nach einem einzigen derselben benannt, wie gerade die Diamin-oxydase, die teilweise immer noch als Histaminase bezeichnet wird. Es zeigt sich bei diesen, wie ungünstig eine solche Formulierung sich auswirken kann, weil es nicht logisch wäre, das Smegmaferment, das das Histamin von allen untersuchten Substraten am langsamsten umsetzt, als Histaminase zu klassieren. Das müsste aber geschehen, wenn für das Säugerferment dieser Name beibehalten würde, da beide Fermente nach den Resultaten der vorliegenden Arbeit die gleiche Bezeichnung erhalten müssen.

Die Oxydationsgeschwindigkeit der Diamine unter der Einwirkung der Smegmabazillen ist verhältnismässig gross ($Q_{O_2} = 0,1-5$), reicht aber nicht an die von *Ps. pyocyanea* heran, deren Q_{O_2} ungefähr fünf- bis zehnmal so gross ist. Es muss in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen werden, dass die Substrate in die Bazillen eindringen müssen, wofür die Bedingungen bei *Mycobact. smegmatis* mit seinem Lipoidreichtum und bei den Polyaminen mit ihren elektrisch geladenen Gruppen nicht besonders günstige sind. In die Kulturflüssigkeit wird keine DO abgeschieden, so dass die Diffusion in die Bazillen hinein unumgänglich notwendig ist.

Die Analyse der „Smegma“-DO war in mancher Hinsicht schwieriger als die der „Säuger“-DO, weil die Smegmabazillen das Produkt der DO-Reaktion rasch weiter- und teilweise bis zu Kohlendioxyd oxydieren. Ein grösserer und für die verschiedenen Substrate sehr wechselnder Teil des gemessenen Sauerstoffverbrauchs und der Ammoniakbildung ist daher nicht auf die eigentliche DO-Reaktion zurückzuführen (vgl. Tabelle VI). Besonders leicht fällt Putrescin und das Putrescinderivat Spermin diesen sekundären Oxydationen anheim. Die Untersuchung der Reaktion unmittelbar nach dem Start, wenn noch wenige dieser Zwischenprodukte gebildet worden sind, die Heranziehung der Ammoniakmessung und die Verwendung des Natriumazids haben es schliesslich doch erlaubt, zu eindeutigen Schlüssen zu gelangen.

Eine Erschwerung für die Deutung mancher Versuche bildete weiterhin der gelegentlich hohe Sauerstoffverbrauch (vgl. Figur 1), der durch die Bakterienatmung auch ohne Zusatz eines Substrates verursacht wurde. Viele bei solchen Experimenten gewonnene Erfahrungen führten uns zu der Annahme, dass an dieser „Leer“-Atmung auch Substrate der DO beteiligt sind.

Zusammenfassung

1. Die Bakterien des in der vorliegenden Arbeit verwendeten Stammes von *Mycobact. smegmatis* oxydieren Putrescin, Agmatin, Spermin, Cadaverin und Histamin. Die Oxydationsgeschwindig-

keit nimmt in der angegebenen Reihenfolge ab. Als Reaktionsprodukte entstehen Ammoniak, Peroxyd und Kohlendioxyd.

2. Die oxydative Desaminierung wird durch Hydroxylamin, Semicarbazid und Dimedon gehemmt. Besonders stark wirkt Hydroxylamin, das noch bei einer Konzentration von 0,0001-m. den enzymatischen Vorgang fast vollständig blockiert. Natriumazid reduziert anfänglich den Sauerstoffverbrauch, beeinflusst aber nur wenig die Desaminierung.

3. Die Fähigkeit der Oxydation von Polyaminen nimmt mit zunehmendem Alter der Kultur, der sie entnommen wurden, ab.

4. Die Oxydation der angeführten Amine wird durch ein einziges Ferment, das als „Smegma“-Diamin-oxydase bezeichnet wird, katalysiert.

5. Die „Smegma“-Diamin-oxydase stimmt in allen wesentlichen Eigenschaften mit der Diamin-oxydase der Säugerorgane überein. Sie unterscheidet sich aber von derselben durch die Reihenfolge der Abbaugeschwindigkeiten der Substrate und der Hemmungswirkung der Inhibitoren.

6. Im *Mycobacterium smegmatis* findet sich weiterhin eine Katalase, für deren Messung ein einfaches manometrisches Verfahren angegeben wird.

Die Durchführung der Arbeit wurde durch die Unterstützung der *J. R. Geigy A.-G.*, Basel, ermöglicht. Wir sind der Firma zu grossem Dank verpflichtet. Wir danken *Frl. H. Wydler* für ihre wertvolle Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche.

Pathologisch-anatomische Anstalt
der Universität Basel.

171. Über Steroide.

43. Mitteilung¹⁾.

Totalsynthese der racemischen Bisdehydro-doisyndolsäuren.

Über oestrogene Carbonsäuren IV

von *J. Heer*, *J. R. Billeter* und *K. Miescher*.

(12. IX. 45.)

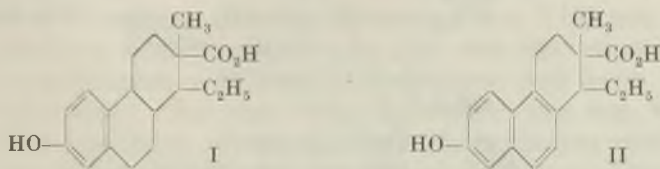
In den beiden letzten Mitteilungen dieser Reihe^{2) 3)} berichteten wir über den Abbau von Oestron und Oestradiol, sowie Equilenin und Dihydro-equilenin mit schmelzendem Alkali und zeigten, dass die

¹⁾ 42. Mitteilung siehe *Helv.* **28**, 1252 (1945).

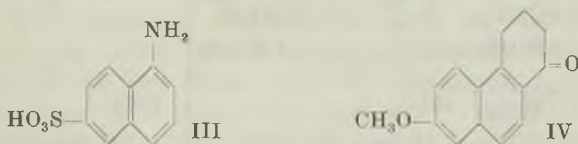
²⁾ *J. Heer* und *K. Miescher*, *Helv.* **28**, 156 (1945).

³⁾ *J. Heer*, *J. R. Billeter* und *K. Miescher*, *Helv.* **28**, 991 (1945).

dabei entstehenden Mono-carbonsäuren die Konstitution von Dialkyl-octahydro- bzw. -tetrahydro-phenanthrol-carbonsäuren besitzen. So erhielten wir aus Oestron und Oestradiol die rechtsdrehende Doisyngsäure der Formel I und aus Equilenin sowie Dihydro-equilenin zwei diastereoisomere optisch aktive Bisdehydro-doisyngsäuren der Formel II.



In der ersten Mitteilung über oestrogene Carbonsäuren hat *K. Miescher*¹⁾ die Ergebnisse unserer Untersuchungen zusammengefasst und über eine Totalsynthese von zwei racemischen Bisdehydro-doisyngsäuren berichtet. Hier legen wir nun das experimentelle Material vor. Die Synthese geht von der *Cleve-Säure* (III) aus und führt zunächst über das 1-Keto-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren (IV) von *Butenandt* und *Schramm*²⁾ zum 1-Keto-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester (V) von *Bachmann*³⁾.



Den Ketoester V setzten wir mit Äthylmagnesiumbromid um und erhielten in vorzüglicher Ausbeute ein Gemisch der beiden epimeren Carbinole, 1-Äthyl-1-oxy-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester vom Smp. 153° (VIIa) und 124—127° (VIIb).

Zu denselben Carbinolen gelangten wir auch, als wir den Ketoester V zuerst mit Natriumacetylenid in flüssigem Ammoniak umsetzten und die erhaltenen isomeren, dreifach ungesättigten Carbinole vom Smp. 135,5° (VIa) und Smp. 125° (VIb), einzeln oder als Gemisch in Alkohol unter Verwendung von Platinkatalysator hydrierten. Nach beiden Verfahren überwog der Gehalt an höherschmelzendem Isomerem VIIa ganz bedeutend.

Die Abspaltung von Wasser aus den Carbinolen VII liess sich entweder mit Jod in Chloroform oder mittels heisser 90-proz. Ameisensäure durchführen, wobei die letztere Methode besonders glatt ver-

¹⁾ *K. Miescher*, *Helv.* **27**, 1727 (1944).

²⁾ *A. Butenandt* und *G. Schramm*, *B.* **68**, 2083 (1935).

³⁾ *W. E. Bachmann* und Mitarb., *Am. Soc.* **61**, 974 (1939); **62**, 824 (1940).

lief. Wir gewannen zwei cis-trans-isomere 1-Äthyliden-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester, von denen der eine (VIIIa) etwas unscharf zwischen 134—137°, der andere (VIIIb) dagegen scharf zwischen 118—119° schmolz. Mit Jod in Chloroform oder mittels Ameisensäure liess sich jedes der beiden Isomeren teilweise in das andere Isomere überführen.

Durch Verseifung der ungesättigten Ester VIII mit Hilfe von überschüssigem Kaliumhydroxyd im Bad von 160° erhielten wir die freien ungesättigten 7-Methoxy-carbonsäuren und zwar aus VIIIa eine Carbonsäure IXa vom Smp. 213—215° und aus VIIIb eine Säure IXb vom Smp. 185—186°. Beide Carbonsäuren spalteten beim Schmelzen Kohlendioxyd ab unter Bildung derselben Verbindung vom Smp. 101,5—102,5°, vermutlich eines 1-Äthyliden-2-methyl-7-methoxy-tetrahydro-phenanthrens (XII), falls die Doppelbindung nicht in den Kern eintrat.

Behandelte man das rohe Gemisch der ungesättigten Säuren IX oder ihrer Ester VIII mit alkoholischem Kaliumhydroxyd im Bombenrohr bei 200°, so wurde die Äthergruppe in 7-Stellung, gegebenenfalls auch die Estergruppe, aufgespalten und man gewann in allen Fällen neben Neutralprodukten überwiegend eine Oxycarbonsäure Xb vom Smp. 215—216°. Die isomere ungesättigte Oxycarbonsäure Xa liess sich noch nicht isolieren. Möglicherweise ist sie viel unbeständiger und zersetzt sich schon in der heissen alkalischen Reaktionslösung. Durch Behandlung der Säure Xb mit Diazomethan gewannen wir ihren Methylester XIb vom Smp. 209—211°; nachfolgende Methylierung mit Dimethylsulfat und Natronlauge führte zum 7-Methoxymethylester VIIIb vom Smp. 118°, womit die Zugehörigkeit der isolierten Oxysäure zur b-Reihe bewiesen war.

Zur Absättigung der Äthylenbindung hydrierten wir die Natriumsalze der beiden ungesättigten Methoxycarbonsäuren (IXa und IXb) in wässrig-alkalischer Lösung unter Verwendung von Nickelkatalysator nach *Rupe*. Wir erhielten dabei ein Gemisch der beiden diastereoisomeren 7-Methyl-bisdehydro-doisylnolsäuren vom Smp. 228—230° (XIII, n) und vom Smp. 204—206° (XIII, iso). Es gelang aber auch die Reduktion so zu leiten, dass so gut wie ausschliesslich die wertvollere „normale“ Säure entstand, indem man in Gegenwart von viel überschüssigem Alkalihydroxyd arbeitete.

Mit Hilfe von Pyridin-hydrochlorid oder alkoholischer Kalilauge im Bombenrohr spalteten wir schliesslich die Methoxysäuren XIII zu den entsprechenden freien Oxycarbonsäuren auf. Lag ein Gemisch vor, so liess es sich auf Grund der verschiedenen Acidität nach den in der letzten Mitteilung dieser Reihe beschriebenen Verfahren¹⁾ trennen. Auch gewannen wir aus der reinen normalen 7-Methyl-bisdehydro-

¹⁾ Helv. 28, 991 (1945).

doisynolsäure (XIII, n) direkt die normale Bisdehydro-doisynolsäure (II, n) vom Smp. 204° und aus der iso-Säure (XIII, iso) die unwirksame iso-Bisdehydro-doisynolsäure (II, iso) vom Smp. 238—240° (sintert ab 234°). Die Säure II, n liess sich auch durch Hydrierung der Oxy-carbonsäure Xb gewinnen.

Zur weiteren Charakterisierung der Bisdehydro-doisynolsäuren stellten wir noch eine Anzahl Derivate her. So erhielten wir durch Veresterung mit Diazomethan die beiden Methylester XIV und hieraus durch Methylierung mit Dimethylsulfat die beiden auch in 7-Stellung methylierten Ester XV. Letztere entstanden auch durch Methylierung der Säuren XIII mit Diazomethan oder durch Hydrierung der ungesättigten Ester VIIIA und VIIIB. Die partielle Verseifung der Ester XV führte zu den reinen Methoxysäuren XIII. Schliesslich gewannen wir aus den Methylestern XIV die beiden 7-Propionate XVI, sowie die 7-Benzoate XVII.

Die Verbindungen mit freiem Hydroxyl in 7-Stellung geben, wie auch Equilenin, mit diazotierter Sulfanilsäure Dunkelrotfärbung. Nur die ungesättigten Verbindungen VIII bis XII sowie die Carbinole VII lösen sich in konz. Schwefelsäure mit blutroter Farbe.

Wegen des Zusammenhanges der racemischen Bisdehydro-doisynolsäuren mit den, aus Equilenin bzw. Dihydro-equilenin gewonnenen optisch aktiven Säuren verweisen wir auf die vorangegangene Mitteilung. Auf die sterischen Verhältnisse soll auch in einer folgenden Arbeit noch näher eingegangen werden.

