

HELVETICA
CHIMICA ACTA

EDITA A SOCIETATE CHIMICA HELVETICA

VOLUMEN XXIX

PARS I

FASCICULUS I—V

PAG. 1—1372

VE NEUNT BASILEAE ET GENAVAE APUD GEORG & CO. LIBRARIOS
MCMXLVI

REDAKTIONS-KOMITEE — COMITÉ DE RÉDACTION — COMITATO DI REDAZIONE

FR. FICHTER, Präsident

Realpstrasse 69, Basel.

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

H. RUPE, Chemische Anstalt der Universität,
Basel.

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

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

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

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

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



P. 76/46/I

Schweizerische chemische Gesellschaft Basel.

Copyright 1946 by: Société suisse de chimie, Bâle.

Società svizzera di chimica, Basilea.

Nachdruck verboten — Tous droits réservés.

1. Derivate der 3-Desoxy-*d*-glucose.

Desoxyzucker, 7. Mitteilung¹⁾

von D. A. Prins.

(6. XI. 45.)

Im Bestreben neue Methoden zur Herstellung von Desoxyzuckern aufzufinden, wurde die Hydrierung des 2,3-Anhydro-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-allosids- $\langle 1,5 \rangle$ (V) durchgeführt. Obwohl die Untersuchung der entstandenen Produkte noch nicht abgeschlossen ist, werden die vorläufigen Resultate mitgeteilt, da die Arbeit aus äusseren Gründen abgebrochen werden musste.

Zur Herstellung von 2-Desoxyzuckern wurde bis heute fast ausnahmslos das bewährte Verfahren von *E. Fischer* verwendet²⁾. Obwohl diese Methode in den meisten Fällen zum Ziel führt³⁾, war es doch wünschenswert zu untersuchen, ob zur Synthese solcher 2-Desoxyzucker nicht auch andere Wege beschritten werden können, teils, weil die Ausbeuten beim *Fischer*'schen Verfahren ziemlich stark schwanken⁴⁾, teils auch, weil es in einzelnen Fällen ganz zu versagen scheint⁵⁾.

In den durch die Arbeiten von *Robertson* und *Griffith* u. a. besonders leicht zugänglich gewordenen 2,3-Anhydro-Derivaten der Allose (V)⁶⁾⁷⁾ glaubten wir nun aus folgenden Gründen ein geeignetes Ausgangsmaterial für die Darstellung von 2-Desoxyzuckern gefunden zu haben. Nach *Robertson* und *Griffith*⁶⁾ wird 2,3-Anhydro-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-allosid- $\langle 1,5 \rangle$ (V) durch Erwärmen mit NaOCH₃ zur Hauptsache in 4,6-Benzyliden- α -methyl-*d*-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ -2-methyl-

¹⁾ 6. Mitt. vgl. *C. A. Grob, D. A. Prins, Helv. 28, 840 (1945)*.

²⁾ *E. Fischer, K. Zsch., Sber. Preuss. Akad. 1913, 311; E. Fischer, B. 47, 196 (1914)*.

³⁾ Sehr gute Ausbeuten wurden erzielt bei der Darstellung von Triacetyl-glucal [*E. Fischer, loc. cit.*; *P. A. Levene, A. L. Raymond, J. Biol. Chem. 90, 247 (1931); M. Gehrke, F. Obst, B. 64, 1724 (1931)*], Diacetyl-rhamnal [*M. Bergmann, H. Schotte, B. 54, 440, 1569 (1921); B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1146 (1944)*] und Diacetyl-arabinal [*M. Gehrke, F. X. Aichner, B. 60, 918 (1927)*].

⁴⁾ Mittlere Ausbeuten wurden erzielt bei der Darstellung von Diacetyl-glucal-3-methyläther [*P. A. Levene, A. L. Raymond, J. Biol. Chem., 88, 513 (1930)*], Triacetyl-galaktal [*P. A. Levene, R. S. Tipson, J. Biol. Chem. 93, 631 (1931)*], Acetyl-glucomethylal-3-methyläther [*E. B. Vischer, T. Reichstein, Helv. 27, 1332 (1944)*], Diacetyl-fucal [*B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1200 (1944)*], Diacetyl-xylyl [*P. A. Levene, T. Mori, J. Biol. Chem. 83, 803 (1929); M. Gehrke, F. Obst, loc. cit.*]; eine schlechte Ausbeute bei der Darstellung von Diacetyl-digitoxoseen [*B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1203 (1944)*].

⁵⁾ Vgl. z. B. *C. A. Grob, D. A. Prins, Helv. 28, 840 (1945)*.

⁶⁾ *G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193*.

⁷⁾ *N. K. Richtmyer, C. S. Hudson, Am. Soc. 63, 1730 (1941)*.

äther (VI) übergeführt¹⁾, während das isomere 2,3-Anhydromannosid-Derivat (II) bei analoger Behandlung den 3-Methyläther (III) liefert²⁾. Dieses unterschiedliche Verhalten deutet auf eine verschiedene Polarisation des Oxydringes in (II) und (V), deren Richtung durch den gebogenen Pfeil angedeutet ist. Falls bei der Hydrierung die Öffnung des Äthylenoxydringes im gleichen Sinne erfolgt, sollte aus (II) hauptsächlich ein 3-Desoxy-Derivat (I) und aus (V) ein 2-Desoxy-Derivat (IV) resultieren³⁾. In Wirklichkeit scheint sich der Oxydring in (V) dabei jedoch umgekehrt zu öffnen und nicht (IV), sondern (VIII) zu liefern.

Beim Schütteln von (V) in einer Wasserstoffatmosphäre mit Platin in Eisessig tritt auch bei 80° keine Hydrierung des Äthylenoxydringes ein. Es entsteht ein Gemisch der kryst. Hexahydrobenzyliden-Verbindung (VII) und des sirupösen 2,3-Anhydro- α -methyl-*d*-allosids- $\langle 1,5 \rangle$ (XIV), das sich durch Benzalierung wieder in (V) zurückverwandeln lässt. Bei der Druckhydrierung mit *Raney*-Nickel bei 100° hingegen wird der Äthylenoxydring relativ glatt geöffnet⁴⁾. Es entsteht ein Gemisch eines sirupösen Desoxy-methyl-hexosids und der Hexahydro-benzyliden-Verbindung (XII), die sich durch Verteilung zwischen Chloroform und Wasser leicht trennen lassen. Wie sich zeigen liess, liegen bestimmt nicht Derivate der 2-Desoxyallose (IV) vor, sie werden daher unter Vorbehalt als solche der 3-Desoxy-glucose formuliert: das sirupöse, wasserlösliche Desoxyhexosid als (VIII), und die Hexahydro-benzyliden-Verbindung als (XII). Dieselbe Hexahydro-benzyliden-Verbindung (XII) entsteht auch aus (VII) bei der Druckhydrierung mit *Raney*-Nickel; sie wurde durch ein kryst. Monotosylat (XIII) weiter charakterisiert.

(VIII) lieferte ein sirupöses Triacetat⁵⁾, gab aber bei der Benzalierung ein vorzüglich kristallisierendes Benzyliden-Derivat (IX).

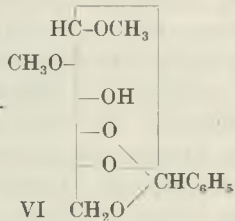
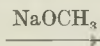
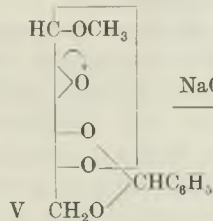
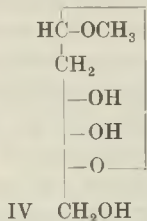
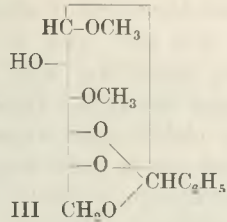
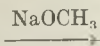
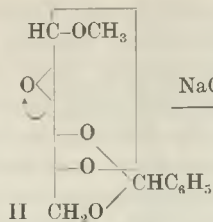
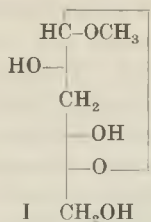
¹⁾ Dass die Polarisation des Oxydringes in (V) nicht ausschliesslich in der angegebenen Richtung erfolgt, geht aus der Isolierung von 4,6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ (ca. 7%) (*Richtmyer* und *Hudson*, loc. cit.) sowie von 4,6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (*Grob* und *Prins*, loc. cit. Fussnote 3 auf S. 845) bei der Umsetzung von (V) mit KOH resp. NaOCH₃ hervor. Ähnliche Verhältnisse beobachteten *S. Peat* und *L. F. Wiggins*, Soc. 1938, 1810 beim β -Isomeren von (V).

²⁾ Bei dieser Reaktion konnten bei sorgfältiger Aufarbeitung der Mutterlauge nur etwas unverändertes (II) neben weiteren Mengen von (III) isoliert werden. Der gesuchte 4,6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ -2-methyläther wurde nicht aufgefunden.

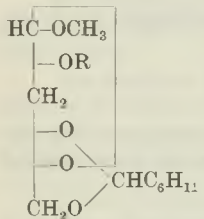
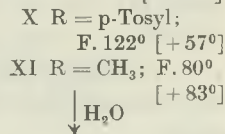
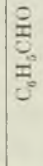
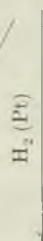
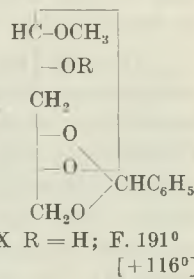
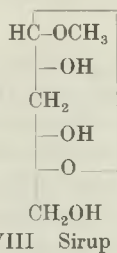
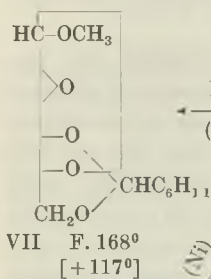
³⁾ Nach den geltenden Ansichten über den Mechanismus der durch Metalle katalysierte Wasserstoffanlagerung an polarisierte Systeme (vgl. *H. Burton*, *C. K. Ingold*, Soc. 1929, 2022) scheint es ausgeschlossen, dass am sauerstofftragenden C-Atom des aus einem Äthylenoxyd entstehenden Hydrierungsproduktes eine *Walden*'sche Umkehrung stattgefunden hat, so dass aus (V) die Bildung von (I) oder von einem 2-Desoxy-glucose-Derivat theoretisch nicht zu erwarten ist.

⁴⁾ Diese Reaktion wurde im hiesigen Institut zuerst von Hrn. Dr. *C. A. Grob* ausgeführt.

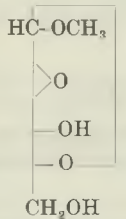
⁵⁾ Zuerst von Dr. *C. A. Grob* hergestellt.



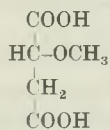
F. 201° [+140°]



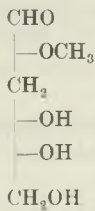
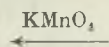
R = H; F. 95°
[+129°]



Sirup



Diamid F. 184°
[+55°; M]



Sirup

XIII R = p-Tosyl;
F. 127° [+100°]

Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehungen für Na-Licht an; wo nicht anders angegeben, wurde Chloroform als Lösungsmittel verwendet; M = Methanol.

Dieses liess sich in ein ebenfalls kryst. Tosyl-Derivat (X) überführen, das sich mit NaJ in acetonischer Lösung beim Erhitzen auf 140° nicht umsetzte, was dafür spricht, dass die 6-ständige Hydroxylgruppe durch den Benzalrest und nicht durch die Tosylgruppe besetzt ist¹⁾. (VIII) gibt keine *Keller-Kiliani*-Reaktion²⁾, die für 2-Desoxyzucker als typisch angesehen wird, und die Hydrolyse mit wässriger Mineralsäure verläuft bedeutend langsamer als bei 2-Desoxy-methylglykosiden³⁾. Weiter spricht das Resultat des folgenden Abbaus stark zugunsten der Formulierung von (VIII) als 3-Desoxy-glucose-Derivat. Das aus (VIII) erhaltene Benzyliden-Derivat (IX) wurde zum kryst. Methyläther (XI) methyliert. Dieser gab beim Erhitzen mit verdünnter Mineralsäure (eventl. nach vorheriger reduktiver Entfernung des Benzalrestes) den reduzierenden Zucker (XVI), der beim Abbau mit wässrigem KMnO₄ *d*-Methoxy-bernsteinsäure (XV) lieferte, die als Diamid charakterisiert wurde. (IV) müsste auf analogem Wege in *l*-Methoxy-bernsteinsäure übergehen. Die Bildung von Methoxy-bernsteinsäure ist gleichzeitig ein sicherer Beweis dafür, dass in (IX) eine sekundäre, und nicht eine primäre Hydroxylgruppe in freier Form vorliegt.

Obwohl ein definitiver Beweis noch aussteht, sollen die beschriebenen Stoffe vorläufig als Derivate der 3-Desoxy-*d*-glucose bezeichnet werden. Über 3-Desoxyzucker ist sehr wenig bekannt. *Freudenberg* und *Brauns*⁴⁾ stellten einen Stoff her, den sie als Diaceton-3-desoxy-*d*-glucose ansprachen. Nach der Bereitungsart aber könnte auch ein 3-Desoxy-*d*-galaktose-Derivat vorliegen; ausserdem ist nicht bewiesen, dass die Kohlenstoffkette noch normal ist, was auch für den in dieser Arbeit beschriebenen Zucker noch teilweise zutrifft.

Versuche, aus den Tosyl-Derivaten (X) und (XIII) die Tosyloxy-Gruppe mittels Pyridin oder Kollidin abzuspalten, verliefen negativ.

Der Verfasser dankt Hrn. Prof. *T. Reichstein* für seine Anregungen, sowie der *CIBA A.G.*, Basel, für ein Studienstipendium.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert. Für alle spez. Drehungen wurde, sofern nicht anders erwähnt, Chloroform als Lösungsmittel benützt.

¹⁾ Vgl. *J. W. Oldham, J. K. Rutherford*, Am. Soc. **54**, 366 (1932); *D. J. Bell*, Soc. **1934**, 1177; *D. J. Bell, E. Friedmann, S. Williamson*, Soc. **1937**, 252; *E. Seebeck, E. Sorokin, T. Reichstein*, Helv. **28**, 934 (1945).

²⁾ *C. C. Keller*, B. dtsh. Pharm. Ges. **5**, 277 (1895); *H. Kiliani*, Arch. Pharm. **234**, 273 (1896); **251**, 567 (1913).

³⁾ *M. Bergmann*, A. **443**, 223 (1925); *M. Bergmann, St. Ludewig*, A. **434**, 105 (1923); *M. Bergmann, A. Miekely*, B. **55**, 1390 (1922).

⁴⁾ *K. Freudenberg, F. Brauns*, B. **55**, 3233 (1922).

3-Desoxy- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VIII) und sein Hexahydro-benzyliden-Derivat (XII) aus (V)¹.

4 g frisch sublimiertes 2,3-Anhydro-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-allosid- $\langle 1,5 \rangle$ (V)² vom Smp. 204° wurden in 30 cm³ Methanol suspendiert und nach Zugabe eines aus 4 g *Raney*-Legierung bereiteten Nickel-Katalysators während 16 Stunden bei 100—120° und 110—120 Atm. Wasserstoffdruck hydriert. Zur Aufarbeitung wurde die nach Toluol riechende, nunmehr homogene Flüssigkeit vom Katalysator abfiltriert und zur Trockne verdampft, wobei ein 2,9 g wiegender sirupöser Rückstand hinterblieb, der in Wasser aufgenommen und mit Chloroform extrahiert wurde. Die wässrige Lösung hinterliess beim Eindampfen einen farblosen, aus (VIII) bestehenden Sirup, der für die weiteren Umsetzungen verwendet wurde. Die Chloroform-Lösung hinterliess nach dem Trocknen über Natriumsulfat und Verjagen des Lösungsmittels einen Sirup, der alsbald kristallisierte. Das chromatographisch gereinigte Produkt stellte das Hexahydro-benzyliden-Derivat (XII), Smp. 95°, dar, das mit dem aus (VII) erhaltenen identisch war (vgl. weiter unten). Sowohl (VIII) wie (XII) gaben nicht die für 2-Desoxyzucker als spezifisch geltende *Keller-Kiliani*'sche Reaktion.

Triacetat von (VIII). Bei der Acetylierung mit Acetanhydrid-Pyridin lieferte (VIII) in quantitativer Ausbeute ein flüssiges Triacetat, Sdp._{0,03 mm} 110—112°, $n_D^{16} = 1,4569$, $[\alpha]_D^{14} = +123,4^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 1,556$).

2,3-Anhydro-4,6-hexahydrobenzyliden- α -methyl-*d*-allosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VII) und 2,3-Anhydro- α -methyl-*d*-allosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XIV) aus (V).

2 g 2,3-Anhydro-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-allosid- $\langle 1,5 \rangle$ (V) wurden in einem Gemisch von 30 cm³ Dioxan, 20 cm³ Methanol und 40 cm³ Eisessig gelöst und nach Zugabe von 200 mg Platin(IV)-oxydhydrat bei Zimmertemperatur in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Die Wasserstoffaufnahme betrug 680 cm³ (~ 4 Mol H₂). Zur Aufarbeitung wurde vom Katalysator abfiltriert und das Filtrat im Vakuum zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde durch zweimaliges Abdampfen mit wenig Toluol völlig vom Eisessig befreit und das kristalline Rohprodukt aus Methanol umkristallisiert. Es schieden sich 950 mg (VII) in Nadeln vom Smp. 168° ab. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = +116,5 \pm 3^\circ$ ($c = 1,58$). Zur Analyse wurde die Substanz im Hochvakuum während 2 Stunden bei 80° getrocknet.

3,899 mg Subst. gaben 8,872 mg CO₂ und 2,905 mg H₂O
 3,145 mg Subst. verbr. 3,695 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (*Zeisel-Vieböck*)
 C₁₄H₂₂O₅ (270,32) Ber. C 62,20 H 8,20 —OCH₃ 11,48%
 Gef. „ 62,10 „ 8,33 „ 12,15%

Die Mutterlaugen waren nicht zur Krystallisation zu bringen und bestanden zur Hauptsache aus (XIV), wie durch die Zurückverwandlung in (V) bewiesen wurde (s. weiter unten).

Ein ähnlicher Hydrierungsversuch, der bei 80° ausgeführt wurde, führte zu den gleichen Produkten (VII) und (XIV).

(VII) reagierte, in Pyridin gelöst, weder mit Acetanhydrid noch mit Tosylchlorid bei 20°; die Substanz besitzt somit keine freie Hydroxylgruppe.

¹ Das 3-Desoxy- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VIII) sowie sein Triacetat wurden im hiesigen Institut zuerst von Hrn. Dr. C. A. Grob hergestellt, jedoch nicht näher untersucht. Das von Grob hergestellte Triacetat zeigte Sdp._{0,04 mm} 110° und folgende Analysenwerte:

3,880 mg Subst. gaben 7,327 mg CO₂ und 2,331 mg H₂O.
 3,071 mg Subst. verbr. 3,001 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (*Zeisel-Vieböck*).
 C₁₃H₂₀O₈ (304,29) Ber. C 51,31 H 6,72 —OCH₃ 10,19%
 Ber. „ 51,33 „ 6,63 „ 10,11%

² N. K. Richtmyer, C. S. Hudson, Am. Soc. 63, 1730 (1941).

3-Desoxy-4,6-hexahydro-benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XII) aus (VII).

0,5 g 2,3-Anhydro-4,6-hexahydro-benzyliden- α -methyl-*d*-allosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VII) wurden in 10 cm³ Methanol mit einem Nickel-Katalysator bei 120 Atm. Wasserstoffdruck und einer Temperatur von 100—110° über Nacht hydriert. Die Aufarbeitung gab einen 410 mg wiegenden Sirup, der ganz ätherlöslich war und aus Äther-Pentan umkristallisiert wurde. Die erhaltenen prismatischen Krystalle schmolzen bei ca. 90° und wurden, da ihre Reinigung durch Krystallisation mühsam und verlustreich war, chromatographiert, die Mutterlaugen ebenso. Das als Hauptprodukt erhaltene Hexahydro-Derivat (XII) fand sich in den Benzol-Petroläther-Fractionen (1:4 bis 1:1). Total wurden 320 mg aus Pentan umkristallisiertes (XII) in Form farbloser Prismen vom Smp. 95° erhalten, die im Gemisch mit dem weiter oben beschriebenen Produkt aus (V) keine Schmelzpunktserniedrigung gaben. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{13} = +129^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,49$). Zur Analyse wurde eine Probe im Hochvakuum während 2 Stunden bei 60° getrocknet.

3,691 mg Subst. gaben 8,343 mg CO₂ und 2,863 mg H₂O
 3,768 mg Subst. verbr. 4,166 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck)
 C₁₄H₂₄O₅ (272,33) Ber. C 61,74 H 8,88 —OCH₃ 11,40%
 Gef. „ 61,69 „ 8,68 „ 11,43%

Als Nebenprodukte wurden bei der Chromatographie noch zwei weitere Substanzen isoliert, die eine zeigte Smp. 128°, die andere Smp. 115°. Beide zeigten keine Keller-Kiliani-Reaktion. Ihre Menge war für eine weitere Untersuchung zu gering.

3-Desoxy-2-tosyl-4,6-hexahydro-benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XIII).

Das eben beschriebene Hexahydro-benzyliden-Derivat (XII) wurde in üblicher Weise mit Tosylchlorid und Pyridin bei Zimmertemperatur umgesetzt. Das Produkt (XIII) krystallisierte aus Äther-Pentan in Nadeln, die bei 126—128° unter Zersetzung schmolzen. Es wurde auch einmal eine bei 150—152° schmelzende Modifikation beobachtet, doch konnte diese nie wieder erhalten werden. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = +100^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 1,14$).

Zur Analyse wurde die Substanz im Hochvakuum während 2 Stunden bei 70° getrocknet.

3,700 mg Subst. gaben 8,077 mg CO₂ und 2,423 mg H₂O
 4,195 mg Subst. verbr. 1,881 cm³ 0,01-n. KOH (Pregl)
 3,078 mg Subst. verbr. 2,229 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck)
 C₂₁H₃₀O₇S (426,45) Ber. C 59,13 H 7,09 S 7,52 —OCH₃ 7,28%
 Gef. „ 59,57 „ 7,33 „ 7,19 „ 7,49%

Das Tosylat (XIII) liess sich nach mehrstündigem Kochen mit Pyridin oder Kolidin fast quantitativ unverändert zurückgewinnen.

2,3-Anhydro-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-allosid- $\langle 1,5 \rangle$ (V) aus (XIV).

850 mg sirupöses 2,3-Anhydro- α -methyl-*d*-allosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XIV) wurden mit 1 g frisch geschmolzenem Zinkchlorid und 5 cm³ frisch gereinigtem Benzaldehyd während 24 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Hierauf wurde die Reaktionsmasse mit Wasser versetzt und das Gemisch nach den Angaben von Sorkin und Reichstein¹⁾ aufgearbeitet. Das Produkt erwies sich nach Smp. 202° und Mischschmelzpunkt als mit (V) identisch; Ausbeute 600 mg.

3-Desoxy-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ (IX) aus (VIII).

2,6 g 3-Desoxy- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VIII) (Rohprodukt), 3 g frisch geschmolzenes Zinkchlorid und 10 cm³ gereinigter und frisch destillierter Benzaldehyd

¹⁾ E. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 1 (1945).

wurden 18 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Hierauf wurde das Gemisch mit Wasser versetzt und mehrmals heftig durchgeschüttelt, wobei sich das Reaktionsprodukt kristallin ausschied. Zur Entfernung des überschüssigen Benzaldehyds wurde die Suspension zweimal mit Petroläther ausgeschüttelt und die verbleibende wässrige Phase darauf mit Chloroform ausgezogen. Die Chloroformlösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft, wobei ein kristalliner Rückstand hinterblieb. Dieser wurde aus Chloroform-Petroläther umkristallisiert, wobei 2,3 g Nadeln vom Smp. 190—192° (nach Umwandlung ab 140°) erhalten wurden. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{14} = +115,8^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 1,21$). Zur Analyse wurde die Substanz bei 0,01 mm Druck und 110—140° Blocktemperatur sublimiert; Smp. 191—192°.

3,666 mg Subst. gaben 8,473 mg CO₂ und 2,265 mg H₂O

C₁₄H₁₈O₅ (266,28) Ber. C 63,14 H 6,81%
Gef. „ 63,07 „ 6,91%

3-Desoxy-2-tosyl-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ (X).

215 mg Benzyliden-Derivat (IX) wurden bei Zimmertemperatur in der üblichen Weise tosyliert und aufgearbeitet. Das Tosyl-Derivat (X) kristallisierte aus Äther-Pentan in Nadeln vom Smp. 122°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{19} = +57,1^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 1,26$). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 70° getrocknet.

3,912 mg Substanz gaben 8,523 mg CO₂ und 2,065 mg H₂O

C₂₁H₂₄O₇S (420,40) Ber. C 59,99 H 5,75%
Gef. „ 59,46 „ 5,91%

Eine Probe dieses Tosylderivates reagierte nach einstündigem Erhitzen mit NaJ in Acetonlösung auf 140° nicht: das Ausgangsmaterial wurde fast quantitativ zurückgewonnen. Die Tosylgruppe haftet also nicht an C₆. Mehrstündiges Kochen von (X) mit Pyridin oder Kollidin hatte auf die Substanz keinen Einfluss, sie wurde in jedem Fall fast quantitativ und unverändert zurückgewonnen (Mischprobe). Beim Verkochen mit 4-proz. methanolischer Kalilauge wurde (X) zu (IX) verseift (Mischprobe).

3-Desoxy-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ -2-methyläther (XI) aus (IX).

0,56 g des Benzyliden-Derivates (IX) wurden nach Purdie¹⁾ mit 4 g Ag₂O²⁾ und 20 cm³ CH₃J methyliert. Nach 4-stündigem Kochen wurde das überschüssige CH₃J abdestilliert und der Rückstand nach kurzem Trocknen am Vakuum mit viel Äther ausgezogen. Die filtrierte Ätherlösung hinterliess nach dem Eindampfen einen Sirup, der mit wenig Äther verrieben kristallisierte. Nach Umkristallisieren aus Äther-Pentan wurden 450 mg Prismen (XI) vom Smp. 79—80° erhalten. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{14} = +82,5^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 1,47$). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 40° getrocknet; vor der Verbrennung wurde die Substanz im Vakuum noch kurz geschmolzen.

3,842 mg Subst. gaben 9,048 mg CO₂ und 2,486 mg H₂O

4,010 mg Subst. verbr. 8,538 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck)

C₁₅H₂₀O₅ (280,31) Ber. C 64,27 H 7,19 —OCH₃ 22,14%
Gef. „ 64,27 „ 7,24 „ 22,02%

Abbau von (XI) zu *d*(+)-Methoxy-bernsteinsäure (XV).

Hydrierung und Hydrolyse von (XI). 400 mg 3-Desoxy-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ -2-methyläther (XI) wurden in 6 cm³ Methanol mit einem Nickel-Katalysator während 16 Stunden bei 100° und 95 Atm. Wasserstoffdruck hydriert. Die Aufarbeitung ergab einen 309 mg wiegenden Sirup, der in 10 cm³ 0,5-n. H₂SO₄ gelöst und 7 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt wurde. Die spez. Drehung nahm während

¹⁾ T. Purdie, J. C. Irvine, Soc. 93, 1021 (1903).

²⁾ B. Helferich, W. Klein, A. 450, 219 (1926).

dieser Zeit von ca. $+116^{\circ}$ auf ca. $+30^{\circ}$ ab und blieb dann konstant. Sodann wurde mit frisch gefälltem BaCO_3 neutralisiert, über wenig Kohle filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde mit Aceton ausgezogen und lieferte 206 mg eines Sirups (XVI), der *Fehling'sche* Lösung kräftig reduzierte.

Oxydation von (XVI) mit KMnO_4 . Die Oxydation des eben erhaltenen Zuckersirups wurde unter genauer Einhaltung der Vorschrift von *Shoppee* und *Reichstein*¹⁾ durchgeführt. Verwendet wurden 765 mg KMnO_4 (6 Atome O) in 15 cm³ Wasser. Es wurden im vorliegenden Fall nur die nicht flüchtigen Säuren isoliert und diese mit Diazomethan verestert.

d(+)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid. Das aus der Oxydation erhaltene Estergemisch wurde im Molekularkolben bei 12 mm destilliert und die bei $30-70^{\circ}$ übergegangene Fraktion (25 mg) mit 1 cm³ bei 0° mit trockenem Ammoniak gesättigten Methanols versetzt und 2 Tage bei Raumtemperatur stehen gelassen. Dann wurde eingedampft und der Rückstand im Molekularkolben bei 0,01 mm und bis 190° Badtemperatur destilliert. Das Destillat lieferte beim Umkrystallisieren aus wenig Methanol 7 mg *d*(+)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid²⁾ in kleinen Prismen vom Smp. $183-184^{\circ}$. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_{\text{D}}^{15} = +54,7^{\circ} \pm 4^{\circ}$ ($c = 0,548$ in Methanol).

5,532 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{15} = +0,30^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde eine Probe im Hochvakuum frisch sublimiert.

3,190 mg Subst. gaben 4,813 mg CO_2 und 1,751 mg H_2O

$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_3\text{N}_2$ (146,13) Ber. C 41,10 H 6,89%

Gef. „ 41,17 „ 6,14%

Die Mischprobe mit einer möglichst gleichen Menge *l*(-)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid schmolz bei $176-178^{\circ}$.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität, Basel.

2. Über den Nachweis von Erdalkalimetallen im Zellgewebe der Pflanze

von R. Haller.

(7. XI. 45.)

Anlässlich einer Untersuchung über das Endosperm von *Johannisbrotkernen* (*Ceratonia siliqua*) versuchte ich die in demselben in reichlicher Masse enthaltenen Schleimsubstanzen durch eine spezifische Färbung kenntlich zu machen.

Unter vielen von mir mit geringem Erfolg angewendeten Farbstoffen habe ich nun im Natriumsalz der Alizarin-monosulfosäure, dem Alizarinrot SW oder Alizarin S eine Substanz gefunden, welche allerdings nicht die Schleimsubstanzen färbte, sondern eigenartigerweise

¹⁾ *C. W. Shoppee, T. Reichstein, Helv. 25, 1611 (1942).*

²⁾ *T. Purdie, G. W. Neave, Soc. 97, 1519 (1910).*

³⁾ *T. Purdie, W. Marshall, Soc. 59, 470 (1891)* fanden für das *d,l*-Diamid Smp. 175° (unkorr.).

gewisse Zellgeweberelikte intensiv rot, die sich im Johannisbrotkernmehl immer in grösserem oder geringerem Masse finden. Da diesen Zellgeweberelikten auch gewisse Mengen Proteinsubstanzen beige-mischt sind, so könnte man diese Färbung natürlicherweise auf die bekannte Affinität der Alizarin-monosulfosäure zu Eiweisstoffen, wie wir sie ja aus der Färberei der Wolle kennen, erklären, wenn nicht die Färbung intensiv rot anstatt wie die der Wolle braun gewesen wäre.

Die braune Wollfärbung geht bekanntlich erst in Rot über, wenn sie mit Metallsalzen, vorzugsweise Aluminiumsalzen, Alaun und dergleichen behandelt wird, wobei sich eine der komplizierten Alizarin-Tonerde-Verbindungen bildet, welche wir aus den Arbeiten von *Hoffmann*¹⁾ und *Rutishauser*²⁾ kennen. Die Anwesenheit von bestimmten Metalloxyden ist also Bedingung für die Bildung der roten Verbindung. Wir wissen indessen auch, dass mit Calciumverbindungen intensiv blauviolette „Lacke“ entstehen, ebenso mit Bariumverbindungen, während Magnesiumverbindungen wiederum rote Lacke bilden. Da wir in den Pflanzen vor allem mit Calciumsalzen, aber auch mit Magnesiumsalzen zu rechnen haben — Magnesium ist zur Bildung von Chlorophyll erforderlich — wogegen wir Aluminiumverbindungen nur ganz ausnahmsweise in einigen einheimischen Lycopodiumarten und in gewissen tropischen Gewächsen finden, und Bariumverbindungen in der Pflanze meines Wissens überhaupt nicht vorkommen, so können wir auf Grund dieser Erkenntnis vermuten, dass die Rotfärbung von Pflanzenbestandteilen auf die Anwesenheit von Magnesiumverbindungen zurückzuführen ist.

Es war nun weiter von Interesse, zu untersuchen, ob auch im frischen Zellgewebe mit alizarin-monosulfosaurem Natrium die Entstehung der roten Färbung beobachtet werden kann. Ich habe zur Untersuchung in dieser Richtung Schnitte durch Blattstengel von *Cucurbita Pepo* L verwendet.

Legt man solche Schnitte in eine Lösung von Alizarin-monosulfosäure ein, so wird man unter dem Mikroskop nach kurzer Zeit, besonders in der Umgebung der Gefässbündelstränge, im Zellsaft des Parenchymgewebes die Bildung eines lebhaft scharlachroten Niederschlages feststellen. Nach und nach färbt sich auch die Lösung selbst rot, offenbar infolge Austretens von Zellsaft aus dem Zellgewebe. Eigenartigerweise bleibt die Epidermis, mit Ausnahme der äussersten Zellschicht, der eigentlichen Cuticula, ungefärbt. Die äusserste Zellschicht allerdings ist intensiv rot gefärbt, ebenso der Bezirk um die Gefässbündelstränge selbst, und diese Feststellung konnte auch beispielsweise für das Zellgewebe von *Urtica dioica* L, sowie von *Heracleum Spondylium* L gemacht werden. Es scheint demnach, dass die Magnesiumverbindungen sich vorzugsweise im Zellsaft vorfinden und offenbar von dort dann zum Aufbau des Chlorophylls weiter transportiert werden. Dass die chlorophyllhaltigen Gewebe diese Reaktion nicht zeigen, liegt wohl daran, dass das im Chlorophyll organisch-komplex gebundene Magnesium mit der Alizarin-monosulfosäure nicht mehr reagiert. Legt man Blattstengel von *Cucurbita Pepo* L in Alkohol zum Härten ein, so wird man auf Schnitten durch das gehärtete Material die Reaktion mit Alizarin SW in viel geringerem Masse beobachten. Versetzt man dagegen den

¹⁾ Diss. Dresden 1937.

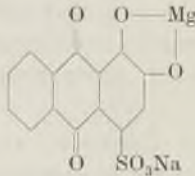
²⁾ Diss. Zürich 1940.

Härtungsalkohol mit alizarinmonosulfosaurem Natrium, so fällt ein reichlicher Niederschlag von lebhaft roter Farbe aus, so dass offenbar das Magnesiumsalz aus dem Gewebe in den Alkohol übergetreten ist.

Um nun weitere Argumente für die Anwesenheit von Magnesiumverbindungen im Zellsaft beizubringen, habe ich mich einer chlorophyllosen Pflanze, und zwar der Orobanche lucorum L, welche auf Berberis schmarotzt, bedient.

Schnitte durch den Stengel dieser Pflanze wurden in eine wässrige Lösung von alizarinmonosulfosaurem Natrium eingelegt und dann unter dem Mikroskop untersucht. Es wurde festgestellt, dass keine Spur einer Färbung vorhanden war, so dass, wie zu erwarten, Magnesiumverbindungen im Zellsaft dieser Pflanze nicht enthalten sind.

Schneidet man Stengel von Cucurbita Pepo L in kleine Stücke, übergiesst dieselben mit Alkohol und lässt 24 Stunden stehen, so färbt sich der Alkohol vom gelösten Chlorophyll schwach grünlich. Versetzt man nun mit einer alkoholischen Lösung von alizarinmonosulfosaurem Natrium, so trübt sich die Lösung und lässt einen roten Niederschlag in beträchtlicher Menge fallen, welcher zweifellos den Ausscheidungen entspricht, welche im Zellsaft der Querschnitte durch Blattstengel von Cucurbita Pepo L beobachtet werden konnten. Ich vermute, dass es sich hier um einen Magnesiumlack des alizarinmonosulfosauren Natrium handelt, wobei vorausgesetzt werden muss, dass das im Zellsaft enthaltene Magnesiumsalz in Alkohol löslich ist. Dieser rote Niederschlag ist in Wasser mit roter Farbe löslich, was durch die Sulfogruppe bedingt sein wird. Ist dieser rote Niederschlag vielleicht folgende Verbindung?



Die wässrige Lösung färbt in neutralem Zustand Wolle intensiv purpurrot, also vollkommen verschieden von der Färbung in alizarinmonosulfosaurem Natrium allein.

Bei diesem roten, in Wasser löslichen Niederschlag, handelt es sich wohl kaum um ein dem eigentlichen Türkischrot analoges komplexes Gebilde, sondern um einen Körper von einfacherer Konstitution, wie er im oben erwähnten Formelbild dargestellt wird; das geht schon daraus hervor, dass die wässrige Lösung auf Zusatz von Eisessig sofort entfärbt wird, wogegen bekanntlich die komplexen Al-Ca-Lacke davon in keiner Weise beeinflusst werden.

Wir haben oben gesehen, dass aus dem alkoholischen Extrakt von Cucurbita Pepo-L-Stengeln alizarinmonosulfosaures Natrium einen roten Niederschlag fällt. Das im Zellsaft anwesende Magnesiumsalz muss also in alkohollöslicher Form darin enthalten sein, vermutlich als Chlorid; dieses ist ja in erheblichen Mengen in Alkohol löslich. Legt man einen Schnitt durch den Stengel der obgenannten Pflanze in eine verdünnte Lösung von Silbernitrat ein, so beobachtet man unter dem Mikroskop die Bildung eines Niederschlages im Zellsaft, der am Licht schwärzlich wird und bei Zufließenlassen von Ammoniak vollkommen verschwindet. Damit sind Chlorionen nachgewiesen, und das Magnesium wird zweifellos auch als Chlorid im Zellsaft enthalten sein.

Dass es sich im Niederschlag aus dem alkoholischen Extrakt der genannten Pflanze um einen Magnesiumlack handelt, wurde durch Veraschung des Niederschlages und Extraktion mit verdünnter Salzsäure bewiesen, indem in der Lösung mit den bekannten Magnesiumreagentien dieses Kation diagnostiziert werden konnte. Der Nachweis wurde

mit der Magnesium-Ammonium-Phosphat-Fällung erbracht. Aber auch die *Hahn*'sche Probe, welche sehr empfindlich ist und auch bei Anwesenheit von Calciumion einwandfreien Nachweis von Magnesiumion gestattet, war positiv. *Hahn* verwendet als Reagenz Chinalizarin (Tetraoxy-anthrachinon). Dieses ist in Wasser unlöslich, gibt aber auf Zusatz von normaler Lauge zur wässrigen Suspension eine blauviolette Lösung. Gibt man dazu eine Lösung eines Magnesiumsalzes, so färbt sich die Lösung rein blau, und sehr rasch fällt ein leuchtend blauer Niederschlag aus. Dieser entsteht auch aus sehr verdünnten Lösungen, vorausgesetzt, dass sie nicht sauer sind. Eigenartigerweise versagt die Reaktion aber bei ihrer Anwendung auf Schnitten durch pflanzliches Zellgewebe. Man erkennt wohl eine blasse Blaufärbung der Zellwände, nicht aber die Bildung des charakteristischen blauen Niederschlages. Möglicherweise verhindern die im Zellsaft vorhandenen Eiweiss-substanzen die Ausfällung des Niederschlages durch Schutzkolloidwirkung.

Ergänzend zu den obigen Mitteilungen habe ich mit dem Alizarinrot SW noch Versuche mit den ostindischen Pflanzen, *Symplocos fasciculata* Zoll. und *Symplocos spicata* Roxb. gemacht.

Die Blätter dieser beiden Pflanzen wurden in eine kalte Lösung von Alizarinrot SW eingelegt, und dann nach zweimal 24 Stunden mikroskopisch untersucht. Man erkennt die sehr reichliche Ablagerung von roten Körnern im Zellgewebe, welche aber im vorliegenden Fall vorwiegend auf die Anwesenheit von Aluminiumverbindungen in der Pflanze zurückzuführen ist. Diese beiden genannten Pflanzen dienen nämlich den eingeborenen Färbern zur Erzeugung von Türkischrot auf baumwollenen Geweben¹⁾. Ich konnte aber durch Veraschen eines Fragmentes des Blattes von *Symplocos spicata* Roxb. und Aufnehmen der Asche mit verdünnter Schwefelsäure im Filtrat vermittelt der *Hahn*'schen Reaktion erhebliche Mengen Magnesiumion nachweisen. Dieser Nachweis liesse vermuten, dass in den Alizarinrotfärbungen, welche in Niederländisch Indien mit der Asche der *Symplocos*pflanze (*Dirijak*) hergestellt werden, Magnesium an der Bildung des Lackes beteiligt ist.

Doch trifft dies kaum zu. Denn ich habe eine Probe Baumwollgewebe zunächst normal geölt, und zwar wurde zur Ausschaltung jeder Spur von Calciumsalzen das Türkischrotöl in destilliertem Wasser gelöst. Das Beizen wurde in einem Gemisch der Lösungen von Aluminiumacetat und Magnesiumacetat, beide völlig kalkfrei, vorgenommen. Nach dem Trocknen und Dämpfen wurde in Natriumphosphatlösung fixiert und dann in einer Suspension von Alizarin in destilliertem Wasser 2 Stunden gefärbt. Man erhält wohl eine zunächst normal aussehende Färbung, welche aber nach 2-stündigem Dämpfen und nachfolgendem Seifen ausserordentlich an Intensität verliert und nach dem Trocknen als ein wenig lebhaftes Rosa erscheint. Ein Parallelversuch mit einer sachgemässen Färbung unter Anwesenheit von Calciumsalzen ergab ein durchaus normales, intensives Rot. Der Ersatz von Calcium durch Magnesium führt also zu einer hinsichtlich Farbton und Echtheit völlig ungenügenden Färbung.

Riehen bei Basel.

¹⁾ Vgl. *Driessen*, Bl. Soc. ind. Mulhouse 1894, 201.

3. Etudes sur les matières végétales volatiles XXXVII¹⁾. Sur de soi-disant formylations d'ionones

par Y.-R. Naves.

(10 XI 45)

Suivant Müller²⁾ et Sabetay³⁾, les ionones mises au contact d'anhydride acéto-formique réagissent dans les conditions appliquées à l'évaluation des alcools. Müller a noté des taux de transformation de 4,52 % (α -ionone) et de 13,7 % (β -ionone), Sabetay de 36 % (α -ionone), et de 19 % (méthyl-ionones), en supposant la production de formiates énoliques.

Nos études infirment ces conclusions: l'anhydride acéto-formique mis au contact d'ionones dans les conditions analytiques n'engendre pas de formiate.

Il est possible que les indices de saponification observés par Müller sur des ionones soi-disant formylées soient entièrement liés à la coupure lidénique. On observe en effet des indices du même ordre en traitant par la potasse alcoolique les ionones n'ayant pas subi l'action de l'anhydride acéto-formique. L'essai de la dihydro- α -ionone ne consomme pas d'alcali et nous avons retiré du produit du traitement de l' α -ionone de l'acide α -cyclogéranique. La coupure lidénique engendre vraisemblablement les cyclocitrals qui réagissent à leur tour avec la potasse ou l'éthylate de potassium. Son importance est limitée par celle de réactions de condensation⁴⁾.

Quant à la soi-disant formylation constatée acidimétriquement par Sabetay, elle nous paraît liée à diverses sources d'erreurs dont la principale pourrait consister dans les irrégularités des épreuves à blanc du réactif.

Partie expérimentale

(avec la collaboration de M. Raymond).

Réactifs. L'anhydride acétique et l'acide formique utilisés pour préparer l'anhydride mixte selon Glichitch⁵⁾ ont été purifiés, le premier par traitement au sodium⁶⁾, le second au moyen d'anhydride phtalique⁷⁾.

Les ionones ont été isolées au moyen de leurs semicarbazones⁸⁾.

¹⁾ XXXVIème comm.: Helv. **28**, 1231 (1945).

²⁾ Dtsch. Parf.-Ztg. **27**, 192 (1941).

³⁾ Bl. [5] **11**, 104 (1944).

⁴⁾ Cfr. Tiemann, B. **31**, 879 (1898).

⁵⁾ Glichitch, Parf. France **1**, No. 6, 33 (1923).

⁶⁾ Walton, Withrow, Am. Soc. **45**, 2690 (1923).

⁷⁾ Schering Co., D.R.P. 578 187 (1928), Frdl. **19**, 255 (1932).

⁸⁾ Références aux caractères décrits: Naves, Bachmann, Helv. **26**, 2151 (1943).

Techniques. Les essais de saponification ont été effectués en portant à l'ébullition le mélange de 1 gr. de cétone et de 15 cm³ de solution alcoolique 0,5 n de potasse. Les essais à blanc effectués concurremment éliminaient l'influence du verre et celle de l'oxydation de l'alcool¹⁾.

La technique de *Sabetay* a été appliquée en utilisant une pipette de *Linderström-Lang* et *Holler*²⁾ pour mesurer l'anhydride acéto-formique avant pesée, des ampoules de verre neutre (*Foliax*) et une solution aqueuse de potasse (et non la solution alcoolique prescrite par l'auteur).

Les dosages oximétriques ont été effectués selon la technique rapportée précédemment³⁾, la durée de réaction étant de 3 heures.

Action des solutions alcooliques bouillantes de potasse.

| | «Indices de saponification» après ébullition de | | |
|-------------------------------------|--|------|------|
| | ½ h. | 2 h. | 4 h. |
| α -ionone | 18,0 | 21,3 | 21,1 |
| β -ionone | 14,0 | 22,6 | 29,3 |
| α -méthylionone | 12,5 | 9,85 | 12,5 |
| dihydro- α -ionone | 0,0 | 0,7 | 0,0 |
| hexahydro-pseudoionone | 0,2 | 0,0 | 0,5 |

80 gr. d' α -ionone ont été portés à l'ébullition durant 2 h. en présence de 1500 cm³ de solution alcoolique 0,5 n de potasse. Du produit de la réaction il a été obtenu 7,6 gr. d'acides sous la forme d'une huile épaisse. 5,1 gr. ont distillé entre 60 et 80° sous 0,08 mm. Hg. — Après traitement de ce distillat au reflux durant 1 heure, en présence de 30 cm³ de méthanol renfermant 1% d'acide chlorhydrique, il a été isolé 3,2 gr. d'acides non estérifiés. Par cristallisations dans l'acide acétique, il en a été extrait 2,4 gr. d'acide α -cyclo-géranique p. de f. = 104—105° (essai de mélange avec l'acide obtenu par cyclisation d'acide géranique au contact d'acide formique). 0,5 gr. ont été convertis en amide par la méthode d'*Aschan*; le produit recristallisé dans un mélange de benzène et d'éther de pétrole avait p. de f. = 120—121° (essai de mélange).

Essais de formylation avec saponification, selon Glichitch. Chaque essai a mis en œuvre 10 cm³ de cétone. L'action de l'anhydride mixte a été éprouvée durant 3 et 9 jours. Les produits traités ont été isolés en présence d'un mélange de pentane et d'éther et éprouvés, comparativement aux produits de départ, par la mesure de d_4^{20} ; n_D^{20} ; ($n_F - n_C$); de la constante diélectrique et de l'indice de carbonyle. Toutes les variations relevées étaient comprises dans les intervalles définis par les erreurs expérimentales⁴⁾, ce qui rend improbable toute formylation ou isomérisation notable.

La recherche des formiates dans les lessives de saponification de 7 gr. d' α -ionone traitée par l'anhydride acétoformique a été effectuée. Les sels ont été desséchés par évaporation suivie de la distillation de benzène. Le produit pulvérisé a été porté 15 minutes à reflux en présence de 150 cm³ de benzène et d'un excès d'acide p-toluène-sulfonique⁵⁾. Ensuite 100 cm³ de benzène ont été distillés afin d'entraîner l'acide formique éventuellement présent. Le distillat a été neutralisé par 1,3 cm³ de solution 0,1 n de soude; les sels de sodium ont été isolés et la recherche des formiates a été effectuée par réduction au

1) *Meyer, Hartmann, B.* **38**, 3956 (1905).
 2) C.r. Lab. Carlsberg, **19**, No. 4 (1931); *Z. physiol. Ch.* **201**, 9 (1931).
 3) *Naves, Helv.* **26**, 172 (1943); Cfr. *Naves, Achmann, Helv.* **26**, 2160 (1943).
 4) d_4^{20} à $\pm 0,0002$; n_D^{20} à $\pm 0,0001$; ($n_F - n_C$) à $\pm 0,00015$; ϵ à $\pm 0,1$; I CO à $\pm 1,2\%$.
 5) *Schicklantz, Steele, Blaisdell, Ind. Eng. Chem., Anal.* **12**, 320 (1940).

moyen de la tournure de magnésium en milieu chlorhydrique¹). La recherche d'aldéhyde formique au moyen du réactif de *Schiff* a été négative.

Le contrôle a été effectué en partant de 7 gr. d' α -ionone «formylée» additionnés de 0,0070 gr. de formiate de géranyle (correspondant à environ 0,1% de formiate énoïque d'ionone). La réaction de l'aldéhyde formique était fortement positive.

Essais de formylation avec acidimétrie, selon Sabetay. Nous avons réalisé les essais à blanc suivants (cm³ de solution alcaline par 1 gr. de réactif): 40,39—40,44—40,24—40,58—40,27—40,12—40,22—40,41, les ampoules étant pesées après scellement et broyées dans l'eau pyridinée.

L'écart maximum a donc été 0,46, ce qui donne pour une prise d'épreuve de 0,4 gr d'ionone, un taux de formylation fictif de 11,0%.

En prenant pour valeur de zéro la moyenne des essais ci-dessus nous avons observé les taux de formylation suivants, tantôt positifs, tantôt négatifs:

| | | | |
|----------------------------|------------|------------|------|
| α -ionone | 4,3 | 6,96 | 6,23 |
| β -ionone | 2,15 | moins 1,07 | 4,31 |
| α -méthylionone . . | moins 2,03 | 5,94 | 1,55 |

RÉSUMÉ.

Les ionones, soumises à l'action de l'anhydride acétoformique dans les conditions analytiques réalisées pour l'évaluation des alcools, ne donnent pas d'esters formiques.

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

4. Zur Struktur des Zinkhydroxychlorids II, $\text{ZnCl}_2 \cdot 4 \text{Zn(OH)}_2$

von *W. Lotmar*.

(14. XI. 45.)

1. Einleitung.

Im Jahre 1928 begann *W. Feitknecht* ein systematisches röntgenographisches Studium der Hydroxysalze zweiwertiger Metalle. Seither wurde von ihm und seinen Mitarbeitern eine grosse Zahl dieser Verbindungen untersucht und ihr Aufbau weitgehend ermittelt²).

Es liegen jedoch bisher noch sehr wenige vollständige Strukturbestimmungen an Substanzen dieser Klasse vor, und zwar hängt das vor allem mit deren schlechter Kristallisierfähigkeit zusammen. Von allen untersuchten Hydroxysalzen konnten bisher nur drei in grösseren Kristallen erhalten werden. Die Strukturermittlungen mussten daher fast ausschliesslich auf Grund der Pulverdiagramme erfolgen. Diese liessen sich zwar in vielen Fällen vollständig indizieren, aber zur Strukturbestimmung mussten meist auch noch Daten nicht röntgenographischer Art beigezogen werden.

Das Ergebnis der Untersuchungen war, dass eine grosse Zahl dieser Hydroxysalze in zwei Haupttypen von Schichtengittern kristallisiert, welche sich von den im C6-Typ

¹) *Fenton, Sisson*, Proc. Cambridge Phys. Soc. **14**, 385 (1908); C. **1908**, I, 1379; Cfr. *Finke*, Z. Nahr. **25**, 389 (1913); *Droller*, Z. physiol. Ch. **211**, 57 (1932); *Rosenthaler*, Der Nachweis organischer Verbindungen, 279, Stuttgart, 1914.

²) Zusammenfassende Darstellung und Literaturverzeichnis bei *W. Feitknecht*, Koll. Z. **92**, 257 (1940).

krystallisierenden Hydroxyden der entsprechenden Metalle herleiten lassen. Die letzteren bilden hexagonale Schichtengitter von $\text{Me}(\text{OH})_2$ -Schichten.

Der erste Bautypus der in Frage stehenden Hydroxysalze entsteht dadurch, dass im Gitter des reinen Hydroxyds ein Teil der OH- durch andere Anionen ersetzt ist. Hierbei treten im allgemeinen Änderungen der Gitterabstände auf, welche jedoch in der Schichtenebene kleiner sind als senkrecht dazu. Bei einem Vertreter dieser Klasse, dem Cadmiumhydroxychlorid $\text{CdCl}(\text{OH})$, konnte von *Hoard* und *Grenko* eine vollständige Strukturbestimmung an Einkristallen durchgeführt werden¹⁾.

Beim zweiten Bautypus andererseits sind zwischen hexagonale Schichten von reinem Hydroxyd Schichten von Salz oder Hydroxysalz eingelagert. Hierbei entsteht eine wesentlich grössere Trennung der Hydroxydschichten nach c, während ihr a-Wert annähernd konstant bleibt. Mit der Trennung der Schichten kann eine seitliche Verzerrung derselben einhergehen, wodurch Strukturen vom C 19-Typ entstehen.

Der erste Typus wird von *Feitknecht* als Einfachschichtengitter, der zweite als Doppelschichtengitter bezeichnet.

Erst bei einem einzigen Vertreter des zweiten Typus, dem Zinkhydroxychlorid $\text{II}^2)$ von der Zusammensetzung $\text{ZnCl}_2 \cdot 4 \text{Zn}(\text{OH})_2$, gelang es bisher, Einkristalle von genügender Grösse zu erhalten, um sie als solche röntgenographisch untersuchen zu können. Obschon die Atomlagen bei dieser Substanz bis jetzt nicht bestimmt werden konnten, soll im folgenden über das vorliegende Material berichtet werden.

2. Material und Aufnahmen.

Die Krystalle bildeten dünne 6-seitige Blättchen von 0,5 bis 1 mm Durchmesser, welche durch 5-jähriges Wachstum unter der Mutterlauge entstanden waren. Ihre Symmetrie war trigonal. Einige Individuen liessen sich optisch justieren, und es konnten *Laue*-Aufnahmen nach [001], Dreh- und Schwenkaufnahmen um [001] sowie Drehaufnahmen um [100] und [110] hergestellt werden. Ausser für die *Laue*-Aufnahmen kam gefilterte Cu-Strahlung zur Verwendung.

Alle Aufnahmen zeigten im Gegensatz zu vielen andern Hydroxysalzen kräftige Interferenzpunkte bis zu grossen Ablenkungswinkeln, sowie verhältnismässig schwachen diffusen Untergrund (Tafel I, Fig. 1 und 2). Daraus kann auf ein wohlausgebildetes Krystallgitter geschlossen werden.

Die Dichte der Substanz wurde von *E. Ammann* zu 3,292 bestimmt³⁾. Das Analysenergebnis entsprach in sehr guter Näherung der oben angegebenen Formel⁴⁾.

Die Substanz wurde nach der Methode von *Giebe* und *Scheibe*⁵⁾ auf Piezoelektrizität untersucht. Während in der verwendeten Anordnung eine Anzahl Testsubstanzen, darunter auch die in der Raumgruppe V^4 krystallisierende rhombische Modifikation des Zinkhydroxyds⁶⁾, einen positiven Effekt ergaben, war beim Zinkhydro-

¹⁾ Z. Kr. **87**, 110 (1934).

²⁾ Bezeichnung nach *W. Feitknecht*, Koll. Z. **92**, 257 (1940). In einer früheren Arbeit (Koll. Z. **68**, 184 (1934)) war dieselbe Verbindung mit I bezeichnet.

³⁾ Helv. **16**, 433 (1933).

⁴⁾ *W. Feitknecht*, Helv. **13**, 22 (1929). Dort auch Abbildung der Krystalle.

⁵⁾ Z. Phys. **33**, 335 und 760 (1925).

⁶⁾ *R. B. Corey* und *R. W. G. Wyckoff*, Z. Kr. **86**, 8 (1933); *J. D. Bernal* und *H. D. Megaw*, Proc. Roy. Soc. [A] **151**, 384 (1935).

xchlorid kein solcher festzustellen. Bei den anzunehmenden stark polaren Bestandteilen dieser Substanz ist daher das Vorhandensein eines Symmetriezentrums sehr wahrscheinlich.

3. Elementarzelle und Raumgruppe.

Die Auswertung der Diagramme ergab folgendes:

Die *Laue*-Aufnahme nach [001] zeigt die trigonale Symmetrie D_{3h} . Auf allen Aufnahmen fehlen sämtliche Reflexe, welche bei Gültigkeit der Rhomboederbedingung verschwinden; die Translationsgruppe ist demnach rhomboedrisch. Dies wurde durch eine Schwenkaufnahme von 25° um [001] sowie eine Drehaufnahme um die Rhomboederkante sichergestellt.

Die Dimensionen der hexagonalen Elementarzelle ergaben sich zu

$$a = 6,34 \text{ \AA}$$

$$c = 23,60 \text{ \AA}$$

Das Volumen der hexagonalen Zelle beträgt daher $V = 821,5 \text{ \AA}^3$, dasjenige der rhomboedrischen Zelle $273,8 \text{ \AA}^3$. Mit der angeführten experimentellen Dichte von 3,292 ergibt sich die Zahl der Formelgewichte in der letzteren Zelle zu 1,023, d. h. praktisch zu 1.

Nach der *Laue*-Symmetrie D_{3h} kommen die Krystallklassen C_{3v} , D_3 und D_{3d} in Betracht. Bei der durch den piezoelektrischen Befund nahegelegten Annahme eines Symmetriezentrums scheiden hiervon die beiden ersten Klassen aus, sodass sich als wahrscheinliche Krystallklasse D_{3d} ergibt. Da rhomboedrische Translationsgruppe vorliegt und keine systematischen Auslöschungen beobachtet werden, so ist dann die Raumgruppe eindeutig zu D_{3d}^5 festgelegt.

4. Intensitätsgesetzmässigkeiten.

Im Drehdiagramm um [001] sind folgende charakteristischen Gesetzmässigkeiten festzustellen (hexagonale Indizierung):

Unter den 20 mit Cu-Strahlung beobachtbaren Zonen kommen nur 4 verschiedene Typen vor, nämlich

1. h und k gerade (gg)

$$a) h - k = 3n$$

$$b) h - k = 3n \pm 1$$

2. h und k nicht beide gerade (uu, ug, gu)

$$a) h - k = 3n$$

$$b) h - k = 3n \pm 1.$$

Beispielsweise zeigen die 8 Zonen (10 l), (21 l), (31 l), (32 l), (50 l), (51 l), (43 l), (61 l) alle dieselbe Intensitätsverteilung (Fall 2b). Die geschätzten Intensitäten in den vier Zonentypen sind in Tabelle 1 enthalten.

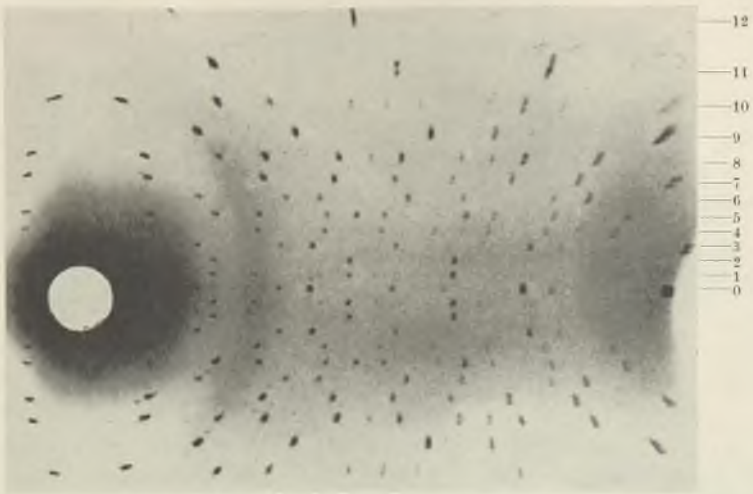


Fig. 1.

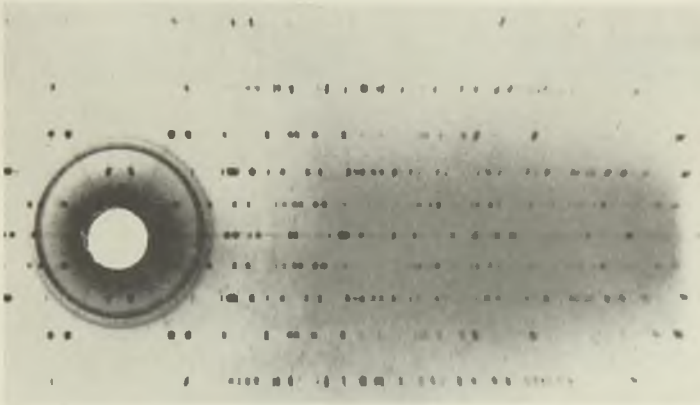


Fig. 2.

Drehdiagramme von Zinkhydroxychlorid II. Kameradurchmesser 57,3 mm, Cu-K α -Strahlung. Filmmitte links.

Fig. 1: Drehachse [001] (hexagonale Indizierung).
Rechts Numerierung der Schichtlinien.

Fig. 2: Drehachse [110]. Ringe von Halter-Wachs.





Tabelle 1.
Intensitäten im Drehdiagramm um [001].

| Zonentyp | 1a | 1b | 2a | 2b |
|----------|-----|-----|-----|-----|
| hk0 | st | — | mst | — |
| 1 | — | mst | — | sw |
| 2 | — | mst | — | 0 |
| 3 | mst | — | m | — |
| 4 | — | 0 | — | m |
| 5 | — | mst | — | m |
| 6 | m | — | m | — |
| 7 | — | 0 | — | mst |
| 8 | — | m | — | st |
| 9 | ssw | — | st | — |
| 10 | — | mst | — | m |
| 11 | — | st | — | 0 |
| 12 | 0 | — | mst | — |

st = stark
mst = mittelstark
m = mittel
sw = schwach
ssw = sehr schwach

Ausser den durch die Rhomboederbedingung geforderten systematischen Auslöschungen ist also noch eine Anzahl „zufälliger“ Auslöschungen zu beobachten, deren Charakter als solcher z. B. daraus hervorgeht, dass (hk4) in den Zonen vom Typ 1b) bei höheren Werten von hk ganz schwach auftritt.

Die Intensitätsverteilung für die Basisreflexe, entnommen aus den Drehdiagrammen um [100] und [110], ist die folgende:

(003) st
(006) st
(009) m
(00 12) st
(00 15) mst
(00 18) mst
(00 21) sw

In rhomboedrischer Indizierung lautet die oben formulierte Intensitätsgesetzmässigkeit:

Bei gegebener Summe ($h + k + l$) zeigt die Intensität nur zwei verschiedene Werte, und zwar je nachdem, ob

1. keiner oder alle Indices gerade;
2. einer oder zwei Indices gerade sind.

5. Atomlagen.

Für die Strukturbestimmung ergibt sich ein Hinweis aus der Tatsache, dass unter den Hydroxysalzen schon früher Diagramme gefunden wurden, die sich mit demselben c-Wert, aber halb so grossem a-Wert indizieren liessen¹⁾. Bei den Zinkhydroxychloriden selber wurden seither sogar mehrere Zwischenstufen gefunden, bei welchen

¹⁾ W. Feitknecht und W. Lotmar, Z. Kr. **91**, 136 und Nachtrag **92**, 475 (1935).

die Linien, die eine Verdoppelung der a-Achse erfordern, allmählich verschwinden¹⁾. Es ist daher naheliegend, die vorliegende Struktur als eine Art „Überstruktur“ dieser einfacheren Strukturen aufzufassen. Für die letzteren konnte nun bereits vor einiger Zeit ein Vorschlag gemacht werden²⁾, dahingehend, dass zwischen hexagonale $\text{Me}(\text{OH})_2$ -Schichten vom Abstand $c/3$ mehr oder weniger ungeordnetes Material von $\text{Me}(\text{OH})\text{X}$ eingelagert ist ($\text{X} = \text{Halogen}$). Dies ergab sich daraus, dass ja bei der Halbierung der a-Achse auf die rhomboedrische Elementarzelle nur noch $1 \text{ Me}(\text{OH})_2 \cdot \frac{1}{4} \text{ Me}(\text{OH})\text{X}$ kommt, so dass es nahe lag, den nur in Bruchteilen vorhandenen Anteil dieser Formel als mehr oder weniger statistisch verteilt anzunehmen. Unter dieser Annahme konnten für den ganzzahlig vorhandenen Anteil $\text{Me}(\text{OH})_2$ Parameter gefunden werden, welche eine befriedigende Übereinstimmung der berechneten Intensitäten mit den beobachteten, sowie Ionenabstände in der Nähe bekannter Werte ergaben³⁾.

Die vorliegende „Überstruktur“ müsste demgemäss dadurch zustande kommen, dass das Material der Zwischenschichten nunmehr geordnet vorliegt.

Es gelang jedoch bisher nicht, die so ausgesprochenen Intensitätsgesetzmässigkeiten der vorliegenden Diagramme durch geeignete Parameterwahl auch nur einigermaßen richtig wiederzugeben, und zwar weder durch Verteilung der Atome auf Punktlagen entsprechender Zähligkeit, noch durch die Annahme, dass höherzählige Punktlagen statistisch mit Streuzentren besetzt sind. Vor allem werden bei beiden Versuchen die Intensitäten der „Überstrukturlinien“ (Zonen 2a und b) im Vergleich zu den „Hauptlinien“ (Zonen 1a und b) viel zu schwach. Es entsteht daher die Vermutung, die Zwischenschichten seien doch mit mehr Material besetzt als nur mit 1 ZnCl_2 pro Zelle. Sobald jedoch aus den Hauptschichten in regelmässiger Weise Atome herausgenommen werden (beispielsweise $3 \text{ Zn}(\text{OH})_2$ statt 4 pro Zelle), so tritt ein prinzipieller Widerspruch mit der beobachteten Gesetzmässigkeit auf, dass nur vier verschiedene Zonentypen gefunden werden. Auch unter der Annahme einer Hauptschicht mit statistisch verteilten unbesetzten Gitterplätzen konnten jedoch keine Atomlagen gefunden werden, welche eine befriedigende Übereinstimmung der berechneten Intensitäten mit den beobachteten ergeben hätten.

Die vorliegende Untersuchung wurde in den Jahren 1933/34 teils im Anorganisch-Chemischen, teils im Mineralogisch-Petrographischen Institut der Universität Bern durchgeführt. Die Krystalle stammten aus einem Präparat von Prof. *W. Feitknecht*, welchem ich für deren Überlassung sowie für die Anregung zu dieser Untersuchung bestens danke. Die Versuche über das piezoelektrische Verhalten konnten im Physikalischen Institut der Universität angestellt werden, wofür mein Dank Herrn Prof. *H. Greinacher* gebührt.

¹⁾ *W. Feitknecht* und *H. Weidmann*, *Helv.* **26**, 1911 (1943).

²⁾ *Z. Kr.*, l. c.

³⁾ Siehe hierzu *W. Lotmar* und *W. Feitknecht*, *Z. Kr.* **93**, 368 (1936).

Zusammenfassung.

1. An Einkrystallen des Zinkhydroxychlorids II von der Zusammensetzung $\text{ZnCl}_2 \cdot 4 \text{Zn}(\text{OH})_2$, einem Vertreter der Hydroxysalze zweiwertiger Metalle mit Doppelschichtengitter, konnte auf Grund von Laue-, Dreh-, und Schwenkaufnahmen festgestellt werden, dass das Krystallsystem trigonal und die Translationsgruppe rhomboedrisch ist. Die Dimensionen der hexagonalen Elementarzelle betragen

$$\begin{aligned} a &= 6,34 \text{ \AA} \\ c &= 23,60 \text{ \AA} \end{aligned}$$

In der rhomboedrischen Elementarzelle ist ein Formelgewicht enthalten.

2. Der piezoelektrische Befund am Krystallpulver ist negativ, sodass mit grosser Wahrscheinlichkeit auf das Vorhandensein eines Symmetriezentrums geschlossen werden kann. Zusammen mit der Laue-Symmetrie D_{3h} und der rhomboedrischen Translationsgruppe ergibt sich daraus als sehr wahrscheinliche Raumgruppe D_{3d}^5 .

3. Im Drehdiagramm um $[001]$ (hexagonal) sind charakteristische Intensitätsgesetzmässigkeiten festzustellen, derart, dass nur vier verschiedene Zonentypen auftreten.

Eine befriedigende Übereinstimmung der berechneten Intensitäten mit den beobachteten durch entsprechende Wahl der Atomparameter konnte bisher nicht erreicht werden.

Aarau.

5. Beiträge zur Kenntnis der oxydierten Stärke

von Fritz Müller.

(22. XI. 45.)

Anlässlich seiner interessanten Arbeiten über die Morphologie des Stärkekorns hat *R. Haller*¹⁾ Stärke mit Oxydationsmitteln behandelt, um zu prüfen, ob bei diesem hochpolymeren Polysaccharid ähnliche Veränderungen zu beobachten sind wie bei der oxydierten Cellulose. Dabei bedauert der Autor, dass die von mir für „Oxycellulose“²⁾ beschriebenen Nachweisreaktionen für oxydierte Stärke nicht anwendbar seien, da sie bei Temperaturen durchgeführt würden, die über der Quellungstemperatur der Stärke (ca. 60°) liegen. Tatsächlich habe ich damals fast ausschliesslich bei Siedetemperatur gearbeitet, um eine für den Textilchemiker erwünschte rasche Ausführung der Reaktionen zu erreichen. *R. Haller* hat aber offenbar zwei Stellen in meinen Arbeiten übersehen. Einmal wurde die Kondensation der 2-Hydrazino-8-naphtol-6-sulfosäure bei 30–35° C vorgenommen, und dann aber findet sich die Bemerkung, dass Arylhydrazine auch bei Zimmertemperatur mit den Dehydrierungsprodukten, die in der „Oxycellulose“ enthalten sind, reagieren, wenn man die Einwirkungszeit entsprechend verlängert³⁾. *E. Geiger*⁴⁾

1) *R. Haller*, *Helv.* **23**, 596 (1940).

2) *F. Müller*, *Helv.* **22**, 208, 217 und 376 (1939).

3) *Loc. cit.* S. 377 und 219. 4) *E. Geiger*, *Helv.* **28**, 283 (1945).

hat dann später fast ausschliesslich bei Raumtemperatur gearbeitet und ist besonders bei der „Hydrocellulose“ damit zu interessanten Resultaten gelangt, speziell was die Anwendung der Phenylhydrazin-p-sulfosäure anbelangt.

Im Anschluss an die zitierte *Haller*'sche Arbeit habe ich schon früher an Kartoffelstärke, neuerdings an Weizenstärke die Frage zu klären versucht, ob bei Veränderung dieses Naturstoffes durch Dehydrierung und Oxydation die gleichen neuen funktionellen Gruppen entstehen wie bei der oxydierten Cellulose, d. h. freie Carbonyle resp. Carboxyle, und ob die freien Carbonyle mit den genannten Reaktionen nachgewiesen werden können. Selbstverständlich wurde dabei auch ein Teil der älteren Nachweismethoden geprüft, um den Anschluss an die frühere Arbeitsweise zu vollziehen.

Wir wissen nicht, ob scheinbar nachgewiesene freie Carbonyle nicht schon in der unveränderten Stärke vorliegen oder erst durch die verwendeten Reagenzien gebildet werden, z. B. durch Spaltung von Halbacetalen. Deshalb ist, wie *Haller* betont, eine Reihe der älteren Reaktionen auf „Oxycellulose“ bei oxydierter Stärke unbrauchbar, weil sie auch bei unveränderter Stärke ansprechen. Wenn z. B., wie *Haller* anführt, die Methylenblaufärbung, die Berlinerblau- und seine eigene Goldpurpurreaktion bei unveränderter und oxydierter Stärke positiv ausfallen, so weiss man nicht, ob hier Carboxyl- resp. freie Carbonylgruppen in Reaktion treten, oder ob diese Erscheinung kolloidchemisch, durch Adsorption zu erklären ist. Ich konnte *R. Haller*'s Befunde bestätigen und weiter beobachten, dass das bei oxydierter Cellulose sehr aufschlussreiche *Schiff*'sche Reagens, die Fuchsin-schweflige Säure, sich in den allermeisten Fällen gleich verhält. Aber gerade diese Befunde waren es, die zu einer erneuten Bearbeitung des Gegenstandes anregten. Nur bei oxydierter Kartoffelstärke waren mit dem *Schiff*'schen Reagens ausgesprochene, allerdings auch nur graduelle Unterschiede zu beobachten, bei oxydierter Weizenstärke aber kaum mehr. Das Arbeiten mit den chemischen, besonders aber topochemischen Veränderungen der hochpolymeren Polysaccharide bedingt, dass man es meistens nicht mit chemischen Individuen zu tun hat, sondern mit Reaktionskomplexen, und dass deshalb stets Ermessensfragen zu beantworten sind. Aus diesem Grunde sollten Nachweismethoden nicht nur prägnante Farbreaktionen geben, sondern für die entstandenen funktionellen Gruppen bezeichnend sein. Freilich wird bei Veränderungen dieser Naturstoffe, die unter Erhaltung der Struktur verlaufen, immer nur ein kleiner Teil der einzelnen Makromolekel oder aber ein verschwindend kleiner Prozentsatz der vorhandenen Makromolekel verändert. Gerade bei der Stärke ist man nie sicher, wo die kolloidchemischen Reaktionen aufhören und die strukturellen beginnen. Demgegenüber ist Cellulose, sowohl native, wie umgeformte und regenerierte entsprechend ihrem festeren Gefüge im ganzen Verhalten viel eindeutiger.

Ich habe nun oxydierte Stärke nach den von mir für Oxy-cellulose beschriebenen Methoden mit dem Ausgangsmaterial verglichen und dabei als auffälligen Befund nur graduelle Unterschiede beobachtet. Dies trifft auch für die Einwirkung von aromatischen Hydrazinosulfosäuren zu, besonders von Hydrazinonaphtolsulfosäuren und nachfolgende Kupplung mit Diazoniumverbindungen, die zum Nachweis freier Carbonyle dienen kann. Bei oxydierter Cellulose lässt sich diese Differenz durch geeignete Arbeitsweise weitgehend so steuern, dass der unveränderte Grund sehr wenig gefärbt erscheint. Lässt man z. B. 2-Hydrazino-8-naphtol-3,6-disulfosäure in verdünnter Lösung auf oxydierte Stärke einwirken, so tritt rasch Gelbfärbung ein, die auf Hydrazonbildung hindeutet; die Gelbfärbung der wässrigen Lösung beweist zudem, dass dadurch Abbauprodukte in Hydrazonform wasserlöslich werden. Wenn man nach sehr sorgfältigem Auswaschen eine geeignete Diazoniumverbindung einwirken lässt, so erscheint die oxydierte Probe tief, die Kontrollprobe sehr viel heller, oft fast nicht gefärbt. Der Farbstoff der oxydierten Probe geht durch öfteres Aufschlänmen und Dekantieren sehr langsam, aber nie völlig in das Waschwasser, was auf locker gebundene Hydrazone relativ niedrigmolekularer Abbauprodukte hindeutet.

Beim analogen Versuch mit 1-Amino-8-naphtol-3,6-disulfosäure H kann man die adsorptive Bindung dieser Substanz besonders leicht zeigen. Aus der Kontrollprobe lässt sich die H-Säure kaum völlig eluieren, viel leichter aber aus der oxydierten Stärke; der Nachweis geschah auch hier naturgemäss mit Diazoniumverbindungen.

Die Versuche ergaben, dass von den von mir früher für oxydierte Cellulose beschriebenen Methoden einzig die Arylhydraxon-Azofarbstoffreaktion eine genügende Differenzierung von unveränderter und oxydierter Stärke ergibt. Die Einwirkung von sehr verdünnter Gold(III)-chloridlösung, sei es ohne sei es mit Vorbehandlung durch Natriumdithionit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), ergab sehr schwankende Resultate.

Herr Prof. Dr. A. Frey-Wyssling hatte die Freundlichkeit, eine Anzahl Proben optisch zu untersuchen, wofür ich ihm auch hier bestens danken möchte. Er schreibt darüber:

„Leider sind die verschiedenen Färbungen zu wenig intensiv, um dichroitische Effekte erkennen zu können. Es ist lediglich eine ganz schwache isotrope Anfärbung festzustellen. Auch hinsichtlich der Stärke der Doppelbrechung besteht zwischen der Kontrollprobe und den oxydierten Mustern kein Unterschied. Offenbar finden die chemischen Vorgänge statt, ohne die Feinstruktur zu beeinträchtigen.“

Experimenteller Teil.

Anlässlich der früheren Versuche mit Kartoffelstärke wurden Persulfat, Hypochlorit, Permanganat, H_2O_2 als Oxydationsmittel angewandt und stets analoge Resultate erzielt. Bei den neueren Versuchen mit Weizenstärke bediente ich mich ausschliesslich des Permanganats, weil dessen Reduktion die fortschreitende Oxydation der Stärke einigermassen zu kontrollieren gestattet.

Bei sämtlichen Reaktionen wurde peinlich darauf geachtet, dass die Reagenzien, die man zur Vorbehandlung verwandte, völlig ausgewaschen wurden. Dies geschah zuerst auf der Nutsche und nachher durch Aufschlänmen und Dekantieren, bis die angewandte Substanz im Waschwasser nicht mehr nachweisbar war. Nach vollzogener Reaktion wurde erneut solange ausgewaschen, bis das Waschwasser farblos blieb. Ein Teil dieser Proben zeigte aber nach Wochen wieder Färbung im übergeschichteten Wasser, so dass die Mitbeteiligung der adsorptiven Bindung der Farbstoffe sehr wahrscheinlich ist.

Oxydation der Stärke.

50 g Weizenstärke des Handels wurden in 500 cm³ Wasser turbiniert und mit 50 cm³ 5-proz. KMnO₄-Lösung versetzt. Bevor die Reduktion des MnO₄'-Ions vollständig war, wurden 40—50 cm³ konz. Natriumhydrogensulfidlösung und 4—6 cm³ konz. Salzsäure zugefügt. Nach einiger Zeit verschwindet die braune Farbe des MnO₂ völlig und die Stärke zeigte wieder das ursprüngliche Weiss. Hierauf wurde abgesaugt und mit destilliertem Wasser neutral gewaschen. Bei der Herstellung der Kontrollproben wurde wie angegeben verfahren, aber sämtliche Reagenzien weggelassen. Durch Absaugen wurden beide Pasten auf gleiches Gewicht gebracht und zur Ausführung der Reaktionen gleiche Gewichtsteile derselben verwendet.

1. Goldreaktion.

Je 5 g einer ca. 60-proz. Paste wurden in 30 cm³ Wasser suspendiert und mit je 2 Tropfen einer 5-proz. Lösung von Gold(III)-chloridlösung versetzt und von Zeit zu Zeit geschüttelt. In 5 von 9 Versuchsserien waren die beiden Proben selbst nach Tagen praktisch unverändert, in 3 Fällen aber zeigte die Kontrollprobe Reduktion zu schwarzem kolloidem Gold. Man erhielt den Eindruck, dass durch die Oxydation reduzierende Aldehydgruppen in Carboxyl verwandelt wurden.

Bei der Vorbehandlung mit Natriumdithionit (Na₂S₂O₄) und peinlichstem Auswaschen des Salzes (Kontrolle des Suspensionswassers mit Gold(III)-chlorid- und verdünntester Methylenblaulösung) wurde in einem Falle eine eindeutige „Alles- oder Nichts“-Reaktion beobachtet, indem die oxydierte Probe tiefschwarzgrau, die Kontrollprobe andeutungsweise orange war.

2. Reaktion mit Fuchsinchwefliger Säure.

Je 5 g der Pasten wurden in 25 cm³ einer aus 1-prom. Fuchsin mit SO₂ bereiteten Lösung versetzt und wiederholt geschüttelt. Die Wirksamkeit der einige Zeit gelagerten Lösung als Aldehydreagens wurde mit Acetaldehyd und oxydierter Cellulose kontrolliert. Nach einer Stunde wurde vorsichtig abgossen, mit Leitungswasser geschüttelt, dekantiert und wieder abgossen. Dies wurde so lange fortgesetzt, bis die Proben keinen Farbstoff mehr abgaben; beide Proben zeigten intensive Färbung.

Dass gegenüber oxydierter Cellulose hier ein ganz wesentlicher Unterschied besteht, zeigt folgender Versuch. Behandelt man die beiden tief rot gefärbten Proben wiederholt mit Wasser, das mit SO₂ gesättigt wurde, so lässt sich die Färbung völlig abziehen; die nachfolgende Reoxydation mit Leitungswasser ergab nur eine Andeutung einer Rotfärbung. Dies gilt für oxydierte und unveränderte Stärke. Bei oxydierter Cellulose dagegen wird durch Behandlung mit wässrigem SO₂ das tiefe Rot der „Oxycellulose“ durch Reduktion völlig entfärbt, aber beim nachfolgenden Wässern wird diese Färbung wieder bis zur ursprünglichen Intensität reoxydiert. Auf diese Weise lassen sich bei oxydierter Cellulose besonders schöne Kontraste erzielen, da der nicht angegriffene Grund des Gewebes deutlich und bleibend entfärbt wird, was besonders bei der Untersuchung von umgeformten Cellulosen wichtig ist.

Die Vorbehandlung der beiden Proben mit Benzolsulfohydroxamsäure (1-proz. Lösung, p_H 7,4) beeinflusst im völligen Gegensatz zu oxydierter Cellulose den Ausfall der Schiff'schen Reaktion gar nicht. Mit grosser Wahrscheinlichkeit beruht die Anfärbung von unveränderter oder oxydierter Stärke mit Fuchsinchwefliger Säure nicht auf einer

Reaktion mit freien Aldehydgruppen, sondern auf Adsorption. Diese Ansicht wird auch noch dadurch gestützt, dass in einigen Versuchsreihen der Farbstoff endlos in die Wasch-wässer ging.

Um die Frage nochmals zu klären¹⁾, ob bei der Reaktion mit fuchsin-schweflicher Säure nicht doch eine partielle Salzbildung von eventuell im *Schiff*'schen Reagens enthaltener Fuchsinleukobase mit den Carboxylen der oxydierten Cellulose und Stärke vorliegt, habe ich solche Proben und die Kontrollen mit verdünnten Lösungen von Methansulfonsäure²⁾, die bekanntlich ganz besonders leicht lösliche Salze mit komplizierteren organischen Basen gibt, behandelt und dabei mit beiden Naturstoffen eine auffallende und vorerst noch nicht zu erklärende Beobachtung gemacht. Nach einigen Tagen verblassten die intensiven Färbungen bei Cellulose sehr stark, bei den Stärkeproben hingegen plötzlich fast ganz. Weder in den Substanzen noch in der wässrigen Lösung liess sich die Färbung durch H_2O_2 wieder erzeugen. (Erhitzt man 5 cm^3 eines 1-prom. Fuchsinacetatösung mit 3 Tropfen Methansulfonsäure zum Sieden, so verschiebt sich der Farbton nach Violett hin; beim Erwärmen auf dem Wasserbad wird der Farbton immer schmutziger bis eine gelbe Färbung bestehen bleibt. Mit H_2O_2 kann kein Farbstoff reoxydiert werden. Reduktion kann auch deshalb nicht vorliegen, weil der entsprechende Versuch mit Methylenblau zu keiner Entfärbung führt.)

3. Reaktionen mit Derivaten von aromatischen Hydrazinen.

Um zu möglichst zuverlässigen Resultaten zu gelangen, war es wichtig, aus den in Betracht fallenden Reagenzien die geeignetsten auszusuchen. Beispielsweise führt die Kombination der Hydrazine der 2-Hydrazino-8-naphtol-6-sulfosäure mit tetrazotiertem Dianisidin zu sehr tiefen Tönen. Dabei aber autoxydiert sich das Naphtalinderivat partiell leicht zu rötlichen Nebenprodukten, und tetrazotiertes Dianisidin gibt mit nativer Stärke umgesetzt gelblichbraune bis braune Färbungen, die voraussichtlich von adsorbierten Zersetzungsprodukten der Tetrazoniumverbindung herrühren.

Es ergab sich bald, dass nur Diazonium- oder Tetrazoniumderivate sulfierter Mono- oder Diamine geeignet sind, einmal weil sie eine gute Beständigkeit aufweisen, sehr gut auswaschbar sind und dann aber diese letztere Eigenschaft auch ihren Zersetzungsprodukten zukommt. Es war aber auch hier wieder eine Auslese zu treffen, da z. B. die Tetrazoniumverbindung aus der bekannten Diaminostilben-disulfosäure sich als ungeeignet erwies. Von einer Anzahl sulfierter Derivate eigneten sich die tetrazotierte Benzindisulfosäure und die diazotierte Sulfanilsäure am besten.

In gleicher Weise mussten auch die in Betracht fallenden Hydrazinoderivate auf ihre Beständigkeit hin geprüft werden. Von den untersuchten Derivaten ergab sich folgende absteigende Reihenfolge: Phenylhydrazin-p-sulfosäure, 2-Hydrazino-8-naphtol-3,6-disulfosäure (aus der RR-Säure gewonnen), 1-Hydrazino-8-naphtol-3,6-disulfosäure, 2-Hydrazino-8-naphtol-6-sulfosäure. Die der K- und S-Säure entsprechenden Hydrazine verhielten sich ähnlich wie das 1,8-3,6-Derivat aus der H-Säure. Im folgenden sollen aus einer Anzahl Versuche, die im Prinzip völlig gleich verliefen, nur zwei genauer aufgeführt werden.

4. Einwirkung von 2-Hydrazino-8-naphtol-3,6-disulfosäure auf oxydierte Stärke.

Je 10 g der auf S. 24 beschriebenen Pasten wurden mit je 25 cm^3 einer kaltgesättigten Lösung des Hydrazinoderivates und 25 cm^3 Wasser versetzt und von Zeit zu Zeit die Suspension völlig aufgeschüttelt. Beide Proben zeigten schon nach einigen Stunden Gelbfärbung, die oxydierte aber sehr viel stärker. Der gleiche Unterschied war auch nach dem Absetzen der Stärke in der wässrigen Lösung zu beobachten. Nach 2-tägigem Stehen

¹⁾ Siehe Helv. **22**, 377 (1939).

²⁾ Herr Prof. Dr. A. Stoll hat mir zu diesem Zwecke eine Versuchsmenge von Methansulfonsäure in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm auch hier bestens danken möchte.

und zeitweiligem Aufschlämmen wurden die beiden Proben auf der Nutsche abgesaugt und so lange gewaschen, bis im Filtrat mit einer Diazoniumverbindung keine Färbung mehr zu beobachten war. Dann wurden die Proben erneut in Wasser aufgeschlämmt und dekantiert, bis die gleiche Prüfung negativ blieb, da hier und da noch kleinere Mengen der Azokomponente adsorbiert blieben und nur durch längeres Auswaschen zu entfernen waren. Hierauf wurden beide Suspensionen mit der gleichen Menge n. Na_2CO_3 und einer schwach kongosäuren Lösung von tetrazotierter Benzidindisulfosäure (4,10–2,8) versetzt und geschüttelt. Beide Proben färbten sich sofort bräunlichrot, die Kontrolle hell, die oxydierte Probe sehr tief. Durch Waschen auf der Nutsche und öfters wiederholtes Aufschlämmen und Dekantieren wurden die Proben so lange gereinigt, bis die Waschwässer farblos blieben. Nach mehrwöchentlichem Stehen gab die Kontrolle keinen Farbstoff mehr im Suspensionswasser, wohl aber die oxydierte Probe. Gärung war in beiden Fällen auch nicht andeutungsweise zu bemerken. (Als inertes Desinficiens zur Verhinderung der Gärung bei Stärkesuspensionen bewährte sich der Zusatz einer Spur Kupferpulver.)