Die racemischen und die optisch aktiven Bisdehydro-doisynolsäuren, wie auch die optisch aktive Bisdehydro-marrianolsäure zeigten in Alkohol innerhalb der Fehlergrenzen völlig übereinstimmende Absorptionsspektren¹⁾. In Figur 1 ist dasjenige des Methyl-esters der wirksamen, racemischen 7-Methyl-bisdehydro-doisynolsäure (XV, n) wiedergegeben. Dank dem Naphthalinkernanteil ist das Spektrum in Alkohol in mehrere Banden aufgespalten und gleicht weitgehend demjenigen des Equilenins²⁾ und des β -Naphthols³⁾, wie auch aus der Gegenüberstellung der beiden Hauptmaxima für jede der genannten Verbindungen hervorgeht (siehe Tabelle).

Der 7-Methyläther (XIII, n) der normalen Bisdehydro-doisynolsäure zeigt, gleich dem in unserer letzten Mitteilung beschriebenen analogen linksdrehenden Derivat, im Oestrustest an der Ratte dieselbe hohe orale Wirkung wie die entsprechende freie Oxy-säure.

¹⁾ Die Aufnahme der Absorptionsspektren verdanken wir wiederum der Freundlichkeit von Hrn. Prof. Dr. *Almasy*, Zürich.

²⁾ *W. Dirscherl* und *F. Hanusch*, *Z. physiol. Ch.* **233**, 18 (1935).

³⁾ *L. Marchlewski* und *A. Moroz*, *Bl.* [4] **35**, 478 (1924).

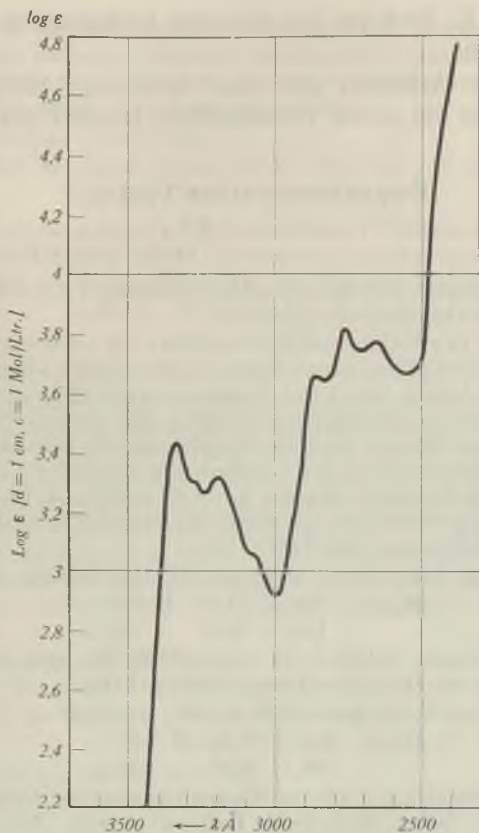


Fig. 1.

Tabelle.

	Hauptmaximum im langwelligen Bereich		Hauptmaximum im kurzwelligen Bereich	
	λ (Å)	ϵ (d=1 cm) (c=1 Mol/ltr.)	λ	ϵ
7-Methyl-bisdehydrodoisynolsäure-methylester (XV n)	3330	2720	2760	6580
Equilenin	3420	2700	2800	5500
β -Naphthol	3300	3000	2750	7000

Sie ist auch bei dem Oxy-ester XIV, n, sowie dem Äther-ester XV, n zu sehen. In öliger Lösung subcutan verabreicht, weisen diese Carbonsäure-ester, ähnlich den Estern des Oestradiols, eine verlängerte Wirkung auf. Noch anhaltender verläuft sie aber beim 7-Propionat und besonders beim 7-Benzoeat des Bisdehydrodoisynolsäure-methylesters. Auf diese Verhältnisse wird in einer demnächst erscheinenden

Publikation von *E. Tschopp* aus unserem biologischen Laboratorium näher eingegangen¹⁾.

In folgenden Arbeiten soll über homologe Dehydro-doisyndolensäuren, sowie über ein neues vereinfachtes Darstellungsverfahren berichtet werden²⁾.

Experimenteller Teil³⁾.

1-Äthyl-1-oxy-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester (VIIa und VIIb).

a) Durch Behandlung des 1-Keto-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylesters nach *Grignard*.

Eine Lösung von 12 g 1-Keto-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester (V) in 50 cm³ Benzol wurde ziemlich schnell zu einer auf 10° abgekühlten *Grignard*-Lösung von 1,25 g Magnesium (1,25 Mol) in 50 cm³ Äther und 5 cm³ Äthylbromid gegeben. Anschliessend erwärmte man noch ½ Stunde zum Sieden. Nach dem Zersetzen mit Eis und Salzsäure dampfte man die gewaschene Äther/Benzol-Lösung ein. Der Rückstand betrug 13,20 g und schmolz zwischen 118—130°. Nach mehrmaligem Umlösen aus Methanol erhielten wir 8,80 g (67% d. Th.) 1-Äthyl-1-oxy-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester in Form schön ausgebildeter Nadeln vom Smp. 153° (VIIa).

4,256 mg Subst. gaben 11,43 mg CO₂ und 2,82 mg H₂O

C ₂₀ H ₂₄ O ₄	Ber. C 73,14	H 7,37%
	Gef. „ 73,27	„ 7,41%

Aus den Mutterlaugen isolierten wir noch 170 mg des epimeren Carbinols vom Smp. 124—127° (1,3% der Theorie) in kleinen Nadeln (VIIb).

3,578 mg Subst. gaben 9,59 mg CO₂ und 2,40 mg H₂O

C ₂₀ H ₂₄ O ₄	Ber. C 73,14	H 7,37%
	Gef. „ 73,13	„ 7,50%

Das Mutterlaugenöl (3,5 g) wurde zur Wasserabspaltung mit Ameisensäure erwärmt und anschliessend mit starker alkoholischer Kalilauge verseift. Man gewann auf diese Weise noch 1,2 g ungesättigte Carbonsäure (IX) neben etwas einer unverseifbaren, aber uneinheitlichen kristallisierten Substanz, die möglicherweise durch Einwirkung der *Grignard*-Verbindung auf die Carbomethoxygruppe entstanden war. Die 1,2 g Carbonsäure entsprechen 1,40 g Carbinol, so dass sich die Gesamtausbeute an Carbinol auf etwa 80% der Theorie erhöht.

b) Über die Äthynylverbindung.

1. Darstellung des 1-Äthynyl-1-oxy-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylesters (VIa und VIb).

Eine Aufschwemmung von 12,4 g 1-Keto-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester (V) in 75 cm³ Äther wurde innerhalb 15 Minuten bei -60° in eine aus 1 g Natrium dargestellte Natriumacetylenid-Lösung in 75 cm³ flüssigem Ammoniak eingetropfelt. Man setzte noch 100 cm³ Äther hinzu, rührte 1 Stunde und zersetzte, nachdem das Ammoniak verdunstet war, mit einer wässrigen Ammoniumchloridlösung. Der aus der gewaschenen und getrockneten ätherischen Lösung erhaltene Rückstand betrug 10,75 g (80% der Theorie) und schmolz, aus wässrigem Alkohol kristallisiert, bei 129° (Sintern bei 123°).

¹⁾ *E. Tschopp*, Referat anlässlich der Sitzung der Med. Biolog. Ges. in Freiburg vom 1. September 1945.

²⁾ Die Verfahren zur Herstellung der Bisdehydro-doisyndolensäuren und ihrer Homologen sind Gegenstand verschiedener Patentanmeldungen.

³⁾ Sämtliche Schmelzpunkte sind korrigiert.

Durch weiteres Umkrystallisieren aus Methanol und Äthanol liess sich dieses Carbinol in die beiden epimeren 1-Äthynyl-1-oxy-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester (VIa) vom Smp. 135,5° und (VIb) vom Smp. 125° trennen; sie bildeten sich im Verhältnis von rund 20:1.

Carbinol vom Smp. 135,5° (VIa).

3,440 mg Subst. gaben 9,31 mg CO₂ und 1,92 mg H₂O

C₂₀H₂₀O₄ Ber. C 74,05 H 6,21%
Gef. „ 73,84 „ 6,24%

Carbinol vom Smp. 125° (VIb).

3,620 mg Subst. gaben 9,81 mg CO₂ und 2,03 mg H₂O

C₂₀H₂₀O₄ Ber. C 74,05 H 6,21%
Gef. „ 73,95 „ 6,27%

2. Hydrierung der Äthynylverbindung zu VIIa und VIIb.

Wir hydrierten 3,60 g eines Gemisches der beiden epimeren 1-Äthynyl-1-oxy-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester (VIa und VIb) in 150 cm³ Alkohol in Gegenwart von 0,2 g vorhydriertem Platin. Innerhalb 45 Minuten wurden 520 cm³ Wasserstoff (0°/760 mm) entsprechend 2 Mol aufgenommen. Kurz vor Hydrierungsende krystallisierte das Reaktionsprodukt aus. Man filtrierte die heisse Lösung vom Katalysator ab und löste aus Alkohol um. Der 1-Äthyl-1-oxy-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester (VIIa) schmolz bei 153° (2,9 g). Aus den Mutterlaugen gewannen wir neben weiteren 183 mg dieses Carbinols (im ganzen 85,6%), noch 168 mg des epimeren Carbinols VIIb vom Smp. 124—127° (4,6%).

Carbinol vom Smp. 153° (VIIa).

4,629 mg Subst. gaben 12,40 mg CO₂ und 3,04 mg H₂O

C₂₀H₂₄O₄ Ber. C 73,14 H 7,37%
Gef. „ 73,11 „ 7,35%

Carbinol vom Smp. 124—127° (VIIb).

4,169 mg Subst. gaben 11,17 mg CO₂ und 2,71 mg H₂O

C₂₀H₂₄O₄ Ber. C 73,14 H 7,37%
Gef. „ 73,11 „ 7,28%.

Hydrierte man in der gleichen Weise die reinen epimeren Äthynylcarbinole (VIa) und (VIb), so erhielt man aus dem Äthynylcarbinol vom Smp. 135,5° (VIa) nur das Äthylcarbinol vom Smp. 153° (VIIa) und aus dem Äthynylcarbinol vom Smp. 125° (VIb) nur das Äthylcarbinol vom Smp. 124—127° (Mischprobe 110—112°).

1-Äthyliden-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester (VIIIa und VIIIb).

a) Durch Wasserabspaltung mittels Ameisensäure.

Wir vermischten 9,50 g Carbinol VIIa mit 10 cm³ 90-proz. Ameisensäure und erwärmten kurz auf dem Wasserbad. Dabei trat eine blutrote Färbung auf, die aber schon nach 1—2 Minuten wieder verschwand. Man kühlte ab, wobei das zuerst ölig anfallende Reaktionsprodukt allmählich durchkrystallisierte. Die gesamte Reaktionsmischung nahm man in Benzol auf, wusch mit Wasser und verdünnter Natronlauge und erhielt nach dem Eindampfen 9,15 g Rohprodukt. Löste man aus Alkohol um, so fielen gewöhnlich nebeneinander die beiden stereoisomeren 1-Äthyliden-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure-methylester aus. Der höher schmelzende Ester (VIIIa) vom Smp. 134—137° krystallisierte in kleinen halbkugeligen Drusen und der niedriger schmelzende (VIIIb) vom Smp. 118—119° in grossen, prachtvollen Rhomben. Während sich aber letztere Verbindung leicht reinigen liess und scharf schmolz, bereitete es erhebliche Schwierigkeiten den isomeren Ester bis zum konstanten Schmelzpunkt zu reinigen. So

beobachteten wir gewöhnlich Schmelzpunkte zwischen 125—131° und an einigen Präparaten den Smp. 134—137°. Die Analysen ergaben folgende Werte:

Ester vom Smp. 134—137° (VIIIa).

4,172 mg Subst. gaben 11,85 mg CO₂ und 2,71 mg H₂O

C ₂₀ H ₂₂ O ₄	Ber. C 77,39	H 7,14%
	Gef. „ 77,54	„ 7,27%

Ester vom Smp. 118—119° (VIIIb).

C ₂₀ H ₂₂ O ₄	Ber. C 77,39	H 7,14%
	Gef. „ 77,52	„ 6,92%

b) Durch Wasserabspaltung mittels Jod in Chloroform.

2,0 g Carbinol vom Smp. 153° wurden in einer Lösung von 100 mg Jod in 20 cm³ Chloroform 1 Stunde gekocht. Nach Ausschütteln mit verdünnter Natriumthiosulfat-Lösung dampfte man die bräunliche Lösung ein und erhielt 1,85 g grünliches Öl, welches beim Anreiben mit Äther durchkristallisierte. Durch Umlösen aus Alkohol erhielt man wie im vorigen Versuch die beiden Ester VIIIa und VIIIb nebeneinander.

c) Versuche zur Umlagerung der beiden isomeren Ester.

1. 270 mg Ester VIIIa vom Smp. 134—137° wurden 12 Stunden in 5 cm³ 90-proz. Ameisensäure auf 100° erhitzt. Die Aufarbeitung ergab 240 mg dunkles Öl. Dieses löste man in Petroläther, filtrierte durch 2 g Aluminiumoxyd und wusch mit Petroläther nach. Nach dem Eindampfen des farblosen Filtrates erhielt man 200 mg farbloses Öl, aus welchem sich durch wiederholtes Umkrystallisieren und mechanisches Trennen der Krystallisate 80 mg rhombische Krystalle vom Smp. 118° und 90 mg Krystalldrusen vom Smp. 125 bis 130° isolieren liessen.

2. 270 mg Ester VIIIb vom Smp. 118° wurden der gleichen Behandlung und Reinigung wie oben unterzogen. Wir erhielten ebenfalls 200 mg farbloses Öl, aus welchem wir neben 70 mg öligen Produkten 50 mg Ester vom Smp. 125—130° und 80 mg Ester vom Smp. 118° abscheiden konnten.

1-Äthyliden-2-methyl-7-methoxy-1, 2, 3, 4-tetrahydro-phenanthren
2-carbonsäuren (IXa und IXb).

a) Verseifung des Esters vom Smp. 134—137°.

Im offenen Kölbchen erhitzte man 3,30 g Ester VIIIa in einer Mischung von 16,5 g Kaliumhydroxyd, 5 cm³ Wasser und 10 cm³ Äthanol im Ölbad von 160°. Nach dem Verdampfen des Alkohols krystallisierte noch in der Wärme das Kaliumsalz der ungesättigten Carbonsäure aus. Wir nahmen in 100 cm³ Wasser auf, worauf sich nach kurzem Stehen das schwer lösliche Kaliumsalz in glänzenden Plättchen ausschied. Durch Zersetzen mit verdünnter Salzsäure erhielt man daraus 2,51 g 1-Äthyliden-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure (IXa) vom Smp. (195°) 213—215° unter Zersetzung. Umlösen aus Aceton erhöhte den Schmelzpunkt nicht mehr.

3,958 mg Subst. gaben 11,16 mg CO₂ und 2,41 mg H₂O

C ₁₉ H ₂₀ O ₃	Ber. C 77,00	H 6,80%
	Gef. „ 76,93	„ 6,81%

Die Säure krystallisierte aus Aceton in derben Krystallen und zersetzte sich beim Schmelzen unter Decarboxylierung.

b) Verseifung des Esters vom Smp. 118—119°.

700 mg Ester VIIIb wurden in einer Mischung von 3,5 g Kaliumhydroxyd, 1 cm³ Wasser und 5 cm³ Äthanol wie in Versuch a) verseift. Die Aufarbeitung ergab 650 mg Rohsäure. Aus Aceton/Petroläther umgelöst, schmolz die 1-Äthyliden-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure (IXb) bei (175°) 185—186° unter Zersetzung.

3,128 mg Subst. gaben 8,82 mg CO₂ und 1,85 mg H₂O

C ₁₉ H ₂₀ O ₃	Ber. C 77,00	H 6,80%
	Gef. „ 76,95	„ 6,62%

Die Carbonsäure IXb ist etwas leichter löslich in Aceton und Alkohol als ihr höher schmelzendes Isomere. Beide Säuren lösen sich, wie auch ihre Ester, in konzentrierter Schwefelsäure mit dunkelroter Farbe auf.

c) Decarboxylierung der beiden ungesättigten Säuren IXa und IXb.

280 mg Säure IXa vom Smp. 213—215° erhitze man etwa 5 Minuten im Bad von 220°. Nach dem Aufhören der Gasentwicklung lösten wir das bräunliche Reaktionsprodukt in Benzol/Petroläther 1:1 und filtrierten durch 2 g Aluminiumoxyd. Nach dem Eindampfen des beinahe farblosen Filtrates krystallisierte man den Rückstand aus wenig Methanol um und erhielt vermutlich 1-Äthyliden-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren (XII) in kleinen Krystalldrusen vom Smp. 101,5—102,5°.

4,056 mg Subst. gaben 12,76 mg CO₂ und 2,93 mg H₂O

C₁₉H₂₀O Ber. C 85,67 H 7,99%

Gef. „ 85,86 „ 8,08%

400 mg Säure IXb vom Smp. 185—186° wurden analog dem obigen Beispiel decarboxyliert. Die Aufarbeitung ergab 320 mg Rohprodukt, welches aus Methanol umgelöst bei 101,5—102,5° schmolz und mit dem aus der höher schmelzenden Carbonsäure erhaltenen Produkt keine Schmelzpunktserniedrigung zeigte.

1-Äthyliden-2-methyl-7-oxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure (Xb).

a) 11,75 g eines Isomeren-Gemisches der ungesättigten Säuren IXa und IXb vom Smp. 158—173° wurden im Eisenrohr in einer Mischung von 50 g Kaliumhydroxyd und 120 cm³ Methanol 5 Stunden auf 200° erhitzt. Nach dem Lösen des dunkeln Reaktionsgutes in Wasser säuerte man mit Salzsäure an und nahm in Äther auf. Hierauf schüttelte man die ätherische Lösung erschöpfend mit verdünnter Sodalösung aus. Nach dem Eindampfen des Äthers blieben 1,10 g (10%) neutrales Öl zurück, während durch Ansäuern der Sodalösung 9,90 g krystallisierte Carbonsäure vom Smp. (190°) 205—207° (Zersetzung) erhalten wurden. Wiederholtes Umlösen aus Methanol erhöhte den Schmelzpunkt der 1-Äthyliden-2-methyl-7-oxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäure (Xb) auf 215 bis 216°. Zur Analyse wurde 6 Stunden bei 140°/0,2 mm getrocknet.

4,662 mg Subst. gaben 13,07 mg CO₂ und 2,64 mg H₂O

C₁₈H₁₈O₃ Ber. C 76,57 H 6,43%

Gef. „ 76,49 „ 6,48%

Zum gleichen Resultat kamen wir, als wir das rohe Gemisch der ungesättigten Ester VIIa und VIIIb bei 200° mit alkoholischer Kalilauge verseiften.

Die Umsetzung von 1,30 g Oxycarbonsäure Xb mit ätherischer Diazomethanolösung führte zum 1-Äthyliden-2-methyl-7-oxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-carbonsäuremethylester (XIb), welcher aus verdünntem Methanol in kleinen Plättchen krystallisierte und bei 209—211° schmolz.

4,261 mg Subst. gaben 11,99 mg CO₂ und 2,61 mg H₂O

C₁₉H₂₀O₃ Ber. C 77,00 H 6,80%

Gef. „ 76,81 „ 6,85%

140 mg dieses Esters löste man in überschüssiger Natronlauge und behandelte mit Dimethylsulfat. Nach kurzer Zeit schieden sich 120 mg Öl ab, welches aus Methanol umgelöst bei 118—119° schmolz und keine Schmelzpunktserniedrigung mit dem Ester VIIIb zeigte.

Darstellung der normalen Bisdehydro-doisylnsäure (II, n).

1. Hydrierung der ungesättigten Säure IXa vom Smp. 213—215°.

600 mg Säure IXa schüttelte man bei 50° in einer Lösung von 25 cm³ Wasser und 800 mg Natriumhydroxyd mit 500 mg Nickelkatalysator nach *Rupe* 6 Stunden unter Wasserstoff. Dabei wurden 46,1 cm³ Wasserstoff (0°/760 mm) entsprechend 1 Mol aufgenommen. Die Aufarbeitung ergab 600 mg rohe 7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure vom Smp. (180°) 210—222°. Zur Aufspaltung der Methoxygruppe erhitzen wir das Rohprodukt 3 Stunden mit 2,4 g Pyridin-hydrochlorid im Bad von 180°. Nach dem Erkalten

nahm man in verdünnter Salzsäure und Äther auf und erhielt nach Abdestillieren des Äthers 550 mg Bisdehydro-doisylnsäure. Zur Abtrennung allfällig vorhandener Iso-bisdehydro-doisylnsäure lösten wir die Rohsäure in 4 cm³ 16-proz. Sodalösung und 80 cm³ Wasser, entfernten neutrale Verunreinigungen (40 mg) mit Äther und behandelten die sodaalkalische Lösung mit Kohlendioxyd. Dabei wurden aber nur Spuren eines Harzes abgeschieden. Man filtrierte, säuerte an und erhielt 480 mg (84% der Theorie) Bisdehydro-doisylnsäure (II, n), welche aus verdünntem Methanol umgelöst bei 204° ohne Zersetzung schmolz. Spuren von Feuchtigkeit oder Lösungsmittel erniedrigen den Schmelzpunkt bis auf 150°. Zur Analyse trocknete man 6 Stunden im Hochvakuum bei 150°.

3,619 mg Subst. gaben 10,08 mg CO₂ und 2,27 mg H₂O
 $C_{18}H_{20}O_3$ Ber. C 76,03 H 7,09%
 Gef. „ 75,98 „ 7,02%

Die normale Bisdehydro-doisylnsäure krystallisiert aus verdünntem Methanol in kleinen Plättchen, die sich an Licht und Luft etwas bräunlich färben. Besonders empfindlich gegenüber der Einwirkung von Licht und Sauerstoff sind Lösungen der Alkalisalze. Mit diazotierter Sulfanilsäure gibt das Natriumsalz eine schöne rote Färbung, während sich die Säure selbst in konzentrierter Schwefelsäure mit gelblicher Farbe auflöst.

2. Hydrierung der ungesättigten Säure IXb vom Smp. 185—186°.

500 mg Säure IXb nahmen wir in einer Lösung von 1,32 g Natriumhydroxyd in 50 cm³ Wasser auf und hydrierten bei 50° in Gegenwart von 500 mg Nickelkatalysator, wobei die Wasserstoffaufnahme, wie im ersten Versuch, genau 1 Mol betrug. Die Aufarbeitung ergab 490 mg Krystallinat vom Smp. (200°) 215—224°. Nach dem Erhitzen mit 2 g Pyridin-hydrochlorid bei 180° gewannen wir 430 mg rohe Bisdehydro-doisylnsäure, deren Natriumsalz, wie oben beschrieben, in soda-alkalischer Lösung der Behandlung mit Kohlendioxyd unterworfen wurde. Auch hier wurden nur sehr wenig Verunreinigungen abgeschieden. Aus dem Filtrat erhielten wir nach dem Ansäuern mit Salzsäure 400 mg (84% der Theorie) normale Bisdehydro-doisylnsäure vom Smp. 194—198°. Umlösen aus verdünntem Methanol erhöhte den Smp. auf 204°.

3. Hydrierung der ungesättigten Oxycarbonsäure vom Smp. 215—216° (Xb).

Wir lösten 2,50 g Oxysäure Xb in einer Lösung von 3,6 g Natriumhydroxyd und 100 cm³ Wasser und schüttelten in Gegenwart von 3 g Nickelkatalysator unter Wasserstoff. Nach Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff war die Hydrierung beendet. Die erhaltenen 2,45 g roher Bisdehydro-doisylnsäure ergaben bei der Behandlung mit Kohlendioxyd wieder nur Spuren einer Ausfällung. Aus dem Filtrat wurden 2,15 g normale Bisdehydro-doisylnsäure (86% der Theorie) gefällt. Sie schmolz zwischen 196—202° und war demnach schon weitgehend rein.

n-Bisdehydro-doisylnsäure-methylester (XIV, n).

460 mg n-Bisdehydro-doisylnsäure wurden mittels ätherischer Diazomethanlösung verestert. Aus wässrigem Methanol krystallisierte der Methylester der Bisdehydro-doisylnsäure in glänzenden Plättchen vom Smp. 84—86° aus. Erst nach längerer Trocknung im Hochvakuum, wobei die Temperatur allmählich von 80° auf 100° gesteigert wurde, erhöhte sich der Smp. auf 117°.

3,620 mg Subst. gaben 10,15 mg CO₂ und 2,34 mg H₂O
 $C_{19}H_{22}O_3$ Ber. C 76,48 H 7,43%
 Gef. „ 76,50 „ 7,43%

n-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure-methylester (XV, n).

200 mg Methylester XIV, n methylierte man in 10 cm³ 2-n. Natronlauge mittels überschüssigem Dimethylsulfat. Das Rohprodukt aus verdünntem Methanol umgelöst, krystallisierte in derben Krystallen vom Smp. 76—78° und stellte den n-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure-methylester dar.

3,786 mg Subst. gaben 10,67 mg CO₂ und 2,58 mg H₂O
 $C_{20}H_{24}O_3$ Ber. C 76,89 H 7,74%
 Gef. „ 76,91 „ 7,62%

Den gleichen Ester erhielten wir auch, wenn wir die n-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure (XIII, n) mit Diazomethan behandelten. Er entstand auch durch Hydrierung des rohen Äther-Esters VIII in Gegenwart von Platinoxid in Alkohol, neben wenig der isomeren Verbindung (XV, iso).

n-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure (XIII, n).

500 mg Äther-Ester XV, n wurden mit 2 g Kaliumhydroxyd, 1 cm³ Wasser und 2 cm³ Äthanol bis zum Verdampfen des Alkohols im Bad von 160° erhitzt. Hierauf nahm man die erkaltete Mischung in Wasser auf und fällte mit Salzsäure 450 mg n-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure. Aus verdünntem Aceton umgelöst, schmolz sie bei 228—230°. Zur Analyse wurde 6 Stunden bei 140° im Hochvakuum getrocknet.

4,740 mg Subst. gaben 13,28 mg CO₂ und 3,07 mg H₂O

C₁₉H₂₂O₃ Ber. C 76,48 H 7,43%
Gef. „ 76,45 „ 7,25%

Durch Behandlung mit Pyridin-hydrochlorid bei 180° oder mit Kaliumhydroxyd bei 200° geht XIII, n wieder in die normale Bisdehydro-doisylnsäure (II, n) über.

Propionat des n-Bisdehydro-doisylnsäure-methylesters (XVI, n).

1,5 g n-Bisdehydro-doisylnsäure-methylester liess man 4 Stunden in einer Mischung von 2,60 g Propionsäure-anhydrid und 10 cm³ Pyridin bei Zimmertemperatur stehen. Man versetzte mit Wasser, nahm in Äther auf, wusch mit verdünnter Sodalösung, Salzsäure und Wasser und erhielt nach dem Abdestillieren des Äthers 1,65 g Rohester. Aus Methanol umgelöst krystallisierte das Propionat des n-Bisdehydro-doisylnsäure-methylesters in seidenglänzenden Plättchen aus und schmolz zwischen 89—90°.

4,506 mg Subst. gaben 12,31 mg CO₂ und 2,92 mg H₂O

C₂₂H₂₆O₄ Ber. C 74,55 H 7,39%
Gef. „ 74,54 „ 7,25%

Benzoat des n-Bisdehydro-doisylnsäure-methylesters (XVII, n).