Der entsprechende Versuch mit Phenylhydrazin-p-sulfosäure verlief identisch; die Färbungen waren hier hellbraun und tiefbraun. Über die mit den andern Hydrazinonaphtholmono- und disulfosäuren angestellten Versuche soll der Raumersparnis halber nicht berichtet werden; sie verliefen alle im Prinzip identisch.

Diese Mitteilung ist als eine vorläufige zu betrachten, die voraussichtlich von anderer Seite weitergeführt wird. Leider konnte eine Menge von Fragen, wie z. B. die Möglichkeit der Salzbildung mit basischen Farbstoffen an eventuell in der Stärke vorgebildeten Carboxylen, die Rolle der Adsorption, der Einfluss des p_H der Lösung auf die Hydrazinreaktion, Anlagerung von Carbonylreagenzien, wie z. B. HCN vor den beschriebenen Reaktionen zur Blockierung bestehender freier Carbonyle im Ausgangsmaterial, Reaktion der Hydrazine mit den Halbacetalen usw., nicht bearbeitet werden.

Basel, Rütimeyerstrasse 43.

6. Zeitliche Folge der Zusammensetzung von Destillat und Rückstand im Verlaufe einer Destillation

von Werner Kuhn.

(27. XI. 45.)

Quantitative Betrachtungen über die Vorgänge, welche sich bei der Destillation in einer Fraktioniersäule abspielen¹⁾, haben gezeigt, dass bei der Destillation eines binären Gemisches zwischen der relativen Konzentration des leichter flüchtigen Bestandteiles im Destillat γ_D und der relativen Konzentration desselben Bestandteiles in der Blase, γ_B , die Beziehung besteht:

$$\frac{\gamma_D}{1-\gamma_D} = \frac{\gamma_B}{1-\gamma_B} e^{n\delta} \quad (1)$$

¹⁾ W. Kuhn, Helv. 25, 252 (1942); W. Kuhn und K. Ryffel, Helv. 26, 1693 (1943).

Dabei ist δ der sogenannte Trennfaktor, eine im Falle schwer trennbarer Gemische kleine Grösse, und n die Zahl der in der Fraktioniersäule erreichten Trennstufen. Diese Zahl n oder n_{eff} hängt sowohl von den Abmessungen der Fraktioniersäule, als auch von den Betriebsbedingungen, insbesondere von der Destillationsgeschwindigkeit \bar{u} , vom Rücklaufverhältnis R , ausserdem aber im allgemeinen von γ_B sowie von der Grösse des Trennfaktors δ ab. Da sich γ_B im Laufe der Destillation ändert, wird dasselbe im allgemeinen auch für die in (1) vorkommende Trennstufenzahl n gelten, und es wird dann schwierig sein, quantitative Angaben über die zeitliche Folge der Zusammensetzung von Destillat und Rückstand im Verlaufe der Destillation zu geben. Indessen zeigt sich, dass die in der Säule erreichte Trennstufenzahl n , sobald das Rücklaufverhältnis R genügend gross (z. B. wesentlich grösser als $1/\gamma_B \cdot \delta$) gewählt wird, vom genauen Werte von R , sowie von γ_B und δ unabhängig wird.

Für diesen einfachsten Fall, der sich, wie gesagt, durch Wahl eines genügend grossen Rücklaufverhältnisses R stets verwirklichen lässt, bleibt, wenn die Destillationsgeschwindigkeit \bar{u} konstant gehalten wird, während des gesamten Destillationsvorganges die effektive Trennstufenzahl n konstant. Es ist nämlich, sofern nur $\bar{u} > 2D/r$ ist, die Trennstufenzahl n gleich

$$n = \frac{4LD}{r^2 \bar{u}} \quad (2)$$

Es bedeutet dabei für den Fall eines aus einem kreiszylindrischen Rohre vom Radius r bestehenden Fraktionieraufsatzes L die Länge des Rohres, \bar{u} die mittlere Translationsgeschwindigkeit des im Rohr aufsteigenden Dampfes, D die Diffusionskonstante des Dampfes.

Für diesen Fall (konstant bleibendes n und δ) stellen wir die Frage nach der Zusammensetzung, also nach dem Reinheitsgrad der bei der Destillation in zeitlicher Folge auftretenden Destillate. Es ist nach (1) klar, dass bei positivem Wert des Trennfaktors δ die Konzentration γ_D des leichter flüchtigen Bestandteils im Dampfe immer grösser als die im Rückstand (γ_B) sein wird, dass aber die Trennung auch bei grossen Werten der Trennstufenzahl n nie unendlich scharf sein wird. Wir stellen also, grob gesagt, die Frage nach dem Umfang derjenigen Fraktionen, bei welchen das Destillat die im Ausgangsgemisch vorkommenden Bestandteile in vergleichbarer Menge nebeneinander enthält, oder die Frage nach der Breite des Gebietes, welches im Destillat vom praktisch reinen ersten zum praktisch reinen zweiten Bestandteil hinüberführt.

Als wesentliche Voraussetzung nehmen wir, um es zu wiederholen, an, dass das Rücklaufverhältnis so gross gewählt sei, dass sich die Trennstufenzahl n während des Trennvorganges nicht ändert.

Ferner setzen wir voraus, dass der Trennfaktor δ vom Mischungsverhältnis der Komponenten unabhängig sei, also während der Destillation konstant bleibt; und schliesslich wollen wir annehmen, dass die Menge des an der Wand oder in Dampfform in der Säule befindlichen Destillationsgutes gegenüber der Menge des in der Blase befindlichen Destillationsgutes vernachlässigt werden kann.

Das letztere ist dabei eine Annahme, welche in Wirklichkeit durchaus nicht so belanglos ist, wie es auf den ersten Blick scheinen könnte: wenn die letzten Spuren des leicht flüchtigen Bestandteiles den Destillationsapparat verlassen, sammeln sie sich nach (1) in den oberen Teilen der Fraktioniersäule an und es ist dann nicht selbstverständlich, dass auch in diesem Falle noch die Menge des in der Kolonne befindlichen leicht flüchtigen Anteils gegenüber der Menge des in der Blase verbliebenen Anteils vernachlässigt werden kann. Da indessen bei einer gegebenen Kolonne die „unterwegs“ (an der Wand und im Dampf) befindliche Substanzmenge von der in der Blase befindlichen Gesamtsubstanzmenge nicht abhängt, ist es klar, dass wir die gestellte Forderung immer dadurch befriedigen können, dass die Grösse der Blase und die Menge des darin befindlichen Destillationsgutes hinreichend gross gewählt wird.

Es sei nun m_{B_0} die Menge der in die Blase zu Anfang des Versuchs eingeführten Substanz. Sie nimmt beim Fortschreiten der Destillation ab und sei in einem bestimmten Zeitpunkt gleich m_B . Die Menge an Destillat, welche zu einem bestimmten Zeitpunkt vorliegt, sei gleich m_D , wobei offenbar in jedem Zeitpunkt gelten wird

$$m_{B_0} = m_B + m_D \quad (2)$$

Ist im gegebenen Zeitpunkt die relative Konzentration an leicht flüchtiger Substanz in der Blase gleich γ_B , so ist die Gewichtsmenge an leicht flüchtiger Substanz in der Blase gleich $m_B \cdot \gamma_B$, an schwer flüchtiger Substanz gleich $m_B (1 - \gamma_B)$.

In einem nächstfolgenden kleinen Zeitabschnitt werde nun eine Substanzmenge dm durch Destillation entnommen. Nach (1) ist die relative Konzentration an leichter flüchtigem Bestandteil γ_D von γ_B verschieden, nämlich gleich

$$\gamma_D = \frac{\gamma_B}{\gamma_B + (1 - \gamma_B)e^{-n\delta}} \quad (3)$$

wie sich durch Auflösen von (1) nach γ_D ergibt. Bei Entnahme der Destillatmenge dm wird daher aus dem Destillationsapparat entfernt die Menge

$$\gamma_D \cdot dm = \frac{\gamma_B}{\gamma_B + (1 - \gamma_B)e^{-n\delta}} \cdot dm \quad (4)$$

an leicht flüchtiger Substanz und die Menge

$$(1 - \gamma_D) dm = \left[1 - \frac{\gamma_B}{\gamma_B + (1 - \gamma_B)e^{-n\delta}} \right] dm \quad (5)$$

an schwer flüchtigem Bestandteil.

Nach Entfernung der Destillatmenge dm ist daher die relative Konzentration der im Destillationsapparat verbleibenden Substanz nicht mehr gleich γ_B , sondern gleich

$$\frac{m_B \gamma_B - \frac{\gamma_B}{\gamma_B + (1 - \gamma_B) e^{-n\delta}} \cdot dm}{m_B \gamma_B - \frac{\gamma_B}{\gamma_B + (1 - \gamma_B) e^{-n\delta}} \cdot dm + m_B(1 - \gamma_B) - dm + dm - \frac{\gamma_B}{\gamma_B + (1 - \gamma_B) e^{-n\delta}}}$$

Die mit der Entnahme der Substanzmenge dm verbundene Änderung der relativen Konzentration des Blaseninhaltes ist daher gleich

$$d\gamma_B = \frac{m_B \gamma_B - \frac{\gamma_B}{\gamma_B + (1 - \gamma_B) e^{-n\delta}} \cdot dm}{m_B - dm} - \gamma_B$$

oder, nach einiger Umformung:

$$d\gamma_B = \frac{\gamma_B}{m_B} \frac{\gamma_B + (1 - \gamma_B) e^{-n\delta} - 1}{\gamma_B + (1 - \gamma_B) e^{-n\delta}} \cdot dm \quad (6)$$

Da die als Destillat entnommene Substanzmenge einer gleich grossen Abnahme an in der Blase befindlicher Substanzmenge entspricht, haben wir

$$dm = -dm_B$$

zu setzen und wir erhalten daher aus (6):

$$\frac{dm_B}{m_B} = -\frac{d\gamma_B}{\gamma_B} \frac{\gamma_B(1 - e^{-n\delta}) + e^{-n\delta}}{\gamma_B(1 - e^{-n\delta}) - 1 + e^{-n\delta}} \quad (7)$$

oder nach einfacher Umformung:

$$\frac{dm_B}{m_B} = \frac{d\gamma_B}{\gamma_B} \frac{\gamma_B + \frac{1}{e^{n\delta} - 1}}{1 - \gamma_B} \quad (8)$$

Die Beziehung (8) ist eine Differentialgleichung, welche der Entnahme dm_B eine Verschiebung $d\gamma_B$ der Konzentration des Blaseninhaltes zuordnet. Die Integration liefert sofort:

$$\ln m_B = -\ln(1 - \gamma_B) + \frac{1}{e^{n\delta} - 1} \ln \gamma_B - \frac{1}{e^{n\delta} - 1} \ln(1 - \gamma_B) + \text{const.} \quad (9)$$

Die Integrationskonstante bestimmt sich daraus, dass zu Beginn der Destillation die Substanzmenge in der Blase gleich m_{B_0} und die Konzentration gleich γ_{B_0} sein soll (Anfangsbedingung). Es wird also

$$\text{const.} = \ln m_{B_0} + \ln(1 - \gamma_{B_0}) - \frac{1}{e^{n\delta} - 1} \ln \frac{\gamma_{B_0}}{1 - \gamma_{B_0}} \quad (10)$$

und wir erhalten:

$$\ln \frac{m_B}{m_{B_0}} = \ln \frac{1-\gamma_{B_0}}{1-\gamma_B} + \frac{1}{e^{n\delta}-1} \ln \frac{\gamma_B}{\gamma_{B_0}} \frac{1-\gamma_{B_0}}{1-\gamma_B} \quad (11)$$

oder

$$\ln(1-\gamma_B) + \frac{1}{e^{n\delta}-1} \ln \frac{1-\gamma_B}{\gamma_B} = \ln \frac{m_{B_0}}{m_B} + \ln(1-\gamma_{B_0}) + \frac{1}{e^{n\delta}-1} \ln \frac{1-\gamma_{B_0}}{\gamma_{B_0}} \quad (12)$$

als Beziehung zwischen der relativen Konzentration γ_B des Blaseninhaltes, der Menge des noch vorhandenen Blaseninhaltes m_B , der Ausgangskonzentration γ_{B_0} und der Ausgangsmenge m_{B_0} .

Da wir uns bei der Destillation eher für die Konzentration im Destillat als für die im Blasenrückstand interessieren, führen wir in (12) an Stelle der Konzentration γ_B in der Blase die Konzentration im Destillat mit Hilfe von (1) ein. Wir erhalten

$$\gamma_B = \frac{\gamma_D}{\gamma_D + (1-\gamma_D)e^{n\delta}}; \quad (13)$$

$$1-\gamma_B = \frac{(1-\gamma_D)e^{n\delta}}{\gamma_D + (1-\gamma_D)e^{n\delta}}; \quad \frac{1-\gamma_B}{\gamma_B} = \frac{1-\gamma_D}{\gamma_D} e^{n\delta}$$

und durch Einsetzen in (12):

$$\ln \frac{1-\gamma_D}{\gamma_D + (1-\gamma_D)e^{n\delta}} + \frac{1}{e^{n\delta}-1} \ln \frac{1-\gamma_D}{\gamma_D} =$$

$$\ln \frac{m_{B_0}}{m_B} - \frac{n\delta e^{n\delta}}{e^{n\delta}-1} + \ln(1-\gamma_{B_0}) + \frac{1}{e^{n\delta}-1} \ln \frac{1-\gamma_{B_0}}{\gamma_{B_0}} \quad (14)$$

Die Beziehungen (12) und (14) gestatten uns, die relative Konzentration des leicht flüchtigen Bestandteils (und damit auch die des schwerer flüchtigen Bestandteils) zu einem beliebigen Zeitpunkt sowohl für den verbliebenen Blaseninhalt (γ_B) anzugeben, als auch für das in dem betreffenden Zeitpunkt am oberen Ende der Säule zu entnehmenden Destillat (γ_D). Beide Grössen sind gegeben in Abhängigkeit von $n \cdot \delta$, von m_{B_0} und dem in dem gewählten Zeitpunkt noch verbliebenen Blaseninhalt m_B .

Wegen (2) ist

$$\frac{m_{B_0}}{m_B} = \frac{m_{B_0}}{m_{B_0} - m_D} = \frac{1}{1 - \frac{m_D}{m_{B_0}}}$$

so dass an Stelle von (12) und (14) auch gesetzt werden kann

$$\ln(1-\gamma_B) + \frac{1}{e^{n\delta}-1} \ln \frac{1-\gamma_B}{\gamma_B} = \ln(1-\gamma_{B_0}) + \frac{1}{e^{n\delta}-1} \ln \frac{1-\gamma_{B_0}}{\gamma_{B_0}} - \ln \left(1 - \frac{m_D}{m_{B_0}} \right) \quad (12a)$$

und

$$\ln \frac{1-\gamma_D}{\gamma_D + (1-\gamma_D)e^{n\delta}} + \frac{1}{e^{n\delta}-1} \ln \frac{1-\gamma_D}{\gamma_D} =$$

$$\ln(1-\gamma_{B_0}) - \frac{n\delta e^{n\delta}}{e^{n\delta}-1} + \frac{1}{e^{n\delta}-1} \ln \frac{1-\gamma_{B_0}}{\gamma_{B_0}} - \ln \left(1 - \frac{m_D}{m_{B_0}} \right) \quad (14a)$$

Hier ist die relative Konzentration des leicht flüchtigen Bestandteils im verbliebenen Blaseninhalt (γ_B in 12a) bzw. in dem am obern Ende der Säule zu entnehmenden Destillat (γ_D in 14a) in Abhängigkeit von $n\delta$, dann von der ursprünglichen Konzentration γ_{B_0} des leichter flüchtigen Bestandteils, sowie vom Verhältnis m_D/m_{B_0} , angegeben; m_D/m_{B_0} ist das Verhältnis der bis zu dem gewählten Augenblick bereits abdestillierten Substanzmenge (m_D) zu der ursprünglich eingesetzten Substanzmenge m_{B_0} . Dieses Verhältnis ist zu Anfang der Destillation gleich 0 und wird am Ende derselben gleich 1.

In den beigegebenen Figuren ist nun γ_D (Gehalt des im gewählten Augenblick abgehenden Destillats) und γ_B (Gehalt des im Augenblick verbliebenen Blaseninhalts) als Ordinate gegen m_D/m_{B_0} als Abszisse aufgetragen¹⁾. Den Gleichungen bzw. den Kurven kann die Antwort auf die eingangs gestellte Frage entnommen werden, wie sich die Zusammensetzung des Destillats im Laufe einer Destillation ändert, wenn die Zusammensetzung der Ausgangsmischung (γ_{B_0}) gegeben und $n\delta$ (Zahl der Trennstufen n mal Trennfaktor δ der nicht vervollkommenen Einzel-Destillation) konstant gehalten wird.

Aus Fig. 1 entnehmen wir, dass wir mit $n\delta = 0,3$ noch keine nennenswerten Trennungen erzielen können, dass wir aber in solchen Fällen kleine Mengen an Substanz, deren Zusammensetzung von der der Ausgangsmischung einigermaßen verschieden ist, am besten dadurch erhalten können, dass durch Destillation ein möglichst grosser Teil der eingesetzten Substanz entfernt wird; so sieht man z. B., dass für $n\delta = 0,3$ und $\gamma_{B_0} = 0,5$ nach Abdestillieren von 95% der eingesetzten Substanz ($\gamma_D/\gamma_{B_0} = 0,95$) ein Rückstand in der Blase von der Konzentration $\gamma_B = 0,275$, $1 - \gamma_B = 0,75$ verbleibt. Demgegenüber besitzen die ersten 5% der bei Beginn der Destillation übergehenden Substanz einen Wert von $\gamma_D = 0,57$, $1 - \gamma_D = 0,43$. Die gegenüber der Ausgangsmischung stärksten Verschiebungen sind also in der gegen Ende der Destillation in der Blase zu findenden Substanz anzutreffen.

Mit $n\delta = 1$ ist bereits eine stärkere Verschiebung der Zusammensetzung aber praktisch noch keine präparative Reindarstellung festzustellen (Fig. 2). Im Falle $n\delta = 5$, $\gamma_0 = 0,5$ bestehen die ersten 47% des übergehenden Destillats aus leicht flüchtigem Anteil von einem Reinheitsgrad von mehr als 90%, bei einem mittleren Reinheitsgrad von etwa 97% (Fig. 3). In diesem Falle können also etwa 94% der im Ausgangsgemisch enthaltenen leicht flüchtigen Substanz mit einem Reinheitsgrad von 97% erhalten werden. Analog steht es mit der schwerer flüchtigen Komponente.

¹⁾ Die Berechnung der Kurven ist von Herrn *P. Massini* durchgeführt worden. Es empfiehlt sich dabei, zunächst γ_B mit Hilfe von Gl. (12) oder (12a) auszurechnen, anschliessend das zugehörige γ_D auf Grund von Gl. (1).

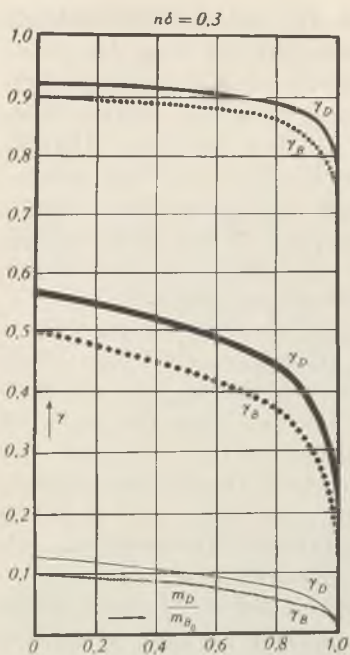


Fig. 1.

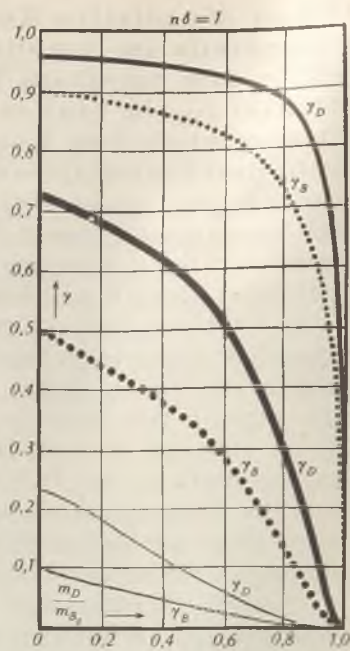


Fig. 2.

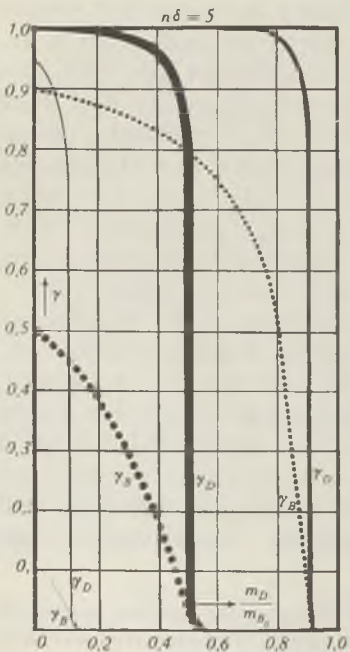


Fig. 3.

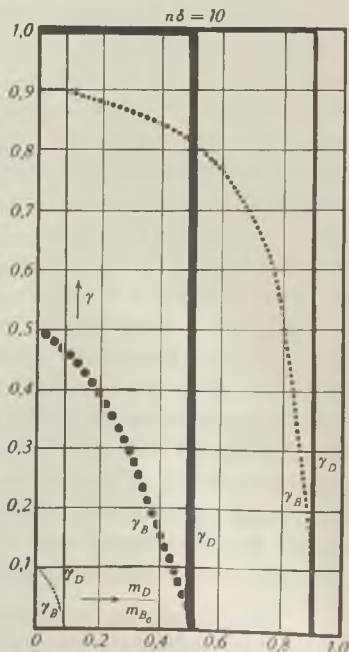


Fig. 4.

Text zu den Figuren.

Für die Figuren 1—4 sind der Reihe nach für $n\delta$ (Zahl der Trennstufen mal Trennfaktor der nicht vervollkommenen Einzeldestillation) die Werte 0,3; 1; 5 und 10 zugrunde gelegt. Als Abszisse ist $\frac{m_D}{m_{B_0}}$ aufgetragen (Menge der bis zum betreffenden Punkte als Destillat entnommenen Substanz, geteilt durch die ursprünglich eingesetzte Substanzmenge).

Als Ordinaten sind die Konzentrationen des leicht flüchtigen Bestandteils in der Blase (γ_B ; punktierte Kurven) und im übergehenden Destillat (γ_D ; ausgezogene Kurven) aufgetragen. Dabei sind in jeder Figur 3 verschiedene Ausgangskonzentrationen zugrunde gelegt, nämlich $\gamma_{B_0} = 0,1$ (schwache Kurven) $\gamma_{B_0} = 0,5$ (starke Kurven) und $\gamma_{B_0} = 0,9$ (mittelstarke Kurven).

Mit $n\delta = 10$ können beide Komponenten in praktisch 100-proz. Ausbeute vollständig voneinander getrennt werden (Fig. 4).

In einer nachfolgenden Arbeit sollen die entsprechenden Überlegungen und Ergebnisse für Gemische, welche aus beliebig vielen Komponenten bestehen, mitgeteilt werden.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Basel.

7. Über Steroide.

46. Mitteilung¹⁾.

Ein einfacher Abbau der Gallensäuren-Seitenkette zur Methylketonstufe IV. Der Abbau der 3β -Oxy-allo-cholansäure und der 3α -Oxy-cholansäure (Lithocholsäure)

von Ch. Meystre und K. Miescher.

(29. XI. 45.)

In vorangehenden Arbeiten²⁾ berichteten wir über den Seitenkettenabbau der Desoxy-cholsäure und der Cholsäure, sowie der allo-Cholansäure nach unserem neuen Verfahren mit Bromsuccinimid. Hier beschreiben wir die Überführung der 3β -Oxy-allo-cholansäure und der Lithocholsäure (3α -Oxy-cholansäure) zu den betreffenden Methylketonen. Sehr wahrscheinlich kommen beide in der Natur vor und können als erste Reduktionsprodukte des Progesterons (und des Desoxy-corticosterons) angesehen werden. So ist das allo-Pregnanolon (IX), das von *Hartmann* und *Wettstein*³⁾, von *Butenandt*⁴⁾ sowie *Slotta*⁵⁾ und ihren Mitarbeitern im Corpus luteum entdeckt wurde,

¹⁾ 45. Mitt. siehe Helv. **28**, 1506 (1945).

²⁾ Die letzte siehe Helv. **28**, 1497 (1945).

³⁾ *M. Hartmann* und *A. Wettstein*, Helv. **17**, 1365 (1934).

⁴⁾ *A. Butenandt* und *U. Westphal*, B. **67**, 1440 (1934).

⁵⁾ *K. H. Slotta*, *H. Ruschig* und *E. Fels*, B. **67**, 1270 (1934).

identisch mit dem von uns aus 3β -Oxy-*allo*-cholansäure gewonnenen Keton¹⁾. Das andere Keton aus Lithocholsäure (α -Oxy) entspricht vermutlich dem von *Marker* und *Kamm*²⁾ neben „*epi-*allo*-Pregnanolon*“ aus Schwangerenharn isolierten „*epi-Pregnanolon*“.

Von den im Harn aufgefundenen weitergehenden Reduktionsprodukten des Progesterons (und Desoxy-corticosterons) lässt sich das $3\alpha,20\alpha$ -Pregnan-20-ol (XXVIIa) von *Marrian*³⁾ durch Reduktion des 3α -Oxy-pregnan-20-ons nunmehr in relativ einfacher Weise synthetisch darstellen. Die Reduktion des 3β -Oxy-*allo*-pregnan-20-ons, wie auch des *allo*-Pregnan-3,20-dion führt dagegen nicht zu dem von *Hartmann* und *Locher*⁴⁾ im Harn als Begleiter des Pregnan-20-ols gefundenen *allo*-Pregnan-20-ol, sondern offenbar zu einem Epimeren, dem *allo*-Pregnan- $3\beta,20\alpha$ -diol. In der Tat lassen sich die Diole aus Harn mit Digitonin nicht fällen⁵⁾ und gehören somit der 3α -Oxyreihe an. Das natürliche *allo*-Pregnan-20-ol müsste sich demnach aus der 3α -Oxy-*allo*-cholansäure über das $3\alpha,24$ -Dioxy-24,24-diphenyl-*allo*-cholan⁶⁾ und 3α -Oxy-*allo*-pregnan-20-on herstellen lassen.

Im folgenden sind die von uns durchgeführten Reaktionen eingehender beschrieben:

a) Abbau der 3β -Oxy-*allo*-cholansäure.

Den aus Cholesterin durch Oxydation erhältlichen Δ^5 - 3β -Oxy-*allo*-cholansäure-methylester (I) hydrierten wir in Alkohol-Eisessig mit Platin-Katalysator zum 3β -Oxy-*allo*-cholansäure-methylester (II) vom Smp. 152–153⁰ 7). Diesen setzten wir, ähnlich wie schon beschrieben⁸⁾, mit einer Phenyl-magnesiumbromid-Lösung um und entwässerten den erhaltenen rohen tertiären Alkohol anschliessend mit Jod in kochendem Benzol. Das Δ^{23} - 3β -Oxy-24,24-diphenyl-*allo*-cholen (III) vom Smp. 89–90⁰ und $[\alpha]_D^{22} = +41^0$ wurde mit Pyridin und Essigsäure-anhydrid in das Δ^{23} - 3β -Acetoxy-24,24-diphenyl-*allo*-cholen (IV) vom Smp. 175–178⁰ und $[\alpha]_D^{22} = +34^0$ 9) übergeführt.

¹⁾ *A. Butenandt* und *L. Mamoli*, *B.* **67**, 1897 (1934) erhielten es auch durch Abbau der oxydativ aus Stigmaterin entstehenden 3β -Oxy-bisnor-*allo*-cholansäure.

²⁾ *R. E. Marker* und *O. Kamm*, *Am. Soc.* **59**, 1373 (1937).

³⁾ *G. F. Marrian*, *Biochem. J.* **23**, 1090 (1929); siehe auch *A. Butenandt*, *B.* **63**, 659 (1930).

⁴⁾ *M. Hartmann* und *F. Locher*, *Naturwiss.* **22**, 856 (1934); *Helv.* **18**, 160 (1935).

⁵⁾ *R. E. Marker*, *O. Kamm*, *E. L. Wittle*, *T. S. Oakwood*, *E. J. Lawson* und *J. F. Lau-cius*, *Am. Soc.* **59**, 2291 (1937).

⁶⁾ *O. Dalmer*, *F. v. Werder*, *H. Honigmann* und *K. Heyns*, *B.* **68**, 1814 (1935).

⁷⁾ *H. Wieland*, *E. Dane* und *C. Martius*, *Z. physiol. Ch.* **215**, 15 (1933).

⁸⁾ *E. Fernholz* und *P. N. Chakravorty*, *B.* **67**, 2021 (1934). Sie oxydierten das Reaktionsprodukt ohne Isolierung unmittelbar mit Chromsäure.

⁹⁾ Die in dieser Untersuchung angegebenen Drehungsbestimmungen wurden, wenn nichts anderes bemerkt ist, in Chloroform durchgeführt.

Das Cholen (IV) setzten wir in der von uns mehrfach beschriebenen Weise mit Bromsuccinimid in Tetrachlorkohlenstoff unter Belichtung um und spalteten aus dem entstandenen, wenig beständigen Bromid (V) Bromwasserstoff ab. Aus Aceton-Äthanol erhielten wir, bezogen auf die Cholen-Verbindung, 71,8% der Theorie an krystallisiertem $\Delta^{20,23}$ -3 β -Acetoxy-24,24-diphenyl-allo-choladien (VI) vom Smp. 153–156⁰ und der Drehung $[\alpha]_D^{21} = +45^0$.

Das Dien (VI) gab in Chloroform-Lösung mit Tetranitromethan eine braune, mit geschmolzener Trichloressigsäure eine violette Färbung, während diejenige nach *Liebermann-Burchard* über Rosa nach Gelb, Bordeaux und Violett führte. Hingegen färbte sich die Cholenverbindung (IV) im ersten Falle gelb, im zweiten überhaupt nicht und im dritten schwach violett bis grau.

Die Verseifung des Diens mit Pottasche in wässrigem Methanol führte zum freien $\Delta^{20,23}$ -3 β -Oxy-24,24-diphenyl-allo-choladien (VII), das aus Methanol in Flocken vom Smp. 92–94⁰ ausfiel.

Oxydation des rohen Dien-acetates (VI) mit Chromtrioxyd in Chloroform und Essigsäure ergab das rohe 3 β -Acetoxy-allo-pregnan-20-on (VIII) in einer Ausbeute von 54,5% der Theorie. Da durch Verseifung der Mutterlaugen noch 6,1% freies Oxyketon IX gewonnen werden konnte, betrug die totale Ausbeute an Methylketon 60,6% der Theorie. Das im Hochvakuum sublimierte und aus Methanol umkrystallisierte reine Acetat (VIII) schmolz bei 150–152⁰; $[\alpha]_D^{22} = +74^0$. Die Verseifung des rohen Acetates führte zum 3 β -Oxy-allo-pregnan-20-on (IX), das nach Krystallisation aus Isopropyläther bei 195–198⁰ schmolz; $[\alpha]_D^{22} = +93^0$ 1).

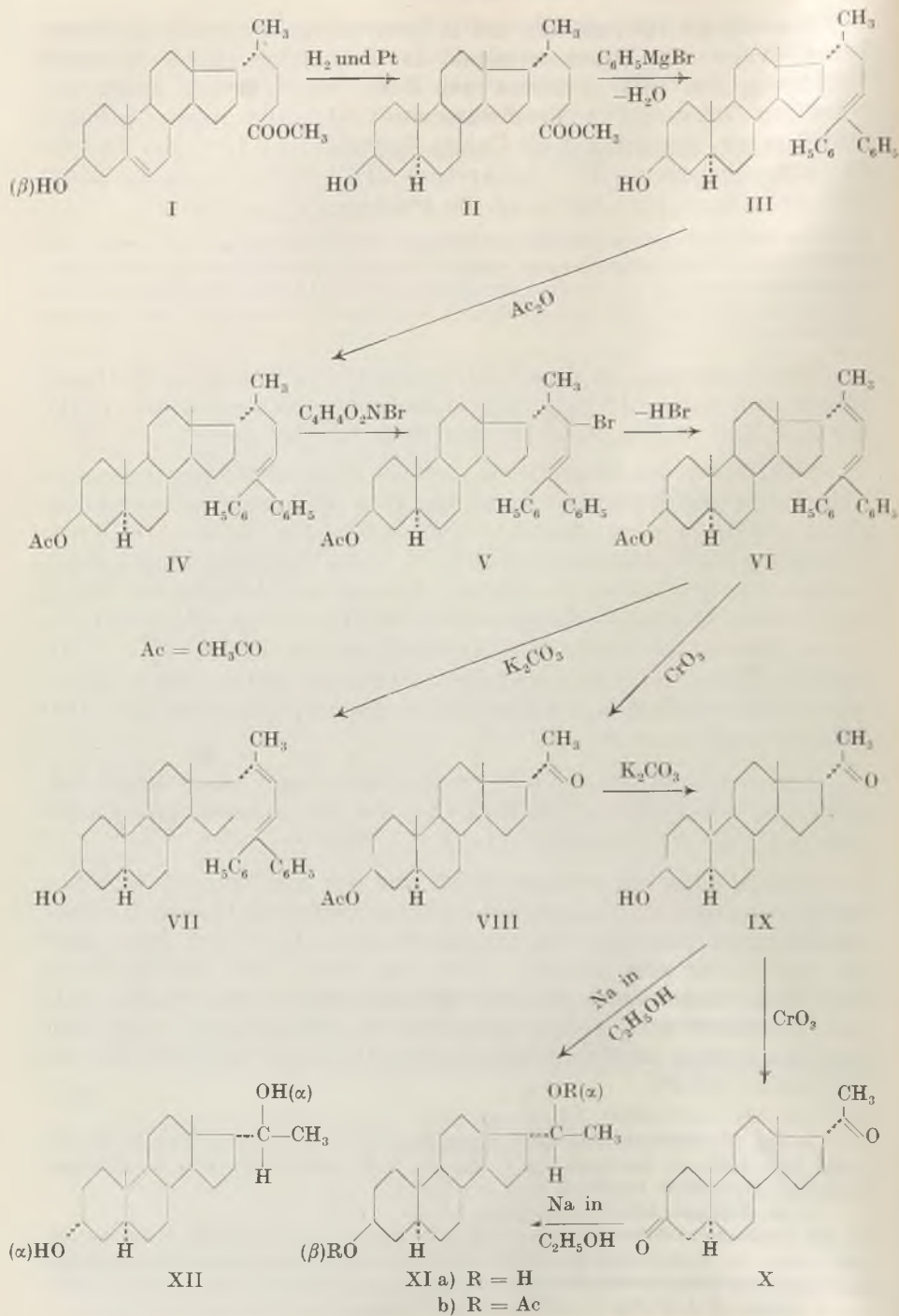
Durch Oxydation des allo-Pregnanolons mit Chromtrioxyd entstand das allo-Pregnan-3,20-dion (X), das aus Äthanol umkrystallisiert bei 203–205⁰ schmolz²); $[\alpha]_D^{21} = +108,5^0$.

Das 3 β -Oxy-allo-pregnan-20-on und das allo-Pregnan-3,20-dion haben wir weiter in Äthanol mit Natrium reduziert. In beiden Fällen erhielten wir das allo-Pregnan-3 β ,20 α -diol (XIa) vom Smp. 220⁰ bis 222⁰ sowie sein Diacetat XIb vom Smp. 165–168⁰ 3). Ob in den Mutterlaugen auch das in 3-Stellung epimere Diol (3 α ,20 α) XII von *Hartmann* und *Locher* enthalten ist, konnte noch nicht entschieden werden. Letzteres schmilzt bei 248–248,5⁰ und sein Diacetat bei 141,5–142,5⁰.

1) Vgl. *M. Hartmann* und *A. Wettstein*, l. c., sowie *A. Butenandt* und *L. Mamoli*, B. 68, 1847 (1935). *A. Butenandt* und *L. Mamoli*, B. 67, 1897 (1934) geben den Schmelzpunkt des Acetats mit 144,5⁰ an.

2) *M. Hartmann* und *F. Locher*, l. c.

3) In ähnlicher Weise sicherten bereits *R. E. Marker* und *E. Rohrmann*, Am. Soc. 62, 898 (1940), die Konstitution des $\Delta^{16,17}$ -allo-Pregnen-3,20-dions, eines Abbauproduktes des Tigogenins, indem sie dasselbe in allo-Pregnandiol überführten. Siehe auch *R. E. Marker*, *O. Kamm*, *E. L. Wittle*, *T. S. Oakwood*, *E. J. Lawson* und *J. F. Laucius*, l. c.



b) Abbau von Lithocholsäure (3 α -Oxy-cholansäure).

Die Lithocholsäure ist in der Galle nur in geringer Menge vorhanden. Die Überführung der darin häufiger vorhandenen Cholsäure oder Desoxycholsäure in Lithocholsäure wurde daher schon früher vielfach untersucht¹⁾. Sie ist nach neueren Angaben²⁾³⁾ relativ leicht durchführbar.

A) *R. Grand* und *T. Reichstein* gingen vom Cholsäure-methylester (XIII) aus. Dieser wurde zuerst zu seinem 3-Monoacetat (XIV) partiell acetyliert, das Monoacetat mit Chromtrioxyd in 3 α -Acetoxy-7,12-diketo-cholansäure-methylester (XV) übergeführt und letzterer nach *Wolff-Kishner* zu 3 α -Oxy-cholansäure (XIX) reduziert und verseift.

Der für die partielle Acetylierung verwendete Cholsäure-methylester wurde von den genannten Autoren durch Eindampfen seiner Benzol-Lösung getrocknet und aus absolutem Äther kristallisiert; er schmolz bei 141—142°. Vermutlich enthielt er trotzdem noch Krystallwasser. Nach den Autoren lässt sich der Ester in benzolischer Lösung mit 3,3 Mol Acetanhydrid umsetzen und aus der Reaktionslösung das 3-Monoacetat in guter Ausbeute isolieren. Da unsere Resultate unbefriedigend ausfielen⁴⁾, haben wir die Vorschrift in ihrem ersten Teil etwas abgeändert.

Wir trockneten zunächst den Cholsäure-methylester (XIII) durch Eindampfen seiner Toluol-Lösung; auf Zugabe von trockenem Benzol erhielten wir den Ester in Krystallen vom Smp. 160—162°. Im allgemeinen verwendeten wir einfach die eingedampfte Toluol-Lösung des Esters für die Acetylierung in kochendem Benzol. Die besten Ausbeuten erhielten wir bei Verwendung von bloss 1,2 bis 1,5 Mol Essigsäure-anhydrid. Das Verfahren konnte stets reproduziert werden. Zur weiteren Überführung von XIV in Lithocholsäure bewährte sich die frühere Vorschrift.

B) Ausgangsstoff der Synthese von *E. Schwenk* und Mitarbeitern bildete die Desoxycholsäure (XVI). Sie stellten das 3-Monosuccinat (XVII) her, oxydierten es mit Chromtrioxyd und verseiften das Acetat der 3 α -Oxy-12-keto-cholansäure (XVIIIb) zur freien Oxysäure (XVIIIa). Die Einwirkung von Bernsteinsäure-anhydrid auf Desoxycholsäure soll in Pyridin in der Kälte oder auch bei Siedetemperatur erfolgen. Mangels an Pyridin fanden wir es vorteilhafter, die Reaktion in einem Gemisch von 7,5 % Pyridin in Dimethylanilin auszuführen. Die Lösung wurde kurze Zeit auf 120° erhitzt, langsam gekühlt und 15 Stunden bei 20° stehen gelassen. Die von den amerikanischen Autoren nicht beschriebene Reduktion der Ketonensäure nach *Wolff-Kishner* lieferte uns die Lithocholsäure in ähnlicher Ausbeute wie nach dem vorangehenden Weg aus Cholsäure-methylester-monoacetat (XIV).

Die stufenweise Degradation der Lithocholsäure zu 3 α -Oxy-pregnan-20-on nach der Methode von *Barbier* und *Loquin* ist schon von *Höhn* und *Mason*⁵⁾ durchgeführt worden. Hier beschreiben wir den Abbau nach unserem neuen Verfahren.

Die erhaltene Lithocholsäure (XIX) veresterten wir zuerst mit Diazomethan zum Lithocholsäure-methylester (XX). Diesen be-

¹⁾ *W. Borsche* und *F. Hallwax*, B. 55, 3324 (1922); *H. Wieland*, *E. Dane* und *E. Scholz*, Z. physiol. Ch. 211, 261 (1932); *L. Ruzicka* und *M. W. Goldberg*, Helv. 18, 668 (1935); *S. Bergström* und *G. A. D. Haslewood*, Soc. 1939, 540; *J. D. Dutcher* und *O. Wintersteiner*, Am. Soc. 61, 1992 (1939).

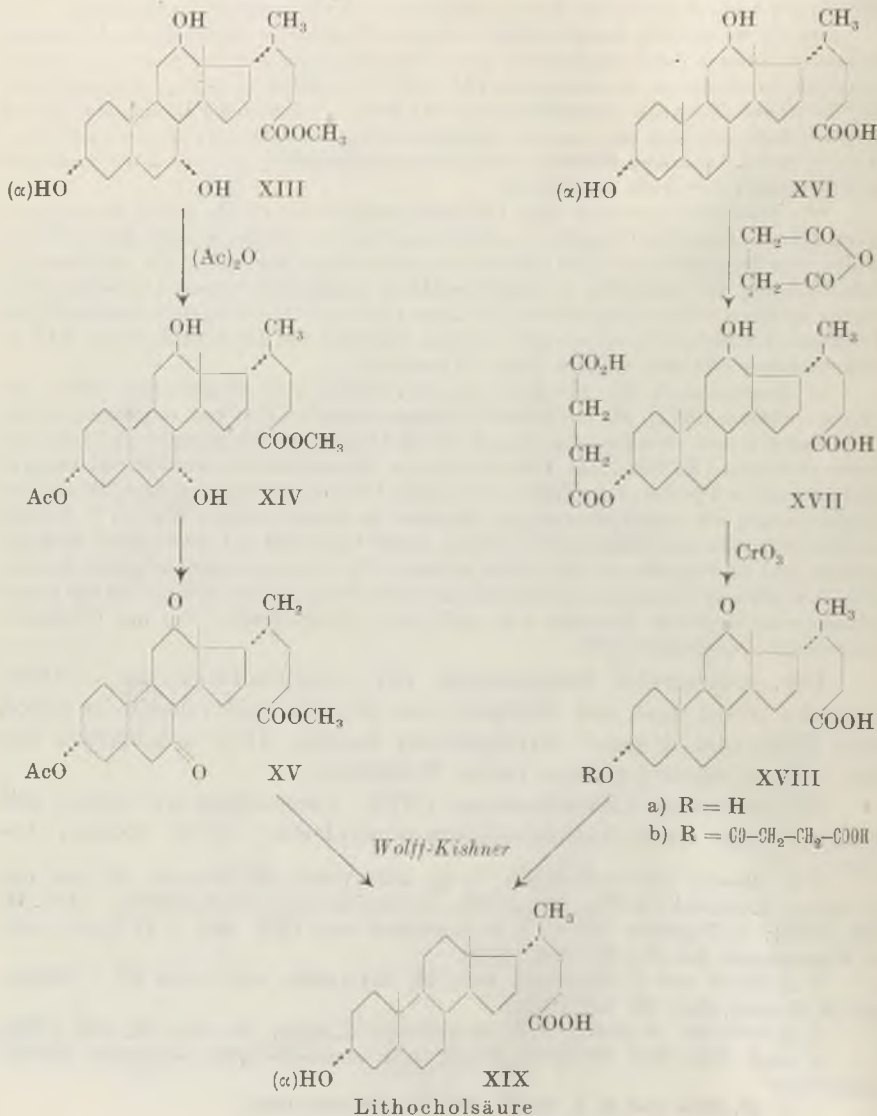
²⁾ *R. Grand* und *T. Reichstein*, Helv. 28, 344 (1945); siehe auch *Pl. A. Plattner* und *H. Heusser*, Helv. 27, 748 (1944).

³⁾ *E. Schwenk*, *B. Riegel*, *R. B. Moffett* und *E. Stahl*, Am. Soc. 65, 549 (1943).

⁴⁾ Auch Herr Prof. *Reichstein* erhielt sehr unterschiedliche Ausbeuten (Privatmitteilung).

⁵⁾ *W. M. Höhn* und *H. L. Mason*, Am. Soc. 62, 569 (1940).

handelten wir nach *Grignard* mit Phenyl-magnesium-bromid zu 3 α -Oxy-24,24-diphenyl-24-oxy-cholan (XXI), spalteten ohne dessen Isolierung Wasser ab und acetylierten das rohe Δ^{23} -3 α -Oxy-24,24-diphenyl-cholen (XXII) zu Δ^{23} -3 α -Acetoxy-24,24-diphenyl-cholen (XXIII). Dieses krystallisierte aus Aceton in Nadeln vom Smp. 166 $^{\circ}$ bis 167 $^{\circ}$, $[\alpha]_D^{22} = +64^{\circ}$. Durch Verseifung erhielten wir das freie Δ^{23} -3 α -Oxy-24,24-diphenyl-cholen (XXII). Es fiel aus Methanol in offenbar noch Wasser enthaltenden Krystallen aus, die unscharf bei 110–140 $^{\circ}$ schmolzen; $[\alpha]_D^{22} = +55,5^{\circ}$.



Die Einwirkung von Bromsuccinimid auf das Acetat XXIII in siedendem Tetrachlorkohlenstoff unter starker Belichtung ergab eine Lösung des wenig beständigen Δ^{23} -3 α -Acetoxy-22-brom-24,24-diphenyl-cholen (XXIV). Durch Kochen seiner Lösung in Dimethylanilin spalteten wir Bromwasserstoff ab, acetylierten das Rohprodukt nach und krystallisierten es aus Aceton um. Es fiel zunächst ein Gemisch von Cholen XXIII und Dien XXVb, dann aber das Krystallwasser-haltige $\Delta^{20,23}$ -3 α -Acetoxy-24,24-diphenyl-choladien (XXVb) aus. Dieses schmolz bei 100°. Aus Essigester oder aus Äther-Methanol krystallisierte es wasserfrei in Form von Blättchen vom Smp. 166° bis 168°; $[\alpha]_D^{21} = +84^\circ$.

Das Dien (XXVb) zeigte in Chloroform-Lösung mit Tetranitromethan eine braune und mit geschmolzener Trichloressigsäure eine zuerst rosa, dann gelbe und zuletzt grüne Färbung, während die Reaktion nach *Liebermann-Burchard* von Orange über Bordeaux nach Grün führte. Hingegen gab die Cholenverbindung (XXIII) im ersten Fall eine gelbe, im zweiten überhaupt keine und nach *Liebermann-Burchard* eine schwach bräunliche Färbung.

Durch Verseifung des Dien-acetats erhielten wir das freie $\Delta^{20,23}$ -3 α -Oxy-24,24-diphenyl-choladien (XXVa), das aus Methanol in Form von breiten Nadeln krystallisierte. Es schmolz bei 98–100°; $[\alpha]_D^{21} = +80^\circ$.

Oxydierten wir das rohe Dien-acetat (XXVb) mit Chromtrioxyd in einem Gemisch von Chloroform und 80-proz. Essigsäure bei 20°, so erhielten wir, nach Verseifung und Isolierung der Ketone mit Hilfe von *Girard-P-Reagens*¹⁾, aus Hexan das krystallisierte 3 α -Oxy-pregnan-20-on (XXVIa). Nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther schmolz es bei 151–154°²⁾; $[\alpha]_D^{22} = +109,5^\circ$. Durch Chromatographieren der Mutterlaugen bekamen wir noch eine weitere Menge des gleichen Oxy-methylketons. Die totale Ausbeute, bezogen auf die umgesetzte Cholenverbindung XXIII betrug 53% der Theorie. Das Oxy-methylketon (XXVIa) acetylierten wir in Pyridin mit Essigsäure-anhydrid und erhielten aus Äther-Pentan oder aus wässrigem Methanol das reine 3 α -Acetoxy-pregnan-20-on vom Smp. 102° bis 103°³⁾; $[\alpha]_D^{22} = +83,5^\circ$.

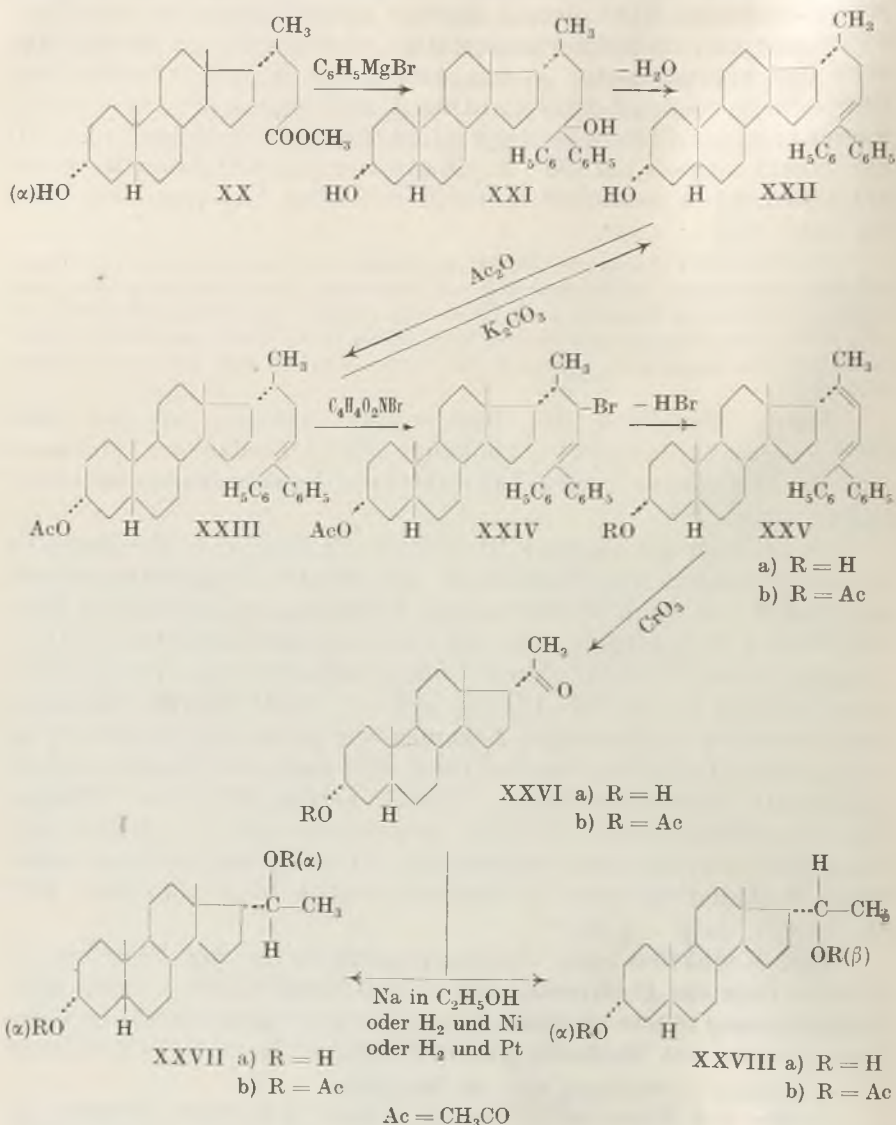
Die Reduktion von 3 α -Oxy-pregnan-20-on mit Natrium in Äthanol oder die Hydrierung mit Nickel-Katalysator in stark alkalischer Lösung führte zu einem Gemisch von Pregnandiolen. In Form ihrer Acetate aus Methanol umkrystallisiert, fiel zuerst das Acetat

¹⁾ *A. Girard, G. Sandulesco, Helv. 19, 1095 (1936).*

²⁾ Siehe *R. E. Marker und O. Kamm, l. c.*, ferner *R. E. Marker, O. Kamm und E. L. Wittle, Am. Soc. 59, 1841 (1937)*. Letztere Autoren fanden einen Smp. von 149°, während er früher zu 136° angegeben wurde.

³⁾ Die amerikanischen Autoren geben für das Acetat von aus Harn gewonnenem Oxyketon einen Smp. von 112° an. Trotz Reinigung durch mehrfaches Umkrystallisieren, Chromatographie und Sublimation blieb aber der von uns gefundene Schmelzpunkt konstant. Ob Identität zwischen unserer Verbindung und der beschriebenen besteht, erscheint daher noch nicht sichergestellt.

des Pregnan-3 α ,20 α -diols (XXVIIa) aus¹). Nach Verseifung schmolz das freie Diol bei 243–244° und gab keine Erniedrigung des Schmelzpunktes mit dem natürlichen Diol von *Marrian*²). Das durch Reacety-



¹) Zum gleichen Produkt kommen *R. E. Marker* und *E. Rohrmann*, *Am. Soc.* **61**, 3592 (1939) und *Am. Soc.* **62**, 518 (1940), bei analoger Reduktion von $\Delta^{16,17}$ -Pregnen-3,20, einem Abbauprodukt des Sarsasapogenins. Die Bezeichnung 20 α wurde von *R. E. Marker* und Mitarbeiter, *Am. Soc.* **59**, 2291 (1937), willkürlich für die natürlichen Pregandirole gewählt.

²) *G. F. Marrian*, l. c.

lierung gewonnene Diacetat XXVIIb schmolz zuerst bei 168°, wie auch vom genannten Autor beobachtet, erstarrte wieder und schmolz definitiv bei 182° bis 183°. Der Mischschmelzpunkt mit einem Diacetat aus natürlichem Diol¹⁾ zeigte ebenfalls keine Erniedrigung.

Aus den methanolischen Mutterlaugen des Pregnan-3 α ,20 α -diol-diacetats liess sich, nach Behandlung mit Kohle in der Kälte und nach Verseifung, das Pregnan-3 α ,20 β -diol (XXVIIIa) isolieren. Es schmolz bei 244–246° und gab eine starke Erniedrigung des Schmelzpunktes in Gemisch mit seinem 20-Epimeren. Die Acetylierung von XXVIIIa führte zu seinem Diacetat XXVIIIb vom Smp. 113–115° und $[\alpha]_D^{21} = +45^\circ$. Das Diol XXVIIIa wurde schon früher von Marker und Mitarb.²⁾ durch Hydrierung des von ihnen aus Harn gewonnenen epi-Pregnanolons (3 α -Oxy, XXVIa) mit Platin-Katalysator, wenn auch offenbar unrein, erhalten, geben sie doch einen Schmelzpunkt von 230°, für das Diacetat einen solchen von 110° an.

Auch bei uns führte die Hydrierung des 3 α -Oxy-pregnan-20-ons (XXVIa) mit Platin-Katalysator zur Hauptsache zum Pregnan-3 α ,20 β -diol. Aus den acetylierten Mutterlaugen liessen sich hingegen noch geringe Mengen des 3 α ,20 α -Diol-diacetats erhalten. Seine Anwesenheit erklärt wohl den zu tiefen Schmelzpunkt der amerikanischen Autoren für das 3 α ,20 β -Diol.

In einer folgenden Arbeit soll über den besonders interessanten Abbau der Δ^5 -3-Oxy-cholensäure berichtet werden.

Experimenteller Teil³⁾.

a) Abbau von 3 β -Oxy-allo-cholansäure-methylester (II).

1. 3 β -Oxy-allo-cholansäure-methylester (II) aus Δ^5 -3 β -Oxy-cholansäure-methylester (I).

75 g reinen Δ^5 -3 β -Oxy-cholansäure-methylester (I) vom Smp. 147–148° lösten wir in 800 cm³ Äthanol und 80 cm³ Eisessig und hydrierten in Gegenwart von 2 g Platin, zuerst bei 20°, dann in der Wärme, um ein Auskrystallisieren des gebildeten Dihydroderivats zu verhindern. Nach Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff wurde die Lösung abfiltriert und abgekühlt, wobei der 3 β -Oxy-allo-cholansäure-methylester (II) auskrystallisierte. Beim Einengen der Lösung und Umkrystallisieren aus Alkohol erhielten wir total 67 g des reinen Esters vom Smp. 152–153°.

2. Δ^{23} -3 β -Oxy-24,24-diphenyl-allo-cholen (III).

Wir setzten 65 g 3 β -Oxy-allo-cholansäure-methylester mit einer Grignard-Lösung aus 58 g Magnesium und 387 g Brombenzol um und nahmen die Aufarbeitung in gewohnter

¹⁾ Unsere Vergleichspräparate von Diol und Diacetat sind früher von M. Hartmann und F. Locher, Helv. 18, 160 (1935) hergestellt worden. Ihre Eigenschaften stimmen mit denjenigen der teilsynthetisch erhaltenen Verbindungen überein. Lediglich die Drehung des neu dargestellten Diacetates war 9° tiefer als früher gefunden: $[\alpha]_D^{21} = +26^\circ$ (in Benzol).

²⁾ R. E. Marker und O. Kamm, sowie R. E. Marker, O. Kamm, E. L. Wittle, T. S. Oakwood, E. J. Lawson und J. F. Laucius, l. c.

³⁾ Alle Schmelzpunkte wurden nach Kofler unter dem Mikroskop thermoelektrisch bestimmt und sind somit korrigiert.

Weise vor. Das erhaltene rohe 3β -Oxy-24,24-diphenyl-24-oxy-allo-cholan wurde 1 Stunde in benzolischer Lösung mit 200 mg Jod am Rückflusskühler gekocht, wobei sich unter Wasserabspaltung das Δ^{23} - 3β -Oxy-24,24-diphenyl-allo-cholen (III) bildete. Aus Chloroform-Methanol krystallisierten 62 g vom Smp. 89—90° aus.

3,441 mg Subst. gaben 10,97 mg CO₂ und 2,96 mg H₂O

C₃₆H₄₈O Ber. C 87,03 H 9,73%
Gef. „ 87,02 „ 9,63%

$[\alpha]_D^{20} = +41^0 \pm 4^0$ (c = 1,056 in Chloroform)

3. Δ^{23} - 3β -Acetoxy-24,24-diphenyl-allo-cholen (IV).

50 g der erhaltenen Äthylen-Verbindung wurden in 75 cm³ Pyridin und 50 cm³ Acetanhydrid 1 Stunde lang auf dem Wasserbad erhitzt. Hierauf dampften wir die Lösung im Vakuum ein und krystallisierten den Rückstand aus Chloroform-Aceton um. So wurden 49 g Δ^{23} - 3β -Acetoxy-24,24-diphenyl-allo-cholen vom Smp. 175—178° erhalten.

4,177 mg Subst. gaben 12,96 mg CO₂ und 3,40 mg H₂O

C₂₈H₅₀O₂ Ber. C 84,70 H 9,35%
Gef. „ 84,70 „ 9,11%

$[\alpha]_D^{22} = +34^0 \pm 4^0$ (c = 1,061 in Chloroform)

4. Umsetzung des Cholenacetates (IV) mit Bromsuccinimid und Abspaltung von Bromwasserstoff zu $\Delta^{20,23}$ - 3β -Acetoxy-24,24-diphenyl-allo-choladien (VI).

10 g der erhaltenen 3β -Acetoxy-äthylenverbindung IV und 3,45 g Bromsuccinimid wurden in 150 cm³ Tetrachlorkohlenstoff unter Belichtung gekocht. Nach etwa 15 Minuten kühlten wir die Lösung, nutschten das gebildete Succinimid ab und kochten das Filtrat auf Zusatz von 10 cm³ Eisessig 4 Stunden lang am Rückflusskühler unter Calciumchlorid-Verschluss zur Bromwasserstoffabspaltung weiter. Nach dem Eindampfen lösten wir den Rückstand in Aceton und versetzten die Lösung mit Äthanol. Das $\Delta^{20,23}$ - 3β -Acetoxy-24,24-diphenyl-allo-choladien (VI) krystallisierte allmählich aus. Nach dem Umkrystallisieren erhielten wir 7,18 g Krystalle in Form von farblosen Nadeln vom Smp. 153—156°.

3,322 mg Subst. gaben 10,34 mg CO₂ und 2,73 mg H₂O

C₃₈H₄₈O₂ Ber. C 85,02 H 9,01%
Gef. „ 84,94 „ 9,19%

$[\alpha]_D^{21} = +45^0 \pm 4^0$ (c = 1,050 in Chloroform)

5. $\Delta^{20,23}$ - 3β Oxy-24,24-diphenyl-allo-choladien (VII).

2 g Dien-acetat wurden in 100 cm³ Methanol und 30 cm³ Benzol mit einer Lösung von 700 mg Kaliumcarbonat in 5 cm³ Wasser 1½ Stunden am Rückfluss zum Sieden erhitzt. Nach dem Eindampfen im Vakuum nahmen wir den Rückstand in Äther auf, wuschen die ätherische Lösung mit Wasser, trockneten sie und dampften sie ein. Die zurückbleibenden 1,83 g lösten wir in 75 cm³ heissem Methanol, filtrierten die Lösung nach Zugabe von etwas Kohle und kühlten sie ab. Das $\Delta^{20,23}$ - 3β -Oxy-24,24-diphenyl-allo-choladien (VII) fiel dabei flockig aus. Es schmolz bei 92—94°.

3,974 mg Subst. gaben 12,68 mg CO₂ und 3,40 mg H₂O

C₃₆H₄₆O Ber. C 87,39 H 9,37%
Gef. „ 87,10 „ 9,55%

6. Oxydation des rohen Dien-acetates VI mit Chromtrioxyd und Isolierung des acetylierten sowie des freien 3β -Oxy-allo-pregnan-20-ons.

Aus 10 g Cholen-acetat IV erhaltenes rohes Dienacetat VI lösten wir in 200 cm³ reinem Chloroform und 190 cm³ 80-proz. Essigsäure und kühlten die Lösung mit Eiswasser.

Unter Röhren wurde eine Lösung von 7 g Chromtrioxyd in 190 cm³ 80-proz. Essigsäure zugetropft. Dann rührten wir noch 3 Stunden bei 20°, kühlten wieder und zersetzten den Überschuss von Chromtrioxyd durch vorsichtigen Zusatz von Hydrogensulfid. Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde Wasser zugegeben und mit Äther-Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Soda und Wasser gewaschene und mit Natriumsulfat getrocknete Äther-Chloroform-Lösung hinterliess beim Eindampfen 10,54 g Rückstand. Dieser wurde mit Hilfe von Girard-P-Reagens in eine ketonfreie Fraktion von 3,48 g und eine Ketonfraktion von 5,79 g getrennt. Die Ketonfraktion reacylierten wir in 30 cm³ Pyridin mit 20 cm³ Acetanhydrid 20 Stunden lang bei Zimmertemperatur und kristallisierten nach erfolgter Aufarbeitung den neutralen Rückstand aus Methanol um. So wurden 3,65 g rohes 3 β -Acetoxy-*allo*-pregnan-20-on (VIII) vom Smp. 135—145° erhalten, was einer Ausbeute von 54,5% der Theorie entspricht.

Durch Verseifung der Mutterlaugen erhielten wir noch 360 mg freies Oxyketon IX oder 6,1% der Theorie, so dass die totale Ausbeute an Methylketon 60,6% betrug.

Sublimation des rohen Acetates im Hochvakuum bei 150—160° und darauffolgendes Umkrystallisieren des Sublimates aus Methanol ergab das reine Acetat (VIII) in Form von Blättchen vom Smp. 150—152°.

4,331 mg Subst. gaben 12,15 mg CO₂ und 3,84 mg H₂O

C₂₉H₃₆O₃ Ber. C 76,62 H 10,06%
Gef. „ 76,54 „ 9,92%

$[\alpha]_D^{25} = +74^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (c = 1,003 in Chloroform)

Zur Verseifung wurde 1 g des rohen Acetates in wässrigem Methanol 1 Stunde mit 0,6 g Pottasche am Rückfluss gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielten wir aus Isopropyläther 770 mg des 3 β -Oxy-*allo*-pregnan-20-on (IX), das rein bei 195—198° schmolz.

4,038 mg Subst. gaben 11,70 mg CO₂ und 3,88 mg H₂O

C₂₁H₃₄O₂ Ber. C 79,19 H 10,76%
Gef. „ 79,07 „ 10,75%

$[\alpha]_D^{25} = +93^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (c = 0,876 in Chloroform)

7. *Allo*-Pregnan-3,20-dion- (X).

250 mg *allo*-Pregnanolon liessen wir in Eisessig mit 60 mg Chromtrioxyd 3 Stunden lang bei 20° stehen, arbeiteten in üblicher Weise auf und kristallisierten den neutralen Rückstand von 220 mg aus Äthanol um. Das *allo*-Pregnan-3,20-dion schmolz bei 203 bis 205°.

4,541 mg Subst. gaben 13,26 mg CO₂ und 4,17 mg H₂O.

C₂₁H₃₂O₂ Ber. C 79,69 H 10,19%
Gef. „ 79,68 „ 10,28%

$[\alpha]_D^{25} = +108,5^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (c = 0,981 in Chloroform)

8. *Allo*-Pregnan-3 β ,20 α -diol (XIa) aus 3 β -Oxy-*allo*-pregnan-20-on (IX).

200 mg 3 β -Oxy-*allo*-pregnan-20-on lösten wir in 200 cm³ Äthanol und versetzten die kochende Lösung allmählich mit 8 g Natrium. Nach dem vollständigen Auflösen des Natriums versetzten wir die Lösung mit Wasser, dampften das Äthanol im Vakuum ab, zogen die wässrige Suspension mit Äther-Chloroform aus, wuschen die Lösung mit Wasser, trockneten sie mit Natriumsulfat und dampften sie ein. Aus Aceton oder aus verdünntem Äthanol wurde so kristallisiertes *allo*-Pregnan-3 β ,20 α -diol (XIa) vom Smp. 220—222° erhalten.

3,960 mg Subst. gaben 11,38 mg CO₂ und 4,03 mg H₂O

C₂₁H₃₆O₂ Ber. C 78,69 H 11,32%
Gef. „ 78,41 „ 11,39%

9. Allo-Pregnan-3 β ,20 α -diol (XIa) aus allo-Pregnan-3,20-dion (X).

320 mg allo-Pregnanion reduzierten wir ähnlich wie bei 8. in Äthanol mit Natrium. Nach Aufarbeitung des Reduktionsgemisches erhielten wir aus Aceton 50 mg allo-Pregnan-3 β ,20 α -diol vom Smp. 217—220°, welches im Gemisch mit dem vorher erhaltenen Diol keine Erniedrigung des Schmelzpunktes gab.

Die getrockneten Mutterlaugen wurden durch einstündiges Kochen in 10 cm³ Essigsäure-anhydrid acetyliert. Den Rückstand der eingedampften Lösung nahmen wir in Äther auf, wuschen die ätherische Lösung mit Soda und Wasser, trockneten sie mit Natriumsulfat und dampften sie ein. Aus verdünntem Aceton wurden so ca. 20 mg allo-Pregnan-3 β ,20 α -diol-diacetat (XIb) erhalten, die nach Umkrystallisieren bei 165—168° schmolzen.

b. Abbau von Lithocholsäure.

1. Lithocholsäure (XIX) aus Cholsäure-methylester (XIII) über 3 α -Acetoxy-7 α ,12 β -dioxy-cholansäure-methylester (XIV).

10 g Cholsäure-methylester lösten wir in 200 cm³ Toluol und destillierten 150 cm³ bei gewöhnlichem Druck, den Rest im Vakuum ab. Den Rückstand nahmen wir in 20 cm³ trockenem Benzol auf. Beim Stehen krystallisierte der Cholsäure-methylester vom Smp. 160—162° aus. Für die weiteren Umsetzungen verwendeten wir aber direkt die frisch hergestellte Benzol-Lösung. Diese wurde am Rückflusskühler (mit Calciumchlorid-Rohr) gekocht, langsam mit einer Lösung von 2,8 cm³ Essigsäure-anhydrid in 20 cm³ trockenem Benzol versetzt und weiter 1 ½ Stunden gekocht. Die im Vakuum eingedampfte Lösung hinterliess ein Öl, das in Äther aufgenommen wurde. Die ätherische Lösung wuschen wir mit Soda und Wasser, trockneten sie mit Natriumsulfat und dampften sie ein. Der in Isopropyläther gelöste zähe Rückstand krystallisierte langsam auf Zusatz von Petroläther aus. Nach einmaligem Umlösen schmolz der 3 α -Acetoxy-7 α ,12 β -dioxy-cholansäure-methylester (XIV) bei 150—152° und gab keine Erniedrigung des Schmelzpunktes im Gemisch mit einem authentischen Präparat¹⁾. Wir erhielten 3,34 g des reinen Mono-acetats, das weiter nach der Vorschrift von Grand und Reichstein²⁾ in Lithocholsäure übergeführt wurde (siehe auch nächsten Abschnitt).

2. Lithocholsäure (XIX) aus Desoxy-cholsäure (XVI) über Desoxy-cholsäure-3-monosuccinat (XVII).

100 g trockene Desoxy-cholsäure (XVI) und 60 g Bernsteinsäure-anhydrid erhitzen wir mit 1 Liter Dimethylanilin und 75 cm³ Pyridin kurze Zeit auf 120°, wobei vollständige Lösung eintrat. Wir liessen langsam abkühlen und noch 15 Stunden bei 20° stehen, wobei die Lösung klar blieb. Die Lösung wurde dann unter Rühren in ein Gemisch von 400 cm³ Schwefelsäure und Eis gegossen, die krystalline Ausscheidung abgenutscht und das erhaltene rohe Desoxy-cholsäure-3-monosuccinat (XVII) weiter nach der Vorschrift von E. Schwenk und Mitarbeitern³⁾ zu 3 α -Oxy-12-keto-cholansäure (XVIIIa) verarbeitet. Diese reduzierten wir nach Wolff-Kishner mit einem Überschuss von Hydrazinhydrat in äthanolischem Natriumalkoholat bei 180° im Autoklaven, wobei der Druck auf 78 Atm. stieg. Nach dem Abkühlen verdünnten wir die Lösung mit Alkohol, gossen sie in Salzsäure und Wasser und nutschten das sofort oder nach Abdampfen des Alkohols im Vakuum ausgeschiedene Krystallat ab. Es wurde mit Wasser gewaschen und aus Aceton umkrystallisiert. So erhielten wir eine Lithocholsäure (XIX) vom Smp. 187—189°, die mit der nach 1. gewonnenen identisch war.

¹⁾ Freundlicherweise von Herrn Prof. Reichstein zur Verfügung gestellt.

²⁾ R. Grand und T. Reichstein, l. c.

³⁾ E. Schwenk, B. Riegel, R. B. Moffett und E. Stahl, l. c.

3. Δ^{23} -3 α -Acetoxy-24,24-diphenyl-cholen (XXIII) aus Lithocholsäure-methylester (XX).

Den aus 49 g Lithocholsäure wie üblich mit Diazomethan in ätherischer Lösung erhaltenen Lithocholsäure-methylester (XX) setzten wir in 300 cm³ trockenem Benzol mit einer ätherischen *Grignard*-Lösung aus 47 g Magnesium und 312 g Brombenzol um. Den Äther destillierten wir ab, kochten die zurückbleibende Benzol-Lösung 15 Stunden weiter am Rückfluss, kühlten sie ab und gossen sie in Salzsäure und Eis. Das Gemisch wurde mit Chloroform extrahiert, der Auszug mit Natronlauge und Wasser gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel unter dreimaligem Zusatz von je 100 mg Jod abdestilliert, wobei sich Wasser aus dem tertiären Carbinol, dem 3 α ,24-Dioxy-24,24-diphenyl-cholan (XXI) abspaltete. Wir verseiften das Gemisch durch Kochen in 380 cm³ Methanol mit 13 g Kaliumhydroxyd, behandelten es hierauf mit Wasserdampf, nahmen den Rückstand in Äther-Chloroform auf, wuschen die Lösung mit Wasser, trockneten sie mit Natriumsulfat und dampften sie ein. Das rohe Δ^{23} -3 α -Oxy-24,24-diphenyl-cholen (XXII) acetylierten wir in Pyridin-Essigsäure-anhydrid und krystallisierten nach Aufarbeitung sein Acetat XXIII aus Aceton um. So wurden 47,4 g in Form von Nadeln vom Smp. 166—167° erhalten.

4,252 mg Subst. gaben 13,18 mg CO₂ und 3,53 mg H₂O

C₃₈H₅₀O₂ Ber. C 84,70 H 9,35%
Gef. „ 84,59 „ 9,29%

$[\alpha]_D^{22} = +64^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (c = 0,966 in Chloroform)

4. Δ^{23} -3 α -Oxy-24,24-diphenyl-cholen (XXII) aus dem Acetat (XXIII).

1 g des Acetats (XXIII) kochten wir 2 Stunden am Rückflusskühler in wässrigem Äthanol mit 500 mg Pottasche, dampften die Lösung im Vakuum ein, extrahierten den Rückstand mit Äther, wuschen diese Lösung mit Wasser, trockneten sie mit Natriumsulfat und dampften sie ein. Aus Methanol krystallisierte das Δ^{23} -3 α -Oxy-24,24-diphenyl-cholen (XXII) in schlecht gebildeten Krystallen von sehr unscharfem Smp. 110—140° Nach dreistündigem Trocknen bei 120° im Hochvakuum enthielten sie immer noch Krystallwasser.

3,694 mg Subst. gaben 11,69 mg CO₂ und 3,21 mg H₂O

C₃₆H₄₈O Ber. C 87,03 H 9,73%
Gef. „ 86,38 „ 9,72%

$[\alpha]_D^{22} = +55,5^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (c = 1,088 in Chloroform)

5. Überführung von Δ^{23} -3 α -Acetoxy-24,24-diphenyl-cholen (XXIII) in $\Delta^{20,23}$ -3 α -Acetoxy-24,24-diphenyl-choladien (XXVb).

20 g der Diphenyl-cholenverbindung XXIII und 6,61 g Bromsuccinimid kochten wir in 300 cm³ Tetrachlorkohlenstoff unter Bestrahlung am Rückflusskühler. Nach 10 bis 15 Minuten entwickelte sich Bromwasserstoff. Die Lösung, die das Δ^{23} -3 α -Acetoxy-22-brom-24,24-diphenyl-cholen (XXIV) enthielt, wurde abgekühlt und das gleichzeitig gebildete Succinimid abgenutscht.

Die Tetrachlorkohlenstoff-Lösung von (XXIV) versetzten wir mit 30 cm³ Dimethylanilin¹⁾, dampften den Tetrachlorkohlenstoff ab und kochten die zurückbleibende Dimethylanilin-Lösung noch 10 Minuten lang. Das abgekühlte Gemisch versetzte man mit Äther, wusch die ätherische Lösung mit Salzsäure und Wasser, trocknete sie mit Natriumsulfat und dampfte sie ein. Das so gewonnene rohe Dien-acetat acetylierten wir in 40 cm³ Pyridin und 30 cm³ Essigsäure-anhydrid 15 Stunden bei 20° nach und dampften die Lösung im Vakuum ein. Nach Aufnahme des Rückstandes in Äther wurde die ätherische Lösung mit Salzsäure und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und ein-

¹⁾ Die Abspaltung von Bromwasserstoff konnte ebensogut durch längeres Kochen der Tetrachlorkohlenstoff-Lösung durchgeführt werden.

gedampft. Die Aceton-Lösung des Rückstandes behandelten wir in der Wärme mit etwas Kohle, filtrierten die Lösung und kühlten sie ab. Dabei krystallisierte zuerst Acetoxy-dien XXVb zusammen mit nicht umgesetztem Cholenacetat XXIII aus. Diese 7,16 g vom Smp. 159—163°, $[\alpha]_D^{21} = +76^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,908$ in Chloroform), ergaben im Gemisch mit der Cholenverbindung XXIII keine weitere Schmelzpunktserniedrigung.

Die Aceton-Mutterlaugen lieferten beim Stehen an der Luft 5,95 g Krystalle vom Smp. 100°, welche vermutlich Krystallwasser enthielten. Das Präparat krystallisierte dann aus Essigester oder aus Äther-Methanol in Form von Blättchen, die bei 166—168° schmolzen. Dieses wasserfreie $\Delta^{20,23}$ -3 α -Acetoxy-24,24-diphenyl-choladien (XXVb) zeigte im Gemisch mit der Cholenverbindung XXIII eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung (Smp. 158—166°).

4,183 mg Subst. gaben 13,03 mg CO₂ und 3,37 mg H₂O

| | | | | |
|-------------------|--------|-------|---|-------|
| $C_{38}H_{48}O_2$ | Ber. C | 85,02 | H | 9,01% |
| | Gef. „ | 85,00 | „ | 9,01% |

$[\alpha]_D^{21} = +84^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,937$ in Chloroform)

6. $\Delta^{20,23}$ -3 α -Oxy-24,24-diphenyl-choladien (XXVa) aus seinem Acetat XXVb.

500 mg der bei 100° schmelzenden Krystalle des Dien-acetats XXVb kochten wir 1 Stunde in wässrigem Methanol mit 250 mg Pottasche. Den Alkohol dampften wir dann im Vakuum ein, lösten den Rückstand in Äther auf, wuschen die ätherische Lösung mit Wasser, trockneten sie mit Natriumsulfat und dampften sie ein. Aus Methanol krystallisierte das $\Delta^{20,23}$ -3 α -Oxy-24,24-diphenyl-choladien (XXVa) in Form von breiten Nadeln, welche bei 98—100° schmolzen. Zur Analyse wurde 2 Stunden bei 120° im Hochvakuum getrocknet.

4,039 mg Subst. gaben 12,94 mg CO₂ und 3,41 mg H₂O

| | | | | |
|-----------------|--------|-------|---|-------|
| $C_{36}H_{46}O$ | Ber. C | 87,39 | H | 9,37% |
| | Gef. „ | 87,44 | „ | 9,45% |

$[\alpha]_D^{21} = +80^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,740$ in Chloroform)

7. 3 α -Oxy-pregnan-20-on (XXVIa) aus dem Acetoxy-diphenyl-cholen XXIII über das Bromid XXIV und das Dien XXIb, ohne Reinigung der Zwischenprodukte.

22 g der Diphenyl-cholen-verbindung XXIII setzten wir mit 7,35 g Bromsuccinimid wie schon beschrieben in 500 cm³ Tetrachlorkohlenstoff um, spalteten Bromwasserstoff mit Dimethylanilin ab und acetylierten in Pyridin-Acetanhydrid nach. Das so erhaltene rohe Acetoxy-dien XXVb lösten wir in 300 cm³ Alkohol-freiem Chloroform und 300 cm³ 80-proz. Essigsäure, kühlten etwas ab und tropften eine Lösung von 15 g Chromtrioxyd in 300 cm³ 80-proz. Essigsäure zu. Die Lösung rührte man 3 Stunden bei 20°, kühlte dann wieder ab und zersetzte den Chromtrioxyd-Überschuss vorsichtig mit etwas Hydrogensulfid. Die Lösung dampften wir unter mehrmaligem Zusatz von Wasser im Vakuum ein, extrahierten den Rückstand mit Äther-Chloroform und wuschen die Lösung mit Natronlauge und Wasser. Sie wurde hierauf mit Natriumsulfat getrocknet, eingedampft und der Rückstand in 200 cm³ Methanol mit einer Lösung von 8 g Pottasche in 20 cm³ Wasser durch 2-stündiges Kochen am Rückflusskühler verseift. Die Lösung dampften wir im Vakuum ein, lösten den Rückstand in Äther, wuschen die Ätherlösung mit Natronlauge und Wasser, trockneten sie mit Natriumsulfat und dampften sie ein. Das erhaltene rohe Methylketon wog 17,21 g. Es wurde mit Hilfe von 20 g Girard-P-Reagens in eine ketonfreie Fraktion von 4,9 g und eine Ketonfraktion von 10,3 g getrennt. Die letztere krystallisierte man aus Hexan oder aus Äther-Petroläther um und erhielt so 4,12 g 3 α -Oxy-pregnan-20-on (XXVIa) in Nadeln vom Smp. 151—154°.

Die Mutterlaugen liessen wir in benzolischer Lösung durch eine Säule von 60 g Aluminiumoxyd fließen und wuschen diese mit Benzol, Äther und schliesslich Aceton

nach. Die eingedampften Benzol- und Äther-Fractionen lieferten, aus Hexan umkrystallisiert, noch 2,54 g des Methylketons XXVIa. Weitere 240 mg ließen sich aus den Mutterlaugen nach Sublimation bei 150° im Hochvakuum und darauffolgendem Umkrystallisieren gewinnen, so dass die totale Ausbeute 6,90 g oder 53,0% der Theorie betrug.

4,000 mg Subst. gaben 11,63 mg CO₂ und 3,87 mg H₂O

C₂₁H₃₄O₂ Ber. C 79,19 H 10,76%

Gef. „ 79,34 „ 10,82%

$[\alpha]_D^{20} = +109,5^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (c = 0,830 in Chloroform)

8. 3 α -Acetoxy-pregnan-20-on (XXVIb) aus 3 α -Oxy-pregnan-20-on(XXVIa).

1 g 3 α -Oxy-pregnan-20-on (XXVIa) löste man in 5 cm³ Pyridin, versetzte mit 3 cm³ Acetanhydrid und liess 15 Stunden bei 20° stehen. Die Lösung dampften wir im Vakuum ein, lösten den Rückstand in Äther, wuschen die Lösung nacheinander mit Salzsäure, Soda und Wasser, trockneten sie mit Natriumsulfat und engten sie ein. Auf Zusatz von Pentan krystallisierte das 3 α -Acetoxy-pregnan-20-on (XXVIb) aus. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren schmolz das reine Acetat bei 102—103°.

3,560 mg Subst. gaben 9,99 mg CO₂ und 3,13 mg H₂O

C₂₃H₃₆O₃ Ber. C 76,62 H 10,06%

Gef. „ 76,60 „ 9,83%

$[\alpha]_D^{22} = +83,5^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (c = 0,487 in Chloroform)

9. Pregnan-3 α ,20 α -diol (XXVII) und Pregnan-3 α ,20 β -diol (XXVIII) aus 3 α -Oxy-pregnan-20-on (XXVIa) durch Reduktion mit Natrium in Äthanol.

500 g Pregnanolon (XXVIa) lösten wir in 200 cm³ Äthanol und versetzten die am Rückfluss kochende Lösung allmählich mit 8 g Natrium. Nach Zugabe von Wasser dampften wir das Äthanol im Vakuum ein. Die suspendierten Krystalle wurden in Äther gelöst, die Lösung mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das rohe Krystallisat kochten wir eine Stunde am Rückfluss (mit Calciumchlorid-Verschluß) mit 10 cm³ Essigsäure-anhydrid, dampften letzteres im Vakuum ein, lösten das Acetat-Gemisch in Äther auf, wuschen die Lösung mit Soda und Wasser, trockneten sie mit Natriumsulfat und dampften sie ein. Aus wenig Methanol krystallisierte die Hauptmenge des Pregnan-3 α ,20 α -diol-diacetats (XXVIIb) aus. Die letzten Reste wurden durch Stehenlassen der mit etwas Kohle entfärbten Mutterlaugen erhalten. Nach Umkrystallisieren aus Aceton-Methanol schmolz das reine Diacetat XXVIIb zuerst bei 168°, erstarrte wieder und schmolz definitiv bei 182—183°. Ausbeute 210 mg.

4,402 mg Subst. gaben 11,94 mg CO₂ und 3,83 mg H₂O

C₂₅H₄₀O₄ Ber. C 74,21 H 9,96%

Gef. „ 74,01 „ 9,73%

$[\alpha]_D^{21} = +26^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (c = 0,908 in Benzol)

100 mg des erhaltenen Diacetats (XXVIIb) kochten wir 1 Stunde mit 100 mg Kaliumhydroxyd in Äthanol, versetzten die Lösung mit Wasser und dampften das Äthanol im Vakuum ab. Das Krystallisat wurde abgenutscht und aus Aceton umkrystallisiert. Das reine Pregnan-3 α ,20 α -diol (XXVIIa) schmolz bei 243—244°.

Die mit Kohle behandelten methanolischen Mutterlaugen des Pregnan-3 α ,20 α -diol-diacetats verseiften wir ähnlich wie das reine Diacetat und erhielten zuletzt aus Äther beim Einengen 100 mg wolliger Nadeln. Dieses Pregnan-3 α ,20 β -diol wandelte sich bei 210° in kurze scharf abgeschnittene Prismen um und schmolz bei 244—246°. Aus Äthanol bildeten sich sofort die Prismen.

4,060 mg Subst. gaben 11,69 mg CO₂ und 4,19 mg H₂O

C₂₁H₃₆O₂ Ber. C 78,69 H 11,32%

Gef. „ 78,59 „ 11,54%

Durch Reacetylierung des Pregnan-3 α ,20 β -diol erhielten wir aus Methanol Kristalle des Pregnan-3 α ,20 β -diol-diacetats (XXVIIIb) vom Smp. 113—115°.

3,940 mg Subst. gaben 10,74 mg CO₂ und 3,52 mg H₂O

C₂₅H₄₀O₄ Ber. C 74,21 H 9,96%

Gef. „ 74,40 „ 10,00%

$[\alpha]_D^{21} = +45^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (c = 0,572 in Chloroform)

10. Pregnan-3 α ,20 α -diol (XXVII) und Pregnan-3 α ,20 β -diol (XXVIII) aus 3 α -Oxy-pregnan-20-on (XXVIa) durch Hydrierung mit Nickelkatalysator.

500 mg 3 α -Oxy-pregnan-20-on lösten wir in wenig Äthanol und setzten 500 mg Nickel sowie eine Lösung von 4 g Natrium in 100 cm³ Äthanol zu. Die Suspension schüttelten wir 4 Stunden lang mit Wasserstoff, nutschten das Nickel ab, wuschen es mit warmem Alkohol, verdünnten das Filtrat mit Wasser und dampften das Äthanol im Vakuum ab. Die Aufarbeitung geschah wie im vorigen Beispiel. Wir erhielten 78 mg Pregnan-3 α ,20 α -diol-diacetat (XXVIIb) vom Smp. 168° und 183—184° und 210 mg Pregnan-3 α ,20 β -diol (XXVIIIa) vom Smp. 244—246°. Diese gaben im Gemisch mit den gemäss 9. erhaltenen Diacetaten keine Schmelzpunktserniedrigung.

11. Hydrierung von 3 α -Oxy-pregnan-20-on (XXVIa) mit Platinkatalysator in Eisessig.

500 mg 3 α -Oxy-pregnan-20-on lösten wir in 100 cm³ Eisessig, versetzten mit 200 mg Platinoxid und hydrierten 40 Minuten lang. Die abfiltrierte und eingedampfte Lösung hinterliess ein Öl, das aus Äther sofort in feinen Nadeln kristallisierte. Aus Äthanol erhielten wir 250 mg Kristalle vom Smp. 240°. Sie gaben keine Schmelzpunktserniedrigung im Gemisch mit den früher erhaltenen Präparaten von Pregnan-3 α ,20 β -diol (XXVIIIa). Die Mutterlaugen acetylierten wir, wie angegeben, und erhielten aus Petroläther ca. 10 mg des rohen Pregnan-3 α ,20 α -diol-diacetats vom Smp. 150—180°. Auch dieses erwies sich in der Mischprobe als identisch mit dem früher erhaltenen Diacetat (XXVIIb). Die Mutterlaugen dieses Präparates wurden schliesslich eingedampft, der Rückstand in Methanol aufgenommen, die Lösung mit etwas Kohle behandelt und stehengelassen. Auf diese Weise wurden noch 130 mg Pregnan-3 α ,20 β -diol-diacetat (XXVIIIb) in Form von Nadelbüscheln vom Smp. 113—115° erhalten. Sie ergaben keine Schmelzpunktserniedrigung im Gemisch mit den früher gewonnenen Präparaten.

Die Analysen und die Bestimmung der Drehungen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium unter der Leitung von Hrn. Dr. Gysel durchgeführt.

Forschungslaboratorien der *Ciba Aktiengesellschaft*, Basel
Pharmazeutische Abteilung.

8. Une microséparation du zinc et de l'aluminium au moyen de l'éthylxanthogénate de potassium

par Paul Wenger, E. Abramson et Z. Besso.

(8 XII 45)

Principe: L'éthylxanthogénate de potassium ($\text{KS} \cdot \text{CS} \cdot \text{OC}_2\text{H}_5$) donne avec le cation zinc une précipitation quantitative, en milieu légèrement acétique, tamponné avec de l'acétate de sodium, tandis que le cation aluminium reste en solution.

Le xanthogénate de zinc est dissous dans l'acide acétique et le zinc est dosé dans la solution soit par la méthode à l'hydroxy-8 quinoléine de *Cimernann* et *Wenger*¹⁾, soit comme pyrophosphate de zinc²⁾. Cette dernière méthode a été modifiée dans notre laboratoire.

1. Solutions utilisées.

A) Solution de sulfate de zinc.

Dissoudre 8,7962 gr. de $\text{SO}_4\text{Zn} \cdot 7 \text{OH}_2$ dans 1 litre d'eau distillée (titre = 2 mgr. Zn par cm^3).

Le titre de la solution a été vérifié par les dosages suivants:

- a) Dosage à l'état de pyrophosphate de zinc.
- b) Dosage par l'hydroxy-8 quinoléine.
- c) Microdosage à l'état de pyrophosphate de zinc²⁾.
- d) Microdosage par l'hydroxy-8 quinoléine¹⁾.

B) Solution de sulfate d'aluminium.

Dissoudre 24,69 gr. de $(\text{SO}_4)_3\text{Al}_2 \cdot 18 \text{OH}_2$ dans 1 litre d'eau distillée (titre = 2 mgr. Al par cm^3).

Le titre de la solution a été vérifié comme suit:

- a) Dosage à l'état de O_3Al_2 .
- b) Microdosage par l'hydroxy-8 quinoléine³⁾.

2. Essais qualitatifs.

a) Nous avons fait une série d'essais qualitatifs pour déterminer quelle était la concentration du réactif (éthylxanthogénate de potassium) donnant les meilleurs résultats. Nos essais ont porté sur des concentrations de 1 à 4%. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec une solution à 2% (le xanthogénate doit être fraîchement préparé).

Les essais faits avec une solution de 24 heures ont donné des résultats trop faibles.

b) Pour précipiter 2 mgr. de zinc, il faut employer 1,2 cm^3 de xanthogénate. Pour la précipitation de quantités plus faibles, ne pas employer moins de 0,9 cm^3 .

c) Le p_{H} optimum pour une précipitation complète de zinc est compris entre 5 et 5,5.

d) La durée du dépôt après la précipitation et les conditions de cette précipitation sont très importantes pour la réussite du dosage; le xanthogénate doit être ajouté goutte à goutte, puis, avec une microbague, on agite la solution très vigoureusement pendant 3 minutes. Il se forme un précipité volumineux et la liqueur devient absolument limpide.

¹⁾ Mikroch. 24, 148 (1938).

²⁾ Hecht et Donau, p. 201.

³⁾ Hecht et Donau, p. 207.

Au bout de quelque temps (10 à 25 minutes) le précipité est compact et cristallin. Il faut alors filtrer *immédiatement* par crainte d'un nouveau trouble de la liqueur (résultats de zinc trop faibles).

e) Comme liquide de lavage, nous avons employé une solution à 2% d'éthylxanthogénate de potassium.

Séparation zinc-aluminium.

Mode opératoire:

1. Introduire dans un bécher d'*Emich*, non taré, la solution contenant le zinc et l'aluminium (la somme des cations comprise entre 2,5 et 5 mgr.).

2. Ajouter: 1 goutte d'indicateur universel de *Merck*, 2 gouttes d'acide acétique à 10% et une solution d'acétate de sodium à 40% jusqu'à ce que l'indicateur indique le p_H 5-5,5.

3. Ajouter, goutte à goutte, une solution de xanthogénate de potassium à 2% (il faut 1,2 cm³ de xanthogénate pour 2 mgr. de zinc). Agiter vigoureusement avec une microbaguette pendant 3 minutes. Rincer la baguette avec 4 gouttes de solution de xanthogénate. Le précipité se forme rapidement. Il est d'abord floconneux, ensuite cristallin. La liqueur surnageante, trouble au début, devient absolument limpide. La durée du dépôt varie de 10 à 25 minutes.

4. On filtre alors immédiatement dans un bécher d'*Emich* taré et contenant 0,4 cm³ d'acide acétique à 90% (pour éviter l'hydrolyse de l'acétate d'aluminium).

On lave le précipité 3 fois avec 6 gouttes du réactif. Le filtrat est absolument limpide. On le porte au bain-marie. Il commence par se troubler, puis redevient limpide. On concentre le liquide afin qu'il contienne, environ, 1 mgr. de Al⁺⁺⁺ par cm³.

5. La baguette filtrante du bécher (non taré) contenant le xanthogénate de zinc est bouchée pour empêcher que le liquide monte pendant le chauffage. On introduit 0,5 cm³ d'eau distillée et 10 gouttes d'acide acétique à 10%. La dissolution est complète au bout de quelques minutes. On filtre dans un bécher d'*Emich* taré, si le dosage du zinc se fait par l'hydroxy-8 quinoléine; ou dans un creuset taré s'il se fait par le phosphate d'ammonium. On lave le bécher et la baguette avec 1 cm³ d'eau distillée.

Dosage du zinc.

A) *Méthode à l'hydroxy-8 quinoléine*, proposée par *Cimermann* et *Wenger* (loc. cit.).

Mode opératoire:

La solution du cation zinc, concentrée à 1,5 cm³, est additionnée d'une goutte d'indicateur universel de *Merck*. On ajoute une solution d'acétate de sodium à 40% jusqu'à ce que l'indicateur donne le p_H 5-6. On chauffe doucement, jusqu'à commencement d'ébullition et on ajoute, goutte à goutte, une solution alcoolique à 1% d'hydroxy-8 quinoléine. (La quantité théorique est de 0,4436 cm³ pour 1 mgr., il faut employer pour 2 mgr. 1,2 cm³.) On agite et on laisse digérer au bain-marie 1-2 minutes, en surveillant pour éviter les soubresauts. On laisse reposer 10 minutes. On filtre au moyen de la baguette filtrante en porcelaine ou en verre. On lave 5 fois avec de l'eau bidistillée chaude, en employant pour chaque lavage 1 cm³ de liquide. On sèche le bécher avec la baguette dans une étuve *Benedetti-Pichler* à 165° (température extérieure). On aspire doucement pendant 30 minutes. Après refroidissement de 15 minutes dans le tube, on essuie le bécher avec une flanelle humide et deux peaux de chamois. On laisse reposer sur un bloc en nickel pendant 15 minutes à côté de la balance, 5 minutes sur un bloc à l'intérieur de la balance, 5 minutes sur le plateau de la balance; on pèse alors à la 25e minute.

Facteur pour Zn: 0,1849

B) *Méthode au pyrophosphate* (décrite par *Hecht* et *Donau* et modifiée dans notre laboratoire).

Le zinc précipite quantitativement d'une solution, en présence de sels ammoniacaux, par le phosphate d'ammonium.

Mode opératoire:

La solution contenue dans le creuset est portée au bain-marie. On ajoute, goutte à goutte, 1 cm³ d'une solution de phosphate d'ammonium à 5% par mgr. de zinc; puis 1 goutte d'indicateur de *Merck* et 2 à 3 gouttes d'ammoniaque à 1% jusqu'au p_H 6. On laisse encore 30 minutes au bain-marie et on refroidit 30 minutes. On filtre, on lave en alternant avec du nitrate d'ammonium à 1% et de l'alcool à 50%. On sèche à l'étuve et ensuite au four à moufle en élevant lentement la température jusqu'à 900°; on chauffe encore 5 minutes. On sort le creuset du four, on le laisse refroidir sur un bloc de nickel, ensuite dans un dessiccateur et dans la balance; on pèse au bout de 30 minutes.

Facteur de Zn: 0,4291

Nous recommandons cette méthode lorsque la proportion du cation Al⁺⁺⁺ dépasse 50%, la méthode à l'hydroxyquinoléine nous ayant donné des résultats parfois trop faibles.

Dosage de l'aluminium.

Nous avons choisi la méthode à l'hydroxy-8 quinoléine. On opère en solution acétique, ce qui convient bien pour le cas qui nous occupe, puisque la solution filtrée du zinc est précisément acétique.

Mode opératoire:

Après filtration du zinc, nous avons un volume de plusieurs cm³. Il faut évaporer pour avoir environ 1 cm³ de liquide. On acidifie ensuite avec 10 gouttes d'acide acétique à 90%, on ajoute 0,4 cm³ de réactif¹⁾ (pour 1–3 mgr. d'aluminium), on chauffe au bain-marie, puis on tamponne avec de l'acétate d'ammonium (2 N), goutte à goutte, jusqu'à trouble persistant. On continue de chauffer, le précipité devient cristallin; on ajoute encore 0,5 cm³ d'acétate d'ammonium, on chauffe 10 minutes, on filtre à chaud, on lave 5 fois avec 0,3–0,5 cm³ d'eau distillée bouillante. On sèche à 140° pendant 30 minutes et l'on pèse.

Facteur pour Al: 0,05871

CONCLUSIONS.

Nous avons effectué une centaine d'analyses en faisant varier les proportions des cations Zn⁺⁺ et Al⁺⁺⁺.

Nous avons constaté que la méthode donnait des résultats précis dans les limites suivantes:

Zn: 25 à 75% Al: 25 à 75%.

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

¹⁾ Solution acétique d'hydroxy-8 quinoléine à 5%: on pèse 1 gr. d'hydroxy-8 quinoléine que l'on dissout dans 2,5 cm³ d'acide acétique glacial. On chauffe légèrement au bain-marie et on dilue à 20 cm³ avec de l'eau distillée.

9. La perméabilité des membranes X. La perméabilité ionique de membranes vivantes

par Kurt H. Meyer et P. Bernfeld.

(29 VI 45)

Dans le présent travail, nous examinerons la sélectivité de cellules vivantes et de membranes vivantes; puisque ces membranes ne sont ni homogènes ni simples, mais qu'elles sont composées de plusieurs couches, nous ne pouvons analyser que les couches directement en contact avec la solution d'électrolyte.

1. Expériences sur l'algue *Chara*¹⁾.

L'algue *Chara* se compose d'une longue cellule tubulaire (de plusieurs centimètres de longueur et d'un diamètre d'environ 1 mm) recouverte par une couche de cellules beaucoup plus petites. Le protoplasme se trouve à l'intérieur du tube.

On introduit dans l'extrémité de l'algue un capillaire et on y fait couler une solution d'électrolyte. On trempe la partie médiane de l'algue dans une solution d'électrolyte contenue dans un petit récipient en paraffine rempli à un niveau dépassant les bords. Afin d'examiner la membrane extérieure, on maintient constante la concentration de la solution passant par l'intérieur et on varie la concentration de la solution extérieure. Pour mesurer la perméabilité de la couche de protoplasme, la concentration de la solution intérieure est variée et la concentration de la solution extérieure est maintenue constante. Toutes les solutions ont été rendues isotoniques à une solution 0,16 n de KCl, par du saccharose. Une série de résultats est donnée dans le tableau 1. Les courbes de sélectivité résultant de cette série d'essais ainsi que les courbes pour d'autres sels sont données dans la fig. 1.

Tableau 1.

| côté extér. | côté intér. | E mv observé | différences en mv | |
|--------------|--------------|--------------|-------------------|-------------------|
| -0,16 n KCl | 0,16 n KCl+ | + 1 | | couche extérieure |
| 0,08 n KCl | 0,16 n KCl | 0 | + 1 | + 0,08/0,16 - |
| + 0,04 n KCl | 0,16 n KCl - | - 3 | + 3 | + 0,04/0,08 - |
| + 0,02 n KCl | 0,16 n KCl - | - 8 | + 5 | + 0,02/0,04 - |
| | | | | couche intérieure |
| -0,16 n KCl | 0,16 n KCl+ | + 1 | + 2 | + 0,08/0,16 - |
| -0,16 n KCl | 0,08 n KCl+ | + 3 | + 4 | + 0,04/0,08 - |
| -0,16 n KCl | 0,04 n KCl+ | + 7 | + 7 | + 0,02/0,04 - |
| -0,16 n KCl | 0,02 n KCl+ | + 14 | | |

¹⁾ Nous remercions M. le Prof. *Chodat* pour ses conseils et pour les algues qu'il a mises à notre disposition.

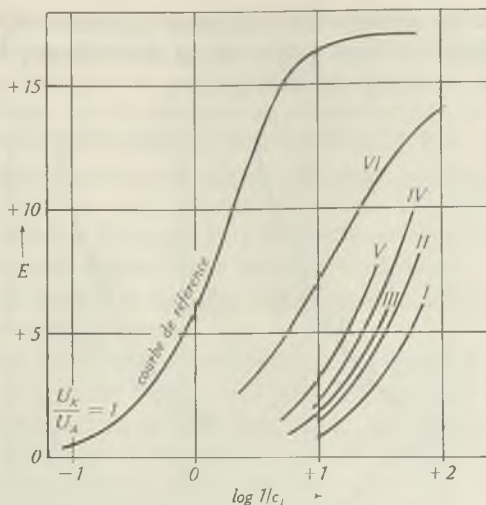


Fig. 1.

| | | | | |
|-----|---------------|-----------------|----------------------------------|----------------------|
| I | algue Chara | côté extérieur, | dans KCl, | A = 0,016 |
| II | " " | " " | intérieur, " KCl | } A = 0,024 |
| | | | extérieur, " NaCl | |
| III | " " | " " | extérieur, " NH ₄ Cl, | A = 0,030 |
| IV | " " | " " | intérieur, " NaCl, | A = 0,036 |
| V | " " | " " | intérieur, " NH ₄ Cl, | A = 0,046 |
| VI | algue Nitella | côté extérieur, | " NH ₄ Cl, | A entre 0,05 à 0,15. |

On constate que la membrane extérieure et la couche de protoplasme sont perméables aux cations; la couche de protoplasme est plus sélective que la couche extérieure.

2. Expériences sur l'algue Nitella¹).

Les cellules tubulaires de l'algue Nitella sont trop minces pour permettre l'introduction d'un capillaire. On s'est donc limité à mesurer la perméabilité de la membrane extérieure. Deux endroits différents de celle-ci furent mis en contact avec les solutions d'électrolyte. La membrane s'est révélée perméable aux cations et plus sélective que celle de l'algue Chara (voir fig. 1).

3. Expériences sur la peau de grenouille.

Les grenouilles ont été décapitées, la peau de ventre découpée et fixée dans un appareil qui permet de changer rapidement les solutions et de maintenir vivante la membrane par un courant continu d'oxygène.

Pour l'analyse de la couche extérieure, la couche intérieure reste en contact avec une solution de Ringer (6,5 gr. NaCl; 0,2 gr. KCl; 0,2 gr. CaCl₂; 0,32 gr. NaHCO₃; 1 gr. glucose remplis à 1 l.). La couche extérieure est mise en contact d'abord avec 0,01 n de NaCl ou KCl, puis 0,02 n, 0,04, 0,08 et éventuellement 0,16 et 0,32. Les différences de valeurs lors de mesures consécutives servent à tracer la courbe de sélectivité.

¹) Nous en avons obtenu quelques exemplaires de M. le Prof. Ernst de Zurich. Nous le remercions très vivement.

Les courbes de sélectivité obtenues avec du NaCl démontrent nettement la sélectivité cationique de la membrane; la constante de sélectivité A est environ 0,02 (fig. 2).

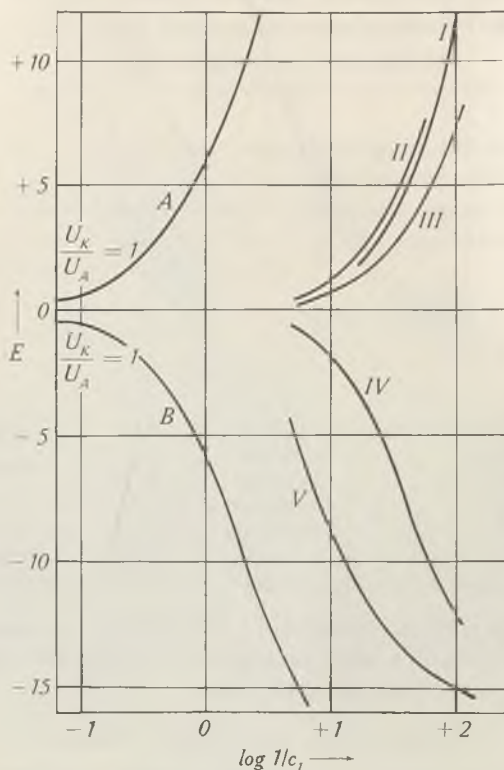


Fig. 2.

courbes de sélectivité de la peau de grenouille, couche extérieure.

- I solutions de NaCl sans tampon, sans traitement préalable.
- II traitement préalable par la solution de *Ringer*, puis solutions de KCl tamponnées au $p_H = 7,8$.
- III traitement préalable par du chloroforme, puis solutions de KCl sans tampon.
- IV solutions de KCl tamponnées au $p_H = 7,8$, sans traitement préalable.
- V solutions de KCl sans tampon, sans traitement préalable.
- A courbe de référence, perméabilité aux cations.
- B courbe de référence, perméabilité aux anions.

En présence de KCl, par contre, la membrane est perméable aux anions; mais, aussi en présence de KCl, elle reste perméable aux cations si elle a été traitée préalablement avec une solution de *Ringer* et si les mesures sont faites avec du KCl tamponné au $p_H 7,8$. La peau traitée préalablement par de la vapeur de chloroforme est également perméable aux cations en présence de KCl.

Il résulte de ce qui précède que la couche extérieure est amphotère; il semble que le KCl cause une acidification qui fait virer la perméabilité cationique en perméabilité anionique. Cette production d'acide est inhibée par la narcose au chloroforme; par le bain alcalin l'acide produit est neutralisé et la perméabilité reste cationique.

Il résulte des courbes de sélectivité que les constantes de sélectivité pour les cations sont plus petites que les constantes de sélectivité pour les anions. Puisque la sélectivité cationique provient de la présence de groupes acides fixes dans la membrane, les protéines en question doivent posséder un plus grand nombre de groupes basiques fixes que de groupes acides.

U_K/U_A dans la membrane est égale à environ 1 pour KCl et NaCl, tandis que U_K/U_A dans l'eau n'est que 0,6 pour NaCl.

Pour l'analyse de la *couche intérieure*, on expose celle-ci successivement à du NaCl (ou KCl) 0,01 n, 0,02 n, etc., la couche extérieure restant en contact avec de l'eau du lac.

Les solutions diluées de NaCl et de KCl ont été rendues isotoniques à la solution de *Ringer* par du saccharose. La couche intérieure superficielle ne montre aucune sélectivité; *mais une couche située plus profondément se révèle spécifiquement perméable aux ions H⁺*. Cette membrane réagit avec les ions H⁺ comme la lamelle de verre d'une électrode en verre.

Les solutions pour des essais avaient la composition suivante:

| p_H de la solution | NaCl 2 n | Na ₂ HPO ₄ 0,1 mol. | HCl 0,1 n | rempli à |
|----------------------|--------------------|---|--------------------|----------------------|
| 7,75 | 50 cm ³ | 50 cm ³ | 4 cm ³ | 1000 cm ³ |
| 6,75 | 50 cm ³ | 50 cm ³ | 25 cm ³ | 1000 cm ³ |

On voit que les concentrations des ions sodium et phosphorique restent constantes, la concentration des ions chlore est changée de 0,1000 n à 0,1025 n tandis que la concentration des ions H⁺ augmente de dix fois.

Lors des essais, le côté extérieur était en contact avec de l'eau du lac, le côté intérieur avec la solution en question. La fig. 3 indique le potentiel en fonction du temps. Les variations du potentiel correspondent presque entièrement aux valeurs prévues si seuls les ions H⁺ traversent la membrane. La valeur théorique pour le saut de concentration 1:10 (p_H 7,75: p_H 6,75) est de 57,5 mv à 17°; les expériences ont donné 53, 55, 60, et 54 mv.

Lors d'un changement de p_H , le potentiel correspondant n'est atteint qu'au bout de 20 minutes environ; il semble donc que les ions doivent d'abord traverser un tissu très poreux et non sélectif, pour atteindre la couche perméable aux seuls ions H⁺.

Le fait d'avoir décelé une telle couche si peu perméable nous semble très important. Le rôle de cette couche serait d'empêcher la diffusion des sels cellulaires vers l'extérieur de la cellule. Dans le cas où des organes voisins, par exemple des fibrilles nerveuses et le liquide

environnant, possèdent une teneur différente en sels, notre constatation permet de conclure ici également à la présence de couches de séparation qui seraient des membranes peu ou pas perméables aux sels et perméables seulement aux ions H^+ .

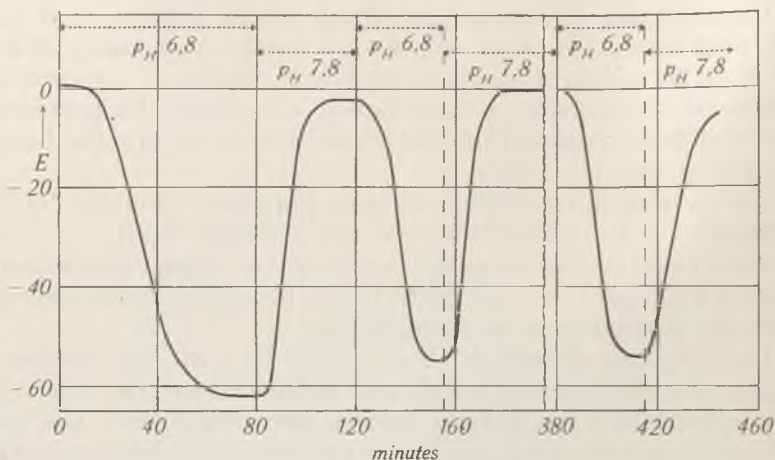


Fig. 3.

Si la cellule nerveuse ou musculaire est vraiment enveloppée par une telle membrane, des variations de p_H à l'intérieur de la cellule devraient produire une variation du potentiel décelable à l'extérieur: en particulier une alcalinisation à l'intérieur de l'axone ou de la fibrille devrait créer à l'extérieur une variation du potentiel dans le sens négatif; inversement une acidification crée une variation dans le sens positif. Or, on connaît dans le métabolisme du muscle et du nerf un grand nombre de réactions intermédiaires qui produisent des changements de p_H . Nous croyons donc que les variations de potentiel bien connues sous le nom de *courants d'action*, sont dues totalement ou du moins en grande partie aux *variations du p_H qui accompagnent l'activité cellulaire*.

Laboratoires de Chimie inorganique et de Chimie organique
de l'Université de Genève.

10. Recherches sur l'amidon XXX¹⁾.

Dosage des dérivés méthylés du glucose

par R. Jeanloz.

(12 XII 45)

L'hydrolyse complète des polysaccharides méthylés est un problème important pour l'étude de la structure des polysaccharides. Il est possible d'en suivre la marche par la variation du pouvoir rotatoire; elle nous permet d'en constater la fin, mais pas de savoir si l'hydrolyse est complète. Il est nécessaire, pour vérifier ce cas, de doser avec précision par une méthode d'oxydation les produits d'hydrolyse obtenus. Ce dosage avait déjà retenu l'attention de *Zemplén* et *Braun*²⁾ et de *Sobotka*³⁾ qui effectuèrent l'oxydation en présence de liqueur de *Fehling* selon *Bertrand* et *Lehmann-Maquenne* et en présence d'iode selon *Willstätter* et *Schudel*. Ce problème aurait pu être considéré comme résolu si les données d'un travail de *Myrbäck* et *Gyllenswärd*⁴⁾ sur ce même dosage par l'iode en milieu alcalin n'avaient été en contradiction avec l'oxydation stoechiométrique généralement admise et vérifiée par *Sobotka*:



C'est pourquoi nous fûmes amenés à répéter ces dosages et à publier le résultat de nos observations.

Dosage par l'iode en milieu alcalin.

Sobotka effectue le dosage selon *Willstätter* et *Schudel*⁵⁾ et observe une réaction stoechiométrique en 16 minutes pour le glucose, le 3-monométhyl-glucose, le 2,3-diméthyl-glucose, le 3,5,6-triméthyl-glucose et le 2,3,4,5,6-pentaméthyl-glucose, alors que le 2,3,4,6-tétraméthyl-glucose n'est oxydé qu'à 90%. *Myrbäck* et *Gyllenswärd* dosent le glucose, le 2,3,6-triméthyl-glucose et le 2,3,4,6-tétraméthyl-glucose dans divers milieux alcalins tamponnés et trouvent des résultats variant entre 43% et 120% de la quantité théorique. Les auteurs expliquent la difficulté d'oxydation totale du groupe aldéhydique des sucres méthylés par l'iode en invoquant la transformation spontanée de l'hypiodite en iodate inactif.

¹⁾ Recherches sur l'amidon XXIX voir *Helv.* **27**, 1509 (1944).

²⁾ *G. Zemplén* et *G. Braun*, *B.* **58**, 2566 (1925).

³⁾ *H. Sobotka*, *J. Biol. Chem.* **69**, 267 (1926).

⁴⁾ *K. Myrbäck* et *E. Gyllenswärd*, *Svensk. Kem. Tidskr.* **53**, 461 (1941).

⁵⁾ *R. Willstätter* et *G. Schudel*, *B.* **51**, 780 (1918).

Les résultats qu'ils obtiennent pour le glucose sont en contradiction complète avec de nombreuses données de la littérature¹).

Nous nous sommes servis pour nos dosages de la méthode de *Willstätter* et *Schudel*, selon la prescription de *Linderström-Land* et *Hodler*²). Afin de vérifier si la transformation de l'hypoiodite en iodate gênait l'oxydation dans les conditions auxquelles nous travaillions, nous avons laissé en contact l'iode et l'alcali une demi-heure avant d'ajouter le glucose: l'oxydation fut quantitative. Nous avons étudié ensuite l'oxydation du 2,3-diméthyl-glucose, du 2,3,4- et du 2,3,6-triméthyl-glucose et du 2,3,4,6-tétraméthylglucose. Pour le 2,3-diméthyl- et le 2,3,6-triméthyl-glucose, nous ne pouvons que confirmer les résultats de *Sobotka* et infirmer ceux de *Myrbäck* et *Gyllenswärd*: l'oxydation est stoechiométrique en moins d'une demi-heure; il en est de même pour le 2,3,4-triméthyl-glucose. Quant au 2,3,4,6-tétraméthyl-glucose, il est nécessaire de le laisser en contact pendant une heure avec la solution oxydante pour que la réaction soit quantitative³).

Dosage par la liqueur de Fehling.

Le dosage du glucose par la liqueur de *Fehling* selon *Bertrand* montre que la quantité de cuivre bivalent réduite n'est pas rigoureusement proportionnelle à la quantité de glucose oxydée: elle diminue avec la concentration; toutefois cette variation est faible. Il n'en est pas de même avec les dérivés méthylés du glucose. Les séries d'essais que nous avons effectuées ont montré une forte variation. De même, la variation de la durée de chauffe n'amène pas une variation proportionnelle de la quantité de cuivre réduite. C'est pourquoi les résultats indiqués par *Myrbäck* et *Gyllenswärd* ne peuvent être employés, car ces auteurs omettent d'indiquer la concentration à laquelle ils travaillent. Nos résultats coïncident dans la grande majorité des cas avec ceux de *Zemplén* et *Braun* et de *Sobotka*.

La précision et la reproduction des dosages n'est pas bonne. C'est pourquoi nous nous sommes contentés d'indiquer les résultats obtenus dans les conditions où la limite d'erreur n'excède pas 15%.

Ainsi qu'il ressort des données expérimentales, il faudra donc, chaque fois que cela sera possible, préférer le dosage par l'iode en solution alcaline au dosage selon la méthode de *Bertrand*.

En résumé, il est possible de doser quantitativement les dérivés méthylés du glucose par l'iode en solution alcaline avec une erreur inférieure à 2%, et de suivre la marche d'une hydrolyse d'un glucoside ou polysaccharide méthylé à l'aide de cette méthode.

Ce travail a été effectué grâce à une bourse accordée par la *Fondation pour bourses en biologie et en médecine*, que je tiens à remercier ici vivement.

¹) Voir ⁵) p. 57; *B. A. Rubin*, *J. Zuckerind.* **5**, 219 (1931); *H. M. Judd*, *Biochem. J.* **14**, 255 (1920); *J. L. Baker* et *H. F. Fulton*, *Biochem. J.* **14**, 754 (1920); *F. M. MacLeod* et *R. Robinson*, *Biochem. J.* **23**, 517 (1930); *E. C. Noyons*, *R.* **58**, 17 (1939) entre autres.

²) *K. Linderström-Land* et *H. Hodler*, *C. r. Trav. Carlsberg* **19**, 1 (1939).

³) Voir également *M. L. Wolfrom* et *W. I. Lewis*, *Am. Soc.* **50**, 845 (1928).

Partie expérimentale.

Dosage en solution alcaline selon Linderström-Land et Hodler.

20 cm³ de solution contenant le sucre¹⁾ à doser, neutralisée éventuellement en présence de méthylorange, sont additionnés de 15 cm³ d'un tampon d'hydrogencarbonate de sodium 0,2 mol. et de carbonate de sodium 0,2 mol. dans un erlenmeyer de 200 cm³; le p_H est ainsi maintenu à 10,6. On additionne de 30 cm³ d'une solution d'iode 0,05-n, laisse une demi-heure ou une heure à l'obscurité à température ambiante (dans nos expériences de 22° à 25°), puis acidifie avec 20 cm³ d'acide sulfurique 5-n. On titre en présence d'amidon par le thiosulfate de sodium 0,05 n.

| Sucre | Poids de la prise en mgr. | Durée de l'oxydation en heures | cm ³ d'iode 0,05-n employés | Oxydation en % |
|--|---------------------------|--------------------------------|--|----------------|
| 2,3-diméthyl-glucose | 21,0 | 0,5 | 4,00 | 99 |
| | 21,0 | 1 | 4,05 | 100 |
| | 42,0 | 1 | 8,10 | 100 |
| 2,3,6-triméthyl-glucose | 15,1 | 0,5 | 2,75 | 100,5 |
| | 15,1 | 1 | 2,80 | 102 |
| | 30,2 | 1 | 5,50 | 101 |
| 2,3,4,6-tétraméthyl-glucose | 30,0 | 0,5 | 4,90 | 96,5 |
| | 30,0 | 1 | 5,15 | 101 |
| | 60,0 | 1 | 10,05 | 99 |
| | 90,0 | 1 | 15,05 | 99 |
| 2,3,4-triméthyl- α -méthylglucoside ²⁾ | | | | Hydrolyse en % |
| Hydrolysé 0,5 heure | 18,4 | 1 | 1,20 | 38,5 |
| „ 2 heures | 18,4 | 1 | 2,60 | 83 |
| „ 4 heures | 36,8 | 1 | 6,16 | 99 |
| „ 17 heures | 18,4 | 1 | 3,10 | 99,5 |

Oxydation par la liqueur de Fehling selon Bertrand.

On introduit dans un erlenmeyer de 200 cm³ 20 cm³ de la solution contenant le sucre à doser, 20 cm³ de la solution de sulfate de cuivre et 20 cm³ de la solution de sel de *Seignette*. On porte à ébullition, laisse à ébullition 3, 5, 10 ou 15 minutes, décante le précipité d'oxyde de cuivre monovalent et filtre sur *Gooch* Iéna 11 G 4. On lave à l'eau, dissout et titre par une solution de permanganate de potassium 0,1-n selon la méthode classique de *Bertrand*³⁾.

¹⁾ Pour la préparation des sucres, voir *Helv.* **27**, 1509 (1944).

²⁾ L'hydrolyse a été effectuée en solution d'acide chlorhydrique 1-n avec une concentration de 0,368% de glucoside, à ébullition, en courant d'azote.

³⁾ *G. Bertrand*, *Bl.* [3] **35**, 1285 (1906).

| prise en mgr. | min. d'ébull. | KMnO ₄ 0,1 n cm ³ | prise en mgr. | min. d'ébull. | KMnO ₄ 0,1 n cm ³ |
|------------------------------------|---------------|--|---------------|---------------|--|
| <i>2,3-diméthyl-glucose</i> | | | | | |
| 6,55 | 3 | 0,35 | 13,10 | 10 | 2,25 |
| 6,55 | 5 | 0,60 | 26,20 | 3 | 1,70 |
| 6,55 | 10 | 1,25 | 26,20 | 5 | 2,15 |
| 13,10 | 3 | 0,90 | 26,20 | 10 | 3,60 |
| 13,10 | 5 | 1,20 | | | |
| <i>2,3,4-triméthyl-glucose</i> | | | | | |
| 6,60 | 3 | 0,35 | 13,10 | 10 | 1,25 |
| 6,60 | 10 | 0,60 | 19,70 | 15 | 2,35 |
| 6,60 | 15 | 1,00 | 22,00 | 3 | 0,65 |
| 11,00 | 3 | 0,35 | 22,00 | 5 | 1,20 |
| 11,00 | 5 | 0,55 | 22,00 | 10 | 1,70 |
| 11,00 | 15 | 1,40 | 26,20 | 5 | 1,40 |
| 13,10 | 5 | 0,75 | 33,00 | 3 | 0,90 |
| <i>2,3,6-triméthyl-glucose</i> | | | | | |
| 6,55 | 3 | 0,35 | 16,40 | 10 | 1,85 |
| 6,55 | 5 | 0,55 | 16,40 | 15 | 2,55 |
| 6,55 | 10 | 0,95 | 23,50 | 5 | 2,00 |
| 6,55 | 15 | 1,30 | 26,20 | 3 | 1,75 |
| 13,10 | 3 | 0,90 | 26,20 | 5 | 2,15 |
| 13,10 | 5 | 1,20 | 32,80 | 5 | 2,95 |
| 16,40 | 5 | 1,55 | 32,80 | 10 | 3,65 |
| <i>2,3,4,6-tetraméthyl-glucose</i> | | | | | |
| 6,60 | 3 | 0,20 | 30,00 | 15 | 3,75 |
| 6,60 | 5 | 0,55 | 33,30 | 3 | 0,90 |
| 6,60 | 10 | 0,70 | 60,00 | 5 | 3,10 |
| 6,60 | 15 | 0,80 | 66,60 | 3 | 2,05 |
| 13,30 | 5 | 0,90 | 66,60 | 10 | 4,90 |
| 13,30 | 10 | 1,20 | 66,60 | 15 | 6,25 |
| 30,00 | 5 | 1,75 | 90,00 | 5 | 4,60 |
| 30,00 | 10 | 2,95 | | | |

Laboratoires de Chimie inorganique et organique
de l'Université de Genève.

11. Etudes sur les matières végétales volatiles. XXXVIII¹⁾.

Contribution à la connaissance de la carvone

par Y. R. Naves et P. Bachmann.

(14 XII 45)

Quoique la description physique de la carvone ait été abordée de divers côtés, il nous est apparu utile d'établir et d'interpréter l'ensemble des caractères d'une préparation pure, en usant des techniques et des méthodes appliquées à l'étude de cétones voisines²⁾. Nous avons pu réduire ainsi l'incertitude qui régnait encore sur la structure de cette cétone³⁾.

On admet communément que la carvone est la p-menthadiène-1(6); 8(9)-one-(2). Il n'existe guère de doute sur la réalité de l'insaturation 8(9). Elle est témoinnée par l'activité rotatoire optique de la cétone, par la dégradation oxydative du dihydro-carvéol qui conduit à l'acide o-hydroxy-toluïque⁴⁾, par l'identité de la carvoxime et du nitrosolimonène, par les valeurs des effets *Raman* éthénoïdiques de la carvone, de la dihydro-carvone et du dihydro-carvéol⁵⁾.

Par contre on a pu mettre en doute la position de l'insaturation conjuguée au carbonyle, qui serait située soit en 1(6), soit en 1(7)⁶⁾. Or, l'hydrogénation sélective de la carvone livre la carvotanacétone⁷⁾ et non la p-menthène-1(7)-one-(2) qui aurait été obtenue synthétiquement⁸⁾ et qui est peut-être l' α -santolinénone⁹⁾. La formule 1(6) serait dès lors appuyée par la dégradation oxydative de la carvotanacétone en acide pyruvique et en acide isopropyl-succinique¹⁰⁾. (*Simonsen* et *Rau* n'ont pu obtenir que de l'acide acétique et de l'acide isopropyl- β -glutarique¹¹⁾). Cependant, la valeur de l'hydrogénation catalytique pour la détermination de la position des liaisons insaturées est sujette à réserve car les catalyseurs nobles¹²⁾ et même le nickel *Raney*¹³⁾ peuvent transposer ces liaisons¹⁴⁾. Un autre argument pour la liaison

1) XXXVIIe Communication: *Helv.* **29**, 12 (1946).2) *Naves, Papazian, Helv.* **25**, 1023, 1046 (1942).3) *Wheeler, Chem. News* **143**, 379 (1931).4) *Tiemann, Semmler, B.* **28**, 2147 (1895).5) *Dulou, Bl. Inst. Pin.* **1934**, 214.6) *Wheeler, loc. cit.*7) *Vavon, C. r.* **153**, 68 (1911); *Dulou, Bl. Inst. Pin.* **1934**, 175; *Read, Swann, Soc.* **1937**, 240.8) *Baeyer, Oehler, B.* **29**, 35 (1896).9) *Francesconi, Scarafia, Atti R. Accad. Lincei* [5] **20-II**, 318 (1911); *F., Granata, G.* **44-II**, 150 (1914).10) *Semmler, B.* **33**, 2451 (1900).11) *Soc.* **121**, 829 (1922).12) Ex. nopinène en pinène: *Richter, Wolff, B.* **59**, 1733 (1926).13) *Delépine, Horeau, Bl.* [5] **5**, 339 (1938).14) *Voy. ég. Lipp, B.* **63**, 416 (1930); *Durand, Adkins, Am. Soc.* **60**, 1505 (1938).

1(6) serait l'oxydation de la carvone en p-menthène-8(9)-dione-(2,6)¹⁾ identifiée avec le produit de l'hydrolyse de la dioxime résultant de l'oxydation de l'hydroxylamino-oxime de la carvone²⁾. Plus convaincante paraît être la microozonisation de la semicarbazone de la carvone, qui a livré 0,83 mol. d'aldéhyde formique³⁾.

L'absorption de la carvone dans l'ultra-violet a été étudiée⁴⁾. La position du maximum d'absorption (bande K) des solutions alcooliques, interprétée dans le cadre de la systématique de Woodward⁵⁾,

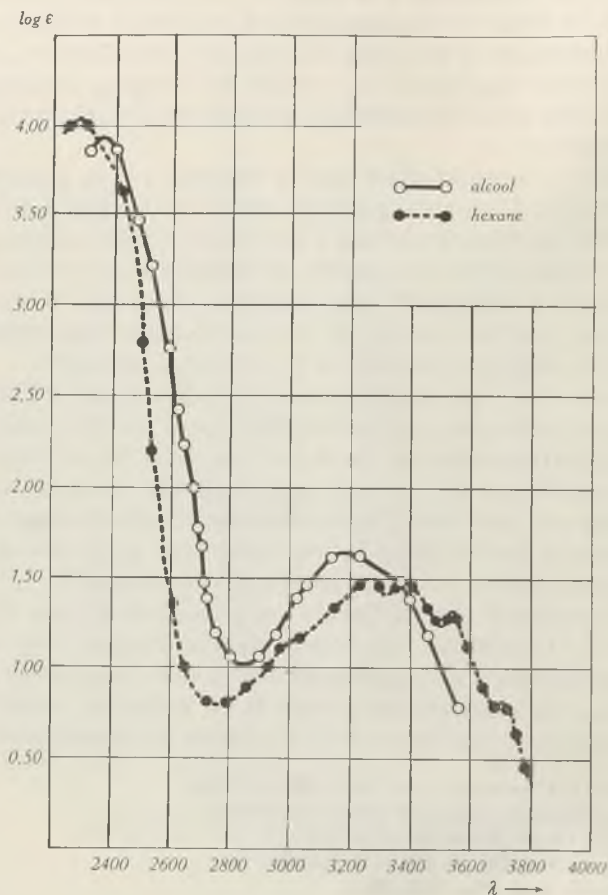


Fig. 1

¹⁾ Harries, B. **34**, 2105 (1901); Naves, Parf. France **10**, 230 (1932).

²⁾ Harries et coll., A. **330**, 185 (1904).

³⁾ Doeuvre, Bl. [5], **1**, 198 (1934).

⁴⁾ a) Henderson, Heilbronn, B. **47**, 884 (1914); b) Purvis, Soc. **123**, 2518 (1923); c) Mohler, Helv. **20**, 289 (1937); d) Cooke, Macbeth, Soc. **1938**, 1408.

⁵⁾ Woodward, Am. Soc. **63**, 1123 (1941); **64**, 72 (1942); Evans, Gillam, Soc. **1941**, 815; **1945**, 432.

indique que la liaison éthénoïdique conjuguée est substituée en α, β (valeur caractéristique: 2390 ± 50 U.Å.). La localisation exocyclique impliquerait un maximum à 2540 ± 50 U.Å.¹⁾, l'effet bathochrome étant d'environ 150 U.Å.

| | λ_{\max} (alcool) (log. ϵ) | λ_{\max} (hexane) (log. ϵ) |
|--|--|--|
| Cooke, Macbeth ¹⁾ | 2353 (4,28); 3175 (1,62) | 2295 (4,28); 3318 (1,56) |
| Nos mesures | 2350 (3,93); 3180 (1,62) | 2280 (4,04); 3270-3385 (1,50) |

A l'encontre des indications de Cooke et Macbeth, Mohler a relevé la structure de bandes fines de l'absorption R en solution hexanique. Ce phénomène a été noté auparavant et même chez des cétones saturées (cyclanones; benzocyclanones²⁾). Il paraît être caractéristique chez les cyclénones de la position intracyclique de l'insaturation³⁾. Mohler a prévu une relation entre l'espacement de ces bandes fines et des effets Raman⁴⁾. Nous la constatons aujourd'hui.

| | Mohler | | Nos mesures | |
|----------------|----------------|----------------------|------------------------|----------------------|
| bandes fines A | λ 3700 | nombre d'ondes 27020 | λ 3720 | nombre d'ondes 26882 |
| B | 3560 | 28080 | 3540 | 28250 |
| C | 3400 | 29400 | 3385 | 29542 |
| D | 3270 | 30570 | 3270 | 30580 |
| E | 3130 | 31940 | incertitude 3000 (?) — | |

| | Différences des nombres d'ondes | | Fréquences Raman |
|-------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | Mohler | Nos mesures | |
| B - A | 1060 cm^{-1} | 1368 cm^{-1} | 1370 cm^{-1} |
| C - B | 1320 cm^{-1} | 1292 cm^{-1} | 1257 cm^{-1} |
| D - C | 1170 cm^{-1} | 1038 cm^{-1} | 1057 cm^{-1} |
| E - D | 1370 cm^{-1} | — | 1370 cm^{-1} |

Les relations entre les intensités d'absorption en solution hexanique et en solution alcoolique sont semblables à celles déjà constatées⁵⁾. L'absorption K des solutions alcooliques est la plus intense, les maxima sont plus écartés et les minima plus accusés en solution

¹⁾ Ex.: Pulégone, 2520 (Gillam, Lynas-Gray, Penfold, Simonsen, Soc. 1941, 62); 2530 (Naves, Papazian, Helv. 25, 1028 (1942)).

²⁾ Biquart, Bl. [5] 7, 898 (1940). Cfr. Ramart-Lucas, Traité de Chimie Organique de Grignard 2, 131, Paris (1936).

³⁾ Naves, Papazian, Helv. 25, 1027 (1942).

⁴⁾ Mohler, Helv. 20, 291 (1937). Au sujet de l'interprétation de l'espacement des bandes partielles, voy. Smakula, Z. angew. Ch. 47, 660 (1934) et ég. V. Henri, Angenot, C. r. 201, 895 (1935); J. Chim. phys. 33, 641 (1936).

⁵⁾ Naves, Papazian, Helv. 25, 1030 (1942).

hexanique. La relation de *Woodward* entre λ max. (hexane) et λ max. (alcool) pour la bande K est vérifiée. Ainsi les diverses caractéristiques de l'absorption dans l'ultra-violet correspondent à la formule ène-1(6).

Le spectre *Raman* tel que nous l'avons mesuré est très proche des déterminations effectuées par *Dulou*¹⁾ et par *Taboury*²⁾.

324 (1,5); 402 (3); 433 (2); 477 (4); 511 (1); 563 (5); 629 (2); 644 (2); 682 (9); 702 (6); 808 (3); 893—903 (bd; 5); 1023 (1); 1057 (12); 1112 (3); 1158 (2); 1217 (1); 1257 (4); 1329 (1); 1370 (9); 1442 (bd \pm 5; 9); 1570 (1); 1642 (20); 1675 (21); 2847 (7); 2887 (7)³⁾.

Nous devons nous rallier à l'interprétation présentée par *Dulou*. La fréquence 1675 correspond à l'effet cétonique et la fréquence 1642 à la superposition des effets éthénoïdiques. Les déplacements d'effets dus à la conjugaison sont du même ordre pour les deux composants du système conjugué (environ 35 cm^{-1}) comme chez la méthyl-1-cyclohexénone, la pipéritone⁴⁾. L'examen du spectre *Raman* rend donc, lui aussi, très peu vraisemblable qu'une liaison éthénoïdique existe en 1(7), car nous devrions en rencontrer l'effet, modifié par la conjugaison, avec une fréquence de l'ordre de 1620—1625 cm^{-1} .

Les caractères réfractométriques⁵⁾ sont voisins de ceux des cétones du même groupe⁶⁾ mais l'exaltation due à la conjugaison est notablement plus basse. Le moment dipolaire⁷⁾ est également de l'ordre de celui des cétones précitées. Aucune de ces données ne permet de trancher entre les structures éthénoïdiques 1(6) et 1(7).

La réduction de l'hydrazone de la carvone tentée par *Kishner* a donné un mélange renfermant du limonène et du dipentène⁸⁾ mais dont les caractères physiques s'écartent de ceux de ces terpènes. Nous avons traité la semicarbazone de carvone et obtenu un mélange de limonène et de dipentène dans lequel est exclue la présence de p-menthadiène-1(7),8(9). Celui-ci posséderait des constantes (d, n_D) plus «élevées» que celles de ses isomères⁹⁾ et se distinguerait essentiellement par un effet *Raman* caractéristique dû à la liaison 1(7), de fréquence 1655—1660 cm^{-1} .

¹⁾ Bl. Inst. Pin, 1934, 214.

²⁾ C. r. 214, 766 (1942).

³⁾ Les intensités relatives sont figurées entre parenthèses, celle de l'effet éthénoïdique étant égalée à 20.

Nous retrouvons à 1570 cm^{-1} et 1257 cm^{-1} les deux composantes de l'oscillation 1500 cm^{-1} mentionnée par *Smakula* (Z. angew. Ch. 47, 660 (1934)).

⁴⁾ *Naves, Papazian*, Helv. 25, 1050, 1052 (1942).

⁵⁾ Cfr. *Eijkmann*, R. 14, 188 (1895); *Brühl*, B. 32, 1224 (1899); *Auwers, Eisenlohr*, J. pr. [2] 82, 136 (1910); *Shachet*, Bl. Soc. Chim. Belg. 44, 390 (1935).

⁶⁾ *Naves, Papazian*, Helv. 25, 1047 (1942).

⁷⁾ Cfr. *Hassel, Noeshagen*, Tidskr. Kemi Bergwes. 10, 81 (1930); C. 1930, II, 1956.

⁸⁾ *Kishner*, ж. 44, 1758 (1912); C. 1913, I, 706.

⁹⁾ *Williams*, ж. 61, 1580 (1929); C. 1930, I, 2086, p. d'éb. = 172—175°/770 mm.; $d_4^{20} = 0,8579—0,8598$; $n_D^{20} = 1,4769—1,4764$; nitrosochlorure p. de f. = 68°.

Le mélange de dipentène et de limonène a été identifié par ses caractères physiques (notamment par la dispersion rotatoire optique et par le spectre *Raman*) et par la préparation et l'isolement du β -nitroschlorure de *l*-limonène.

Partie expérimentale.

j, v, i représentent les radiations principales de l'arc au mercure.

d-Carvone. Elle a été isolée de l'essence de carvi par l'intermédiaire de sa semicarbazone, hydrolysée en présence d'acide phtalique:

p. d'éb. = 229–229,3^o/735 mm.; $d_4^{20} = 0,9603$; $n_D^{20} = 1,49507$; $n_D^{20} = 1,49904$; $n_F^{20} = 1,50866$; $n_{(j)}^{20} = 1,51692$; $(n_F - n_C) \times 10^4 = 135,9$; $\delta = 141,5$; $R_{M_D} = 45,90$; (th. = 45,256); $EM_D = 0,644$; $R_{M_F} - R_{M_C} = 1,055$; $E \Sigma \text{ disp.} = +16,7$; $[\alpha]_D^{20} = +62,20^{\circ}$; $[\alpha]_j^{20} = +64,33^{\circ}$; $[\alpha]_v^{20} = +73,24^{\circ}$; $[\alpha]_i^{20} = +129,56^{\circ}$; $\alpha_i/\alpha_v = 1,769$; $\alpha_i/\alpha_j = 2,014^1$.

$\gamma_{20} = 33,46$; $\gamma_{60} = 29,68$ dyn./cm. ($d_{60} = 0,9293$); d'où $P_{20} = 381,1$; $P_{60} = 382,1$ (théorie selon *Sugden* = 394,1)².

Spectres U.V.: Technique décrite précédemment³.

*Spectres Raman*⁴: Idem⁵.

Constante diélectrique: Idem⁶. (Méthode de résonance); calcul du moment dipolaire suivant *Böttcher*⁷. Nous avons trouvé $\epsilon_{150m}^{20} = 12,41$; $\mu = 3,10$ debyes⁸.

Réduction de la semicarbazone. Elle a été effectuée selon *Kishner-Wolff*⁹.

84 gr. de semicarbazone nous ont donné 27 gr. d'hydrocarbures (48,5% th.). Le produit rectifié sur sodium avait:

p. d'éb. = 174,6–175,4^o/730 mm.; $d_4^{20} = 0,8432$; $n_C^{20} = 1,46822$; $n_D^{20} = 1,47224$; $n_F^{20} = 1,48172$; $(n_F - n_C) \times 10^4 = 135,0$; $[\alpha]_D^{20} = -72,45^{\circ}$; $[\alpha]_j^{20} = -75,80^{\circ}$; $[\alpha]_v^{20} = -86,60^{\circ}$; $[\alpha]_i^{20} = -141,62^{\circ}$; $\alpha_i/\alpha_j = 1,868$; $\alpha_i/\alpha_v = 1,635^{10}$.

Spectre Raman: 432 (3); 485 (1); 525 (3); 546 (2); 638 (4); 675 (1); 708 (3); 762 (9); 790 (3); 810 (4); 892 (3); 916 (2); 954 (8); 1020 (5); 1086 (bd ± 5 ; 6); 1122 (3); 1153 (8); 145 (4); 1290–1310 (bd; 5); 1370 (10); 1442 (bd ± 5 ; 12); 1644 (20); 1678 (20); 2834 (7); 2912 (bd ± 5 ; 12); 2964 (6); 3042 (14).

Les nitroschlorures ont été préparés selon *Rupe*¹¹. Le β -nitroschlorure isolé selon *Wallach* et *Covrady*¹², recristallisé à l'aide de chloroforme et de méthanol, avait p. de f. = 105–105,5^o; $[\alpha]_D^{20} = -236,20^{\circ}$ (CHCl₃; c = 1,04).

¹) Cfr. *Salceanu*, C.r. **192**, 1218 (1931); *Doewvre*, Bl. [5] **1**, 198 (1934); *Shachet*, Bl. Soc. Chim. Belg. **44**, 390 (1935). La courbe de dispersion s'écarte de celle décrite par *Rupe* (A. **409**, 327 (1915)).

²) Cfr. *Manzoni-Ansidei* (G. Biol. Ind. Agrar. alim. **7**, 234 (1937); C. **1938**, I, 3188) trouve 382.

³) *Naves, Papazian*, Helv. **25**, 1035 (1942).

⁴) Cfr. *Bonino, Cella*, Mem. R. Accad. Ital. Sci. **3**, No. 4 (1932); *Manzoni-Ansidei*, Atti R. Accad. Ital. [7] **1**, 558 (1940).

⁵) *Naves, Perrotet*, Helv. **23**, 920 (1940).

⁶) *Naves, Bachmann*, Helv. **27**, 648 (1944).

⁷) Ibid. **26**, 2165 (1943).

⁸) *Mathews* (J. Phys. Chem. **9**, 641 (1905)) trouve: $\epsilon = 11,0$ (méthode de *Nernst*); *Hassel, Noeshagen* (loc. cit.) trouvent: $\mu = 3,17$.

⁹) Technique: *Naves*, Helv. **25**, 744 (1942); *N., Papazian*, ibid. 985.

¹⁰) Cfr. *Padmanabhan, Jalkar*, Am. Soc. **57**, 334 (1935).

¹¹) *Rupe*, Helv. **4**, 149 (1921).

¹²) A. **252**, 145 (1889).

RÉSUMÉ.

La carvone régénérée de sa semicarbazone est la *p*-menthadiène-1(6);8(9)-one-(2). La structure *p*-menthadiène-1(7);8(9)-one-(2) est exclue.

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

Laboratoires de Chimie technique, théorique et d'Electrochimie de l'Université, Genève.

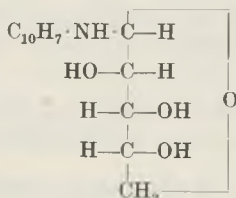
12. Über N-Glykoside des β -Naphtylamins

von *H. Lehr* und *H. Erlenmeyer*.

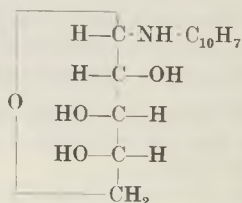
(14. XII. 45.)

In einer früheren, gemeinsam mit *H. Bloch* durchgeführten Untersuchung¹⁾ wurde über die hemmende Wirkung von einer Reihe von N-Glykosiden auf das Wachstum von Tuberkelbazillen berichtet. Im folgenden soll über die Darstellung der aus β -Naphtylamin erhaltenen Präparate berichtet werden, die im Zusammenhang mit dieser Untersuchung neu synthetisiert wurden. Die bei der Kondensation des Amins mit den Aldosen sich bildenden Produkte müssen als N-Glykoside formuliert werden, so dass die aus β -Naphtylamin mit den Zuckern *d*-Arabinose, *l*-Arabinose, *d*-Galaktose und *d*-Mannose erhaltenen Verbindungen die N-Glykoside (I—IV) darstellen.

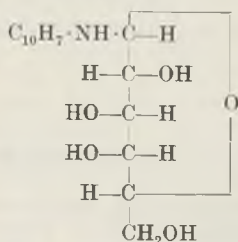
Weiterhin wurde von den aus solchen Glykosiden durch eine *Amadori*-Umlagerung zu erhaltenden Isomeren neu dargestellt das N- β -Naphtyl-*d*-isoglucosamin (V).



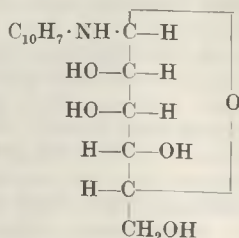
I β -Naphtylamin-*d*-arabinosid



II β -Naphtylamin-*l*-arabinosid



III β -Naphtylamin-*d*-galactosid



IV β -Naphtylamin-*d*-mannosid

¹⁾ *H. Lehr*, *Hubert Bloch* und *H. Erlenmeyer*, *Helv.* **28**, 1415 (1945).

β -Naphthylamin und *d*-Mannose.

1 g β -Naphthylamin und 1 g *d*-Mannose werden in 20 cm³ absolutem Alkohol unter Zusatz einer Spur Ammoniumchlorid auf dem Wasserbad erwärmt. Während des Erwärmens beginnt die Abscheidung von β -Naphthylamin-*d*-mannosid. Nach 20 Minuten lässt man erkalten und saugt das Rohprodukt ab. Die Verbindung krystallisiert aus verdünntem Alkohol in farblosen Nadeln vom Smp. 195—198°.

4,315 mg Subst. gaben 10,05 mg CO₂ und 2,49 mg H₂O

6,285 mg Subst. gaben 0,257 cm³ N₂ (17,5°, 738 mm)

C₁₆H₁₉O₅N Ber. C 62,92 H 6,27 N 4,59%

Gef. „ 63,02 „ 6,40 „ 4,66%

$[\alpha]_D^{19} = -224^\circ$ ($c = 1,585$ in Pyridin)

 β -Naphthylamin und *d*-Glucose.

8 g β -Naphthylamin und 10 g Glucose werden unter Zusatz von 3 cm³ Wasser auf freier Flamme vorsichtig erhitzt. Nach wenigen Minuten erhält man eine homogene Lösung, die beim Abkühlen sehr viskos wird. Man nimmt in 20 cm³ Alkohol auf und versetzt mit überschüssigem Äther. Nach 1—2 Tagen ist das Glucosid auskrystallisiert und kann aus Alkohol umkrystallisiert werden. Die farblosen Nadeln zeigen einen Smp. von 117°. Die Verbindung ist identisch mit dem in der Literatur bereits beschriebenen β -Naphthylamin-*d*-glucosid, das auf andere Weise dargestellt worden ist¹⁾.

Werden 2,5 g Glucose, 2 g β -Naphthylamin und 1 cm³ Wasser unter Zusatz von 0,125 cm³ 2-n. Essigsäure auf freier Flamme erhitzt, so erhält man unter Aufschäumen nach 1—2 Minuten eine homogene Lösung. Man erhitzt noch 15—20 Minuten im siedenden Wasserbad, fügt nach dem Erkalten 10 cm³ Alkohol hinzu und lässt krystallisieren. Nach mehreren Tagen werden die ausgeschiedenen Krystalle abgesaugt und aus Alkohol umkrystallisiert. Man erhält so das N- β -Naphthyl-*d*-isoglucosamin in weissen, verfilzten Nadeln vom Smp. 148—150°.

5,053 mg Subst. gaben 11,68 mg CO₂ und 2,90 mg H₂O

5,580 mg Subst. gaben 0,231 cm³ N₂ (22°, 735 mm)

C₁₆H₁₉O₅N Ber. C 62,93 H 6,27 N 4,59%

Gef. „ 63,08 „ 6,42 „ 4,63%

$[\alpha]_D^{20} = -21^\circ$ ($c = 3,33$ in Pyridin)

N- β -Naphthyl-*d*-isoglucosamin ist in kaltem Wasser schwer löslich. Versetzt man jedoch die wässrige Aufschlämmung der Substanz mit einem Tropfen verdünnter Salzsäure, so erhält man sofort eine klare Lösung, da Salzbildung eintritt. Die Verbindung ist bedeutend beständiger als β -Naphthylamin-*d*-glucosid und wird durch verdünnte Säuren nur sehr langsam hydrolysiert.

Die optischen Messungen verdanken wir Herrn *F. Christen*.

Die Analysen wurden z. T. in unserm Laboratorium durch *Frl. E. Beck* ausgeführt, z. T. verdanken wir sie dem analytischen Laboratorium der *Ciba A.G.* (*Dr. H. Gysel*).

Anstalt für Anorganische Chemie, Universität Basel.

¹⁾ *J. C. Irvine* und *R. Gilmour*, *Soc.* **95**, 1545 (1909).

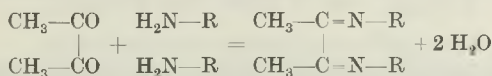
13. Über Kondensationen des Diacetyls mit aromatischen Aminen

von H. Erlenmeyer und H. Lehr.

(14. XII. 45.)

In einer früheren, gemeinsam mit *H. Bloch* durchgeführten Untersuchung¹⁾ wurde eine Reihe von Kondensationsprodukten aus aliphatischen und aromatischen Diketonen mit aromatischen Aminen auf ihre wachstumshemmenden Eigenschaften gegenüber Tuberkelbazillen geprüft. In der vorliegenden Arbeit berichten wir über die Darstellung der verwendeten Reaktionsprodukte, die aus Diacetyl und verschiedenen substituierten Anilinen sowie mit α - und β -Naphthylamin erhalten wurden.

Die Kondensationen wurden durch Zusammenbringen der Komponenten für sich allein oder in Gegenwart von Alkohol als Kondensationsmittel durchgeführt²⁾. Unter diesen Bedingungen reagiert 1 Mol Diacetyl mit 2 Mol Amin nach der Gleichung:



Diacetyl und p-Toluidin.

1 Mol Diacetyl und 2 Mol p-Toluidin werden in alkoholischer Lösung 2 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Nach dem Erkalten scheidet die tiefdunkle Lösung allmählich das Diacetyl-di-p-tolil als gelbe Krystallmasse aus. Zur Reinigung wird aus Alkohol oder Ligroin umkrystallisiert. Die langen, gelben Nadeln zeigen einen Smp. von 112°.

4,663 mg Subst. gaben 0,439 cm³ N₂ (14,5°, 738,5 mm)

C₁₈H₂₀N₂ Ber. N 10,60 Gef. N 10,85%

Diacetyl und o-Toluidin.

1 Mol Diacetyl und 2 Mol o-Toluidin werden vermischt. Schon nach kurzer Zeit trübt sich die Mischung. Nach 24 Stunden wird in 2-n. Essigsäure eingegossen, wobei das flüssige Reaktionsprodukt allmählich erstarrt. Man trocknet durch Abpressen auf Ton und erhält sodann aus Alkohol das Diacetyl-di-o-tolil in hellgelben Blättchen vom Smp. 76—77°.

3,461 mg Subst. gaben 0,315 cm³ N₂ (14,5°, 736 mm)

C₁₈H₂₀N₂ Ber. N 10,60 Gef. N 10,47%

Diacetyl und m-Toluidin.

Das Diacetyl-di-m-tolil wird in gleicher Weise dargestellt, wie die entsprechende Verbindung aus Diacetyl und o-Toluidin. Nach dem Eingiessen in 2-n. Essigsäure erstarrt das flüssige Reaktionsprodukt sehr langsam. Nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol zeigt die Verbindung einen Smp. von 68—69°.

5,435 mg Subst. gaben 0,495 cm³ N₂ (14,5°, 740 mm)

C₁₈H₂₀N₂ Ber. N 10,60 Gef. N 10,53%

¹⁾ *H. Erlenmeyer, H. Lehr und Hubert Bloch*, *Helv.* **28**, 1413 (1945).

²⁾ Über entsprechende Verbindungen mit Anilin bzw. mit p-Anisidin und p-Phenetidin siehe: *H. v. Pechmann*, *B.* **21**, 1412 (1888); *D. Vorländer, W. Zeh und H. Enderlein*, *B.* **60**, 849 (1927).

Diacetyl und p-Chloranilin.

Nach 2-stündigem Erwärmen von 1 Mol Diacetyl und 2 Mol p-Chloranilin in Alkohol erhält man nach 12 Stunden nadelförmige Krystalle. Diacetyl-di-p-chloranil krystallisiert aus Ligroin in gelben Spiessen vom Smp. 175°.

4,702 mg Subst. gaben 0,388 cm³ N₂ (14,5°, 739 mm)

C₁₆H₁₄N₂Cl₂ Ber. N 9,34 Gef. N 9,54%

Diacetyl und p-Bromanilin.

1 Mol Diacetyl und 2 Mol p-Bromanilin werden in Alkohol 1½—2 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Nach dem Erkalten setzt langsam Krystallisation ein. Nach 24 Stunden wird abgesaugt und aus Alkohol oder Ligroin umkrystallisiert. Diacetyl-di-p-bromanil krystallisiert in grossen, gelben Schuppen und zeigt einen Smp. von 182—183°.

4,062 mg Subst. gaben 0,262 cm³ N₂ (23°, 744 mm)

C₁₆H₁₄N₂Br₂ Ber. N 7,11 Gef. N 7,28%

Diacetyl und p-Dimethylamino-anilin.

1 Mol Diacetyl und 2 Mol p-Dimethylamino-anilin werden vereinigt, wobei sich ein braunrotes Kondensationsprodukt ausscheidet. Man versetzt mit wenig Alkohol und erwärmt unter Umschütteln 10 Minuten auf dem Wasserbad. Nach dem Erkalten wird abgesaugt und mehrmals aus Ligroin umkrystallisiert. Diacetyl-di-p-dimethylamino-anil wird in Form von braunen Nadeln erhalten, die einen Smp. von 173° zeigen.

2,576 mg Subst. gaben 0,388 cm³ N₂ (19,5°, 745 mm)

C₂₀H₂₆N₄ Ber. N 17,38 Gef. N 17,23%

Diacetyl und p-Amino-diphenylamin.

1 Mol Diacetyl werden mit 2 Mol p-Amino-diphenylamin in alkoholischer Lösung ½ Stunde auf dem Wasserbad erwärmt. Nach dem Erkalten scheidet sich das Diacetyl-di-p-phenylamino-anil aus. Man erhält die Verbindung aus Amylalkohol in gelben Blättchen vom Smp. 220°.

2,566 mg Subst. gaben 0,307 cm³ N₂ (17°, 737 mm)

C₂₈H₂₈N₄ Ber. N 13,40 Gef. N 13,66%

Diacetyl und Xylidin-1,2,4.

1 Mol Diacetyl und 2 Mol Xylidin-1,2,4 werden in wenig Alkohol 4 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Das nach dem Erkalten ausgefallene Diacetyl-di-3,4-dimethylanil krystallisiert aus Ligroin in hellbraunen, kleinen Platten vom Smp. 155—156°.

4,231 mg Subst. gaben 0,358 cm³ N₂ (14°, 738 mm)

C₂₀H₂₄N₂ Ber. N 9,58 Gef. N 9,77%

Diacetyl und Xylidin-1,3,4.

Werden 1 Mol Diacetyl und 2 Mol Xylidin-1,3,4 vermischt und 12 Stunden bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen, so erhält man eine gelbe Krystallmasse. Aus Alkohol umkrystallisiert bildet Diacetyl-di-2,4-dimethylanil gelbe Prismen vom Smp. 131—132°.

4,583 mg Subst. gaben 0,382 cm³ N₂ (13,5°, 738 mm)

C₂₀H₂₄N₂ Ber. N 9,58 Gef. N 9,64%

Diacetyl und Xylidin-1,4,5.

1 Mol Diacetyl und 2 Mol Xylidin-1,4,5 werden in Alkohol 2 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Nach 2—3 Tagen werden die abgeschiedenen Krystalle abgesaugt und aus Alkohol umkrystallisiert. Diacetyl-di-2,5-dimethylanil krystallisiert in gelben Prismen vom Smp. 126—127°.

3,316 mg Subst. gaben 0,284 cm³ N₂ (22°, 741 mm)

C₂₀H₂₄N₂ Ber. N 9,58 Gef. N 9,66%

Diacetyl und α -Naphthylamin.

1 Mol Diacetyl und 2 Mol α -Naphthylamin werden mit wenig Alkohol 3 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Nach 12 Stunden wird das Kondensationsprodukt abgesaugt. Diacetyl-di- α -naphthil krystallisiert aus Alkohol in hellgelben, glänzenden Blättchen vom Smp. 154—155°.

5,557 mg Subst. gaben 0,406 cm³ N₂ (19°, 745 mm)

C₂₄H₂₀N₂ Ber. N 8,33 Gef. N 8,37%

Diacetyl und β -Naphthylamin.

Beim Erwärmen von 1 Mol Diacetyl mit 2 Mol β -Naphthylamin in alkoholischer Lösung scheidet sich das Diacetyl-di- β -naphthil in der Hitze aus. Nach dem Erkalten wird abgesaugt und aus Benzol umkrystallisiert. Gelbe Platten vom Smp. 225—226°.

3,869 mg Subst. gaben 0,289 cm³ N₂ (21°, 739 mm)

C₂₄H₂₀N₂ Ber. N 8,33 Gef. N 8,43%

Die Analysen wurden in unserem Laboratorium durch Frl. E. Beck ausgeführt.

Wir möchten auch an dieser Stelle den Kuratorien der *Ciba*-Stiftung und der *J. Brodbeck-Sandreuter*-Stiftung für die Unterstützung der Untersuchungen unsern verbindlichsten Dank sagen.

Universität Basel, Anstalt für Anorganische Chemie.

14. Bedeutung beschränkt freier Drehbarkeit für die Viskosität und Strömungsdoppelbrechung von Fadenmolekellösungen II

von Werner Kuhn und Hans Kuhn.

(14. XII. 45.)

In Teil I der vorliegenden Arbeit¹⁾ haben wir festgestellt, dass es Fadenmolekel geben kann, die, auch wenn sie gelöst sind, ihre Gestalt nicht beliebig rasch ändern und die daher einer Gestaltänderung z. B. in strömenden Lösungen einen besondern Widerstand, eine innere Viskosität entgegensetzen. Die innere Viskosität hängt mit einer beschränkt freien Drehbarkeit zwischen den die Fadenmolekel aufbauenden Kettengliedern zusammen.

In Teil I haben wir den Einfluss der inneren Viskosität von Fadenmolekeln auf die in strömender Lösung erfolgende Orientierung und teilweise Entknäuelung von Fadenmolekeln festgestellt (Bestimmung der Verteilungsfunktion der Fadenendpunkte relativ zum Fadenmittelpunkt hinsichtlich Betrag des Abstandes und Orientierung in der Lösung; Gleichungen 3,50 und 3,51). Wir haben festgestellt, dass diese Verteilungsfunktion bei mittlerem und grossem Strömungsgefälle von der innern Viskosität der Fäden abhängt. Als Folge hiervon fanden wir, dass die Zähigkeit einer Suspension bei mittlerem und grossem Strömungsgefälle ebenfalls von der innern Viskosität der Fäden abhängt (Auftreten einer Abhängigkeit der Zähigkeit

¹⁾ W. Kuhn und H. Kuhn, Helv. 28, 1533 (1945).

vom Strömungsgefälle bei grosser innerer Viskosität der Fadenmolekel). Qualitativ stellten wir fest, dass auch die Strömungsdoppelbrechung von der Verteilungsfunktion und damit von der innern Viskosität oder Halbstarrheit der Fadenmolekel abhängen muss. Im vorliegenden Teil II werden wir uns quantitativ mit dem Einfluss der Halbstarrheit der Fadenmolekel auf Betrag und Orientierung der Strömungsdoppelbrechung befassen. Ebenso werden wir auf die Beziehungen eingehen, welche sich durch Kombination von Angaben über die Viskosität einerseits, die Doppelbrechung andererseits gewinnen lassen. Dabei werden wir alle Bezeichnungen von Teil I beibehalten und die Abschnitte, Formeln und Abbildungen fortlaufend numerieren.

V. Optische Eigenschaften von strömenden Fadenmolekellösungen.

1. Optische Anisotropie einer einzelnen Fadenmolekel.

Genau wie in Teil I dieser Arbeit nehmen wir an, dass jede einzelne Fadenmolekel in der Lösung aus N statistischen Fadenelementen der Länge A besteht. Wir nehmen weiter an, dass die optische Polarisierbarkeit jedes einzelnen statistischen Fadenelementes durch ein Rotationsellipsoid beschrieben werden kann mit den Achsen α_1 parallel und α_2 senkrecht zum Vektor A .

Es lässt sich dann, wie in einer Arbeit von *W. Kuhn* und *F. Grün* (l. c. V) gezeigt werden konnte, die optische Polarisierbarkeit des Gesamtfadens ebenfalls durch ein Rotationsellipsoid beschreiben, wobei die Rotationsachse mit der Richtung des Vektors h (Vektor vom Anfangspunkt zum Endpunkt des Fadens) übereinstimmt. Bezeichnen wir mit γ_1 und γ_2 die Polarisierbarkeiten des Gesamtfadens parallel und senkrecht zum Vektor h , so ist nach l. c. V:

$$\gamma_1 - \gamma_2 = (\alpha_1 - \alpha_2) \frac{3}{5} \frac{h^2}{NA^2} \quad (5,1)$$

Die Anisotropie der Polarisierbarkeit des Gesamtfadens ($\gamma_1 - \gamma_2$) ist also proportional der Anisotropie $\alpha_1 - \alpha_2$ des einzelnen statistischen Fadenelementes und im übrigen proportional dem Quadrat des Abstandes h zwischen Fadenanfangs- und -endpunkt. (5,1) gilt für bescheidene Werte von h . Betreffend genauere Ausdrücke für grössere Werte von h siehe l. c. V, insbesondere dortige Gleichung (50a).

Auf Grund der Beziehung (5,1) (gegebenenfalls auch deren höheren Näherungen) einerseits und der Verteilungsfunktion (3,50) oder (3,51) andererseits ist es leicht, Betrag und Orientierung der Strömungsdoppelbrechung anzugeben. Durch die Verteilungsfunktion ist ja die Häufigkeit gegeben, mit der die verschiedenen Orientierungen und die Beträge der Vektoren h vertreten sind und durch (5,1) der Beitrag der betreffenden Fadenmolekel zur optischen Polarisierbarkeit des Mediums. Es ist dann nicht schwer, die optische Anisotropie der gesamten Lösung und, indem man von den Polarisierbar-

keiten zu den Brechungsindizes übergeht, die Doppelbrechung anzugeben (siehe l. c. V, Gleichungen 61, 62, 69 und 70).

2. Betrag der Strömungsdoppelbrechung einer Lösung von Fadenmolekeln.

a) Betrag der Strömungsdoppelbrechung einer Lösung von Fadenmolekeln beliebiger innerer Viskosität bei kleinem Strömungsgefälle.

Aus der für Teilchen beliebiger innerer Viskosität bei kleinem Strömungsgefälle gültigen Verteilungsfunktion (3,44a) und Gleichung (5,1) ergibt sich als Unterschied der beiden Hauptbrechungsindizes:

$$n_1 - n_2 = \frac{(n_0^2 + 2)^2}{6 n_0} \cdot \frac{4\pi}{3} \cdot \frac{2}{5} G \alpha' \overline{h_0^2} (\alpha_1 - \alpha_2) \quad (5,2)$$

(kleines Strömungsgefälle, beliebige innere Viskosität)

n_0 bedeutet darin den Brechungsindex des Lösungsmittels, G , wie schon erwähnt, die Anzahl von Fäden pro cm^3 Lösung, $\overline{h_0^2} = 2/3 N A^2$ das mittlere Abstandsquadrat zwischen Fadenanfangspunkt und Fadenendpunkt in ruhender Lösung und α' ist nach (3,40b) gleich

$$\frac{\lambda L}{32} \frac{\eta_0 q}{kT}$$

also eine dem Strömungsgefälle q proportionale Grösse.

Ganz ähnlich wie im Anschluss an die für die Viskosität von Fadenmolekellösungen gültige Gleichung (4,15) stellen wir fest, dass die bei kleinem Strömungsgefälle beobachtete Strömungsdoppelbrechung einer Lösung von Fadenmolekeln mit gegebener hydrodynamischer Länge L , gegebenen mittleren Abstandsquadrat $\overline{h_0^2}$ und gegebener Anisotropie der Polarisierbarkeit eines statistischen Fadenelementes $\alpha_1 - \alpha_2$ unabhängig von der inneren Viskosität der gelösten Fäden ist.

Unter Verwendung der Beziehung (4,16) folgt aus (5,2), dass auch die l. c. I eingeführte Strömungsdoppelbrechungszahl

$$v = \left(\frac{n_1 - n_2}{\eta_0 q c} \right) \lim_{\eta_0 q \rightarrow 0} = \frac{(n_0^2 + 2)^2}{6 n_0} \cdot \frac{4\pi}{3} \cdot \frac{2}{5} \frac{N_L}{Z \cdot 10^3} \frac{\lambda L}{32} \frac{\overline{h_0^2}}{kT} (\alpha_1 - \alpha_2) \quad (5,3)$$

ähnlich wie die Viskositätszahl (Gl. (4,17)) unabhängig davon ist, ob die gelösten Fäden kleine oder grosse innere Viskosität besitzen. Die l. c. I gezogenen Schlussfolgerungen über die Abhängigkeit der Strömungsdoppelbrechungszahl polymerhomologer Fadenmolekel fehlender innerer Viskosität vom Polymerisationsgrad können daher unverändert auf den allgemeinen Fall beliebiger innerer Viskosität übertragen werden.

b) Betrag der Strömungsdoppelbrechung bei beliebigem Strömungsgefälle in einer Lösung von Fadenmolekeln fehlender innerer Viskosität.

Als Unterschied $n_1 - n_2$ der beiden Hauptbrechungsindizes einer strömenden Lösung von Fadenmolekeln fehlender innerer Viskosität

finden wir unter Verwendung der Beziehungen (3,50) und (5,1) den für beliebiges Strömungsgefälle gültigen Ausdruck¹⁾:

$$n_1 - n_2 = \frac{(n_0^2 + 2)^2}{6 n_0} \frac{4 \pi}{3} \frac{2}{5} G \alpha' \bar{h}_0^2 \sqrt{1 + (\alpha' \bar{h}_0^2)^2} (\alpha_1 - \alpha_2) \quad (5,4)$$

(beliebiges Strömungsgefälle, kleine innere Viskosität)

Aus (5,4) ist zu erkennen, dass die Strömungsdoppelbrechung zuerst linear, dann stärker als linear mit der dem Strömungsgefälle proportionalen Grösse $\alpha' \bar{h}_0^2$ ansteigt. Anschaulich ist dieser Zusammenhang aus Fig. 9 zu entnehmen (Kurve 1). Als Abszisse ist $\alpha' \bar{h}_0^2$ aufgetragen, als Ordinate der zugehörige Wert von

$$\frac{n_1 - n_2}{\alpha_1 - \alpha_2} \frac{6 n_0}{(n_0^2 + 2)^2} \frac{15}{8 \pi} \frac{1}{G}$$

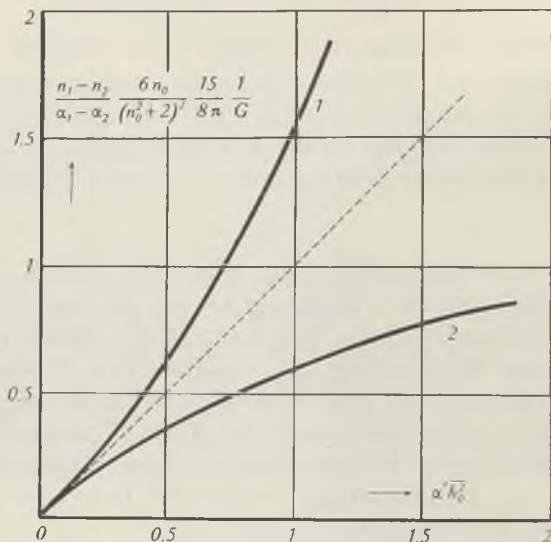


Fig. 9.

Abhängigkeit des Betrages der Strömungsdoppelbrechung ($n_1 - n_2$) von $\alpha' \bar{h}_0^2$. (Es ist $\alpha' \bar{h}_0^2$ proportional dem Strömungsgefälle q , indem nach (3,40b) gilt:

$$\alpha' \bar{h}_0^2 = \frac{\lambda L \eta_0}{32 k T} \bar{h}_0 q).$$

Kurve 1: Fadenmolekel fehlender innerer Viskosität.

Kurve 2: Fadenmolekel mit grosser innerer Viskosität.

c) Betrag der Strömungsdoppelbrechung bei beliebigem Strömungsgefälle von einer Lösung von Fadenmolekeln mit grosser innerer Viskosität.

Für den Fall einer Lösung von Fadenmolekeln mit grosser innerer Viskosität ergibt sich in ganz analoger Weise aus (3,51) und (5,1)

¹⁾ Gleichung (5,4) unterscheidet sich von der l.c. I unter etwas anderen Annahmen erhaltenen Gleichung (24; l.c. I) durch das Auftreten der Grösse α' an Stelle der Grösse α . Über die Bedeutung dieses Unterschiedes vgl. die im Anschluss an Gleichung (3,50) gemachte Bemerkung.

$$n_1 - n_2 = \frac{(n_0^2 + 2)^2}{6 n_0} \cdot \frac{4\pi}{3} \cdot \frac{2}{5} G (\alpha' h_0^2) \sqrt{R_1^2 + R_2^2} (\alpha_1 - \alpha_2) \quad (5,5)$$

(beliebiges Strömungsgefälle, grosse innere Viskosität)

wobei:

$$\frac{\int_0^\infty e^{-x} \left(2 + \sqrt{3} + \frac{3}{8} (\alpha' h_0^2)^2 x^2\right)^{\frac{\sqrt{3}+1}{3}} \left(2 - \sqrt{3} + \frac{3}{8} (\alpha' h_0^2)^2 x^2\right)^{\frac{\sqrt{3}-1}{3}} \frac{(1 + \frac{3}{16} (\alpha' h_0^2)^2 x^2) x^3}{(1 + \frac{3}{8} (\alpha' h_0^2)^2 x^2) (1 + (\alpha' h_0^2)^2 x^2)} dx}{\frac{1}{2}} = \frac{\int_0^\infty e^{-x} \left(2 + \sqrt{3} + \frac{3}{8} (\alpha' h_0^2)^2 x^2\right)^{\frac{\sqrt{3}+1}{3}} \left(2 - \sqrt{3} + \frac{3}{8} (\alpha' h_0^2)^2 x^2\right)^{\frac{\sqrt{3}-1}{3}} dx}{\frac{1}{2}} \quad (5,5a)$$

und:

$$\frac{\int_0^\infty e^{-x} \left(2 + \sqrt{3} + \frac{3}{8} (\alpha' h_0^2)^2 x^2\right)^{\frac{\sqrt{3}+1}{3}} \left(2 - \sqrt{3} + \frac{3}{8} (\alpha' h_0^2)^2 x^2\right)^{\frac{\sqrt{3}-1}{3}} \frac{x^2}{1 + \frac{1}{8} (\alpha' h_0^2)^2 x^2} dx}{\frac{1}{2}} = \frac{\int_0^\infty e^{-x} \left(2 + \sqrt{3} + \frac{3}{8} (\alpha' h_0^2)^2 x^2\right)^{\frac{\sqrt{3}+1}{3}} \left(2 - \sqrt{3} + \frac{3}{8} (\alpha' h_0^2)^2 x^2\right)^{\frac{\sqrt{3}-1}{3}} dx}{\frac{1}{2}} \quad (5,5b)$$

Die in (5,5a) und (5,5b) auftretenden Integrale können auf graphischem Wege gelöst werden. Es ergibt sich dann die durch den Linienzug 2 Fig. 9 wiedergegebene Abhängigkeit der Grösse

$$\frac{n_1 - n_2}{\alpha_1 - \alpha_2} \cdot \frac{6 n_0}{(n_0^2 + 2)^2} \frac{15}{8\pi} \frac{1}{G}$$

von $\alpha' h_0^2$. Bei kleinen Werten von $\alpha' h_0^2$ geht die Kurve 2 in die das Verhalten von Fadenmolekeln fehlender innerer Viskosität darstellende Kurve 1 über; das entspricht der oben erwähnten Feststellung, wonach der Betrag der Strömungsdoppelbrechung bei kleinem Strömungsgefälle von der Grösse der inneren Viskosität unabhängig ist. Bei grösseren Werten von $\alpha' h_0^2$ wächst dagegen die Doppelbrechung verdünnter Lösungen von Fadenmolekeln mit grosser innerer Viskosität (Kurve 2) im Gegensatz zu derjenigen von Lösungen von Fadenmolekeln kleiner innerer Viskosität (Kurve 1) schwächer als proportional mit dem Strömungsgefälle an. Ähnlich wie aus dem Vorhandensein oder Fehlen einer Strukturviskosität darüber entschieden werden kann, ob eine gegebene Lösung von Fadenmolekeln aus Fäden besteht, die dem Grenzfall kleiner oder grosser innerer Viskosität näher stehen, so kann auch aus dem Verlauf der Strömungsdoppelbrechung eine Unterscheidung dieser beiden Grenzfälle getroffen werden.

Um den Vergleich mit der Erfahrung bequem durchführen zu können, ist es von Nutzen, die in Fig. 9 dargestellten Kurven durch je einen charakteristischen Parameter zu kennzeichnen.

Zur Charakterisierung des Verhaltens von Fadenmolekeln fehlender innerer Viskosität wählen wir als solchen Parameter den Wert von $\alpha' \overline{h}_0^2$ (Abszisse in Fig. 9), bei dem die Doppelbrechung gerade zweimal so gross ist als sie wäre, wenn ihr anfänglich proportionaler Anstieg auch bei grösseren Werten von $\alpha' \overline{h}_0^2$ beibehalten würde. Aus Fig. 9 oder durch Einsetzen in Gleichung (5,4) findet man dafür den Zahlenwert $\alpha' \overline{h}_0^2 = 1,73$.

In ähnlicher Weise können wir das Verhalten von Fadenmolekeln mit grosser innerer Viskosität durch Angabe des Betrages von $\alpha' \overline{h}_0^2$ charakterisieren, bei dem die Doppelbrechung halb so gross ist als sie wäre, wenn der anfänglich proportionale Anstieg bei grösseren Werten des Strömungsgefälles beibehalten würde. Aus Fig. 9 erkennt man, dass diese Bedingung bei $\alpha' \overline{h}_0^2 = 1,55$ erfüllt ist.

d) Vergleich mit den Beobachtungen.

Die an Lösungen völlig durchspülter Fadenmolekel durchgeführten Messungen der Strömungsdoppelbrechung bewegen sich alle im Bereiche von so kleinen Werten der Grösse $\alpha' \overline{h}_0^2$, dass ein Abweichen der Doppelbrechung vom proportionalen Anstieg mit wachsendem Gefälle nicht zu erwarten ist und, wie die Messungen zeigen, auch nicht beobachtet wurde.

Wie bei der Untersuchung der Strukturviskosität stellen wir daher fest, dass Aussagen über die Grösse der inneren Viskosität wieder nur auf Grund von Messungen an Lösungen teilweise durchspülter Fadenmolekel gemacht werden können.

α) Polystyrol in Cyclohexanon.