1,2 g n-Bisdehydro-doisylnsäure-methylester wurden nach Schotten-Baumann benzoiliert. Das in quantitativer Ausbeute erhaltene Benzoat des n-Bisdehydro-doisylnsäure-methylesters schmolz, aus Methanol umgelöst, bei 130—132°.

3,560 mg Subst. gaben 10,13 mg CO₂ und 2,09 mg H₂O

C₂₆H₂₆O₄ Ber. C 77,59 H 6,51%
Gef. „ 77,66 „ 6,57%

Darstellung der iso-Bisdehydro-doisylnsäure (II, iso).

In Gegenwart von 2,40 g Nickelkatalysator hydrierte man 1,20 g eines Isomeren-gemisches der ungesättigten 7-Methoxysäuren IXa und IXb in einer Lösung von 880 mg Natriumcarbonat in 60 cm³ Wasser. Nach Ablauf von 44 Stunden waren 95 cm³ Wasserstoff (0°/760 mm) entsprechend 1 Mol aufgenommen. Man filtrierte vom Nickel ab und gewann nach dem Ansäuern des Filtrates 1,17 g hydrierte Säure. Diese wurde mit Hilfe von 6 g Pyridin-hydrochlorid bei 180° gespalten, worauf man das Gemisch der isomeren Bisdehydro-doisylnsäuren in einer Lösung von 4 cm³ 16-proz. Sodalösung und 130 cm³ Wasser mit Kohlendioxid behandelte. Nach kurzer Zeit schieden sich unter starkem Aufschäumen 640 mg rohe iso-Bisdehydro-doisylnsäure vom Smp. 225—235° aus. Aus dem Filtrat fielen auf Zusatz von Mineralsäure 440 mg normale Bisdehydro-doisylnsäure vom Smp. 185—190° an.

Mehrmals aus Methanol umgelöst erhielt man die reine iso-Bisdehydro-doisylnsäure (II, iso) in kleinen, rein weissen Plättchen, die zwischen 238—240° (sintern ab 234°) schmolzen.

4,138 mg Subst. gaben 11,54 mg CO₂ und 2,54 mg H₂O

C₁₈H₂₀O₃ Ber. C 76,03 H 7,09%
Gef. „ 76,10 „ 6,88%

Die iso-Bisdehydro-doisylnsäure ist schwerer löslich in Alkohol und Äther als die normale Säure, auch ist sie gegen Licht und Sauerstoff beständiger. Gegenüber diazotierter Sulfanilsäure und konzentrierter Schwefelsäure verhalten sich beide Säuren gleich.

iso-Bisdehydro-doisylnsäure-methylester (XIV, iso).

2,0 g Isosäure (II, iso) wurden in 30 cm³ Aceton gelöst und mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Das Rohprodukt krystallisierte man aus verdünntem Methanol um und gewann den Methylester der iso-Bisdehydro-doisylnsäure in derben Polyedern vom Smp. 200—201°.

3,539 mg Subst. gaben 9,93 mg CO₂ und 2,35 mg H₂O
 $C_{19}H_{22}O_3$ Ber. C 76,48 H 7,43%
 Gef. „ 76,56 „ 7,43%

iso-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure-methylester (XV, iso).

500 mg Ester (XIV, iso) löste man in 10 cm³ 2-n. Natronlauge und behandelte mit überschüssigem Dimethylsulfat. Der entstandene iso-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure-methylester krystallisierte aus Methanol in schönen Rhomboedern vom Smp. 117—118,5°.

4,280 mg Subst. gaben 12,04 mg CO₂ und 3,01 mg H₂O
 $C_{20}H_{24}O_3$ Ber. C 76,89 H 7,74%
 Gef. „ 76,78 „ 7,87%

Den gleichen Ester gewannen wir durch Veresterung der iso-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure mittels Diazomethan oder in geringer Menge durch Hydrierung von VIII neben XV, n.

iso-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure (XIII, iso).

1 g Äther-Ester (XV, iso) wurde analog dem normalen Ester verseift. Aus verdünntem Alkohol oder Aceton umgelöst, krystallisierte die iso-7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure in derben Nadeln vom Smp. 204—206°.

4,150 mg Subst. gaben 11,61 mg CO₂ und 2,72 mg H₂O
 $C_{19}H_{22}O_3$ Ber. C 76,48 H 7,43%
 Gef. „ 76,37 „ 7,33%

Behandlung mit Pyridin-hydrochlorid oder schmelzendem Kaliumhydroxyd führt zur freien iso-Bisdehydro-doisylnsäure (II, iso) zurück.

Propionat des iso-Bisdehydro-doisylnsäure-methylesters (XVI, iso).

Eine Mischung von 400 mg iso-Bisdehydro-doisylnsäure-methylester (XIV, iso) in 600 mg Propionsäure-anhydrid und 5 cm³ Pyridin liess man 4 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Nach der Aufarbeitung erhielten wir in guter Ausbeute das 7-Propionat des iso-Bisdehydro-doisylnsäure-methylesters, welches aus Alkohol umkrystallisiert, bei 102—103° schmolz.

4,408 mg Subst. gaben 12,04 mg CO₂ und 2,92 mg H₂O
 $C_{22}H_{26}O_4$ Ber. C 74,55 H 7,39%
 Gef. „ 74,52 „ 7,41%

Benzoat des iso-Bisdehydro-doisylnsäure-methylesters (XVII, iso).

300 mg Ester (XIV, iso) wurden nach Schotten-Baumann benzoiliert. Das Rohprodukt (400 mg) löste man einige Male aus Alkohol um, worauf man das Benzoat des iso-Bisdehydro-doisylnsäure-methylesters in kleinen Nadeln vom Smp. 136—138° erhielt.

3,699 mg Subst. gaben 10,54 mg CO₂ und 2,18 mg H₂O
 $C_{28}H_{26}O_4$ Ber. C 77,59 H 6,51%
 Gef. „ 77,76 „ 6,59%

Die Analysen wurden in unserem Laboratorium unter der Leitung von Hrn. Dr. Gysel durchgeführt.

Forschungslaboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel
 Pharmazeutische Abteilung.

172. Über Steroide und Sexualhormone.

(117. Mitteilung¹⁾).Neue Derivate und Umwandlungsprodukte von Δ^5 -17-Äthinyl-androsten-diol-(3 β ,17 α) und Δ^5 -Pregnen-20-on-diol-(3 β ,17 α)

von E. Hardegger und C. Scholz.

(12. IX. 45.)

Vor einiger Zeit²⁾ beschrieben wir die Herstellung von 17 α -Oxy-20-keto-Verbindungen der Steroid-Reihe aus Acetylen-carbinolen vom Typus des Δ^5 -17-Äthinyl-androsten-diols-(3 β ,17 α) (I). Die in guter Ausbeute durchgeführte Reaktion liess es aussichtsreich erscheinen, 17,20-Oxy-ketone zur Bereitung von im Ringe D ungesättigten Steroiden mit einer Oxy- bzw. Ketogruppe am C-Atom 20 zu verwenden.

Trotz zahlreicher Versuche war es uns nicht möglich, die früheren Angaben bezüglich Ausbeute und Einheitlichkeit der Reaktionsprodukte zu reproduzieren³⁾. Für die beabsichtigten Umwandlungen schien es deshalb zweckmässiger, von den leichter zugänglichen Estern des Δ^5 -Pregnen-20-on-diols-(3 β ,17 α) (II) bzw. des Δ^5 -17-Äthinyl-androsten-diols-(3 β ,17 α) (I) auszugehen. Nach ergebnislosen Versuchen im Monoacetat (Ia) die tertiäre Oxygruppe mit Anthrachinon- β -carbonsäurechlorid umzusetzen, konnte mit Stearylchlorid das Δ^5 -17-Äthinyl-androsten-diol-3 β -acetat-17 α -stearat (Ib) hergestellt werden. Die Überführung des Acetat-stearats (Ib) in Δ^5 -Pregnen-20-on-diol-3 β -acetat-17 α -stearat (IIb) durch Hydratisierung mit Borfluorid-Äther und Quecksilberoxyd in Acetanhydrid-Eisessig gelang ohne Schwierigkeiten⁴⁾. Bei der alkalischen Verseifung des Δ^5 -Pregnen-20-on-diol-3 β -acetat-17 α -stearats wurde, wie in Analogie mit dem Diacetat (Ic) zu erwarten war⁵⁾, Δ^5 -3 β ,17 α -Dioxy-17 α -methyl-D-homo-androsten-17-on (IV) erhalten. Überraschenderweise erwies sich das Keton (IIb) bei hohen Temperaturen, z. B. bei kurzem Sieden unter Atmosphärendruck, als recht beständig. Aus den nach längerem Kochen von (IIb) entstandenen Zersetzungsprodukten konnte auf chromatographischem Wege kein Δ^5 ,16-Pregnadien-20-on-3 β -ol-acetat (IIIa) isoliert werden⁶⁾.

¹⁾ 116. Mitt. Helv. **28**, 1049 (1945).

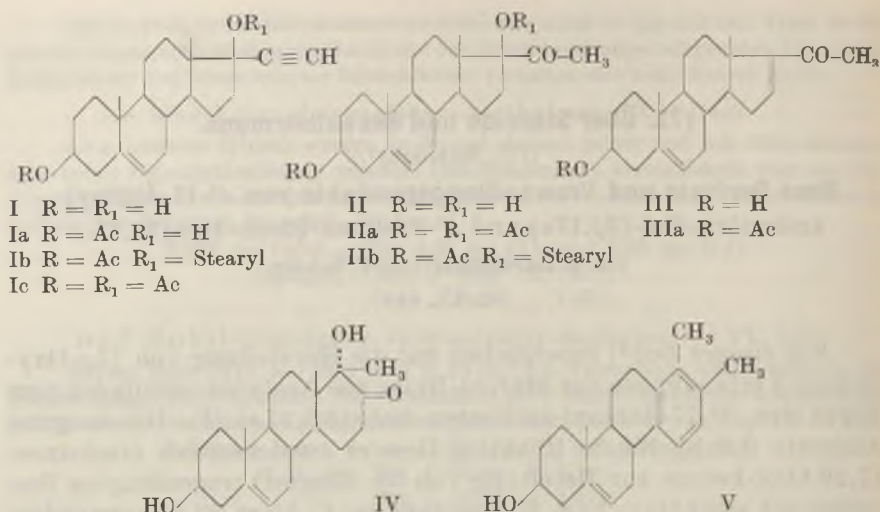
²⁾ M. W. Goldberg, R. Aeschbacher und E. Hardegger, Helv. **24**, 680 (1943).

³⁾ Für neuere Präparate von Δ^5 -3 β ,17 α -Dioxy-pregnen-20-on (II) fanden wir bei gleicher opt. Drehung wie früher den um 30° tieferen Smp. von 163°.

⁴⁾ Vgl. dazu Helv. **21**, 1760 (1938).

⁵⁾ Helv. **22**, 626 (1939)

⁶⁾ Vgl. dazu die thermische Spaltung von Δ^5 -3 β -Acetoxy-17 α -benzoxy-pregnen-20-on, Helv. **26**, 1009 (1943).



Im Hinblick auf die Umwandlung verschiedener tertiärer Acetylen-carbinole zu α, β -ungesättigten Ketonen unter der Einwirkung von Ameisensäure¹⁾ versuchten wir erneut, diese Reaktion auf Verbindungen der Steroid-Reihe zu übertragen. Es schien dabei nicht ausgeschlossen, aus Äthinyl-androstendiol-(3 β , 17 α) (I) in einer Operation zum $\Delta^{5,16}$ -Pregnadien-20-on-3 β -ol (III) zu gelangen. In orientierenden Versuchen konnten nach der Behandlung von (I) mit Ameisensäure 2 krystallisierte Verbindungen $C_{21}H_{28}O$ und $C_{21}H_{26}$ isoliert werden. Die erstere der beiden Verbindungen gab bei der Acetylierung mit Pyridin und Acetanhydrid ein Acetat $C_{23}H_{30}O_2$, welches sich im Schmelzpunkt und besonders in der stark negativen optischen Drehung ($[\alpha]_D = -250^\circ$) von dem $\Delta^{5,16}$ -3 β -Acetoxy-pregnadien-20-in ($[\alpha]_1 = -60^\circ$) unterscheidet. Da die Struktur dieser von *Shoppee* und *Prins* kürzlich beschriebenen²⁾ Verbindung auf Grund ihrer Herstellungsweise und ihrer Umsetzungen mit Sicherheit feststeht, ist anzunehmen, dass der von uns mit Ameisensäure hergestellten Verbindung gleicher Bruttozusammensetzung nicht mehr das ursprüngliche Steroidskelett zugrunde liegt. Diese Vermutung wird durch das U.V.-Absorptionsspektrum gestützt, dessen Maximum bei 270 m μ ($\log \epsilon = 2,7$) möglicherweise auf das Vorliegen eines aromatischen und demzufolge 6-gliedrigen D-Ringes³⁾ hinweist. Auf Grund dieser Feststellungen kann angenommen werden, dass auch dem früher⁴⁾ von *H. H. Inhoffen* und Mitarbeitern aus Äthinyl-testosteron mit Ameisen-

¹⁾ Z. B. G. F. Fischer und K. Löwenberg, A. 475, 183 (1929); C. D. Hurd und R. E. Christ, Am. Soc. 59, 118 (1937).

²⁾ Helv. 26, 1013 (1943).

³⁾ Vgl. dazu die Strukturformel (V).

⁴⁾ H. H. Inhoffen, W. Logemann, W. Hohlweg und A. Serini, B. 71, 1032 (1938).

säure hergestellten, als $\Delta^{5,16}$ -3-Keto-pregnadien-20-in beschriebenen Präparat nicht die ihm zugewiesene Konstitution zukommt.