Das von *Signer* und *Gross*¹⁾ untersuchte Polystyrol vom Polymerisationsgrad 4400²⁾ und einer Viskositätszahl $\eta_{sp}/c = 34$ weist den für Fadenmolekel fehlender innerer Viskositätszahl zu erwartenden überproportionalen Anstieg der Strömungsdoppelbrechung bei grossen Werten des Strömungsgefälles auf (qualitativ wie Kurve 1, Fig. 9). An einer Lösung des erwähnten Präparates in der Konzentration $c = 0,025$ Grundmol pro Liter in Cyclohexanon wurde bei einem Strömungsgefälle $q = 9 \times 10^3 \text{ sec}^{-1}$ eine Doppelbrechung beobachtet, die gerade 2mal so gross war wie die Doppelbrechung, die man zu erwarten hätte, wenn der anfänglich proportionale Anstieg auch bei grösseren Werten des Strömungsgefälles erhalten bliebe. Wir berechnen nun den zugehörigen Wert von $\alpha' \overline{h}_0^2$ und vergleichen ihn mit dem theoretisch unter der Annahme von Fadenmolekeln fehlender innerer Viskosität zu erwartenden im letzten Abschnitt mitgeteilten Zahlenwert (1,73). Setzen wir $\eta_0 = 0,042^3)$ und die angegebenen

¹⁾ *R. Signer* und *H. Gross*, Z. physikal. Ch. [A] **165**, 161 (1933).

²⁾ Nach ultrazentrifugalen Messungen von *R. Signer* und *H. Gross*, Helv. **17**, 59 (1934).

³⁾ Für η_0 ist die Viskosität der Lösung (nicht des Lösungsmittels) zu setzen. Vgl. l. c. I, Anm. 2, S. 1426.

Werte ($Z = 4400$, $\eta_{sp}/c = 34$, $q = 9 \times 10^3$, $R = 8,13 \times 10^7$ und $T = 300^\circ$) in (4,26) ein, so erhalten wir für $\alpha' \overline{h_0^2} = 2,2$. Daraus dürfen wir schliessen, dass die betrachteten Polystyrolmolekel zwar keine fehlende, aber doch eine nur kleine innere Viskosität besitzen. Wir werden später sehen, dass dieselbe Schlussfolgerung auch auf Grund von andern Beobachtungen am gleichen Stoff gezogen werden kann.

β) Nitrocellulose in Butylacetat.

Ein hiervon ganz abweichendes Verhalten weist eine ebenfalls von *Signer* und *Gross* (l.c.) untersuchte Nitrocellulose vom Polymerisationsgrad 3200¹⁾ und einer Viskositätszahl $\eta_{sp}/c = 380$ in Butylacetat auf. Ihre 0,002-grundmolare Lösung ($\eta_0 = 1,29 \times 10^{-2}$) zeigt bei hohen Werten des Strömungsgefälles einen schwächer als proportional mit dem Gefälle ansteigenden Betrag der Strömungsdoppelbrechung (qualitativ wie Kurve 2, Fig. 9). Bei einem Strömungsgefälle $q = 38000$ (was nach Gleichung (4,26) einem Wert der Grösse $\alpha' \overline{h_0^2} = 23$ entspricht) ist die Strömungsdoppelbrechung halb so gross als sie wäre, wenn der anfänglich proportionale Anstieg bei grösseren Werten des Gefälles erhalten bliebe. Da für Fadenmolekel mit grosser innerer Viskosität nach dem oben Gesagten schon bei $\alpha' \overline{h_0^2} = 1,55$ eine gleichstarke Abweichung des Betrages der Strömungsdoppelbrechung vom proportionalen Anstieg eintreten müsste, schliessen wir, dass die untersuchten Molekel eine innere Viskosität mittlerer Grösse besitzen. Dies steht in Übereinstimmung mit den nach Teil I aus der Strukturviskosität zu ziehenden Folgerungen: Nach Gleichung (4,28) oder Fig. 8 haben wir tatsächlich einer Nitrocellulose vom Polymerisationsgrade $Z = 3200$, wenn dieselbe sich in einem Lösungsmittel mit $\eta_0 = 1,29 \times 10^{-2}$ befindet, einen Wert

$$\log \left(\frac{D_{\text{tang}}}{D_{\text{rad}}} - 1 \right) = -0,5 \quad \text{also} \quad \frac{D_{\text{tang}}}{D_{\text{rad}}} = 1,3$$

zuzuordnen.

γ) Nitrocellulose in Cyclohexanon.

Im Vergleich hiezu ist das Verhalten einer von *Wissler*²⁾ untersuchten in Cyclohexanon gelösten Nitrocellulose vom Polymerisationsgrad 3500 und der Viskositätszahl 400 von Interesse. Cyclohexanon besitzt eine etwa 3mal grössere Viskosität als Butylacetat; dagegen ist der Polymerisationsgrad der von *Wissler* untersuchten Nitrocellulose vom Polymerisationsgrad des von *Signer* und *Gross* untersuchten Produktes (vorstehend Abschnitt β) nur wenig ver-

¹⁾ Nach Messungen von *H. Mosimann* (l.c.) in der Ultrazentrifuge.

²⁾ *A. Wissler*, Diss. Bern 1941.

schieden. Nach Gleichung (4,28) oder Fig. 8 erwarten wir nun, dass die im viskoserem Lösungsmittel (Cyclohexanon) gelöste Nitrocellulose ein Verhalten zeigt, welches dem Verhalten von Fadenmolekeln fehlender innerer Viskosität näher steht als das Verhalten der in Butylacetat gelösten Substanz. In der Tat hat nun *Wissler* einen linearen Anstieg des Betrages der Strömungsdoppelbrechung bis zu $\eta_0 q = 500$ (was nach (4,26) einem Wert $\alpha' h_0^2 = 38$ entspricht) beobachtet; der für beträchtliche innere Viskosität charakteristische in Butylacetat beobachtete unterproportionale Verlauf tritt also überhaupt nicht mehr in Erscheinung.

3. Orientierung der Strömungsdoppelbrechung einer Lösung von Fadenmolekeln.

a) Orientierung der Strömungsdoppelbrechung einer Lösung von Fadenmolekeln beliebiger innerer Viskosität bei kleinem Strömungsgefälle.

Aus (3,44a) und (5,1) folgt als Winkel ϑ_0 zwischen der Strömungsrichtung und der Richtung maximaler (bzw. minimaler) Brechung (Richtung von n_1), den wir in einer Lösung von Fadenmolekeln beliebiger innerer Viskosität bei kleinem Strömungsgefälle antreffen:

$$\vartheta_0 = \frac{\pi}{4} \quad (5,6)$$

Bei kleinem Strömungsgefälle ist also die Richtung maximaler (bzw. minimaler) Brechung bei beliebiger innerer Viskosität um 45° zur Strömungsrichtung geneigt.

b) Orientierung der Strömungsdoppelbrechung einer Lösung von Fadenmolekeln fehlender innerer Viskosität.

Für Fadenmolekel fehlender innerer Viskosität ist die Richtung maximaler (bzw. minimaler) Brechung bei beliebigem Strömungsgefälle gegeben durch:

$$\cotg 2 \vartheta_0 = \alpha' \overline{h_0^2} \quad (5,7)$$

(beliebiges Strömungsgefälle, kleine innere Viskosität)

wobei α' nach (3,40b) gleich

$$\frac{\lambda L}{32} \frac{\eta_0 q}{kT}$$

also dem Strömungsgefälle q proportional ist. Bei kleinem Strömungsgefälle q geht (5,7) in (5,6) über.

Wie l.c. I wollen wir für die weitere Diskussion die Orientierung der Doppelbrechung anstatt durch den Winkel ϑ_0 durch

$$\omega = \frac{\pi}{4} - \vartheta_0 \quad (5,8)$$

messen, also durch den Winkel zwischen der Doppelbrechung bei gesteigertem Strömungsgefälle und der Richtung der Doppelbrechung in der Grenze von verschwindendem Gefälle.

Es folgt dann aus (5,7)

$$\operatorname{tg} 2 \omega = \operatorname{cotg} 2 \vartheta_0 = \alpha' \overline{h_0^2} \tag{5,9}$$

Der Winkel

$$\omega = \frac{1}{2} \operatorname{arc} \operatorname{tg} \alpha' \overline{h_0^2} \tag{5,9a}$$

ist als Kurve 1 in Fig. 10 in Abhängigkeit des Arguments $\alpha' \overline{h_0^2}$ graphisch dargestellt.

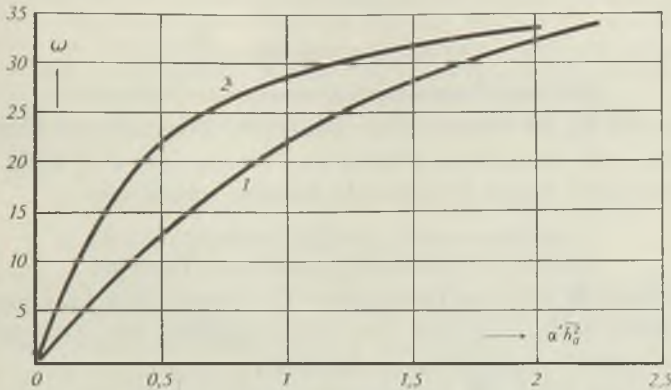


Fig. 10.

Abhängigkeit der Orientierung der Strömungsdoppelbrechung von $\alpha' \overline{h_0^2}$ (α' ist proportional dem Strömungsgefälle). ω ist der Winkel zwischen Strömungsdoppelbrechung und 45°-Richtung (Richtung der Doppelbrechung in der Grenze von verschwindendem Gefälle).

Kurve 1: Fadenmolekel fehlender innerer Viskosität.

Kurve 2: Fadenmolekel mit grosser innerer Viskosität.

Für kleine Winkel ω , also für relativ kleines Strömungsgefälle, können wir $\operatorname{tg} 2 \omega$ durch das Argument, also 2ω (ausgedrückt im Bogenmass) ersetzen. Gleichzeitig ersetzen wir α' aus (3,40b), teilen beiderseits durch $\eta_0 q$ und erhalten für Fadenmolekel mit kleiner innerer Viskosität

$$\left(\frac{\omega}{\eta_0 q} \right)_{\text{limes } \eta_0 q = 0} = \frac{1}{2} \left(\frac{\lambda}{32} \frac{L \overline{h_0^2}}{kT} \right) \tag{5,10}$$

(kleines Strömungsgefälle, kleine innere Viskosität)

einen Ausdruck, den wir l.c. I als Orientierungszahl bezeichnet haben.

Setzen wir nach Gleichung (3,10): $L = Z \cdot b$ und nach Gleichung (3,41a):

$$\overline{h_0^2} = \frac{2}{3} \frac{A^2}{s} Z$$

so ergibt sich aus (5,10)

$$\left(\frac{\omega}{\eta_0 q} \right)_{\text{limes } \eta_0 q = 0} = K_{\omega} \frac{Z^2}{D_{\text{rad}} = D_{\text{tang}}} \tag{5,11}$$

wobei

$$K_{\omega} \frac{Z^2}{D_{\text{rad}} = D_{\text{tang}}} = \frac{1}{2} \cdot \frac{\lambda}{48} \frac{b}{kT} \frac{A^2}{s} \tag{5,11a}$$

Die Orientierungszahl wächst also in einer polymerhomologen Reihe vollständig durchspülter Fadenmolekel fehlender innerer Viskosität proportional mit dem Quadrat des Polymerisationsgrades an, ein Ergebnis, welches schon l. c. I mitgeteilt und mit der Erfahrung in Übereinstimmung gefunden wurde¹⁾.

c) Orientierung der Strömungsdoppelbrechung einer Lösung von Fadenmolekeln mit grosser innerer Viskosität.

Für Fadenmolekel mit grosser innerer Viskosität folgt an Stelle von (5,9)

$$\operatorname{tg} 2 \omega = \operatorname{cotg} 2 \vartheta_0 = \frac{R_1}{R_2} \quad (5,12)$$

(beliebiges Strömungsgefälle, grosse innere Viskosität)

wobei R_1 und R_2 die durch (5,5a) und (5,5b) dargestellten Funktionen der Grösse $\alpha' \bar{h}_0^2$ bedeuten. Für kleine Werte von $\alpha' \bar{h}_0^2$ lässt sich an Stelle von (5,12) durch Reihenentwicklung schreiben:

$$\operatorname{cotg} 2 \vartheta_0 = \operatorname{tg} 2 \omega = 3 \alpha' \bar{h}_0^2 (1 - 10 (\alpha' \bar{h}_0^2)^2 + \dots) \quad (5,13)$$

(kleines Strömungsgefälle, grosse innere Viskosität)

Anschaulich wird die Beziehung (5,12) durch den Linienzug 2 der Fig. 10 dargestellt, welcher die Abhängigkeit des Orientierungswinkels ω vom Parameter $\alpha' \bar{h}_0^2$ darstellt.

Aus (5,13) folgt als Orientierungszahl von Fadenmolekeln mit grosser innerer Viskosität die Beziehung:

$$\left(\frac{\omega}{\eta_0 q} \right)_{\text{limes } \eta_0 q = 0} = \frac{3}{2} \left(\frac{\lambda}{32} \frac{L \bar{h}_0^2}{kT} \right) \quad (5,14)$$

(grosse innere Viskosität)

Durch Vergleich von (5,10) und (5,14) erkennt man, dass die Orientierungszahl im Gegensatz zur Viskositätszahl und zur Strömungsdoppelbrechungszahl bei Fadenmolekeln von gegebener hydrodynamischer Fadenlänge L und gegebenem mittleren Abstandsquadrat \bar{h}_0^2 noch von der inneren Viskosität der untersuchten Fadenmolekel abhängig ist. Im Grenzfall sehr grosser innerer Viskosität ist die Orientierungszahl unter sonst gleichen Bedingungen dreimal so gross wie bei fehlender innerer Viskosität.

Die Abhängigkeit der Orientierungszahl polymerhomologer Fadenmolekel mit grosser innerer Viskosität vom Polymerisationsgrad Z wird anstelle der für fehlende innere Viskosität erhaltenen Gleichung (5,11) durch die Beziehung

$$\left(\frac{\omega}{\eta_0 q} \right)_{\text{limes } \eta_0 q = 0} = K_\omega \cdot Z^2 \quad (5,15)$$

$D_{\text{rad}} \ll D_{\text{tang}}$

mit

$$K_\omega = \frac{3}{2} \frac{\lambda}{48} \frac{b}{kT} \frac{A^2}{s} \quad (5,15a)$$

¹⁾ Der l. c. I unter etwas andern Annahmen erhaltene Ausdruck für die Orientierungszahl unterscheidet sich von der jetzt erhaltenen Beziehung um einen Faktor 2, ein Unterschied, der sich erst bei dem weiter unten betrachteten Zusammenhang dieser Grösse mit der Viskositätszahl in mit der Erfahrung vergleichbarer Weise bemerkbar macht.

ausgedrückt. Wie im Falle von Fadenmolekeln kleiner innerer Viskosität wächst also die Orientierungszahl von Fäden grosser innerer Viskosität in einer polymerhomologen Reihe proportional mit dem Quadrat des Polymerisationsgrades an. Allein die Proportionalitätskonstante unterscheidet sich für die beiden Extremfälle um einen Faktor 3.

Nun ist aber schon mehrmals erwähnt worden, dass die innere Viskosität von Fadenmolekeln mit wachsendem Polymerisationsgrad abnimmt. Es kann also vorkommen, dass innerhalb einer polymerhomologen Reihe von Fadenmolekeln die niedermolekularen Vertreter dem Grenzfall von Fadenmolekeln mit grosser innerer Viskosität, die hochmolekularen Vertreter dagegen dem Grenzfall fehlender innerer Viskosität angehören. Die Orientierungskonstante muss dementsprechend einen Gang mit dem Polymerisationsgrad im Sinne einer Abnahme um den Faktor 3 aufweisen. Gleichzeitig bewirkt nun aber die mit wachsendem Polymerisationsgrad abnehmende Durchspülung ebenfalls ein allmähliches Abfallen der Orientierungskonstanten mit zunehmendem Z. Die beiden Einflüsse überlagern sich und es dürfte daher schwierig sein, aus dem experimentell beobachteten Gang von K_{ω} sichere Schlüsse auf die Grösse der inneren Viskosität zu ziehen.

d) Vergleich mit den Beobachtungen.

α) Nitrocellulose in Butylacetat.

Als erstes Beispiel betrachten wir eine von *Signer* und *Gross*¹⁾ untersuchte Nitrocellulose vom Polymerisationsgrad 235. Die 0,015-grundmolare Lösung dieses Stoffes in Butylacetat ($\eta_0 = 1,3 \times 10^{-2}$) weist bei zwei verschiedenen Werten des Strömungsgefälles q die aus Tabelle IV ersichtlichen Orientierungswinkel ω_{gem} der Strömungsdoppelbrechung auf. Da die Viskositätszahl der betrachteten Substanz $\eta_{sp}/c = 55$ ist, können die den beiden Strömungsgefällen entsprechenden Werte des Parameters $\alpha' h_0^2$ nach Gleichung (4,26) berechnet werden. Die unter der Annahme grosser bzw. fehlender innerer Viskosität bei diesen Werten von $\alpha' h_0^2$ zu erwartenden Orientierungswinkel ω_{ber} können darauf aus Fig. 10 abgelesen werden. Die in solcher Weise erhaltenen Zahlenwerte sind in den beiden letzten Kolonnen der Tabelle IV aufgeführt. Ein Vergleich mit ω_{gem} (Kolonne 5 der Tabelle IV)

Tabelle IV.

Orientierung der Strömungsdoppelbrechung von Nitrocellulosen.

| Z | $\frac{\eta_{sp}}{c}$ | Lösungsmittel | q | ω_{gem} | $\alpha' h_0^2$ | ω_{ber} $D_{tang} \gg D_{rad}$ | ω_{ber} $D_{tang} = D_{rad}$ |
|-----|-----------------------|---|--------|----------------|-----------------|--|--|
| 235 | 55 | Butylacetat (η_0 der Lösung $1,3 \times 10^{-2}$) | 10 000 | 4,6° | 0,07 | 4,7° | 2,0° |
| | | | 20 000 | 7,4° | 0,14 | 8,8° | 3,8° |
| 235 | 55 | Cyclohexanon (η_0 der Lösung $3,6 \times 10^{-2}$) | 10 000 | 5,8° | 0,19 | 11° | 5,0° |
| | | | 20 000 | 9,2° | 0,38 | 18,5° | 9,5° |
| 145 | 33 | Cyclohexanon (η_0 der Lösung $3,4 \times 10^{-2}$) | 10 000 | 3,9° | 0,065 | 4,3° | 1,8° |
| | | | 20 000 | 6,3° | 0,13 | 8,2° | 3,6° |
| | | | 30 000 | 8° | 0,20 | 12° | 5,4° |

1) l. c.

zeigt, dass das betrachtete Produkt eine grosse innere Viskosität besitzt, genau wie es auf Grund der oben angeführten Betrachtungen hervorgeht. (Nach Fig. 8 ist nämlich die tangentielle Diffusionskonstante D_{tang} des Zustandspunktes 35mal grösser als die radiale Diffusionskonstante D_{rad} .)

β) Nitrocellulose in Cyclohexanon.

Nach Gleichung (4,28) und Fig. 8 erwarten wir ausserdem, dass dieselbe Nitrocellulose im Lösungsmittel Cyclohexanon, welches eine 3mal grössere Viskosität besitzt als Butylacetat, in derselben Konzentration ein Verhalten zeigt, welches dem Verhalten von Fadenmolekeln fehlender innerer Viskosität näher steht als das Verhalten in Butylacetat. (Nach Fig. 8 oder Gleichung (4,28) erwarten wir, dass $D_{\text{tang}} = 12 \cdot D_{\text{rad}}$ ist, während, wie gesagt, in Butylacetat $D_{\text{tang}} = 35 D_{\text{rad}}$ beträgt.) Die entsprechenden ebenfalls von *Signer* und *Gross* durchgeführten Messungen zeigen nun, wie aus Tabelle IV hervorgeht, dass sogar eine weit stärkere Verschiebung des Verhaltens im Strömungsgefälle durch den Wechsel des Lösungsmittels eintritt als man auf Grund dieser Überlegungen erwartet. Man erkennt, dass das Verhalten des besprochenen Präparates ($Z = 235$) in Cyclohexanon vom Verhalten von Fadenmolekeln fehlender innerer Viskosität kaum unterschieden werden kann, dass also $D_{\text{tang}} \cong D_{\text{rad}}$ ist. Dies dürfte dem Umstand zuzuschreiben sein, dass die Hemmung der freien Drehbarkeit aufeinanderfolgender Kettenglieder einer Fadenmolekel und damit deren innere Viskosität stark von den speziellen sterischen und energetischen Einflüssen des am Faden assoziierten Lösungsmittels abhängig ist.

Die als drittes Beispiel in Tabelle IV angeführte Nitrocellulose von geringerem Polymerisationsgrad ($Z = 145$) lässt erkennen, dass auch im Lösungsmittel Cyclohexanon die zu erwartende Zunahme der inneren Viskosität polymerhomologer Fadenmolekel mit abnehmendem Polymerisationsgrad eintritt. Die angeführten Zahlenwerte lassen erkennen, dass das erwähnte Produkt ein Verhalten zeigt, welches etwa in der Mitte zwischen dem Verhalten der beiden Extremfälle steht. Wir schätzen aus den angegebenen Zahlenwerten, dass für das betrachtete Präparat $D_{\text{tang}} \cong 3 D_{\text{rad}}$ ist. Durch die in Teil I, S. 1577, durchgeführte Überlegung folgt weiter, dass für Nitrocellulose in Cyclohexanon

$$B \cong \frac{10^{-5}}{Z} \quad (5,16)$$

ist, während nach Gleichung (4,27) die Grösse B von Nitrocellulosen in Butylacetat

$$B = \frac{2,3 \times 10^{-4}}{Z}$$

beträgt.

Wir werden diese Betrachtungen, die sich auf eine Anzahl weiterer experimentell untersuchter Stoffe übertragen liessen, bei einer nachfolgenden Besprechung der Beziehungen zwischen Viskositätszahl und Orientierungszahl in etwas anderer Form weiterführen.

4. Beziehungen zwischen Viskosität und Strömungsdoppelbrechung.

Beim Vergleich der Viskosität, des Betrages und der Orientierung der Strömungsdoppelbrechung mit der Erfahrung sind wir so vorgegangen, dass wir den die Grösse dieser Erscheinungen bestimmenden Parameter $\alpha' \overline{h_0^2}$ nach Gleichung (4,26) aus der experimentell festgestellten Viskositätszahl des untersuchten Produkts berechneten. Dadurch waren wir auf die Kenntnis der nur ungenau bekannten, die Molekel kennzeichnenden Parameter, von denen $\alpha' \overline{h_0^2}$ abhängig ist, nicht angewiesen. Wie schon l. c. I gezeigt wurde, lassen sich nun eine Reihe weiterer Beziehungen zwischen Viskosität, Betrag und Orientierung der Strömungsdoppelbrechung finden, aus denen die nur ungenau bekannten, die Molekel kennzeichnenden Parameter ebenfalls teilweise herausfallen. Die vielseitige Weise, wie diese Parameter unter sich zusammenhängen, bringt es mit sich, dass die erwähnten quantitativen Beziehungen in verschiedenster Form wiedergegeben und geprüft werden können, wobei unter Umständen mehrere solcher Prüfungen auf dasselbe herauslaufen. Einige solcher Zusammenhänge sollen nachstehend besprochen werden.

a) Beziehungen zwischen Viskosität und Betrag der Strömungsdoppelbrechung.

Wenn wir (5,3) durch (4,17) dividieren, so heben sich die rechterhand in diesen Gleichungen vorkommenden Grössen $\overline{h_0^2}$, λ und L heraus und wir erhalten

$$\frac{n_1 - n_2}{q \eta_0 \eta_{sp}} = \frac{\nu \cdot c}{\eta_{sp}} = \frac{(\overline{n_0^2} + 2)^2}{6 n_0} (\alpha_1 - \alpha_2) \pi \frac{8}{15} \frac{1}{kT} \quad \text{im limes } c \rightarrow 0: \eta_0 q = 0 \quad (5,17)$$

(beliebige innere Viskosität)

Es soll hiernach die Strömungsdoppelbrechungszahl ν geteilt durch die Viskositätszahl einer Lösung für alle Glieder einer polymerhomologen Reihe, unabhängig von der inneren Viskosität, gleich einer für die polymerhomologe Reihe charakteristischen Konstanten sein. Diese Voraussage ist l. c. I für verschiedene polymerhomologe Reihen von Fadenmolekeln geprüft und mit der Erfahrung in Übereinstimmung gefunden worden.

Aus dem beobachteten Wert von $\nu c / \eta_{sp}$ können wir auf Grund von (5,17) auf die Anisotropie des statistischen Fadenelementes

($\alpha_1 - \alpha_2$) schliessen¹⁾. Dabei ist zu bemerken, dass der so errechnete Wert ($\alpha_1 - \alpha_2$) den Einfluss des inneren Feldes (Formdoppelbrechung usw.) bereits eingeschlossen enthält. In Kolonne 4 von Tabelle V sind die Zahlenwerte von ($\alpha_1 - \alpha_2$), welche sich auf Grund der in der 3. Kolonne dieser Tabelle angegebenen experimentell gefundenen Werte von $v \cdot c / \eta_{sp}^2$) nach Gleichung (5,17) berechnen lassen, zusammengestellt.

Tabelle V.

| Substanz | Lösungsmittel | $\frac{v \cdot c}{\eta_{sp}}$ | $\alpha_1 - \alpha_2$ |
|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------|
| Polystyrol | Cyclohexanon ($n_0 = 1,45$) | $-4,44 \times 10^{-10}$ | -60×10^{-25} |
| Methylcellulose | Wasser ($n_0 = 1,33$) | $4,52 \times 10^{-9}$ | $+608 \times 10^{-25}$ |
| Nitrocellulose | Cyclohexanon ($n_0 = 1,45$) | $-2,03 \times 10^{-9}$ | -280×10^{-25} |

b) Beziehungen zwischen Viskosität und Orientierung der Strömungsdoppelbrechung.

Aus der für Fadenmolekel fehlender innerer Viskosität gültigen Beziehung (5,10) und aus (4,17) folgt durch Quotientenbildung

$$\frac{\omega}{\eta_0 q} \cdot \frac{c}{\eta_{sp}} = \frac{1}{2} \frac{10^3}{k T N_L} \frac{L}{b} \quad (5,18)$$

oder, wenn $N_L k = R$ (Gaskonstante) und nach Gleichung (3,10) $L/b = Z$ gesetzt und die Beziehung nach Z aufgelöst wird:

$$Z = 2 \frac{RT}{10^3} \frac{\omega}{\eta_0 q} \cdot \frac{c}{\eta_{sp}} \quad \text{im limes } c = 0; q = 0 \quad (5,19)$$

(fehlende innere Viskosität)

In analoger Weise folgt aus (5,14) und (4,17) für Fadenmolekel mit grosser innerer Viskosität:

$$Z = \frac{2}{3} \frac{RT}{10^3} \frac{\omega}{\eta_0 q} \cdot \frac{c}{\eta_{sp}} \quad \text{im limes } c = 0; q = 0 \quad (5,20)$$

(grosse innere Viskosität)

Die Beziehungen (5,19) bzw. (5,20) erlauben uns, den Polymerisationsgrad eines vorgegebenen Produktes von Fadenmolekeln grosser bzw. fehlender innerer Viskosität auf Grund zweier Messungen zu bestimmen, nämlich aus der Orientierungszahl und der Viskositätszahl.

Der Vergleich der Beziehungen (5,19) und (5,20) zeigt ferner, dass wir einem Produkt von unbekannter innerer Viskosität, dessen Orientierungszahl und dessen Viskositätszahl experimentell ermittelt wor-

¹⁾ Auf diese Tatsache ist l. c. I bereits aufmerksam gemacht worden. Die l. c. I zugrundegelegten etwas anderen Modellvorstellungen hatten aber zur Folge, dass die damals angegebenen und in Tab. 6 jener Arbeit zusammengestellten Werte von $\alpha_1 - \alpha_2$ um einen Faktor 2 zu klein ausfielen.

²⁾ Die angegebenen Zahlenwerte sind der Tab. 5, l. c. I, S. 1452, entnommen.

den ist, ein Molekulargewicht zuzuschreiben haben, das sich um einen Faktor drei unterscheidet, je nachdem die betreffende Substanz aus Fadenmolekeln mit grosser oder kleiner innerer Viskosität aufgebaut ist¹).

Ist umgekehrt das Molekulargewicht eines Stoffes (z. B. auf Grund ultrazentrifugaler Messungen) bekannt, so kann durch Vergleich mit den Polymerisationsgraden, welche unter der Annahme grosser bzw. fehlender innerer Viskosität aus den ebenfalls bestimm- baren Grössen der Viskositätszahl und der Orientierungszahl berech- net worden sind, entschieden werden, welchem dieser Grenzfälle die untersuchten Fadenmolekel näher stehen.

α) Beispiel der Methylcellulose in Wasser.

Wir zeigen dies am Beispiel einer von *Wissler* (l.c.) untersuchten Methylcellulose vom ultrazentrifugal bestimmten Polymerisations- grad 129. Das Produkt besitzt in wässriger Lösung eine Viskositäts- zahl $\eta_{sp}/c = 28$ und eine Orientierungszahl $\omega/\eta_0 q = 1,4 \times 10^{-4}$. Wir machen nun zunächst die Annahme fehlender innerer Viskosität und finden durch Einsetzen der angegebenen Zahlenwerte in (5,19) unter Berücksichtigung davon, dass $R = 8,13 \times 10^7$ erg/Grad und $T = 300^0$ abs. ist, einen Polymerisationsgrad $Z_{D_{tang} = D_{rad}} = 244$. Unter der An- nahme von Fadenmolekeln grosser innerer Viskosität folgt dagegen durch Einsetzen in (5,20) ein Polymerisationsgrad $Z_{D_{tang} \gg D_{rad}} = 81$. Da der wahre ultrazentrifugal bestimmte Polymerisationsgrad etwa in der Mitte zwischen den für die beiden Grenzfälle sich ergebenden Werten liegt, schliessen wir, dass die untersuchten Methylcellulose- molekel eine innere Viskosität mittlerer Grösse besitzen.

Für das untersuchte Präparat wird also $D_{tang} \approx 2 D_{rad}$, also $\frac{D_{tang}}{D_{rad}} - 1 \approx 1$ sein. Fer- ner ist die Viskosität von Wasser gleich 10^{-2} . Setzen wir $b = 5,15 \times 10^{-8}$ und²)

$$\lambda = \frac{1}{0,42 + 0,01 \sqrt{Z}} = 1,9,$$

so folgt aus Gleichung (4,28) als Reibungskonstante B von Methylcellulosemolekeln $B = \frac{2 \cdot 10^{-6}}{Z}$.

¹) l.c. I wurde an Stelle von (5,19) unter den damals zugrundegelegten, etwas an- deren Annahmen die Beziehung

$$Z = \frac{RT}{10^3} \frac{\omega}{\eta_0 q} \frac{c}{\eta_{sp}}$$

erhalten. Die nach dieser Beziehung berechneten Polymerisationsgrade, die l.c. I irrüm- licherweise als die wahren Polymerisationsgrade angesprochen wurden, stehen, wie man durch Vergleich mit (5,19) und (5,20) erkennt, etwa in der Mitte zwischen den unter der Annahme grosser bzw. kleiner innerer Viskosität sich ergebenden Werten.

²) Siehe S. 1577 und Anm. 1, S. 1573.

β) Polystyrol in Cyclohexanon.

In analoger Weise besitzt das Seite 76 betrachtete, von *Signer* und *Gross*¹⁾ untersuchte Polystyrol vom ultrazentrifugalen Polymerisationsgrad 4400 und der Viskositätszahl $\eta_{sp}/c = 34$ eine Orientierungszahl $\omega/\eta_0 q = 2,6 \times 10^{-3}$. Durch Einsetzen dieser Werte in (5,19) folgt als Polymerisationsgrad bei fehlender innerer Viskosität $Z_{D_{tang} = D_{rad}} = 6000$; unter der Annahme grosser innerer Viskosität ergibt sich aus (5,20) $Z_{D_{tang} \gg D_{rad}} = 2000$. Daraus schliessen wir in Übereinstimmung mit den aus dem überproportionalen Anstieg der Strömungsdoppelbrechung mit dem Strömungsgefälle gezogenen Schlussfolgerungen, dass die betrachteten Fäden eine zwar nicht fehlende aber doch nur kleine innere Viskosität besitzen.

Schätzen wir $D_{tang} \approx 1,5 D_{rad}$ und $\lambda \leq 0,5$, so ergibt sich mit $\eta_0 = 0,062$ nach dem im I. Teil S. 1577 Gesagten als Reibungskonstante B polymerhomologer Polystyrole (in Cyclohexanon) $B = \frac{10^{-3}}{Z}$.

γ) Nitrocellulose in Cyclohexanon.

Die am Beispiel einer Methylcellulose und eines Polystyrols durchgeführten Überlegungen lassen sich auch auf die von *Signer* und *Gross*²⁾ sowie von *Wissler*³⁾ im Lösungsmittel Cyclohexanon untersuchten Nitrocellulosen verschiedenen Polymerisationsgrades übertragen. Die entsprechenden Zahlenwerte sind in Tabelle VI zusammengestellt. In Kolonne 6 ist das Verhältnis

$$\frac{Z - Z_{D_{tang} \gg D_{rad}}}{Z_{D_{tang} = D_{rad}} - Z_{D_{tang} \gg D_{rad}}}$$

angegeben, welches für Fadenmolekel mit grosser innerer Viskosität gleich null, für Fäden fehlender innerer Viskosität gleich 1 sein muss. Tabelle VI lässt erkennen, wie dieses Verhältnis mit wachsendem Polymerisationsgrad von 0 nach 1 zunimmt, dass also die erwartete und mehrmals erwähnte Abnahme der inneren Viskosität mit zunehmendem Polymerisationsgrad deutlich eintritt.

Tabelle VI.
Nitrocellulosen in Cyclohexanon.

| $\frac{\eta_{sp}}{c}$ | $\frac{\omega}{\eta_0 q}$ | $Z_{D_{tang} \gg D_{rad}}$ | $Z_{D_{tang} = D_{rad}}$ | Z aus Mes- sungen in der Ultrazentri- fuge | $\frac{Z - Z_{D_{tang} \gg D_{rad}}}{Z_{D_{tang} = D_{rad}} - Z_{D_{tang} \gg D_{rad}}}$ |
|-----------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|--|--|
| 17 ⁴⁾ | $6,57 \times 10^{-5}$ | 62 | 186 | 74 | 0,1 |
| 33 ⁴⁾ | $2,2 \times 10^{-4}$ | 108 | 325 | 145 | 0,2 |
| 55 ⁴⁾ | $3,0 \times 10^{-4}$ | 89 | 266 | 235 | 0,8 |
| 90 ⁵⁾ | $1,1 \times 10^{-3}$ | 200 | 596 | 590 | 1,0 |

1) *Signer* und *Gross*, l. c.

2) *R. Signer* und *H. Gross*, l. c.

3) *A. Wissler*, l. c.

4) Nach Messungen von *Signer* und *Gross*, l. c.

5) Nach Messungen von *Wissler*, l. c.

c) Beziehungen zwischen Betrag und Orientierung der Strömungsdoppelbrechung.

Aus der für Fadenmolekel fehlender innerer Viskosität gültigen Beziehung (5,10) und aus (5,3) ergibt sich nach l. c. I durch Quotientenbildung:

$$\nu \cdot \frac{\eta_0 q}{\omega} = \frac{(n_0^2 + 2)^2}{6 n_0} (\alpha_1 - \alpha_2) \frac{16 \pi}{15} \cdot \frac{N_L}{10^3} \frac{1}{Z} \quad (5,21)$$

(kleine innere Viskosität, kleines Strömungsgefälle)

d. h. bei kleinem Strömungsgefälle wird das Verhältnis von Strömungsdoppelbrechungszahl ν und Orientierungszahl $\omega/\eta_0 q$ von Fadenmolekeln fehlender innerer Viskosität umgekehrt proportional dem Polymerisationsgrad Z .

Für Fadenmolekel mit grosser innerer Viskosität lautet die entsprechende aus (5,3) und (5,14) folgende Beziehung:

$$\nu \cdot \frac{\eta_0 q}{\omega} = \frac{1}{3} \cdot \frac{(n_0^2 + 2)^2}{6 n_0} (\alpha_1 - \alpha_2) \frac{16 \pi}{15} \cdot \frac{N_L}{10^3} \frac{1}{Z} \quad (5,22)$$

(grosse innere Viskosität, kleines Strömungsgefälle)

welche sich von (5,21) nur um den konstanten Faktor $1/3$ unterscheidet.

Nun nimmt aber in einer polymerhomologen Reihe von Fadenmolekeln die innere Viskosität mit wachsendem Polymerisationsgrad stetig ab, so dass, wie etwa im Falle der Nitrocellulosen gezeigt wurde, die niederpolymeren Vertreter als Fadenmolekel mit grosser, die hochmolekularen als solche fehlender innerer Viskosität zu betrachten sind. In diesem Fall muss dann die sonst nach (5,21) wie nach (5,22) konstante Grösse

$$\nu \cdot \frac{\eta_0 q}{\omega} \cdot Z$$

einen Gang mit dem Polymerisationsgrad im Sinne einer Zunahme um den Faktor 3 aufweisen. Dass dieses Verhalten wirklich eintritt, erkennt man aus Tabelle VII, welche für einige von *Signer* und *Gross*

Tabelle VII.
Nitrocellulosen in Cyclohexanon.

| ν | $\frac{\omega}{\eta_0 q}$ | Z | $Z \cdot \nu \frac{\eta_0 q}{\omega}$ |
|------------------------|---------------------------|-----|---------------------------------------|
| $-2,17 \times 10^{-8}$ | $6,5 \times 10^{-5} 1)$ | 74 | $-2,5 \times 10^{-2}$ |
| $-5,99 \times 10^{-8}$ | $2,2 \times 10^{-4} 1)$ | 145 | $-3,9 \times 10^{-2}$ |
| $-9,64 \times 10^{-8}$ | $3,0 \times 10^{-4} 1)$ | 235 | $-7,5 \times 10^{-2}$ |
| $-21,9 \times 10^{-8}$ | $1,1 \times 10^{-3} 2)$ | 359 | $-7,2 \times 10^{-2}$ |
| $-44,0 \times 10^{-8}$ | $3,1 \times 10^{-3} 2)$ | 590 | $-8,3 \times 10^{-2}$ |

1) Nach Messungen von *Signer* und *Gross* (l. c.).

2) Nach Messungen von *Wissler* (l. c.).

(l.c.) sowie von *Wissler* (l.c.) im Lösungsmittel Cyclohexanon untersuchte polymerhomologe Nitrocellulosen die Strömungsdoppelbrechungszahl ν (erste Kolonne), die Orientierungszahl $\omega/\eta_0 q$ (zweite Kolonne), den ultrazentrifugal bestimmten Polymerisationsgrad¹⁾ (dritte Kolonne) und in der letzten Kolonne das Verhältnis $Z \cdot \nu \cdot \eta_0 q / \omega$ enthält.

Man erkennt den anfänglichen Anstieg dieses Quotienten mit wachsendem Polymerisationsgrad (Übergang vom Fall grosser zum Fall fehlender innerer Viskosität) und das bei grösseren Werten von Z eintretende Konstantwerden von

$$\nu \cdot \frac{\eta_0 q}{\omega} \cdot Z$$

(Verhalten als Fadenmolekel fehlender innerer Viskosität gemäss Gleichung (5,21).) Dem Produkt vom Polymerisationsgrad 74 haben wir demgemäss eine grosse, dem Präparat vom Polymerisationsgrad 145 eine mittlere und den übrigen Produkten eine kleine innere Viskosität zuzuschreiben, eine Schlussfolgerung, welche vollständig mit den eben aus Viskositäts- und Orientierungszahl gemachten Aussagen übereinstimmt (s. Tabelle VI).

Zusammenfassend erkennen wir die folgenden Effekte, welche als Folge der nur beschränkten freien Drehbarkeit aufeinanderfolgender Kettenglieder der Fadenmolekel (innere Viskosität) auftreten und deren Untersuchung umgekehrt über die Grösse der inneren Viskosität (d. h. über den Zahlenwert der Konstanten B) Aufschluss geben:

1. Die Abhängigkeit der Viskosität von Fadenmolekellösungen vom Strömungsgefälle (Strukturviskosität).
2. Der Betrag der Strömungsdoppelbrechung bei erhöhten Werten des Strömungsgefälles (überproportionaler oder unterproportionaler Anstieg mit dem Gefälle).
3. Die Orientierung der Strömungsdoppelbrechung bei erhöhten Werten des Strömungsgefälles.
4. Die gegenseitigen Beziehungen zwischen Viskositätszahl und Orientierungszahl und zwischen Strömungsdoppelbrechungszahl und Orientierungszahl.

VI. Geschwindigkeit der Konstellationswechsel gelöster Fadenmolekel.

In den vorangehenden Abschnitten wurden verschiedene Wege beschrieben, die gestatten, aus experimentellen Angaben die Grösse der inneren Viskosität, oder, was auf dasselbe hinausläuft, die radiale und die tangential Diffusionskonstante der Zustandspunkte der zugrundeliegenden Fadenmolekel zu bestimmen.

Die Kenntnis der Diffusionskonstanten des Zustandspunkts setzt uns aber sofort in die Lage, Aussagen darüber zu machen, wie

¹⁾ Durch Extrapolation der Messungen von *Mosimann*, l.c.

rasch eine ins Auge gefasste Konstellationsänderung der betrachteten Molekel in ruhender Lösung erfolgt.

Wir können etwa fragen, nach welcher Zeit \bar{t}_{rad} die betrachtete Molekel die einmal eingenommene Gestalt durch *Brownsche* Bewegung der Fadenteile praktisch vollständig wechselt, d. h. eine Gestalt annimmt, die von der zuerst betrachteten praktisch nicht mehr abhängig ist. Man erkennt leicht, dass diese Zeit von derselben Grössenordnung ist wie die Zeit, die der Zustandspunkt im Mittel etwa benötigt, um eine radiale Diffusionsstrecke von der Grösse des mittleren Abstandes \bar{h} zwischen den beiden Fadenenden zurückzulegen.

Um diese Zeit zu finden, erinnern wir uns daran, dass die Zeit t , welche ein beliebiges Teilchen der Diffusionskonstante D im Mittel etwa braucht, um in einer bestimmten Richtung, z. B. der x -Richtung, einen Diffusionsweg vom Betrage x nach der positiven oder negativen Seite hin zurückzulegen, nach *Einstein* und *Smoluchowski* gleich ist:

$$\bar{t} = \frac{x^2}{2D} \quad (6,1)$$

Die Zeit \bar{t}_{rad} , welche der Zustandspunkt der betrachteten Fadenmolekel (radiale Diffusionskonstante D_{rad}) braucht, um eine radiale Diffusionsstrecke $x = \bar{h}$ zurückzulegen, ist demzufolge gleich:

$$\bar{t}_{\text{rad}} = \frac{\bar{h}^2}{2D_{\text{rad}}} \quad (6,2)$$

Durch Einsetzen des Ausdrucks (3,22) für D_{rad} in (6,2) folgt weiter:

$$\bar{t}_{\text{rad}} = \frac{\bar{h}^2}{2kT} \left(\frac{L}{2} \lambda \eta_0 + 4B \right) \quad (6,3)$$

Ausserdem ist nach Gleichung (3,10) $L = Z \cdot b$ und nach Gleichung (3,3)

$$(\bar{h})^2 \cong \bar{h}^2 = NA^2 = Z \frac{A^2}{s}$$

Ferner ist die für die innere Viskosität charakteristische Konstante B , wie schon mehrmals erwähnt wurde, umgekehrt proportional dem Polymerisationsgrad Z , also

$$B = \frac{\beta}{Z} \quad (6,4)$$

worin β eine für die polymerhomologe Reihe spezifische Konstante darstellt. Setzen wir diese Beziehung in (6,3) ein, so ergibt sich:

$$\bar{t}_{\text{rad}} = \frac{A^2}{s} \frac{1}{2kT} \left(\frac{b}{2} \lambda \eta_0 Z^2 + 4\beta \right) \quad (6,5)$$

Bei kleinem Z , kleinem η_0 oder grossem β geht (6,3) bzw. (6,5) über in:

$$\bar{t}_{\text{rad, limes } \eta_0 Z^2 = 0} = \frac{\bar{h}^2}{kT} 2B = \frac{A^2}{s} \frac{2\beta}{kT} \quad (6,5a)$$

d. h. bei niedrigem Polymerisationsgrad, kleinen Werten der Lösungsmittelviskosität oder grosser innerer Viskosität des Fadens ist die Relaxationszeit \bar{t}_{rad} vom Polymerisationsgrad und von der Lösungsmittelviskosität unabhängig und stellt daher eine für die betreffende polymerhomologe Reihe charakteristische Grösse dar.

Bei grossen Werten von Z , grossem η_0 und kleinem β geht dagegen (6,5) über in:

$$\bar{t}_{\text{rad}}, \text{ limes } \beta = 0 = \frac{A^2}{s} \frac{b\lambda}{4kT} \eta_0 Z^2 \quad (6,5b)$$

Die Beziehung (6,5b) sagt aus, dass bei genügend grossem Polymerisationsgrad Z , grosser Lösungsmittelviskosität η_0 oder kleiner innerer Viskosität die Zeit \bar{t}_{rad} in einer polymerhomologen Reihe vollständig durchspülter Fadenmolekel proportional mit der Lösungsviskosität η_0 und proportional mit dem Quadrat des Polymerisationsgrades Z ansteigt. Im Falle von nur teilweise durchspülten Fadenmolekeln bleibt die Proportionalität von \bar{t}_{rad} mit Z^2 nur angenähert erhalten; die abnehmende Durchspülung der Fäden mit wachsendem Polymerisationsgrad führt einerseits zu einer schwachen Abnahme von λ mit Z ; andererseits wieder ist es denkbar, dass die Diffusion des Fadenendpunktes in dem durch das Knäuel gegebenen Medium weniger leicht als im reinen Lösungsmittel erfolgt, was auf eine Vergrösserung des Reibungsparameters λ hinauslaufen würde.

Wir wenden die Beziehung (6,5) auf die im Anschluss an Gleichung (4,26) betrachteten in Butylacetat gelösten Nitrocellulosemolekel an. Wie dort angegeben wurde, ist

$$b = 5,15 \times 10^{-8} \text{ cm}, \lambda = \frac{1}{0,42 + 0,006 \sqrt{Z}} \text{ und } B = \frac{2,3 \times 10^{-4}}{Z}, \text{ also } \beta = 2,3 \times 10^{-4}.$$

Ferner entnehmen wir aus l. c. I Tabelle 4, dass für Nitrocellulosen die Grösse

$$\frac{A^2}{s} = A_m \cdot b = 230 \times 10^{-8} \times 5,15 \times 10^{-8} = 1,2 \times 10^{-13} \text{ cm}^1)$$

ist.

Setzen wir diese Werte in (6,5) ein und berücksichtigen wir ferner, dass die Boltzmannsche Konstante $k = 1,4 \times 10^{-16}$ und $T = 300^\circ$ abs. ist, so folgt:

$$\bar{t}_{\text{rad}} = 1,3 \cdot 10^{-3} \left(1 + \frac{6,6 \cdot 10^{-5}}{1 + 0,014 \sqrt{Z}} \eta_0 Z^2 \right) \quad (6,6)$$

(Nitrocellulosen in einem Lösungsmittel wie Butylacetat)

Anschaulich ist dieser Zusammenhang aus Fig. 11 zu entnehmen. Die Grösse \bar{t}_{rad} ist als Funktion des Polymerisationsgrades Z in bilo-

¹⁾ A_m stellt die Länge des l. c. I näher erläuterten statischen Vorzugselements der Nitrocellulosen dar.

garithmischem Masstab für verschiedene Werte der Lösungsmittelviskosität η_0 aufgetragen. Die Figur zeigt, dass die Zeit \bar{t}_{rad} , während welcher eine Nitrocellulosemolekel ihre Gestalt praktisch vollständig ändert, bei genügend kleinem Polymerisationsgrad oder genügend kleiner Lösungsmittelviskosität etwa eine Tausendstelsekunde (genauer $1,3 \times 10^{-3}$ sec) beträgt. Mit wachsendem Polymerisationsgrad und zunehmender Lösungsmittelviskosität steigt \bar{t}_{rad} stark an. Die Figur zeigt beispielsweise, dass eine in einem Lösungsmittel der Viskosität $\eta_0 = 10$ gelöste Nitrocellulosemolekel vom Polymerisationsgrad 10000 erst im Verlauf von 40 sec ihre Gestalt praktisch vollständig ändert.

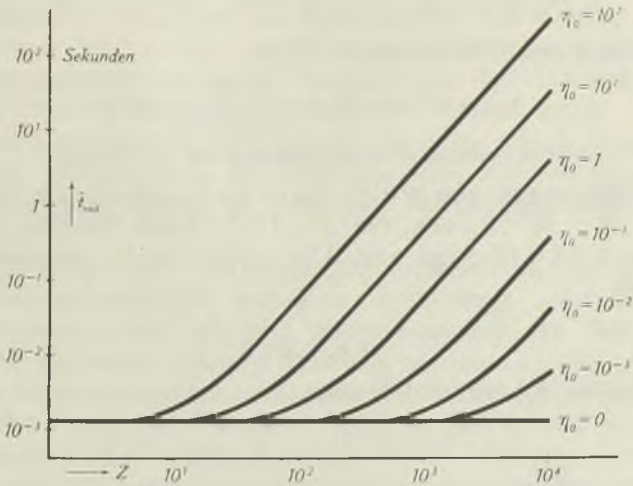


Fig. 11.

Für Nitrocellulosen ist \bar{t}_{rad} (Zeit in Sekunden, welche eine Nitrocellulosemolekel zur praktisch vollständigen Änderung ihrer Gestalt benötigt) als Funktion des Polymerisationsgrades Z für verschiedene Werte der Lösungsmittelviskosität η_0 aufgetragen.

Nach den S. 82 gezogenen Schlussfolgerungen ist die in (6,5) enthaltene und in (6,6) eingehende, die innere Viskosität charakterisierende Grösse B bzw. β nicht nur von der Eigenart der gelösten Fadenmolekel, sondern ebensosehr von den speziellen sterischen und energetischen Einflüssen des am Faden assoziierten Lösungsmittels abhängig. Dieselbe Bemerkung gilt auch, worauf l.c. I aufmerksam gemacht worden ist, für die Grösse A^2/s . Daraus folgt, dass die Beziehung (6,6) streng genommen nur für Nitrocellulosemolekeln zutrifft, die in einem Lösungsmittel von solcher Beschaffenheit gelöst sind, dass die zwischen Faden und assoziierten Lösungsmittelmolekeln vorhandenen Wechselwirkungskräfte dieselben sind wie im Falle von Butylacetat.

Wie S. 82 mitgeteilt wurde, ist die Konstante B (bzw. β) von Nitrocellulosen in Cyclohexanon etwa 23mal kleiner als in Butylacetat; es ist nämlich $\beta = 10^{-5}$. Ausserdem haben wir im Cyclohexanon A^2/s gleich $1,0 \times 10^{-13}$ zu setzen. Durch Einsetzen dieser Zahlenwerte statt der oben angegebenen Beträge in (6,5) folgt an Stelle von (6,6) die Gleichung:

$$\bar{t}_{\text{rad}} = 4,7 \times 10^{-5} \left(1 + \frac{1,5 \times 10^{-3}}{1 + 0,014 \sqrt{Z}} \eta_0 Z^2 \right) \quad (6,6a)$$

(Nitrocellulosen in einem Lösungsmittel wie Cyclohexanon)

Sie gibt die Zeit an, welche eine Nitrocellulosemolekel vom Polymerisationsgrad Z für eine praktisch vollständige Änderung ihrer Gestalt benötigt in einem Lösungsmittel der Viskosität η_0 und von solcher Beschaffenheit, dass auf den Molekelfaden dieselben Assoziationskräfte ausgeübt werden wie im Falle von Cyclohexanon.

Zur Berechnung der Zeit t_{rad} von Methylcellulosen haben wir nach S. 85 für $B = 2 \times 10^{-6}/Z$, also für $\beta = 2 \times 10^{-6}$ zu setzen; ferner ist $b = 1,5 \times 10^{-8}$ cm

$$\lambda = \frac{1}{0,42 + 0,01 \sqrt{Z}} \quad ^1)$$

und nach Tabelle 4 l. c. I

$$\frac{A^2}{s} = A_m \cdot b = 130 \times 10^{-8} \times 5,15 \times 10^{-8} = 6,7 \times 10^{-14} \text{ cm}^2.$$

Es folgt dann aus (5,6) analog zu (6,6):

$$\bar{t}_{\text{rad}} = 6,4 \times 10^{-6} \left(1 + \frac{7,6 \times 10^{-3}}{1 + 0,02 \sqrt{Z}} \eta_0 Z^2 \right) \quad (6,7)$$

(Methylcellulose in einem Lösungsmittel wie Wasser)

Aus Messungen von Polystyrol in Cyclohexanon fanden wir S. 86 für $B = 10^{-3}/Z$, also für $\beta = 10^{-3}$. Nach Tabelle 4 l. c. I ist ferner $b = 2,53 \times 10^{-8}$ cm und $A^2/s = 3,3 \times 10^{-15}$. Ausserdem kann angenähert

$$\lambda = \frac{1}{0,4 + 0,02 \sqrt{Z}} \quad ^1)$$

gesetzt werden. Es ergibt sich dann:

$$\bar{t}_{\text{rad}} = 1,6 \times 10^{-4} \left(1 + \frac{8 \times 10^{-6}}{1 + 0,05 \sqrt{Z}} \eta_0 Z^2 \right) \quad (6,8)$$

(Polystyrol in einem Lösungsmittel wie Cyclohexanon)

Die im Limes $\eta_0 Z^2 = 0$ vorhandene Relaxationszeit ist also gleich $1,6 \times 10^{-4}$ sec.

In Tabelle VIII sind die Zeiten

$$\Theta = \bar{t}_{\text{rad}}; \lim_{\eta_0 Z^2 = 0} = \frac{\bar{h}^2}{kT} 2B = \frac{A^2}{s} \frac{2\beta}{kT}$$

für die betrachteten Beispiele neben den entsprechenden Werten von β übersichtshalber zusammengestellt. Wie ersichtlich, schwanken diese für Gestaltänderungen gelöster Fadenmolekeln benötigten Mindestzeiten Θ je nach Stoffart zwischen 10^{-3} und 10^{-6} Sekunden.

Die Bedeutung, welche den Zeiten Θ für das Verständnis des Zusammenhangs zwischen der inneren Viskosität und der für die Behinderung der freien Drehbarkeit der Kettenbindungen verantwortlichen innermolekularen Potentiale zukommt, soll in einer nachfolgenden Arbeit besprochen werden.

¹⁾ Siehe Teil I, Anm. 1, S. 1573.

Tabelle VIII.

| Substanz | Lösungsmittel | β | Θ |
|-----------------|---------------|----------------------|----------------------|
| Nitrocellulose | Butylacetat | $2,3 \times 10^{-4}$ | $1,3 \times 10^{-3}$ |
| Nitrocellulose | Cyclohexanon | 10^{-5} | $4,7 \times 10^{-5}$ |
| Methylcellulose | Wasser | 2×10^{-6} | $6,4 \times 10^{-6}$ |
| Polystyrol | Cyclohexanon | 10^{-3} | $1,6 \times 10^{-4}$ |

Zusammenfassung von Teil II.

In Teil I war gezeigt worden, dass die Orientierung und Entknäuelung von Fadenmolekeln in strömender Lösung bei grossen Strömungsgefälle vom Grade der Halbstartheit der Molekel, d. h. von einer inneren Viskosität der Fadenmolekel abhängig ist und dass der Starrheitsparameter durch Beobachtung der Abhängigkeit der Viskosität vom Strömungsgefälle bestimmt werden kann.

Hieran anschliessend wird gezeigt, dass der Starrheitsparameter auch durch Beobachtung des Betrages und der Orientierung der Strömungsdoppelbrechung bei grösserem Strömungsgefälle bestimmt werden kann.

Der Betrag der Strömungsdoppelbrechung nimmt bei kleinem Strömungsgefälle zunächst unabhängig vom Starrheitsparameter proportional mit dem Strömungsgefälle zu. Bei Molekeln ohne innere Viskosität (kleiner Starrheitsparameter) tritt sodann bei stärkerem Strömungsgefälle eine mehr als porportionale Zunahme des Betrages der Doppelbrechung, bei Molekeln mit grosser innerer Viskosität dagegen eine weniger als proportionale Zunahme der Doppelbrechung auf. Der Vergleich mit der Erfahrung zeigt, dass beide Fälle (überproportionaler und unterproportionaler Anstieg) beobachtet werden. Es kann daher auch aus dem Verhalten des Betrages der Strömungsdoppelbrechung auf den Wert des Starrheitsparameters geschlossen werden.

Die Orientierung der Strömungsdoppelbrechung, welche bei kleinem Strömungsgefälle unter 45^0 zur Strömungsrichtung orientiert ist, wird bei wachsendem Strömungsgefälle mehr und mehr parallel zur Strömungsrichtung. Dabei tritt bei Fadenmolekeln mit grosser innerer Viskosität eine stärkere Abweichung ω der Orientierung von der 45^0 -Richtung ein als bei Fadenmolekeln fehlender innerer Viskosität. Aus den bei grösseren Werten von q auftretenden Orientierungswinkeln kann daher ebenfalls der Starrheitsparameter der Fadenmolekel bestimmt werden.

Die Kombination der für die Viskosität einerseits, die Strömungsdoppelbrechung andererseits abgeleiteten Beziehungen liefert neue Möglichkeiten zur zahlenmässigen Bestimmung der Starrheitskonstanten.

Dabei zeigt sich, dass die auf Grund der Viskosität allein gefundenen Ergebnisse in voller Übereinstimmung stehen mit den aus Betrag und Orientierung der Doppelbrechung gefundenen Werten, sowie mit den durch Kombination gefundenen Zahlen.

Unter den durch Kombination von Viskosität und Strömungsdoppelbrechung hervorgehenden Beziehungen sei hervorgehoben, dass der Quotient aus der Orientierungszahl $\omega/\eta_0 q$ und der Viskositätszahl η_{sp}/c , für Fadenmolekel mit grosser innerer Viskosität gleich $Z \times (10^3/2 RT)$, für Fadenmolekel fehlender innerer Viskosität gleich $3 Z \times (10^3/2 RT)$ ist. Aus einer gleichzeitigen Messung des Orientierungswinkels ω einerseits, der Viskositätszahl andererseits ergeben sich daher unter der Annahme grosser bzw. fehlender innerer Viskosität zwei um einen Faktor 3 verschiedene Werte für den Polymerisationsgrad Z in solcher Weise, dass der wahre Wert zwischen den genannten Grenzen liegen muss. Ist der wahre Polymerisationsgrad der betrachteten Molekel (etwa auf Grund einer Messung mit der Ultrazentrifuge) bekannt, so kann umgekehrt auf die Grösse ihrer inneren Viskosität geschlossen werden.

Die erhaltenen Aussagen über die Grösse der inneren Viskosität praktisch vorkommender Fadenmolekel führen zu konkreten Aussagen über die Zeit, welche die Molekel für eine Konstellationsänderung in ruhender Lösung benötigen.

Diese Zeit (\bar{t}_{rad}) ist bei kleiner Viskosität des Lösungsmittels vom Polymerisationsgrad der Molekel und von der Lösungsmittelviskosität unabhängig; sie beträgt z. B. für Polystyrol 10^{-4} sec, für Methylcellulosen 10^{-6} sec.

Bei grosser Lösungsmittelviskosität ist \bar{t}_{rad} der Lösungsmittelviskosität proportional und nimmt in diesem Fall ungefähr proportional dem Quadrat des Polymerisationsgrades Z zu.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Basel.

15. Über die Addition von Benzol an symm. Dibrom-diacetyl

(Carbonylgruppen und arom. Kohlenwasserstoffe, 1. Mitt.)

von Paul Ruggli † und Margrit Herzog †¹⁾,

Jacques Wegmann und Hans Dahn.

(15. XII. 45.)

Im Rahmen von Synthesen in der Diphenyl-butanreihe suchten wir die Darstellung von 1,4-Diphenyl-butandion-2,3, $C_6H_5-CH_2-CO-CO-CH_2-C_6H_5$, das inzwischen auf anderem Wege erhalten wurde²⁾, durch eine doppelte *Friedel-Crafts'sche* Reaktion aus 1,4-Dibrom-diacetyl³⁾ (I), Benzol und Aluminiumchlorid auf einfachem Wege zu erreichen.

Erwärmt man Dibrom-diacetyl (I) mit Benzol und Aluminiumchlorid eine Stunde lang auf 75°, so tritt in der Tat unter mässiger Halogenwasserstoffentwicklung eine deutliche Reaktion ein. Aus dem Produkt lassen sich in 75% Ausbeute farblose Nadeln vom Smp. 90–91° isolieren, für die Analyse und Molekulargewichtsbestimmung die Formel $C_{10}H_{10}O_2Br_2$ ergeben. Formal entspricht dies einer Addition von C_6H_6 an Dibrom-diacetyl (I). Da kein Halogenatom abgespalten worden ist, liegt sicher keine echte *Friedel-Crafts'sche* Reaktion vor; mit der Aufklärung des Reaktionsproduktes beschäftigt sich die vorliegende Arbeit.

Der Charakter der Sauerstoffatome in der Molekel $C_{10}H_{10}O_2Br_2$ liess sich nur schwierig ermitteln. Die gewöhnlichen Hydroxylreagentien griffen nicht an, ein Anzeichen dafür, dass höchstens tertiäre Hydroxyle vorliegen. Auch Betainyl-dichlorid⁴⁾ sowie Acetylchlorid und Magnesium⁵⁾ in inerten Lösungsmitteln gaben keine Veränderung; Tertiärbasen verändern den Körper in anderer Weise und konnten daher nicht als Lösungsmittel verwendet werden. Auch der Nachweis von Ketongruppen wird durch Enthalo-genierungen sehr gestört.

Mit p-Toluidin gelangt man zu einem sauerstoff- und halogenfreien Körper $C_{24}H_{22}N_2$, für den wir einstweilen eine Pyrrolstruktur annehmen. Mit o-Phenylendiamin entsteht ein halogenfreier Körper, der ebenfalls noch näher untersucht werden soll. Andere Basen und gebräuchliche Ketonreagentien führten zu keinen definierten Produkten.

¹⁾ Die vorliegende Arbeit ist eine Zusammenfassung der unvollendeten und unveröffentlichten Dissertation *Margrit Herzog*. Nach dem Tode von *M. Herzog* wurde der Abschluss der experimentellen Arbeiten und die Konstitutionsaufklärung von *J. Wegmann* und *H. Dahn* durchgeführt.

²⁾ *P. Ruggli, P. Zeller, Helv. 28, 741 (1945).*

³⁾ *A. 249, 207 (1888); H. Keller, Ph. Maas, C. 1898, I. 23.*

⁴⁾ *Pl. A. Plattner, M. Geiger, Helv. 28, 1362 (1945).*

⁵⁾ *A. Spassow, B. 70, 1926 (1937).*

Die beiden Bromatome der Substanz $C_{10}H_{10}O_2Br_2$ sind sicher verschieden gebunden. Das eine ist sehr beweglich, lässt sich mit Pyridin leicht in ionogene Bindung überführen und ist mit Natriumjodid leicht durch Jod zu ersetzen, wobei man einen Monobrommonoiodkörper erhält; α -Halogenketone wie Phenacylbromid weisen derartig gebundene Bromatome auf. Das andere Bromatom ist so fest gebunden wie ein normales aliphatisches Halogenatom.

Das erste Licht auf die Struktur des Reaktionsproduktes warf der oxydative Abbau. Mit Chromsäure wurde fast quantitativ Phenacylbromid erhalten; hierdurch sind zwei Kohlenstoffatome und ein Brom des Dibrom-diacetyls (I) festgelegt. Da als Ansatzpunkt für den Rest der Molekel nur die Carbonylgruppe des ω -Bromacetophenons in Betracht kommt, liegt für den Körper $C_{10}H_{10}O_2Br_2$ die Annahme der Formel (II) eines 2-Phenyl-1,4-dibrom-acetoin (Brommethyl-phenyl-bromacetyl-carbinol) nahe. Entsprechend wäre der erwähnte Bromjodkörper als 2-Phenyl-1-brom-4-jod-acetoin (III) zu formulieren.

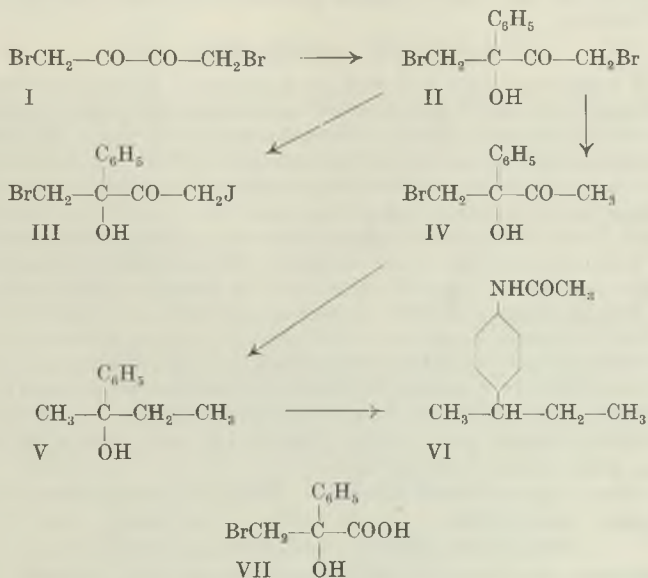
Wir versuchten auch, eine mögliche Zwischenstufe des Abbaus, die α -Brom-atrolactinsäure (VII) zu erhalten. In saurer Lösung setzt die Oxydation sicher zwischen Alkohol- und Carbonylgruppe an; gegen Alkalien dagegen ist die Substanz (II) sehr empfindlich und gibt in wenig durchsichtiger Reaktion Acetophenon. Aus diesem Grunde scheiterte auch der elegante *Kröhnke'sche* Abbau¹⁾, bei dem man das Pyridiniumsalz eines α -Halogenketons mit Natronlauge zur niedrigeren Säure spaltet. Daher liessen wir Natriumhypoiodit in nahezu neutraler methanolischer Lösung einwirken, erhielten aber als einzige Säure Benzoesäure, die durch weiteren Abbau aus Phenacylbromid oder Acetophenon entstanden sein muss.

Eine Bestätigung der Struktur des Produktes aus Dibromdiacetyl und Benzol als Phenyl-dibrom-acetoin (II) wurde durch durchgreifende Reduktion geliefert. Während bei katalytischer Hydrierung keine definierten Produkte gefasst werden konnten, wurde mit Aluminiumamalgam in 90-proz. Alkohol leicht ein Brom, und zwar das der Carbonylgruppe benachbarte, durch Wasserstoff ersetzt. Im so entstandenen 2-Phenyl-1-brom-acetoin (IV) sind die Ketonreaktionen demgemäss nicht mehr behindert. Die oxydative Spaltung liefert immer noch Phenacylbromid. Die weitere reduktive Enthalogenerung des Monobrom-phenyl-acetoin (IV) geht nur schwierig vonstatten. Bei längerer Einwirkung von Aluminiumamalgam lassen sich nur bromarme ölige Produkte gewinnen. Daher wurde das Monobrom-phenyl-acetoin (IV) direkt nach *Clemmensen* reduziert und enthalogeneriert. Es entsteht Methyl-äthyl-phenyl-carbinol (V), das bereits von *A. Klages*²⁾ aus Acetophenon und Äthylmagnesiumbromid dargestellt worden war. Wir erhielten den Körper in sehr schlechter Ausbeute mit dem Sdp._{12 mm} 110—115°; der unscharfe Siedepunkt dieses Rohproduktes rührt auch daher, dass

¹⁾ *F. Kröhnke*, B. 66, 604 (1933).

²⁾ B. 35, 3507 (1907).

unter den energischen Bedingungen der Reaktion die beiden anschliessenden Reaktionen teilweise schon vor sich gehen. Da einfache kristallisierte Derivate des Carbinols nicht bekannt sind, erfolgte seine Charakterisierung auf einem von *J. Glattfeld* und *E. Wertheim*¹⁾ eingeschlagenen Weg: Aus dem Carbinol gelangt man durch Wasserabspaltung zum Phenyl-dimethyl-äthylen²⁾, das zum sek. Butylbenzol³⁾ reduziert wird; dies wird in p-Stellung nitriert und zu p-sek. Butyl-anilin reduziert⁴⁾. Dessen Acetylderivat (VI) ist kristallisiert; wir fanden seinen Schmelzpunkt bei 124–125°, in Übereinstimmung mit der Literatur¹⁾.



Damit ist die Ketolstruktur (II) für das Reaktionsprodukt aus Dibrom-diacetyl und Benzol weiter gestützt; ein letzter Beweis, der in der Darstellung von analogen Körpern sowohl durch Addition von aromatischen Kohlenwasserstoffen an Ketone als auch auf bekanntem Wege besteht, findet sich in der folgenden Mitteilung. Überraschenderweise muss sich also eine Molekel Benzol unter dem Einfluss von Aluminiumchlorid an die Ketongruppe angelagert haben, eine Reaktionsweise, für die wir in der Literatur bisher kaum ein Beispiel finden konnten⁵⁾.

¹⁾ Am. Soc. **43**, 2683 (1921).

²⁾ B. Radziszewski, B. **9**, 260 (1876).

³⁾ A. Klages, l. c.

⁴⁾ J. Reilly, W. J. Hickinbottom, Soc. **117**, 120 (1920).

⁵⁾ Bei Aldehydgruppen wurden gelegentlich analoge Additionen beobachtet; so entsteht aus Phenylglyoxal und Benzol mit Aluminiumchlorid Benzoin (*R. C. Fuson* und Mitarbeiter, Am. Soc. **57**, 1803 (1935); **58**, 1295 (1936); **61**, 412 (1939)). Vgl. auch die Aldehydsynthese mit Chloral nach *A. Dinesmann*, C. r. **141**, 201 (1905); C. **1905**, II. 753.

Experimenteller Teil¹⁾.Dibrom-diacetyl (I)²⁾.

Zu einer Lösung von 25 g Diacetyl in 50 cm³ Chloroform, die auf dem Wasserbad zum gelinden Sieden erwärmt wird, tropft man regelmässig und nicht zu schnell 90 g trockenes Brom in 30 cm³ Chloroform ein. Das Brom wird anfangs rasch, dann immer langsamer entfärbt; wenn alles zugetropft ist, wird die Lösung unter häufigem Umschütteln noch ½ Stunde weiter erwärmt, bis ihre Farbe von rotbraun nach orange umschlägt. Sofort nach Erkalten erfolgt die Krystallisation. Nach 2 Stunden Stehen bei 0° werden die gelben, glitzernden Krystallplättchen abfiltriert und getrocknet. Nach Umkrystallisieren aus Chloroform oder Schwefelkohlenstoff liegt der Schmelzpunkt konstant bei 117° (Lit. 116—117°). Aus der Mutterlauge lassen sich nach Durchschütteln mit Hydrogensulfidlösung und Einengen weitere Mengen gewinnen. Die Gesamtausbeute beträgt 50 g (71% der Theorie).

2-Phenyl-1,4-dibrom-acetoin (II).

In eine Suspension von 6 g (2 Mol) gut gepulvertem Aluminiumchlorid in 40 cm³ absolutem Benzol wird unter Rühren eine 50° warme gesättigte Lösung von 5,5 g Dibrom-diacetyl in 100 cm³ absolutem Benzol in 5 Minuten zulaufen gelassen. Die Mischung färbt sich dabei schmutzig graugrün. Der Kolben wird in ein auf 60° vorgewärmtes Wasserbad gestellt und dieses auf 75° geheizt; dabei tritt schwache Chlorwasserstoffentwicklung auf und die Lösung färbt sich immer dunkler. Nach einer Stunde lässt man erkalten und über Nacht stehen. Dann rührt man die Lösung samt dem geringen schmierigen Rückstand in 250 cm³ Eiswasser ein, fügt 30 cm³ eisgekühlte konz. Salzsäure zu und schüttelt im Scheidetrichter gut durch. Nach Abtrennen wird die braunrote, fluoreszierende Benzol-lösung mit Magnesiumsulfat und Natriumhydrogencarbonat getrocknet und auf 10 cm³ eingeeengt. Der Rückstand beginnt schon beim Erkalten zu krystallisieren; die Krystallisation wird durch 10 cm³ Petroläther vervollständigt. Nach Absaugen und Waschen mit Petroläther erhält man 4,5 g farblose Krystalle (62% der Theorie), die nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus der dreifachen Menge Benzol-Petroläther (1 : 1) bei 90—91° schmelzen.

3,905; 3,125 mg Subst. gaben 5,372; 4,292 mg CO₂ und 1,200; 0,798 mg H₂O

5,260 mg Subst. gaben 6,136 mg AgBr

0,663 g Subst., 17,61 g Benzol (E = 5,08), Gefrierpunktserniedrigung 0,630°

C₁₀H₁₀O₂Br₂ Ber. C 37,28 H 3,12 Br 49,66% Mol.-Gew. 322

Gef. „ 37,52; 37,46 „ 3,44; 2,86 „ 49,63% „ „ 304

Die Substanz ist in fast allen organischen Lösungsmitteln äusserst leicht löslich. Permanganat wird leicht reduziert; Silberoxyd in Alkohol von 50° wird in ein Gemisch von Silberbromid und metallischem Silber verwandelt. Beim Erwärmen mit verdünnter Natronlauge wird Acetophenon gebildet.

Reaktionen mit Basen.

p-Toluidin. In 13 cm³ Alkohol werden erst 2 g p-Toluidin (3 Mol) und dann 2 g Phenyl-dibrom-acetoin (II) kalt gelöst. Man erwärmt in 15 Minuten auf 75°; beim Abkühlen und Reiben erstarrt die Lösung zu einem lockeren Krystallbrei, der mit Alkohol gewaschen und auf Ton getrocknet wird. 1,5 g = 53% der Theorie. Nach Umkrystallisieren aus der achtfachen Menge Eisessig oder aus der zwanzigfachen Menge Alkohol erhält man farblose Nadeln vom Smp. 108—109°.

3,693 mg Subst. gaben 11,37 mg CO₂ und 2,09 mg H₂O

4,533 mg Subst. gaben 0,332 cm³ N₂ (24°, 734 mm)

Gefrierpunktserniedrigung in Äthylenbromidlösung

C₂₄H₂₂N₂ Ber. C 85,16 H 6,65 N 8,28% Mol.-Gew. 338

Gef. „ 85,27 „ 6,43 „ 8,13% „ „ 346

¹⁾ Die vorliegenden Experimente stammen zum grössten Teil aus der unvollendeten Dissertation *Margrit Herzog*.

²⁾ A. Fittig, C. Daimler, H. Keller, A. 249, 207 (1888).

Nur frisch dargestellte Präparate zeigen übereinstimmende Analysenwerte; bei längerem Lagern sinken die CH-Werte, während der N-Gehalt zunimmt, ohne dass der Substanz eine Veränderung anzusehen ist.

Pyridiniumsalz. 0,5 g Phenyl-dibrom-acetoin (II) werden mit 5 cm³ Pyridin verrieben, bis völlige Lösung eintritt. Nach Stehen über Nacht ist eine weisse Substanz auskrystallisiert, die nach Waschen mit absolutem Äther einen Tag lang an der Luft getrocknet wird. Smp. 163—168°.

| | | |
|--|--|----------------------------------|
| 2,090; 4,812 mg Subst. gaben | 3,418; 8,014 mg CO ₂ und | 0,830; 1,697 mg H ₂ O |
| 9,158 mg Subst. gaben | 0,270 cm ³ N ₂ (15,5°, 737 mm) | |
| 6,065 mg Subst. gaben | 5,651 mg AgBr (Gesamthalogen) | |
| 6,310 mg Subst. gaben | 2,982 mg AgBr (ionogen gebundenes Brom) | |
| C ₁₀ H ₁₀ O ₂ Br ₂ · C ₅ H ₅ N | Ber. C 44,89 | H 3,77 N 3,49 Br 39,86 |
| | | „ (ionogen) 19,93% |
| | Gef. „ 44,60; 45,42 | „ 4,44; 3,95 „ 3,38 „ 39,65 |
| | | „ (ionogen) 20,11% |

Das Pyridiniumsalz krystallisiert aus Pyridin mit 1 Mol Krystallpyridin, das es bei längerem Stehen an der Luft wieder verliert. Bringt man das Pyridiniumsalz nach dem Waschen mit Äther sofort in den Exsikkator, so kann man das krystallpyridinhaltige Salz unzersetzt aufbewahren. Der Smp. ist sehr unscharf 131—151°.

| | | |
|--|--|----------------------------------|
| 4,372; 3,530 mg Subst. gaben | 8,045; 6,470 mg CO ₂ und | 1,586; 1,308 mg H ₂ O |
| 7,790 mg Subst. gaben | 0,379 cm ³ N ₂ (14,5°, 741 mm) | |
| 7,211 mg Subst. gaben | 5,697 mg AgBr | |
| C ₁₀ H ₁₀ O ₂ Br ₂ · 2 C ₅ H ₅ N | Ber. C 50,00 | H 4,20 N 5,84 Br 33,30% |
| | Gef. „ 50,19; 49,99 | „ 4,06; 4,15 „ 5,63 „ 33,62% |

o-Phenylendiamin. 0,4 g Phenyl-dibrom-acetoin (II) und 0,6 g o-Phenylendiamin (4,5 Mol) werden in 10 cm³ Alkohol 20 Minuten unter Rückfluss erhitzt. Beim Kühlen und Reiben entstehen gelbe Krystalle, die nach Stehen über Nacht abgesaugt und auf Ton getrocknet werden. Ausbeute 0,2 g. Aus der 25-fachen Menge Alkohol umkrystallisiert gelbe Nadeln vom Smp. 163—165°.

Gef. C 75,91 H 5,82 N 10,32%

Mit Ammoniak, Anilin, Phenylhydrazin, Semicarbazid-acetat gab Phenyl-dibrom-acetoin (II) nur undefinierte, z. T. harzige Produkte.

Oxydation von Phenyl-dibrom-acetoin (II).

I. 1 g Phenyl-dibrom-acetoin wurde in 4 cm³ warmem Eisessig gelöst und nach Erkalten mit 0,5 cm³ 50-proz. wässriger Chromtrioxydlösung versetzt, wobei die Temperatur auf 15° gehalten wurde. Die dunkle Lösung wurde darauf 1 Stunde lang auf 50° erwärmt; dann wurden weitere 0,5 cm³ Chromtrioxydlösung zugefügt und noch eine halbe Stunde bei 50° gehalten. Nach Kühlen mit Eis, vorsichtigem Ausspritzen mit Wasser und Anreiben wurde das zuerst ausfallende Öl krystallin. Es konnten 0,55 g (90%) Phenacylbromid gewonnen werden, die nach Umkrystallisieren aus 7 cm³ Petroläther bei 49—50° schmolzen und mit käuflichem Phenacylbromid keine Schmelzpunktserniedrigung gaben.

II. Zu einer Lösung von 1 g Phenyl-dibrom-acetoin (II) in 10 cm³ Methanol wurden unter Rühren gleichzeitig eine Lösung von 1,6 g (2 Mol) Jod in 20 cm³ Methanol und eine Lösung von 1,2 g Kaliumhydroxyd in 15 cm³ 90-proz. Methanol zugetropft. Die Geschwindigkeiten wurden so reguliert, dass die braune Jodfarbe nie völlig verschwand. Die Mischung wurde noch 1 Stunde bei Zimmertemperatur gehalten, dann unter vermindertem Druck eingengt. Nach Ansäuern mit verdünnter Salzsäure wurde die Mischung mit Äther erschöpfend extrahiert und aus dem Ätherextrakt die sauren Bestandteile mit verdünnter Sodalösung ausgezogen. Aus dieser wurden sie nach Ansäuern in Äther aufgenommen. Nach Abdampfen des Äthers hinterblieben 0,1 g farblose Krystalle, die sich

nach Sublimation durch Schmelzpunkt und Benzylthiuroniumsalz als Benzoesäure erwiesen. In den neutralen Extrakten wurde neben Ausgangsmaterial Phenacylbromid und Phenyl-brom-jod-acetoin (III) gefunden.

2-Phenyl-1-brom-4-jod-acetoin (III).

1 g Phenyl-dibrom-acetoin (II) wurde mit einer 15-proz. Lösung von Natriumjodid (2,4 Mol) in Aceton versetzt. Sofort schied sich Natriumbromid ab, das nach 3 Stunden Stehen abgesaugt wurde. Die Bestimmung von umgesetztem Brom als Silberbromid ergab 1,02 Atome Br. Das Acetonfiltrat wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit wenig Wasser gewaschen. Nach Dekantieren blieb ein weisses Pulver; Ausbeute 1,05 g. Aus 13 cm³ Benzin krystallisierten feine, zu Büscheln vereinigte Nadeln vom Smp. 86—87°.

5,337 mg Subst. gaben 6,345 mg CO₂ und 1,401 mg H₂O

8,050 mg Subst. gaben 9,114 mg Ag-halogenide (Gesamthalogen)

6,590 mg Subst. verbrauchten nach *Zacherl-Kraink* 1,799 cm³ 0,01-n. NaOH (alkalimetrische Bestimmung von Br neben J)

| | | | | |
|--|--------------|--------|---|--|
| C ₁₀ H ₁₀ O ₂ BrJ | Ber. C 32,52 | H 2,73 | Br 21,66 | J 34,40% |
| | Gef. „ 32,42 | „ 2,94 | „ 21,40 ¹⁾ ; 21,82 ²⁾ | „ 33,99 ¹⁾ ; 33,57% ³⁾ |

2-Phenyl-1-brom-acetoin (IV).

2 g Phenyl-dibrom-acetoin (II) wurden in 20 cm³ Alkohol gelöst und mit 2 cm³ Wasser und darauf mit 2 g Aluminiumamalgam⁴⁾ versetzt. Dabei trat Selbsterwärmung bis gegen 50° ein. Man erwärmte 6 Stunden im Wasserbad auf 60—70° und filtrierte dann in 100 cm³ Eiswasser. Nach 2 Tagen waren 0,9 g Krystalle vom Smp. 30—34° ausgefallen (60% der Theorie). Nach Umkrystallisieren aus der 15-fachen Menge Petroläther wurden farblose Nadeln vom Smp. 31—33° erhalten.

3,975 mg Subst. gaben 7,200 mg CO₂ und 1,562 mg H₂O

6,904 mg Subst. gaben 5,374 mg AgBr

| | | | |
|---|--------------|--------|-----------|
| C ₁₀ H ₁₁ O ₂ Br | Ber. C 49,38 | H 4,53 | Br 32,92% |
| | Gef. „ 49,43 | „ 4,39 | „ 33,12% |

Semicarbazon. 0,55 g Phenyl-brom-acetoin (IV) in 2 cm³ Alkohol wurden mit einer verdünnten alkoholischen Lösung von Semicarbazidacetat (aus 1,2 g Hydrochlorid) 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Es krystallisierten 0,5 g farbloses Semicarbazon (74%), das nach wiederholtem Umkrystallisieren aus der 30-fachen Menge Xylol bei 145—146° schmolz.

3,799 mg Subst. gaben 6,130 mg CO₂ und 1,650 mg H₂O

3,583; 3,019 mg Subst. gaben 0,438; 0,371 cm³ N₂ (17°, 732 mm; 20°, 743 mm)

5,862 mg Subst. gaben 3,676 mg AgBr

| | | | | |
|--|--------------|--------|----------------|-----------|
| C ₁₁ H ₁₄ O ₂ N ₃ Br | Ber. C 44,00 | H 4,70 | N 14,00 | Br 26,63% |
| | Gef. „ 44,03 | „ 4,86 | „ 13,86; 14,00 | „ 26,69% |

Oxydation. 0,75 g Phenyl-brom-acetoin (IV) wurden mit 4 cm³ Eisessig vermischt und durch stufenweises Zufügen von 1,1 cm³ 50-proz. wässriger Chromtrioxydlösung (entsprechend 2,8 O-Atomen) wie für das Phenyl-dibrom-acetoin beschrieben, oxydiert. Nach Erkalten und Zusetzen von 12 cm³ Wasser schieden sich 0,5 g Phenacylbromid vom Smp. 47—50° (Lit. 50°) ab.

Methyl-äthyl-phenyl-carbinol (V).

3 g Phenyl-bromacetoin (IV) werden nach *Clemmensen* mit 4 g amalgimtem Zink und 10 cm³ konz. Salzsäure 4 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Abkühlen werden 50 cm³ Wasser zugefügt, die Lösung ausgeäthert und der ätherische Extrakt mit Natriumhydrogencarbonat entsäuert und mit Natriumsulfat getrocknet. Das nach Abdestillieren des Äthers zurückbleibende orange Öl ist noch schwach bromhaltig. Es wird

¹⁾ Aus Gesamthalogenbestimmung.

²⁾ Aus alkalimetrischer Bestimmung.

³⁾ Aus der Differenz.

⁴⁾ *Houben* II, 256.

zur völligen Enthalgogenierung in 20 cm³ Eisessig aufgenommen und mit 8 g Zinkstaub 24 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Zufügen von 50 cm³ Wasser wird erneut ausgeäthert, mit Hydrogencarbonat entsäuert und mit Natriumsulfat getrocknet. Beim Rektifizieren erhält man wenig leicht gelbliches Öl vom Sdp._{12 mm} 110—115° (Lit. Sdp._{16 mm} 103°).

p-sek. Butyl-acetanilid (VI).

Zur schärferen Identifizierung wurde das Carbinol (V) nach *J. Glattfeld* und *E. Wertheim*¹⁾ durch Wasserabspaltung bei 100° in Phenyl-dimethyl-äthylen verwandelt, dieses mit Natrium in feuchtem Äther zu sek. Butyl-benzol reduziert, dann mit Salpetersäure-Schwefelsäure in p-Stellung nitriert und mit Zinn und Salzsäure die Nitrogruppe reduziert. Das Acetylderivat des p-sek. Butylanilins (VI) schmolz nach Umkrystallisieren aus Alkohol bei 124—125° (Lit.¹⁾ 125°).

Wir danken Herrn Dr. *R. Gunst* für die Zusammenstellung der sorgfältigen Arbeiten von *Frl. M. Herzog*.

Universität Basel, Anstalt für organische Chemie.

16. Über die Synthese von Aryl-ketolen durch Addition von aromatischen Kohlenwasserstoffen in der Diacetylreihe

(Carbonylgruppen und arom. Kohlenwasserstoffe, 2. Mitt.²⁾)

von *Jacques Wegmann* und *Hans Dahn*.

(15. XII. 45.)

Wie wir in der vorstehenden Mitteilung zeigen konnten, reagiert Dibrom-diacetyl mit Benzol und Aluminiumchlorid nicht unter Halogenwasserstoffabspaltung nach dem *Friedel-Crafts*'schen Typus, sondern lagert Benzol an eine Carbonylgruppe an und bildet 2-Phenyl-1,4-dibrom-acetoin (IV). Um den Geltungsbereich dieser unerwarteten Additionsreaktion zu untersuchen, haben wir auf eine Reihe von Verbindungen der Diacetyl- und Dipropionylreihe aromatische Kohlenwasserstoffe und Aluminiumchlorid einwirken gelassen.

Zur Feststellung, ob diese Additionsreaktion an die Anwesenheit von Halogen im Diketon gebunden ist, haben wir zunächst das Verhalten von Diacetyl gegen Benzol und Aluminiumchlorid geprüft. Aus dieser Reaktion resultierte in 48% Ausbeute ein farbloses Öl vom Sdp._{10 mm} 132°, das wir durch seine Derivate als das erwartete 2-Phenyl-acetoin (I) identifizierten. Dieser Körper war schon von *Diels* und *Johlin*³⁾ aus Diacetyl-mono-(methyl-p-tolyl)-hydrazon mit Phenylmagnesiumbromid und anschließende Hydrolyse des Hydrazons erhalten worden. Wir erhielten 2-Phenyl-acetoin (I) auf einfacherem Wege in 31% Ausbeute, als wir 1 Mol Phenylmagnesiumbromid auf Diacetyl einwirken liessen. Man erreicht

¹⁾ Am. Soc. 43, 2683 (1921).

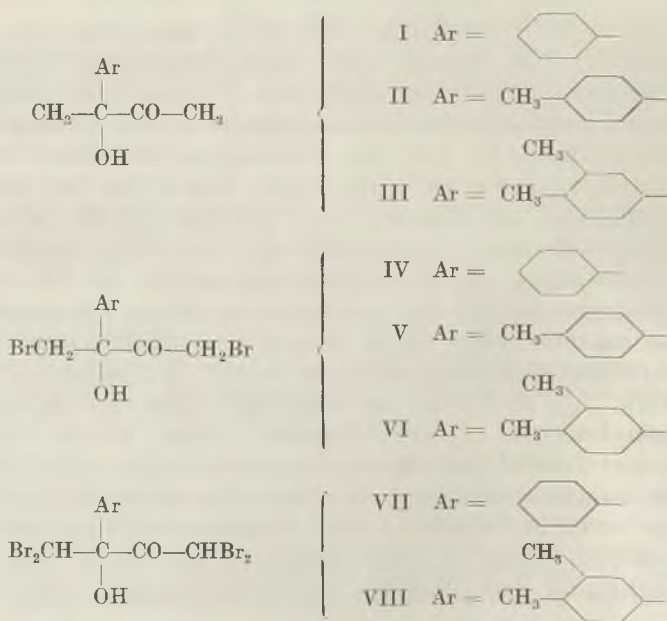
²⁾ 1. Mitt., Helv. 29, 95 (1946).

³⁾ B. 44, 403 (1911).

diese einseitige Reaktion nach *Grignard* durch gutes Kühlen und dadurch, dass man Phenylmagnesiumbromid zum Diacetyl zutropfen lässt, wodurch das Diketon immer im Überschuss bleibt.

Auch Toluol wird von Diacetyl bei Anwesenheit von Aluminiumchlorid addiert. Das in 40% Ausbeute entstandene 2-p-Tolyl-acetoin (II) war von *P. Fréon*¹⁾ aus Tolylmagnesiumbromid und Diacetyl-monoxim und nachfolgende Hydrolyse des Oxims dargestellt worden. Die Konstanten des auf beiden Wegen erhaltenen Acetoin (II) und Semicarbazons waren identisch; dagegen wies das von *Fréon* aus Diacetyl-monoxim gewonnene 2-p-Tolyl-acetoin-oxim einen um 10° höheren Schmelzpunkt auf als das von uns aus dem Acetoin (II) durch Oximierung erhaltene. Da unsere Substanz rein ist, nehmen wir an, dass die Differenz der auf verschiedenen Wegen dargestellten Oxime auf Stereoisomerie beruht.

Der Umsatz von Diacetyl mit Mischxylyl ergab kein einheitliches Produkt. Mit m-Xylyl konnte kein Ketol erhalten werden; dagegen gewannen wir mit o-Xylyl in 36% Ausbeute das entsprechende Ketol, dem wir in Analogie zum unten beschriebenen Produkt aus Dibrom-diacetyl (VI) die Struktur eines 2-(o-Xylyl)-acetoin (III) zuweisen. In keinem Falle war es möglich, durch Verschärfung der Bedingungen zwei Phenylkerne einzuführen.



¹⁾ Ann. chim [11] 11, 476, (1939).

Auch beim symm. Dibrom-diacetyl liess sich die schon beschriebene¹⁾ Reaktion mit Benzol auf Toluol übertragen. Das in 70 % Ausbeute entstandene 2-p-Tolyl-1,4-dibrom-acetoin (V) konnte durch Oxydation mit Chromtrioxyd in Eisessig zum bekannten p-Methyl-phenacylbromid abgebaut werden, was auch die p-Stellung der Methylgruppe beweist.

Die Einwirkung von Xylol führten wir zunächst mit Misch-xylol aus, da uns die reinen Isomeren nicht in genügender Menge zur Verfügung standen. Dennoch erhielten wir in 61 % Ausbeute ein einheitliches Produkt; es lieferte bei der oxydativen Spaltung ein farbloses Dimethyl-phenacylbromid vom Smp. 63–65°²⁾. Zum genaueren Nachweis bauten wir sein Pyridiniumsalz nach Kröhnke³⁾ zur 3,4-Dimethyl-benzoesäure ab, die mit authentischem Material⁴⁾ keine Schmelzpunktserniedrigung gab. Es hatte also nicht, wie erwartet, das m-Xylol, sondern das o-Xylol reagiert, und 2-(o-Xylol)-1,4-dibrom-acetoin ([3,4-Dimethyl-phenyl]-brommethyl-bromacetylcarbinol) (VI) gebildet. Dieses Ergebnis konnte durch einen kleinen Ansatz mit o-Xylol bestätigt werden. m-Xylol dagegen reagiert nur unter Bildung eines nicht weiter untersuchten roten Öles. Da o-Xylol im Gemisch bevorzugt wird, scheint es bei der Addition reaktionsfähiger zu sein.

Wie ein Vergleich der Ausbeuten zeigt, scheinen benachbarte Bromatome die Additionsfähigkeit der Carbonylgruppe zu begünstigen. Indessen gelang es auch hier in keinem Falle, die Addition von 2 Phenylkernen durch Verschärfung der Bedingungen zu erreichen. Das dabei zu erwartende 2,3-Di-phenyl-1,4-dibrom-butandiol-(2,3) (IX) konnte auch durch Behandlung von Dibrom-diacetyl⁵⁾ oder 2-Phenyl-1,4-dibrom-acetoin (IV) nach Grignard nicht erhalten werden; in beiden Fällen entstanden nur undefinierte Öle, die nicht weiter untersucht wurden. Wir versuchten schliesslich, 2,3-Di-phenylbutan-2,3-diol, das aus Diacetyl und 2 Mol Phenylmagnesiumbromid darzustellen ist, direkt zu bromieren, erhielten dabei aber nur 1,4-Dibrom-2,3-diphenyl-buten-(2)⁶⁾ (X) in 40 % Ausbeute. Es müs-



¹⁾ Siehe 1. Mitt., Helv. 29, 95 (1946).

²⁾ 3,4-Dimethyl-phenacylbromid, „schwach bräunliche Nadeln“, Smp. 62° (korr.), Jacobs, Heidelberg, J. Biol. Chem. 21, 457 (1915). Das 3,5- und das 2,6-Dimethyl-phenacylbromid sind nicht bekannt.

³⁾ B. 66, 604 (1933).

⁴⁾ Frey, Horowitz, J. pr. [2] 43, 122 (1891).

⁵⁾ Auch mit 1 Mol Phenylmagnesiumbromid war kein Phenyl-dibrom-acetoin (IV) zu erhalten, im Gegensatz zur erwähnten Darstellung von Phenyl-acetoin (I).

⁶⁾ Allen, Elliot, Bell, C. 1939, II, 842; Salkind, Mosunov, Ž. obšč. Chim. 10, 72 (1940); C. 1940, II, 1863.

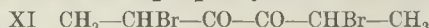
sen also aus dem Glykol durch Säurewirkung¹⁾ 2 Mol Wasser abgespalten und an das entstandene Dien in 1,4-Stellung 2 Bromatome addiert worden sein.

Da die Bromatome beim Dibrom-diacetyl einen günstigen Einfluss auf die Additionsreaktion auszuüben schienen, war es von Interesse, die Reaktion auch auf höher bromierte Diacetyls zu übertragen. In der Tat addiert Tetrabrom-diacetyl²⁾ Benzol in Gegenwart von Aluminiumchlorid und bildet 2-Phenyl-1,1,4,4-tetrabrom-acetoin (VII). Die Reaktion verläuft ebenso gut wie beim Dibrom-diacetyl; die beiden zusätzlichen Bromatome scheinen aber keine weitere Verbesserung zu bewirken. Das in farblosen Nadeln krystallisierende 2-Phenyl-tetrabrom-acetoin (VII) ähnelt dem 2-Phenyl-dibrom-acetoin (IV) in seinen Eigenschaften; auch hier waren keine Derivate der Hydroxyl- oder Carbonylgruppe zu erhalten.

Der entsprechende Umsatz mit Toluol ergab statt des erwarteten Acetoin schmierige Produkte. Mit Mischxylo wurde neben öligen Produkten in schlechter Ausbeute 2-(o-Xylyl)-1,1,4,4-tetrabrom-acetoin erhalten. Seine Struktur als (3,4-Dimethyl-phenyl)-dibrommethyl-dibromacetyl-carbinol (VIII) folgt daraus, dass mit o-Xylo der gleiche Körper (VIII) entstand.

Um die Reihe der bromierten Diacetyls zu vervollständigen, schlossen wir auch das schwer zugängliche Hexabrom-diacetyl³⁾ in unsere Untersuchung ein. Benzol und Aluminiumchlorid wirken indes merkwürdigerweise auf dies völlig bromierte Diacetyl überhaupt nicht ein; das Ausgangsmaterial wurde unverändert zurückerhalten⁴⁾.

Schliesslich unternahmen wir noch einige orientierende Experimente in der Reihe des Dipropionyls⁵⁾. Ein Versuch, das Diketon mit Benzol und Aluminiumchlorid umzusetzen, lieferte nur das Ausgangsmaterial zurück. Mit Toluol resultierte ein Öl, das keine Carbonylreaktionen mehr zeigte, also auch kein Ketol enthalten konnte. Da in der Diacetylreihe, wie wir oben zeigten, Bromsubstitution die Additionsreaktion begünstigte, versuchten wir nun, das symmetrische α, α' -Dibrom-dipropionyl



darzustellen. Die direkte Bromierung ergab ein Öl, aus dem schliesslich ein Dibrom-dipropionyl in grossen gelben Tafeln erhalten werden konnte. Wegen der Ähnlichkeit mit Dibrom-diacetyl weisen wir ihm symm. Struktur zu⁶⁾. Wir setzten dieses Dibrom-dipropionyl mit

¹⁾ Mit völlig trockenen Reagentien entstand (X) nur in Spuren.

²⁾ *H. F. Keller*, B. 23, 35 (1890).

³⁾ *C. L. Jackson, R. Adams*, Am. Soc. 37, 2527 (1915).

⁴⁾ Ein entsprechender Versuch mit Toluol ergab nur starke Verschmierung.

⁵⁾ Wir erhielten dies Diketon durch Oxydation von Propioin (*Org. Synth.* 13, 24) mit Kupfer(II)-acetat in Essigsäure oder mit Eisen(III)-chlorid in ätherisch-wässriger Lösung.

⁶⁾ Versuche, die Struktur zu beweisen, sind von anderer Seite aus im Gange.

Benzol und Aluminiumchlorid um, erhielten aber nicht, wie aus Analogie zum Phenyl-dibrom-acetoin (IV) erwartet, ein festes Produkt, sondern ein gelbes, bromhaltiges Öl, das bei der Oxydation auch kein α -Brom-propiofenon lieferte; vermutlich handelte es sich nur um ein Selbstkondensationsprodukt. Auch die Bromsubstitution hat also keine Erleichterung der Addition gebracht. Da nach diesen Versuchen die Additionsreaktion in der Dipropionylreihe nicht günstig zu verlaufen schien, haben wir diese Versuche nicht fortgesetzt. Dagegen sind wir weiterhin damit beschäftigt, diese Reaktion in anderen Richtungen zu untersuchen, und verschieben daher die Diskussion des Mechanismus bis zum Vorliegen weiterer Resultate.

Da die bromierten Phenyl-acetoin, wie erwähnt, mit Carbonylreagentien keine normalen Derivate geben, interessierte uns das Verhalten der zugrunde liegenden bromierten Diketone. Wie aus Analogie zu anderen α -Halogenketonen zu erwarten war, geben die halogenierten Diacetyls keine normalen Ketonderivate. Eine Ausnahme bildet lediglich die Darstellung der Chinoxaline und Naphto-chinoxaline des Dibrom- und Tetrabrom-diacetyls. Die so gebildeten Produkte 2,3-Di-(ω -brommethyl)-chinoxalin und 2,3-Di-(ω -dibrommethyl)-chinoxalin erwiesen sich als identisch mit den durch Bromierung von 2,3-Dimethyl-chinoxalin erhaltenen Derivaten¹⁾, deren bisher umstrittene Struktur durch diese Bildungsweise bewiesen ist.

Während im Dibrom-diacetyl die Bromatome unerwarteterweise nicht mittels Natriumjodid gegen Jod austauschbar sind, gelingt dies beim Di-brommethyl-chinoxalin leicht; die entsprechenden Tetrabromderivate werden bei dieser Reaktion, wie zu erwarten, reduziert. Beim Dibrom-dipropionyl dagegen sind die Bromatome normal austauschbar. Hier liessen sich ausser den Chinoxalinen auch andere Ketonderivate fassen, nämlich ein Benzyl-phenyl-osazon und ein allerdings unbeständiges Monosemicarbazon. Diese Unterschiede gegenüber dem Dibrom-diacetyl zeigen wieder die schon oben konstatierte abweichende Reaktionsweise der Dipropionylreihe.

Experimenteller Teil.

2-Phenyl-acetoin (Methyl-phenyl-acetyl-carbinol) (I).

a) Mit Aluminiumchlorid. 15 g gut gepulvertes Aluminiumchlorid (2 Mol) werden mit 40 cm³ absolutem Benzol übergossen. Eine Lösung von 5 g Diacetyl in 100 cm³ absolutem Benzol wird unter mechanischem Rühren schnell zugetropft (Dauer ca. 5 Minuten). Der Kolben wird in ein 30° warmes Wasserbad gestellt und dieses innert 15 Minuten auf 60° erwärmt. Unter fortwährendem Rühren wird eine Stunde erhitzt, wobei die Temperatur bis 70° gesteigert wird. Die Lösung färbt sich von gelb über orange bis rot-braun. Das Bad wird entfernt und die Lösung erkalten gelassen. Nun zersetzt man die Mischung durch langsames Eingiessen in 150 cm³ Eiswasser, fügt ca. 10 cm³ konz. Salzsäure zu, schüttelt im Scheidetrichter gut durch, trennt die Benzolschicht ab und trocknet

¹⁾ Bennet, Willis, Soc. 1928, 1960; S. Th. Henderson, Soc. 1929, 466; Bennet, Willis, Soc. 1930, 1709.

sie mit Natriumsulfat und wenig Natriumhydrogencarbonat. Die Lösung ist klar orange und fluoresziert rot. Nach Abdestillieren des Benzols auf dem Wasserbad wird das zurückbleibende Öl im Vakuum rektifiziert. Sdp. 10 mm 132°, 4,5 g (48% der Theorie) eines farblosen dünnflüssigen Öles.

b) Nach Grignard. Aus 3,5 g Magnesium und 22 g Brombenzol wird eine Grignard-Lösung dargestellt; sie wird auf 0° abgekühlt, filtriert, und unter starkem Rühren in eine, mit Kältemischung gekühlte Lösung von 10 g Diacetyl in 80 cm³ absolutem Äther eingetroppt. Hierauf wird noch 10 Minuten weitergerührt und dann das Reaktionsgemisch auf Eis gegossen. Nun fügt man Salzsäure zu, trennt die Ätherschicht ab, schüttelt mit Soda- und Hydrogensulfatlösung und trocknet mit Natriumsulfat. Nach Abdestillieren des Äthers bleibt ein grünes Öl, welches im Vakuum bei 128—130°/10 mm übergeht. Die erhaltenen 5 g entsprechen 31% der Theorie. (Lit. Sdp. 8 mm 122—123°¹⁾).

Semicarbazon. 0,5 g 2-Phenyl-acetoin (I) werden in Alkohol gelöst und zu einer wässrig-alkoholischen Lösung von 0,5 g Semicarbazidhydrochlorid und 0,4 g Kaliumacetat zugegeben. Nach kurzem Stehen und Anreiben krystallisiert das Semicarbazon aus; 0,55 g (81% d. Th.). Aus Methanol umkrystallisiert, fällt es als feines weisses Pulver vom Smp. 183—184° aus. (Lit. Smp. 183°²⁾).

$C_{11}H_{15}O_2N_3$ Ber. N 18,99 Gef. N 18,70%

Oxim. 0,3 g Hydroxylaminhydrochlorid werden in Wasser gelöst und zu einer alkoholischen Lösung von 0,2 g Kaliumhydroxyd unter Kühlung zugegeben. 0,5 g 2-Phenyl-acetoin (I) in Alkohol werden zugefügt und die Lösung während 2 Minuten zum Sieden erhitzt. Nach Erkalten wird tropfenweise unter Reiben Wasser zugesetzt, wobei das Oxim krystallin ausfällt. Die erhaltenen 0,5 g (93% d. Th.) werden in Methanol gelöst und krystallisieren als farblose Nadeln vom Smp. 110—111°.

4,306 mg Subst. gaben 0,310 cm³ N₂ (16°, 732 mm)

$C_{10}H_{13}O_2N$ Ber. N 7,82 Gef. N 8,06%

Phenylhydrazon. 0,3 g 2-Phenyl-acetoin und 0,3 g Phenylhydrazin werden in 70-proz. Essigsäure gelöst und erwärmt. Bei 80° scheidet sich ein dicker gelber Niederschlag ab. Ausbeute an Phenylhydrazon 0,42 g (90% d. Th.). Beim Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol erhält man farblose, kleine Krystalle vom Smp. 140—141°.

4,113 mg Subst. gaben 0,400 cm³ N₂ (24°, 737 mm)

$C_{16}H_{18}ON_2$ Ber. N 11,01 Gef. N 10,84%

2, 3-Diphenyl-butandiol-(2, 3).

Die Vorschrift wurde gegenüber den Angaben von Tiffeneau und Levy³⁾ vereinfacht. Es wird eine Grignard-Lösung dargestellt aus 3,8 g Magnesium und 24 g Brombenzol in 100 cm³ absolutem Äther. Unter Kühlung mit Eis und kräftigem Rühren werden 5 g Diacetyl in 25 cm³ Äther in diese Lösung eingetroppt. Dann wird noch eine Stunde auf dem Wasserbade zum gelinden Sieden erhitzt; nach Erkalten giesst man auf Eis, fügt Salzsäure zu, trennt den Äther ab, schüttelt mit Hydrogensulfid- und mit Sodalösung und trocknet mit Natriumsulfat. Nach Abdestillieren des Äthers bleibt ein gelbes Öl, das beim Anreiben krystallin wird. Ausbeute 6 g (43% der Theorie). Aus Alkohol erhält man farblose Krystalle vom Smp. 119—121°.

1,4-Dibrom-2,3-diphenyl-buten-(2) (X).

2 g Diphenyl-butandiol werden in 10 cm³ Chloroform schwach zum Sieden erhitzt, und 3 g Brom in 10 cm³ Chloroform eingetroppt⁴⁾. Die Lösung färbt sich erst dunkelgrün, dann braunrot. Nach beendetem Zutropfen wird noch eine halbe Stunde weiter erhitzt.

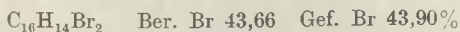
¹⁾ Diels, Jöhlín, B. 44, 403 (1911).

²⁾ K. v. Auwers, H. Manss, Bioch. Z. 192, 200 (1928).

³⁾ Bl. [4] 41, 1362 (1927).

⁴⁾ Mit getrocknetem Brom und absolutem Chloroform geht die Bromierung nicht in dieser Richtung.

Das Chloroform wird im Vakuum entfernt. Aus dem hinterbleibenden Öl krystallisieren farblose Nadeln; Rohausbeute 1,5 g (40% der Theorie). Aus viel Petroläther krystallisiert das Dibromid in langen, farblosen Nadeln vom Smp. 149—150°. (Lit. 144—147^{0 1}), 149—150^{0 2}.)

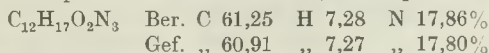


2-p-Tolyl-acetoin (p-Tolyl-methyl-acetyl-carbinol) (II).

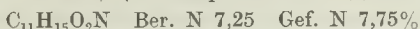
10 g Aluminiumchlorid und 5 g Diacetyl in 140 cm³ absolutem Toluol, werden, wie für 2-Phenyl-acetoin (I) angegeben, umgesetzt. Die Toluollösung färbt sich undurchsichtig braunrot, nach Zersetzen mit Eiswasser-Salzsäure ist sie gelb-orange, mit schwacher Fluoreszenz. Das Toluol wird auf dem Wasserbad bei 40 mm abdestilliert, und der Rückstand fraktioniert.

Sdp. 14 mm 140°; 4 g (40% der Theorie) eines gelben, stark lichtbrechenden Öles. (Lit. Sdp. 4 mm 116—117^{0 3}.)

Semicarbazon. 0,5 g 2-p-Tolyl-acetoin werden in Alkohol gelöst und zu einer wässrig-alkoholischen Lösung von 0,5 g Semicarbazidhydrochlorid und 0,4 g Kaliumacetat zugegeben. Nach kurzem Stehen und Anreiben krystallisiert das Semicarbazon aus. Die erhaltenen 0,6 g (92% der Theorie) werden in 2 cm³ Alkohol gelöst und fallen als kleine, farblose Nadeln vom Smp. 175—177° wieder aus. (Lit. Smp. 173^{0 3}.)



Oxim. Dargestellt auf die übliche Art, aus 0,5 g Toly-acetoin, fällt das Oxim nach Erkalten und Zufügen von Wasser als Öl aus. In verdünntem Alkohol gelöst, krystallisiert es bei ganz langsamem Abkühlen in farblosen Nadeln vom Smp. 115—117°. Die Ausbeute beträgt 0,4 g (75% der Theorie). (Lit. Smp. 125—126^{0 3}.)

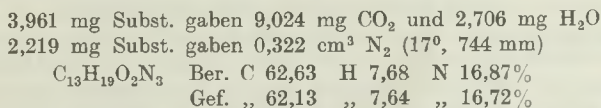


2-(o-Xyllyl)-acetoin ((3,4-Dimethyl-phenyl)-acetyl-methylcarbinol) (III).

2 g Diacetyl in 40 cm³ absolutem o-Xylol und 8 g Aluminiumchlorid in 20 cm³ o-Xylol werden, wie oben beschrieben, umgesetzt. Nach beendetem Erwärmen hat sich ein braunroter Niederschlag gebildet. Nach Zersetzen mit Eiswasser und Salzsäure wird die Xylollösung orangerot, grün fluoreszierend. Sie wird mit Natriumsulfat getrocknet und bei 10 mm destilliert.

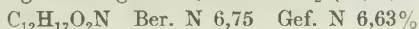
Sdp. 10 mm 159—163°, 1,6 g (36% der Theorie), gelbes dickflüssiges Öl.

Semicarbazon. 0,5 g des Acetoin (III), 0,5 g Semicarbazidhydrochlorid und 0,4 g Kaliumacetat geben in verdünnt alkoholischer Lösung nach dem Stehen und Reiben das Semicarbazon, das aus Alkohol umkrystallisiert wird, farblose, feine Krystalle, Smp. 195—196°.



Oxim. 0,5 g 2-(o-Xyllyl)-acetoin (III) werden in Alkohol gelöst, und auf die übliche, oben mehrfach beschriebene Art in das Oxim verwandelt. Das Oxim fällt zunächst ölig aus, nach längerem Stehen aber krystallisiert es. Aus verdünntem Alkohol erhält man farblose, kurze Nadeln vom Smp. 101—103°.

6,150 mg Subst. gaben 0,358 cm³ N₂ (18,5°, 739 mm)



¹) Allen, Elliot, Bell, C. 1939, II, 842.

²) Salkind, Mosunov, Ž. obšč. Chim. 10, 517 (1940), C. 1940, II, 1863.

³) P. Fréon, Ann. chim. [11] II, 476 (1939).

2,3-Di-(ω -brommethyl)-chinoxalin.

0,5 g Dibromdiacetyl und 0,3 g α -Phenylendiamin werden in Alkohol kalt gelöst und zusammengegossen. Dabei färbt sich die Lösung dunkel und nach Anreiben krystallisiert das Chinoxalin aus. Die Ausbeute beträgt 0,6 g, was 94% der Theorie entspricht. Aus Alkohol erhält man das Chinoxalin in farblosen Nadeln, die aber nach dem Trocknen, auch nach wiederholtem Umkrystallisieren, einen leichten Stich ins Graue aufweisen. Smp. 150°. (Lit. Smp. 150°¹.)

4,134 mg Subst. gaben 0,325 cm³ N₂ (17,5°, 742 mm)

C₁₀H₈N₂Br₂ Ber. N 8,86 Gef. N 9,02%

2,3-Di-(ω -jodmethyl)-chinoxalin.

0,5 g Di-(brommethyl)-chinoxalin werden in absolutem Aceton gelöst und tropfenweise unter Rühren eine Lösung von 0,5 g Natriumjodid in Aceton zugefügt. Die Lösung wird orange und Natriumbromid scheidet sich ab. Plötzlich krystallisiert das Dijodid in langen Nadeln aus. Das Reaktionsgemisch wird zum Sieden erhitzt und heiss filtriert, wonach das Chinoxalin im Filtrat wieder auskrystallisiert. Die Ausbeute beträgt 0,5 g (77% der Theorie), die aus 20 cm³ Aceton in langen farblosen, filzigen Nadeln auskrystallisieren. Smp. 152—153°.

5,592 mg Subst. gaben 0,320 cm³ N₂ (16°, 729 mm)

6,392 mg Subst. gaben 7,225 mg AgJ

C₁₀H₈N₂J₂ Ber. N 6,83 J 61,91%

Gef. „ 6,48 „ 61,10%

2,3-Di-(ω -brommethyl)- α , β -naphto-chinoxalin.

In einer Lösung von 0,4 g 1,2-Naphtylendiamin in Alkohol werden 0,5 g Dibromdiacetyl eingetragen. Beim Rühren löst es sich unter intensiver Rotfärbung, und nach ca. 30 Minuten ist das Naphto-chinoxalin ausgefallen. Es ist in Essigester leicht löslich, schwerer in Alkohol. Die erhaltenen 0,7 g entsprechen 95% der Theorie. Umkrystallisiert wird aus Essigester und wenig Alkohol: beige-gelbe Nadelchen vom Smp. 196—198°.

5,154 mg Subst. gaben 0,331 cm³ N₂ (18,5°, 730 mm)

C₁₄H₁₀N₂Br₂ Ber. N 7,65 Gef. N 7,22%

2-p-Tolyl-1,4-dibrom-acetoin (V)².

18 g wasserfreies, feingepulvertes Aluminiumchlorid werden in 300 cm³ absolutem Toluol suspendiert. Unter Rühren trägt man nun 16,5 g Dibromdiacetyl ein, wobei sich die Lösung grün färbt. Wenn alles eingetragen ist, wird der Kolben in ein Wasserbad von 30° gestellt, und dieses innert einer Viertelstunde auf 60° erwärmt. In einer Stunde lässt man die Temperatur, unter fortwährendem Rühren, bis 70° steigen. (Massige HCl-Entwicklung). Nach Erkalten rührt man in 300 cm³ Eiswasser ein, wobei sich die Toluollösung erst grasgrün, dann orange färbt. Nach Zufügen von ca. 10 cm³ konz. Salzsäure schüttelt man im Scheidetrichter gut durch und fügt, zur besseren Trennung der Schichten, noch 20 cm³ Toluol zu. Nach Trocknen der Toluolschicht mit Natriumsulfat und Natriumhydrogencarbonat wird das Toluol bei 30 mm auf dem Wasserbad abdestilliert; braunes Öl, das beim Abkühlen und Reiben erstarrt. Durch Zufügen von 15 cm³ Petroläther werden die schmierigen Nebenprodukte weggelöst und die Krystallisation vervollständigt. Man filtriert und wäscht nochmals mit wenig Petroläther. Die Ausbeute an farblosem, krümeligem Acetoin beträgt 16 g (70% der Theorie). Zum Umkrystallisieren kann man 1 g in 0,5 cm³ Benzol lösen und mit 15 cm³ Petroläther übersichten, oder in 30 cm³ Petroläther lösen. Man erhält farblose, derbe Nadeln vom Smp. 74—75°.

2,113; 3,820 mg Subst. gaben 3,074; 5,482 mg CO₂ und 0,705; 1,280 mg H₂O

7,897; 5,997 mg Subst. gaben 8,957; 6,823 mg AgBr

C₁₁H₁₂O₂Br₂ Ber. C 39,29 H 3,60 Br 47,57%

Gef. „ 39,68; 39,14 „ 3,73; 3,75 „ 48,27; 48,42%

¹) S. Th. Henderson, Soc. 1929, 466.

²) Dieser Körper wurde in unserem Laboratorium zuerst von Margrit Herzog + dargestellt.

Oxydativer Abbau.

1 g 2-p-Tolyl-1,4-dibrom-acetoin (V) wird warm in 4 cm³ Eisessig gelöst und während einer Stunde in einem Wasserbad auf 50° erwärmt. Im Verlauf einer halben Stunde wird 1 cm³ einer 50-proz. Chromtrioxydlösung zuge tropft. Nach Erkalten werden 5 cm³ Wasser zu der grünen Lösung gegeben, wobei sich ein Öl abscheidet, das beim Reiben bald krystallisiert. Ausbeute 0,6 g (94% der Theorie). Nach Umkrystallisieren aus Alkohol erhält man das p-Methyl-phenacyl-bromid in glitzernden Blättchen vom Smp. 48—50°. (Lit. 48—50°.)

2-(o-Xylyl)-1,4-dibrom-acetoin (VI).

6 g Aluminiumchlorid in 150 cm³ absolutem, technischem Xylol und 5 g Dibrom-diacetyl werden, wie beim Tolyl-dibrom-acetoin beschrieben, eine Stunde auf 70° erwärmt und wie üblich aufgearbeitet. Die ganz schwach fluoereszierende, orange-rote Xylollösung wird mit Calciumsulfat und Natriumhydrogencarbonat getrocknet, und das Xylol bei 20 mm auf dem Wasserbad möglichst vollständig abdestilliert. Das zurückbleibende rote Öl krystallisiert nach Abkühlen und Anreiben; Versetzen mit 5 cm³ Petroläther vervollständigt die Krystallisation. Die gelbe Substanz wird abfiltriert und nach Waschen mit 20 cm³ Petroläther rein weiss erhalten. Die erhaltenen 5 g Acetoin entsprechen einer Ausbeute von 70% der Theorie. 1 g kann aus 45 cm³ Petroläther oder aus 1,5 cm³ Benzol und 20 cm³ Petroläther umkrystallisiert werden; farblose Nadeln vom Smp. 85—87°.

4,210; 4,421 mg Subst. gaben 6,636; 6,660 mg CO₂ und 1,53; 1,62 mg H₂O

4,110 mg Subst. verbrauchen 3,39 cm³ AgNO₃ (f. 0,555)

| | | | |
|--|---------------------|--------------|-----------|
| C ₁₂ H ₁₄ O ₂ Br ₂ | Ber. C 41,17 | H 4,03 | Br 45,66% |
| | Gef. „ 41,23; 41,11 | „ 4,07; 4,10 | „ 45,78% |

Oxydativer Abbau. 0,5 g 2-(o-Xylyl)-1,4-dibrom-acetoin (VI) werden in 3 cm³ Eisessig warm gelöst und mit 1 cm³ einer 25-proz. Chromtrioxydlösung vermischt. Beim Versetzen der erkalteten Oxydationslösung mit 10 cm³ Wasser wird ein Öl ausgefällt, das bei längerem Stehen und Reiben krystallin wird. Die erhaltenen 0,3 g (94% der Theorie) werden in Alkohol gelöst und krystallisieren daraus in farblosen, opaleszierenden Nadeln. Der Schmelzpunkt liegt nach mehrmaligem Umkrystallisieren konstant bei 65°. (Lit. 3,4-Dimethyl-phenacyl-bromid, Smp. 62° (korr.), schwach bräunliche Nadeln aus Ligroin¹).

3,4-Dimethyl-phenacyl-pyridinium-bromid. 0,5 g des Phenacylbromids werden in 0,5 g Pyridin gelöst. Beim Reiben krystallisiert das Salz unter Wärmeentwicklung aus. Nach mehrmaligem Waschen mit absolutem Äther und Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol erhält man die Substanz in farblosen, kurzen, zu Büscheln vereinigten Nadeln vom Smp. 232° (Rotfärbung).

5,920 mg Subst. gaben 0,262 cm³ N₂ (17°, 738 mm)

C₁₅H₁₄ONBr Ber. N 4,58 Gef. N 4,96%

Oxydation zu 3,4-Dimethyl-benzoesäure. Der Abbau des Pyridiniumsalzes erfolgte nach Kröhnke²).

0,25 g 3,4-Dimethyl-phenacyl-pyridinium-bromid werden in 20 cm³ Wasser und 6 cm³ Alkohol gelöst und 1 cm³ 10-n. NaOH zugefügt, wobei sich die Lösung gelb färbt. Sie wird auf dem Wasserbad während 10 Minuten erwärmt, von einem geringen flockigen Niederschlag abfiltriert und erkalten gelassen. Beim Zufügen von 1 cm³ 10-n. Salzsäure fällt die 3,4-Dimethyl-benzoesäure aus; 0,12 g (86% der Theorie). Aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert zeigt sie den Smp. 161—163°. Die Mischprobe mit authentischer 3,4-Dimethyl-benzoesäure³) ergab keine Schmelzpunktserniedrigung.

¹) Jacobs, Heidelberg, J. Biol. Chem. 21, 457 (1915).

²) B. 66, 604 (1933).

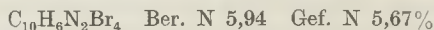
³) H. Frey, M. Horowitz, J. pr. [2] 43, 122 (1891), Darstellung aus o-Xylol, Eisessig, Zinkchlorid und Phosphoroxchlorid. Smp. 163°.

Tetrabrom-diacetyl.

10 g Diacetyl werden auf Grund von Angaben von *H.F. Keller*¹⁾ in 50 cm³ Chloroform auf dem Wasserbad, unter Feuchtigkeitsausschluss, zum Sieden erhitzt. Innert einer Stunde tropft man 80 g (4,1 Mol) mit Schwefelsäure getrocknetes Brom zu. Dann wird 72 Stunden weiter zum gelinden Sieden erhitzt²⁾. Das Chloroform wird im Vakuum abdestilliert und das zurückbleibende orangefarbene Öl wird an der Luft beim Stehen zum grössten Teil kristallin.

2,3-Di-(ω -dibrommethyl)-chinoxalin.

0,5 g Tetrabrom-diacetyl und 0,3 g o-Phenylendiamin werden in Alkohol kalt gelöst und zusammengegossen. Beim Anreihen kristallisiert das Chinoxalin orangefarbig aus; 0,6 g, Ausbeute 100% der Theorie. Aus Alkohol kleine farblose Nadeln vom Smp. 224⁰ (unter Schwarzfärbung). (Lit. Smp. 234⁰ (korr.)³⁾.)



2-Phenyl-1,1,4,4-tetrabrom-acetoin (VII).

5 g Tetrabrom-diacetyl werden in 150 cm³ absolutem Benzol gelöst und unter Rühren auf 3,5 g fein gepulvertes Aluminiumchlorid (2 Mol) gegossen. Man stellt in ein Wasserbad von 30⁰ ein und erhitzt innert einer halben Stunde auf 60⁰, worauf man noch eine Stunde bei dieser Temperatur hält. Nach Erkalten wird die Lösung in 150 cm³ Eiswasser und 5 cm³ konz. Salzsäure eingerührt. Die orange-gelbe nicht fluoreszierende Benzollösung wird mit Natriumsulfat und Natriumhydrogencarbonat getrocknet. Nach Abdestillieren des Benzols im Vakuum bleibt ein orangefarbiges Öl, das beim Anreiben fest wird. Die Krystallisation wird durch Zufügen von 5 cm³ Petroläther vervollständig. Nach Waschen mit 10 cm³ Petroläther erhält man 3 g farblose, krümelige Substanz (51% der Theorie).

0,5 g werden in 35 cm³ Petroläther umkrystallisiert, oder in 1 cm³ Benzol gelöst und mit 10 cm³ Petroläther überschichtet. Es werden farblose, derbe Nadeln vom Smp. 114—116⁰ erhalten.

4,542 mg Subst. gaben 4,19 mg CO₂ und 0,75 mg H₂O

2,971 mg Subst. verbr. 3,58 cm³ AgNO₃ (f. 0,555)

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2\text{Br}_4$ Ber. C 25,02 H 1,68 Br 66,63%

Gef. „ 25,17 „ 1,85 „ 66,88%

Ein Parallelversuch mit Toluol ergab nur eine schwarz-rote Schmiere.

2-(o-Xylyl)-1,1,4,4-tetrabrom-acetoin (VIII).

2,5 g Tetrabrom-diacetyl in 70 cm³ Xylol und 3 g Aluminiumchlorid wurden wie oben beschrieben umgesetzt. Nach Zersetzen ist die Benzollösung undurchsichtig braun, stark grün fluoreszierend. Das Xylol wird im Vakuum bei 12 mm abdestilliert, und es bleibt eine schwarze Schmiere, aus der nach 2-tägigem Stehen durch vorsichtiges Verreiben mit Petroläther 1 g graue Substanz isoliert werden kann. Zum Umkrystallisieren wird die Substanz in Benzol gelöst, vom Ungelösten abfiltriert und mit Petroläther überschichtet. Bei längerem Stehen werden farblose kleine Prismen erhalten, die bei 101—103⁰ schmelzen.

3,578 mg Subst. gaben 3,779 mg CO₂ und 0,824 mg H₂O

5,281 mg Subst. gaben 7,555 mg AgBr

$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{Br}_4$ Ber. C 28,37 H 2,38 Br 62,90%

Gef. „ 28,80 „ 2,58 „ 60,88%

1) B. 23, 35 (1890).

2) Längeres Erhitzen verschlechtert die Ausbeute.

3) *Bennet, Willis, Soc.* 1928, 1960; *Henderson, Soc.* 1929, 466.

Hexabrom-diacetyl.

Die Darstellung erfolgte nach *C. L. Jackson* und *R. Adams*¹⁾. Die Bromierung von Brenzcatechin²⁾ nahmen wir in Chloroformlösung vor, um die Reaktion zu mildern. Die Oxydation zum Tetrabrom-o-chinon verlief wie in der Literatur³⁾ beschrieben. Dagegen erhält man nach der alkalischen Spaltung und der Nachbromierung die in der Literatur¹⁾ angegebene Ausbeute an rohem Hexabrom-diacetyl nur, wenn man das Reaktionsgemisch wenigstens 3 Stunden stehen lässt.

Dipropionyl.

Propioin. Die Darstellung erfolgte nach der Vorschrift von *Org. Synth.*⁴⁾ durch Kondensation von Propionsäure-äthylester mit Natrium in siedendem absolutem Äther. Ausbeuten (60—65%) und Daten (Sdp._{12 mm} 63°) fanden wir wie angegeben.

Die Oxydation von Propioin zu Dipropionyl wurde nach 2 Methoden ausgeführt. Die sinngemässe Übertragung der von *P. Ruggli* und *P. Zeller*⁵⁾ angewandten Methode mit Kupfer(II)-acetat in 70-proz. Essigsäure ergab eine Ausbeute von 70%. Wegen Mangel an Äther und Kupferacetat haben wir eine Oxydationsmethode mit Eisen(III)-chlorid ausgearbeitet, die schon von *H. v. Risseghem*⁶⁾ angewandt wurde, und mit welcher wir Ausbeuten von ca. 60% der Theorie erzielten.

Oxydation mit Kupfer(II)-acetat. 11 g Propioin werden mit 36 g Kupfer(II)-acetat versetzt und in einem 500er Kolben mit 250 cm³ 70-proz. Essigsäure übergossen. Beim Erwärmen unter Rückfluss beginnt die Abscheidung von roten Kupfer(I)-oxyd, wobei die Farbe der Lösung von gelb nach grün umschlägt. Sie wird 10 Minuten im Sieden erhalten und nach Erkalten mit 250 cm³ Wasser versetzt. Dann wird portionenweise ausgeäthert, die vereinigten Anteile zuerst mit Sodalösung, dann noch mit Hydrogencarbonatlösung gewaschen, und mit Natriumsulfat getrocknet. Der Äther wird durch eine *Widmer*-Kolonne abdestilliert, und das zurückbleibende, gelbe Öl im Vakuum rektifiziert. Sdp._{10 mm} 32—35°, 7,5 g (70% der Theorie) eines gelben, unangenehm riechenden Öles. (Lit. Sdp._{10 mm} 32°⁷⁾.)

Oxydation mit Eisen(III)-chlorid.

a) 30 g Propioin werden in 100 cm³ Wasser und 50 cm³ Äther gelöst und auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt. Unter starkem mechanischem Rühren wird innerhalb von 2 Stunden eine Lösung von 100 g Eisen(III)-chlorid (ca. 2 $\frac{1}{4}$ Mol) in 150 cm³ Wasser regelmässig zutropft. Dann fügt man noch 50 cm³ Äther zu und erhält weitere 2 Stunden im Sieden. Nach Erkalten wird die Ätherschicht abgetrennt, und die Lösung ausgeäthert. Die vereinigten Auszüge werden mit Natriumsulfat getrocknet, und durch eine *Widmer*-Kolonne destilliert. Das zurückbleibende gelbe Dipropionyl geht bei 10 mm bei 32—35° über. Die erhaltenen 18 g entsprechen einer Ausbeute von 62% der Theorie.

b) In wässriger Suspension ist die Oxydation einfacher, gibt aber schlechtere Ausbeuten.

30 g Propioin werden in einer Lösung von 100 g Eisen(III)-chlorid in 250 cm³ Wasser, das mit Äther gesättigt wurde, eingetragen und 12 Stunden geschüttelt. Das Dipropionyl wird mit Wasserdampf abdestilliert. Aufarbeiten wie oben. Sdp._{12 mm} 35—39°, 16 g (55% der Theorie).

Dipropionyl-diphenylosazon. Dipropionyl und Diphenylhydrazin werden im Molekularverhältnis 1:2 zusammengewogen und über Nacht stehen gelassen. Beim

1) *Am. Soc.* **37**, 2527 (1915).

2) *Hlasiwetz*, *A.* **142**, 251 (1867).

3) *Jackson*, *Flint*, *Am.* **39**, 83 (1908).

4) *Org. Synth.* **13**, 24.

5) *Helv.* **28**, 745 (1945).

6) *Bl. Soc. chim. Belg.* **47**, 194 (1938).

7) *M. Urien*, *Ann. chim.* [11] **1**, 5 (1934).

Anreiben mit Methanol krystallisiert das Osazon in gelben Krystallen, die aus Essigester umkrystallisiert den Smp. 180—182° zeigen.

4,671 mg Subst. gaben 0,502 cm³ N₂ (15°, 745 mm)

C₃₀H₃₀N₄ Ber. N 12,54 Gef. N 12,49%

Dipropionyl-benzyl-phenyl-osazon. Dipropionyl und Benzyl-phenyl-hydrazin werden im Molekularverhältnis 1 : 2 zusammengegeben. Die Lösung wird langsam zähflüssig, und nach 3 Wochen Stehen kann durch Anreiben mit Methanol Krystallisation erzielt werden. Aus Alkohol erhält man das Osazon in feinen gelben Nadeln vom Smp. 85—87°.

2,871 mg Subst. gaben 0,288 cm³ N₂ (15°, 745 mm)

C₃₂H₃₄N₄ Ber. N 11,81 Gef. N 11,65%

α,α'-Dibrom-dipropionyl.

Unter Belichtung werden 20 g Dipropionyl in 50 cm³ Chloroform auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt und innert einer Stunde 60 g (2 Mol) gut mit Schwefelsäure getrocknetes Brom zugetropft. Anfangs tritt sofortige Entfärbung ein. Mit der Zeit wird die Lösung hellgrün, gegen Ende blau, und zuletzt undurchsichtig braun. Die Bromwasserstoffentwicklung ist sehr lebhaft und erfolgt stossweise beim Tropfeneinfall. Nach beendetem Zutropfen wird das Erwärmen unter häufigem Schütteln noch eine Stunde fortgesetzt. Das ganze Reaktionsgemisch wird im Vakuum destilliert. Der Teil, der bei 10 mm zwischen 95—105° übergeht, wird in 3 Fraktionen aufgefangen, aus denen beim Abkühlen auf -20° das Dibrom-dipropionyl in gelben Blättern auskrystallisiert. Aus den 32 g Gesamtdestillat erhält man 15 g Krystalle, was einer Ausbeute von 31% der Theorie entspricht.

Das Dibrom-dipropionyl weist einen Sdp. bei 10 mm von 100—103° auf, und destilliert unzersetzt mit gelbem Dampf. Es ist in den meisten Lösungsmitteln gut löslich. 7,5 g krystallisieren aus 5 cm³ Ligroin in grossen triklinen Tafeln vom Smp. 54—55°.

7,718 mg Subst. gaben 10,530 mg AgBr

C₆H₈O₂Br₂ Ber. Br 58,77 Gef. Br 58,12%

2,3-Di-(α-bromäthyl)-chinoxalin. 0,5 g Dibrom-dipropionyl und 0,4 g o-Phenylendiamin werden, beide in Alkohol kalt gelöst, zusammengegeben. Beim Anreiben krystallisiert das Chinoxalin aus. Aus Alkohol erhält man es in farblosen Nadeln vom Smp. 110—111°.

4,801 mg Subst. gaben 0,325 cm³ N₂ (15°, 746 mm)

C₁₂H₁₂N₂Br₂ Ber. N 8,14 Gef. N 7,88%

Semicarbazon. 0,5 g Dibrom-dipropionyl, 0,5 g Semicarbazidhydrochlorid und 0,4 g Kaliumacetat werden in verdünntem Alkohol stehen gelassen. Nach einem Tag krystallisiert das Semicarbazon als weisses Pulver aus, wird mit Alkohol und Äther gewaschen und zeigt einen Smp. von 103—105°. Beim Umkrystallisieren zersetzt es sich sofort, beim Aufbewahren innert 3 Wochen.

1,700 mg Subst. gaben 0,178 cm³ N₂ (16°, 746 mm)

C₇H₁₁O₂N₃Br₂ Ber. N 12,75 Gef. N 12,14%

Benzyl-phenyl-osazon. Dibrom-dipropionyl und Benzyl-phenyl-hydrazin werden im Molekularverhältnis 1 : 2 in ganz wenig Alkohol gelöst und bis zum Sieden erhitzt. Beim Stehen scheidet sich eine krystalline Substanz ab, die aus Alkohol in gelblichen Nadeln ausfällt. Smp. 110—112°.

4,401 mg Subst. gaben 0,349 cm³ N₂ (24°, 736 mm)

C₃₂H₃₂N₄Br₂ Ber. N 8,86 Gef. N 8,82%

α,α'-Dijod-dipropionyl. 0,5 g Dibrom-dipropionyl in Aceton werden mit einer 10-proz. Acetonlösung von 0,55 g Natriumjodid versetzt. Das abgeschiedene Natriumbromid wird abfiltriert und die Lösung eindunsten gelassen. Das Dijodid wird aus Methanol umkrystallisiert; gelbe, glänzende Nadeln vom Smp. 79—81°.

7,121 mg Subst. gaben 9,263 mg AgJ

C₆H₈O₂J₂ Ber. J 69,4 Gef. J 70,3%

2,3-Di-(α -bromäthyl)- α , β -naphto-chinoxalin.

0,3 g Dibrom-dipropionyl und 0,2 g 1,2-Naphtylendiamin werden in Alkohol kalt gelöst und zusammengegossen. Die Lösung färbt sich purpurrot und beim Anreiben kristallisiert das Naphtochinoxalin aus. Es ist in Alkohol schwer, in Essigester leichter löslich. Aus letzterem erhält man es in schwach gelblichen Krystallen vom Smp. 173—174°.

5,271 mg Subst. gaben 0,331 cm³ N₂ (17,5°, 730 mm)

C₁₆H₁₄N₂Br₂ Ber. N 7,10 Gef. N 7,09%

Universität Basel, Anstalt für organische Chemie.

17. Über das Verhalten von α -Halogenketonen bei der *Friedel-Crafts'schen* Reaktion

(Carbonylgruppen und arom. Kohlenwasserstoffe, 3. Mitt.¹⁾)

von Paul Ruggli †, Hans Dahn und Jacques Wegmann.

(15. XII. 45.)

In den beiden vorangehenden Mitteilungen¹⁾ konnten wir zeigen, dass α -Diketone der Diacetylreihe unter dem Einfluss von Aluminiumchlorid 1 Mol eines aromatischen Kohlenwasserstoffes an einer Carbonylgruppe unter Bildung eines Aryl-ketols zu addieren vermögen. Es war von prinzipiellem Interesse, festzustellen, ob bei Monoketonen eine ähnliche Reaktionsweise zu beobachten oder ob der aktivierende Einfluss einer zweiten Carbonylgruppe notwendig ist. Aus der Literatur²⁾ ergibt sich indessen, dass bei einfachen Ketonen wie Aceton, Cyclohexanon, Acetophenon usw. die Kondensation der Carbonylgruppe mit dem reaktionsfähigen Methylen einer zweiten Molekel überwiegt; bei komplizierteren Ketonen muss sich diese Reaktionsweise in zunehmendem Masse durch Verschmierung bemerkbar machen³⁾. Da nun, wie wir zeigten¹⁾, Halogensubstitution in α -Stellung zur Carbonylgruppe die Additionsreaktion zu begünstigen schien, haben wir das spärliche Material über Reaktionen von α -Halogenketonen mit aromatischen Kohlenwasserstoffen und Aluminiumchlorid zusammengestellt und durch eigene Versuche ergänzt, um ein einigermaßen abgerundetes Bild zu erhalten.

Ausser der Addition und der Selbstkondensation ist bei den α -Halogenketonen vor allem die normale *Friedel-Crafts'sche* Substitutionsreaktion zu erwarten. Wie die Prüfung ergab, zeigt sich hier kein Fall von Addition an die Carbonylgruppe. Häufiger tritt *Friedel-Crafts'sche* Reaktion ein, noch häufiger Verharzung. Daher mussten

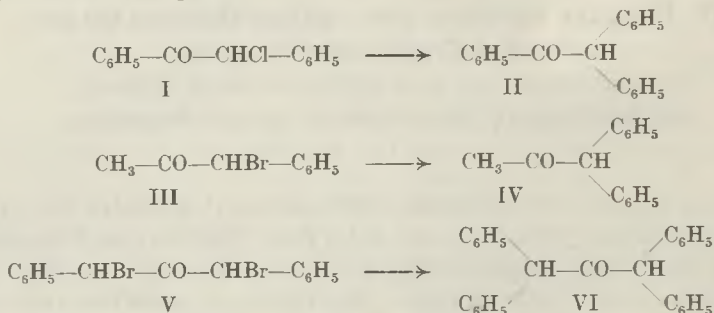
¹⁾ Helv. 29, 95, 101 (1946).

²⁾ Vgl. G. Kränzlein, Aluminiumchlorid in der org. Synthese, S. 180 (1939).

³⁾ Benzophenon, bei dem keine Kondensation möglich ist, reagiert nicht, wie sich aus seiner Bildung aus Benzoylchlorid, Benzol und Aluminiumchlorid ergibt.

wir uns in dieser Reihe auf die Untersuchung der normalen Reaktionsweise beschränken.

Als allgemeine Erfahrung kann daraus abgeleitet werden, dass α -Chlorketone nach *Friedel-Crafts* besser reagieren als Bromketone. Allerdings sind bei weniger leicht zugänglichen Substanzen die Bromketone oft besser darstellbar und deshalb öfters verwendet worden. Ausserdem ist eine Aktivierung des Halogens durch benachbarte Phenylkerne hervorzuheben, so dass die Verbindungen mit der Gruppe $-\text{CO}-\text{CHCl}-\text{C}_6\text{H}_5$ den günstigsten Fall bilden. In diese Gruppe gehört das Chlor-desoxybenzoin (I), das nach *R. Anschütz*¹⁾ mit Benzol und Aluminiumchlorid erwartungsgemäss Phenyl-benzhydryl-keton (II) gibt.



Wir stellten fest, dass das ähnlich gebaute α -Brom-phenylacetone (III) mit Benzol und Aluminiumchlorid in 60-proz. Ausbeute Methylbenzhydryl-keton (IV) liefert. Ebenso entsteht aus Dibrom-dibenzylketone (V) unter den gleichen Bedingungen in 40-proz. Ausbeute Di-benzhydryl-keton (VI). Führt man die beiden letztgenannten Reaktionen mit Toluol statt Benzol aus, so entsteht neben Schmierem in 10–20-proz. Ausbeute ein Kohlenwasserstoff, der sich als ein Gemisch von 2,7- und 2,6-Dimethyl-anthracen (X, XI) erwies; diese Reaktion wird weiter unten besprochen.

Ein weiteres Beispiel dafür, dass Halogen zwischen Phenylkern und Carbonylgruppe besonders gut nach *Friedel-Crafts* reagiert, ist die Darstellung von 3,3-Diphenyl-oxindol aus 3,3-Dichlor-oxindol²⁾: hier treten beide Halogenatome in Reaktion.

Fehlt in α -Halogenketonen die aktivierende Wirkung des benachbarten Phenylkerns, so tritt die *Friedel-Crafts*'sche Reaktion nur unter verschärften Bedingungen ein oder bleibt ganz aus. So reagiert ω -Chlor-acetophenon nicht mit Benzol³⁾ 4), wohl aber mit dem reaktionsfähigeren Toluol⁴⁾. Mit heissem Xylol erhielten wir neben Harz minimale Mengen farbloser Nadelchen vom Smp. 102–104°.

¹⁾ *Anschütz, Förster, A. 368, 93 (1909).*

²⁾ *S. Inagaki, J. pharm. Soc. Japan 53, 133 (1933); C. 1933, II. 2133.*

³⁾ *Friedel und Crafts, Ann. chim. [6] 1, 507 (1884).*

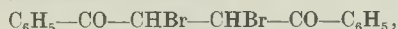
⁴⁾ *Collet, Bl. [3] 17, 506 (1897). Analog erhielt Collet aus p-Methyl-phenacylchlorid mit Toluol das p,p'-Dimethyl-desoxybenzoin.*

die voraussichtlich aus 2,4-Dimethyl-desoxybenzoin¹⁾ bestehen (Smp. 109°). Mit Anisol wurden helle Flocken erhalten, die jedoch, wie durch die Bromierung in heissem Eisessig gezeigt wurde, nicht aus dem zu erwartenden p-Methoxy-desoxybenzoin²⁾ bestanden. ω -Bromacetophenon reagiert mit Benzol³⁾ ebensowenig wie die Chlorverbindung; mit Toluol erhielt man nur ein Harz.

Eine begünstigende Wirkung auf die *Friedel-Crafts*-Reaktion scheint auch von der Anwesenheit eines zweiten Halogenatoms an demselben Kohlenstoffatom auszugehen. Wir können für das ω, ω -Dichloracetophenon den alten Befund von *Gautier*⁴⁾ und von *Collet*⁵⁾ bestätigen, dass es mit Benzol und Aluminiumchlorid Phenylbenzhydrylketon (II) gibt; wir erhielten etwa 20% Ausbeute. Vermutlich verläuft der Vorgang über das Chlor-desoxybenzoin (I) als Zwischenprodukt; dies geht, wie oben erwähnt, leicht in Phenylbenzhydrylketon (II) über. Dagegen reagiert Dibromacetophenon unter den gleichen Bedingungen nicht, sondern wird unverändert zurückgehalten. Mit Toluol gaben Dichlor- und Dibromacetophenon neben viel Harz nur etwa 15–20% Dimethylanthracen (siehe unten); nach Reaktion mit m-Xylol war weder Keton noch Anthracenderivat aus den entstandenen Schmierungen zu isolieren. Auch Trichloracetophenon gibt mit Benzol und Aluminiumchlorid Phenylbenzhydrylketon⁶⁾ (II), indem in undurchsichtiger Weise ein Chloratom durch Wasserstoff ersetzt wird. Offenbar wird hier die Belastung eines Kohlenstoffatoms mit 3 aromatischen Kernen vermieden, im Unterschied zur erwähnten Synthese des 3,3-Diphenyloxindols.

Mit o-Nitrochloracetophenon oder o-Nitrobromacetophenon und Benzol-Aluminiumchlorid hätte man zu dem bisher nicht erhältlichen 2-Nitro-desoxybenzoin gelangen sollen⁷⁾, das uns in anderem Zusammenhang interessierte. Mit diesen Komponenten trat jedoch bei allen Umsetzungen völlige Verharzung ein.

Schliesslich untersuchten wir noch ein „doppeltes Phenacylbromid“, Di-benzoyl-äthylendibromid



fanden aber, dass es durch Benzol und Aluminiumchlorid gar nicht angegriffen wird.

¹⁾ *Guy Français*, C. 1939, I. 3880.

²⁾ *Tiffeneau, Orekhoff*, Bl. [4] 37, 437 (1925); *Cowper, Stevens*, Soc. 1940, 348.

³⁾ *Collet*, Bl. [3] 17, 66 (1897). Der Versuch wurde so ausgeführt, dass Bromacetylchlorid mit Benzol kalt zu Phenacylbromid umgesetzt wurde; die Reaktionsmasse reagierte auch beim Erhitzen nicht weiter. Auch die α -Bromketone aus Phenyläthyl-, Phenylpropyl- und Phenylisopropylketon reagierten nicht mit Benzol; Bl. [3] 15, 715, 1100 (1896); 17, 66 (1897).

⁴⁾ C. r. 103, 812 (1886). ⁵⁾ Bl. [3] 15, 22 (1896).

⁶⁾ *Gautier*, C. r. 103, 812 (1886); *Delacre*, Bl. [3] 13, 857 (1895).

⁷⁾ Das Isomere mit o-Nitro-Gruppe im andern Kern ist bekannt.



Zur Bildung von Dimethyl-anthracen (X, XI).

Die Entstehung von Dimethyl-anthracenen ist bei der Verwendung von Toluol als zweiter Komponente in *Friedel-Crafts*-Reaktionen schon oft beobachtet worden. *Lavaux*¹⁾ hat das Produkt als ein Gemisch von 2,6- und 2,7-Dimethyl-anthracen (X bzw. XI) aufklären können. Bei unseren Reaktionen entstand fast ausschliesslich letzteres mit nur Spuren des 2,6-Isomeren. Wir erhielten den Körper aus Dichlor-acetophenon, Dibrom-acetophenon, Brom-phenylaceton (III) und Dibrom-dibenzyl-ke-ton (V). In der Literatur sind u. a. angegeben: Methylenchlorid, Chloroform, Acetylentetrachlorid²⁾, δ -Chlor- γ -valerolacton³⁾, aber auch halogenfreie Komponenten wie Trioxymethylen, Kohlenoxyd, Nickelcarbonyl und Benzaldehyd⁴⁾. Im letzteren Falle wurde durch Substitutionen festgestellt, dass der Phenylkern des Aldehyds nicht in das Endprodukt eingeht. Schliesslich ist auch der Befund von *R. Anschütz* und *H. Immendorf*⁵⁾ zu erwähnen, dass ohne weitere Komponente Toluol und Aluminiumchlorid in Spuren Dimethyl-anthracen bilden; es wurde aber immer wieder festgestellt, dass die erwähnten Komponenten die Ausbeute auf ein Vielfaches steigern⁶⁾.

Zur Deutung der Reaktion stellte *H. Beyer*³⁾ ein Schema auf, das Disproportionierung des Toluols zu Benzol und Xylol, dessen Halogenierung und doppelte *Friedel-Crafts*'sche Umsetzung vorsah; für die einzelnen Stufen konnte er Analogien beibringen. Dennoch scheint dieses Reaktionsschema kaum zu genügen, einmal, da es die erwähnte Wirkung der dritten Komponente vernachlässigt⁷⁾, aber vor allem auch, weil trotz noch günstigerer Bedingungen keine Spur von Dimethyl-anthracen gebildet wurde, als wir statt Toluol das als Zwischenprodukt postulierte m-Xylol verwendeten. Ohne ein Reaktionsschema bieten zu wollen, nehmen wir an, dass die dritte Komponente, eventuell nach Spaltung durch Aluminiumchlorid, die beiden fehlenden Kohlenstoffatome zu liefern hat. Dass ausserdem eine ausgeprägte Tendenz zur Bildung des Dimethyl-anthracens vorliegt, zeigt auch die Beobachtung, dass Verbindungen wie Brom-phenylaceton (III) und Dibrom-dibenzyl-ke-ton (V), die mit Benzol sehr

¹⁾ C. r. **152**, 1400 (1911); vgl. *Morgan, Coulson*, Soc. **1929**, 2210.

²⁾ Soc. **1929**, 2210. ³⁾ *H. Beyer*, B. **70**, 1483 (1937).

⁴⁾ *D. H. Hey*, Soc. **1935**, 72; dort weitere Lit.

⁵⁾ B. **17**, 2816 (1884).

⁶⁾ Bei unseren Reaktionen etwa auf das 10-fache.

⁷⁾ Es kann sich hier kaum um blossе Katalysatorwirkung handeln, da ja in Gestalt des Aluminiumchlorids ein starker Polarisationskatalysator anwesend ist.

leicht eine *Friedel-Crafts*'sche Reaktion eingehen, mit Toluol unter gleichen Bedingungen neben öligen Gemischen nur Dimethyl-anthracen liefern, dass also die vorhandene Bereitschaft zur normalen Reaktionsweise hier zurückgedrängt wird.

Experimenteller Teil.

Soweit die Substanzen nicht in grösserer Menge zur Verfügung standen, wurden die Versuche meist so ausgeführt, dass man 2 g der zu untersuchenden Substanz in 20 cm³ Benzol, Toluol usw. löste, worauf man 3 g Aluminiumchlorid auf einmal oder in Portionen zusetzte und die Temperatur nach Bedarf zum Kochen steigerte. Die Aufarbeitung erfolgte meist derart, dass nach beendeter Reaktion auf Eis-Salzsäure gegossen und unter Zusatz von Äther oder mehr Benzol geschüttelt wurde. Die obere Schicht wurde mit verdünnter Salzsäure, Wasser und Hydrogencarbonatlösung gewaschen, mit Calciumchlorid getrocknet und nach Entfernung des Äthers das überschüssige Benzol im Vakuum abdestilliert. Die Reaktionen, welche nur harzige Körper ergaben oder bei denen keine nennenswerte Reaktion eintrat, sind der Kürze halber weggelassen. Sie sind in der Dissertation *H. Dahn*, Basel 1944, kurz beschrieben.

α -Brom-phenylaceton (III).

a) Mit Benzol. 2 g α -Brom-phenylaceton¹⁾ wurden in 20 cm³ Benzol mit 3 g Aluminiumchlorid 1 Stunde gekocht; von 55° an war eine kräftige Bromwasserstoffentwicklung zu beobachten. Die braune Lösung ergab nach der oben beschriebenen Aufarbeitung einen öligen Rückstand, der nach Stehen über Nacht zum grössten Teil kristallisierte. Durch Aufstreichen auf Ton wurden 1,2 g Benzhydryl-methyl-ke-ton isoliert, die nach Umlösen aus Alkohol den Smp. 62—63° zeigten; Reinausbeute 60%. Das Semicarbazon schmolz bei 161—163° (Lit. 164°).

b) Mit Toluol wurde analog, und zwar ebenfalls bei 80—90°, gearbeitet. Die Aufarbeitung ergab 1,0 g eines braunen, blau fluoreszierenden Öles. Dieses schied über Nacht Spuren von Krystallen ab, welche die typische Krystallform und die charakteristische blaugrüne Fluoreszenz des Dimethyl-anthracens sowie den Smp. 198—202° zeigten. Zur Reinigung bis zum richtigen Schmelzpunkt des 2,7- und 2,6-Dimethyl-anthracen-Gemisches (222°) reichte die Menge nicht aus.

Dibrom-dibenzyl-ke-ton (V).

Die zuerst von *E. Bourcart*²⁾ dargestellte Substanz wurde von uns durch Einwirkung der ber. Menge Brom in Eisessig auf die Eisessiglösung des Dibenzyl-ke-tones bei Zimmer-temperatur mit 79% Ausbeute dargestellt.

a) Mit Benzol. 1 g Dibrom-dibenzyl-ke-ton wurde in 10 cm³ Benzol mit 1,5 g Aluminiumchlorid eine Stunde gekocht, wobei mässige Bromwasserstoffentwicklung eintrat und eine dunkle Komplexverbindung ausfiel. Nach Aufarbeitung und Entfernung der Lösungsmittel im Vakuum kristallisierte der braune Rückstand zum grossen Teil in hellgelben Nadelchen (Rohausbeute 40%), die nach Trocknen auf Ton zweimal aus Methanol umkristallisiert den Smp. 131—132° zeigten (Lit. 135° für Di-benzhydryl-ke-ton VI). Die Krystallform stimmte mit den Angaben überein.

b) Mit Toluol. 1,5 g Dibrom-dibenzyl-ke-ton wurden mit 15 cm³ Toluol und 2,2 g Aluminiumchlorid eine Stunde in gelindem Sieden erhalten, wobei kräftige Bromwasserstoffentwicklung eintrat und sich nur wenig Komplexverbindung abschied. Nach Aufarbeitung und Entfernung der Lösungsmittel im Vakuum schieden sich rasch Krystalle ab, die nach Absaugen und Trocknen auf Ton im Vakuum sublimiert wurden. Smp. 210 bis

¹⁾ *A. Kolb*, A. 291, 267 (1896); *A. v. Wacek*, K. Kratzl und *A. v. Bézard*, B. 75, 1352 (1942).

²⁾ B. 22, 1368 (1899).

212°, Reinausbeute 0,15 g, unter der Quarzlampe stark grünblau fluoreszierend. Die Farbreaktionen waren mit denen des Dimethyl-anthracens identisch. Die genaue Identifizierung erfolgte mit dem weiter unten beschriebenen Präparat.

ω -Chlor-acetophenon.

a) Mit *m*-Xylol. Da die Substanz nicht mit Benzol, wohl aber mit Toluol reagiert, wurden 2 g mit 20 cm³ *m*-Xylol und 3 g Aluminiumchlorid 3 Stunden in gelindem Sieden erhalten. Die Aufarbeitung ergab ein braungrünes zähes Öl, aus dem einige Milligramm farblose rechteckige Nadeln vom Rohsmp. 102—104° isoliert wurden. Es dürfte auch nach dem Krystallhabitus das 2,4-Dimethyl-desoxybenzoin (Smp. 109°) vorliegen.

b) Mit Anisol. 2 g ω -Chlor-acetophenon wurden mit 15 g über Natrium destilliertem Anisol und 3 g Aluminiumchlorid stehen gelassen, wobei die Temperatur unter ziemlich kräftiger Chlorwasserstoffentwicklung von selbst auf 65° stieg. Nach 20-stündigem Stehen wurde der blutrote Kolbeninhalt aufgearbeitet. Nach Abdestillieren der Lösungsmittel im Vakuum hinterblieb eine zähe braune Masse, die beim Anreiben mit Alkohol zu gelblichen Flocken erstarrte. Nach Trocknen auf Ton wurde der in Aceton und Eisessig leicht lösliche Körper in der 5-fachen Menge Eisessig gelöst, mit dem gleichen Volum Alkohol versetzt und durch Zutropfen von Wasser gefällt; Ausbeute 2,6 g. Die Substanz war im Vakuum sublimierbar, doch fiel dabei der Schmelzpunkt. Sie konnte nicht kristallisiert oder in ein Semicarbazon verwandelt werden; demnach lag kein Keton vor.

Die einzige Möglichkeit zur Reinigung bestand im Lösen in der 4-fachen Menge Eisessig und nachfolgendem Eindunsten, wodurch der Smp. 95—98° erreicht wurde. Verdunsten an starkem Sonnenlicht änderte den Smp. auf 170—173°. Eine Bromierung der niederschmelzenden Substanz in Benzol oder Eisessig bei Zimmertemperatur ergab ein Bromderivat, das aus verdunstendem Chloroform-Eisessig mit dem Smp. 121—123° (das Bromderivat des *p*-Methoxy-desoxybenzoin schmilzt bei 93°) erhalten wurde. Keines der Präparate war unter dem Mikroskop deutlich kristallin.

ω, ω -Dichlor-acetophenon.

Die Reaktion mit Benzol ergibt 20% Benzhydryl-phenylketon (II).

Die Reaktion mit Toluol ergab bei Verwendung von 2 g Dichlor-acetophenon, 20 cm³ Toluol und 3 g Aluminiumchlorid nach zweistündigem Kochen unter mässiger Chlorwasserstoffentwicklung ein Produkt, das nach Aufarbeitung und Entfernung der Lösungsmittel ein braunes Öl hinterliess, aus dem über Nacht 0,15 g gelbliche Krystalle erhalten wurden. Wiederholte Versuche ergaben als günstigste Reaktionszeit 2 ½ Stunden; dann wurden 0,2 g Krystalle erhalten. Sie waren nach Sublimation im Vakuum farblos mit blaugrüner Fluoreszenz im Ultraviolett, Smp. 222°, während die Literatur für das Gemisch von 2,7- und 2,6-Dimethyl-anthracen 224—226° angibt. Auch die Analyse bestätigte das Vorliegen von Dimethyl-anthracen.

Die Substanz löst sich gelb in konz. Schwefelsäure; diese Lösung wird durch eine Spur Salpetersäure violett. Die Oxydation von 100 mg mit Chromtrioxyd in heissem Eisessig ergab nach Fällung mit Wasser und Umlösen aus heissem Alkohol nahezu farblose Nadelchen vom Smp. 169° (sint. 163—166°) (Lit. 170° (sint. 163—165°) für 2,7-Dimethyl-anthrachinon). Die Lösung in konz. Schwefelsäure war orange. Einwirkung von Zinkstaub und Ammoniak gab eine rote Küpe.

Universität Basel, Anstalt für organische Chemie.

18. Zur Kenntnis der Cyclopentan-1, 3-dione.

1. Mitteilung

von A. Maeder.

(12. XII. 45.)

Das 2,4-Diphenyl-cyclopentan-dion-(1,3) (I) ist auf verschiedenen Wegen erhalten worden¹⁾²⁾³⁾. *S. Eskola*, die diesen Körper erstmals darstellte und beschrieb¹⁾, zeigte später, dass man α -Phenyl- γ -benzyl- $\Delta^{\alpha,\beta}$ -croton-lacton (VI) durch Erwärmen mit Natrium-methylat in Methanol²⁾ ebenfalls in 2,4-Diphenyl-cyclopentan-dion-(1,3) (I) überführen kann. Dies erklärte die Autorin mit der inneren Kondensation des aus dem Lacton VI zuerst gebildeten Dihydro-cornicularsäure-esters (II).

Ähnliche Umlagerungen sind schon von anderen Forschern beschrieben worden⁴⁾. Auch die seit langem bekannte Umlagerung von Derivaten des Methylene-phthalids in solche des Diketo-hydrindens ist hier zu erwähnen⁵⁾. Eine analoge Reaktion in der aliphatischen Chemie ist die Umlagerung von O-Acyl- in C-Acylverbindungen des Acetessig-esters⁶⁾. In Fällen, wo das 5-Ring- β -diketon unbeständig ist, kennt man nur das entsprechende Enol-lacton⁷⁾. Auch der umgekehrte Vorgang, die Umlagerung des Ringketons in ein isomeres Lacton, wurde beobachtet⁸⁾. Die Bildungstendenz oder Beständigkeit dieser beiden Verbindungstypen (β -Diketon oder Lacton) wird von den Tautomerie- oder Mesomerie-Verhältnissen der zugrunde liegenden γ -Ketonsäuren abhängen.

Stellt man sich eine analoge Umlagerung im umgekehrten Sinne verlaufend, also entsprechend den Formeln I \rightarrow VII \rightarrow VIII \rightarrow IX usw. vor, so erkennt man, dass das 2,4-Diphenyl-cyclopentan-dion-(1,3) (I) nicht nur mit Lactonen der α, δ -Diphenyl-lävulinsäure (vgl. die Formeln IV, V, VI⁹⁾), sondern auch mit den Lactonen der noch unbekannteren β, δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) (vgl. die Formeln IX, X, XI) in Beziehung stehen muss. Demnach sollte dieses 5-Ring- β -diketon (I) auch durch innere Kondensation des β, δ -Diphenyl-lävulinsäure-esters (VII) darstellbar sein.

¹⁾ *S. Eskola*, Diss. Helsinki 1937, S. 24, 52.

²⁾ Dieselbe, Suomen Kem. [B] **15**, 17, 19 (1942).

³⁾ *P. Ruggli* und *J. Schmidlin*, Helv. **27**, 499 (1944).

⁴⁾ Vgl. z. B. *C. F. Koelsch* und *S. Wawzonek*, J. Org. Chem. **6**, 684 (1941).

⁵⁾ *S. Gabriel* und *A. Neumann*, B. **26**, 951 (1893); *F. Nathanson*, B. **26**, 2576 (1893); *E. Braun*, B. **28**, 1388 (1895); *P. Goldberg*, B. **33**, 2820 (1900).

⁶⁾ *L. Bouveault* und *A. Bongert*, Bl. [3] **27**, 1162 (1902); vgl. auch *P. Ruggli* und *A. Maeder*, Helv. **25**, 945 (1942). Die O-Acylverbindung wäre hier als Lactonform aufzufassen.

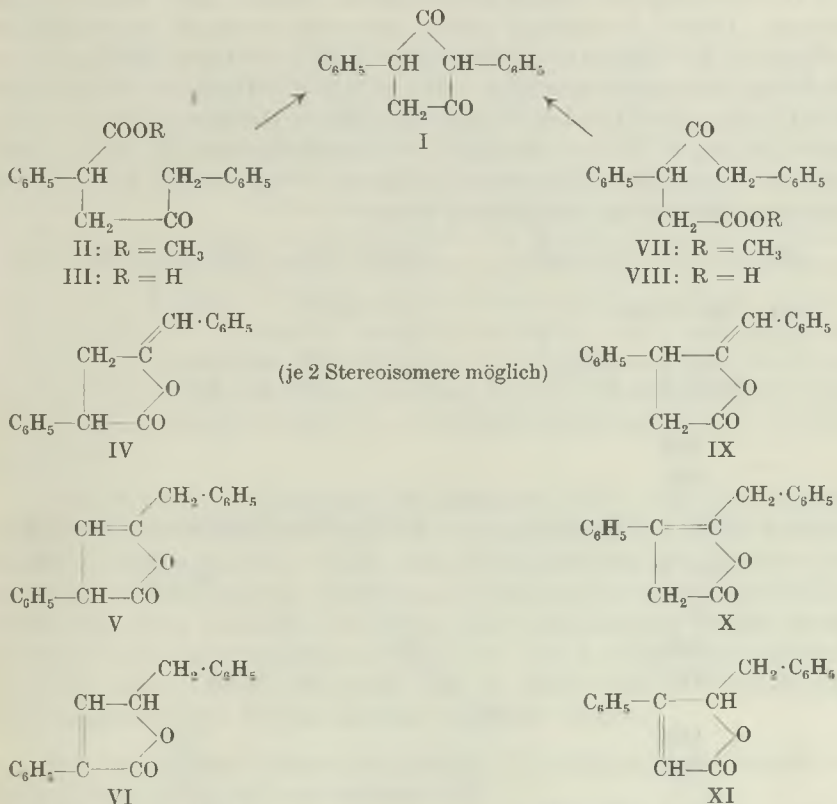
⁷⁾ *P. Ruggli* und *A. Maeder*, Helv. **26**, 1499, 1502 (1943).

⁸⁾ *L. Claisen*, B. **27**, 1353 (1894); *L. Claisen* und *Th. Ewan*, A. **284**, 295 (1894).

⁹⁾ Die gebräuchliche Bezeichnung für α, δ -Diphenyl-lävulinsäure ist Dihydro-cornicularsäure; siehe Formel III.

Behandelt man β, δ -Diphenyl-lävulinsäure-methylester (VII) mit Natriummethylat in Methanol, so entsteht tatsächlich 2,4-Diphenyl-cyclopentan-dion-(1,3) (I), das auch bei der Kondensation des α, δ -Diphenyl-lävulinsäure-methylesters (Dihydro-cornicularsäure-ester, II) nach *Eskola* erhalten wird. Die Konstitution dieses 5-Ring- β -diketons I wird somit durch eine weitere ergänzende Synthese gestützt.

Die vorliegende Arbeit befasst sich ausser der erwähnten Kondensation mit der Synthese der noch unbekanntenen β, δ -Diphenyl-lävulinsäure¹⁾ und einiger ihrer Derivate. In einer späteren Mitteilung werde ich über isomere Lactone und deren Beziehung zum 2,4-Diphenyl-cyclopentan-dion-(1,3) berichten.



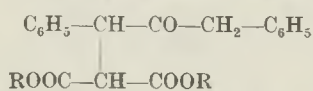
Die Darstellung der β, δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) wurde zuerst nach einer für die Desyl-essigsäure angegebenen Methode von *E. Knoevenagel*²⁾ durch Einwirkung von Bromessigsäure-ester auf

¹⁾ Die von *E. Erlenmeyer jun.* und *F. Reis*, A. **333**, 282 (1904) beschriebene Säure ist vermutlich etwas anderes gewesen. ²⁾ B. **21**, 1350 (1888).

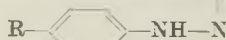
die Natriumverbindung von Dibenzylketon versucht. Es ergaben sich keine brauchbaren Resultate. Auch eine in der Literatur¹⁾ beschriebene Einwirkung von Chloressigsäure-äthylester auf Natrium-dibenzylketon zeigt, dass andersartige Produkte entstehen.

Ich wandte mich nun der Reaktion von α -Brom-dibenzylketon mit Natrium-malonester zu. Mit befriedigender Ausbeute erhält man so den schön krystallisierten α -Carbäthoxy- β , δ -diphenyl-lävulinsäure-äthylester (XII). Das nach Abtrennung des krystallisierten Produkts anfallende Öl enthält noch etwa 20% an Ester XII, der am besten in Form der freien Säure daraus abgetrennt wird.

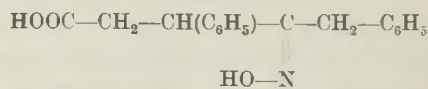
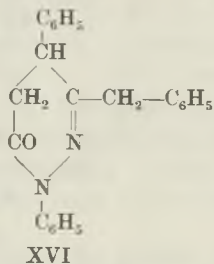
Der Ester XII war nach den üblichen Methoden mit Ketonreagenzien wie Semicarbazid-acetat, Phenylhydrazin-acetat oder 2,4-Dinitro-phenylhydrazin-hydrochlorid nicht zur Reaktion zu bringen. Durch Verseifung erhält man die ebenfalls krystallisierte α -Carboxy- β , δ -diphenyl-lävulinsäure (XIII), die beim Erhitzen Kohlendioxyd abspaltet und fast völlig in die β , δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) übergeht. Daneben bilden sich kleine Mengen des bisher noch unbekanntes β -Phenyl- γ -benzyl- $\Delta^{\beta,\gamma}$ -croton-lactons (X), dessen präparative Darstellung besser auf anderem Wege erfolgt und in einer späteren Mitteilung beschrieben wird.



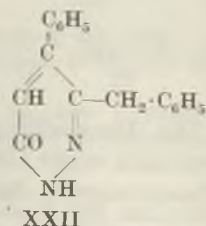
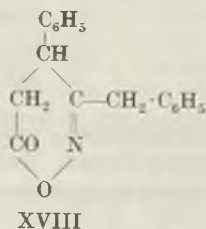
XII: R = C₂H₅
XIII: R = H



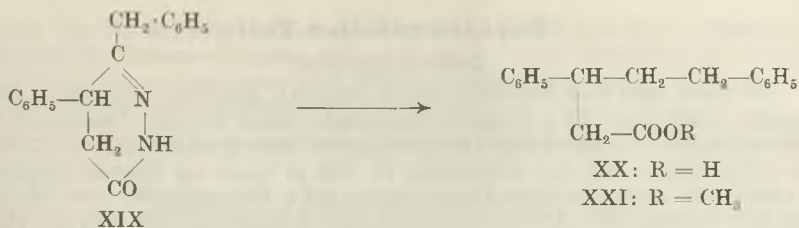
XIV: R = NO₂
XV: R = H



XVII



¹⁾ H. Scheibler und P. S. Tutundzitsch, B. 64, 2920 (1931).



Die β , δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) bildet ein in kaltem Wasser schwer, in warmem dagegen leicht lösliches, schön krystallisiertes Natriumsalz, was ihre Reinigung sehr vereinfacht. Durch Einleiten von Chlorwasserstoff in die methylalkoholische Lösung der Säure entsteht mit guter Ausbeute der Methylester (VII).

Im Gegensatz zum Ester XII konnte die β , δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) durch mehrere Derivate charakterisiert werden. So erhält man mit p-Nitro-phenylhydrazin, Phenylhydrazin und Hydroxylamin die entsprechenden Phenylhydrazone (XIV bzw. XV) und das Oxim (XVII). Da die Ketogruppe nur träge reagiert, muss man die freien Basen im Überschuss und in der Wärme einwirken lassen. Als Folge davon geht ein kleiner Teil der zuerst gebildeten Phenylhydrazone unter Wasserabspaltung in die entsprechenden Pyridazine über. Leichter erfolgen diese Ringschlüsse natürlich bei der Behandlung der primären Reaktionsprodukte mit Acetanhydrid. Aus dem β , δ -Diphenyl-lävulinsäure-phenylhydrazon (XV) wurde so das 1,4-Diphenyl-3-benzyl-pyridazinon-(6) (XVI) und aus dem Oxim (XVII) das 3-Benzyl-4-phenyl-4,5-dihydro-orthoxazinon-(6) (XVIII) dargestellt.

Erhitzt man β , δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) mit überschüssigem Hydrazinhydrat, so erhält man in einer Reaktion das 3-Benzyl-4-phenyl-pyridazinon-(6) (XIX), das durch Erhitzen mit gepulvertem Kaliumhydroxyd in guter Ausbeute β , δ -Diphenyl-valeriansäure (XX) liefert. Daneben entsteht als Folge einer Oxydationswirkung wenig 3-Benzyl-4-phenyl-pyridazinon-(6) (XXII). Die β , δ -Diphenyl-valeriansäure ist schon von *C. Mannich* und *A. Butz*¹⁾ bei der Hydrierung eines ungesättigten 6-Ring-lactons erhalten worden.

Der in üblicher Weise dargestellte β , δ -Diphenyl-valeriansäuremethylester (XXI) ist ein farbloses Öl.

Meinem leider so früh verstorbenen Lehrer, Herrn Prof. Dr. *Paul Ruggli*, sei hier für sein stetes Wohlwollen der wärmste Dank ausgesprochen.

Dem Kuratorium der „Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie“ möchte ich für die Gewährung eines Stipendiums meinen verbindlichsten Dank sagen.

¹⁾ B. 62, 457 (1929).

Experimenteller Teil.

Dibenzyl-keton.

Es wurde nach dem Verfahren von *H. Apitzsch*¹⁾ dargestellt. Aus 220 g Phenyl-essigsäure erhält man 265 g trockenes Calciumsalz, dessen trockene Destillation 161 g Rohdestillat als rote wasserhaltige Flüssigkeit liefert. Nach Aufnahme in Äther, Trocknen und Abdestillieren wird das verbleibende Öl (154 g) besser im Vakuum fraktioniert. So erhält man nach einmaliger Fraktionierung 123 g Dibenzyl-keton vom Sdp. 15 mm 185—187° (Luftbad 230—235°) entsprechend einer Reinausbeute von 85% der Theorie. Das Destillat erstarrt alsbald zu schönen grossen Krystallen.

α -Brom-dibenzyl-keton.

Die Bromierung des vorigen Präparates erfolgt am besten nach *E. Bourcart*²⁾, doch wurde als Lösungsmittel Tetrachlorkohlenstoff verwendet, weil nach Aufarbeitung das α -Brom-dibenzyl-keton leichter krystallisiert, als bei Anwendung von Schwefelkohlenstoff. Da die Darstellung in der Literatur nur ungenau beschrieben ist, sei die hier befolgte Arbeitsweise kurz angegeben.

In eine Lösung von 60 g Dibenzyl-keton in 210 cm³ Tetrachlorkohlenstoff saugt man Bromdampf aus 46,2 g Brom. Nach 3 Stunden ist die Reaktion beendet, worauf man die Lösung 5—6 mal mit Wasser wäscht, über Calciumchlorid trocknet und das Lösungsmittel grösstenteils im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand krystallisiert nach Erkalten, Reiben und weiterem freiwilligen Verdunsten von Tetrachlorkohlenstoff vollständig; Ausbeute 82 g (99% der Theorie). Durch Umlösen aus verdünntem Alkohol erhält man farblose Nadeln vom Smp. 48—49°, übereinstimmend mit *F. E. Francis*³⁾. Das Rohprodukt ist zur weiteren Verarbeitung genügend rein.

Durch Eintropfen von Brom in die Lösung des Ketons⁴⁾ erhielten wir unreinere Reaktionsöle, die nur schlecht oder nicht krystallisierten und noch einer Reinigung bedurften.

α -Carbäthoxy- β , δ -diphenyl-lävulinsäure-äthylester (XII).

Zu einem aus 2,4 g Natrium in 75 cm³ absolutem Alkohol und 19 g Malonsäure-diäthylester dargestellten Natrium-malonesterbrei lässt man unter Eiskühlung und kräftigem Rühren eine Lösung von 30 g α -Brom-dibenzyl-keton in 120 cm³ absolutem Alkohol⁵⁾ zufließen. Man rührt 2 Stunden unter Kühlung, eine halbe Stunde bei Raumtemperatur und kocht schliesslich noch 2½ Stunden unter Rückfluss auf dem Wasserbad. Nach Erkalten giesst man in einen Scheidetrichter auf 300 cm³ Wasser, nimmt das ausgeschiedene Öl in Äther auf und wäscht die Ätherlösung 5 mal mit je 50 cm³ Wasser⁶⁾. Die ätherische Lösung hinterlässt nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abdestillieren 37,2 g meist dunkelrot gefärbtes Öl, aus dem nach Stehen über Nacht 21,3 g α -Carbäthoxy- β , δ -diphenyl-lävulinsäure-äthylester (XII) in grossen, farblosen Prismen krystallisieren; Ausbeute 55% der Theorie. Man saugt die öligen Anteile scharf ab und trocknet die Krystalle auf Ton. Nach Umlösen aus 40 cm³ warmem Methanol erhält man den Ester völlig rein, Smp. 65,5—66,5°.

3,528 mg Subst. gaben 9,267 mg CO₂ und 2,092 mg H₂O

C₂₂H₂₄O₅ Ber. C 71,72 H 6,57%

Gef. „ 71,68 „ 6,64%

Der Ester (XII) ist leicht löslich in den meisten organischen Lösungsmitteln, mässig löslich in kaltem Methanol oder warmem Petroläther, schwer in kaltem Petroläther und unlöslich in Wasser.