Die katalytische Hydrierung des Diacetoxy-ketons (IIa) mit *Raney*-Nickel unter Druck und erhöhter Temperatur gab als Hauptprodukt das gesättigte $3\beta, 17\alpha$ -Diacetoxy-*allo*-pregnan-20-on¹⁾. Unter energischeren Hydrierungsbedingungen und mit Kupferchromit²⁾ als Katalysator entstand aus (IIa) unter Verlust eines Sauerstoffatoms ein einfach ungesättigtes Diacetat $C_{25}H_{38}O_4$, welches mit Platin unter Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff zur gesättigten Verbindung $C_{25}H_{40}O_4$ hydriert wurde. Für diese beiden Diacetate steht mit Sicherheit lediglich fest, dass sie mit keinem der bekannten Δ^5 -Diacetoxy-pregnene bzw. Diacetoxy-*allo*-pregnane identisch sind. Ein zu Vergleichszwecken aus *trans*-D-Homo-androsteron mit Methylmagnesiumbromid und nachfolgender Acetylierung hergestelltes $3\beta, 17\alpha$ -Diacetoxy-17 α -methyl-D-homo-androstan erwies sich ebenfalls verschieden von dem gesättigten Diacetat $C_{25}H_{40}O_4$.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Ciba A.G.* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil³⁾.

Δ^5 -Pregnen-20-on- $3\beta, 17\alpha$ -diol⁴⁾ (II).

Das aus Essigester krystallisierte, bei 162,5–163° schmelzende Dioxy-keton wurde zur Analyse 24 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,805 mg Subst. gaben 10,556 mg CO₂ und 3,264 mg H₂O

$C_{21}H_{32}O_3$ Ber. C 75,86 H 9,70%

Gef. „ 75,71 „ 9,60%

$[\alpha]_D = -82^\circ$ (c = 1,24 in Dioxan)

Δ^5 -17-Äthynyl-androsten-diol- 3β -acetat-17 α -stearat (Ib).

2,4 g Δ^5 - 3β -Acetoxy-17 α -oxy-17-äthynyl-androsten (Ia) ($[\alpha]_D = -115^\circ$, c = 1,0 in Dioxan), 14,5 cm³ Pyridin und 4,8 cm³ Stearylchlorid⁵⁾ wurden 24 Stunden im geschlossenen Rohr auf 95° erhitzt. Das chromatographisch gereinigte Stearat schmolz bei 82,5 bis 83,5°. Zur Analyse wurde das aus Äther-Methanol umkrystallisierte Präparat 30 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

3,732 mg Subst. gaben 10,816 mg CO₂ und 3,616 mg H₂O

$C_{41}H_{66}O_4$ Ber. C 79,05 H 10,68%

Gef. „ 79,10 „ 10,84%

$[\alpha]_D = -54^\circ$ (c = 0,76 in Dioxan)

Δ^5 -Pregnen-20-on-diol- 3β -acetat-17 α -stearat (IIb).

Zu einer Auflösung von 1,25 g gelbem Quecksilberoxyd und 2,4 g Δ^5 -17-Äthynyl-androsten-diol- 3β -acetat-17 α -stearat (Ib) in 50 cm³ Eisessig und 10 cm³ Acetanhydrid

¹⁾ C. W. Shoppee und D. A. Prins, *Helv.* **26**, 194 (1943).

²⁾ Hergestellt nach *Org. Synth.* **19**, 31 (1939).

³⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

⁴⁾ Hergestellt nach M. W. Goldberg, R. Aeschbacher und E. Hardegger, *Helv.* **26**, 680 (1943); C. W. Shoppee und D. A. Prins, *Helv.* **26**, 212 (1943), fanden einen Smp. von 176–179° und eine spez. Drehung von -60° (in Chloroform).

⁵⁾ Hergestellt nach G. Izar, *Bioch. Z.* **40**, 403 (1912).

wurde 1 cm³ Bortrifluorid-Äther¹⁾ zugegeben. Nach 25 Stunden wurde die Mischung in Eiswasser gegossen und mit 500 cm³ 2-n. Natronlauge alkalisiert. Das in Äther aufgenommene Reaktionsprodukt schmolz nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Methanol bei 82,5—83°. Das Analysenpräparat (1,2 g) wurde 36 Stunden bei 75° im Hochvakuum getrocknet.

3,740 mg Subst. gaben 10,537 mg CO₂ und 3,565 mg H₂O

C₄₁H₆₈O₅ Ber. C 76,82 H 10,69%

Gef. „ 76,89 „ 10,67%

[α]_D = -18° (c = 0,90 in Dioxan)

*Δ*⁵-3β,17α-Dioxy-17α-methyl-D-homo-androsten-17-on.

100 mg *Δ*⁵-Pregnen-20-on-3β-acetat-17α-stearat (IIb) wurden 16 Stunden mit 2 cm³ 0,5-n. methanolischer Kalilauge am Rückfluss gekocht. Das durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Essigester und Sublimation im Hochvakuum von der Stearinsäure bzw. vom Kaliumstearat befreite Präparat schmolz bei 281—282°. Die Mischprobe mit *Δ*⁵-3β,17α-Dioxy-17α-methyl-D-homo-androsten-17-on anderer Herkunft gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Das Analysenpräparat wurde mehrmals im Hochvakuum sublimiert.

3,155 mg Subst. gaben 8,753 mg CO₂ und 2,757 mg H₂O

C₂₁H₃₂O₃ Ber. C 75,86 H 9,70%

Gef. „ 75,71 „ 9,77%

Einwirkung von Ameisensäure auf *Δ*⁵-17-Äthynyl-androsten-3β,17α-diol (I).

4 g *Δ*⁵-17-Äthynyl-androsten-3β,17α-diol wurden in 100 cm³ 90-proz. Ameisensäure während 1 Stunde im Sieden gehalten. Die Ameisensäure wurde im Vakuum abgedampft und der Rückstand mit 200 cm³ 0,1-n. methanolischer Kalilauge 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Aus den chromatographisch gereinigten Neutralteilen wurden 1,2 g einer bei 176—177° schmelzenden Verbindung isoliert. Das aus Äther krystallisierte Analysenpräparat wurde 30 Stunden bei 100° im Hochvakuum getrocknet.

3,632 mg Subst. gaben 11,302 mg CO₂ und 3,062 mg H₂O

C₂₁H₂₈O Ber. C 85,08 H 9,52%

Gef. „ 84,92 „ 9,44%

[α]_D = -287° (c = 1,18 in Dioxan)

Acetat: Das durch Acetylierung mit Acetanhydrid und Pyridin bei Zimmertemperatur erhaltene Präparat schmolz nach dem Umkrystallisieren aus Äther-Methanol bei 140—141°. Das Acetat wurde zur Analyse 60 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,735 mg Subst. gaben 11,179 mg CO₂ und 3,002 mg H₂O

C₂₃H₃₀O₂ Ber. C 81,61 H 8,93%

Gef. „ 81,68 „ 8,99%

[α]_D = -250° (c = 1,1 in Dioxan)

Bei 2-stündiger Einwirkung von heisser Ameisensäure auf das Äthynyl-diol (I) entstand in geringer Menge als Nebenprodukt ein nicht ganz rein erhaltener Kohlenwasserstoff vom Smp. 192—194°. Das Präparat wurde zur Analyse 24 Stunden bei 100° getrocknet.

2,308 mg Subst. gaben 7,620 mg CO₂ und 1,909 mg H₂O

C₂₁H₂₆ Ber. C 90,59 H 9,41%

Gef. „ 90,10 „ 9,26%

Katalytische Hydrierung von *Δ*⁵-Pregnen-20-on-3β,17α-diol-diacetat (IIa).

Mit *Raney*-Nickel. Die in methanolischer Lösung während 24 Stunden bei 105° und 137 Atm. erhaltenen Hydrierungsprodukte wurden mit Pyridin und Acetanhydrid bei Zimmertemperatur nachacetyliert. Als einziger krystallisierter Anteil konnte nach chro-

¹⁾ Am. Soc. 55, 2858 (1933).

matographischer Reinigung in 50-proz. Ausbeute $3\beta,17\alpha$ -Diacetoxy-allo-pregnan-20-on vom Smp. 226—227° isoliert werden. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum sublimiert.

3,762 mg Subst. gaben 9,883 mg CO₂ und 3,146 mg H₂O

C₂₅H₃₈O₅ Ber. C 71,73 H 9,15%
Gef. „ 71,69 „ 9,36%

$[\alpha]_D = -2^\circ$ (c = 0,70 in Dioxan)

Mit Kupferchromit. 5 g Δ^5 -Pregnen-20-on- $3\beta,17\alpha$ -diol-diacetat, 50 cm³ Diäthyläther und 1 g Kupferchromit wurden 2 Stunden bei 200° und 210 Atm. Wasserstoffdruck geschüttelt. Das in Äther aufgenommene Reduktionsprodukt (4,7 g) wurde vom Katalysator abfiltriert und an Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit Petroläther-Benzol wurde eine kristallisierte Fraktion (1,15 g) erhalten, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Methanol bei 130,5—131,5° schmolz und sich mit Tetrantromethan gelb färbte. Das in dünnen Blättchen kristallisierte Analysenpräparat wurde 27 Stunden bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

3,730 mg Subst. gaben 10,147 mg CO₂ und 3,194 mg H₂O

C₂₅H₃₈O₄ Ber. C 74,59 H 9,52%
Gef. „ 74,24 „ 9,58%

$[\alpha]_D = -82^\circ$ (c = 1,03 in Dioxan)

Benzol, Benzol-Äther und Äther eluierten unverändertes Ausgangsmaterial (IIa).

200 mg des bei 130,5—131,5° schmelzenden Diacetats C₂₅H₃₈O₄ wurden in 10 cm³ Eisessig gelöst und mit Platin aus 20 mg Platinoxid hydriert. Nach Aufnahme der für 1 Mol berechneten Menge Wasserstoff war die Hydrierung beendet. Das auf übliche Weise aufbereitete und chromatographisch gereinigte Präparat kristallisierte aus Äther-Methanol in dünnen Blättchen vom Smp. 134—136°. Das gegen Tetrantromethan gesättigte Analysenpräparat wurde 24 Stunden bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

3,710 mg Subst. gaben 10,089 mg CO₂ und 3,290 mg H₂O

C₂₅H₄₀O₄ Ber. C 74,21 H 9,97%
Gef. „ 74,22 „ 9,92%

$[\alpha]_D = -36^\circ$ (c = 0,87 in Dioxan)

$3\beta,17\alpha$ -Diacetoxy-17 α -methyl-D-homo-androstan.

Zu einer Grignard'schen Lösung aus 10 g Methylbromid, 0,7 g Magnesium und 50 cm³ Äther wurde eine eisgekühlte, benzolische Lösung von 1,45 g 3β -Acetoxy-D-homo-androsteron-(17)¹ zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 16 Stunden bei 20° stehen gelassen und dann 2 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von Eis und verdünnter Salzsäure wurde die Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Die im Äther gelösten, neutral gewaschenen Produkte wurden mit Pyridin und Acetanhydrid 24 Stunden bei 110° acetyliert. Von dem an Aluminiumoxyd adsorbierten Acetatgemisch wurde mit Petroläther das bei 176—178° schmelzende $3\beta,17\alpha$ -Diacetoxy-17 α -methyl-D-homo-androstan abgelöst. Das aus Äther-Pentan in kleinen Prismen kristallisierte Diacetat wurde zur Analyse bei 160—170° im Hochvakuum sublimiert.

3,692 mg Subst. gaben 10,032 mg CO₂ und 3,229 mg H₂O

C₂₅H₄₀O₄ Ber. C 74,21 H 9,97%
Gef. „ 74,15 „ 9,79%

$[\alpha]_D = -18^\circ$ (c = 0,67 in Dioxan)

Benzol und Benzol-Äther 1:1 eluierten das 3β -Acetoxy-17 α -oxy-17 α -methyl-D-homo-androstan, das nach viermaligem Umkrystallisieren aus Äther-Pentan in Prismen vom Smp. 152,5—154°²) anfiel. Zur Analyse wurde das Präparat bei 135° im Hochvakuum sublimiert.

¹) M. W. Goldberg und E. Wydler, Helv. 26, 1142 (1943).

²) Bisweilen wurde ein Smp. von 117—118° beobachtet.

3,780 mg Subst. gaben 10,547 mg CO₂ und 3,590 mg H₂O

C₂₃H₃₈O₃ Ber. C 76,19 H 10,56%

Gef. „ 76,14 „ 10,63%

[α]_D = -40° (c = 0,49 in Dioxan)

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

173. Über Steroide und Sexualhormone.

(118. Mitteilung¹).

Über die Einwirkung von N-Brom-succinimid auf $\Delta^{20,22}$ -

3 β -Acetoxy-nor-allo-cholensäure-methylester

von L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und J. Pataki.

(12. IX. 45.)

Bei der Oxydation von $\Delta^{20,22}$ -3 β -Acetoxy-nor-allo-cholensäure-methylester (I) mit Selendioxyd in siedendem Essigsäure-anhydrid wird in ca. 30-proz. Ausbeute das $\Delta^{20,22}$ -3 β -Acetoxy-21-oxy-nor-allo-cholensäure-lacton-(23 \rightarrow 21) (II) erhalten²). Da die Ausbeuten bei dieser Umsetzung unbefriedigend sind, prüften wir neuerdings die Einwirkung von N-Brom-succinimid³) auf den genannten Ester (I) in der Hoffnung, das Lacton (II) dabei eventuell in etwas grösserer Menge zu erhalten. Trotz wechselnden Reaktionsbedingungen ist es uns aber nicht gelungen, das gesuchte Lacton (II) aus dem Bromierungsgemisch zu isolieren. In Ausbeuten, die jedoch 10% nicht überschritten, wurde ein neuer Körper gebildet, dem die Konstitution eines zweifach ungesättigten Lactons (III) zugeschrieben werden muss.

Neben den Resultaten der C,H-Analysen, die deutlich auf die Anwesenheit von 2 Doppelbindungen hinweisen, spricht vor allem das U.V.-Absorptionsspektrum der neuen Verbindung für diese Interpretation. Mit einer hohen Absorptionsbande von $\lambda_{\max} = 273 \text{ m}\mu$ reiht sich die Verbindung zwischen die einfach ungesättigten Lactone⁴), $\lambda_{\max} = 220 \text{ m}\mu$, und das dreifach ungesättigte Dianhydro-gitoxigenin (IV), für welches *Tschesche*⁵) ein Absorptionsmaximum bei $340 \text{ m}\mu$ fand, ein.

N-Brom-succinimid oxydiert also wie erwartet den ungesättigten Ester (I) zum entsprechenden (23 \rightarrow 21)-Lacton, greift aber auch

¹) 117. Mitt. vgl. Helv. **28**, 1355 (1945).

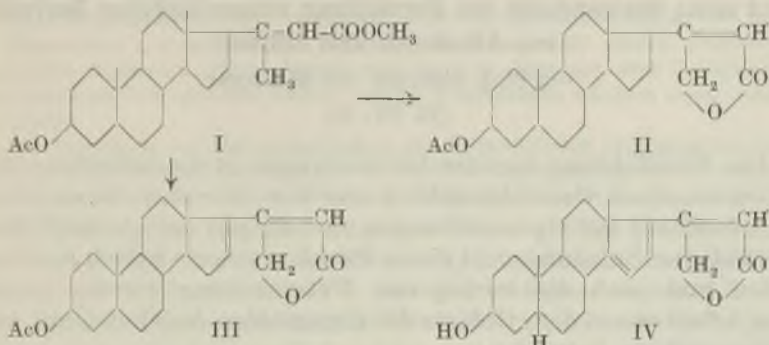
²) L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und J. Pataki, Helv. **25**, 425 (1942).

³) K. Ziegler, A. Späth, E. Schaaf, W. Schumann und E. Winkelmann, A. **551**, 80 (1942).

⁴) Vgl. L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und A. Fürst, Helv. **25**, 80 (1942).

⁵) R. Tschesche, B. **70**, 1556 (1937).

gleichzeitig in Stellung 17 an. Die Abspaltung von Bromwasserstoff, die teilweise vielleicht erst während der chromatographischen Reinigung stattfindet, führt dann zum $\Delta^{16,17;20,22}$ -3 β -Acetoxy-21-oxy-nor-allo-choladiensäure-lacton-(23 \rightarrow 21) (III).



Der Rockefeller Foundation in New York und der Ciba A.G. in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil¹⁾.

Bromierung von $\Delta^{20,22}$ -3 β -Acetoxy-nor-allo-cholensäure-methylester mit N-Brom-succinimid.

1 g $\Delta^{20,22}$ -3 β -Acetoxy-nor-allo-cholensäure-methylester, gelöst in 8 cm³ Tetrachlor-kohlenstoff, wurden mit 432 mg 98-proz. N-Brom-succinimid (1 Mol) 20 Stunden am Rückfluss gekocht. Die dunkel gefärbte Lösung wurde filtriert und das Filtrat im Vakuum zur Trockne verdampft. Der bromhaltige Rückstand (1,105 g) wurde an 20 g Aluminiumoxyd (Aktivitätsklasse II—III²⁾) chromatographisch gereinigt. Alle Eluate waren bromfrei. Die Petroläther-Benzol-Eluate (1:1) lieferten 320 mg Ausgangsmaterial. Mit Äther wurden 336 mg eines öligen Produktes eluiert, das nach Bespritzen mit Methanol kristallisierte und dann 69 mg eines Produktes vom Smp. 217—220° lieferte. Zur weiteren Reinigung wurden die Krystalle mit einem Gemisch von 1 cm³ Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid über Nacht bei Zimmertemperatur nachacetyliert. Anschliessend wurde dreimal aus Methanol bis zum konstanten Schmelzpunkt von 235—236° umkristallisiert. Es liegt das Lacton der $\Delta^{16,17,20,22}$ -3 β -Acetoxy-21-oxy-nor-allo-choladiensäure vor. Das Produkt zeigt einen stark positiven Legal-Test. Mit Tetranitromethan gibt es keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde das Präparat bei 200° im Hochvakuum sublimiert.

3,820 mg Subst. gaben 10,534 mg CO₂ und 2,962 mg H₂O

C₂₅H₃₄O₄ Ber. C 75,34 H 8,60%

Gef. „ 75,25 „ 8,68%

$[\alpha]_D^{20} = +34,4^{\circ}$ (c = 0,860 in Chloroform)

U.V.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\text{max}} = 273 \text{ m}\mu$; log $\epsilon = 4,35$.

Die Ausbeuten liessen sich durch Variation der Einwirkungszeit, der Brom-succinimid-Menge und des Lösungsmittels nicht verbessern.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

²⁾ H. Brockmann und H. Schodder, B. 74, 73 (1941).

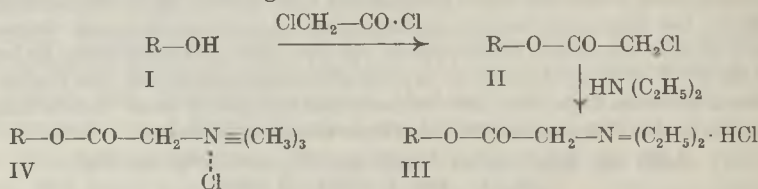
174. Über das Säurechlorid des Betain-hydrochlorids und seine Verwendung zur Herstellung wasserlöslicher Derivate von Alkoholen und Aminen

von Pl. A. Plattner und M. Geiger.

(12. IX. 45)

Die Überführung lipoider Verbindungen in wasserlösliche Form ist von manchen Gesichtspunkten aus von Interesse. Besonders im Zusammenhang mit Untersuchungen über die physiologische Wirkung lipoidlöslicher Substanzen ist dieses Problem schon vielfach bearbeitet worden und auch die vorliegende Untersuchung wurde, angeregt durch Arbeiten auf dem Gebiete der digitaloiden Aglykone, mit dieser Problemstellung begonnen.

Wir suchten ein präparativ einfaches und ergiebiges Verfahren zur Herstellung von wasserlöslichen Verbindungen aus höheren Alkoholen. Von den zahlreichen Umsetzungen, die zu diesem Zwecke von anderer Seite vorgeschlagen und experimentell geprüft wurden, schien uns das von *Küssner* und *Kreitmair*¹⁾ verwendete am besten diesen Anforderungen gerecht zu werden. Diese Autoren haben einige Aglykone natürlicher herzwirksamer Verbindungen, u. a. Strophanthidin, mit Chloracetylchlorid acyliert und durch anschließende Umsetzung der erhaltenen Chloracetate mit Diäthylamin, die entsprechenden Ester der Diäthylamino-essigsäure erhalten (Formeln I—III), welche in den beschriebenen Fällen als salzsaure Salze befriedigende Löslichkeit in Wasser zeigten.



Wie eigene Versuche²⁾ zeigten, verlaufen beide Umsetzungen (I → II; II → III) mit annähernd quantitativen Ausbeuten. Es erwies sich jedoch, dass, wenigstens in der Sterin-Reihe, die meisten der so hergestellten Verbindungen nur über eine relativ geringe Wasserlöslichkeit verfügen. Eine Erhöhung derselben hofften wir durch Übergang zu den Trialkyl-ammonium-Verbindungen (IV) zu erreichen.

Versuche, ausgehend von den Chloracetaten (II) zu Chloriden der Triäthyl- bzw. Trimethyl-ammonium-essigsäure-ester zu gelan-

1) *W. Küssner* und *H. Kreitmair*, *Merck's Jahresber.* **53**, 45 (1940), C. 1940, II, 766.

2) Vgl. dazu eine spätere Mitteilung.

(VI), wenn auch in nicht ganz befriedigender Reinheit nach dem Verfahren von *E. Fischer* durch Umsetzung von (V) mit Phosphorpentachlorid in Acetylchlorid als Lösungsmittel gewinnen. Da aber sowohl das Ausgangsprodukt (V), als auch das Endprodukt (VI) in Acetylchlorid nur wenig löslich sind, so war die vollständige Umsetzung schwer zu erreichen und auch schwierig zu kontrollieren und das rohe Säurechlorid wies einen nicht unbeträchtlichen Phosphor-Gehalt auf.

Besser eignet sich für diese Umsetzung Phosphoroxychlorid als Lösungsmittel, da darin das Betainyl-dichlorid (VI) in der Wärme gut löslich ist. Beim Abkühlen des nach erfolgter Reaktion völlig klaren Ansatzes scheidet sich dann das Säurechlorid in kristallisierter Form wieder aus. Die so hergestellten rohen Präparate enthalten meist noch etwas Phosphor als PCl_5 oder POCl_3 und kleine Mengen Betain-hydrochlorid (V), können aber für die meisten Umsetzungen gut direkt verwendet werden. Vollständig rein wird das Betainyl-dichlorid durch Umkristallisieren aus heissem Phosphoroxychlorid erhalten. Das Säurechlorid ist praktisch unlöslich in Aceton, Chloroform und Äther. Mit Wasser, Alkoholen und Aminen reagiert es äusserst heftig, so dass es bereits durch Luftfeuchtigkeit rasch hydrolysiert wird. Bei der Reaktion mit Wasser bilden sich Betain-hydrochlorid und Salzsäure, d. h. sowohl 2 Äquivalente Säure, als auch 2 Äquivalente ionogenes Chlor, was zur Gehaltsbestimmung des Produktes benützt werden kann. Eine Beimischung von Betain-hydrochlorid (V) kann ausser durch Titration nach Hydrolyse auch durch Umsetzung mit wenig Äthanol in Chloroform-Lösung leicht erkannt und annähernd quantitativ bestimmt werden, da sich dabei aus dem Betainyl-dichlorid der in CHCl_3 lösliche Äthylester bildet, während das verunreinigende Betain-hydrochlorid als ungelöster Bodensatz zurückbleibt. Das geschilderte Verfahren zur Herstellung des Betainyl-dichlorids lässt sich zweifellos auch auf homologe Betaine übertragen, wie Vorversuche mit α -Propio-betain-hydrochlorid (α -Alanin-betain) gezeigt haben. Im Falle des ebenfalls untersuchten Betains des β -Alanins trat dagegen beim Versuch zur Herstellung des Säurechlorids Abspaltung von Trimethylaminhydrochlorid und Bildung von Acrylsäurechlorid ein¹⁾.

Um einen Überblick über die Reaktionsfähigkeit des Betainyl-dichlorids und die Eigenschaften seiner Umsetzungsprodukte zu gewinnen, haben wir eine Reihe von leicht zugänglichen Verbindungen verschiedener Klassen damit zur Reaktion gebracht. Die systematischere Verwendung des Reagenzes zur Herstellung wasserlöslicher Verbindungen der Steroid-Reihe wird in einer späteren Mitteilung beschrieben werden.

¹⁾ Vgl. dazu *R. Willstätter*, B. 35, 590 (1902).

Primäre, sekundäre und tertiäre Alkohole, sowie Phenole und primäre und sekundäre Amine reagieren beim Kochen in Chloroform rasch und quantitativ. Bei der Verwendung tertiärer Alkohole tritt aber unter solchen Bedingungen weitgehende Wasserabspaltung ein, so dass hier besser in der Kälte in Gegenwart von Pyridin oder Dimethylanilin gearbeitet wird. Unter diesen Bedingungen werden auch aus tertiären Alkoholen die Ester in annähernd quantitativer Ausbeute erhalten.

Alle hergestellten Ester erwiesen sich als sehr leicht löslich in Wasser, Methanol und Äthylalkohol. Die meisten zeigen auch eine befriedigende Löslichkeit in Chloroform, was die Abtrennung von unverändertem Betainyl-dichlorid und dem durch die Anwesenheit von Feuchtigkeit gebildeten Betain-hydrochlorid erleichtert. In Chloroform praktisch unlöslich sind die aus Diolen erhältlichen Diester. Aceton und Essigester zeigen ein relativ geringes Lösungsvermögen für die Ester des Betain-hydrochlorids, so dass diese Lösungsmittel sich zum Umkrystallisieren der Reaktionsprodukte eignen. Unlöslich sind die Verbindungen in Äther, sowie in Benzol und Benzin.

Da viele Ester des Betain-hydrochlorids hygroscopisch sind und mit wechselnden Mengen Krystallwasser krystallisieren, so bereiteten die Analysen oft erhebliche Schwierigkeiten. In solchen Fällen leisten die in Alkohol schwer löslichen Pikrate zur Identifizierung gute Dienste. Bei einigen Estern wurden auch die in Methanol und besonders in Wasser schwerlöslichen Doppelverbindungen der Betain-esterchloride mit Quecksilber(II)-chlorid zur Reinigung verwendet. Die häufigste Verunreinigung der rohen Ester, das Betain-hydrochlorid, gibt ein leicht lösliches Doppelsalz.

In der Verseifungsgeschwindigkeit der verschiedenen Derivate zeigten sich recht grosse Unterschiede. Als sehr unbeständig erwiesen sich die Ester der Phenole, die durch kochendes Wasser oder schon in der Kälte durch Hydrogencarbonat rasch hydrolysiert werden. Die Ester der primären und sekundären Alkohole lassen sich rasch mit Carbonat, die der tertiären mit verdünnter Lauge in der Kälte spalten. Als recht beständig gegen Alkali erwiesen sich erwartungsgemäss die Amide. Gegen verdünnte Säuren sind die Verbindungen beständiger. Systematische Versuche in dieser Richtung wurden aber nicht unternommen.