¹⁾ B. 37, 1429 (1904). ²⁾ B. 22, 1368 (1889).

³⁾ Soc. 75, 870 (1899). Nach *E. Bourcart* schmilzt die Substanz bei 43—48°.

⁴⁾ *F. P. Kohler* und *R. H. Kimball*, Am. Soc. 56, 730 (1934).

⁵⁾ Zür völligen Lösung muss man gelinde erwärmen.

⁶⁾ Zur Trennung der Schichten ist bisweilen ein Zusatz von 2—3 Tropfen Salzsäure notwendig.

Das von den Krystallen abgesaugte Öl (15,9 g) enthält noch 21% α -Carbäthoxy- β , δ -diphenyl-lävulinsäure-äthylester, der am besten wie unten beschrieben in Form der freien Säure daraus abgetrennt wird. Mit dem im Öl verbliebenen Anteil beträgt die Ausbeute an Ester (XII) insgesamt 63% der Theorie.

Der Ester war mit Ketonreagenzien nicht zur Reaktion zu bringen, vgl. theoretischer Teil.

α -Carboxy- β , δ -diphenyl-lävulinsäure (XIII).

16,74 g Ester (XII) werden 2 Stunden unter Rückfluss mit einer Lösung von 20 g Kaliumhydroxyd in 100 cm³ Wasser gekocht. Nach Erkalten wird mit einem Drittel des Volumens Wasser verdünnt und zweimal mit wenig Äther gewaschen. Die abgetrennte alkalische Flüssigkeit säuert man unter Einwerfen von Eis allmählich mit konz. Salzsäure an und saugt die ausgeschiedene, bald völlig krystallisierende Säure nach kurzem Stehen ab. Da mit der freien Säure auch etwas schwer lösliches Monokaliumsalz ausfällt, wird die Krystallmasse mit halbkonzentrierter Salzsäure verrieben und die freie Säure in Äther aufgenommen. Nach dreimaligem Waschen mit Wasser, Trocknen mit Natriumsulfat und Abdestillieren des Äthers hinterbleiben 12,35 g Öl, die beim Erkalten völlig zu einer farblosen Krystallmasse von beinahe reiner α -Carboxy- β , δ -diphenyl-lävulinsäure (XIII) erstarren; Ausbeute 87% der Theorie. Die Säure kann aus heissem Wasser (2 g : 80 cm³) oder aus einem Gemisch von Chloroform-Tetrachlorkohlenstoff, bei grösseren Mengen aus Essigester-Tetrachlorkohlenstoff umkrystallisiert werden. Ihr Schmelzpunkt liegt unter Kohlendioxyd-Entwicklung bei 147—148°. Leicht löslich in Äther, Alkohol, Aceton oder Essigester, mässig löslich in warmem Chloroform, warmem Benzol oder heissem Wasser, sehr schwer löslich in kaltem oder warmem Tetrachlorkohlenstoff oder Trichloräthylen.

3,870 mg Subst. gaben 9,868 mg CO₂ und 1,879 mg H₂O

C₁₅H₁₆O₅ Ber. C 69,22 H 5,16%

Gef. „ 69,58 „ 5,43%

Aufarbeitung der öligen Ester-Anteile. Das beim vorigen Präparat nach Absaugen der Krystalle von α -Carbäthoxy- β , δ -diphenyl-lävulinsäure-äthylester (XII) anfallende Öl wird zwecks Gewinnung des darin noch vorhandenen Esters verseift. 15,5 g Öl werden mit 18,5 g Kaliumhydroxyd in 95 cm³ Wasser 5 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Erkalten entfernt man die unverseiften Anteile durch dreimaliges Ausschütteln mit Äther und säuert hierauf die abgetrennte alkalische Lösung unter Eiszusatz allmählich mit 45 cm³ 15-proz. Salzsäure an. Die ausgefällte rötlich gefärbte, teils durch harzige Bestandteile verunreinigte Krystallmasse wird bei schwachem Vakuum abgesaugt und mit etwas Wasser gewaschen. Sie enthält die Säure XIII grösstenteils als Mono-kaliumsalz.

Nach Trocknen auf Ton verreibt man die noch klebrige dunkelgefärbte Masse mit 15—20 cm³ eiskaltem Chloroform, wodurch sämtliche harzige Produkte weggelöst werden. Man saugt ab und wäscht mit wenig eiskaltem Chloroform. Das jetzt farblose Krystallmehl wird wie oben beschrieben weiterverarbeitet, wodurch noch 2,75 g α -Carboxy- β , δ -diphenyl-lävulinsäure (XIII) erhalten werden.

β , δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII).

28,6 g des vorigen Präparates (XIII, Rohprodukt) werden in einem geräumigen Reagenzglas im Ölbad zunächst auf 150° zum Schmelzen erhitzt, worauf man die Temperatur allmählich auf 180° steigert. Nach Abklingen der anfangs heftigen Kohlendioxyd-Entwicklung (ca. 5 Minuten) erhitzt man noch 10 Minuten auf 190° bis zum völligen Aufhören der Gasentwicklung und lässt erkalten. Das verbleibende zähe Harz, unreine β , δ -Diphenyl-lävulinsäure, krystallisiert nicht auf Zusatz von Lösungsmitteln. Zur Reinigung kann man durch Zusatz von Kupfer(II)-acetat-Lösung zur alkoholischen Lösung des Harzes das Kupfersalz darstellen, welches durch verdünnte Schwefelsäure unter Äther leicht zerlegt werden kann.

Zur präparativen Reinigung ist es zweckmässiger, das Harz mit 45 cm³ gesättigter Sodalösung zu verreiben und nach Zusatz von 50 cm³ Wasser unter gelindem Erwärmen das Natriumsalz in Lösung zu bringen. Die noch warme Lösung filtriert man rasch durch ein Faltenfilter¹⁾. Nach Erkalten und Stehen über Nacht im Kühltisch krystallisieren farblose glänzende Blättchen des Natriumsalzes der β, δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) aus, die nach scharfem Absaugen erneut in 250 cm³ Wasser unter Zusatz von 10 cm³ Sodalösung gelöst werden. Die noch etwas trübe Lösung wird zweimal mit je 50 cm³ Äther gewaschen und hierauf mit 10-proz. Salzsäure angesäuert. Das ausgefällte Öl krystallisiert bald durch Reiben und Einwerfen von Eis oder auch durch blosses Stehen über Nacht. Nach Absaugen und gründlichem Waschen mit Wasser, wobei man die bisweilen zusammengeballte Masse mit Wasser verreibt und wieder absaugt, erhält man 20,0 g farblose β, δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) vom Schmelzpunkt 94—97°, welche für weitere Versuche bereits genügend rein ist.

Aus der vom Natriumsalz abfiltrierten sodaalkalischen Mutterlauge werden nach Waschen mit Äther und Ansäuern mit Salzsäure noch 0,3 g etwas unreine Säure erhalten. Ausbeute 82,6% der Theorie.

Die β, δ -Diphenyl-lävulinsäure ist leicht löslich in Alkohol, Aceton, Eisessig, Chloroform oder warmem Tetrachlorkohlenstoff, mässig in kaltem Tetrachlorkohlenstoff, Benzol, oder warmem Cyclohexan, sehr schwerlöslich in Wasser. Sie lässt sich aus wässrigem Alkohol, wässrigem Aceton oder am besten aus Cyclohexan umkrystallisieren. Bei grösseren Mengen empfiehlt es sich, die Säure aus wenig Tetrachlorkohlenstoff oder aus einem Gemisch von 2 Teilen Benzol und 1 Teil Petroläther umzulösen. Farblose Nadelchen vom Smp. 98—99°.

4,372 mg Subst. gaben 12,197 mg CO₂ und 2,378 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|---------|
| C ₁₇ H ₁₆ O ₃ | Ber. C 76,10 | H 6,01% |
| | Gef. „ 76,13 | „ 6,09% |

Die Kupferverbindung der Säure stellt ein grünstichig hellblaues Pulver dar, das nach Waschen mit Wasser und Trocknen an der Luft bei 187—188° unter Zersetzung zu einer gelben Flüssigkeit schmilzt. Das Kaliumsalz krystallisiert in schönen silberglänzenden Blättchen und ist analog wie das Natriumsalz erhältlich. Im Gegensatz zum letzteren ist es etwas leichter löslich in kaltem Wasser.

β, δ -Diphenyl-lävulinsäure-methylester (VII).

Eine warme Lösung von 2 g Säure (VIII) in 5 cm³ absolutem Methanol wird mit Chlorwasserstoffgas gesättigt, worauf man unter Rückfluss (Calciumchlorid-Rohr) noch 2 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt.

Das erkaltete Reaktionsprodukt giesst man in etwas Eiswasser und schüttelt mit zweimal 40 cm³ Äther aus. Nach Waschen mit halbkonzentrierter Sodalösung, dann einmal mit eiskalter 2-proz. Natronlauge und zuletzt mit Wasser hinterlässt die mit Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung 3,6 g Öl, das nach Reiben vollständig krystallisiert. Der Körper ist in den meisten Lösungsmitteln spielend löslich, mässig löslich in warmem Petroläther oder Cyclohexan und unlöslich in Wasser. Nach Umkrystallisieren aus Alkohol (0,4 g : 2 cm³) bildet er zarte Nadelchen vom Smp. 52°.

3,953 mg Subst. gaben 11,061 mg CO₂ und 2,357 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|---------|
| C ₁₈ H ₁₈ O ₃ | Ber. C 76,57 | H 6,43% |
| | Gef. „ 76,36 | „ 6,67% |

2,4-Diphenyl-cyclopentan-dion-(1,3) (I).

Man versetzt eine Lösung von 0,2 g Natrium in 15 cm³ absolutem Methanol mit einer warmen Lösung von 2 g β, δ -Diphenyl-lävulinsäure-methylester (VII) in 15 cm³ absolutem Methanol. Die Mischung färbt sich alsbald gelb- bis rotbraun und wird 4 Stunden

¹⁾ Hierbei wird 1,5 g einer unlöslichen, halbfesten Substanz abgetrennt, die hauptsächlich aus β -Phenyl- γ -benzyl- $\Delta^{\beta, \gamma}$ -croton-lacton (X) besteht und in einer späteren Mitteilung beschrieben wird.

unter Rückfluss (Calciumchlorid-Rohr) auf dem Wasserbad erhitzt. Anschliessend destilliert man das Methanol bei einer Badtemperatur von 95—110° innerhalb einer Stunde ab und erhitzt den gelbbraunen Rückstand noch 20 Minuten auf 120°.

Nach Erkalten wird das Reaktionsprodukt in 40 cm³ Wasser gelöst, und die Lösung zweimal mit etwas Äther gewaschen, um Spuren neutraler Anteile zu entfernen. Die nun klare alkalische Lösung scheidet nach Ansäuern mit 2-n. Salzsäure ein Öl aus, das man durch zweimaliges Ausschütteln mit je 15 cm³ Äther abtrennt. Die Ätherlösung hinterlässt nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abdestillieren ein hellgelbes zähes Öl, aus dem nach kurzem Stehen 2,4-Diphenyl-cyclopentan-dion-(1,3) (I) auskristallisiert. Die öligen Anteile gehen auf Zusatz von 5 cm³ Benzol in Lösung, während das Kondensationsprodukt I darin schwer löslich ist. Nach Stehen über Nacht saugt man die farblose Krystallmasse ab und wäscht sie mit wenig Benzol; Ausbeute 0,3—0,35 g oder 18—20% der Theorie. Nach Umkristallisieren aus Methanol schmilzt die Substanz bei 204—205° und zeigt in der Mischprobe mit einem nach *S. Eskola*¹⁾ dargestellten Präparat keine Schmelzpunktsenkung.

β, δ -Diphenyl-lävulinsäure-p-nitro-phenylhydrazon (XIV)

Man kocht eine Lösung von 1 g reiner β, δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) und 3 g p-Nitro-phenylhydrazin (etwa 5 Mol) in 10 cm³ absolutem Alkohol 4 Stunden unter Rückfluss auf dem Wasserbad. Das Reaktionsprodukt giesst man in verdünnte Salzsäure, nimmt die ausgeschiedene klebrige Masse in 30 cm³ Äther auf und wäscht die Ätherlösung zweimal mit etwas 10-proz. Salzsäure. Hierauf schüttelt man mit kleinen Mengen 10-proz. Sodaauslösung so lange durch, bis nichts mehr in Lösung geht, wäscht die vereinigten Sodaauslösungen mit wenig Äther und säuert sie mit 10-proz. Salzsäure an. Die ausgeschiedene Masse erstarrt bald krystallinisch und wird nach kurzem Stehen im Eisschrank abgesaugt.

Das bräunliche Rohprodukt wird erneut in Äther aufgenommen und mit 10-proz. Salzsäure, sowie mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen und Abdestillieren hinterbleiben 0,9 g hellbraune Krystalle, die man zur weiteren Reinigung zweimal aus 80-proz. Alkohol umkristallisiert; Smp. 177° unter geringer Gasentwicklung²⁾.

3,482 mg Subst. gaben 0,327 cm³ N₂ (23,5°, 737 mm)

C₂₃H₂₁O₄N₃ Ber. N 10,42 Gef. N 10,48%

Die bei der beschriebenen Behandlung mit Soda verbleibende Ätherlösung hinterlässt 0,16 g dunkel rotbraune klebrige Krystalle, die wahrscheinlich aus 1-(p-Nitrophenyl)-4-phenyl-3-benzyl-pyridazinon-(6) (analog Formel XVI, in Stellung 1 dagegen —C₆H₄—NO₂ 1 : 4) bestehen.

β, δ -Diphenyl-lävulinsäure-phenylhydrazon (XV)

1 g β, δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) werden mit 3 cm³ frisch destilliertem Phenylhydrazin eine Stunde und nach Zusatz von 2 Tropfen Piperidin eine weitere Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Erkalten versetzt man mit 20 cm³ 2-n. Salzsäure, giesst die wässrige Lösung von der ausgeschiedenen zähen Masse ab, verreibt letztere mit Wasser und giesst wieder ab. Schliesslich löst man den Rückstand in 10 cm³ gesättigter Sodaauslösung und 20 cm³ Wasser unter Erwärmen auf 55° auf und filtriert warm, worauf sich beim Erkalten schöne goldgelbe Blättchen des schwerlöslichen Natriumsalzes des Phenylhydrazons (XV) abscheiden. Man saugt ab, zerlegt durch Verreiben mit 2-n. Salzsäure, saugt erneut ab und wäscht mit Wasser. Nach Trocknen an der Luft erhält man 1,25 g Phenylhydrazon der β, δ -Diphenyl-lävulinsäure. Leicht löslich in Alkohol, Chloroform, Essigester, warmem Benzol oder Tetrachlorkohlenstoff, mässig in kaltem Benzol. Aus Benzol erhält man farblose mikrokristalline Nadelchen vom Zersp. 142,5°, die sich nach 2- bis 3-tägigem Liegen allmählich gelb färben und ihr Krystallbenzol abspalten.

5,133; 4,168 mg Subst. gaben 0,311; 0,257 cm³ N₂ (25°, 743 mm; 23°, 743 mm)

C₂₃H₂₂O₂N₂, C₆H₆ Ber. N 6,42 Gef. N 6,78; 6,95%

¹⁾ Suomen Kem. [B] 15, 19 (1942); C. 1942, II, 896.

²⁾ Die Substanz spaltet vermutlich unter Ringbildung zum entsprechenden Pyridazinon Wasser ab.

1,4-Diphenyl-3-benzyl-pyridazinon-(6) (XVI).

a) 0,45 g β, δ -Diphenyl-lävulinsäure-phenylhydrazon (XV) (Rohprodukt) werden mit $1\frac{1}{2}$ cm³ Acetanhydrid 3 Minuten auf 110—120° erhitzt. Das erkaltete Reaktionsprodukt giesst man in verdünnte Sodalösung, dekantiert diese ab und nimmt das ausgeschiedene Harz in Äther auf. Die Ätherlösung wäscht man nochmals mit verdünnter Sodalösung und Wasser, trocknet und destilliert ab, worauf man ein zähes Öl erhält. Zur Krystallisation fällt man dieses aus methyllalkoholischer Lösung mit Wasser aus, worauf es nach zweitägigem Stehen krystallinisch erstarrt. Man saugt ab, löst erneut in wenig Methanol und lässt im Eisschrank auskrystallisieren; schwach gelbes Krystallpulver vom Smp. 174°.

3,468 mg Subst. gaben 0,261 cm³ N₂ (23,5°, 740 mm)

C₂₃H₂₀ON₂ Ber. N 8,23 Gef. N 8,44%

b) 1 g reine β, δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) wird mit 3 cm³ frisch destilliertem Phenylhydrazin 4 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Erkalten entfernt man das überschüssige Phenylhydrazin mit verdünnter Salzsäure und Wasser und nimmt den Rückstand in 40 cm³ Äther auf. Die Ätherlösung schüttelt man mehrmals abwechselungsweise mit 10-proz. Sodalösung und Wasser¹⁾ und trennt hierdurch das β, δ -Diphenyl-lävulinsäure-phenylhydrazon (XV) als Natriumsalz ab. Die Aufarbeitung der sodaalkalischen Lösung in der bei Präparat XV beschriebenen Weise liefert noch 0,5 g des Phenylhydrazons der Säure.

Die zum Schluss noch mit wenig verdünnter Schwefelsäure und Wasser gewaschene Ätherlösung hinterlässt nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abdestillieren des Äthers 0,66 g eines zähen Öls, das wie unter a) zur Krystallisation gebracht wird und aus dem Pyridazinon XVI besteht.

 β, δ -Diphenyl-lävulinsäure-oxim (XVII).

Ein pulverisiertes Gemisch von 2 g Hydroxylamin-hydrochlorid und 1,2 g Natriumhydroxyd wird mit 5 cm³ Alkohol kurze Zeit unter Rückfluss auf dem Wasserbad erwärmt. Das nun freie Hydroxylamin enthaltende Reaktionsprodukt versetzt man mit einer Lösung von 1 g β, δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) in 5 cm³ Alkohol und erhitzt 2 Stunden unter Rückfluss. Bald scheidet sich neben dem anfänglich ausfallenden Natriumchlorid die Oximsäure (XVII) in farblosen Krystallen aus. Nach Erkalten versetzt man mit 50 cm³ Wasser und säuert mit 2-n. Salzsäure an, worauf man nach kurzem Stehen die abgetrennten Krystalle absaugt, mit Wasser wäscht und an der Luft trocknen lässt. Ausbeute: 0,92 g. Leicht löslich in Alkohol, Chloroform, Essigester, warmem Benzol oder warmem Tetrachlorkohlenstoff, mässig bis schwer löslich in kaltem Benzol oder Tetrachlorkohlenstoff, unlöslich in Wasser oder Petroläther. Die Verbindung kann aus 50-proz. Alkohol, aus einem Gemisch von Chloroform und Petroläther, oder aus Benzol und Petroläther, oder auch aus Tetrachlorkohlenstoff allein umkrystallisiert werden. Zur Analyse wurde zuerst aus 50-proz., dann aus wenig 85-proz. Alkohol umkrystallisiert; kleine Prismen vom Smp. 133—134°.

4,270 mg Subst. gaben 11,247 mg CO₂ und 2,255 mg H₂O

6,582 mg Subst. gaben 0,294 cm³ N₂ (23,5°, 745 mm)

C₁₇H₁₇O₃N Ber. C 72,06 H 6,05 N 4,94%

Gef. „ 71,88 „ 5,91 „ 5,02%

Das schön krystallisierte Natriumsalz der Verbindung ist ziemlich löslich in kaltem Wasser.

3-Benzyl-4-phenyl-4,5-dihydro-orthoxazinon-(6) (XVIII).

0,45 g β, δ -Diphenyl-lävulinsäure-oxim (XVII) (Rohprodukt) werden mit 2 cm³ Acetanhydrid und 2 Tropfen konz. Schwefelsäure 5 Minuten auf dem Wasserbad erhitzt.

¹⁾ Das in der Zwischenschicht ausgeschiedene schwerlösliche Natriumsalz der Hydrazonsäure löst sich in überschüssiger Sodalösung nur schwer, weshalb man dazwischen mit Wasser lösen muss, um eine gute Trennung zu erzielen.

Nach Erkalten giesst man in 25 cm³ Wasser und saugt die alsbald erstarrende Masse ab. Nach Waschen mit Wasser werden die Krystalle in 5 cm³ Chloroform aufgenommen und zweimal mit 2-n. Sodalösung gewaschen. Hierauf trocknet man die Chloroformlösung mit Natriumsulfat und destilliert ab. Der krystallisierte Rückstand liefert nach zweimaligem Umlösen aus Alkohol schwach gelbe Nadelchen vom Smp. 174—175°; leicht löslich in Chloroform, Aceton, Essigester oder warmem Alkohol, mässig in kaltem Alkohol, schwer löslich in Äther.

5,800 mg Subst. gaben 0,290 cm³ N₂ (26°, 743 mm)

C₁₇H₁₅O₂N Ber. N 5,28 Gef. N 5,58%

3-Benzyl-4-phenyl-pyridazinon-(6) (XIX).

1,5 g β , δ -Diphenyl-lävulinsäure (VIII) werden mit 5 cm³ Hydrazinhydrat (Präp. *Kahlbaum*, pro anal., Gehalt ca. 99,8—100,5%) 1½ Stunden auf siedendem Wasserbad erhitzt. Die anfänglich klare Lösung trübt sich unter Abscheidung eines Öls, das nach Erkalten teilweise erstarrt. Man dekantiert die überstehende Lösung und verreibt die noch ölige Masse 2—3 mal mit wenig Wasser, das letzte Mal unter Zusatz von 2 Tropfen verdünnter Salzsäure, worauf das Ganze zu einer farblosen Krystallmasse erstarrt. Nach Absaugen und Waschen mit Wasser erhält man 1,3 g dieser Verbindung (XIX) vom Roh-Smp. 110—114°. Umkrystallisiert aus Alkohol schmilzt sie bei 115—116°. Leicht löslich in Benzol, Eisessig oder Dioxan, ziemlich löslich in kaltem, leicht in warmem Tetrachlorkohlenstoff, mässig löslich in kaltem Alkohol oder warmem Cyclohexan, unlöslich in Wasser. Die Substanz lässt sich auch aus einem Gemisch von Tetrachlorkohlenstoff und Cyclohexan, bzw. Benzol und Petroläther oder aus viel Cyclohexan allein umkrystallisieren.

4,608 mg Subst. gaben 12,998 mg CO₂ und 2,595 mg H₂O

3,628 mg Subst. gaben 0,347 cm³ N₂ (25°, 741 mm)

C₁₇H₁₆ON₂ Ber. C 77,25 H 6,10 N 10,60%

Gef. „ 76,97 „ 6,30 „ 10,68%

β , δ -Diphenyl-valeriansäure (XX).

2 g reines 3-Benzyl-4-phenyl-pyridazinon-(6) (XIX) werden in einem grossen Reagenzglas im Ölbad auf 115—120° erhitzt bis alles geschmolzen ist. Dann trägt man rasch unter gutem Umrühren mit einem dicken Glasstab 0,66 g fein pulverisiertes Kaliumhydroxyd ein. Der entstandene Krystallbrei wird allmählich auf 170° erhitzt und eine halbe Stunde bei dieser Temperatur belassen. Bei 150—160° tritt Stickstoffentwicklung ein, wobei man die zähe Masse fleissig umrühren muss, um ein Hochsteigen zu vermeiden. Zur Beendigung der Reaktion erhitzt man noch eine Viertelstunde auf 180° und lässt dann erkalten.

Das glashart erstarrte Reaktionsprodukt wird mit ca. 50 cm³ Wasser unter gelindem Erwärmen gelöst und die Lösung zur Entfernung von Spuren ungelöster Substanz mit wenig Äther gewaschen. Die klare gelbe Lösung wird hierauf mit 10-proz. Salzsäure angesäuert, und das ausgefällte zähe Öl mit 2 mal 15 cm³ Äther aufgenommen.

Die Ätherlösung¹⁾ wird zweimal mit 10 cm³ 10-proz. Sodalösung ausgeschüttelt, die abgetrennte Sodalösung mit wenig Äther gewaschen und hierauf mit 10-proz. Salzsäure angesäuert. Die β , δ -Diphenyl-valeriansäure (XX) fällt zuerst ölig aus, wird aber nach Einwerfen von Eis und Reiben alsbald krystallin. Man saugt die Krystalle ab, wäscht sie mehrmals mit Wasser und trocknet an der Luft; Ausbeute 1,45 g. Um die Säure völlig farblos zu erhalten, kocht man das Rohprodukt kurze Zeit mit etwas Tierkohle in 75-proz. Methanol (0,5 g in 4,5 cm³) und filtriert in der Wärme. Beim Erkalten scheiden sich schöne seidengänzende Nadeln vom Smp. 109° ab, übereinstimmend mit den Angaben von *C. Mannich* und *A. Butz*²⁾; leicht löslich in Alkohol, Äther, Aceton, Benzol

¹⁾ Vgl. das folgende Präparat (XXII).

²⁾ B. 62, 457 (1929).

oder Tetrachlorkohlenstoff, mässig in heissem Ligroin, schwer bis unlöslich in Petroläther oder Wasser.

4,299 mg Subst. gaben 12,671 mg CO₂ und 2,839 mg H₂O
 $C_{17}H_{18}O_2$ Ber. C 80,28 H 7,14%
 Gef. „ 80,43 „ 7,39%

3-Benzyl-4-phenyl-pyridazon-(6) (XXII).

Die oben beschriebene mit Soda ausgeschüttelte Ätherlösung wird nochmals mit 10 cm³ konz. Sodalösung gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und abdestilliert, worauf das Pyridazon XXII schon während des Einengens auskrystallisiert; Menge 0,35 g. Leicht löslich in Chloroform oder Essigester, ziemlich leicht in Alkohol oder warmem Tetrachlorkohlenstoff, massig in Äther und unlöslich in Petroläther oder Wasser. Nach zweimaligem Umlösen aus Tetrachlorkohlenstoff bildet die Substanz farblose mikrokrySTALLINE NÄDELCHEN vom Smp. 142°.

3,782; 4,690 mg Subst. gaben 10,712; 13,270 mg CO₂ und 1,870; 2,285 mg H₂O
 3,234 mg Subst. gaben 0,312 cm³ N₂ (25°, 739 mm)

$C_{17}H_{14}ON_2$ Ber. C 77,84 H 5,38 N 10,68%
 Gef. „ 77,29; 77,21 „ 5,53; 5,45 „ 10,75%

β,δ-Diphenyl-valeriansäure-methylester (XXI).

0,9 g β,δ-Diphenyl-valeriansäure (XX) werden in 2,5 cm³ absolutem Methanol durch kurzes Erwärmen auf dem Wasserbad gelöst und die Lösung mit Chlorwasserstoffgas gesättigt. Hierauf kocht man 1½ Stunden unter Rückfluss (Calciumchlorid-Rohr) auf dem Wasserbad, giesst nach Erkalten in Eiswasser und nimmt den abgeschiedenen Ester in Äther auf. Die Ätherlösung wird mit 10-proz. Sodalösung, dann mit wenig eiskalter 2-proz. Natronlauge und schliesslich mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abdestillieren des Äthers hinterbleibt 0,8 g dickflüssiges farbloses Öl, das zur Reinigung im Vakuum destilliert wird. Unter 13 mm destillieren 0,6 g reiner Ester XXI vom Sdp. 203—204°.

3,784 mg Subst. gaben 11,160 mg CO₂ und 2,442 mg H₂O
 $C_{15}H_{20}O_2$ Ber. C 80,56 H 7,51%
 Gef. „ 80,48 „ 7,22%

Universität Basel, Anstalt für organische Chemie.

19. Über die funktionellen Gruppen der oxydierten Cellulose IV¹⁾

von Fritz Müller.

(18. XII. 45.)

Wenn Cellulose durch Oxydationsmittel verändert wird, so können durch Dehydrierung Aldehyd- und Ketogruppen, durch Oxydation der neugebildeten freien Aldehydgruppen und der Halbacetalformen Carboxylgruppen gebildet werden. *H. Staudinger* und *A. W. Sohn*²⁾ wiesen ferner nach, dass nach Spaltung der Ketten die Oxygruppen zweier benachbarter Pyranosekerne mit Kohlensäure verestert sein können, und was die übrigen Möglichkeiten, wie z. B.

¹⁾ III. Mitteilung Helv. 22, 376 (1939).

²⁾ *H. Staudinger* und *A. W. Sohn*, B. 72, 1709 (1939).

α -Diketone, betrifft, sei auf eine Arbeit der gleichen Autoren¹⁾ verwiesen. Ein Teil der Abbauprodukte ist sehr leicht alkalilöslich und dies beweist, dass der oxydative Angriff auch kleine Spaltstücke der Cellulose (oxydierte Oligosaccharide?) erzeugt; die kleinsten Spaltstücke hingegen, Umwandlungsprodukte der Glucose und Cellobiose, wird man kaum in gut ausgewaschenen Fasern finden, sondern in den zur Oxydation resp. Dehydrierung angewandten Medien und dem Waschwasser.

In der vorliegenden Arbeit wird mit bewusster Beschränkung nur von den freien Carbonylgruppen die Rede sein. Wir brauchen die Existenz von Carboxylgruppen in oxydierter Cellulose nicht mehr nachzuweisen, da *H. Staudinger* und seine Schüler dies in interessanten Arbeiten eingehend getan haben. Trotz den früheren Zweifeln von *K. Hess* und *G. Katona*²⁾ lässt sich die Anwesenheit der Carboxylgruppe heute nicht mehr bestreiten.

Dass freie, d. h. nicht halbacetalisierte Carbonylgruppen im Reaktionskomplex vorhanden sind, wurde schon sehr lange aus verschiedenen Gründen vermutet und auch schon weitgehend experimentell gestützt. In meinen früheren Arbeiten habe ich die Anwesenheit dieser Dehydrierungsprodukte, fussend auf den Arbeiten älterer Forscher eindeutig nachgewiesen; bis heute war es allerdings noch nicht möglich, die Aldehyd- von den Ketogruppen zu unterscheiden.

Neben der Reduktion von Schwermetallsalzen, wie Silber-, Gold(III)-, Quecksilber(II)-Salze usw. und *Fehling'scher* Lösung, wurde die Rotfärbung oxydierter Cellulose durch fuchsinschweflige Säure immer wieder als Stütze für die Anwesenheit von Aldehydgruppen angesehen. Ich stellte mir zunächst die Aufgabe zu beweisen, dass auch in diesem Falle mit dem *Schiff'schen* Reagens Aldehydgruppen erkannt werden.

Dazu schienen hauptsächlich zwei Wege gangbar. Erstens die Ausschaltung der Aldehydgruppe durch Oxydation zur Carboxylgruppe, zweitens die Blockierung der Aldehydgruppe durch Umsatz mit Benzolsulfohydroxamsäure, dem spezifischen Aldehydreagens. In beiden Fällen sollte die Färbung mit dem *Schiff'schen* Reagens ausbleiben oder zum mindesten stark herabgemindert sein. Diese Annahme konnte ich auch bestätigen.

E. Husemann und *O. H. Weber*³⁾ fanden im *Staudinger'schen* Institut, dass eine 0,1-n. Jod- in n. Na_2CO_3 -Lösung auf Cellulose so wirkt, dass nur gerade die ω -Cellulosealdehyde, nach vorgängiger Hydrolyse der Halbacetalform, zu Carboxylgruppen oxydiert werden.

¹⁾ *H. Staudinger* und *A. W. Sohn*, J. pr. [2] 155, 177 (1940).

²⁾ *K. Hess* und *G. Katona*, A. 455, 214 (1927).

³⁾ *E. Husemann* und *O. H. Weber*, J. pr. [2] 161, 1 (1942).

Ein eigentlicher Abbau, also Kettenspaltung tritt dabei, wie die Autoren durch eingehende Viscositätsmessungen zeigten, nicht ein. Es war auch anzunehmen, dass der durch Dehydrierung der primären Alkoholgruppe entstehende 6-Aldehyd dieser Oxydation ebenfalls unterliegen würde. Ich habe nun fast ausschliesslich die mit 2,5- und 5-proz. KMnO_4 -Lösung erzeugte „Oxycellulose“ von Viscosekunstseide und Baumwollcellulose untersucht. Wenn man sie der Einwirkung des Reagens von *Husemann* und *Weber* unterwirft, so kommt man bei 25° C innerhalb 2—4 Stunden bei laufender Prüfung mit dem *Schiff'schen* Reagens zu immer schwächeren Färbungen, wobei andere Carbonylreaktionen wie z. B. die Einwirkung von Hydrazinonaphtolsulfosäuren und nachfolgende Kuppelung mit einer geeigneten Diazoniumverbindung noch keinen Angriff auf den unveränderten Teil der Faser zeigen. Nach 3—4 Stunden ist im allgemeinen bei Viscosekunstseide die Fuchsinreaktion noch gerade andeutungsweise wahrnehmbar. In diesem Zeitpunkt wurde die Nachoxydation durch Wässern unterbrochen und das behandelte Gewebe zusammen mit den Kontrollproben geprüft. Diese Prüfungen wurden mit den älteren Methoden ausgeführt, wobei noch zwei neu aufgefundene mitverwandt wurden.

Bei diesen handelt es sich um die Kondensation von Derivaten aromatischer Mono- und o-Diamine mit oxydierter Cellulose und den Nachweis dieser Kondensationsprodukte (*Schiff'sche* Basen? resp. Gemische von Benzimidazolen und Chinoxalinen) auf der Faser. Im ersten Falle beispielsweise wurde p-Nitranilin in verdünnter Essigsäure bei Siedetemperatur zur Einwirkung gebracht, die Nitrogruppe reduziert und die entstehende Aminogruppe diazotiert. Durch Einlegen des Gewebes in eine schwach alkalische Lösung von β -Naphтол, H-Säure oder „Naphтол AS“ wurden so am Ort des oxydativen Angriffs typische Azofarbstoffe gebildet. H-, γ -, S-, RR-Säure wurden als Natriumsalze gelöst in verdünnter Essigsäure kondensiert und durch Einwirkung von Diazoniumverbindungen die für die Komponenten charakteristischen Färbungen erhalten. Ausserdem wurde gefunden, dass Derivate aromatischer o-Diamine¹⁾ wie z. B. 1,2-Diamino-8-naphтол-3,6-disulfosäure, das aus der S-Säure erhältliche 1,2,8,4-Derivat, und auch o-Phenylendiamin in verdünnter Essigsäure sich mit oxydierter Cellulose kondensieren lassen, wobei man die Naphтол-derivate durch Kuppelung mit Diazoniumverbindungen sehr leicht nachweisen kann. Das Kondensationsprodukt der 1,2-Diamino-8-naphтол-4-sulfosäure autoxydiert sich schon beim Wässern zu einem schmutzigen Blaugrau, während das Einwirkungsprodukt

¹⁾ Aus einer Besprechung mit Dr. *E. Geiger* ging hervor, dass wir gleichzeitig die Kondensation von aromatischen o-Diaminen in Erwägung zogen; *E. Geiger* wollte mit o-Phenylendiamin α -Diketone in Oxycellulose nachweisen.

von o-Phenylendiamin nach einem Vorschlag von *E. Geiger* mit sauren Wollfarbstoffen nachgewiesen wurde.

In einer früheren Arbeit¹⁾ habe ich gezeigt, wie die Aldehyd- und Ketogruppen der oxydierten Cellulose durch die typischen Carbonylreagenzien, wie Hydroxylamin, Hydrazin, Semicarbazid und Cyanwasserstoff so blockiert werden können, dass die nachfolgend angewandten Nachweisreaktionen nicht oder nur unvollständig ansprechen. So liess sich durch Vorbehandlung mit Blausäure, d. h. Oxynitrilbildung, die Rotfärbung mit dem *Schiff'schen* Reagens völlig unterdrücken. Benzolsulfohydroxamsäure aber ist das spezifische Aldehydreagens und die Tatsache, dass durch dessen Einwirkung diese Rotfärbung sehr stark abgeschwächt werden konnte, beweist, dass das *Schiff'sche* Reagens auch bei oxydierter Cellulose die Anwesenheit von Aldehydgruppen anzeigt.

Die Versuche, die Carbonylgruppen der oxydierten Cellulose durch Reduktion mit Aluminium-alkylaten wieder zu den Alkoholgruppen zurückzuverwandeln, sind bis jetzt völlig fehlgeschlagen.

Schliesslich wurde noch versucht, oxydierte Cellulose mit verdünnten Alkalien solange zu extrahieren, bis die Reaktion mit der fuchsinschwefligen Säure auf das Mass des unveränderten Grundes gefallen war, um dann festzustellen, was für Gruppen noch nachweisbar sind. Bei Viscosekunstseide wurde dabei mit Hydrazinverbindungen stets noch eine geringe Gelbfärbung und bei der Einwirkung von Diazoniumsalzen die für die angewandten Komponenten typische Färbung, wenn auch abgeschwächt erhalten. Im Hinblick auf die Gelbfärbung der primären Kondensationsprodukte, die auf Hydrazonbildung hindeutet, kann die Anwesenheit von Ketogruppen als erwiesen gelten, da Säurehydrazide farblos sind.

Auffallend war weiter, dass die Methylenblau- und die *Haller'sche* Goldpurpurreaktion am längsten bestehen blieben, und diese Parallelität kann als Beweis für die von *F. Lorenz*²⁾ geäusserte Ansicht gelten, dass die *Haller'sche* Reaktion dadurch zustande kommt, dass Zinn(II)-oxychlorid sich mit den Carboxylgruppen unter Salzbildung vereinigt und nachher mit dem Gold(III)-chlorid reagiert. Wenn alle Carbonylreaktionen nur noch andeutungsweise vorhanden sind, bestehen stets noch kräftige Carboxylreaktionen. Die Carbonylgruppen sind offenbar in relativ kleinen Bruchstücken der Celluloseketten enthalten, die Carboxylgruppen hingegen scheinen auch an grösseren, möglicherweise gar nicht abgebauten Ketten zu sitzen. Besonders eindrücklich zeigt sich dies, wenn man die oxydativen Veränderungsprodukte der nativen Cellulose der Behandlung von Alkalien unterwirft. In überraschender Weise reagierten diese Proben auch besonders stark mit gewissen Diazoniumverbindungen, wie z. B. „Echt-

¹⁾ Helv. 22, 376 (1939).

²⁾ *Fritz Lorenz*, „Beiträge zur Kenntnis oxydierter Zellulose“, Diss. Basel (1932).

schwarzsatz B“ (*I. G. Farbenindustrie AG.*) bei Gegenwart von verdünnter Natronlauge. Der Befund ist insofern wenig durchsichtig, als bis dahin die Farbreaktionen von oxydierter Cellulose mit Diazoniumverbindungen mit Carbonylderivaten, wie Ketocarboneatern, in Beziehung gebracht wurden.

Die folgenden Tabellen sollen die Resultate zusammenfassen; ausdrücklich sei betont, dass jede mehreren unter sich übereinstimmenden Versuchsreihen entspricht:

Oxycellulose auf Viscosekunstseide mit 5-proz. KMnO_4 erzeugt; Nachoxydation mit der Hypojoditlösung von *E. Husemann* und *O. W. Weber*.

| Nachweisreaktion | Nachoxydiert | Kontrollprobe |
|---|-------------------------|-----------------------------|
| 1. Fuchsin-schweflige Säure | andeutungsweise | intensiv |
| 2. Phenylhydrazin-p-sulfosäure 1%, 10 Sek. siedend, wässern, gekuppelt mit Variaminblausalz FG, verd. NaOH | sehr schwach | sehr intensiv violettrot |
| 3. 0,3 g/l 2-Hydrazino-8-naphtol-6-sulfo- säure, 2 Min. siedend, wässern, tetra- zotierte Benzidin-disulfosäure(4,4'- 2,2'), verd. Na_2CO_3 | schwach rosa | intensiv rotbraun |
| 4. 0,2 g/l $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, 2 Min. siedend, wäs- sern, äusserst verd. Gold(III)-chlorid- lösung, 45 Min. | schwach | intensiv violettrot |
| 5. 2 g/l 1,2-Diamino-8-naphtol-4-sulfo- säure in 1-proz. CH_3COOH , 20 Min. siedend, CO_2 -Strom, wässern, tetrazo- tierte Benzidinsulfosäure, Na_2CO_3 | negativ | intensiv rotbraun |
| 6. 1% Brenzcatechin-kohlensäure-hydra- zid in Alkohol, 16 Std. Raumtempera- tur, wässern, Variaminblausalz B, NaOH dil. | blass gelblich-braun | braun |
| 7. Methyleneblau 3-prom., tiefgefärbt 80°; 3 Std. wässern | mittelstark | mittelstark |
| 8. <i>Haller'sche</i> Goldpurpurmethode | schwach | deutlich stärker |

Im Hinblick auf eine ältere Arbeit von *K. Hess* und *G. Katona*¹⁾, in der dem Oxycellulosebegriff die Existenzberechtigung abgesprochen wurde, ist folgender Versuch durchgeführt worden: Viscosekunstseide wurde mit 5-proz. KMnO_4 behandelt und nach Entfernung des MnO_2 4mal 8 Stunden mit 5-proz. Natriumhydrogencarbonatlösung extrahiert; zwischen jeder Extraktion wurde 4 Stunden gewässert. Nach der Oxydation mit 0,1-n. Hypojoditlösung in n. Na_2CO_3 , 2 1/2 Stunden bei 25°, ergab sich:

¹⁾ *K. Hess* und *G. Katona*, A. 455, 214 (1927).

| Nachweisreaktion | extrahiert und nachoxydiert | extrahierte Kontrolle |
|--|-----------------------------|--|
| 1. Fuchsinschweflige Säure | negativ | ca. 20% der Intensität vor der Extraktion |
| 2. <i>Fehling'sche</i> Lösung siedend 1 Min. | Andeutung | ca. 40% des Ausfalles vor der Extraktion |
| 3. 1-prom. 1-Hydrazino-8-naphtol-3,6-disulfosäure, 10 Min. bei 80—90° C, wässern, „Echtblausalz B“, verd. NaOH | ca. 20% der Kontrolle | sehr intensiv blauschwarz keine Differenz mit der Probe vor der Extraktion |
| 4. 1-prom. Phenylhydrazin-p-sulfosäure, 15 Min. 90—100°, wässern, „Echtblausalz B“ | ca. 20% der Kontrolle | tiefbraun |

Mit diesen Befunden erledigt sich auch die Beweiskraft der Methode von *Hess* und *Katona* (Drehwert in Cuoxamlösung) und zwar um so mehr, als die Autoren mit Oxycellulose aus Baumwollinters gearbeitet haben, die viel resistenter ist, als die auf umgeformter Cellulose erzeugte.

Extraktion der Oxycellulose mit n. Na_2CO_3 .

Behandlung während 14 Stunden, Luftabschluss, Schüttelmaschine.

| Nachweisreaktion | Extrahiert | Kontrolle |
|---|--|----------------------|
| 1. Fuchsinschweflige Säure | Andeutung | intensiv |
| 2. 1,8-Hydrazinonaphtol-3,6-disulfosäure, „Echtblausalz B“, Na_2CO_3 | ca. 50% der Kontrolle | intensiv blauschwarz |
| 3. 1% Brenzcatechin-kohlensäure-hydrazid, „Variaminblausalz B“ | Andeutung | hellbraun |
| 4. 1% Dinatriumsalz der 1,8-Aminonaphtol-3,6-disulfosäure H in 10-proz. CH_3COOH , 20 Min. 100° C, „Echtblausalz B“, verd. Na_2CO_3 | 20—30% schwächer als die Kontrolle | tiefblau |
| 5. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 0,2 g/l, 2 Min. 100° C, wässern. Gold(III)-chloridlösung äusserst verdünnt, 45 Min. | ca. $\frac{1}{3}$ Intensität der Kontrolle | intensiv violett |
| 6. <i>Fehling'sche</i> Lösung, 1 Minute siedend | ident. mit der Kontrolle | sehr ausgeprägt |

Oxycellulose (5-proz. KMnO_4) auf Baumwollcellulose, MnO_2 mit SO_2 -haltigem Wasser entfernt. In 2-n. NaOH 1 Stunde abgekocht, H_2 -Strom, 0,2 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ im Liter.

| Nachweisreaktion | abgekocht | Kontrolle |
|---|-----------------------|-------------|
| 1. Fuchsinschweflige Säure | Andeutung | sehr stark |
| 2. Gold(III)-chlorid nach $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ -Vorbehandlung | ca. 20% der Kontrolle | sehr stark |
| 3. Phenylhydrazin-p-sulfosäure 1-proz., 2 Min. siedend, wässern, „Variaminblausalz FG“, verd. NaOH | ca. 10% der Kontrolle | sehr stark |
| 4. 2-Hydrazino-8-naphtol-6-sulfosäure 4-prom., 2 Min. siedend, wässern, tetrazotierte Benzendisulfosäure(4,4'-2,2'), Na_2CO_3 | ca. 10% der Kontrolle | sehr stark |
| 5. Ohne Vorbehandlung, mit ätzalkalischem „Echtschwarzsatz B“ | starkbraun | mittelstark |
| 6. Brenzcatechin-kohlensäure-hydrazid 1% in Alkohol, 12 Stunden 20° C, wässern, „Variaminblausatz B“ | ca. 30% der Kontrolle | stark braun |
| 7. <i>Fehling'sche</i> Lösung | Andeutung | mittelstark |
| 8. Methylenblau | stark | stark |
| 9. <i>Haller'sche</i> Goldreaktion | stark | stark |

Aus diesen Zusammenstellungen geht hervor, dass, wenn die typischen Aldehydreaktionen nur noch andeutungsweise vorhanden oder sogar verschwunden sind, noch recht deutliche bis kräftige Carbonylreaktionen bestehen bleiben, die nur Ketogruppen zugeschrieben werden können.

Mit der Intensität der Färbung mit fuchsinschwefliger Säure gehen die Kondensationen mit aromatischen o-Diaminen, sowie die Reaktionen mit Brenzcatechin-kohlensäure-hydrazid¹⁾ weitgehend parallel; es handelt sich also um typische Aldehydreaktionen.

Sehr instruktiv war es, die Einwirkung der *Husemann'schen* Hypojoditlösung so zu leiten, dass der Grund gerade leicht angegriffen wurde; dabei gingen sämtliche Reaktionen: Arylhydrazon-Azofarbstoffbildung inkl. Brenzcatechin-kohlensäure-hydrazid-Kondensation, Goldreaktion nach Natriumdithionitbehandlung, Kondensation mit 1,2-Diamino-8-naphtol-4-sulfosäure (Nachweis durch Autoxydation, sowie durch Kupplung mit Diazoniumsalzen) mit der gerade noch sichtbaren Fuchsinreaktion in der Intensität parallel; auch die Ketonfraktion ist offenbar dieser Oxydation zum Opfer gefallen. Erhalten blieb einzig die Methylenblauanfärbung.

Experimenteller Teil.

Was die älteren, in dieser Arbeit benützten Nachweismethoden, z. B. Kondensation von Phenylhydrazin-p-sulfosäure, Hydrazino-naphtolsulfosäuren und nachfolgend Kup-

¹⁾ A. *Einhorn* und R. *Escales*, A. 317, 196, 201 (1901).

pelung mit Diazoniumverbindungen, sowie die modifizierte Goldreaktion anbelangt, sei auf meine früheren Arbeiten verwiesen¹⁾; die Abänderungen hinsichtlich der Konzentration der Reagenzien bzw. der Einwirkungsdauer ergeben sich aus den Tabellen.

1. Kondensation aromatischer Monoamine mit „Oxycellulose“.

Eine Aminonaphtol-mono- oder disulfosäure wird mit Soda neutral gelöst. Die Lösung wird hierauf mit soviel Eisessig versetzt, dass sie in Bezug auf das Naphtalin-derivat 1-proz. und in Bezug auf die Essigsäure 5—10-proz. ist. Die Gewebeprobe wird in dieser Lösung 20—30 Minuten gekocht und hernach sehr gut gespült. Das Gewebe wird hierauf in verdünnte Sodalösung eingelegt und mit einer Diazoniumsalzlösung versetzt, wobei am Ort des oxydativen Angriffs eine intensive Färbung entsteht. Verwendet man z. B. die 1,8-Aminonaphtol-3,6-disulfosäure H, so lassen sich sehr leicht violette bis blauschwarze Töne erzielen. Die Reaktion wurde weiterhin noch mit Aminonaphtolen und Aminophenolen durchgeführt. p-Nitranilin wurde in verdünnter Essigsäure kondensiert und das Gewebe nach dem Auswaschen mit Natriumdithionitlösung behandelt. Hierauf wurde es in eine schwach mineralsaure Lösung von Natriumnitrit eingelegt und die dadurch auf der Faser erzeugten Diazoniumverbindungen ergaben in alkalischen Lösungen von β -Naphtol oder „Naphtol AS“ typische Färbungen der oxydierten Stellen.

Bei den beschriebenen Nachoxydationen mit der Hypojoditlösung nach *Husemann* folgten die Intensitäten dieser Färbungen weitgehend den typischen Aldehydreaktionen, dabei aber sei ausdrücklich bemerkt, dass auch der unveränderte Grund schwach angefärbt wurde; es reagieren also unter den angewandten Bedingungen offenbar freie und halbacetalisierte Aldehydgruppen (aromatische N-Glucoside?). Verwendet man vergleichsweise Aminonaphtol-mono- oder disulfosäuren und die entsprechenden Hydrazinoderivate nebeneinander und unter sonst identischen Versuchsbedingungen, so werden nach dem Kuppeln mit Diazoniumverbindungen mit den Hydrazinoderivaten Färbungen erhalten, die mehrfach stärker sind als die mit den Aminoderivaten erzielten. Man gewinnt den Eindruck, dass die Hydrazinoderivate Aldehyd- und Ketogruppen erfassen, während die Aminoderivate, wie die Nachoxydationsversuche zeigten, offenbar nur mit Aldehyden in Reaktion treten. Ob diese Annahme zutrifft, bedarf allerdings noch einer genaueren Nachprüfung. Die noch wenig zahlreichen Befunde, dass die Reaktion der aromatischen Aminoderivate mit freien Aldehydgruppen in Zusammenhang zu sein scheint, ist mit der Auffassung dieser Kondensationsprodukte als N-Glucoside nicht in Übereinstimmung (*Schiff'sche Basen*?).

2. Kondensation von aromatischen o-Diaminen mit Oxycellulose.

Die verwandten 1,2-Diaminonaphtol-mono- und disulfosäuren wurden erhalten, indem diazotierte Sulfanilsäure mineralisauer mit Aminonaphtolsulfosäuren gekuppelt und die entstandenen Farbstoffe nach *Béchamp* reduziert wurden. Auf die Abscheidung der regenerierten Sulfanilsäure wurde verzichtet, so dass sie sich an den Kondensationsreaktionen mitbeteiligte. Zur Verhinderung der Autoxydation sodaalkalischer Lösungen wurde etwas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ zugesetzt. Im allgemeinen wurden die Reduktionsprodukte von 1—3 g Farbstoff pro Liter in 1—2-proz. Essigsäure zur Kondensation verwandt, die durch gelindes Sieden im Kohlendioxidstrom während 20—30 Minuten ausgeführt wurde. Das Kondensationsprodukt der 1,2-Diamino-8-naphtol-4-sulfosäure autoxydierte sich beim längeren Wässern zu einem graublauen Farbstoff.

Kondensiert man o-Phenylendiamin in gleicher Weise mit oxydierter Cellulose, so lässt sich auch hier beim Wässern eine leichte Verfärbung konstatieren. Behandelt man diese Proben nach einem Vorschlag von *E. Geiger* mit sauren Wollfarbstoffen wie z. B. Eriochecyanin FL oder Eriochecyaningrün G, so binden die oxydierten Stellen den Farbstoff stark, währenddem unbehandelte oxydierte Cellulose ihn nicht annimmt. Die Färbungen sind aber nicht besonders waschecht und lassen sich durch längeres Wässern abziehen. Damit ist der schwach basische Charakter der Kondensationsprodukte, ver-

¹⁾ Helv. 22, 208, 217, 377 (1939).

mutlich ein Gemisch von Benzimidazolen und Chinoxalinen, erwiesen. Entfernt man die freien Aldehyde nach *Husemann*, so bleibt nur noch jene leichte Anfärbung, die der unveränderte Grund des Gewebes zeigt.

3. Nachoxydation oxydierter Cellulose mit Natriumhypjodit nach *Husemann* und *Weber*.

Wenn man die „Oxycellulose“ der Viscosekunstseide mit dem Reagens von *Husemann* und *Weber* behandelt, so wird bei 20–25° C in 2–4 Stunden eine beinahe vollständige Oxydation der freien Aldehyd- und der Halbacetal-Endgruppen erreicht.

In wesentlich kürzerer Zeit kommt man zum gleichen Ziel, wenn man die zur Oxydation benötigte Jodmenge in Kaliumjodidlösung löst, die Proben damit imprägniert („Oxycellulose“ nimmt Jod nicht an) und nach 10–15 Minuten die Lösung mit soviel Soda versetzt, dass sie in Bezug auf Na_2CO_3 normal ist. Auf diese Weise war es z. B. möglich, auch die auf Baumwollcellulose erzeugte „Oxycellulose“ so nachzuoxydieren, dass mit dem *Schiff'schen* Reagens nur noch eine sehr schwache Anfärbung zu beobachten war. In einem Falle war dann die Kondensation mit *o*-Diaminen nicht wie bei umgeformten Cellulosen verschwunden, sondern sehr deutlich nachweisbar. Da freie Aldehydgruppen nicht mehr vorhanden sein können, sind hier wahrscheinlich 1,2-Diketone oder α -Keto-carbonester gebildet worden.

4. Nachoxydation oxydierter Cellulose mit *Fehling'scher* Lösung.

Schon *E. Husemann* und *O. H. Weber*¹⁾ versuchten Cellulose-aldehyde mit der von *Braidy* zur Kupferzahlbestimmung vorgeschlagenen sodaalkalischen Kupfersulfatlösung zu oxydieren. Behandelt man oxydierte Cellulose mit siedender *Fehling'scher* Lösung (1:2) während 3 Minuten und entfernt das Kupfer(I)-oxyd durch kochende 20-proz. Essigsäure, so fällt die Reaktion mit dem *Schiff'schen* Reagens entweder negativ aus oder ist als minimalste Andeutung noch zu beobachten; die übrigen Reaktionen zeigen einen leichten oxydativen Angriff des unveränderten Grundes. Sämtliche Reaktionen mit aromatischen Hydrazinoderivaten und Kuppelung mit Diazoniumverbindungen ergaben aber kräftige Färbungen, die Ketogruppen zugeschrieben werden müssen. Allein die Kondensation mit Brenzcatechin-kohlensäure-hydracid bei Raumtemperatur fiel auch hier nur andeutungsweise aus. Die *Haller'sche* Goldreaktion und die Methylenblaufärbung ergaben bei der behandelten und bei der Kontrollprobe den gleichen Ausfall; die Goldreaktion nach $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ -Vorbehandlung fiel gegenüber der Kontrolle wesentlich schwächer aus.

5. Einwirkung von Benzolsulfohydroxamsäure auf oxydierte Cellulose.

Benzolsulfohydroxamsäure wurde zu 1- und 3-proz. in Phosphatpufferlösungen vom pH 7,4; 7,8 und 8,3 während 3 bis 4 Tagen bei Raumtemperatur zur Einwirkung gebracht.

Die Prüfung geschah mit einer 1-prom. fuchsinschweifigen Säure, die mit SO_2 bereitet und bei welcher der SO_2 -Überschuss durch einen Luftstrom fast völlig entfernt wurde. Die kalte Lösung war gelb und als Aldehydreagens sehr wirksam. Die Proben wurden bei 60° eingelegt, während 15 Minuten unter gelegentlichem Umrühren behandelt und hierauf 30 Minuten im fließenden Wasser gespült. Als Kontrollproben dienten eine unbehandelte oxydierte Cellulose und Proben, die mit den betreffenden Pufferlösungen behandelt waren. Die Einwirkung der Benzolsulfohydroxamsäure bewirkte in allen Fällen einen Rückgang der Rotfärbung unter 20% der Kontrollproben; die letzteren unterschieden sich kaum untereinander.

6. Testobjekte.

Viscosekunstseide in Form eines Satinbandes oder Baumwollstoff wird in leicht erkennbarer Weise mit 2,5- oder 5-proz. KMnO_4 -Lösung einerseits und 1-prom. H_2SO_4 andererseits bezeichnet. Das Band wird hierauf im Rundkolben evakuiert, hernach lässt

¹⁾ loc. cit., S. 12.

man Kohlendioxyd einströmen und wiederholt diese Operation mehrmals, um alle Luft durch CO₂ zu verdrängen. Unter leichtem Kohlendioxydüberdruck wurde das Gewebe ca. 3 Stunden auf 60—70° erhitzt. Auf diese Weise lässt sich leicht eine „Hydrocellulose“ gewinnen, die keine Dehydrierungsprodukte enthält. Das Gewebe wurde hierauf mit SO₂-haltigem Wasser behandelt, bis aller Braunstein herausgelöst war, und hernach gründlich gespült. Das so behandelte Gewebe enthält „Oxy- und Hydrocellulose“ neben unverändertem Material.

Herr Prof. Dr. *L. Ruzicka* hatte mich in liebenswürdiger Weise eingeladen, einen Teil dieser Versuche in seinem Privatlaboratorium auszuführen. Für die gewährte Gastfreundschaft möchte ich ihm auch an dieser Stelle bestens danken. Ebenso danke ich Herrn Dr. *E. Geiger*, Emmenbrücke, für die Nachprüfung der Reaktionen mit aromatischen Mono- und o-Diaminen.

Basel, Rüttimeyerstrasse 43.

20. *l*-Idomethylose¹⁾.

Desoxyzucker. 8. Mitteilung²⁾

von **A. S. Meyer** und **T. Reichstein**.

(19. XII. 45.)

Von den 8 theoretisch möglichen Paaren optisch aktiver Aldomethylpentosen ist lediglich von den Idomethylosen noch kein Vertreter bekannt. Wir berichten im folgenden über die Bereitung der *l*-Idomethylose. Prinzipiell sollte es zwar möglich sein, aus dem bekannten *l*-Idomethylonsäure-lacton³⁾ oder aus dem schon früher beschriebenen *d*-Idomethylonsäure-lacton⁴⁾ durch Reduktion mit Na-Amalgam zur *l*- bzw. *d*-Idomethylose zu gelangen, doch ist die Herstellung der beiden Lactone äusserst mühsam. Wir zogen es deshalb vor, einen ergiebigeren Weg zu suchen, der in den folgenden Umsetzungen gefunden wurde.

1,2-Isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩ (XIV)⁵⁻¹⁰⁾ wurde in die bekannte 6-Tosyl-1,2-isopropyliden-3,5-benzal-*d*-glucose-⟨1,4⟩ (VIII)¹¹⁾¹²⁾ übergeführt. Von den zwei Möglichkeiten, erst Tosy-

1) Auszug aus der Diss. *A. S. Meyer*, die demnächst erscheint.

2) 7. Mitteilung vgl. *D. A. Prins*, *Helv.* **29**, 1 (1946).

3) *H. Müller*, *T. Reichstein*, *Helv.* **21**, 251 (1938).

4) *P. A. Levene*, *J. Compton*, *J. Biol. Chem.* **111**, 335 (1935).

5) *E. Fischer*, *B.* **28**, 2496 (1895).

6) *E. Fischer*, *Ch. Rund.* **B. 49**, 88 (1916).

7) *K. Freudenberg*, *W. Dürr*, *H. v. Hochstetter*, *B.* **61**, 1735 (1928).

8) *H. W. Coles*, *L. D. Goodhue*, *R. M. Hixon*, *Am. Soc.* **51**, 519 (1929).

9) *L. v. Vargha*, *B.* **66**, 704 (1933).

10) *L. Zervas*, *P. Sessler*, *B.* **66**, 1326 (1933).

11) *P. A. Levene*, *A. L. Raymond*, *B.* **66**, 384 (1933).

12) *D. J. Bell*, *E. Friedmann*, *S. Williamson*, *Soc.* **1937**, 252.

lierung¹⁾²⁾³⁾, dann Benzalierung oder erst Umsetzung mit Benzaldehyd⁴⁾⁵⁾, dann mit Tosylchlorid⁶⁾⁷⁾ gab die erstere Methode etwas bessere Ausbeuten. (VIII) liefert beim Erhitzen mit NaJ in Aceton das 1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*d*-glucose-⟨1,4⟩-jodhydrin-(6) (IX)⁷⁾⁸⁾, das beim Stehen mit wasserfreiem NH₃ unter Abspaltung von HJ in 1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*d*-glucomethyloseen-(5)-⟨1,4⟩ (XV)⁸⁾⁹⁾ übergeht. Wir fanden, dass diese Umsetzung bereits nach 2 Tagen bei 18° vollständig ist. Ein Versuch, (XV) direkt aus (VIII) durch Vakuumdestillation mit Natronkalk zu bereiten, wie dies *Ohle* und *Deplanque*¹⁰⁾ für die Überführung von (VI) in (I) beschrieben haben, gab kein brauchbares Resultat.

Hydrierung von (XV) mit Palladium-CaCO₃ in Feinsprit lieferte in fast quantitativer Ausbeute 1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*l*-idomethylose-⟨1,4⟩ (X), die vom analogen *d*-Chinovose-Derivat (V) deutlich verschieden ist. Der Stoff (X) schmilzt aber fast genau gleich wie (XV), und die Mischung beider gibt keine Schmelzpunktserniedrigung, sondern eine Schmelzpunktserhöhung von etwa 6°. Dieses Verhalten ermöglicht eine rasche Unterscheidung, ferner gibt (XV) mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung und entfärbt Bromlösung in CHCl₃, während sich (X) beiden Reagentien gegenüber gesättigt verhält. Auch die spez. Drehungen von (X) und (XV) sind deutlich verschieden. Das zum Vergleich benötigte (V) wurde sowohl durch Benzalierung von 1,2-Isopropyliden-*d*-chinovose (III)¹¹⁾ wie durch katalytische Entjodung von (IX) bereitet. Bei der Hydrierung von (XV) in CH₃OH mit *Raney*-Nickel unter Druck entstand ein Gemisch von 1,2-Isopropyliden-3,5-hexahydrobenzal-*l*-idomethylose-⟨1,4⟩ (XXII) und 1,2-Isopropyliden-*l*-idomethylose-⟨1,4⟩ (XVI), das sich durch Verteilung zwischen Äther und Wasser leicht trennen liess; beide Stoffe krystallisierten gut. (XVI) schmilzt fast gleich wie 1,2-

¹⁾ *H. Ohle, E. Dickhäuser, B. 58, 2593 (1925).*

²⁾ *L. v. Vargha, B. 66, 704 (1933).*

³⁾ *K. Freudenberg, H. Eich, C. Knoevenagel, W. Westphal, B. 73, 441 (1940).*

⁴⁾ *P. Brigl, H. Grüner, B. 65, 1428 (1932).*

⁵⁾ *L. Zervas, P. Sessler, B. 66, 1326 (1933).*

⁶⁾ *P. A. Levene, A. L. Raymond, B. 66, 384 (1933).*

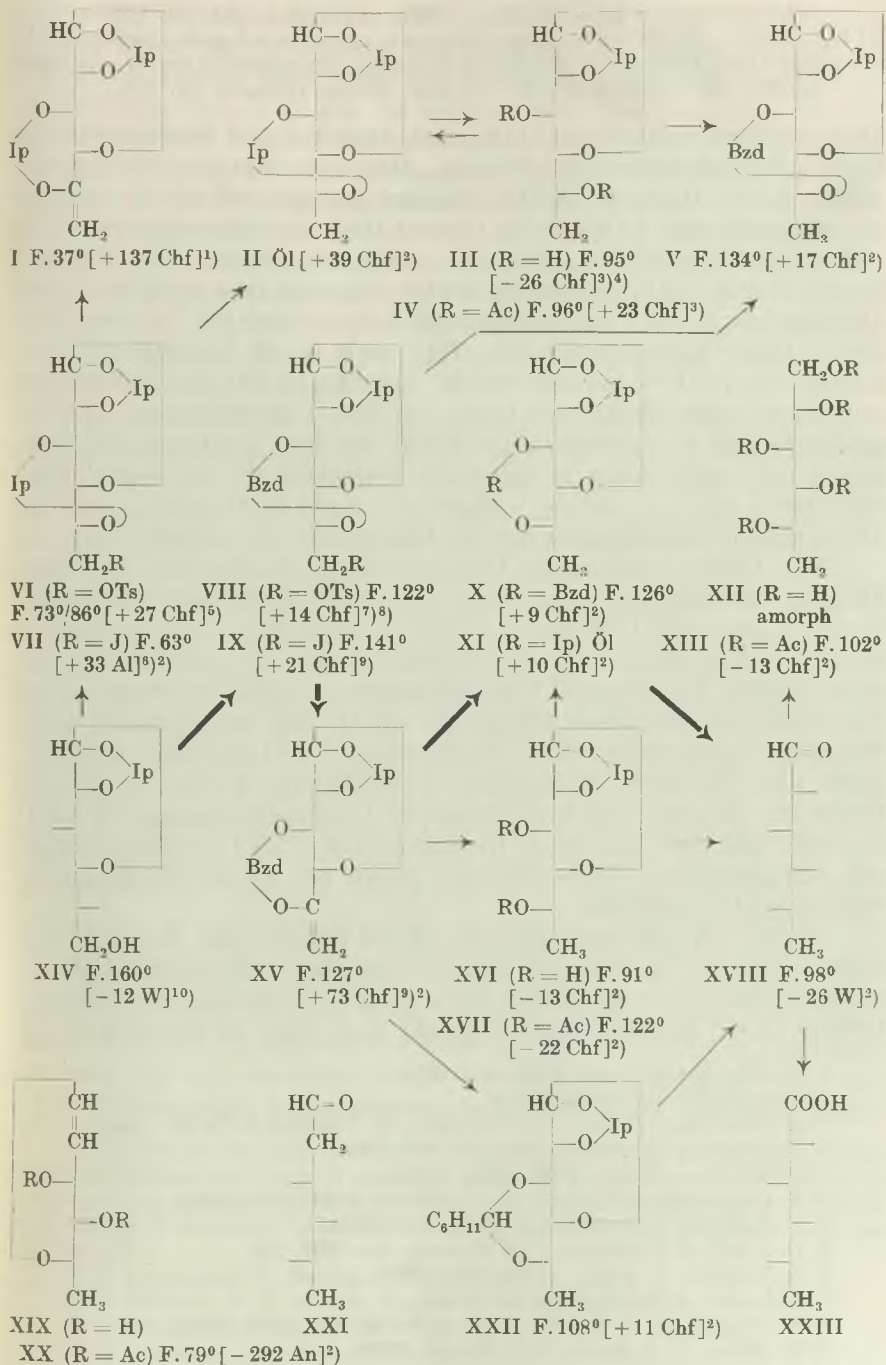
⁷⁾ *D. J. Bell, E. Friedmann, S. Williamson, Soc. 1937, 252.*

⁸⁾ *B. Helferich, R. Mittag, B. 71, 1585 (1938).*

⁹⁾ *Helferich und Mittag*⁸⁾ bezeichnen diesen Stoff als Aceton-(1,2)-benzal-(3,5)-glucufuranose-en-(5,6). Dies ist inkonsequent, da die Silbe „en“ sonst für den Mindergehalt von 2 H-Atomen und nicht von einem Mol Wasser verwendet wird. Ausserdem ist eine solche Nomenklatur zweideutig, worauf bereits *Tollens-Elsner*, Kurzes Handbuch der Kohlehydrate, 4. Aufl. (Leipzig 1935), S. 7, Fussnote, aufmerksam macht. Wir schlagen deshalb vor, Wasserabspaltungsprodukte von Hexosen nicht als Hexoseene, sondern als Desoxy-hexoseene zu bezeichnen.

¹⁰⁾ *H. Ohle, R. Deplanque, B. 66, 12 (1933).*

¹¹⁾ *K. Freudenberg, H. Eich, C. Knoevenagel, W. Westphal, B. 73, 441 (1940); E. Fischer, T. Reichstein, Helv. 27, 1332 (1944).*



Abkürzungen: Ac = $\text{CH}_3\text{CO}-$; Bzd = $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}<$; Ip = $(\text{CH}_3)_2\text{C}<$; Ts = $p\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2-$. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Al = Alkohol; An = Aceton; Chf = Chloroform; W = Wasser. Weitere Literatur vgl. Text.

Isopropyliden-*d*-chinovose (III), gibt aber bei der Mischprobe eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Das zur Charakterisierung bereitete kryst. Diacetat (XVII) schmilzt dagegen erheblich höher als das entsprechende *d*-Chinovose-Derivat (IV). Acetonierung von (XVI) mit wasserfreiem CuSO_4 gab 1,2:3,5-Diisopropyliden-*l*-idomethylose, der die Formel (XI) zukommen dürfte. Sie zeigt eine merklich tiefere Drehung als 1,2:3,5-Diisopropyliden-*d*-chinovose (II), die zum Vergleich durch Acetonierung von (III) sowie durch katalytische Entjodung von (VII)¹¹⁾ bereitet wurde. Aus (X), (XVI) und (XXII) liess sich durch saure Hydrolyse leicht die freie *l*-Idomethylose (XVIII) gewinnen, die in krystallisierter Form erhalten werden konnte. Sie schied sich aus Aceton in farblosen Plättchen ab und zeigte Smp. 98—100°, $[\alpha]_D^{15} = +2,2^\circ \rightarrow -26,0^\circ$ ($c = 4,462$ in Wasser); nach der absteigenden Mutarotation lag zur Hauptsache die β -Form vor.

Das Osazon war nach Analyse, Smp., Mischprobe und spez. Drehung identisch mit einer früher aus *l*-Gulomethylose¹²⁾ bereiteten Probe. *Levene* und *Compton*¹³⁾ haben für die *d*-Form eine nur halb so hohe Drehung angegeben, was wahrscheinlich auf einem Fehler beruhen dürfte. Zur weiteren Charakterisierung wurde eine Probe *l*-Idomethylose (XVIII) durch Reduktion mit H_2 und *Raney*-Nickel unter Druck in *l*-Idomethylit (XII) übergeführt, der bisher nicht krystallisierte, aber ein kryst. Pentacetat (XIII) lieferte. Ferner wurde eine Probe von (XVIII) mit Bromwasser zu *l*-Idomethylonsäure (XXIII) oxydiert und diese als kryst. Brucinsalz sowie als Cd-CdBr₂-Doppelsalz charakterisiert. Beide Derivate waren mit früher beschriebenen Präparaten¹²⁾ identisch.

Bei der Druckhydrierung von (X) in CH_3OH mit *Raney*-Nickel wurde ebenfalls ein Gemisch erhalten, aus dem sich nur reine Hexahydroverbindung (XXII), aber keine reine 1,2-Isopropyliden-*l*-idomethylose (XVI) isolieren liess. Wünscht man diese zu bereiten, so ist

¹⁾ *H. Ohle, R. Deplanque, B. 66, 12 (1933).*

²⁾ Siehe Exper. Teil dieser Arbeit.

³⁾ *K. Freudenberg, H. Eich, C. Knoevenagel, W. Westphal, B. 73, 441 (1940).*

⁴⁾ *E. Vischer, T. Reichstein, Helv. 27, 1332 (1944).*

⁵⁾ *H. Ohle, L. v. Vargha, B. 61, 1208 (1928).*

⁶⁾ *K. Freudenberg, H. Toepffer, C. C. Andersen, B. 61, 1750 (1928).*

⁷⁾ *P. A. Levene, A. L. Raymond, B. 66, 384 (1933).*

⁸⁾ *D. J. Bell, E. Friedmann, S. Williamson, Soc. 1937, 252.*

⁹⁾ *B. Helferich, R. Mittag, B. 71, 1585 (1938).*

¹⁰⁾ *E. Fischer, C. Rund, B. 49, 88 (1916).*

¹¹⁾ *K. Freudenberg, H. Toepffer, C. C. Andersen, B. 61, 1750 (1928).*

¹²⁾ *H. Müller, T. Reichstein, Helv. 21, 251 (1938).*

¹³⁾ *P. A. Levene, J. Compton, J. Biol. Chem. 111, 335 (1935).*

daher die Hydrierung von (XV) mit *Raney-Nickel* zweckmässig, während man zur Gewinnung von freier *l*-Idomethylose (XVIII) vorteilhaft den durch fette Pfeile angedeuteten Weg beschreitet, der die Hydrierung von (XV) mit Pd umfasst und durchweg gute bis sehr gute Ausbeuten liefert. Bemerkenswert ist vor allem der sterisch einheitliche Verlauf der Hydrierung von (XV) zu (X)¹⁾. Ähnliche Reaktionen sind schon früher beschrieben worden. So erhielten *Freudenberg* und *Raschig*²⁾ bei der Hydrierung von 1,2:3,4-Diisopropyliden-*d*-galaktomethyloseen-(5)-<1,5> mit Platinmohr in Äther neben ca. 75% Diaceton-*d*-fucose noch ca. 25% Diaceton-*l*-altromethylose, während *Helferich* und *Bigelow*³⁾ bei der Hydrierung von Triacetyl- β -methyl-*d*-glucomethyloseen-(5)-id-<1,5> nur die Bildung des *d*-Chinovose-Derivates beobachten konnten.

Auch bei der Hydrierung des bekannten 1,2:3,5-Diisopropyliden-*d*-glucomethyloseens-(5)-<1,4> (I)⁴⁾ wäre die Bildung von (II) oder (XI) oder eines Gemisches von beiden zu erwarten. Ein entsprechender Versuch, bei dem aber kein reiner Stoff isoliert werden konnte, ist bereits beschrieben worden⁵⁾. Bei der Reduktion der Monoaceton-*iso*-rhamnonose⁴⁾ könnte (XVI) neben (III) entstehen, doch ist diese Reaktion u. W. bisher noch nicht ausgeführt worden.

Schliesslich wurde noch versucht, die *l*-Idomethylose (XVIII) in 2-Desoxy-*l*-idomethylose (XXI) überzuführen, wodurch ein Vertreter des letzten noch unbekanntes Paares von 2-Desoxymethylpentosen bekannt geworden wäre. Die Acetylierung von (XVIII) gab ein amorphes Gemisch, aus dem auch durch Chromatographie kein kristallisiertes Acetat isoliert werden konnte. Es wurde daher in rohem Zustand nach der kürzlich beschriebenen Modifikation⁶⁾ des bekannten Glucalverfahrens mit HBr umgesetzt und das Rohprodukt mit verkupferem Zink reduziert. Ein Stoff, dessen Eigenschaften und Analysenwerte gut auf das gesuchte Diacetyl-1,2-desoxy-*l*-idomethyloseen-(1)-<1,5> (XX) passten, konnte in kristallisierter Form erhalten werden, doch betrug die Ausbeute nur etwa 5%. Die alkalische Verseifung von (XX) musste daher leider mit einem nicht rekrystallisierten Präparat durchgeführt werden und gab ein amorphes Gemisch, aus dem sich das erwartete freie 1,2-Bisdesoxy-*l*-idomethyloseen-(1)-<1,5> (XIX) nicht kristallisieren liess. Die saure Hydrolyse dieses

1) Obwohl sich vom isomeren (V) ein spannungsfreies Raummodell herstellen lässt, scheint die Bildung von (X) stark begünstigt zu sein. Möglicherweise steht damit auch in Zusammenhang, dass die Ausbeuten an (X) und (XI) bei der Benzalierung bzw. Acetonierung von (XVI) bedeutend besser sind als bei der entsprechenden Bildung von (V) und (II) aus (III).

2) *K. Freudenberg, K. Raschig, B. 62, 373 (1929).*

3) *B. Helferich, N. H. Bigelow, Z. physiol. Ch. 200, 263 (1931).*

4) *H. Ohle, R. Deplanque, B. 66, 12 (1933).*

5) *R. Deplanque, Diss. Berlin 1933, S. 41.*

6) *B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1146 (1944).*

rohen (XIX) lieferte ein sehr unreines Präparat von 2-Desoxy-*l*-idomethylose (XXI), das zwar positive *Keller-Kiliani*-Reaktion¹⁾ gab, aus dem sich aber keine Krystalle isolieren liessen. In Anbetracht der äusserst unbefriedigenden Ausbeute an (XX) musste eine Wiederholung des Versuchs unterbleiben.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Substanzproben für Analyse und Drehung wurden, wenn nichts anderes erwähnt, im Hochvakuum 1—2 Stunden bei 60° getrocknet, Tosylate bei 40° .)

1,2-Isopropyliden-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ (XIV)²⁻⁷⁾.

In Anlehnung an eine frühere Vorschrift⁸⁾ zur Einsparung von Eisessig 80 g Diaceton-*d*-glucose vom Smp. $107\text{--}109^\circ$ mit 400 cm^3 Methanol, 336 cm^3 Wasser und 64 cm^3 n. H_2SO_4 , 17 Stunden bei 18° geschüttelt. (Bei einer Vorprobe trat nach 19 Stunden geringes Reduktionsvermögen gegenüber *Fehling*'scher Lösung auf). Dann mit feuchtem BaCO_3 (aus $\text{Ba(OH)}_2 + \text{CO}_2$) neutralisiert, auf 50° erhitzt, filtriert, Filtrat im Vakuum eingedampft. Aus Essigester 60 g (= 89%) Krystalle, Smp. $158\text{--}160^\circ$.

6-Tosyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ ⁹⁾.

Brauchbare Ausbeuten wurden wie folgt erreicht: 50 g reine, im Hochvakuum getrocknete Monoacetonglucose (XIV) in 150 cm^3 absolutem Pyridin warm gelöst, unter H_2O -Ausschluss in Kältemischung rasch gekühlt, wobei Krystallisation vermieden werden soll. Sobald eine Innentemperatur von $+5^\circ$ erreicht war, 39 g gereinigtes¹⁰⁾ *p*-Toluolsulfochlorid in 200 cm^3 alkoholfreiem CHCl_3 so zugetropft, dass Innentemperatur nicht über 20° stieg. Nach 16 Stunden im Vakuum bei maximal 50° eingedampft. Rückstand mit verdünnter HCl versetzt und mehrmals mit total 1,7 Liter Äther ausgeschüttelt. Lösungen mit HCl , Soda und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, bei 45° eingedampft. Rohprodukt 54 g. Aus absolutem Äther, Mutterlaugen aus Äther + Petroläther 46 g (= 54%) Krystalle, Smp. $100\text{--}101^\circ$. Trocken bei 0° längere Zeit haltbar.

6-Tosyl-1,2-isopropyliden-3,5-benzal-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ (VIII)¹¹⁾¹²⁾.

25 g 6-Tosyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ vom Smp. $100\text{--}101^\circ$ mit 18 g wasserfreiem ZnCl_2 verrieben, dann mit 35 cm^3 frisch dest. Benzaldehyd 3 Stunden geschüttelt, wobei das Gemisch erstarrte. Mit 180 cm^3 Wasser verrieben und mit 2,5 Liter Äther-Chloroform ausgeschüttelt. Lösung mit H_2O und Soda gewaschen, über K_2CO_3 getrocknet und eingedampft, zuletzt im Vakuum. Aus 500 cm^3 Methanol + Wasser Krystalle. Mutterlauge, im Hochvakuum bei 70° vom Benzaldehyd befreit, gab noch Krystalle. Total 25,8 g (= 83%), Smp. $118\text{--}122^\circ$. Aus 90-proz. Methanol reines Produkt, Smp. $122\text{--}123^\circ$. Nach *Levene* und *Raymond*¹¹⁾ bereitetes Vergleichsmaterial und Mischprobe ebenso.

¹⁾ *C. C. Keller*, Ber. dtsch. Pharm. Ges. 5, 277 (1895); *H. Kiliani*, Arch. Pharm. 234, 273 (1896); 251, 567 (1913). ²⁾ *E. Fischer*, B. 28, 2496 (1895).

³⁾ *E. Fischer*, Ch. Rund., B. 49, 88 (1916).

⁴⁾ *K. Freudenberg*, W. Dürr, H. v. Hochstetter, B. 61, 1735 (1928).

⁵⁾ *H. W. Coles*, L. D. Goodhue, R. M. Hixon, Am. Soc. 51, 519 (1929).

⁶⁾ *L. v. Vargha*, B. 66, 704 (1933).

⁷⁾ *L. Zervas*, P. Sessler, B. 66, 1326 (1933).

⁸⁾ *E. Vischer*, T. Reichstein, Helv. 27, 1332 (1944).

⁹⁾ *H. Ohle*, E. Dickhäuser, B. 58, 2593 (1925).

¹⁰⁾ In ätherischer Lösung mit Soda neutral gewaschen, aus abs. Benzol umkrystallisiert, über CaCl_2 aufbewahrt. ¹¹⁾ *P. A. Levene*, A. L. Raymond, B. 66, 384 (1933).

¹²⁾ *D. J. Bell*, E. Friedmann, S. Williamson, Soc. 1937, 252.

Versuch zur Überführung in (XV).

0,8 g Tosylat (VIII) mit 1,8 g gepulvertem Natronkalk vermischt im *Claisen*-Wurstkolben bei 0,7 mm langsam erhitzt. Bei 140° begann Reaktion; Temperatur innerhalb 45 Minuten auf 195° gesteigert. Es destillierten total 0,15 g Öl, Sdp. 0,7 mm ca. 75—115°, das ätherlöslich war, aber nicht kristallisierte.

1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ -jodhydrin-(6) (IX)¹⁾ 2).

25 g Tosylat (VIII) vom Smp. 122° und 20 g NaJ in 120 cm³ trockenem Aceton wurden im Autoklaven 3 Stunden auf 90° erhitzt. Nach Erkalten filtriert, mit Aceton nachgewaschen, Filtrat im Vakuum eingedampft. Rückstand mit 200 cm³ Wasser und 2,5 Liter Äther geschüttelt. Ätherlösung mit konz. Na₂S₂O₃-, 2-n. Sodalösung und H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und bei 55° eingedampft, zuletzt im Vakuum. Aus 400 cm³ 90-proz. Methanol 19,5 g (= 86%) Krystalle. Nach nochmaligem Umkrystallisieren aus Methanol Nadeln. Smp. 141—142°.

1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*d*-glucomethyloseen-(5)- $\langle 1,4 \rangle$ (XV)²⁾.

In einen Autoklaven wurden 30 g Jodhydrin (IX) gegeben, ca. 120 cm³ flüssiges NH₃ aus der umgekehrten Bombe einfließen gelassen, rasch verschlossen und 5 Tage bei 18° stehen gelassen³⁾. Abdampfen des NH₃, Aufarbeitung wie bei (IX), Umkrystallisieren aus katalyt. reinem 90-proz., dann aus abs. Methanol gab 16 g (= 77%) hydrierfähiges Material, Smp. 127—128°. Eine im Molekularkolben bei 0,06 mm und 115—125° Badtemp. sublimierte u. nochmals aus Methanol umkrystallisierte Probe zeigte Smp. 128,5—129° u. $[\alpha]_D^{17} = +72,7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 3,054$ in CHCl₃)⁴⁾.

30,5 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 0,9987 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +2,22^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Substanz gibt in wenig CHCl₃ gelöst mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung und entfärbt Br₂ in CHCl₃.

1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*d*-chinovose (V).

a) Aus (IX). In einem mit Zulauftrichter versehenen Hydrierkolben⁵⁾ wurden 0,8 g 1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ -jodhydrin-(6) (IX) mit der Suspension des aus 0,4 g Ni-Al-Legierung⁶⁾ bereiteten *Raney*-Nickel⁷⁾ in 10 cm³ Methanol versetzt. Nach Abpumpen der Luft und Einlassen von Wasserstoff wurden 2,4 cm³ (= 1,5 Mol) 5-proz. methanolisches NaOH zugegeben u. geschüttelt. Die Hydrierung war nach 40 Minuten beendet. Filtriert, Filtrat mit CO₂ neutralisiert u. eingedampft. Rückstand mit 5 cm³ H₂O u. 300 cm³ Äther geschüttelt, Ätherlösung mit H₂O gewaschen, getrocknet, eingedampft. 0,6 g Rohprodukt im Molekularkolben bei 0,1 mm u. 130° Badtemperatur sublimiert. Aus 80-proz. Methanol lange Nadeln, Smp. 135—136°, $[\alpha]_D^{15} = +16,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,082$ in CHCl₃).

10,8 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 0,9987 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,18^\circ \pm 0,02^\circ$

3,703 mg Subst. gaben 8,908 mg CO₂ und 2,290 mg H₂O

C₁₆H₂₀O₅ (292,32) Ber. C 65,73 H 6,90%
Gef. „ 65,65 „ 6,92%

1) O. J. Bell, E. Friedmann, S. Williamson, Soc. 1937, 252.

2) B. Helferich, R. Mittag, B. 71, 1585 (1938).

3) Bei einem nachträglichen Versuch mit kleiner Menge zeigte es sich, dass die Reaktion bereits nach 2 Tagen beendet war.

4) Helferich u. Mittag²⁾ fanden Smp. 126° (korr.); $[\alpha]_D^{21} = +66,6^\circ$ (in CHCl₃).

5) Vgl. E. Vischer, T. Reichstein, Helv. 27, 1339, Fussnote 3 (1944).

6) Wir danken Herrn M. Raney, Chattanooga, U.S.A., für dieses Material.

7) Am. Pat. 1 628 190; vgl. L. W. Covert, H. Adkins, Am. Soc. 54, 4116 (1932).

b) Aus (III). 1 g 1,2-Isopropyliden-*d*-chinovose-⟨1,4⟩ (III)¹ vom Smp. 90–92° und $[\alpha]_D^{22} = -25,3^{\circ} \pm 4^{\circ}$ ($c = 2,057$ in CHCl_3)² mit 1 g gepulvertem wasserfreiem ZnCl_2 u. 15 cm³ frisch dest. Benzaldehyd 4 Std. geschüttelt. Erstarrtes Gemisch wie bei (VIII) aufgearbeitet gab 0,6 g Rohkrystalle. Im Molekularkolben bei 0,1 mm sublimiert u. aus Methanol umkrystallisiert: Nadeln, Smp. 134–135°, Mischprobe mit Präparat nach a) ebenso.

Hydrierungsversuch. Eine Probe (V) im Rotierautoklaven mit *Raney*-Nickel in Methanol 16 Std. bei 120° u. 130 Atm. H_2 -Anfangsdruck hydriert (wie bei (XVI) weiter unten beschrieben). Aufarbeitung gab nur Ausgangsmaterial.

6-Tosyl-1,2:3,5-diisopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩ (VI).

Die nach *Ohle* u. v. *Vargha*³) bereitete Substanz wurde zuerst in einer neuen, unbeständigen Modifikation erhalten. Aus Alkohol-Wasser Nadeln, Smp. 73–75°, $[\alpha]_D^{14} = +26,4^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 2,159$ in CHCl_3).

54,0 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 2,5012 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = +0,57^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$
 3,661 mg Subst. gaben 7,390 mg CO_2 und 2,091 mg H_2O
 3,200 mg Subst. verbr. 0,764 cm³ 0,02-n. KJO_3 (S-Bestimmung nach *Bürger*)⁴)
 $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{S}$ (414,27) Ber. C 55,03 H 6,33 S 7,73%
 Gef. „ 55,09 „ 6,39 „ 7,65%

Umwandlung in die höher schmelzende Form trat erst nach mehreren Wochen ein. *Ohle* u. v. *Vargha*³) fanden: Smp. 87°, $[\alpha]_D^{20} = +27,1^{\circ}$ (CHCl_3).