Im Rahmen dieser orientierenden Untersuchung wurden hergestellt: Die Ester von Äthylalkohol, Benzylalkohol¹⁾ und γ -Phenylpropylalkohol, Menthol, tertiärem Amylalkohol, Terpeneol, Cedrol, Phenol, p-Oxy-benzoesäure-methylester und 2-Methyl-naphtohydrochinon²⁾. Ferner sind im experimentellen Teil die Anilide des Betain- und des α -Methyl-betain-hydrochlorids beschrieben.

¹⁾ R. R. Renshaw und H. T. Hotchkiss jr., Am. Soc. 48, 2698 (1926).

²⁾ Vgl. E. Bartholomäus, Medizin und Chemie, IV, 419 (1942), Schwz. Pat. 219 521, C. 1943, I, 2114; C. 1944, I, 568; 1944, II, 343.

Da in allen Fällen die Umsetzungen äusserst glatt und quantitativ verliefen und auch die Spaltung der Verbindungen keine Schwierigkeiten verursacht, so ist anzunehmen, dass der Verwendung des Betainyl-dichlorids zur Isolierung von Alkoholen aus Gemischen (in Analogie zu *Girard's-Reagens T*) keine grösseren Schwierigkeiten entgegenstehen werden. Entsprechende Versuche sind im Gange.

Einige der hergestellten Verbindungen wurden in der biologischen Abteilung der *Ciba* Basel auf ihre physiologische Wirkung geprüft. Für den Äthylester des Betainhydrochlorids, eine typisch parasymphathico-mimetische Substanz, konnten die Angaben der Untersuchungen von *Renshaw* und *Hunt*¹⁾ bestätigt werden. Ähnliche Wirkung, aber in bedeutend schwächerem Masse, besitzt auch das Anilid, eine Beobachtung, die auch in der Abschwächung der Wirkung beim Übergang vom „Betainester“ zum „Betainamid“ ihre Parallele hat. Die ebenfalls geprüften Ester des Menthols und des p-Oxy-benzoesäuremethylresters, von denen der erstere bei intravenöser Applikation relativ giftig ist, zeigten pharmakologisch ein uncharakteristisches Bild.

Der *Ciba A.G.* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil²⁾.

Herstellung des Betainyl-dichlorids³⁾.

20,0 g Betainhydrochlorid und 30 g Phosphorpentachlorid wurden nacheinander, fein pulverisiert, in einen 100 cm³ Schliff-Kolben, der 40 cm³ Phosphoroxychlorid enthält, eingetragen und das Gemisch 2 Stunden auf 85—90° erwärmt. Nach dieser Zeit war alles mit schwach gelber Farbe in Lösung gegangen. (Sollte sich ein geringer Teil des Betainhydrochlorids trotz längeren Erwärmens nicht lösen, so gibt man noch etwas Pentachlorid zu, worauf bald vollständige Lösung eintritt.) Beim Erkalten erstarrte die Masse zu einem dicken Krystallbrei. Nach Abkühlen in Eis wurde die Mutterlauge unter Feuchtigkeitsausschluss möglichst weitgehend mit einer Tauchnutsche weggesaugt, die fast trockene Krystallmasse noch ein- bis zweimal mit kaltem frischem Oxychlorid und darauf 3mal mit je 50 cm³ absolutem Chloroform gewaschen. Nach 3-stündigem Trocknen im Vakuum wurde ein schneeweisses Krystallpulver erhalten, das nur einen sehr geringen Phosphorgehalt aufwies (Präparat A).

Auf diese Weise können bequem Ansätze von 50 und 100 g durchgeführt werden. Die Ausbeute beträgt normalerweise 85—95% der Theorie.

Ist eine weitere Reinigung des Betainyl-dichlorids erwünscht, so wird das Präparat bei 80° in Phosphoroxychlorid gelöst und vom Betainhydrochlorid abfiltriert. Beim Abkühlen auf 0° krystallisiert das Säurechlorid fast vollständig aus. Man saugt ab, wäscht mit Phosphoroxychlorid und Chloroform und trocknet im Vakuum unter schwachem Erwärmen (Präparat B).

Löslichkeit in Phosphoroxychlorid: ca. 20 g; 7 g; 2 g in 100 cm³ bei 80—90°; 20°; 0°.

Die Analyse bot wegen der grossen Empfindlichkeit des Produktes gegen Feuchtigkeit beträchtliche Schwierigkeiten. Auf eine C, H-Analyse wurde deshalb verzichtet.

9,068 mg Präp. A gaben 14,652 mg AgCl nach *Pregl*

C₅H₁₁ONCl₂ Ber. Cl 41,21 Gef. Cl 39,97%

¹⁾ *R. R. Renshaw* und *R. Hunt*, *J. Pharmacol. exp. Therap.* **29**, 17 (1926). Vgl. auch *M. Guggenheim*, *Die biogenen Amine*, 3. Aufl. S. 197, Basel 1940.

²⁾ Teilweise mitbearbeitet von *R. Gonçalves*.

³⁾ Die angegebene Vorschrift, das Ergebnis einer Reihe von Vorversuchen, hat sich in wiederholten Ansätzen bestens bewährt.

Titration der Gesamtsäure und mercurimetrische Titration des Chlors nach Hydrolyse mit Wasser:

Präp. A	63,6 mg	verbrauchten	7,50 cm ³	0,1-n. NaOH
Präp. B	28,4 mg	verbrauchten	3,30 cm ³	0,1-n. NaOH
Präp. A	63,6 mg	verbrauchten	7,70 cm ³	0,1-n. Hg(NO ₃) ₂
Präp. B	37,2 mg	verbrauchten	4,30 cm ³	0,1-n. Hg(NO ₃) ₂
$C_5H_{11}ONCl_2$	Ber. Cl	41,21%	Äquiv.-Gew.	86
Präp. A	Gef. „	42,93%	„	84,8
Präp. B	„ „	41,01%	„	86,6

Gut gereinigte Präparate (B) enthalten nur Spuren von Phosphor.

Bestimmung des Gehaltes an Betain-hydrochlorid.

Das Betainyl-dichlorid wird mit einem kleinen Überschuss von absolutem Alkohol in Chloroform erwärmt. Die Umsetzung mit Alkohol erfolgt sehr rasch. Der Äthylester ist in Chloroform leicht löslich, im Gegensatz zum Betain-hydrochlorid, das praktisch unlöslich ist. Nach 15 Minuten wird vom Ungelösten abfiltriert und das Betain-hydrochlorid getrocknet und gewogen. Für Präparat A wurde auf diese Weise ein Gehalt von 12% Betain-hydrochlorid bestimmt.

Herstellung der Ester.

Sofern bei den Präparaten nichts weiteres bemerkt ist, wurden sie nach folgendem Verfahren hergestellt:

1 Teil Alkohol wird in 5—10 Teilen absolutem Chloroform gelöst und mit einem 1,2—2fachen Überschuss an Betainyl-dichlorid während 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Dann werden einige Tropfen Wasser zugegeben, um den Überschuss des Betainyl-dichlorids in Betain-hydrochlorid umzuwandeln. Beim Einengen der Lösung nimmt das Chloroform das überschüssige Wasser mit. Die konz. Lösung filtriert man vom Betain-hydrochlorid ab.

Die weitere Aufarbeitung richtet sich nach den Eigenschaften des Reaktionsproduktes. a) Die meist leicht wasserlöslichen Ester können dem Chloroform durch Waschen mit Wasser entzogen und so von der vorhandenen unveränderten Ausgangssubstanz abgetrennt werden. Bei diesem Verfahren treten erfahrungsgemäss leicht seifenartige Emulsionen auf. b) Die Lösung wird zur Trockne eingeeengt und der Rückstand mit trockenem Äther, der die meisten Betainester-chloride nicht löst, zur Entfernung von Ausgangsmaterial extrahiert.

Die als Rückstand verbleibenden Betainester-chloride liessen sich meist aus Alkohol bzw. Aceton-Äther umkrystallisieren. In einigen Fällen wurde eine Reinigung über die Quecksilber(II)-chlorid-Additionsverbindung vorgenommen. Zur Identifizierung sind oft die Pikrate geignet.

Derivate.

Äthyl-betainium-chlorid: Der bekannte Ester bildet sich leicht beim Erwärmen des Betainyl-dichlorids mit Äthylalkohol. Pikrat: Smp. 166,5—167,5°.

Phenyl-betainium-chlorid: Das Umsetzungsprodukt von Phenol und Betainyl-dichlorid stellt eine krystallisierte, an der Luft zerfliessende Masse dar. Der Ester verseift sich bereits in der Kälte in Gegenwart von Natriumhydrogencarbonat sehr leicht.

Benzyl-betainium-chlorid¹⁾: Das Ester-chlorid wurde als krystallisierte, hygroskopische Masse erhalten und nicht analysiert.

Pikrat: Das Derivat schmilzt nach Umkrystallisieren aus Methanol bei 163,5—164°.

3,798 mg Subst. gaben 6,887 mg CO₂ und 1,583 mg H₂O

$C_{18}H_{20}O_9N_4$	Ber. C	49,54	H	4,62%
	Gef. „	49,48	„	4,66%

¹⁾ R. Hunt und R. R. Renshaw, J. Pharmacol. exp. Therap. 29, 19 (1926).

γ -Phenylpropyl-betainium-chlorid. Das Produkt besitzt ähnliche Eigenschaften wie das Benzyl-derivat. Gegen Natriumhydrogencarbonat ist der Ester recht beständig; durch Soda-Lösung wird er jedoch rasch verseift.

t-Amyl-betainium-chlorid. Beim Kochen von t-Amylalkohol in Gegenwart eines Überschusses von Betainyl-dichlorid wird der Ester nur in ca. 40-proz. Ausbeute erhalten, da grösstenteils Bildung von Amylen eintritt.

Zur Vermeidung der Wasserabspaltung aus dem tertiären Alkohol wurde deshalb in Gegenwart von Pyridin gearbeitet.

Zu einer Lösung von 1,5 g tert. Amylalkohol und 4 cm³ Pyridin in 10 cm³ Chloroform wurden 4,0 g Betainyl-dichlorid gegeben, das sich sogleich in stark exothermer Reaktion auflöste. Nach 15-stündigem Stehen bei Raumtemperatur wurde von einer geringen Menge Ungelöstem abfiltriert und das dunkel gefärbte Filtrat zur Trockene eingedampft. Der Rückstand löste sich klar in Wasser auf. Die wässrige Lösung wurde mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert und das Pyridin mit Äther ausgezogen. Der Rückstand der eingedampften wässrigen Lösung wurde mit Chloroform ausgekocht, der Extrakt lieferte nach Verdampfen des Lösungsmittels den rohen Ester (3,96 g) in quantitativer Ausbeute. Durch Waschen der Krystallmasse mit wenig Essigester konnte die Hauptmenge der intensiv gefärbten Verunreinigungen entfernt werden. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Essigester bzw. Aceton erhielt man Nadeln vom Smp. 228°, die zur Analyse 4 Tage über Phosphorpentoxyd getrocknet wurden.

4,152 mg Subst. gaben 8,119 mg CO₂ und 3,592 mg H₂O
 C₁₀H₂₂O₂NCl Ber. C 53,68 H 9,91%
 Gef. „ 53,36 „ 9,68%

Menthyl-betainium-chlorid.

Der Betain-hydrochlorid-ester des Menthols wurde in einer Ausbeute von 90% erhalten. Er ist ebenfalls stark hygroskopisch, konnte aber aus trockenem Aceton bei Ausschuss von Luftfeuchtigkeit in analysenreine Form gebracht werden. Smp. 223—223,5°. Zur Analyse wurde 48 Stunden über Phosphorpentoxyd getrocknet.

3,785 mg Subst. gaben 8,524 mg CO₂ und 3,533 mg H₂O
 C₁₈H₃₀O₂NCl Ber. C 61,73 H 10,36%
 Gef. „ 61,46 „ 10,44%

Mit Natriumhydrogencarbonat liess sich dieser Ester nicht verseifen, wohl aber quantitativ mit Sodalösung in 2 Stunden.

Betain-hydrochlorid-ester des Terpeneols.

Zu 1,0 g Terpeneol (Smp. 30—31°) in 15 cm³ trockenem Chloroform wurden 1,3 g Pyridin und 1,7 g Betainyl-dichlorid zugefügt, worauf sogleich eine starke Reaktion einsetzte. Nach 20 Minuten Kochen wurde vom Ungelösten abfiltriert: 0,15 g. Das Filtrat wurde eingedampft; es blieben 4,6 g einer roten Masse zurück, die sich in Wasser klar auflöste. Die wässrige Lösung wurde mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert und daraus das freigesetzte Pyridin mit Äther ausgezogen. Der durch Eindampfen der wässrigen Lösung erhaltene Rückstand wurde mit Chloroform ausgekocht und die Lösung vom ungelösten Kochsalz und Betain-hydrochlorid abfiltriert. Nach dem Verdampfen des Chloroforms verblieben 1,94 g des rohen, krystallisierten Esters. Dieser wurde über das Quecksilber(II)-Doppelsalz gereinigt. Der Schmelzpunkt des reinen Esters lag bei 226—227°. Zur Analyse wurde 72 Stunden über Phosphorpentoxyd getrocknet.

3,740 mg Subst. gaben 8,386 mg CO₂ und 3,221 mg H₂O
 C₁₅H₂₈O₂NCl Ber. C 62,16 H 9,74%
 Gef. „ 61,19 „ 9,64%

Betain-hydrochlorid-ester des Cedrols.