1,2:3,5-Diisopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-jodhydrin-(6) (VII)⁵) aus (VI).

3 g (VI) und 3,5 g NaJ in 20 cm³ trockenem Aceton im Bombenrohr 3 Std. auf 80° erhitzt. Aufarbeitung wie bei (IX) gab 2,7 g Rohprodukt, aus Alkohol-Wasser bei –10° nach einigem Reiben Krystalle. Rekrystallisiert aus wenig abs. Alkohol 1,2 g, Smp. 63 bis 63,5°, $[\alpha]_D^{15} = +32,5^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 2,215$ abs. Alkohol).

55,4 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 2,5012 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,72^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Freudenberg u. Mitarb.⁵) fanden für ein aus Aceto-dibromglucose bereitetes Präparat: Smp. 58°; $[\alpha]_D^{18} = +30,9^{\circ}$ (abs. Alk.).

1,2:3,5-Diisopropyliden-*d*-chinovose-⟨1,4⟩ (II).

a) Aus (VII). 1 g Jodhydrin (VII) wie bei (V) aus (IX) beschrieben entjodet gab 0,6 g farbloses Öl, Sdp. 0,07 mm = 58°; $[\alpha]_D^{19} = +38,9^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 1,955$ in CHCl_3).

48,9 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 2,5012 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,76^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$
 4,062 mg Subst. gaben 8,790 mg CO_2 und 3,007 mg H_2O
 $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_5$ (244,16) Ber. C 58,98 H 8,25%
 Gef. „ 59,05 „ 8,28%

b) Aus (III). 2,3 g 1,2-Isopropyliden-*d*-chinovose-⟨1,4⟩ (III)⁶) vom Smp. 91⁰⁷) in 50 cm³ trockenem Aceton mit 3 g wasserfreiem CuSO_4 und 0,07 cm³ konz. H_2SO_4 3 Tage bei 18° geschüttelt. Filtriert, Filtrat 2 Std. mit 2 g K_2CO_3 geschüttelt, erneut

¹) *K. Freudenberg, H. Eich, C. Knoevenagel, W. Westphal, B. 73, 441 (1940).*

²) Bereitete nach *E. Vischer, T. Reichstein, Helv. 27, 1332 (1944)* durch Druckhydrierung von 5,6-Anhydro-1,2-isopropyliden-*d*-glucose.

³) *H. Ohle, L. v. Vargha, B. 61, 1208 (1928).*

⁴) *K. Bürger, Z. angew. Ch. 54, 479 (1941); 55, 245 (1942).*

⁵) *K. Freudenberg, H. Toepffer, C. C. Andersen, B. 61, 1750 (1928).*

⁶) *K. Freudenberg, H. Eich, C. Knoevenagel, W. Westphal, B. 73, 441 (1940).*

⁷) Bereitete nach *E. Vischer, T. Reichstein, Helv. 27, 1332 (1944).*

filtriert u. eingedampft. Rückstand (2,5 g) im Vakuum bei 0,7 mm fraktioniert gab 1,7 g farbloses Öl, Sdp. 76°, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +38,1^{\circ} \pm 0,6^{\circ}$ ($c = 3,727$ in CHCl_3).

93,2 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 2,5012 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{20} = +1,42^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

0,7 g Nachlauf, Sdp. 0,7 mm 110°, war Ausgangsmaterial (III).

c) Partielle Spaltung. Eine Probe Diisopropyliden-*d*-chinovose (II) (bereitet nach a)) wurde mit der 10-fachen Menge 50-proz. Methanol, das 0,4% H_2SO_4 enthielt, 6 Std. bei 21° geschüttelt. Reduktionsprobe mit *Fehling'scher* Lösung war noch negativ. Übliche Aufarbeitung (wie bei (XIV)) gab 1,2-Isopropyliden-*d*-chinovose (III), Smp. 90—92°, Mischprobe ebenso.

1,2-Isopropyliden-*l*-idomethylose (XVI).

4,4 g 1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*d*-glucomethyloseen-(5)-<1,4> (XV) vom Smp. 127° im Glaseinsatz eines Hochdruck-Rotierautoklaven mit *Raney-Nickel* (aus 1,5 g Al-Ni-Legierung) in 15 cm³ reinstem Methanol versetzt, nach Vertreiben der Luft Wasserstoff auf 130 Atm. eingepresst, dann 5 Std. bei 90°, 4 Std. bei 100° und weitere 12 Std. bei 115° rotiert¹⁾. Nach Erkalten abgenutscht, Filtrat im Vakuum eingedampft, Rückstand in 500 cm³ Äther gelöst, mit 125 cm³ Petroläther versetzt u. ca. 15 mal mit total 70 cm³ Wasser ausgeschüttelt. (Äther-Petrolätherschicht dient zur Isolierung von (XXII), vgl. weiter unten.) Wässriger Teil im Vakuum eingedampft u. gut getrocknet gab 1,83 g (= 59%) Rohprodukt (XVI). Aus abs. Äther beim Impfen farblose Nadeln. Zur Vervollständigung vorsichtige Zugabe von Petroläther. Ausbeute 1,5 g, Smp. 90—91°, $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -12,9^{\circ} \pm 0,6^{\circ}$ ($c = 3,650$ in CHCl_3).

36,45 mg Subst. zu 0,9987 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{21} = -0,47^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde im Molekularkolben bei 0,06 mm und 90—100° Badtemp. sublimiert.

4,020 mg Subst. gaben 7,781 mg CO_2 und 2,858 mg H_2O

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_5$ (204,2) Ber. C 52,92 H 7,90%

Gef. „ 52,82 „ 7,95%

Die Mischprobe mit dem fast gleich schmelzenden (III) schmolz bei 54—70°. Die ersten Impfkristalle wurden durch Sublimation einer Probe des Rohproduktes im Molekularkolben erhalten.

1,2-Isopropyliden-3,5-hexahydrobenzal-*l*-idomethylose (XXII).

Eindampfen der Äther-Petrolätherlösung (vgl. (XVI)) gab 1,7 g (= 38%) Rohprodukt. Aus 80-proz. Methanol lange Nadeln, Smp. 110—111°, $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = +11,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,072$ in CHCl_3).

10,7 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 0,9987 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{19} = +0,12^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde im Molekularkolben bei 0,06 mm und 100° Badtemp. sublimiert u. nochmals aus Methanol-Wasser umkristallisiert, Smp. unverändert.

3,796 mg Subst. gaben 8,904 mg CO_2 und 2,938 mg H_2O

$\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_5$ (298,37) Ber. C 64,40 H 8,78%

Gef. „ 64,01 „ 8,66%

1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*l*-idomethylose-<1,4> (XI).

a) Aus (XV). 13,8 g 1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*d*-glucomethyloseen-(5)-<1,4> (XV) vom Smp. 127—128° in 55 cm³ Feinsprit mit 1,1 g 2-proz. Pd— CaCO_3 ²⁾ im Rotier-

¹⁾ Bei tieferer Temperatur blieb ein Teil unhydriert. Bei rascherem Aufheizen bildete sich etwas mehr (XXII).

²⁾ C. Paal, vgl. C. Weygand, „Org.-chem. Experimentierkunst“, S. 154 (Leipzig 1938).

autoklaven bei 100 Atm. H_2 -Anfangsdruck innert 1 Std. auf 75° aufgeheizt u. noch 7 Std. bei dieser Temperatur hydriert. Abnutschen durch mit $CaCO_3$ gedichtetes Filter u. Eindampfen des Filtrates gab 13,8 g Rohprodukt. Aus Methanol 13,2 g (= 95%) farblose, sechskantige Prismen, Smp. $126-127^\circ$, $[\alpha]_D^{14} = +9,0^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 4,322$ in $CHCl_3$).

$43,2 \text{ mg} \pm 0,2 \text{ mg}$ Subst. zu $0,9994 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{14} = +0,39^\circ \pm 0,02^\circ$

$3,602 \text{ mg}$ Subst. gaben $8,628 \text{ mg CO}_2$ und $2,258 \text{ mg H}_2\text{O}$

$C_{16}H_{20}O_5$ (292,32) Ber. C 65,73 H 6,90%

Gef. „ 65,37 „ 7,01%

Die Substanz gibt in wenig $CHCl_3$ gelöst mit Tetranitromethan keine Färbung u. reagiert nicht mit Br_2 in $CHCl_3$. Die Mischprobe mit dem fast gleich schmelzenden Ausgangsmaterial (XV) schmolz bei $128-133^\circ$. Die Hydrierung von (XV) mit $Pd-CaCO_3$ gelingt auch ohne Überdruck, zweckmässig in Essigester-Feinsprit (1 : 2), wenn bis zur Aufnahme von 1 Mol H_2 (ca. 15 Std.) geschüttelt wird; sonst wird leicht die Mol-Verbindung aus (X) + (XV) erhalten, die nach Umkrystallisieren bei $131,5-133^\circ$ schmilzt. Die Mischprobe von (X) + (V) schmolz bei $110-117^\circ$. In einem weiteren Versuch wurde die Druckhydrierung bei 100 Atm. H_2 -Anfangsdruck 13 Std. bei 120° durchgeführt und gab reines (X); der Benzalrest wurde also auch unter diesen Bedingungen nicht abgepalten.

b) Aus (XVI). $0,2 \text{ g}$ 1,2-Isopropyliden-*l*-idomethylose- $\langle 1,4 \rangle$ (XVI) vom Smp. $90-91^\circ$, $0,3 \text{ g}$ gepulvertes, wasserfreies $ZnCl_2$ u. $0,6 \text{ cm}^3$ frisch dest. Benzaldehyd wurden 7 Std. geschüttelt. Aufarbeitung wie bei (VIII) gab $0,26 \text{ g}$ (= 91%) Rohprodukt. Aus Methanol Prismen, Smp. $126-127^\circ$, Mischprobe mit Präparat nach a) ebenso.

c) Hydrierungsversuch. $0,4 \text{ g}$ 1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*l*-idomethylose- $\langle 1,4 \rangle$ (X) vom Smp. $126-127^\circ$ wurden im Hochdruck-Rotierautoklaven wie bei (XVI) beschrieben hydriert. Aufarbeitung gab 190 mg (= 47%) aus Äther-Petrolätherphase, daraus reine Hexahydroverbindung (XXII) (Mischprobe). Die wässrige Phase gab 145 mg Rohsirup, der in Äther schlecht löslich war, sich nicht destillieren liess und nicht krytallisierte.

1,2-Isopropyliden-*l*-idomethylose- $\langle 1,4 \rangle$ -diacetat (XVII).

$0,32 \text{ g}$ 1,2-Isopropyliden-*l*-idomethylose- $\langle 1,4 \rangle$ (XVI) vom Smp. $90-91^\circ$ mit $1,5 \text{ cm}^3$ abs. Pyridin u. $0,7 \text{ cm}^3$ Acetanhydrid 16 Std. bei 18° stehen gelassen u. 1 Std. auf 50° erwärmt. Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Äther, Waschen mit 2-n. HCl , 2-n. Na_2CO_3 u. H_2O , Trocknen über Na_2SO_4 u. Eindampfen gab $0,42 \text{ g}$ Rohprodukt. Aus 60-proz. Methanol farblose Nadeln, Smp. $123-123,5^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = -22,2^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,613$ in $CHCl_3$).

$26,1 \text{ mg} \pm 0,2 \text{ mg}$ Subst. zu $0,9987 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{20} = -0,58^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei $0,01 \text{ mm}$ und $70-90^\circ$ Badtemp. sublimiert.

$3,962 \text{ mg}$ Subst. gaben $7,861 \text{ mg CO}_2$ und $2,522 \text{ mg H}_2\text{O}$

$C_{13}H_{20}O_7$ (288,29) Ber. C 54,15 H 7,00%

Gef. „ 54,15 „ 7,12%

Die Mischprobe mit 1,2-Isopropyliden-*d*-chinovose-diacetat (IV)¹⁾ vom Smp. $88-89^\circ$ und $[\alpha]_D^{22} = +22,8^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 4,828$ in $CHCl_3$) schmolz bei $72-118^\circ$.

Alkalische Verseifung. Verseifung des Diacetats (XVII) mit $Ba(OH)_2 \cdot 8 H_2O$ in Methanol gab sofort sehr reine 1,2-Isopropyliden-*l*-idomethylose- $\langle 1,4 \rangle$ (XVI) vom Smp. $91-92^\circ$.

1,2:3,5-Diisopropyliden-*l*-idomethylose- $\langle 1,4 \rangle$ (XI).

$0,5 \text{ g}$ 1,2-Isopropyliden-*l*-idomethylose- $\langle 1,4 \rangle$ (XVI) vom Smp. $90-91^\circ$ in 15 cm^3 trockenem Aceton mit 1 g frisch entwässertem $CuSO_4$ u. $0,01 \text{ cm}^3$ konz. H_2SO_4 3 Tage

¹⁾ K. Freudenberg, H. Eich, C. Knoevenagel, W. Westphal, B. 73, 441 (1940) geben Smp. 96° und $[\alpha]_D^{20} = +23,0^\circ$ (in $CHCl_3$) an.

geschüttelt. Aufarbeitung wie bei (II) gab 0,58 g (= 97%) farbloses Öl (XI), das bei 0,08 mm und 66—67° vollständig destillierte. $[\alpha]_D^{18} = +10,5^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 2,751$ in CHCl_3).

25,7 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 0,9994 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = +0,27^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,870 mg Subst. gaben 8,322 mg CO_2 und 2,919 mg H_2O

$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_5$ (244,28) Ber. C 58,99 H 8,24%
Gef. ,, 58,69 ,, 8,44%

l-Idomethylose (XVIII).

a) Aus (XVI). 1,02 g 1,2-Isopropyliden-*l*-idomethylose-(1,4) (XVI) vom Smp. 90—91° wurden mit 10 cm^3 1-proz. H_2SO_4 2 Std. auf 70° erwärmt, dann überschüssiges, frisch aus $\text{Ba}(\text{OH})_2$ mit CO_2 gefälltes u. mit heissem dest. Wasser gewaschenes BaCO_3 eingerührt u. $\frac{1}{2}$ Std. bei 50° belassen. Durch ein mit BaCO_3 u. wenig gewaschener Kohle gedichtetes Filter genutscht, Filtrat im Vakuum bei 50° eingedampft. Rückstand im Hochvakuum getrocknet, in abs. Alkohol aufgenommen, von wenig Flocken filtriert. Eingedampftes Filtrat in Aceton aufgenommen, nochmals filtriert, eingedampft und im Hochvakuum getrocknet. 0,88 g farbloser glasiger Sirup. Mit einer Spur Aceton befeuchtet im Exsikkator ohne Vakuum über CaCl_2 unter öfterem Anfeuchten mit Aceton nach 3 Monaten Krystallkeim, der Rest krystallisierte nach 2 Tagen vollständig. Zur Reinigung in wenig abs. Alkohol warm gelöst, im Vakuum eingedampft, Rückstand mit Aceton verflüssigt u. geimpft. Hygroskopische Plättchen, Smp. 97,5—100°; $[\alpha]_D^{15} = +2,2^{\circ}$ (nach 4') $\rightarrow 26,0^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ (nach $\frac{1}{2}$ Std. konst.; $c = 4,462$ in Wasser).

111,8 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 2,5050 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,10^{\circ}$ (4') $\rightarrow -1,16^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$ ($\frac{1}{2}$ Std. konst.)

Zur Analyse wurde über P_2O_5 getrocknet u. im Schweinchen eingewogen.

3,724 mg Subst. gaben 6,017 mg CO_2 und 2,491 mg H_2O

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_5$ (164,16) Ber. C 43,90 H 7,37%
Gef. ,, 44,09 ,, 7,48%

b) Aus (X). 14,2 g 1,2-Isopropyliden-3,5-benzal-*l*-idomethylose (X) vom Smp. 126—127° in 142 cm^3 Aceton gelöst, mit 57 cm^3 4-proz. H_2SO_4 versetzt u. 2 Std. unter Rückfluss auf 70° erwärmt, dann 1 Std. offen auf 85° und schliesslich $\frac{1}{2}$ Std. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt, wobei der entstehende Benzaldehyd unter Ergänzung des Wasserverlusts von Zeit zu Zeit im Vakuum entfernt wurde. Nach Erkalten 3mal mit Äther ausgeschüttelt (nahm nur wenig Verunreinigungen auf), dann mit BaCO_3 neutralisiert u. wie bei a) weiter behandelt. 7,9 g leicht gelblicher glasiger Sirup. Aus Aceton (Impfen) 3,9 g Krystalle Smp. 95,5—98°; Mischprobe ebenso.

c) Aus (XXII). 3,8 g 1,2-Isopropyliden-3,5-hexahydrobenzal-*l*-idomethylose (XXII) vom Smp. 110—111° wurden wie bei b) hydrolysiert, nur musste zum Schluss noch 2 Std. leicht gekocht werden (Ölbad 120°). Aufarbeitung ergab 1,9 g Rohprodukt, daraus 0,7 g Krystalle, Smp. 92—96°, Mischprobe ebenso.

Osazon der *l*-Idomethylose aus (XVIII).

120 mg *l*-Idomethylose (XVIII), 0,35 cm^3 Phenylhydrazin, 3,5 cm^3 Wasser u. 3 Tropfen Eisessig unter CO_2 2 Std. auf 100° erhitzt. Nach Erkalten Krystalle abgenutscht, mit 1-proz. Essigsäure, Toluol u. Äther gewaschen. Aus Methanol-Toluol durch Einengen und Zusatz von Äther feine gelbe Nadeln, Smp. 184—185°. Mischprobe mit Präparat aus *l*-Gulomethylose¹⁾ ebenso; $[\alpha]_D^{21} = -33,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,880$ in abs. Pyridin-Alkohol 2 : 3 Vol., ohne merkbare Mutarotation).

18,79 mg Subst. zu 0,9994 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = -0,63^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,668 mg Subst. gaben 8,474 mg CO_2 und 2,09 mg H_2O

1,929 mg Subst. gaben 0,286 cm^3 N_2 (23°; 729 mm)

$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{N}_4$ (342,39) Ber. C 63,16 H 6,47 N 16,36%
Gef. ,, 63,05 ,, 6,38 ,, 16,40%

¹⁾ H. Müller, T. Reichstein, Helv. 21, 251 (1938).

Die spez. Drehung des aus *l*-Gulomethylose bereiteten Präparats betrug $[\alpha]_D^{23} = -34,10 \pm 2^{\circ}$ ($c = 0,9104$ in abs. Pyridin-Alkohol 2 : 3).

9,10 mg Subst. zu $0,9994 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{23} = -0,31^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$.

Dagegen fanden *Levene* und *Compton*¹⁾ für das aus Methanol umkryst. Osazon aus *d*-Gulomethylose Smp. 182—183° und $[\alpha]_D^{24} = 0^{\circ} \rightarrow +17,7^{\circ}$ ($c = 0,904$ in Pyridin-Alkohol 2 : 3 nach 1 Std.), also mit umgekehrtem Vorzeichen fast genau nur die Hälfte des obigen Wertes. Möglicherweise liegt ein Rechenfehler vor.

l-Idomethylonsäure (XXIII) aus (XVIII).

515 mg *l*-Idomethylose (XVIII) vom Smp. 95—98° in $8,5 \text{ cm}^3$ Wasser mit 293 mm³ Br₂ bis zur homogenen Lösung geschüttelt, dann 24 Std. im Dunkeln bei 18° stehen gelassen. Übliche Anfarbung²⁾ gab 510 mg rohes Säure-Lacton-Gemisch.

Brucinsalz³⁾. 70 mg rohes Säure-Lacton-Gemisch mit wässriger Lösung von 140 mg Ba(OH)₂ · 8 H₂O 15 Min. auf dem Wasserbad erhitzt, mit CO₂ neutralisiert u. heiss filtriert. Filtrat heiss mit Brucinsulfat genau gefällt (verbr. ca. 195 mg), BaSO₄ abzentrifugiert, Lösung eingedampft, Rückstand 2mal aus Methanol krystallisiert. Smp. 164—167°, Mischprobe mit authentischem Material³⁾ ebenso.

Cd-CdBr₂-Doppelsalz. 130 mg rohes Säure-Lacton-Gemisch wie oben ins Ba-Salz übergeführt und Lösung desselben heiss mit CdSO₄ genau ausgefällt, sodass in auszentrifugierter Probe eben SO₄²⁻-Ionen nachweisbar waren (verbr. ca. 180 mg (CdSO₄)₃ · 8 H₂O). Über einer Spur gewaschener Kohle abgenutscht, klares Filtrat mit 120 mg CdBr₂ · 4 H₂O versetzt u. im Vakuum eingedampft. Rückstand gab aus Wasser-Methanol nach Impfen 110 mg Krystalle. Smp. 174—176° (Zers. 180°). Authentisches Vergleichsmaterial³⁾ und Mischprobe ebenso.

l-Idomethylit (XII).

0,25 g *l*-Idomethylose (XVIII) vom Smp. 95—98° in etwas katalyt. reinem Wasser gelöst, über eine Spur gewaschene Tierkohle in Glaseinsatz eines Hochdruck-Rotierautoklaven genutscht, mit *Raney*-Nickel aus 0,25 g Ni-Al-Legierung versetzt (total 4 cm³ Wasser) und 5 Std. bei 85° und 100 Atm. Anfangsdruck hydriert. Eindampfen der filtrierten Lösung im Vakuum gab 0,24 g farblosen Sirup, der sich klar in abs. Alkohol löste, *Fehling*'sche Lösung nicht reduzierte und auch nach 5 Monaten nicht krystallisierte. $[\alpha]_D^{17} = -2,6^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ ($c = 5,423$ in Wasser).

54,2 mg ± 0,2 mg Subst. zu $0,9994 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{17} = -0,14^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Charakterisierung diente das

Pentacetat (XIII). Obiger Sirup mit je 1 cm³ abs. Pyridin u. Acetanhydrid 5 Tage bei 18° stehen gelassen. Eindampfen im Vakuum, Lösen in Äther, Waschen mit verd. HCl, Na₂CO₃ u. H₂O, Trocknen, Eindampfen gab 330 mg kryst. Rohprodukt. Aus Äther-Petroläther farblose Blättchen, Smp. 102—103°, $[\alpha]_D^{10} = -13,1^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 2,671$ in CHCl₃).

26,7 mg ± 0,2 mg Subst. zu $0,9994 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{10} = -0,35^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,777 mg Subst. gaben 7,011 mg CO₂ und 2,183 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|---------|
| C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀ (376,35) | Ber. C 51,06 | H 6,43% |
| | Gef. „ 50,66 | „ 6,47% |

1,2-Bisdesoxy-3,4-diacetyl-*l*-idomethyloseen-(1)-<1,5> (XX) (?).

3,9 g *l*-Idomethylose (XVIII) vom Smp. 95—98° wurden mit 2,4 g wasserfreiem Na-Acetat u. 17 cm³ frisch dest. Acetanhydrid 2½ Std. auf 100° erhitzt. Mit 50 g Eis

¹⁾ P. A. Levene, J. Compton, J. Biol. Chem. 111, 335 (1935).

²⁾ Genaue Angaben vgl. z. B. C. W. Shoppee, T. Reichstein, Helv. 23, 975 (1940), bes. S. 990.

³⁾ H. Müller, T. Reichstein, Helv. 21, 251 (1938).

u. 150 cm³ CHCl₃ zerlegt, CHCl₃-Lösung neutral gewaschen, getrocknet u. eingedampft. 6,9 g leicht gelblicher Sirup, aus dem auch nach Chromatographie an Al₂O₃ keine Krystalle erhältlich waren. Weitere 7 g Zucker (XVIII) wurden mit je 35 cm³ Pyridin u. Acetanhydrid bei 45° acetyliert u. das in fast quantitativer Ausbeute erhaltene Rohprodukt nach früheren Angaben¹⁾ mit HBr umgesetzt u. mit Zn-Cu reduziert. 11,7 g rohes Acetat gaben 7,4 g rohes Reduktionsgemisch, daraus bei der Destillation im Hochvakuum bei 0,08 mm u. 90—125° Badtemperatur nur 0,64 g (= 8%) Destillat. Wiederholung der Reaktionsfolge mit den 6,5 g Kolbenrückstand lieferte nur noch 0,03 g Destillat. Zusammen nochmals bei 0,13 mm destilliert; bei 80° ging ein farbloses Öl über, das bei 0° im Exsikkator erstarrte. Aus Äther-Petroläther farblose Nadeln, Smp. 79—80°; $[\alpha]_{\text{D}}^{15} - 291,5^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (c = 2,641 in Aceton).

26,4 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{15} = -7,70^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,719 mg Subst. gaben 7,620 mg CO₂ und 2,209 mg H₂O

| | | |
|---|--------------|---------|
| C ₁₀ H ₁₄ O ₅ (214,23) | Ber. C 56,07 | H 6,59% |
| | Gef. „ 55,92 | „ 6,64% |

1,2-Bisdesoxy-*l*-idomethyloseen-(1)-(1,5) (XIX) (?)

0,72 g redestilliertes, aber nicht umkrystallisiertes Diacetat (XX) mit der Lösung von 0,72 g Ba(OH)₂ · 8 H₂O in 8 cm³ Methanol 16 Std. bei 18° stehen gelassen. Aufarbeitung wie früher¹⁾ gab 0,41 g Sirup, der im Molekularkolben bei 0,05 mm und 80—110° Badtemperatur destilliert wurde. Krystallisierte auch nach 2 Wochen im Exsikkator über CaCl₂ bei 0° nicht. $[\alpha]_{\text{D}}^{13} = -133,6^{\circ} \pm 0,6^{\circ}$ (c = 5,503 in Wasser).

55,0 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{13} = -7,35^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse 3 Tage im Vakuum über P₂O₅ stehen gelassen, im Schweinchen eingewogen.

3,66 mg Subst. gaben 7,182 mg CO₂ und 2,468 mg H₂O

3,263 mg Subst. verbr. 0,388 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck)

| | | | |
|--|--------------|--------|----------------------|
| C ₆ H ₁₀ O ₃ (XIX) (130,14) | Ber. C 55,38 | H 7,74 | —OCH ₃ 0% |
| C ₇ H ₁₂ O ₃ (144,17) | Ber. „ 58,33 | „ 8,39 | „ 21,52% |
| | Gef. „ 58,23 | „ 8,20 | „ 1,23% |

Es dürfte ein Gemisch von (XIX) mit einem O-ärmeren Produkt vorliegen. Ein Methylglykosid von (XIX) sollte Formel C₇H₁₂O₃ besitzen u. viel Methoxyl enthalten. Der geringe gefundene Methoxylwert könnte auch vorgetäuscht sein, da beim Kochen des säureempfindlicheren (XIX) mit HJ die Bildung von flüchtigen Jodiden möglich ist.

Versuch zur Herstellung von 2-Desoxy-*l*-idomethylose (XXI).

0,35 g von obigem Sirup (XIX) mit 3,5 cm³ n. H₂SO₄ von 0° vermischt u. 15 Std. bei 0° stehen gelassen. Aufarbeitung wie früher¹⁾ gab 90 mg leicht gelblichen Zuckersirup. Im Molekularkolben bei 0,01 mm u. 100° Badtemp. destilliert, krystallisierte auch nach 2 Monaten über CaCl₂ bei 0° nicht. $[\alpha]_{\text{D}}^{14} = +4,4^{\circ} \pm 1^{\circ}$ (c = 2,265 in Aceton). $[\alpha]_{\text{D}}^{14} = -5,9^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (c = 1,532 in Wasser, nach 5' konst.)

22,64 mg Subst. zu 0,9994 cm³ Aceton, $l = 1$ dm, $\alpha_{\text{D}}^{14} = +0,10^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

15,31 mg Subst. zu 0,9994 cm³ Wasser; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{14} = -0,09^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse im Hochvakuum über P₂O₅ bei 60° 1 Std. nachgetrocknet, im Schweinchen eingewogen.

3,502 mg Subst. gaben 6,898 mg CO₂ und 2,795 mg H₂O

| | | |
|---|--------------|---------|
| C ₆ H ₁₂ O ₄ (XIX) (148,16) | Ber. C 48,64 | H 8,17% |
| C ₇ H ₁₄ O ₄ (162,18) | Ber. „ 51,84 | „ 8,70% |
| C ₆ H ₁₂ O ₃ (132,16) sowie C ₈ H ₁₆ O ₄ (176,21) | Ber. C 54,53 | H 9,16% |
| | Gef. „ 53,75 | „ 8,93% |

¹⁾ B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1146 (1944).

Es dürfte ein Gemisch vorgelegen haben. Die Farbreaktion nach *Keller-Kiliani*¹⁾ war positiv (blau).

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

21. *l*-Idose aus *d*-Glucose, sowie ein neuer Weg zur *l*-Idomethylose²⁾

von A. S. Meyer und T. Reichstein.

(19. XII. 45.)

Ohle und Mitarbeiter³⁾ glaubten, eine Reaktionsfolge gefunden zu haben, nach der es möglich sei, von der *d*-Glucose zur *l*-Idose zu gelangen; wie aber jüngst gezeigt wurde⁴⁾, beruhten ihre Schlussfolgerungen auf einem Irrtum. *Hess* und *Neumann*⁵⁾ führten *d*-Glucose in methylierte Derivate der *l*-Idose über, und es scheint ihnen gelungen zu sein, daraus den freien Zucker in unreiner Form zu bereiten. Diese Befunde würden eine Nachprüfung rechtfertigen. Einen Weg von der *d*-Glucose zu methylierten Derivaten der *d*-Idose beschreiben *Lake* und *Peat*⁶⁾. Kürzlich ist mitgeteilt worden, wie man von der *d*-Galaktose in relativ guten Ausbeuten zu Derivaten⁷⁾, sowie zur freien *d*-Idose⁸⁾ gelangen kann, die auf diese Weise erstmals in reinem Zustand⁹⁾¹⁰⁾ gewonnen wurde. Für die Bereitung von *l*-Idose hat dieses Verfahren jedoch wenig Interesse, da die als Ausgangsmaterial benötigte *l*-Galaktose zu schwer zugänglich ist. Das einzige praktisch brauchbare, aber sehr mühselige Verfahren zur Bereitung von *l*-Idose war bisher die Reduktion des *l*-Idonsäurelactons mit Na-Amalgam¹¹⁾¹²⁾. Wir fanden nun, dass es auf zwei etwas verschiedenen Wegen gelingt, ausgehend von *d*-Glucose in brauchbaren Ausbeuten, die sich sicherlich noch steigern lassen, *l*-Idose herzustellen. Von einem Zwischenprodukt aus kann man auch zur kürzlich beschriebenen *l*-Idomethylose¹³⁾ gelangen.

¹⁾ C. C. Keller, Ber. dtsch. Pharm. Ges. 5, 277 (1895); H. Kiliani, Arch. Pharm. 234, 273 (1896); 251, 567 (1913).

²⁾ Auszug aus Diss. A. S. Meyer, die demnächst erscheint.

³⁾ H. Ohle, L. v. Vargha, B. 62, 2435 (1929).

⁴⁾ E. Seebeck, A. S. Meyer, T. Reichstein, Helv. 27, 1142 (1944).

⁵⁾ K. Hess, F. Neumann, B. 68, 1360 (1935).

⁶⁾ W. H. S. Lake, S. Peat, Soc. 1939, 1069.

⁷⁾ L. F. Wiggins, Soc. 1944, 522.

⁸⁾ E. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 1 (1945).

⁹⁾ E. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 662 (1945).

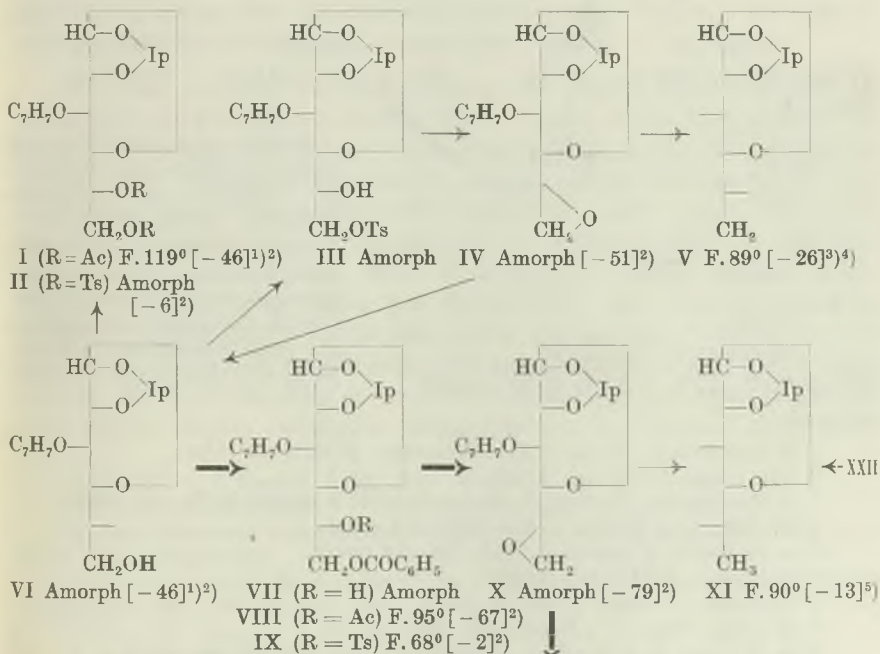
¹⁰⁾ E. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 940 (1945).

¹¹⁾ E. Fischer, I. W. Fay, B. 28, 1975 (1895).

¹²⁾ W. A. v. Ekenstein, J. J. Blanksma, R. 27, 1 (1908).

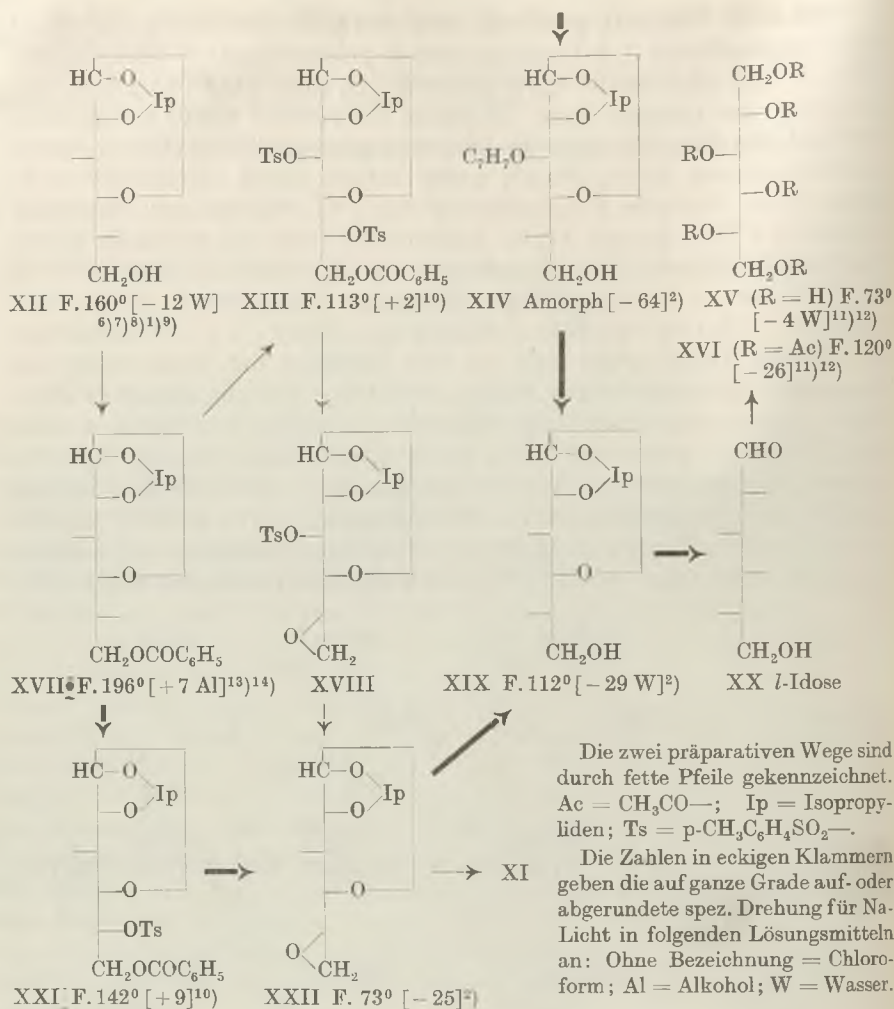
¹³⁾ A. S. Meyer, T. Reichstein, Helv. 29, 139 (1946).

Die erste Variante geht von dem nach *Freudenberg* u. Mitarb.¹⁾ leicht zugänglichen 1,2-Isopropyliden-*D*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther-**(VI)** aus, der zwar nicht krystallisiert, sich aber über das kryst. Diacetat**(I)**¹⁾ gut reinigen lässt. In einem Vorversuch wurde festgestellt, dass sich die Benzylgruppe in Diaceton-glucose-3-benzyläther durch Hydrierung mit *Raney*-Nickel unter Druck leicht quantitativ entfernen lässt. Partielle Benzoylierung von **(VI)** führte zum amorphen 6-Benzoat **(VII)**, das ein kryst. Acetat**(VIII)** und ein ebenfalls kryst. Tosylat**(IX)** lieferte. Die Umsetzung von **(IX)** mit 2,3 Mol NaOCH₃ bei 0° gab unter Konfigurationswechsel am tosylierten C-Atom 5 den amorphen 1,2-Isopropyliden-5,6-anhydro-*L*-idose-⟨1,4⟩-3-benzyläther **(X)**, dessen Konstitution sich aus dem Resultat der Hydrierung mit *Raney*-Nickel unter Druck ergab, wobei in fast quantitativer Ausbeute 1,2-Isopropyliden-*L*-idomethylose-⟨1,4⟩**(XI)**²⁾ gebildet wurde. Zum Vergleich wurde auch das isomere, ebenfalls amorphe 5,6-Anhydro-*D*-glucose-Derivat**(IV)** bereitet, das durch partielle Tosylierung von **(VI)** und Behandlung des rohen 6-Tosylats**(III)** mit NaOCH₃ entstand. Die Druckhydrierung führte erwartungsgemäss zu 1,2-Isopropyliden-*D*-chinovose-⟨1,4⟩**(V)**³⁾4). Als weiterer Vorversuch wurde **(IV)**



Fussnoten der Formeln siehe folgende Seite.

1) *K. Freudenberg, W. Dürr, H. v. Hochstetter, B. 61, 1735 (1928).*
 2) *A. S. Meyer, T. Reichstein, Helv. 29, 139 (1946).*
 3) *K. Freudenberg, H. Eich, C. Knoevenagel, W. Westphal, B. 73, 441 (1940).*
 4) *E. Vischer, T. Reichstein, Helv. 27, 1332 (1944).*



¹⁾ K. Freudenberg, W. Dürr, H. v. Hochstetter, B. 61, 1735 (1928).

²⁾ Vgl. Exper. Teil dieser Arbeit.

³⁾ K. Freudenberg, H. Eich, C. Knoevenagel, W. Westphal, B. 73, 441 (1940).

⁴⁾ E. Vischer, T. Reichstein, Helv. 27, 1332 (1944).

⁵⁾ A. S. Meyer, T. Reichstein, Helv. 29, 139 (1946).

⁶⁾ E. Fischer, B. 28, 2496 (1895).

⁷⁾ E. Fischer, C. Rund, B. 49, 88 (1916).

⁸⁾ K. Freudenberg, H. v. Hose, B. 61, 1741 (1918).

⁹⁾ H. W. Coles, L. D. Goodhue, R. M. Hixon, Am. Soc. 51, 519 (1929).

¹⁰⁾ H. Ohle, E. Dickhäuser, B. 58, 2593 (1925).

¹¹⁾ G. Bertrand, Bl. [3] 33, 166 (1905).

¹²⁾ G. Bertrand, A. Lanzenberg, Bl. [3] 35, 1073 (1906).

¹³⁾ E. Fischer, H. Noth, B. 51, 321 (1918).

¹⁴⁾ H. Ohle, B. 57, 403 (1924).

mit NaOH in wässrigem Dioxan längere Zeit gekocht, wobei sich in guter Ausbeute Monoaceton-glucose-3-benzyläther(VI) bildete, der durch sein kryst. Diacetat(I) charakterisiert wurde. Genau wie bei der nicht benzylierten 1,2-Isopropyliden-5,6-anhydro-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ ¹⁾ tritt also bei der Öffnung des Äthylenoxydringes³⁾ auch in diesem Falle kein Konfigurationswechsel an C₅ ein. In ganz gleicher Weise liess sich (X) in 1,2-Isopropyliden-*l*-idose- $\langle 1,4 \rangle$ -3-benzyläther(XIV) überführen, der nur amorph erhalten wurde und dessen Diacetat bisher auch nicht krystallisierte. Druckhydrierung von (XIV) mit Raney-Nickel führte jedoch zur gut krystallisierten 1,2-Isopropyliden-*l*-idose- $\langle 1,4 \rangle$ (XIX), die sich durch saure Hydrolyse leicht in freie *l*-Idose(XX) überführen liess. Die Abspaltung des Acetons konnte unter so milden Bedingungen durchgeführt werden, dass eine Anhydrierung von (XX) nicht eintrat. Auf die Isolierung des freien Zuckers in reiner Form musste aus Zeitmangel verzichtet werden⁴⁾. Zum Konstitutionsbeweis wurde der rohe Sirup durch Druckhydrierung in *l*-Idit (XV) übergeführt, dieser als Hexacetat (XVI) charakterisiert und mit authentischem Material verglichen. Den benötigten *l*-Idit bereiteten wir durch Druckhydrierung von *l*-Sorbitose⁵⁾, wobei die Hauptmenge des gleichzeitig entstehenden Sorbits als schwerlösliche Pyridinverbindung⁶⁾ abgetrennt wurde.

Bei der zweiten Variante gingen wir von 1,2-Isopropyliden-6-benzoyl-5-tosyl-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ (XXI)⁷⁾ aus, deren präparative Bereitung allerdings noch etwas verbessert werden sollte, da wir bei Befolgung der Literaturvorschrift⁷⁾ neben relativ wenig (XXI) eine merkliche Menge Ditosylat (XIII)⁷⁾ erhielten. (XXI) gab mit NaOCH₃ die kryst., aber schwer zu reinigende 1,2-Isopropyliden-5,6-anhydro-*l*-idose- $\langle 1,4 \rangle$ (XXII), die beim Kochen mit Alkali wieder (XIX) lieferte. Die Bildung eines 3,6-Anhydrids⁸⁾ wie bei der analogen Glucose-Verbindung⁹⁾ wurde hier nicht beobachtet. Schliesslich liess sich auch das leicht erhältliche Ditosylat (XIII)⁷⁾ in *l*-Idose überführen. Mit NaOCH₃ ging es in (XVIII) über, das nicht gereinigt, sondern direkt durch reduktive Detosylierung in (XXII) verwandelt

1) H. Ohle, L. v. Vargha, B. 62, 2435 (1929).

2) E. Seebeck, A. S. Meyer, T. Reichstein, Helv. 27, 1142 (1944).

3) Eine Diskussion dieser Reaktion findet sich in der vollinhaltlichen Diss. A. S. Meyer, S. 55, Basel 1945.

4) Eine geeignete Methode dafür ist für die *d*-Form beschrieben worden: E. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 662, 940 (1945).

5) W. G. M. Jones, L. F. Wiggins, Soc. 1944, 363.

6) H. H. Strain, Am. Soc. 56, 1756 (1934).

7) H. Ohle, E. Dickhäuser, B. 58, 2593 (1925).

8) Einen Stoff vom Smp. 105⁰, den sie als 3,6-Anhydro-1,2-isopropyliden-*l*-idose- $\langle 1,4 \rangle$ ansprechen, erhielten H. Ohle, R. Lichtenstein, B. 63, 2905 (1930) durch Umsetzung von (XXI) mit NH₃ und anschliessende Einwirkung von HNO₂.

9) E. Seebeck, A. S. Meyer, T. Reichstein, Helv. 27, 1142 (1944).

wurde. Das auf diesem Wege gewonnene Präparat war lediglich etwas schwerer zu reinigen.

Welche der beiden Hauptvarianten (im Formelschema durch fette Pfeile gekennzeichnet) sich für die präparative Bereitung von (XX) besser eignet, ist durch die ausgeführten Versuche nicht restlos abgeklärt. Die Zwischenprodukte der nicht benzylierten Reihe besitzen den Vorteil leichter zu krystallisieren. Möglicherweise könnte eine dritte Variante, bei der statt einer Benzylgruppe in die 3-Stellung eine Acetyl- oder Benzoylgruppe eingeführt wird, noch praktischer sein¹⁾. Versuche aus dem Ditosylat (II) ein 5,6-Oxyd zu erhalten, gaben bisher kein brauchbares Resultat.

Wir danken der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co.* für die freundliche Überlassung von Diaceton-glucose.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Substanzproben für Drehung und Analyse wurden, wenn nichts anderes erwähnt, im Hochvakuum bei 60° getrocknet, Tosylderivate bei 40° .

1,2:5,6-Diisopropyliden-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ -3-benzyläther²⁾.

In geringer Abänderung der ursprünglichen Vorschrift²⁾, 45 g frisch im Hochvakuum destillierte Diaceton-glucose, Smp. $107\text{--}109^\circ$, Sdp. $0,2\text{ mm } 126\text{--}128^\circ$, in 100 cm^3 abs. Äther suspendiert u. ca. 9 g Na-Draht eingepresst. Nach $\frac{1}{2}$ Stde. trat Lösung der Krystalle ein, worauf noch 16 Std. unter H_2O -Ausschluss stehen gelassen wurde. Nicht verbrauchter Na-Draht herausgezogen, 22 cm^3 frisch dest. Benzylbromid zugegeben, Äther langsam abdestilliert und Rückstand noch 5 Std. auf 70° erhitzt. Aufarbeitung nach²⁾. Rohprodukt in Petroläther aufgenommen, Lösung 10 mal mit viel dest. Wasser gewaschen. Aus Waschwasser durch Einengen und Ausschütteln mit Äther 9,5 g kryst. Ausgangsmaterial. Aus Petroläther 46,4 g (77%) Benzylderivat, farbloser Sirup, Sdp. $0,05\text{ mm } 146\text{--}149^\circ$.

Druckhydrierung mit *Raney*-Nickel³⁾.

1 g 1,2:5,6-Diisopropyliden-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ -3-benzyläther mit *Raney*-Nickel⁴⁾ aus 0,5 g Ni-Al-Legierung⁵⁾ in ca. 40 cm^3 Methanol im Rotierautoklaven bei 100 Atm. Anfangsdruck 16 Std. bei 100° hydriert. Übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Benzin gab 0,4 g Diaceton-glucose, Smp. $107\text{--}108^\circ$ (Mischprobe).

1,2-Isopropyliden-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ -3-benzyläther (VI)⁶⁾ u. Diacetat (I)⁶⁾.

46,4 g obiger Diacetonverbindung in 138 cm^3 Eisessig u. 82 cm^3 Wasser 5 Std. auf 34° erwärmt. Mit gepulvertem K_2CO_3 neutralisiert, im Vakuum eingedampft, Rückstand mit viel Aceton ausgezogen, filtriert, Filtrat eingedampft. Rückstand in abs. Äther auf-

¹⁾ 3-Acyl-Derivate der Monoaceton-glucose neigen allerdings sehr zu Acyl-Verschiebungen, vgl. *H. Ohle*, B. **57**, 403 (1924), sowie weitere Literatur bei *L. v. Vargha*, B. **67**, 1223 (1934). Die 5-Tosyl-6-acetyl-1,2-isopropyliden-glucose- $\langle 1,5 \rangle$ von *H. Ohle*, *E. Euler*, *R. Lichtenstein*, B. **62**, 2885 (1929) dürfte sich dagegen ähnlich wie (XXI) verhalten.

²⁾ *K. Freudenberg*, *H. v. Hochstetter*, *H. Engels*, B. **58**, 666 (1925).

³⁾ Hydrierung mit Pt in Eisessig führte zu Monoaceton-glucose, in Alkohol wurde Hydrierung des Benzolkerns beobachtet⁶⁾.

⁴⁾ Am. P. 1 628 190, vgl. *L. W. Covert*, *H. Adkins*, Am. Soc. **54**, 4116 (1932).

⁵⁾ Wir danken Herrn *M. Raney*, Chattanooga, USA., für dieses Material.

⁶⁾ *K. Freudenberg*, *W. Dürr*, *H. v. Hochstetter*, B. **61**, 1735 (1928).

genommen, filtriert, eingedampft, im Vakuum getrocknet, zur Acetylierung mit 30 cm³ abs. Pyridin u. 36 cm³ Acetanhydrid 16 Std. bei 20° stehen gelassen. Ausfällen mit Wasser u. Umkrystallisieren aus Methanol gab 41,2 g (= 78%) farblose Prismen, Smp. 119—120°, $[\alpha]_D^{18} = -46,4^{\circ} \pm 0,6^{\circ}$ ($c = 4,982$ in CHCl₃). *Freudenberg* u. Mitarb.¹⁾ fanden Smp. 119—119,5°; $[\alpha] = -53^{\circ}$ (in Acetylentetrachlorid). Der Stoff wurde zuerst in einer labilen, leichter löslichen Modifikation erhalten, Smp. 92—93°.

3,620 mg Subst. gaben 8,064 mg CO₂ und 2,180 mg H₂O

C₂₀H₂₆O₈ (394,21) Ber. C 60,89 H 6,65%
Gef. „ 60,78 „ 6,74%

Nach mehreren Tagen hatten sich die Krystalle in die stabile Form umgelagert.

Versuch zur Druckhydrierung in Essigester.

1,1 g Diacetat (I) in ca. 15 cm³ Essigester mit *Raney*-Nickel aus 0,5 g Ni-Al-Legierung 5 Std. bei 70° und 130 Atm. Anfangsdruck hydriert gaben lediglich Ausgangsmaterial zurück.

Verseifung. 30 g Diacetat(I) vom Smp. 119—120° mit 39 g Ba(OH)₂·8 H₂O in 500 cm³ Methanol 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Mit CO₂ neutralisiert, heiss filtriert, Filtrat im Vakuum eingedampft. Rückst. in trockenem Äther gelöst, filtriert, Filtrat eingedampft. Erhalten 23,4 g gereinigtes (VI) als farblosen Sirup. $[\alpha]_D^{15} = -45,9^{\circ} \pm 0,6^{\circ}$ ($c = 4,122$ in CHCl₃).

41,2 mg ± 0,2 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = -1,89^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

6-Tosyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (III).

18 g über das Diacetat(I) gereinigter 1,2-Isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther(VI) in 40 cm³ abs. Pyridin gelöst, bei 0° langsam mit 13,0 g (= 1,1 Mol) gereinigtem Tosylchlorid in 75 cm³ völlig alkoholfreiem CHCl₃ versetzt und unter H₂O-Ausschluss 16 Std. bei 20° stehen gelassen. Nach Zusatz von 2 cm³ Wasser wurde 2 Std. stehen gelassen, im Vakuum eingedampft, mit Wasser u. Äther zerlegt, die Ätherlösung neutral gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und bei 45°, zuletzt im Vakuum eingedampft. Als Rückstand blieben 29,3 g (= 96%) rohes Tosylat(III) als leicht gelblicher Sirup.

5,6-Ditosyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (II).

22,2 g über das Diacetat(I) gereinigter 1,2-Isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther(VI) in 50 cm³ abs. Pyridin mit 44 g reinem Tosylchlorid in 120 cm³ alkoholfreiem Chloroform unter H₂O-Ausschluss 5 Tage bei 35° stehen gelassen. Aufarbeitung wie bei (III) gab 37 g (= 75%) gelblichen Sirup, $[\alpha]_D^{19} = -6,0^{\circ} \pm 0,3^{\circ}$ ($c = 7,031$ in CHCl₃).

175,9 mg ± 0,2 mg Subst. zu 2,5012 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,42^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

9,080 mg Subst. verbr. 5,650 cm³ 0,01-n. KOH (S-Best. nach *Pregl*)

C₃₀H₃₄O₁₀S₂ (618,69) Ber. S 10,36; Gef. S 9,97%

6-Benzoyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (VII).

10,6 g über das Diacetat(I) gereinigter 1,2-Isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther(VI) in abs. Pyridin gelöst, bei 0° unter H₂O-Ausschluss langsam mit 4,4 cm³ (= 1,1 Mol) Benzoylchlorid in 4,4 cm³ völlig alkoholfreiem CHCl₃ versetzt und 16 Std. bei 18° stehen gelassen. Mit 100 cm³ 2-n. HCl versetzt und mit 700 cm³ Äther ausgeschüttelt. Ätherlösung mit 2-n. HCl, NaOH u. H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Rückstand 14 g (= 99%) leicht gelblicher Sirup, der auch nach Chromatographie nicht krystallisierte.

¹⁾ *K. Freudenberg, W. Dürr, H. v. Hochstetter, B. 61, 1735 (1928).*

6-Benzoyl-5-acetyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (VIII).

0,3 g Benzoat(VII) mit 0,5 cm³ abs. Pyridin und 0,4 cm³ Acetanhydrid 16 Std. bei 18° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab Krystalle, aus Methanol 0,19 g Nadeln Smp. 95—96°, $[\alpha]_D^{16} = -67,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,222$ in CHCl₃).

12,21 mg Subst. zu 0,9987 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = -0,82^\circ \pm 0,02^\circ$

3,712 mg Subst. gaben 8,937 mg CO₂ und 2,046 mg H₂O

C₂₅H₂₈O₈ (456,46) Ber. C 65,77 H 6,18%

Gef. ,, 65,70 ,, 6,17%

6-Benzoyl-5-tosyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (IX).

14 g Benzoat (VII) in 35 cm³ abs. Pyridin mit 16 g (= 2,7 Mol) reinem Tosylchlorid in 60 cm³ alkoholfreiem CHCl₃ 3 Tage bei 37° stehen gelassen. Aufarbeitung wie bei (III) gab 18,4 g (96%) rohen Sirup. Aus Methanol bei 0° langsam 7,4 g Krystalle, Smp. 64—67°. Nach Chromatographie an Al₂O₃ aus den mit Benzol-Petroläther (1:1) eluierbaren Anteilen aus Methanol und aus Äther-Petroläther feine verfilzte Nadeln, Smp. 68—70°, $[\alpha]_D^{19} = -2,2^\circ \pm 0,8^\circ$ ($c = 3,122$ in CHCl₃).

31,2 mg ± 0,2 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,07^\circ \pm 0,02^\circ$

3,730 mg Subst. gaben 8,651 mg CO₂ und 1,943 mg H₂O

8,437 mg Subst. verbr. 2,899 cm³ 0,01-n. KOH (S-Best. nach Pregl)

C₃₀H₃₂O₉S (568,56) Ber. C 63,37 H 5,66 S 5,64%

Gef. ,, 63,29 ,, 5,83 ,, 5,51%

Durch Chromatographie der Mutterlauge liessen sich noch mehr Krystalle gewinnen.

5,6-Anhydro-1,2-isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (IV).

24,5 g 6-Tosyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther(III) (Sirup) in 60 cm³ trockenem CHCl₃¹⁾ gelöst, unter H₂O-Ausschluss auf -15° abgekühlt, mit der gekühlten Lösung von 2,7 g (= 2,3 Mol) Natrium in 40 cm³ abs. Methanol gut durchgeschüttelt und 10 Minuten bei -10° stehen gelassen; erstarrt gallertig. Mit 20 cm³ gesättigter KHCO₃-Lösung versetzt, im Vakuum bei 0° vom Methanol befreit, 5mal mit CHCl₃ ausgeschüttelt. CHCl₃-Auszüge mit KHCO₃-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, eingedampft. Rückstand (24 g) bei 0,07 mm fraktioniert. 1,8 g Vorlauf, Sdp. 98—100°, erwies sich als *p*-Toluolsulfosäure-methylester, Smp. 32°. Bei 132—133° destillierten 8,8 g (= 58%) gesuchtes Produkt (IV) als fast farbloses Öl. Rest blieb als Kolbenrückstand. Die Hauptfraktion zeigte nach Redestillation $[\alpha]_D^{19} = -51,2^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 4,770$ in CHCl₃).

119,3 mg ± 0,2 mg Subst. zu 2,5012 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -2,44^\circ \pm 0,02^\circ$

3,940 mg Subst. gaben 9,463 mg CO₂ und 2,462 mg H₂O

C₁₆H₂₀O₅ (292,16) Ber. C 65,72 H 6,90%

Gef. ,, 65,54 ,, 6,94%

Versuch zur Bereitung eines 5,6-Anhydrids aus (II).

5,6-Ditosyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (II) (Sirup) in CHCl₃ wurde zunächst mit 6 Mol NaOCH₃-Lösung bei -15° vermischt und 2½ Std. bei 0° stehen gelassen. Aufarbeitung wie bei (IV) gab offenbar quantitativ das Ausgangsmaterial zurück, denn es liess sich kein Gewichtsverlust feststellen. Hierauf wurden energischere

¹⁾ Für diese und die folgenden analogen Umsetzungen mit NaOCH₃ wäre ein gegen Alkali beständigeres Lösungsmittel (z. B. Dioxan od. Benzol-Methanol) wahrscheinlich vorteilhafter gewesen. Das beschriebene Verfahren wurde von *H. Ohle, L. v. Vargha, B. 62, 2435 (1929)* u. a. für ähnliche Zwecke empfohlen.

Bedingungen angewandt und zum Schluss in Benzol-Methanol, also ohne CHCl_3 , 15 Std. auf 70° erwärmt, worauf nach der Aufarbeitung nur noch 50% des Ausgangsgewichtes in der CHCl_3 -Äther-Phase verblieben. Sie stellten einen dunkel-orangen Sirup dar, aus dem sich im Hochvakuum keine Fraktion mit dem oben für (IV) gefundenen Sdp. herausdestillieren liess.

5,6-Anhydro-1,2-isopropyliden-*l*-idose- $\langle 1,4 \rangle$ -3-benzyläther (X).

4,9 g 6-Benzoyl-5-tosyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ -3-benzyläther (IX) (Rohkrystalle vom Smp. $61-64^\circ$) in 9 cm^3 abs. CHCl_3 gelöst, bei -15° mit der Lösung von 0,45 g (= 2,3 Mol) Na in 8 cm^3 Methanol versetzt, gut durchgeschüttelt, zunächst 10 Minuten bei -15° (blieb noch flüssig), dann 16 Std. bei 0° stehen gelassen. Nach ca. 15 Minuten bildete sich orange Gallerte, die dann dunkler und dicker wurde. Aufarbeitung wie bei (IV). Vom Rohprodukt wurde ein Vorlauf (Benzoessäure-methylester) im *Claisen*-Kolben bei 0,05 mm und 70° Badtemperatur abgetrennt. Rest durch Destillation im Molekularkolben (sonst Zersetzung) vorgereinigt, es blieb ein merklicher undestillierbarer Rückstand. Destillat gab bei Redestillation im *Claisen*-Kolben 1,4 g (= 56%) annähernd reines (X) als blassgelblichen dicken Sirup, der sich S-frei erwies. Sdp. $0,05 \text{ mm} = 137-139^\circ$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -78,7^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 6,453$ in CHCl_3).

64,5 mg \pm 0,2 mg Subst. zu $0,9994 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{20} = -5,08^\circ \pm 0,02^\circ$

3,881 mg Subst. gaben 9,247 mg CO_2 und 2,393 mg H_2O

$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_5$ (292,32) Ber. C 65,73 H 6,90%

Gef. „ 65,02 „ 6,90%

5,6-Anhydro-1,2-isopropyliden-*l*-idose- $\langle 1,4 \rangle$ (XXII).

a) Aus (XXI).

2,9 g 6-Benzoyl-5-tosyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ (XXI)¹ vom Smp. 142 bis 144° in 7 cm^3 Chloroform bei -15° mit der Lösung von 0,25 g (= 2,3 Mol) Na in $3,4 \text{ cm}^3$ abs. Methanol versetzt und $\frac{1}{2}$ Std. bei -15° , dann noch $2\frac{1}{2}$ Std. bei 0° stehen gelassen. Gibt grüne halbflüssige, dann feste braune Gallerte. Aufarbeitung wie bei (IV), dann Abdestillieren eines Vorlaufs (Benzoessäure-methylester) im Hochvakuum. Rest im Molekularkolben bei 0,04 mm und $65-70^\circ$ Badtemperatur sublimiert (es blieb ein merklicher Kolbenrückstand) gab 0,75 g (= 61%) feine Nadeln, Smp. $68-72^\circ$. Mit wenig abs. Äther rasch gewaschen, Smp. $73-75^\circ$. Liess sich schlecht umkrystallisieren. Getrocknet bei 0,1 mm und 40° . $[\alpha]_{\text{D}}^{12} = -25,2^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,304$ in CHCl_3).

23,03 mg Subst. zu $0,9994 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{12} = -0,58^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse 2 Tage im Vakuum bei 20° über P_2O_5 getrocknet, im Schweinchen eingewogen.

3,684 mg Subst. gaben 7,214 mg CO_2 und 2,260 mg H_2O

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_5$ (202,20) Ber. C 53,46 H 6,98%

Gef. „ 53,44 H 6,86%

b) Aus (XIII).

3,9 g 6-Benzoyl-3,5-ditosyl-1,2-isopropyliden-*d*-glucose- $\langle 1,4 \rangle$ (XIII)² vom Smp. 112° in 8 cm^3 CHCl_3 wie oben mit der Lösung von 0,4 g (= 2,3 Mol) Na in 5 cm^3 Methanol umgesetzt. Das Rohprodukt (1,05 g) wurde in 40 cm^3 80-proz. Methanol gelöst und unter ständigem Durchleiten von CO_2 mit 12 g gepulvertem 4-proz. Na-Amalgam portionsweise

¹ H. Ohle, E. Dickhäuser, B. 58, 2593 (1925). Bei der Bereitung dieses Stoffes aus 6 g des 6-Monobenzoats (vgl. H. Ohle, B. 57, 403 (1924)) erhielten wir nur 1,8 g reines 5-Monotosylat, daneben noch etwas 3,5-Ditosylat (XIII) vom Smp. 112° . Die Mutterlauge liessen sich chromatographisch über Al_2O_3 trennen und gaben noch etwas derselben zwei Stoffe.

² H. Ohle, E. Dickhäuser, B. 58, 2593 (1925).

versetzt und 15 Std. reagieren gelassen. Aufarbeitung wie bei a) gab 0,44 g rohes (XXII). Im Molekularkolben sublimierten 0,2 g, Rückstand war noch S-haltig. Kryst. Sublimat zeigte nach Verreiben mit wenig Äther Smp. 66—72°, Mischprobe ebenso.

1,2-Isopropyliden-*d*-chinovose-⟨1,4⟩ (V) aus (IV).

1,8 g 5,6-Anhydro-1,2-isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (IV) in wenig Methanol mit *Raney*-Nickel aus 1 g Ni-Al-Legierung im Hochdruck-Rotierautoklaven bei 100 Atm. H₂ Anfangsdruck 5 Std. bei 70° hydriert. Nach Erkalten filtriert, Filtrat eingedampft. Rückstand (1,2 g) aus Benzol-Petroläther kryst., Smp. 88—90°. Mischprobe mit Vergleichs-Präparat nach *Vischer* u. *Reichstein*¹⁾ ebenso.

1,2-Isopropyliden-*l*-idomethylose-⟨1,4⟩ (XI).

a) Aus X.

0,41 g 5,6-Anhydro-1,2-isopropyliden-*l*-idose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (X) (annähernd reiner Sirup) analog hydriert. Krystallines Rohprodukt (0,3 g) an Al₂O₃ chromatographisch gereinigt. Die mit abs. Benzol und Benzol-Äther (1:1) eluierbaren Anteile gaben aus Äther-Petroläther farblose Nadeln, Smp. 88—90°. Mischprobe mit analysenreinem authentischem Material²⁾ ebenso.

b) Aus XXII.

190 mg 5,6-Anhydro-1,2-isopropyliden-*l*-idose-⟨1,4⟩ (XXII) vom Smp. 68—72° wie oben hydriert. Aus Äther-Petroläther 140 mg Nadeln, Smp. 84—88°, $[\alpha]_D^{19} = -10^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 3,4$ in CHCl₃). Mischprobe mit analysenreinem Präparat²⁾ vom Smp. 90—91° schmolz bei 87—91°.

1,2-Isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (VI) aus (IV).

1,3 g 5,6-Anhydro-1,2-isopropyliden-*d*-glucose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (IV) in 8 cm³ frisch über Na destilliertem Dioxan gelöst, mit 4,8 cm³ 13-proz. NaOH versetzt (Schichtentrennung) und 28 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen zunächst mit CO₂, dann mit verd. H₂SO₄ neutralisiert (bis Phenolphthalein farblos, aber Lackmus blau), Dioxan im Vakuum entfernt, Rückstand mit viel Äther ausgeschüttelt. Mit wenig H₂O gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknete Ätherlösung gab beim Eindampfen 1,3 g Sirup (VI), $[\alpha]_D^{20} = -42^\circ \pm 0,6^\circ$ ($c = 6$ in CHCl₃). Durch Acetylierung Acetat (I), Smp. 117—119° (Mischprobe).

1,2-Isopropyliden-*l*-idose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (XIV).

0,96 g 5,6-Anhydro-1,2-isopropyliden-*l*-idose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (X) (Sirup) wurden wie bei (VI) aus (IV) beschrieben mit NaOH in wässrigem Dioxan gekocht und gaben 0,96 g rohen Äther (XIV) als gelblichen Sirup. Zur Reinigung wurde wie oben acetyliert. Das Acetat wurde nach Destillation im Molekularkolben bei 0,05 mm u. 120—130° Badtemperatur als farbloser Sirup (0,87 g) erhalten, der nicht krystallisierte. Verseifung mit Ba(OH)₂ in Methanol wie bei (I) gab 0,6 g farbloses Produkt (XIV). $[\alpha]_D^{18} = -64,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,311$ in CHCl₃).

23,1 mg ± 0,2 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -1,49^\circ \pm 0,02^\circ$

1,2-Isopropyliden-*l*-idose-⟨1,4⟩ (XIX).

a) Aus XIV.

0,51 g obiger 1,2-Isopropyliden-*l*-idose-⟨1,4⟩-3-benzyläther (XIV) (Sirup) mit *Raney*-Nickel in wenig Methanol 6 Std. bei 90° hydriert (Anfangsdruck 130 Atm.). Filtriert, Filtrat eingedampft, mit Aceton-Äther aufgenommen, nochmals filtriert und ein-

¹⁾ Helv. 27, 1332 (1944).

²⁾ A. S. Meyer, T. Reichstein, Helv. 29, 139 (1946).

gedampft. Farbloser Sirup (0,37 g), gab aus wenig Aceton-Äther bei -10° 70 mg Krystalle, Smp. 108—111°. Mutterlauge im Molekularkolben bei 0,01 mm und 75° Badtemperatur destilliert (kein Rückstand) lieferte noch 10 mg Krystalle. Vereinigte Krystalle im Hochvakuum sublimiert. Aus sehr wenig Aceton und abs. Äther farblose, hygroskopische Blättchen, Smp. 112—114°, $[\alpha]_D^{20} = -28,7^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,361$ in Wasser).

13,60 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = -0,39^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse 3 Tage bei 20° über P₂O₅ getrocknet, im Schweinchen eingewogen.

3,812 mg Subst. gaben 6,859 mg CO₂ und 2,527 mg H₂O

C₉H₁₆O₆ (220,22) Ber. C 49,08 H 7,32%

Gef. „ 49,10 „ 7,42%

Aus der Mutterlauge liess sich auch durch Animpfen keine 1,2-Isopropyliden-*d*-glucose (XII) abscheiden.

b) Aus XXII.

0,73 g 5,6-Anhydro-1,2-isopropyliden-*l*-idose-(1,4) (XXII) vom Smp. 68—72° wurden $\frac{1}{4}$ Std. mit 7,3 cm³ 0,5-n. NaOH auf dem siedenden Wasserbad erhitzt (Dunkelfärbung). Mit CO₂, dann mit H₂SO₄ auf Phenolphthalein neutralisiert, im Vakuum eingedampft, mit Aceton-Äther aufgenommen, filtrierte Lösung eingedampft. Rückstand (0,70 g) gab aus Chloroform-abs. Äther 0,43 g Krystalle. Sublimiert, dann aus Chloroform-Äther umkrystallisiert, Smp. 112—113°, Mischprobe ebenso. Reduziert *Fehling'sche* Lösung nicht.

Rohe *l*-Idose (XX) aus (XIX).

108 mg 1,2-Isopropyliden-*l*-idose-(1,4) (XIX) vom Smp. 112—113° mit 2 cm³ 0,1-n. H₂SO₄ auf 45° erwärmt. Schon nach 1 Std. wurde *Fehling'sche* Lösung stark reduziert. Eine wesentliche Änderung der optischen Drehung trat nicht ein. Nach total $2\frac{1}{2}$ Std. mit reinem feuchten BaCO₃ bei 50° neutralisiert, durch ein mit BaCO₃ gedichtetes Filter genutscht, Filtrat im Vakuum eingedampft. Rückstand in abs. Alkohol aufgenommen, von wenig Flocken filtriert, Filtrat im Vakuum eingedampft. Getrockneter Sirup in wenig abs. Alkohol gelöst, mit 5 Teilen Aceton versetzt, nochmals filtriert, mit Alkohol-Aceton (1 : 5) nachgewaschen. Filtrat, im Vakuum eingedampft u. gut getrocknet, gab 90 mg rohe *l*-Idose (XX), die noch Spuren (XIX) enthielt (Sublimationsprobe).

l-Idit (XV) aus (XX).

45 mg obiger *l*-Idose-Sirup in wenig Wasser mit *Raney-Nickel* aus 50 mg Ni-Al-Legierung bei 120 Atm. Anfangsdruck 5 Std. bei 95° hydriert. Filtration u. Eindampfen gab 40 mg farblosen Sirup, der *Fehling'sche* Lösung nicht mehr reduzierte.

Hexa-acetat (XVI). Die 40 mg Hydrierungsprodukt mit je 1 cm³ abs. Pyridin und Acetanhydrid 16 Std. bei 40° u. noch 1 Std. bei 55° stehen gelassen. Im Vakuum eingedampft, in CHCl₃ gelöst, mit verd. HCl, Na₂CO₃ u. H₂O gewaschen, getrocknet, eingedampft. 90 mg Rohprodukt. Aus Äther-Petroläther 40 mg Blättchen, Smp. 119,5 bis 120,5°. $[\alpha]_D^{19} = -26,1^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 0,919$ in CHCl₃).

0,32 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,24^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Mischprobe mit authentischem Material aus *l*-Sorbitose ebenso. Idit-hexa-acetat schmilzt nach *Bertrand*¹⁾ bei 121,5° und zeigt $[\alpha]_D^{18} = -25,7^{\circ}$ (in CHCl₃).

l-Sorbit- und *l*-Idit-hexa-acetat (XVI) aus *l*-Sorbitose²⁾.

5 g reine *l*-Sorbitose vom Smp. 166—167° in 20 cm³ dest. Wasser heiss gelöst, durch ein mit wenig gewaschener Kohle gedichtetes Filter genutscht, mit *Raney-Nickel* aus

¹⁾ *G. Bertrand*, Bl. [3] 33, 166 (1905).

²⁾ Vgl. *W. G. M. Jones, L. F. Wiggins*, Soc. 1944, 363.

1,5 g Ni-Al-Legierung versetzt und mit H₂O auf 30 cm³ aufgefüllt. Wie oben hydriert. Getrocknetes Rohprodukt (5 g) in wenig abs. Pyridin gelöst, mit Sorbit-Pyridin-Verbindung¹⁾ angeimpft, 2 Std., zuletzt bei 0° krystallisieren gelassen. Abgenutscht, mit wenig abs. Pyridin gewaschen, 3,26 g Krystalle entspr. 2,227 g Sorbit. Das Filtrat mit 15 cm³ Acetanhydrid versetzt, wie oben erwärmt u. aufgearbeitet gab 6,5 g rohes *l*-Idit-hexa-acetat. 3mal aus Äther-Petroläther umkrystallisiert, 4,6 g farblose Blättchen, Smp. 119,5–120,5°²⁾). *l*-Sorbit-hexa-acetat schmilzt bei 96,5–97,5°⁴⁾).

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

22. Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus

9. Weitere Mitteilungen über Effektoren der *d*-Aminosäure-oxydase

von S. Edlbacher, O. Wiss und A. Walser.

(20. XII. 45.)

In früheren Mitteilungen wurde gezeigt⁵⁾⁶⁾, dass der aus Apoferment und Coferment bestehende Symplex der *d*-Aminosäure-oxydase mit den verschiedensten Aminosäuren und Proteinen in Komplexe übergehen kann, wobei jedesmal eine neue Variante der *d*-Aminosäure-oxydase entsteht. Seit den grundlegenden Arbeiten von O. Warburg spielt die Blausäure als Hemmkörper zur Charakterisierung von Enzymen eine entscheidende Rolle. Nach O. Warburg⁷⁾ hemmt die Blausäure die Cytochromoxydase durch Bildung einer Komplexverbindung mit dem dreiwertigen Hämineisen.

Weiterhin hat H. A. Krebs⁸⁾ die von ihm entdeckte *d*-Aminosäure-oxydase unter anderm durch ihr Verhalten gegenüber Blausäure von der *l*-Aminosäure-oxydase abtrennen können. Es zeigte sich nämlich, dass die *l*-Aminosäure-oxydase durch Cyanion weitgehend gehemmt wird, während die *d*-Aminosäure-oxydase nicht beeinflusst wird.

Die Charakterisierung der *l*-Aminosäure-oxydase geschah jedoch lediglich am Beispiel des *l*-Asparaginsäure- und des *l*-Valin-Abbaues an Rattennierenschnitten. In ausführlichen Untersuchungen haben deshalb Edlbacher und Grauer⁹⁾ die Hemmbarkeit des oxydativen

¹⁾ H. H. Strain, Am. Soc. 56, 1756 (1934).

²⁾ G. Bertrand, Bl. [3] 33, 166 (1905).

³⁾ G. Bertrand, A. Lanzenberg, Bl. [3] 35, 1073 (1906).

⁴⁾ C. Vincent, Delachanal, C. r. 108, 355; 109, 676 (1889).

⁵⁾ Helv. 28, 797 (1945).

⁷⁾ Bioch. Z. 189, 354 (1927).

⁶⁾ Helv. 28, 1111 (1945).

⁸⁾ Biochem. J. 29, 1620 (1935).

⁹⁾ Helv. 27, 928 und 1511 (1944).

Abbaues zahlreicher anderer *l*-Aminosäuren untersucht. Durch systematische Anwendung einer grossen Anzahl der verschiedenartigsten Hemmkörper liess sich so die *l*-Aminosäure-oxydase in weitere Einzelenzyme unterteilen.

Es ist auch bekannt, dass eine Reihe von enzymatischen Reaktionen durch Blausäure aktivierbar sind. Über den Mechanismus der Aktivierung ist wenig Sicheres bekannt.

Im Falle der Papainaktivierung wird von *Grassmann*¹⁾ angenommen, dass Disulfidgruppen des Enzyms oder Substrats durch Cyanwasserstoff in Sulfhydrylgruppen übergeführt werden. *Mayr* und *Borger*²⁾ erklären die Cyanaktivierung des Kathepsins in ähnlicher Weise. Nach *Tauber*³⁾ soll die Carboxylase-Aktivierung durch Bildung eines reaktionsfähigen Cyanhydrins mit der Brenztraubensäure erfolgen. Schliesslich ist im Falle der Urease⁴⁾⁵⁾ auch die Möglichkeit erwogen worden, dass durch Blausäure die Hemmungswirkung von Schwermetallen eliminiert wird.

In den folgenden Untersuchungen haben wir die Wirkung von Blausäure auf die gereinigte *d*-Aminosäure-oxydase untersucht. Es liess sich nachweisen, dass sich der *d*-Aminosäure-Abbau durch Blausäure in eminentem Ausmass aktivieren lässt. In Analogie zu der Effektorenwirkung der Aminosäuren und Proteine konnte gezeigt werden, dass die Aktivierung vor allem bei Verwendung von kleinen Enzymkonzentrationen in Erscheinung tritt, und dass das Ausmass der Aktivierung vom Reinheitsgrad des Ferment-Proteins abhängig ist. Es gelingt so, durch 0,001-m. Blausäure den Abbau von *d*-Alanin auf das ca. Hundertfache zu aktivieren. In der 6. Mitteilung dieser Reihe⁶⁾ liess sich nachweisen, dass durch gereinigte *d*-Aminosäure-oxydase wohl alle Typen der *d*-Aminosäuren abgebaut werden, dass sich aber zwei Gruppen unterscheiden lassen, insofern sich nur der Abbau der Mono-aminomonocarbonsäuren durch Aminosäuren und Proteine aktivieren lässt. Es zeigte sich nun, dass Blausäure in ganz analoger Weise wirkt.

Als zweiten Effektor haben wir das Pyrophosphat in den Kreis der Untersuchungen gezogen. *Krebs* (l. c.) hat in seinen Untersuchungen über die *d*-Aminosäure-oxydase vorwiegend mit Phosphatpuffer $p_H = 7,4$ gearbeitet. *Warburg*⁷⁾ hingegen verwendete ausschliesslich Pyrophosphat als Puffer. Er hat anscheinend das Phosphat durch Pyrophosphat ersetzt, um bei optimalem p_H unter-

¹⁾ Z. angew. Ch. **44**, 105 (1931).

²⁾ Bioch. Z. **273**, 56 (1934).

³⁾ J. Biol. Chem. **125**, 191 (1938).

⁴⁾ *Hellermann* und Mitarbeiter: Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **19**, 855 (1933).

⁵⁾ *Bersin* und *Köster*, Z. Naturwiss. **1**, 230 (1935).

⁶⁾ Helv. **28**, 797 (1945).

⁷⁾ Bioch. Z. **298**, 150 (1938).

suchen zu können. Es liegen jedoch keine Untersuchungen über die Effektorenwirkung von Pyrophosphat auf die *d*-Aminosäure-oxydase vor. Wir konnten nun nachweisen, dass Pyrophosphat ähnlich wie Blausäure den Abbau der *d*-Aminosäuren beeinflusst. Auch in diesem Falle ist die Aktivierbarkeit in typischer Weise an den Reinheitsgrad des Fermentproteins und an die Enzymkonzentration gebunden. Es liess sich wiederum zeigen, dass im wesentlichen nur der Abbau der Mono-aminomonocarbonsäuren aktiviert wird. In weiteren Untersuchungen hat sich das Semicarbazid als kräftiger Hemmkörper der gereinigten *d*-Aminosäure-oxydase erwiesen.

Krebs (l. c.) hat die *d*-Aminosäure-oxydase weiterhin durch ihr Verhalten gegenüber Octylalkohol charakterisiert. So hat er nachweisen können, dass der Abbau von *l*-Asparaginsäure bei Verwendung von nativen Rattennieren-Präparaten durch Octylalkohol gehemmt wird, während der *d*-Valin-Abbau nicht beeinflusst wird. Wir konnten diese Ergebnisse durchaus bestätigen. Die Erweiterung dieser Untersuchungen auf andere Aminosäuren und andere Enzympräparate zeigte jedoch, dass sich der *d*-Aminosäureabbau unter anderen Versuchsbedingungen durch Octylalkohol zum Teil sehr kräftig hemmen lässt.

Experimenteller Teil.

1. Methoden.

Die Versuchstechnik findet sich in den vorangegangenen Mitteilungen (l. c.) beschrieben. Das in der 8. Mitteilung als Apoferment angegebene Präparat A wurde nach *Negelein* und *Brömel*¹⁾ in verdünnter Pyrophosphat-Lösung extrahiert und das wirksame Fermentprotein bei $p_{\text{H}} = 5,1$ gefällt. Das Trockenpräparat dieser Reinigungsstufe (= Präparat c) blieb während einiger Wochen aktiv. Als Coferment diente durch Phenolextraktion gereinigter Hefekochofsaft. Auf je 10 mg des Trockenpräparates wurde 0,15 cm³ Hefe-Extrakt zugegeben. Zur Messung des Sauerstoffverbrauches und der Ammoniakbildung verwendeten wir die Methoden nach *Warburg* und *Conway*, wie wir sie in den früheren Mitteilungen beschrieben haben. Das Gesamtflüssigkeits-Volumen betrug in allen Fällen 3 cm³. Für alle Versuche verwendeten wir Phosphatpuffer $p_{\text{H}} = 8$. Bei allen Versuchen mit Blausäure wurde das von *Krebs* angegebene Gemisch von Kaliumcyanid und Kaliumhydroxyd in den Einsatz des *Warburg*-Gefässes gegeben.

Die Bereitung des Nierenhackbreies findet sich in der 3. Mitteilung beschrieben²⁾.

2. Aktivierung der oxydativen Desaminierung von *d*-Alanin durch Blausäure.

Aus den folgenden Versuchen (Tabelle 1) geht hervor, dass der oxydative Abbau des *d*-Alanins durch Blausäure bei Verwendung von Reinenzym enorm gesteigert wird. Die Aktivierung tritt am deutlichsten in kleinen Enzymkonzentrationen in Erscheinung. Wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, wirkt Cyanwasserstoff in 0,001-m. Konzentration optimal. Dass es sich tatsächlich um eine oxydative Desaminierung handelt, ist aus dem Verhältnis Sauerstoff : Ammoniak, das dem errechneten Wert 1 : 2 entspricht, klar ersichtlich.

¹⁾ Bioch. Z. **300**, 225 (1939).

²⁾ Helv. **27**, 1060 (1944).

Tabelle 1.
Aktivierung des *d*-Alanin-Abbaues durch Blausäure.

A
Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Alanin Mol | KCN Mol | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Verbrauch durch Aktivierung bedingt |
|-------------|-------------------------|------------|---|---|
| 1,5 | m/50 | | 13 | |
| 1,5 | m/50 | m/1000 | 294 | + 281 |

B
Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Alanin Mol | KCN Mol | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Verbrauch durch Akti- vierung bedingt | mm ³ NH ₃ - Bildung abzüglich Leerwert | mm ³ NH ₃ - Bildung durch Akti- vierung bedingt |
|-------------|-------------------------|------------|--|--|---|---|
| 1,5 | m/50 | | 4 | | 23 | |
| 1,5 | m/50 | m/ 1000 | 346 | + 342 | 678 | + 655 |

C
Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Alanin Mol | KCN Mol | mm ³ O ₂ -Verbrauch | abzüglich Leerwert durch Aktivierung bedingt |
|-------------|-------------------------|------------|---|--|
| 16 | m/50 | | 1101 | |
| 8 | m/50 | | 914 | |
| 4 | m/50 | | 686 | |
| 2 | m/50 | | 143 | |
| 1 | m/50 | | 31 | |
| 16 | m/50 | m/1000 | 1124 | + 23 |
| 8 | m/50 | m/1000 | 945 | + 31 |
| 4 | m/50 | m/1000 | 966 | + 280 |
| 2 | m/50 | m/1000 | 768 | + 625 |
| 1 | m/50 | m/1000 | 396 | + 365 |

D
Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Alanin Mol | KCN Mol | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Verbrauch durch Aktivierung bedingt |
|-------------|-------------------------|------------|---|---|
| 1 | m/50 | | 14 | |
| 1 | m/50 | m/100 | 63 | + 49 |
| 1 | m/50 | m/200 | 135 | + 121 |
| 1 | m/50 | m/400 | 227 | + 213 |
| 1 | m/50 | m/1000 | 252 | + 238 |
| 1 | m/50 | m/3200 | 212 | + 198 |
| 1 | m/50 | m/12800 | 95 | + 81 |

E

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Alanin Mol | KCN Mol | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Verbrauch durch Aktivierung bedingt |
|-------------|-------------------------|------------|---|---|
| 2 | m/50 | | 61 | |
| 2 | m/30 | | 83 | |
| 2 | m/15 | | 76 | |
| 2 | m/50 | m/1000 | 692 | + 631 |
| 2 | m/30 | m/1000 | 847 | + 764 |
| 2 | m/15 | m/1000 | 541 | + 465 |

3. Aktivierung der oxydativen Desaminierung von *d*-Alanin durch Pyrophosphat.

Weitere Untersuchungen haben ergeben, dass das Pyrophosphat als kräftiger Aktivator der *d*-Aminosäure-oxydase wirken kann (Tabelle 2). Wiederum tritt der Steigerungseffekt vor allem bei Verwendung von Reinezym und bei kleinen Enzymkonzentrationen in Erscheinung. Parallel zur Steigerung des Sauerstoff-Verbrauchs lässt sich die vermehrte Ammoniakbildung nachweisen. Mit steigender Enzymkonzentration verringert sich der Aktivierungseffekt, so dass bei sehr hohen Enzymkonzentrationen der Reaktionsablauf unbeeinflusst bleibt.

Tabelle 2.

Aktivierung des *d*-Alanin-Abbaues durch Pyrophosphat.

A

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Alanin | Na ₄ P ₂ O ₇ | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ Verbrauch durch Aktivierung bedingt |
|-------------|------------------|---|---|--|
| 1,5 | m/50 | | 19 | |
| 1,5 | m/50 | m/100 | 335 | + 316 |
| 1,5 | m/50 | m/1000 | 70 | + 51 |

B

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Alanin | Na ₄ P ₂ O ₇ | mm ³ O ₂ - Ver- brauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ - Ver- brauch durch Ak- tivierung bedingt | mm ³ NH ₃ - Bildung abzüglich Leerwert | mm ³ NH ₃ - Bildung durch Ak- tivierung bedingt |
|-------------|------------------|---|---|---|---|---|
| 2 | m/50 | | 4 | | 0 | |
| 2 | m/50 | m/100 | 113 | + 109 | 249 | + 249 |

C

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Alanin | Na ₄ P ₂ O ₇ | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Verbrauch durch Aktivierung bedingt |
|-------------|------------------|---|---|---|
| 2 | m/50 | | 61 | |
| 2 | m/30 | | 83 | |
| 2 | m/15 | | 76 | |
| 2 | m/50 | m/100 | 347 | + 286 |
| 2 | m/30 | m/100 | 533 | + 450 |
| 2 | m/15 | m/100 | 583 | + 507 |

D

Enzym: 15 mg Trockenpulver/1 cm³ Puffer (Präparat A).Coferment: 0,15 cm³ Phenolextrakt/50 mg Pulver. Versuchsdauer: 2 Stunden.

| Enzym cm ³ | <i>d</i> -Alanin | Na ₄ P ₂ O ₇ | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Verbrauch durch Aktivierung bedingt |
|--------------------------|------------------|---|---|---|
| 2 | m/50 | | 1224 | |
| 2 | m/50 | m/100 | 1274 | + 50 |
| 1,5 | m/50 | | 1114 | |
| 1,5 | m/50 | m/100 | 1299 | + 185 |
| 1 | m/50 | | 567 | |
| 1 | m/50 | m/100 | 1294 | + 727 |
| 0,5 | m/50 | | 62 | |
| 0,5 | m/50 | m/100 | 740 | + 678 |
| 0,25 | m/50 | | 9 | |
| 0,25 | m/50 | m/100 | 283 | + 274 |

4. Hemmung des oxydativen Abbaues von *d*-Alanin durch Semicarbazid.

Bemerkenswerter Weise liess sich feststellen, dass, im Gegensatz zur Blausäure, Semicarbazid die reine *d*-Aminosäure-oxydase intensiv hemmen kann.

Tabelle 3.