1,4 g Cedrol (Smp. 84°) wurden in 30 cm³ Chloroform gelöst und durch Eindampfen der Lösung auf die Hälfte getrocknet. Darauf wurden nacheinander 2,0 g Dimethylanilin

und 1,23 g Betainyl-dichlorid zugegeben. Letzteres löste sich unter starker Wärmeentwicklung und schwacher Grünfärbung des Reaktionsgemisches auf. Nach 15 Stunden Stehen bei Raumtemperatur wurde eingedampft. Der Rückstand wurde in Wasser aufgelöst, die mit Natriumhydrogencarbonat neutralisierte Lösung durch Extraktion mit Äther von der tertiären Base befreit und im Vakuum (unter starkem Schäumen) zur Trockene eingedampft. Aus dem Rückstand wurden durch Extraktion mit Chloroform 1,99 g des rohen krystallisierten Esters (89% Ausbeute) gewonnen. Dieser wurde nach Waschen mit Aceton durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Chloroform-Petroläther in schönen Nadeln vom Smp. 221° rein erhalten. Trotz längeren Trocknens über Phosphor-pentoxyd enthält das Präparat noch 1 Mol Wasser.

3,576 mg Subst. gaben 8,462 mg CO₂ und 3,203 mg H₂O

C₂₀H₃₆O₂NCl·H₂O Ber. C 63,89 H 10,19%

Gef. ,, 64,58 ,, 10,02%

Pikrat: Bessere Analysenwerte wurden erwartungsgemäss mit dem Pikrat des Betainderivates erhalten. Smp. 131°.

3,820 mg Subst. gaben 7,935 mg CO₂ und 2,398 mg H₂O

2,634 mg Subst. gaben 0,246 cm³ N₂ (24°, 728 mm)

C₂₆H₃₄O₉N₄ Ber. C 56,71 H 6,96 N 10,18%

Gef. ,, 56,68 ,, 7,02 ,, 10,28%

Der Ester des Cedrols wurde in wässriger Lösung mit Natriumhydrogencarbonat nicht verändert. Nach mehrtägigem Stehen in verdünnter Sodalösung konnte mit Äther ein Teil des freien Cedrols extrahiert werden; mit Natronlauge dagegen verlief die Verseifung rasch und quantitativ.

Betain-hydrochlorid-ester des p-Oxy-benzoesäure-methylesters.

1,5 g p-Oxy-benzoesäure-methylester wurden mit 2,0 g Betainyl-dichlorid durch dreistündiges Kochen in Chloroform verestert. Dann wurde vom Niederschlag abfiltriert und das Filtrat zur Trockene eingedampft. Der rohe, krystallisierte Ester war sehr unbeständig, er wurde durch Hydrogencarbonat momentan gespalten. Das analysierte Produkt besass einen Schmelzpunkt von 174—175°.

3,554 mg Subst. gaben 7,010 mg CO₂ und 1,905 mg H₂O

3,610 mg Subst. gaben 4,440 mg AgCl

C₁₃H₁₈O₄NCl Ber. C 54,26 H 6,31 Cl 12,32%

Gef. ,, 53,83 ,, 6,00 ,, 12,76%

Pikrat: Dieses wurde in üblicher Weise hergestellt und schmolz bei 164,5—165,5°.

3,784 mg Subst. gaben 6,558 mg CO₂ und 1,366 mg H₂O

2,569 mg Subst. gaben 0,265 cm³ N₂ (12°, 724 mm)

C₁₉H₂₀O₁₁N₄ Ber. C 47,50 H 4,20 N 11,66%

Gef. ,, 47,30 ,, 4,04 ,, 11,77%

Anilid des Betain-hydrochlorids.

In eine Lösung von 1,0 g Anilin in 20 cm³ Chloroform wurden 2,2 g Betainyl-dichlorid eingetragen, wobei sofort eine starke Reaktion unter Wärmeentwicklung einsetzte. Nach kurzem Erwärmen hatte sich fast alles gelöst, doch krystallisierte die ganze Masse bald darauf spontan in feinen Nadelchen aus und war durch Zusatz von Chloroform nicht mehr in Lösung zu bringen. Der Niederschlag wog 2,47 g. Er wurde in Methanol gelöst und mit methanolischer Sublimat-Lösung als Quecksilber-Doppelverbindung gefällt. Das Anilid wurde durch Zersetzung des Doppelsalzes mit Schwefelwasserstoff regeneriert und zeigte nach dem Umkrystallisieren aus Methanol-Aceton den Smp. 216°. Die aus diesem Lösungsmittel erhaltenen Nadelchen wandelten sich bei mehrstündigem Stehen in derbe, glasklare Prismen um. Zur Analyse wurde 72 Stunden über Phosphor-pentoxyd getrocknet.

3,860 mg Subst. gaben 8,178 mg CO₂ und 2,565 mg H₂O

C₁₁H₁₇ON₂Cl Ber. C 57,76 H 7,49%
 Gef. ,, 57,82 ,, 7,42%

Verseifungsversuche. Die wässrige Lösung einer Probe des Anilids wurde nacheinander mit Natriumhydrogencarbonat, Soda und Natronlauge versetzt und jedesmal nach dem Zusatz 15 Minuten mit Äther geschüttelt. Die Ätherlösung enthielt jedoch in keinem Falle Anilin. Dagegen wurde das Anilid durch kurzes Erhitzen mit starker Salzsäure verseift.

Das Monomethyl-anilid wurde in analoger Weise hergestellt, jedoch als farbloses, wasserlösliches Öl erhalten. Sein Quecksilberdoppelsalz war krystallisiert, das daraus regenerierte Anilid, wie auch das aus diesem hergestellte Pikrat konnten nur in öli-ger Form erhalten werden.

Versuche mit homologen Betainen.

α-Methyl-betainyl-dichlorid.

1,0 g α-Methyl-betain-hydrochlorid (durch Kondensation von α-Chlorpropionsäure-ester mit Trimethylamin und anschliessende Verseifung hergestellt) wurden mit 3 cm³ Phosphoroxchlorid übergossen und 1,3 g fein pulverisiertes Phosphorpentachlorid (105% der Theorie) dazugefügt. Die Mischung wurde 1 Stunde auf 90° und anschliessend kurz zum Sieden erhitzt, wobei sich alles mit schwachgelber Farbe löste. Beim Abkühlen auf -10° krystallisierte das Säurechlorid in schönen Nadeln aus; nach dem Absaugen der Mutterlauge unter Feuchtigkeitsausschluss und Trocknen im Vakuum wog die Substanz 1,2 g.

Anilid des α-Methyl-betain-hydrochlorids.

0,55 g des α-Methylbetainyl-dichlorids wurden in eine Lösung von 1 cm³ Anilin in 10 cm³ Chloroform eingetragen, wobei sich in momentaner Reaktion fast die ganze Menge auflöste. Das Chloroform wurde abgedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und aus der Lösung nach Zugabe von Natriumhydrogencarbonat bis zur alkalischen Reaktion das nicht acylierte Anilin mit Äther ausgeschüttelt. Die wässrige Lösung wurde sodann mit Salzsäure neutralisiert und mit Sublimat-Lösung das krystallisierte Quecksilber-Doppelsalz gefällt. Dieses, in üblicher Weise aufgearbeitet, lieferte das in feinen Nadeln krystallisierende, bei 209,5—210° schmelzende Anilid. Zur Analyse wurde 72 Stunden über Phosphoroxchlorid getrocknet.

3,846 mg Subst. gaben 8,350 mg CO₂ und 2,734 mg H₂O

C₁₂H₁₉ON₂Cl Ber. C 59,37 H 7,89%
 Gef. ,, 59,25 ,, 7,95%

Umsetzung von β-Homo-betain-hydrochlorid mit Phosphorpentachlorid.

10 g β-Alanin-betain-hydrochlorid und 12,4 g Phosphorpentachlorid (1 Äquivalent) wurden in 35 g Chloroform auf 80° erwärmt, wobei sich die anfangs pulverige Masse in einen schön krystallisierten Niederschlag verwandelte.

Nach 3 Stunden wurde die Mutterlauge vom Krystall-Niederschlag abgetrennt und dieser untersucht. Die Krystalle waren sehr hygroskopisch, lösten sich aber in Wasser ohne sichtbare Reaktion auf. Auf Zusatz von Alkalien trat der charakteristische Geruch des Trimethylamins auf. Mit Natriumpikrat wurde ein bei 217—218° schmelzendes Pikrat erhalten, das mit Trimethylamin-pikrat identisch war. Die Chloroform-Mutterlauge des Reaktionsproduktes wurde anschliessend destilliert und die Fraktion vom Sdp. 60—85° mit Anilin versetzt. Dabei bildete sich das Anilid der Acrylsäure (Smp. 102,5—103,5°).

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Protokoll

der Generalversammlung der Schweiz. Chemischen Gesellschaft
am 1. und 2. September 1945 in der Faculté des Sciences,
Pérolles, Freiburg.

A. Geschäftlicher Teil.

Sonntag, 2. September 1945, 08.15 Uhr.

Traktanden:

1. Protokoll der Sitzung vom 25. Februar 1945 in Bern. Das in den „Helvetica Chimica Acta“ [28, 638—639 und 780 (1945)] publizierte Protokoll wird genehmigt.

2. Festsetzung des Ortes für die Winterversammlung 1946. Ein definitiver Beschluss erfolgt durch den Vorstand nach Herausgabe des Winterfahrplans; sofern für alle Teilnehmer Hin- und Rückreise am selben Tage möglich ist, wird die Wahl auf einen Ort in der welschen Schweiz fallen, sonst wiederum auf Bern. Als Zeitpunkt ist ein Sonntag Ende Februar oder Anfang März vorgesehen.

3. Festsetzung der Mitgliederbeiträge und des Abonnementspreises der „Helvetica Chimica Acta“ für 1946. Die Finanzlage der Gesellschaft sowie des Zeitschriftenfonds, ein Rückgang des Umfangs der „Helvetica Chimica Acta“ und die Zunahme der Mitgliederzahl lassen eine weitere Erhöhung der Mitgliederbeiträge sowie des Abonnementspreises nicht als notwendig erscheinen. Der Vorschlag des Vorstandes auf Beibehaltung der bisherigen Ansätze wird genehmigt.

4. Mitteilungen des Präsidenten des „Conseil de la Chimie Suisse“. Seit der letzten Versammlung gelang es seit längerer Zeit erstmals wieder, mit dem Präsidenten der „Union Internationale de Chimie“, Herrn Prof. Bogert, U.S.A., in Beziehung zu treten. Dieser dankte dem „Conseil“ für seine Tätigkeit während des Krieges, welche die Verbindungen zwischen den grossen internationalen Kommissionen sicherte und die Herausgabe mehrerer Publikationen der „Union“ (namentlich Tabellen und Berichte über die Atomgewichte und stabilen Isotope) erlaubte.

Dem „Conseil“ wird auch die ehrenvolle Mission zufallen, bei der Wiederherstellung normaler internationaler Beziehungen mitzuwirken, welche durch die kriegsbedingte, heikle Lage der repräsentativen Organe der „Union“ in gewissen Ländern auf Schwierigkeiten stösst. Bis diese beseitigt sind, wird es noch einige Zeit dauern. Daher schlägt der „Conseil de la Chimie Suisse“ vor, mit den seit Jahren fälligen Neuwahlen der repräsentativen Komitees der „Union“ in den verschiedenen Ländern noch ein weiteres Jahr zuzuwarten.

5. Allfälliges. Nichts.

Schluss der Geschäftssitzung 08.30 Uhr.

B. Wissenschaftlicher Teil.

I. Teil: Samstag, 1. September 1945

Beginn 11.00 Uhr.

1. H. Kuhn (Basel): Abhängigkeit der Reibungskonstanten gelöster Fadenmoleküle von der Konstellation.

2. *R. Flatt* (Lausanne) und *W. Buser* (Bern), vorgetragen von Herrn *Buser*: Über Zirkoniumsulfate.
3. *A. Herzog* und *K. Wieland* (Zürich), vorgetragen von Herrn *Wieland*: Thermische Dissoziation einiger Cadmium- und Zinkhalogenide.
4. *Ch. Tschappat* (Lausanne): Sur l'activité de l'ion hydrogène, l'inversion du saccharose et l'hydrolyse de l'acétate de méthyle en milieux chlorhydrique et bromhydrique.

Schluss des I. Teils 13.00 Uhr.

II. Teil: Sonntag, 2. September 1945

Beginn 08.30 Uhr.

5. *W. Nowacki* (Bern): Die Kristallstruktur von Adamantán.
6. *R. Wizinger* (Zürich): Über eine neue Gruppe komplexbildender Farbstoffe.
7. *G. Schwarzenbach* (Zürich): Neue einfache Titrimethoden.
8. *V. Prelog* (Zürich): Abbauversuche in der Strychninreihe.
9. *L. Chardonmens* (Fribourg): Sur l'aptitude réactionnelle du groupement méthylique.
10. *F. Rohner* (Neuhausen): Spektrographische Schnellanalyse.

Schluss des II. Teils, zugleich Schluss der Tagung 11.00 Uhr.

Der Präsident: sig. *Rudolf Signer*.

Der stellvertretende Sekretär: sig. *K. Huber*.

Bern, den 2. September 1945.

Bei der Redaktion eingelaufene Bücher:

(Die Redaktion verpflichtet sich nicht zur Besprechung der eingesandten Werke.)

Livres reçus par la Rédaction:

La rédaction ne s'engage pas à publier des analyses des ouvrages qui lui sont soumis.)

Acétylène, homologues et dérivés, par *P. Piganiol*, professeur agrégé de Chimie, inspecteur des industries classées de la Seine. Préface de *G. Dupont*, professeur à la Faculté des Sciences de Paris, directeur du Laboratoire de Chimie de l'École normale supérieure. Paris, *Dunod*, 1945; VIII et 480 pages, 43 figures. Broché 490 fFr.

Errata.

Helv. 28, 282 (1945), Mémoire No 32, par *Y. R. Naves*, 2e tableau, ligne 6 du bas, au lieu de «Menthol 110,7» lire «Menthol 101,7».

Helv. 28, 1055 und 1056 (1945), Abhandlung Nr. 137 von *L. Ruzicka* und *H. Gubser*, Tabellen 1 und 2: die Bezeichnungen „norm.“ und „epi“ in der dritten Spalte sind überall zu vertauschen.