Hemmung des oxydativen Abbaues von *d*-Alanin durch Semicarbazid.

A

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Alanin | Semicar- bazid | mm ³ O ₂ - Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ - Verbrauch durch Akti- vierung bedingt | % Hemmung |
|-------------|------------------|-------------------|--|--|-----------|
| 6 | m/50 | | 578 | | |
| 6 | m/50 | m/100 | 157 | - 421 | - 73% |
| 6 | m/50 | m/500 | 375 | - 203 | - 35% |
| 6 | m/50 | m/1000 | 502 | - 76 | - 13% |

B

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Ala- nin | Semi- carba- zid | mm ³ O ₂ - Ver- brauch abzügl. Leerwert | mm ³ O ₂ - Ver- brauch d. Hem- mung bedingt | % O ₂ - Hem- mung | mm ³ NH ₃ - Bildung abzügl. Leerwert | mm ³ NH ₃ - Bildung d. Hem- mung bedingt | % NH ₃ - Hem- mung |
|-------------|-----------------------|------------------------|---|--|------------------------------------|--|---|--|
| 5 | m/50 | | 427 | | | 738 | | |
| 5 | m/50 | m/100 | 206 | - 221 | - 52% | 348 | - 390 | - 53% |

5. Hemmung der *d*-Aminosäure-oxydase durch Octylalkohol.

Wir konnten die Angaben von *Krebs* bestätigen, wonach der Abbau von *l*-Asparagin-säure bei Verwendung von nativen Ratten-Nierenpräparaten durch Octylalkohol gehemmt wird, während der *d*-Valinabbau unbeeinflusst bleibt. In Erweiterung seiner Untersuchungen liess sich nun zeigen, dass einerseits der *d*-Asparaginsäureabbau bei der Ratte und beim Meerschweinchen durch Octylalkohol ebenfalls partiell gehemmt, und dass ausserdem unter geeigneten Bedingungen auch der Abbau der *d*-Mono-aminomonocarbonsäuren kräftig gehemmt wird.

Tabelle 4.

Hemmung der oxydativen Desaminierung von Aminosäuren durch Octyl-
alkohol.

A

Rattennieren-Hackbrei ausgewaschen mit $\frac{1}{3}$ Puffer versetzt $p_H = 7,0$.

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym cm ³ | <i>l</i> -Aspa- ragin- säure | <i>d</i> -Aspa- ragin- säure | Octyl- alkohol cm ³ | mm ³ O ₂ -Ver- brauch | Diffe- renz | γ NH ₃ | Diffe- renz | % Hem- mung |
|--------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|---|----------------|--------------------------|----------------|-------------------|
| 0,5 | | | | 405 | | 47 | | |
| 0,5 | | | 0,015 | 43 | | 41 | | - 13% |
| 0,5 | m/20 | | | 477 | + 72 | 102 | + 55 | |
| 0,5 | m/20 | | 0,015 | 76 | + 33 | 52 | + 11 | - 80% |
| 0,5 | | m/20 | | 469 | + 64 | 73 | + 26 | |
| 0,5 | | m/20 | 0,015 | 52 | + 9 | 54 | + 13 | - 50% |

B

Präparat B (vgl. 8. Mitteilung, l. c.).

Enzym: 0,15 mg Trockenpulver/1 cm³.

Coferment: 0,25 cm³ Phenolextrakt/3 mg Pulver.

Pyrophosphat: m/20 $p_H = 8,3$.

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| Enzym cm ³ | <i>d</i> -Alanin | Octyl- alkohol cm ³ | mm ³ O ₂ -Ver- brauch abzügl. Leerwert | mm ³ O ₂ -Ver- brauch durch Hemmung bedingt | % Hem- mung |
|--------------------------|------------------|--------------------------------------|--|--|-------------------|
| 2 | m/50 | | 849 | | |
| 2 | m/50 | 0,015 | 588 | - 261 | - 31% |
| 0,5 | m/50 | | 115 | | |
| 0,5 | m/50 | 0,015 | 44 | - 71 | - 62% |

6. Gegenseitige Beeinflussung von verschiedenen Effektoren.

In Analogie zu den Untersuchungen, die wir in der 8. Mitteilung beschrieben haben, beeinflussen sich mehrere gleichzeitig zugesetzte Effektoren in sehr verschiedener Weise. Entsprechende Versuche über die Wirkung des Semicarbazids auf das aktivierte Enzym zeigen, dass das Ausmass des Hemmungseffektes je nach der Natur des Aktivators grossen Schwankungen unterliegt.

Tabelle 5.

Gegenseitige Beeinflussung von verschiedenen Effektoren.

A

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | d-Alanin | KCN | l-Histidin | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Verbrauch durch Aktivierung bedingt | mm ³ NH ₃ -Bildung abzüglich Leerwert | mm ³ NH ₃ -Bildung durch Aktivierung bedingt |
|----------|----------|--------|------------|--|---|---|--|
| 2 | m/50 | | | 4 | | 0 | |
| 2 | m/50 | m/1000 | | 288 | + 284 | 584 | + 584 |
| 2 | m/50 | | m/500 | 214 | + 210 | 424 | + 424 |
| 2 | m/50 | m/1000 | m/500 | 254 | + 250 | 464 | + 464 |

B

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | d-Alanin | KCN | Pyrophosphat | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Verbrauch durch Aktivierung bedingt | mm ³ NH ₃ -Bildung abzüglich Leerwert | mm ³ NH ₃ -Bildung durch Aktivierung bedingt |
|----------|----------|--------|--------------|--|---|---|--|
| 2 | m/50 | | | 4 | | 0 | |
| 2 | m/50 | m/1000 | | 288 | + 284 | 584 | + 584 |
| 2 | m/50 | | m/100 | 113 | + 109 | 247 | + 247 |
| 2 | m/50 | m/1000 | m/100 | 255 | + 251 | 479 | + 479 |

C

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | d-Alanin | KCN | Semicarbazid | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Verbrauch durch Aktivierung bedingt | mm ³ NH ₃ -Bildung abzüglich Leerwert | mm ³ NH ₃ -Bildung durch Aktivierung bedingt |
|----------|----------|--------|--------------|--|---|---|--|
| 2 | m/50 | | | 4 | | 0 | |
| 2 | m/50 | m/1000 | | 288 | + 284 | 584 | + 584 |
| 2 | m/50 | | m/100 | 3 | - 1 | 58 | |
| 2 | m/50 | m/1000 | m/100 | 35 | + 31 | 138 | + 80 |

D

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Ala- nin | Pyro- phos- phat | <i>l</i> -Hi- stidin | mm ³ O ₂ - Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ - Verbrauch durch Akti- vierung bedingt | mm ³ NH ₃ - Bildung abzüglich Leerwert | mm ³ NH ₃ - Bildung durch Akti- vierung bedingt |
|-------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|--|--|---|---|
| 2 | m/50 | | | 4 | | 0 | |
| 2 | m/50 | m/100 | | 113 | + 109 | 247 | + 247 |
| 2 | m/50 | | m/500 | 214 | + 210 | 424 | + 424 |
| 2 | m/50 | m/100 | m/500 | 209 | + 205 | 427 | + 427 |

E

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Ala- nin | Pyro- phos- phat | Semi- car- bazid | mm ³ O ₂ - Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ - Verbrauch durch Akti- vierung bedingt | mm ³ NH ₃ - Bildung abzüglich Leerwert | mm ³ NH ₃ - Bildung durch Akti- vierung bedingt |
|-------------|-----------------------|------------------------|------------------------|--|--|---|---|
| 2 | m/50 | | | 4 | | 0 | |
| 2 | m/50 | m/100 | | 113 | + 109 | 247 | + 247 |
| 2 | m/50 | | m/100 | 3 | - 1 | 58 | |
| 2 | m/50 | m/100 | m/100 | 24 | + 20 | 153 | + 95 |

F

Versuchsdauer 1 Stunde.

| Enzym mg | <i>d</i> -Ala- nin | <i>l</i> -Hi- stidin | Semi- car- bazid | mm ³ O ₂ - Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ - Verbrauch durch Akti- vierung bedingt | mm ³ NH ₃ - Bildung abzüglich Leerwert | mm ³ NH ₃ - Bildung durch Akti- vierung bedingt |
|-------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|--|--|---|---|
| 2 | m/50 | | | 4 | | 0 | |
| 2 | m/50 | m/500 | | 214 | + 210 | 424 | + 424 |
| 2 | m/50 | | m/100 | 3 | - 1 | 58 | |
| 2 | m/50 | m/500 | m/100 | 104 | + 98 | 292 | + 234 |

7. Beeinflussung des Abbaues verschiedener *d*-Aminosäuren durch KCN und Pyrophosphat.

Die Ausdehnung der Untersuchung über die Effektorenwirkung von Kaliumcyanid und Pyrophosphat auf andere Aminosäuren hat ergeben, dass sich nur der Abbau der *d*-Mono-aminomonocarbonsäuren aktivieren lässt. Es zeigte sich dementsprechend, dass sich Cyanion und Pyrophosphat auch in dieser Beziehung den früher beschriebenen Effektoren analog verhalten¹⁾.

¹⁾ Helv. 28, 797 (1945).

Tabelle 6.

Aktivierung des Abbaues verschiedener Aminosäuren durch KCN und Pyrophosphat.

Versuchsdauer: 1 Stunde. Enzym: 2 mg/1 cm³ Puffer.

| <i>d</i> -Aminosäure | Mol. | KCN | mm ³ O ₂ - Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Ver- brauch durch Aktivierung bedingt |
|------------------------------------|------|---|--|--|
| <i>d</i> -Isoleucin | m/50 | | 18 | |
| <i>d</i> -Alanin | m/50 | | 61 | |
| <i>d</i> -Valin | m/50 | | 78 | |
| <i>d</i> -Phenylalanin | m/50 | | 152 | |
| <i>d</i> -Leucin | m/50 | | 15 | |
| <i>d</i> -Arginin | m/50 | | 2 | |
| <i>d</i> -Histidin | m/50 | | 7 | |
| <i>d</i> -Asparaginsäure | m/50 | | 114 | |
| <i>d</i> -Isoleucin | m/50 | m/1000 | 698 | + 680 |
| <i>d</i> -Alanin | m/50 | m/1000 | 692 | + 631 |
| <i>d</i> -Valin | m/50 | m/1000 | 487 | + 409 |
| <i>d</i> -Phenylalanin | m/50 | m/1000 | 436 | + 284 |
| <i>d</i> -Leucin | m/50 | m/1000 | 229 | + 214 |
| <i>d</i> -Arginin | m/50 | m/1000 | 56 | + 54 |
| <i>d</i> -Histidin | m/50 | m/1000 | 50 | + 43 |
| <i>d</i> -Asparaginsäure | m/50 | m/1000 | 156 | + 42 |
| | | Na ₄ P ₂ O ₇ | | |
| <i>d</i> -Isoleucin | m/50 | | 78 | |
| <i>d</i> -Alanin | m/50 | | 40 | |
| <i>d</i> -Valin | m/50 | | 20 | |
| <i>d</i> -Phenylalanin | m/50 | | 31 | |
| <i>d</i> -Leucin | m/50 | | 18 | |
| <i>d</i> -Arginin | m/50 | | 4 | |
| <i>d</i> -Histidin | m/50 | | 0 | |
| <i>d</i> -Asparaginsäure | m/50 | | 139 | |
| <i>d</i> -Isoleucin | m/50 | m/100 | 525 | + 447 |
| <i>d</i> -Alanin | m/50 | m/100 | 415 | + 375 |
| <i>d</i> -Valin | m/50 | m/100 | 358 | + 338 |
| <i>d</i> -Phenylalanin | m/50 | m/100 | 313 | + 282 |
| <i>d</i> -Leucin | m/50 | m/100 | 170 | + 152 |
| <i>d</i> -Arginin | m/50 | m/100 | 17 | + 13 |
| <i>d</i> -Histidin | m/50 | m/100 | 34 | + 34 |
| <i>d</i> -Asparaginsäure | m/50 | m/100 | 143 | + 4 |

8. Abbau von *d*-Alanin durch Rohferment.

Wie im Reinferment lässt sich auch im Rohferment zeigen, dass der Abbau von *d*-Alanin durch Cyanion und Pyrophosphat gesteigert und durch Semicarbazid gehemmt wird. Die Unterschiede sind zwar bedeutend geringer, aber doch deutlich nachweisbar.

Tabelle 7.

Aktivierung des *d*-Alanin-Abbaues durch KCN im Rohferment.

A

Enzym: 10 g Nierentrockenpulver/40 cm³, Phosphatpuffer p_H = 8, 20 Minuten extrahiert.

Versuchsdauer: 10 Minuten.

| Enzym cm ³ | <i>d</i> -Alanin | KCN | mm ³ O ₂ -Ver- brauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Ver- brauch durch Aktivie- rung bedingt |
|--------------------------|------------------|--------|---|--|
| 1,5 | m/50 | | 285 | |
| 1,5 | m/50 | m/25 | 510 | + 225 |
| 1,5 | m/50 | m/50 | 465 | + 180 |
| 1,5 | m/50 | m/100 | 403 | + 118 |
| 1,5 | m/50 | m/1000 | 319 | + 34 |

B

Enzym: 5 g Nierentrockenpulver/20 cm³, 20 Minuten extrahiert.

Versuchsdauer: 1 Stunde.

| Enzym cm ³ | <i>d</i> -Alanin | KCN | mm ³ O ₂ -Ver- brauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Ver- brauch durch Aktivie- rung bedingt |
|--------------------------|------------------|--------|---|--|
| 0,05 | m/100 | | 0 | |
| 0,05 | m/100 | m/100 | 33 | + 33 |
| 0,05 | m/100 | m/1000 | 76 | + 76 |

Tabelle 8.

Aktivierung des *d*-Alanin-Abbaues durch Natriumpyrophosphat im Rohferment.

Enzym: 10 g Nierentrockenpulver/40 cm³, Phosphatpuffer p_H = 8, 20 Minuten extrahiert.

Versuchsdauer: 10 Minuten.

| Enzym cm ³ | <i>d</i> -Alanin | Na ₄ P ₂ O ₇ | mm ³ O ₂ -Ver- brauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Ver- brauch durch Aktivie- rung bedingt |
|--------------------------|------------------|---|---|--|
| 1,5 | m/50 | | 232 | |
| 1,5 | m/50 | m/18 | 326 | + 94 |
| 1,5 | m/50 | m/30 | 306 | + 74 |
| 1,5 | m/50 | m/60 | 280 | + 48 |
| 1,5 | m/50 | m/100 | 271 | + 39 |

Tabelle 9.

Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch Semicarbazid im Rohferment
 Enzym: 10 g Nierentrockenpulver/40 cm³, Phosphatpuffer p_H = 8, 20 Minuten extrahiert.
 Versuchsdauer: 10 Minuten.

| Enzym cm ³ | <i>d</i> -Alanin | Semi- carbazid | mm ³ O ₂ - Verbrauch abzüglich Leerwert | % Hemmung |
|--------------------------|------------------|-------------------|--|--------------|
| 0,5 | m/50 | | 156 | |
| 0,5 | m/50 | m/30 | 99 | - 37% |

9. Weitere Effektoren der *d*-Aminosäure-oxydase.

Die Versuche mit Effektoren der *d*-Aminosäure-oxydase wurden noch auf andere Substanzen ausgedehnt. Dabei zeigte sich, dass Natriumcarbonat und Natriumhydrogencarbonat sowie Natriumfluorid und Natriumacetat den Abbau von *d*-Alanin steigern können. Andererseits wirken Malonsäure und arsenige Säure als Hemmkörper des *d*-Alanin-Abbaues. Weiterhin hat sich gezeigt, dass Leicht- und Schwermetallionen in den üblichen Konzentrationen keinen Einfluss auf das Reinenzym ausüben.

Besprechung der Ergebnisse.

In der 6. Mitteilung haben wir aus der Tatsache der Aktivierbarkeit des Abbaues der *d*-Aminosäure-oxydase durch die verschiedenartigsten Proteine und Aminosäuren die Vorstellung der komplexen Natur der *d*-Aminosäure-oxydase entwickelt. Aus den vorliegenden Untersuchungen geht nun hervor, dass auch die Blausäure, also eine körperfremde Substanz, ganz analog auf die *d*-Aminosäure-oxydase einwirken kann. Andererseits ist bekannt, dass die Blausäure als Komplexbildner in sehr variabler Weise mit Enzymen in Beziehung treten kann. Es scheint uns deshalb die Annahme berechtigt, dass das System Reinenzym-Blausäure ein Modell der komplexen *d*-Aminosäure-oxydase darstellt.

Im weiteren erwies sich das Pyrophosphat als kräftiger Aktivator der *d*-Aminosäure-oxydase. Es scheint nicht ausgeschlossen, dass durch das Zusammenwirken des Pyrophosphats mit der *d*-Aminosäure-oxydase ein auch im Leben wirksamer Komplex auftreten kann. Dass dem Pyrophosphat grosse biologische Wirksamkeit zukommen kann, ist an zahlreichen Beispielen bekannt geworden. Wir erinnern an die Adenosin-di- u. tri-phosphate, an das Aneurinpyrophosphat usw. Bemerkenswerterweise hat sich gezeigt, dass sich Semicarbazid im Vergleich zu Blausäure vollständig gegensätzlich verhält, indem sich nachweisen liess, dass es als kräftiger Inhibitor der *d*-Aminosäure-oxydase wirken kann. Das gegensätzliche Verhalten dieser beiden Carbonylreagentien weist daraufhin, dass diese Substanzen offenbar auch noch in anderer Weise mit Enzymen in Beziehung treten können als durch Hauptvalenzbildung an eine Carbonylgruppe des Fermentes.

Krebs hat als wichtiges Kriterium zur Charakterisierung der *l*-Aminosäure-oxydase neben der Blausäure-Hemmung die hemmende Wirkung des Octylalkohols hervorgehoben. Wir möchten nochmals betonen, dass wir seine Untersuchungen an Ratten-Nierenpräparaten in vollem Umfang bestätigen konnten. Die Tatsachen jedoch, dass unter anderen experimentellen Bedingungen die *d*-Aminosäure-oxydase einerseits durch Octylalkohol kräftig gehemmt und andererseits durch Blausäure aktiviert wird, lassen es fraglich erscheinen, ob solche Kriterien zur Abgrenzung einzelner Enzym-Individuen geeignet sind.

Zusammenfassung.

1. Die gereinigte *d*-Aminosäure-oxydase lässt sich durch Blausäure und Pyrophosphat in eminenter Weise aktivieren.
2. Die Aktivierung erfolgt analog der Aktivierung durch Aminosäuren und Proteine.
3. Semicarbazid und Octylalkohol hemmen die gereinigte *d*-Aminosäure-oxydase.

Fräulein *Frieda Nebiker* sei für wertvolle Mithilfe bestens gedankt.

Diese Arbeit wurde dem einen (A. W.) von uns durch ein Stipendium von der *Stiftung für biologisch-medizinische Stipendien der Schweizerischen Akademie der medizinischen Wissenschaften* ermöglicht, für das er auch hier seinen herzlichsten Dank aussprechen möchte.

Basel, im Dezember 1945

Physiologisch-chemisches Institut der Universität.

23. Die Umsetzung des Caseins mit Formaldehyd.

VI. Über die Ursache des Versagens der Methode von *Highberger* und *Retzsch* zur quantitativen Bestimmung des Formaldehyds in gehärteten Caseinen

von Hs. Nitschmann und H. Lauener.

(21. XII. 45.)

Zu Beginn unserer Untersuchungen über die Umsetzung des Caseins mit Formaldehyd bemühten wir uns um die Ausarbeitung einer Methode zur quantitativen Bestimmung des vom Protein gebundenen Formaldehyds¹⁾. Für formaldehydgegerbtes Kollagen lag eine sehr gute Analysenvorschrift von *Highberger* und *Retzsch*²⁾ vor, von deren Zuverlässigkeit wir uns durch eigene Testversuche über-

¹⁾ Helv. 24, 237 (1941) und 26, 1069 (1943).

²⁾ J. Am. Leather Chem. Assoc. 33, 341 (1938).

zeugten. Beim Casein und einigen anderen Proteinen wurden mit dieser Methode jedoch regelmässig zu tiefe Werte gefunden. Nach *Highberger* und *Retzsch* wird das gegerbte Protein mit 2-n. H_2SO_4 destilliert und der übergegangene Formaldehyd im Destillat titrimetrisch nach *Clausen*¹⁾ bestimmt. Es zeigte sich dann, dass der Formaldehyd auch beim Casein quantitativ abgespalten werden kann, wenn die Destillation bei viel geringerer H^+ -Ionenkonzentration, beispielsweise mit 0,1-m. H_3PO_4 vorgenommen wird. Eine blossе Destillation mit Wasserdampf bei neutraler Reaktion gestattet andererseits auch wieder keine vollständige Abspaltung des Formaldehyds. Der Grund für die Formaldehydverluste bei der Destillation in stark saurem Milieu konnte zunächst nicht festgestellt werden. Seine Kenntnis schien uns aber einigermassen wichtig, denn sie würde es erleichtern, bei andern Proteinsystemen die Gefahr von Fehlanalysen zu vermeiden. Wir haben deshalb diese Frage in der Zwischenzeit weiterverfolgt. Folgende drei Möglichkeiten für das Verbleiben des nicht erfassbaren Formaldehyds wurden in Betracht gezogen:

1. Hydrierung zu Methylalkohol.
2. Dehydrierung zu Ameisensäure.
3. Irreversible Bindung an das Protein oder gewisse Abbauprodukte desselben.

1. Die Bildung von Methylalkohol konnte ausgeschlossen werden, wie die nachfolgenden Versuche zeigen.

0,7 g Casein wurde mit 100 cm³ 2-n. H_2SO_4 und 20 cm³ Formaldehydlösung enthaltend 40,59 mg CH_2O bis auf einen Rückstand von 20 cm³ destilliert²⁾. Das Destillat wurde mit 1 g $NaHSO_3$ versetzt und 24 Stunden stehen gelassen (quantitative Bildung der Formaldehyd-Hydrogensulfitverbindung). Dann wurden von dieser Lösung 50 cm³ abdestilliert. In diesem Destillat befindet sich quantitativ allfällig vorhandener Methylalkohol³⁾, während der Aldehyd zurückgehalten wird. Die Bestimmung des Methylalkohols im zweiten Destillat geschah nach der Methode von *Wright*⁴⁾. Das Ergebnis dieser Versuche geht aus Tab. 1 hervor.

Es zeigt sich, dass bei der Destillation von 2-n. H_2SO_4 mit Casein und Formaldehyd im Destillat wohl etwas Methylalkohol nachgewiesen werden kann, jedoch nicht mehr als sich aus dem verwendeten Formalin auch in Abwesenheit von Casein herausholen lässt. Damit ist sichergestellt, dass bei der Destillation nach *Highberger* und *Retzsch* das Formaldehyddefizit nicht durch die Bildung von Methylalkohol verursacht wird.

2. Falls sich Ameisensäure gebildet haben sollte, so müsste dieselbe – wie Testversuche gezeigt haben – im Destillat leicht durch Titration mit Natronlauge und Phenolphthalein erfasst werden

¹⁾ J. Biol. Chem. 52, 263 (1922).

²⁾ Es war zuvor festgestellt worden, dass der Fehlbetrag an Formaldehyd genau derselbe ist, wenn man ihn vor der Destillation erst 24 Stunden auf das Casein einwirken lässt, wie wenn man Casein, Formaldehyd und H_2SO_4 zusammengiesst und sofort destilliert.

³⁾ Mit Testversuchen bei dosierten Alkoholzusätzen sichergestellt.

⁴⁾ C. 1927, II, 1494.

können. Wir haben diese Probe auf flüchtige Säuren gemacht, aber nicht mehr gefunden, als sich im Blindversuch ohne Casein in dem verwendeten Formalin nachweisen liess.

Tabelle 1.

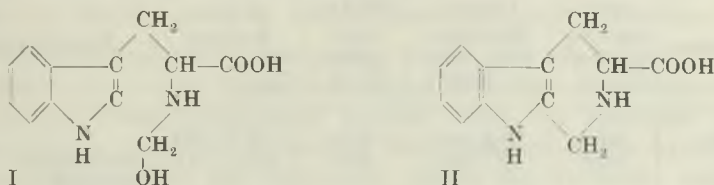
| | HCHO gefunden | HCHO- Verlust | Methyl- alkohol gefunden |
|---|------------------|------------------|--------------------------------|
| Versuch I. Dest. von Casein mit 100 cm ³ 2-n. H ₂ SO ₄ + 40,59 mg HCHO aus Handelsformalin | 36,28 mg | 4,31 mg | 0,41 mg |
| Blindversuch: 40,59 mg HCHO aus Handelsformalin dest. mit 2-n. H ₂ SO ₄ | 40,59 mg | — | 0,76 mg |
| Versuch II. Wie Versuch I, aber 40,98 mg HCHO als Hexamethylentetramin | 36,60 mg | 4,38 mg | 0,07 mg |
| Blindversuch: 40,98 mg HCHO als Hexamethylentetra- min dest. mit 2-n. H ₂ SO ₄ | 40,98 mg | — | 0,07 mg |

3. *Signer* und *Arber*¹⁾, welche für gewisse Zwecke Caseinhydrolysat mit Formaldehyd sterilisieren wollten, haben festgestellt, dass sich der Formaldehyd aus solchen Lösungen weder mit Wasserdampf, noch beim Kochen mit verdünnter Phosphor- oder Schwefelsäure quantitativ austreiben lässt. Das Formaldehydefizit wurde – asymptotisch einem Grenzwert zustrebend – um so grösser, je länger der Formaldehyd vor der Destillation auf das Aminosäuregemisch eingewirkt hatte. Bei Testversuchen mit reinem Glykokoll trat kein Verlust auf. *Signer* und *Arber* haben bei ihren Ansätzen mit Caseinhydrolysat auch nachgewiesen, dass aus dem fehlenden Formaldehyd keine Ameisensäure gebildet wird. Der Vergleich der Versuchsergebnisse von *Signer* und *Arber* mit unsern eigenen führte zu der Folgerung, dass nicht das Casein selber, sondern gewisse Hydrolyseprodukte desselben für die Formaldehydverluste verantwortlich sind.

Es ist zur Genüge bekannt, dass sämtliche α -Aminosäuren sehr leicht mit ihrer primären Aminogruppe Formaldehyd binden. Die dabei entstehenden Anlagerungs- oder Kondensationsprodukte können jedoch alle wieder gespalten werden. Durch Kochen der wässrigen Lösungen kann der Formaldehyd – besonders leicht bei saurem p_H – quantitativ ausgetrieben werden. Besondere Verhältnisse liegen nur beim Histidin und beim Tryptophan vor. Diese beiden Amino-

¹⁾ Diss. Ch. *Arber*, Bern 1944.

säuren, welche als gemeinsames Strukturelement einen stickstoffhaltigen Fünfring in β -Stellung zur Carboxylgruppe haben, kondensieren sich rascher mit Formaldehyd als die übrigen Aminosäuren¹⁾ und zudem ist die Bindung eine ganz andere; sie tritt auch in saurem Medium ein, was bei den anderen Aminosäuren nicht der Fall ist. Wie von verschiedenen Autoren²⁾ gezeigt worden ist, kondensiert sich Tryptophan mit 1 Mol Formaldehyd nach vorheriger Anlagerung an die NH_2 -Gruppe (I) unter Bildung eines neuen Ringes zur 2,3,4,5-Tetrahydro- β -carbolin-4-carbonsäure (II):



Beide Stoffe können krystallisiert erhalten werden. Der Ringschluss ist irreversibel; Verbindung II spaltet nicht einmal beim Kochen mit verdünnter Mineralsäure Formaldehyd ab (*Baudouy*³⁾). Wie *Gortner*⁴⁾ und *Holm*⁵⁾ gezeigt haben, beruht auch die bei der Säurehydrolyse von Proteinen meist beobachtete Bildung brauner Huminsubstanzen auf einer Kondensation von Tryptophan mit Aldehyden, die aus Kohlehydratresten stammen dürften. Für Histidin und Formaldehyd ist eine analoge Reaktion von *Wellisch*⁶⁾ beschrieben worden. Er erhielt den Ringschluss beim Kochen von Histidin, Formaldehyd-methylacetal und konz. Salzsäure am Rückflusskühler.

Wir haben selbst in einer kleinen Versuchsreihe untersucht, ob und in welchem Masse Tryptophan und Histidin bei der Destillation mit verdünnter Mineralsäure Formaldehyd zurückhalten.

Dazu wurde die reine Aminosäure (*F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G.*) mit 100 cm³ 2-n. H_2SO_4 und einer bekannten Menge Formaldehyd versetzt und diese Mischung sofort mit Wasserdampf destilliert. Der mit 400 cm³ Destillat übergegangene Formaldehyd wurde wie früher beschrieben⁷⁾ bestimmt.

Die Tab. 2 zeigt, dass besonders Tryptophan sehr beträchtliche Mengen Formaldehyd zurückhält. Bemerkenswert ist die Tatsache, dass mit der starken Schwefelsäure viel mehr Formaldehyd irrever-

¹⁾ *Holden und Freeman*, Austral. J. exp. Biol. med. Sc. **8**, 189 (1931).

²⁾ *Hahn, Bärwald, Schales und Werner*, A. **520**, 107 (1935); *Jacobs und Craig*, J. Biol. Chem. **113**, 759 (1936); *Wadsworth und Pangborn*, J. Biol. Chem. **116**, 423 (1936); *Harvey und Robson, Harvey, Miller und Robson*, Soc. **1941**, 152.

³⁾ *Baudouy*, C. **1943**, II, 2160.

⁴⁾ J. Biol. Chem. **26**, 199 (1916).

⁵⁾ Am. Soc. **39**, 2494 (1917).

⁶⁾ Bioch. Z. **49**, 182 (1913).

⁷⁾ Helv. **26**, 237 (1941).

sibel gebunden wird als mit der schwachen Phosphorsäure. Während im zweiten Falle ziemlich genau 1 Mol CH_2O pro Mol Tryptophan fixiert wird, bewirkt die Schwefelsäure die Aufnahme von fast 2 Molen. Dabei tritt auch Braunfärbung ein (Huminsubstanzen), was mit Phosphorsäure nicht der Fall ist. Über das Versagen der Methode von *Highberger* und *Retzsch* kann jetzt kein Zweifel mehr bestehen. Sehr stark saures Milieu ist aus zwei Gründen ungünstig.

Tabelle 2.

| Aminosäure | Aminosäure zugegeben in mg | Theoret. Bindungsverm. (1:1) für HCHO | HCHO zugegeben in mg | HCHO-Verluste | | Bemerkungen |
|------------|----------------------------|---------------------------------------|----------------------|---------------|------|--|
| | | | | mg | % | |
| Histidin | 181,6 | 24,0 mg | 97,5 | 2,4 | 2,3 | sehr langsam destilliert |
| | 179,4 | 23,7 mg | 47,7 | 2,0 | 4,2 | |
| Tryptophan | 72,9 | 10,7 mg | 47,7 | 18,0 | 37,7 | Lösg. wird b. Erwärmen gelb, dann braun |
| Tryptophan | 36,0 | 5,3 mg | 47,7 | 5,1 | 10,7 | mit 0,1-mol. H_3PO_4 destill., ohne Verfärbung |

Einmal wird das Protein zu rasch hydrolytisch abgebaut. Noch bevor der Formaldehyd quantitativ abgespalten und abgetrieben ist, können Tryptophan und Histidin in Freiheit gesetzt werden und sich dann mit Formaldehyd in der bekannten Weise kondensieren. Die Reaktion dürfte auch schon eintreten, wenn die α -Aminogruppe frei, die Carboxylgruppe aber noch gebunden ist. Dazu kommt nun noch, dass diese Kondensation selber durch eine hohe H^+ -Ionenkonzentration begünstigt wird. Solange das Tryptophan in der Proteinmolekel eingebaut ist, tritt – mindestens bei der Härtung in der Kälte – keine ringschliessende Kondensation mit dem Formaldehyd ein. Dies ist durch unsere vielen Testversuche bewiesen. Bei der Heissgerbung (70°), über die in einer nachfolgenden Mitteilung berichtet wird, scheint allerdings mit dieser Reaktion gerechnet werden zu müssen.

Es bleibt nur noch zu ermitteln, ob die Formaldehydverluste, nicht das Bindungsvermögen des im Casein enthaltenen Tryptophans übersteigen. In diesem Falle wäre noch nach weiteren Fehlerquellen zu suchen. Der Aminosäurebestand des Caseins ist von verschiedenen Autoren quantitativ untersucht worden. Die Werte gehen stark auseinander: Histidin 1,8–5,9%, Tryptophan 0,7–2,0%. Wenn man annimmt, dass die höchsten Werte die richtigeren sind, und dass Tryptophan 2 Mole CH_2O und Histidin $\frac{1}{10}$ Mol bindet (vgl. Tab. 2), so kommt man zum Grenzwert von 0,9 g CH_2O pro

100 g Casein in irreversibler Bindung. Die tatsächlich gefundenen Formaldehyddefizite bei der *Highberger*'schen Methode liegen bei kaltgegerbten Caseinen bei ca. 10% des gefundenen Wertes für CH_2O , betragen also 0,2–0,3 g pro 100 g Casein. Sogar bei extremen Bedingungen (240tägige Einwirkung von Formaldehyd auf Caseinhydrolysat) fanden *Signer* und *Arber*¹⁾ nicht mehr als 0,8 g CH_2O pro 100 g Casein irreversibel gebunden.

Kollagen und Gelatine enthalten überhaupt kein Tryptophan und nur sehr wenig Histidin²⁾. Dies ist der Grund, warum die Methode von *Highberger* und *Retzsch* hier sehr gute Resultate liefert.

Als praktische Schlussfolgerung ergibt sich, dass ganz allgemein bei Tryptophan- und Histidin-haltigen Proteinen die Formaldehydbestimmung umso ungenauer werden muss, je kräftiger gegerbt wurde und je schwerer die letzten Formaldehydanteile hydrolytisch abgespalten werden. Ein teilweiser Abbau des Proteins wird dann unvermeidlich, was zwangsläufig zu einem mehr oder weniger grossen Formaldehyddefizit führen muss.

Zusammenfassung.

Es wurde gezeigt, warum der Formaldehyd aus kalt gegeberbten Caseinen beim Destillieren mit verdünnten Säuren nur dann quantitativ abgespalten und bestimmt werden kann, wenn die H-Ionenkonzentration nicht zu gross ist. Die sonst (z. B. mit 2-n. H_2SO_4) auftretenden Formaldehyddefizite kommen dadurch zustande, dass gleichzeitig mit dem Formaldehyd Tryptophan und Histidin hydrolytisch aus dem Protein in Freiheit gesetzt werden. Beide Aminosäuren, besonders aber Tryptophan, reagieren auch mit verdünntem Formaldehyd in bekannter Weise unter Kondensation und Ringschluss. Diese Reaktion wird durch starke Säuren sehr beschleunigt und ist irreversibel.

Bern, Institut für allgemeine und spezielle
organische Chemie.

1) Diss. *Ch. Arber*, Bern 1944.

2) *Gerngross*, Chemie und Technologie der Leim- und Gelatinefabrikation.

24. Die Umsetzung des Caseins mit Formaldehyd.

VII. Über die Wirkung erhöhter Temperatur (70°) auf den Verlauf der Härtung

von Hs. Nitschmann und H. Lauener.

(21. XII. 45.)

Die Härtung des Caseins bei der Herstellung von Kunsthorn geschieht mit 5-proz. Formalinlösung bei Zimmertemperatur. Über die optimalen Temperaturbedingungen bei der Härtung von Caseinfasern ist aus der Literatur Genaueres nicht zu entnehmen. Man findet aber Hinweise darauf, dass in gewissen, Caseinfasern erzeugenden Werken zuerst bei 30° und dann noch bei 70° gehärtet wird bzw. wurde¹⁾. Es schien deshalb von Interesse, den Einfluss höherer Temperatur auf den Betrag der Formaldehydbindung zu ermitteln. Sodann sollte der Einfluss der Heissgerbung auf das Quellungsvermögen festgestellt werden, weil dasselbe ein gutes Mass für die Stärke des Gerbefektes darstellt. Dass derselbe keineswegs gleichmässig mit dem Formaldehydgehalt des Präparates ansteigt, ist in der IV. Mitteilung²⁾ gezeigt worden. Es ist kaum nötig, darauf hinzuweisen, wie wichtig die Quellfestigkeit bei Kunststoffen und Fasern für die mechanische Festigkeit in der Nässe ist.

Wir haben uns auch bei der Heissgerbung zuerst mit dem Problem der analytischen Bestimmung des gebundenen Formaldehyds beschäftigt. In unserer II. Mitteilung gaben wir eine Analysenvorschrift für bei 70° gehärtetes Casein an³⁾. Auf Grund der Beobachtung, dass heiss gegerbtes Casein am Ende der zweistufigen Destillation noch nicht gelöst ist und somit offenbar noch Gerbstoff, d. h. Formaldehyd, enthält, empfahlen wir eine weitere Destillation mit stärkerer Phosphorsäure. Tatsächlich gelingt es so, am Schlusse ein formaldehydfreies Destillat zu erhalten. Testversuche mit dosierten Formaldehydmengen sind damals nicht gemacht worden. Wir haben solche nachgeholt, nachdem wir die prinzipiellen Schwierigkeiten, die sich der Analyse stark gegerbter Präparate entgegenstellen, erkannt hatten (vgl. die vorangehende Mitteilung VI).

0,2 g Casein wurden in *Erlenmeyer*-Kolben mit Glasstopfen mit 5 cm³ 2-proz. Formaldehydlösung versetzt. Die Proben wurden während 24 Stunden in einen Thermostaten von 70° gebracht. Solche Ansätze wurden auf verschiedene Arten destilliert (2- bis 4-stufig, Phosphorsäure wechselnder Konzentration, variierte Dauer). Es bestätigte sich, dass man die besten Resultate erhält, wenn man möglichst lange mit verdünnter Phosphorsäure und erst zuletzt mit konz. Phosphorsäure destilliert. Die in der II. Mitteilung ge-

¹⁾ Franz, Riederle, Fleischmann und Winkler, J. pr. [2] 160, 133 (1942).

²⁾ Helv. 26, 1084 (1943).

³⁾ Helv. 26, 1069 (1943).

gebene Vorschrift ergab Resultate, die nicht viel zu wünschen übrig liessen¹⁾. Von 100,5 mg zugesetztem Formaldehyd wurden nur 0,2 bis 1,6% nicht übergetrieben. Das Defizit liess sich auf null herabsetzen, wenn bei der 1. und 2. Destillation noch mehr Wasser (je 200 cm³) zugesetzt wurde. Nun können allerdings Formaldehydverluste, die bei diesen Bestimmungen innerhalb der Fehlergrenze ($\pm 0,5\%$) liegen, von dem an das Casein gebundenen Formaldehyd einen recht beträchtlichen Anteil ausmachen. Dieses Bedenken gegen den Wert solcher Testversuche wurde früher²⁾ für die Kaltgerbung, nicht aber für die Heissgerbung widerlegt. Dazu kommt noch, dass bei diesen Versuchen die Formaldehydlösung ziemlich verdünnt (2-proz.) war, so dass die Gerbung trotz der Temperatur von 70° nicht sehr stark ausfiel.

Bei Präparaten, bei denen die Heissgerbung mit konzentriertem Formaldehyd durchgeführt worden war, mussten wir leider feststellen, dass eine quantitative Abspaltung des Formaldehyds in der Tat überhaupt nicht mehr möglich ist. Dies zeigte sich bei folgender Versuchsreihe, bei der mit Formaldehydgas gegerbt wurde.

In Wäggläsern wurde je 1—1,2 g Casein eingewogen und durch Trocknung im Hochvakuum der Trockengehalt genau bestimmt. Die Gerbung wurde in einem in einem Wasserthermostaten versenkten Konservenglas, dessen Deckel mit einem Glashahn versehen war, durchgeführt. Zur Entwicklung der Formaldehydatmosphäre diente wie früher eine Lösung von 26 g CaCl₂ in 100 cm³ 38-proz. Formalin. Vor dem Einsetzen in den Thermostaten wurde das Konservenglas evakuiert. Dadurch wurde neben der Dichtigkeit des Gefässes ein rascheres Diffundieren des Formaldehyds erreicht. Nach Abbruch der Gerbung, die über 24 und 5 mal 24 Stunden ausgedehnt wurde, wurden die Proben zur Abgabe des adsorbierten Formaldehyds unter Staubschutz offen aufbewahrt. Es dauerte 10 Wochen, bis die Proben nicht mehr nach Formaldehyd rochen. Nach erneuter Trocknung im Hochvakuum konnte die durch die Gerbung erzielte Gewichtszunahme bestimmt werden. Ausserdem wurde an den Proben eine Formaldehydbestimmung mit der eben erwähnten 3-stufigen Phosphorsäuredestillation durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 niedergelegt.

Tabelle 1.

| Gerbdauer in Stunden | Gewichtszunahme in %, Gegerbtes Cas. = 100% | HCHO-Gehalt gefunden in % | Fehlbetrag in % |
|----------------------|---|---------------------------|-----------------|
| 24 | 6,35 | 5,85 | 0,50% |
| 24 | 6,38 | 5,89 | 0,49% |
| 5 × 24 | 10,63 | 6,03 | 4,60% |
| 5 × 24 | 10,65 | 6,07 | 4,58% |

Die Zahlen zeigen, dass die Menge des abspaltbaren Formaldehyds umsomehr hinter der gravimetrisch bestimmten Gewichtszunahme, die das Präparat bei der Gerbung erlitten hat, zurückbleibt, je länger gegerbt wurde. Wenn der Formaldehyd quantitativ abspaltbar wäre, so müsste die Gewichtszunahme kleiner sein als der Analysenwert, da — wie wir früher gezeigt haben³⁾ — ein Teil

¹⁾ 1. Destillation nach Zusatz von 15 cm³ 1-m. H₃PO₄ + 150 cm³ H₂O, 2. Destillation nach Zusatz von 60 cm³ H₂O, 3. Destillation nach Zusatz von 15 cm³ konz. H₃PO₄ + 120 cm³ H₂O.

²⁾ Helv. **26**, 1069 (1943).

³⁾ Helv. **27**, 299 (1944).

des Formaldehyds stets unter Kondensation von Wasser gebunden wird. Die Versuche beweisen somit, dass es bei Präparaten, die eine sehr kräftige Heissgerbung erfahren haben, unmöglich ist, den gebundenen Formaldehyd quantitativ abzuspalten und analytisch zu erfassen. Die Formaldehyddefizite können sehr gross werden (bei 5-tägiger Gasgerbung bei 70° ca. 80% des Analysenwertes). Die Frage, wie der nicht abspaltbare Formaldehyd ans Protein gebunden ist, wurde nicht weiter verfolgt. Am wahrscheinlichsten ist es wohl, dass der Formaldehyd am Peptidstickstoff des Tryptophans und des Histidins angreift und unter Kondensation einen neuen 6-Ring schliesst, dessen Bildung für die freien Aminosäuren durch verschiedene Autoren absolut sichergestellt worden ist¹⁾. Dass die Bildung dieses 6-Ringes irreversibel ist, ist ebenfalls bekannt.

Man kann auch hier wieder das bei der Analyse auftretende Formaldehyddefizit, das bei 5-tägiger Heissgerbung mindestens 5 g CH₂O pro 100 g Casein beträgt, mit dem maximalen Bindungsvermögen der beiden Aminosäuren Tryptophan und Histidin vergleichen. Unter der Annahme, dass 100 g Casein 2 g Tryptophan und 5,9 g Histidin-anhydrid enthalten²⁾ und dass beide Aminosäuren je 1 Mol Formaldehyd binden, errechnet man 3,22 g CH₂O pro 100 g Casein in irreversibler Bindung. Nimmt man an, dass das Tryptophan 2 Mole Formaldehyd bindet, so erhöht sich dieser Wert doch nur auf 3,87 g. Es scheint also sicher, dass noch andere Reaktionen ausser der genannten mit Tryptophan und Histidin an der irreversiblen Fixierung des Formaldehyds schuld sind; welche, ist vorläufig unbekannt.

Tabelle 2.

| Präparat | CH ₂ O-Gehalt % | H ₂ O-gehalt in g/100 g feuchtes Casein bei | | Quellungsvol. in 0,1-n. NaOH, cm ² |
|-------------------|-------------------------------|---|----------------------------------|---|
| | | 82,6% rel. Luft- feuchtigkeit | 94,4% rel. Luft- feuchtigkeit | |
| Casein C | 0 | 18,58 | 24,32 | gelöst |
| C, 28 Tage 18° | 3,75 | 17,85 | 22,68 | 1,7 |
| C, 1 Tag 70° | > 6,4 | 17,83 | 22,40 | 1,9 |
| C, 5 Tage 70° | >10,6 | 17,75 | 22,38 | 2,1 |

Die Erwartung, dass die heissgegerbten Caseinpräparate mit ihren ausserordentlich hohen Formaldehydgehalten durch eine besonders geringe Quellfähigkeit ausgezeichnet sein würden, fand keine Bestätigung. Die Wasserbindung in feuchter Atmosphäre war fast

¹⁾ Diesbezüglich siehe die vorhergehende Mitteilung VI.

²⁾ Die beiden Werte sind die höchsten, welche in der Literatur gefunden wurden.

genau dieselbe wie bei kaltgegerbten Präparaten, während das Quellungsvolumen in 0,1-n. NaOH bei den heissgegerbten Präparaten sogar etwas grösser war¹).

Mit diesen Ergebnissen steht in Einklang, dass wir die Nassreissfestigkeit von Caseinfasern durch eine Nachhärtung bei 70° nicht zu verbessern vermochten; es trat im Gegenteil eine Verschlechterung ein.

Die verwendeten Caseinfasern waren bei gewöhnlicher Temperatur mit Formalin vorgegerbt worden. Sie wurden für verschiedene Zeiten einer zusätzlichen Formaldehydgasgerbung bei 70° unterworfen. Nachstehend die resultierenden Nassreissfestigkeiten in willkürlichen Verhältniszahlen.

| Gerbdauer in Tagen | Nassreissfestig- keiten |
|-----------------------|----------------------------|
| 0 | 14,7 |
| 1 | 9,1 |
| 2 | 7,6 |
| 3 | 7,2 |
| 4 | 6,2 |

Dieser enorme Abfall der Nassreissfestigkeit ist erstaunlich und schwer zu deuten. Man wird den Grund in irgendeiner Auflockerung der micellaren Struktur der Caseinfaser zu suchen haben.

Zum Schluss sei noch eine Versuchsreihe wiedergegeben, in der die Verminderung der Quellbarkeit von Desaminocasein²) bei der Heissgerbung ermittelt wurde.

| | CH ₂ O-gehalt in % | Quellungsvol. in 0,1-n. NaOH cm ² |
|--------------------------|----------------------------------|--|
| Desaminocasein | 0 | 8,3 |
| „ 28 Tage Gasgerb., 18° | 3,3 | 4,3 |
| „ 1 Tag Gasgerb., 70° . | ca. 5,4 ³) | 2,7 |
| „ 5 Tage Gasgerb., 70° . | ca. 8,3 ³) | 2,4 |

Die enorme Quellung des Desaminocaseins, welche fast einer Lösung gleichkommt, wird durch die 28tägige Gasgerbung beträchtlich herabgesetzt. Dieser Abfall dürfte dadurch begründet sein,

¹) Diese Messungen wurden in der gleichen Weise ausgeführt, wie in Helv. 26, 1085 und 1088 (1943) beschrieben. Die Quellungsvolumina wurden nach 24 Stunden an 0,25 g Casein bestimmt.

²) Herstellung siehe Helv. 27, 201 (1944).

³) Auch hier muss die Gewichtszunahme als ungefähres Mass für den Formaldehyd-gehalt dienen.

dass das Desaminocasein immer noch geringe Reste von freien Aminogruppen enthielt. Bemerkenswerter noch ist der zusätzliche Gerbeffekt (Verminderung der Quellung von 4,3 auf 2,4), der hier in der Hitze erreicht wird. Für diesen Effekt gibt es kaum eine andere Erklärung, als dass die alkoholischen OH-Gruppen, welche bei der Desaminierung eingeführt worden sind, in der Hitze zu einer Brückenbindung mit dem Formaldehyd befähigt sind. Das Quellungsvolumen bleibt allerdings noch wesentlich über demjenigen eines kaltgegerbten Normalcaseins.

Zusammenfassung.

Es wurde das Formaldehydbindungsvermögen des Caseins bei 70° verfolgt. In 5 Tagen übersteigt dasselbe 10%. Als ungefähres Mass musste die Gewichtszunahme des Caseins bei der Gerbung dienen, denn es erwies sich bei den heissgegerbten Präparaten als unmöglich, den gebundenen Formaldehyd quantitativ abzuspalten und zu bestimmen. Ein Teil bleibt irreversibel an das Casein fixiert. Der in der Hitze zusätzlich aufgenommene Formaldehyd bewirkt, verglichen mit der Kaltgerbung, keinen erhöhten Gerbeffekt, gemessen durch die Quellungsverminderung bei Caseinpulver und durch die Nassreissfestigkeit bei Caseinfasern.

Bern, Institut für allgemeine und spezielle organische Chemie.

25. Die Umsetzung des Caseins mit Formaldehyd.

VIII. Versuche mit Acetylcasein

von Hs. Nitschmann und H. Lauener.

(21. XII. 45.)

In der V. Mitteilung¹⁾ haben wir auf die Bedeutung der freien NH₂-Gruppen für die Formaldehydhärtung hingewiesen. Es wurde dort neues Beweismaterial für die auch von anderen Autoren vertretene Ansicht beigebracht, dass die freien Aminogruppen unbedingt erforderlich sind, wenn der Formaldehyd eine eigentliche Gerbwirkung (Aufhebung der Löslichkeit in Alkalien, starke Verminderung der Quellfähigkeit) ausüben soll. Casein wurde durch Behandeln mit salpetriger Säure desaminiert. An diesem Desaminocasein wurde gezeigt, dass es bei der Formaldehydgerbung in der Kälte für jede entfernte Aminogruppe 1 Mol CH₂O weniger bindet. Zudem bindet es nur unter Anlagerung, während gewöhnliches

¹⁾ Helv. 27, 299 (1944).

Casein an seine NH_2 -Gruppen den Formaldehyd unter Kondensation bindet. Auf Grund dieser Versuche kamen wir zu der Auffassung, dass der Formaldehyd Methylenbrücken zwischen den freien NH_2 -Gruppen und den Peptidiminogruppen bildet. Das Desaminieren zwecks Ausschaltung der freien Aminogruppen hat den Nachteil, dass salpetrige Säure sicher auch noch anderweitig mit dem Protein reagiert. Bekannt ist z. B., dass der Phenolkern des Tyrosins nitrosiert wird; diese Reaktion ist für die braune Färbung des Desamino-caseins verantwortlich. Bei der Desaminierung treten an Stelle der NH_2 -Gruppen OH-Gruppen, über deren Reaktionsfähigkeit mit Formaldehyd Genaues nicht bekannt ist. Eine andere Möglichkeit zur Blockierung der Aminogruppen hat man in der Acetylierung. Bei dieser Reaktion werden Peptidiminogruppen gebildet, wie sie ja bereits in grosser Zahl im Protein enthalten sind. Ausserdem ist damit zu rechnen, dass alkoholische und phenolische OH-Gruppen verestert werden. Ein Vergleich der Formaldehydbindefähigkeit und der Gerbbarkeit des Acetylcaseins mit der von gewöhnlichem Casein verspricht deshalb ebenfalls gewisse Einblicke in den Chemismus des Gerbprozesses. Wir berichten über einige solche Versuche, welche vor allem erneut die entscheidende Rolle der primären Aminogruppe für die Gerbung beweisen.

1. Die Darstellung der Acetylcaseine.

Zur Acetylierung des Caseins bedienten wir uns der eleganten Methode der Umsetzung mit Keten. Wir arbeiteten dabei nach den Angaben von *Schöberl* und *Krumey*¹⁾, indem wir Keten in eine Caseinlösung von mässig alkalischem p_H einleiteten. Das acetylierte Casein wurde durch Fällen mit Säure isoliert.

Die Darstellung des Ketens geschah durch pyrolytische Zersetzung von Acetondampf in einer „Ketenlampe“, die im wesentlichen derjenigen von *E. Ott*²⁾ nachgebildet war.

Die Glühlampe, von der nur die Drähte mit dem Gestell auswechselbar in die Apparatur eingesetzt wurden, bezogen wir von der *Glühlampenfabrik Aarau A.G.* Wir verwendeten Lampen zu 125 Volt/40 Watt ohne Sockel und nicht evakuiert mit geradem Glühdraht³⁾. Lampen, deren Glühdraht eine enge Spirale ist, sind nicht geeignet, weil sich diese bald mit dichtem, leitendem Kohlenstoff anfüllt. Zum Einsetzen in die Schliffapparatur wird der Glaskolben der Lampe zertrümmert und das Glas vorsichtig bis zum Quetschfuss, wo die Zuführungsdrähte eingeschmolzen sind, abgetragen. Die Zuführungsdrähte, deren einer mit einem dünnen Glasröhrchen isoliert wird, und das Evakuierungsröhrchen mit dem ganzen Glühdrahtgestell werden nun in das Glasrohr des Schliffstopfens eingeführt. An dessen oberen Ende werden die Drähte mit einem Zäpfchen eingeklemmt und damit das ganze Glühdrahtgestell fixiert. Beim Inbetriebsetzen der Lampe wird zuerst das Aceton im Kolben zum Sieden gebracht. Wenn alle Luft verdrängt ist, wird die Lampe mit 220 Volt unter Vorschaltung eines Schiebewiderstandes von max. 4–500 Ohm zum Glühen gebracht. Bei mittlerer Rotglut liefert sie etwa 0,6 g Keten pro

¹⁾ Beih. Z. Ver. dtsh. Chem. **45**, 43 (1942); Zellw., Kunstseide, Seide **46**, 445 (1941).

²⁾ J. pr. [2] **130**, 177 (1931).

³⁾ Für 125 V.-Lampen war die Netzspannung von 220 V. gerade gross genug, um die Drähte auch im Acetondampf zum Glühen zu bringen.

Stunde. Es empfiehlt sich, das Ketengas nach dem Verlassen des Kühlers noch durch ein mit Glaswolle gefülltes und aussen mit Eiswasser gekühltes U-Rohr zu schicken, um Acetonreste und gelbe, teerige Verunreinigungen zurückzuhalten.

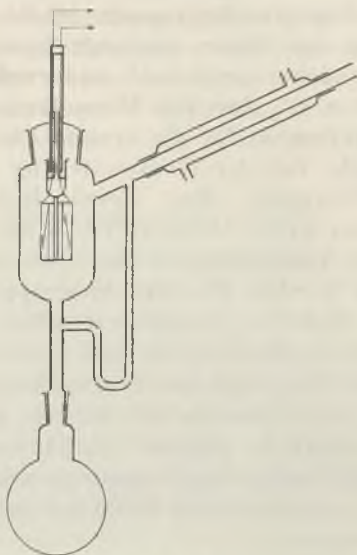


Fig. 1.

Apparat zur Ketenerzeugung. Maßstab 1:6.

Wir acetylierten jeweils 250 cm³ einer 10-proz. Natriumcaseinatlösung vom p_H 7,8. Das Keten wurde unter kräftigem Rühren durch ein Glasrohr mit Spitze eingeleitet. Das lästige Schäumen kann durch Zusatz von Amylalkohol bekämpft werden. Durch langsames Zutropfenlassen von verdünnter NaOH bei ständiger Kontrolle wird das p_H konstant gehalten. Es wurde 2, 6, 22 und 40 Stunden lang Keten eingeleitet. Die Isolierung des acetylierten Caseins bereitete einige Schwierigkeiten. Der isoelektrische Punkt sinkt durch die Acetylierung stark ab. Das 6 Stunden ketenisierte Präparat musste zur Fällung bis p_H 3,8 angesäuert werden. Das Acetylcasein ist schleimig und kaum filtrierbar. Es wurde durch Zentrifugieren und Dekantieren bis zur Freiheit von Cl⁻-Ionen gewaschen. Zuletzt wurde das Wasser durch Alkohol und Äther, oder — bei den stärkst acetylierten Präparaten, die ziemliche Alkohollöslichkeit zeigten — mit Aceton verdrängt. Trocknen im Exsikkator gibt ein leicht zerreibbares Produkt. Die Ausbeute an acetyliertem Casein betrug nur 80% des eingesetzten Caseins. Gewisse Anteile werden durch die Acetylierung löslich und gehen deshalb bei der Aufarbeitung verloren¹⁾.

2. Das Formaldehydbindungsvermögen von acetylierten Caseinen.

In Tab. 1 ist für unsre Acetylcaseine der nach *van Slyke* bestimmbare Gehalt an freien Aminogruppen sowie der bei 30-tägiger Gasgerbung erzielte Formaldehydgehalt eingetragen.

¹⁾ In einem Falle wurden $\frac{3}{5}$ des fehlenden Caseins in der Mutterlauge der ersten Fällung und $\frac{2}{5}$ in der alkoholischen Waschflüssigkeit nachgewiesen. Die Ketenisierungsdauer hatte bei diesem Präparat 6 Stunden betragen.

Gasgerbung im Exsikkator neben einer Lösung von 26 g CaCl_2 in 100 cm^3 38-proz. Formalin; Zimmertemperatur. Lüften der Präparate durch Ausbreiten an der Luft während 14 Tagen.

Es zeigt sich, dass bereits nach 6 Stunden praktisch alle NH_2 -Gruppen acetyliert sind. Vergleicht man die Zahlen in der 4. Kolonne, so ergibt sich folgendes: 1. Das Formaldehydbindungsvermögen hat durch die Acetylierung sämtlicher NH_2 -Gruppen überraschend wenig abgenommen, nämlich nur um ca. 0,03 Mmol pro g, während im Casein 0,63 Mmol/g NH_2 -Gruppen enthalten sind. Daraus muss geschlossen werden, dass auch die acetylierte Aminogruppe Formaldehyd bindet. 2. Acetyliert man länger als nötig ist, um alle NH_2 -Gruppen umzusetzen, so erfährt das Formaldehydbindungsvermögen eine weitere Verminderung. Der Grund liegt darin, dass auch OH-Gruppen acetyliert werden. Im freien Zustand sind sie zur Bindung von Formaldehyd befähigt, acetyliert natürlich nicht mehr¹⁾. Wir haben schon früher²⁾ aus Versuchen mit Desaminocasein geschlossen, dass die OH-Gruppen unter den angewandten Bedingungen Formaldehyd binden. Die neuen Versuche bestätigen dies.

Tabelle 1.

| Präp. | Dauer der Kettenbehandlung in Stunden | Van Slyke-NH ₂ vor der Gerbung Mmol/g | CH ₂ O-Gehalt | |
|--------|---------------------------------------|--|--------------------------|-----------|
| | | | in % | in Mmol/g |
| Casein | 0 | 0,634 | 2,68 | 0,88 |
| AC 1 | 2 | 0,188 | — | — |
| AC 2 | 6 | 0,032 | 2,55 | 0,85 |
| AC 3 | 22 | nicht nachweisbar | 2,51 | 0,84 |
| AC 4 | 40 | „ | 2,21 | 0,75 |

Wir untersuchten nun weiter, ob bei der Formaldehydbindung des Acetylcaseins Wasser kondensiert wird oder nicht. Wir hatten früher gezeigt, dass dies beim nativen Casein der Fall ist, beim desaminierten aber nicht.

Die Arbeitsweise war die gleiche wie früher: 28 Tage Gasgerbung der genau gewogenen Proben, 14 Tage Lüften, Bestimmung der Gewichtszunahme und des Formaldehydgehaltes³⁾. Aus der Differenz der beiden Werte lässt sich die kondensierte Wasser-

¹⁾ Schöberl und Krumej (loc. cit.) erzielten beim Ketenisieren von Casein einen maximalen Acetylgehalt von 4,7%. Die Van Slyke-Aminogruppen könnten allein nur 2,7% binden. Die phenolischen OH-Gruppen des Tyrosins reagieren viel langsamer als die NH_2 -Gruppen, wie Stern und White am Insulin (J. Biol. Chem. **122**, 371 (1938)) und Sandor und Goldie (C. **1939**, I, 1186) am Pferdeserum gezeigt haben.

²⁾ Helv. **27**, 302 (1944).

³⁾ Vgl. Helv. **26**, 1070 (1943). Bei der Destillation der gegerbten Acetylcaseine mit Phosphorsäure zeigte sich, dass sie nicht in Lösung gingen. Deshalb wurde auch der Formaldehyd langsamer abgespalten, und es musste dreimal statt nur zweimal destilliert werden.

menge und damit die Menge des als Methylol- und als Methylengruppe gebundenen Formaldehyds berechnen.

Tabelle 2.

| | Casein | | Acetylcasein AC 2 | |
|---|--------|--------|-------------------|--------|
| | 1. | 2. | 1. | 2. |
| Gewicht vor der Gerbung in mg | 290,33 | 335,78 | 449,18 | 294,58 |
| Gewicht nach der Gerbung in mg | 299,20 | 345,70 | 464,92 | 304,94 |
| Gewichtszunahme (a) in % | 2,96 | 2,87 | 3,38 | 3,39 |
| Analyse: CH ₂ O (b) in % | 3,77 | 3,75 | 3,37 | 3,36 |
| Differenz: b—a | 0,81 | 0,88 | -0,01 | -0,03 |
| CH ₂ O angelagert in % | 2,42 | 2,28 | 3,38 | 3,39 |
| CH ₂ O kondensiert in % | 1,35 | 1,47 | 0 | 0 |
| CH ₂ O kondensiert in Mmol/g . . . | 0,45 | 0,49 | 0 | 0 |

Tab. 2 zeigt, dass in Bestätigung der früheren Versuche beim nativen Casein ein Teil des Formaldehyds unter Kondensation gebunden wird, unter den hier angewandten Bedingungen ca. 0,47 Mmol/g. Bei der Reaktion mit Acetylcasein hat keine Kondensation stattgefunden, trotzdem dasselbe ebenfalls beträchtlich Formaldehyd gebunden hat¹⁾. Wenn das Acetylieren der freien Aminogruppen die Kondensation bei der Formaldehydhärtung (mindestens in der Kälte) verhindert, so muss es damit auch die Bildung von Hauptvalenzbrücken zwischen den Proteinmolekeln verunmöglichen. Da nur die Bildung solcher Brücken eine eigentliche Gerbwirkung mit sich bringt, ist eine solche bei der Einwirkung von Formaldehyd auf Acetylcasein nicht zu erwarten. Die Tatsachen bestätigen diese Erwartung.

3. Das Quellungsvermögen von Formaldehyd-Acetylcasein.

Wir haben bei zwei verschiedenen hohen Luftfeuchtigkeitsgraden die Wasseraufnahme vor und nach der Gerbung, sowie das Quellvolumen in 0,1-n. NaOH an 0,25 g der pulverförmigen Präparate bestimmt²⁾.

¹⁾ Die Differenz des Formaldehydgehaltes des gewöhnlichen und des Acetylcaseins ist hier grösser als beim Gerbversuch der Tab. 1.

Wir deuten dies folgendermassen: Die grössere Differenz kommt durch die Formaldehydbindung der freien OH-Gruppen zustande, die im Präparat AC 2 zum Teil blockiert sind. Bei längerem oder intensiverem Lüften wird die halbacetalische Bindung mehr und mehr gespalten, und dadurch gleichen sich die Formaldehydgehalte der beiden Präparate wieder an. In der Tat war beim früheren Versuch die Lüftung viel wirksamer, weil das Casein damals in dünner Schicht ausgebreitet wurde und nicht in den Wägegläsern blieb, wie hier.

²⁾ Diese Messungen wurden in gleicher Weise wie in Helv. 26, 1085 (1943) beschrieben ausgeführt.

Tabelle 3.

| Präparat | CH ₂ O-Gehalt in % | H ₂ O-Gehalt in g/100 g feuchtes Casein bei | | Quellungsvol. in 0,1-n. NaOH nach 24 Std. cm ² |
|---|----------------------------------|---|-------|---|
| | | 82,6% relat. Luftfeuchtigkeit | 94,4% | |
| AC 2 (Acetylcasin) . . . | 0 | 15,5 | 20,83 | löslich |
| AC 2, 28 Tage Gasgerbung bei 18° | 3,36 | 15,45 | 20,70 | 7,0 |
| AC 2, 1 Tag Gasgerbung bei 70° | ca. 6 ¹⁾ | 15,45 | 20,55 | 2,8 |
| AC 2, 5 Tage Gasgerbung bei 70° | ca. 10 ¹⁾ | — | 20,58 | 2,3 |
| C (Casein) | 0 | 18,58 | 24,32 | löslich |
| C, 28 Tage Gasgerbung bei 18° | 3,75 | 17,58 | 22,68 | 1,7 |

Aus der Tab. 3, in der zum Vergleich noch zwei Werte für gewöhnliches Casein aufgeführt sind, ergibt sich:

1. Durch das Acetylieren wird das Wasserbindungsvermögen des Caseins sehr beträchtlich herabgesetzt, weil das Hydratationsbestreben der NH₂- und der OH-Gruppen durch die Umsetzung vermindert wird.

2. Das Wasserbindungsvermögen des Acetylcasins wird durch nachhaltige Formaldehydgerbung (sogar bei 70°) so gut wie gar nicht herabgesetzt, im Gegensatz zu den Verhältnissen beim gewöhnlichen Casein.

3. Quellung in 0,1-n. NaOH: 28 Tage Gasgerbung bei 18° nimmt dem Präparat AC 2 gerade die Löslichkeit, jedoch ist das Quellungsvolumen ausserordentlich gross. In diesem Präparat waren nach 6-stündiger Ketenisierung ca. 95% aller NH₂-Gruppen acetyliert. Wir untersuchten noch die 22 und 40 Stunden ketenisierten Caseine AC 3 und AC 4 und fanden, dass dieselben nach 28 Tagen Gasgerbung bei 18° in 0,1-n. NaOH löslich blieben. Es ergibt sich somit, dass bei quantitativer Acetylierung der NH₂-Gruppen Formaldehyd in der Kälte keine Brückenbindungen mehr eingehen kann. Bei der Heissgerbung scheinen die Verhältnisse allerdings anders zu sein, denn hier wird das Quellungsvermögen in verdünnter Natronlauge sehr stark herabgesetzt; allerdings bleibt es noch beträchtlich über dem des gewöhnlichen, kaltgegerbten Caseins. Man muss daraus wohl schliessen, dass bei 70° auch ohne NH₂-Gruppen noch einzelne Brücken gebildet werden können.

Zusammenfassung.

Es wurden verschieden stark acetylierte Caseine durch Einleiten von Keten in Natriumcaseinatlösung hergestellt. Aus dem

¹⁾ Gewichtszunahme bei der Gerbung.

wenig verminderten Formaldehydbindungsvermögen der acetylierten Caseine muss geschlossen werden, dass auch die acetylierte NH_2 -Gruppe noch Formaldehyd zu binden vermag (28 Tage Gasgerbung bei 18°). Bei dieser Reaktion wird kein Wasser kondensiert. Dagegen konnte erneut nachgewiesen werden, dass die freien Aminogruppen im gewöhnlichen Casein den Formaldehyd unter Kondensation binden. Die Gerbung in der Kälte bewirkt somit beim Acetylcasein auch keine eigentliche Gerbung: Stark acetylierte und dann formalisierte Caseine bleiben wegen der fehlenden Brückenbindungen in verdünnter Natronlauge löslich. Die Heissgerbung (70°) bringt diese Löslichkeit allerdings zum Verschwinden, jedoch bleibt das Quellungsvermögen eines solchen Präparates weit über dem des gewöhnlichen Caseins, das bei 18° gegerbt worden ist. Die Versuche bestätigen erneut die entscheidende Bedeutung der freien NH_2 -Gruppen für die Formaldehydgerbung.

Bern, Institut für allgemeine und spezielle
organische Chemie.

26. Polarographische Untersuchungen an organischen Verbindungen¹⁾

von R. Pasternak und H. v. Halban.

(22. XII. 45.)

Die Absicht, polarographische Untersuchungen an organischen Verbindungen anzustellen, ging aus dem Wunsch hervor, vielleicht auf diesem Wege etwas über die Konstitution der Verbindungen zu erfahren, die bei den Arbeiten über die Photochemie des Tetrabenzoyl-äthylens gefunden wurden²⁾. Es erwies sich aber bald als lohnend und erwünscht, den Rahmen etwas weiter zu spannen, da die Anwendung der Polarographie auf organische Verbindungen noch keineswegs so ausgebaut ist, wie das heute bei einigen andern physikalischen Methoden der Fall ist.

Die quantitative Deutung der polarographischen Erscheinungen ist erst für reversible Elektrodenvorgänge durchgeführt worden, von J. Heyrovský³⁾, dem Schöpfer der Methode, für anorganische, von O. H. Mueller⁴⁾ für organische Systeme. Eine Darstellung der Theorie würde den Rahmen dieser Zusammenfassung überschreiten. Es sei für sie, sowie für die Aufnahmetechnik, auf die Originalliteratur und auf die kurze Darstellung in der Dissertation verwiesen.

¹⁾ Kurzer Auszug aus einem Teil der Diss. von R. Pasternak, Zürich 1946.

²⁾ Vgl. Keller, H. und v. Halban, H., Über die Photochemie des Tetrabenzoyl-äthylens V, Helv. **28**, 542 (1945), und die dort angeführten früheren Mitteilungen.

³⁾ Heyrovský, J. Polarographie, Springer 1941, s. auch Kolthoff, J. M. und Lingane, J. J., Chem. Rev. **24**, 1—94 (1939); v. Stackelberg, M., Z. El. Ch. **45**, 466—491 (1939).

⁴⁾ Mueller, O. H., Chem. Rev. **24**, 95—124 (1939) und Am. Soc. **62**, 2434 (1940).

Vor allem steht die theoretische Behandlung des polarographischen Verhaltens organischer Verbindungen noch ganz in den Anfängen. Dies hat seinen Grund hauptsächlich darin, dass der Reduktionsmechanismus der meist irreversiblen Vorgänge noch gar nicht bekannt ist. Da im allgemeinen bei diesen Reduktionen die Versuchsbedingungen, wie Temperatur, Zusatzelektrolyt, p_H , Lösungsmittel einen wesentlichen Einfluss auf die Stufen ausüben, können nur durch systematische Serienuntersuchungen wesentliche Fortschritte erzielt werden. Die Notwendigkeit einer solchen Arbeitsweise ist bis jetzt zu wenig beachtet worden, so dass aus dem ziemlich grossen Tatsachenmaterial, so interessante Einzelbeobachtungen es auch enthalten mag, nur wenige prinzipielle Zusammenhänge zu entnehmen sind¹⁾.

Es besteht kein Zweifel daran, dass für die Stufen der meisten organischen Verbindungen, im Gegensatz zu den reversiblen Prozessen, keine einfache Stufengleichung gilt. Doch ist auch bei ihnen, wie bei letzteren, das Halbstufenpotential fast immer unabhängig von der Konzentration und eignet sich deshalb wie bei diesen reversiblen Prozessen zur Charakterisierung der Stufen.

Von *Ilkovič*²⁾ wurde für reversible Vorgänge eine Beziehung zwischen Stufenhöhe und Konzentration abgeleitet:

$$i_d = k \cdot n \cdot D^{1/2} \cdot c$$

i = Diffusionsstrom (Stufenhöhe), k = Konstante (welche alle von der Substanz unabhängigen Grössen umfasst, wie F und die Kapillarenkonstanten), n = Elektronenverbrauch pro Molekel, D = Diffusionskoeffizient der Substanz, c = ihre Konzentration.

In bezug auf diese Diffusionsgleichung von *Ilkovič* ist zu erwarten, dass sie auch für die irreversiblen Prozesse zum mindesten ungefähre Gültigkeit besitzt, trotzdem dies noch nicht experimentell überprüft worden ist. Sicherlich besteht aber mit wenigen Ausnahmen immer Proportionalität zwischen Stufenhöhe und Konzentration. Den quantitativen Zusammenhang zwischen Stufenhöhe und Viskosität versuchten wir noch folgendermassen zu erfassen:

Nach der Gleichung von *Ilkovič* müsste Proportionalität zwischen der Stufenhöhe und der Wurzel aus dem Diffusionskoeffizienten bestehen. Dieser wiederum ist nach *Stokes-Einstein* umgekehrt proportional zur Viskosität der Lösung. Der Diffusionsstrom sollte daher auch umgekehrt proportional zur Wurzel aus der Viskosität sein, einer experimentell leicht messbaren Grösse.

Wir bestimmten deshalb die Diffusionsströme von Acetophenon und von Benzophenon in Äthanol-Wasser-Gemischen wechselnder Zusammensetzung, aber unter sonst gleichen Bedingungen (0,002-m. Lösungen und 0,1-n. $(CH_3)_4NCl$ als Zusatzelektrolyt. $t = 25^\circ C$) und die Viskosität der Lösungen. Wirklich durchläuft die Stufenhöhe ein

¹⁾ s. die Zusammenstellung der wichtigsten Arbeiten in der Diss.

²⁾ *Ilkovič, F. G.*, Collect. Trav. chim. Tchecosl. **6**, 498 (1934).

Minimum ziemlich genau bei der Zusammensetzung der Lösung, bei der ihre Viskosität ein Maximum aufweist, doch zeigen die Zahlenwerte systematische, wenn auch nicht allzu grosse Abweichungen in bezug auf den theoretischen Wert (s. Fig. 1). Entweder ist also die *Stokes-Einstein'sche* Formel, oder die Gleichung von *Ilkovič*, wenigstens für die beiden Substanzen, in verschiedenen Lösungsmitteln nicht streng erfüllt¹⁾.

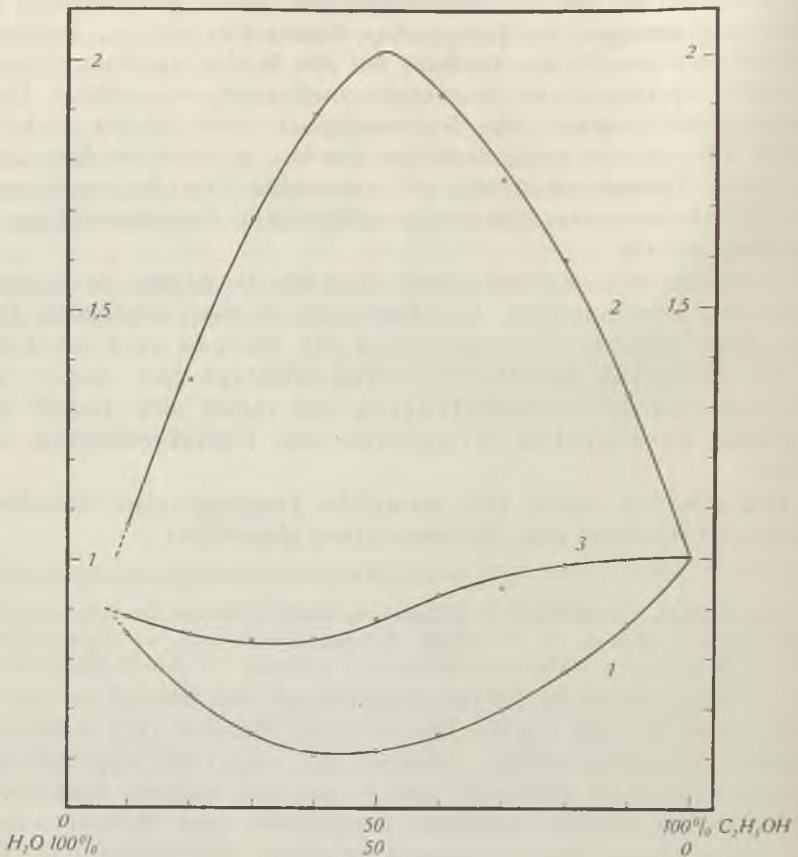


Fig. 1.

Stufenhöhe und Viskosität.

- 1 = Stufenhöhe i , bezogen auf Äthanol = 1.
 2 = Viskosität η , bezogen auf Äthanol = 1.
 3 = $i \cdot \eta$.

Auch das Halbstufenpotential hängt von der Zusammensetzung des Lösungsmittels merklich ab. Bei unseren zwei Beispielen verschiebt es sich ungefähr proportional zum Alkoholgehalt, um ca. 0,01 V pro 5% Alkohol, zu negativeren Werten. Ein Vergleich der

¹⁾ Die Stufenhöhe i_d hängt auch etwas von der Tropfzeit ab ($i_d \sim t^{1/2}$). Da sich diese aber um höchstens 10% änderte, liegt der Fehler bei ihrer Vernachlässigung innerhalb der Messgenauigkeit.

Literaturangaben erweckt den Eindruck, dass eine Verschiebung der Stufen organischer Verbindungen zu negativeren Potentialen eine allgemeine Erscheinung ist¹⁾. Es ist zu vermuten, dass sie mit einer Abnahme der H-Ionenkonzentration bei Alkoholzusätzen zusammenhängt.

Im Gegensatz dazu verschiebt sich die Stufe des Li²⁾ und des Na zu positiveren Werten.

Bei organischen Reduktionen spielt überhaupt das p_H eine grosse Rolle. Wie bei allen Untersuchungen bisher festgestellt werden konnte, findet beim Übergang vom neutralen zum sauren Gebiet eine Verschiebung der Stufen zu positiveren Potentialen statt, oft ändern sie dabei auch ihren Charakter. Bis jetzt sind leider nur wenige systematische Untersuchungen in Pufferlösungen, in welchen allein das p_H an der Kathodenoberfläche während der Reduktion konstant bleibt, durchgeführt worden. Die Beobachtungen verschiedener Autoren sind zum Teil widerspruchsvoll, so dass noch keine quantitativen Gesetzmässigkeiten erkennbar sind.

Im Prinzip sollten alle organischen ungesättigten Gruppen polarographisch wirksam sein. Doch steht wegen der Reduzierbarkeit des Zusatzelektrolyten und des Lösungsmittels³⁾ nur ein beschränktes Reduktionspotential, im günstigsten Fall mit Tetraalkylammoniumsalzen, von höchstens $-2,6$ V (bezogen auf die N-Kalomelektrode) zur Verfügung.

Um aus polarographischen Messungen an einer organischen Verbindung Schlüsse in bezug auf deren Konstitution zu ziehen, muss man in der Lage sein, beobachtete „Stufen“ (im folgenden ist immer von kathodischen Vorgängen die Rede) dem Vorhandensein einer bestimmten Gruppe in der Molekel zuschreiben zu können. Eine solche Aussage ist eindeutig, wenn in der in Betracht kommenden Formel nur eine reduzierbare Gruppe vorkommt. Die Anwendung dieser Schlussweise wird aber dadurch erschwert, dass die meisten Gruppen nur polarographisch wirksam sind, wenn sich ausser ihnen in der Molekel noch eine „aktivierende“ Gruppe befindet. Erscheint es denkbar, dass die aktivierende Gruppe selbst der Reduktion unterliegen könnte, ist eine eindeutige Folgerung nicht mehr möglich und man kann nurmehr von einer mehr oder weniger grossen Wahrscheinlichkeit der Zuordnung sprechen.

Aus der Tatsache, dass sich für Oxalsäure eine Stufe ergibt⁴⁾, geht hervor, dass die Carboxylgruppe polarographisch wirksam sein kann. Allerdings scheint es dazu einer

¹⁾ Nur *Shikata, M.* und *Tachi, J.* Collect. Trav. chim. Tchecosl. **10**, 368 (1938), geben selber für ein Beispiel die zahlenmässige Verschiebung des Potentials zu negativeren Werten an. ²⁾ *Sartori, G.*, G. **70**, 178 (1940).

³⁾ In Frage kommt ausser Wasser jedes Lösungsmittel, welches einen Elektrolyten in genügender Konzentration und Leitfähigkeit löst. Wir verwendeten 85-proz. Äthylalkohol, als Zusatzelektrolyt $(CH_3)_4NCl$ oder $(CH_3)_4NOH$.

⁴⁾ *Hejrovský, J.*, Polarographie, Springer 1941.

Aktivierung zu bedürfen, denn über das Auftreten von Stufen bei einfachen gesättigten aliphatischen Carbonsäuren ist bisher nichts bekannt. Man muss also annehmen, dass in der Oxalsäure die Aktivierung durch die benachbarte Stellung der beiden Carboxylgruppen zustande kommt. Bei der Benzoesäure hatte *Tokuoka*¹⁾ eine Stufe beobachtet, wir konnten feststellen, dass der Benzoesäure-methylester bei sehr negativem Potential eine Stufe aufweist. In diesem Falle kann die Stufe wohl nur der Carboxylgruppe zugeschrieben werden, da unter diesen Bedingungen eine Reduktion des Benzolkernes kaum in Frage kommt.

Auch die Äthylenbindung kann aktiviert werden: das Tetraphenyl-äthylen ist reduzierbar.

Wie aus dem folgenden hervorgeht, ist die Tatsache von grosser Bedeutung, dass organisch gebundenes Halogen polarographisch wirksam ist²⁾.

Sowohl beim Benzylbromid als auch beim -chlorid erscheint nämlich im Polarogramm eine Stufe, welche nach ihrer Höhe auf einen Verbrauch von zwei Elektronen pro Molekel schliessen lässt (als Mass wählten wir die Stufe des Acetophenons, welche wahrscheinlich zwei Elektronen entspricht), und die in alkalischer Lösung allmählich abnimmt, da die reduzierbaren Molekeln durch chemische Veränderungen verschwinden.

Am überraschendsten ist aber das Verhalten der Halogenstufe beim Ansäuern. Im Gegensatz zu allen anderen organischen Verbindungen bleibt ihre Lage dabei unverändert. Die Reduktion muss deshalb höchstwahrscheinlich in einer direkten Elektronenaufnahme durch die Molekel selber bestehen und nicht in einer Hydrierung.

Es ist uns noch nicht geglückt, für den Mechanismus dieses Prozesses eine überzeugende Erklärung zu finden³⁾.

Diese p_H -Unabhängigkeit der Halogenstufe gibt nun die Möglichkeit, sie auch in komplizierteren Verbindungen wieder zu erkennen. So konnten wir zeigen, dass bei den Halogenacetonen, entgegen den bisherigen Ansichten⁴⁾, die Halogenbindung und nicht die Carbonylgruppe die Stufe hervorruft.

Gleicherweise konnten wir auch im Polarogramm des Dibenzoyl-methan-mono- und -dibromids eine der Stufen auf die Reduktion der Halogenbindung zurückführen.

Verbindungen mit mehreren reduzierbaren Gruppen.

In den bisherigen Untersuchungen ist im allgemeinen der Möglichkeit nur wenig Beachtung geschenkt worden, dass mehrere

¹⁾ *Tokuoka, M.*, Collect. Trav. chim. Tchecosl. **7**, 392 (1935).

²⁾ Wie aus einer uns im Original nicht zugänglichen Veröffentlichung von *Brdizka, R.* hervorgeht, wurde von diesem Forscher bei der Jodessigsäure bereits eine Stufe beobachtet, die er der Halogenbindung zuschrieb, *J. gen. Physiol.* **19**, 899 (1936).

³⁾ Ansätze dazu s. in der Diss.

⁴⁾ *Winkel, A.* und *Proske, G.*, B. **69**, 693 u. 1917 (1936); *Proske, G.*, *Chemie* **56**, 24 (1943). *Proske* wies bereits auf die Möglichkeit hin, dass bei den Halogenacetonen das Halogen die wirksame Gruppe sein könnte.

Gruppen in der Molekel polarographisch wirksam sein, im Polarogramm also mehrere Stufen auftreten können.

Das besondere Verhalten der Halogenbindung hat uns nun erlaubt, für solche Verbindungen den Reaktionsmechanismus aufzuklären. Es seien hier drei einfache, charakteristische Beispiele kurz besprochen.

Beim ω -Bromacetophenon, Benzal-acetophenon und Dibenzoyl-methan treten zwei Stufen auf, eine erste in individueller Lage und einer Höhe, welche dem Verbrauch von zwei Elektronen entspricht, und eine etwas niedrigere zweite in der Lage derjenigen des Acetophenons (s. Fig. 2, a bis d).

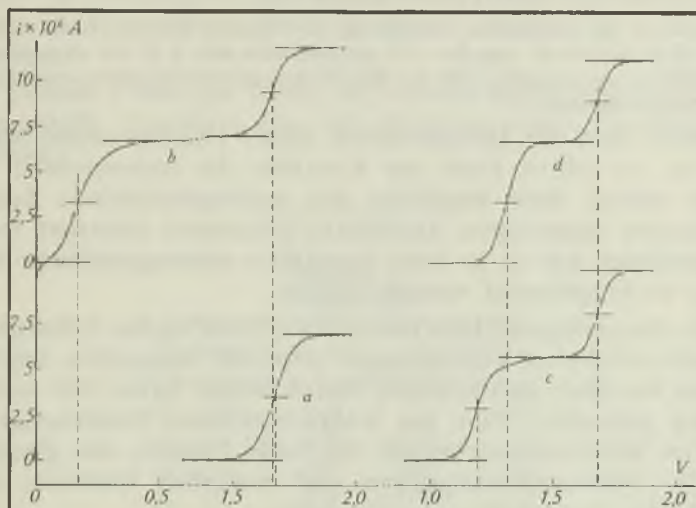


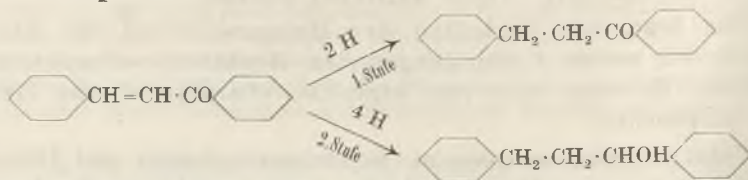
Fig. 2.

- a = Acetophenon
 b = ω -Bromacetophenon
 c = Benzal-acetophenon
 d = Dibenzoyl-methan

Konzentration: 0,001-m.
 Lösungsmittel: 85-proz. Alkohol
 Zusatzelektrolyt: 0,1-n. $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$
 Anodenpotential: $-0,05$ V gegen N-Kalomel

Aus dem Verhalten des Bromacetophenons, dessen erste Stufe beim Ansäuern ihre Lage nicht verändert, lässt sich der Reaktionsmechanismus für die genannten drei Verbindungen leicht erkennen: Im ersten Schritt wird die Brom-, die Äthylen-, die eine Carbonylbindung reduziert. Das dabei entstehende Produkt muss, wie auch die Beobachtungen an ähnlichen Verbindungen gezeigt haben, polarographisch identisch mit dem Acetophenon sein und wird erst bei höheren Potentialen, dann aber sofort, sobald es entsteht, weiterreduziert; die zweite Stufe erscheint. Das bei tieferen Potentialen entstandene Zwischenprodukt kann dabei nicht nachträglich der Reduktion unterliegen, da es fortwährend von der Elektrode

wegdiffundieren wird. Die Reaktionsgleichung ist also z. B. beim Benzal-acetophenon



Ganz ähnliche Beobachtungen machten wir bei Verbindungen mit mehreren reduzierbaren Gruppen, wenn auch dort die Verhältnisse naturgemäss etwas komplizierter sind. Charakteristisch ist dabei immer die schrittweise Reduktion.

Auch von der räumlichen Anordnung der Gruppen kann ein merklicher Einfluss auf ihre Reduzierbarkeit ausgehen. So unterscheiden sich z. B. die stereoisomeren Dibenzoyl-äthylene voneinander. Für die Einzelheiten sei auf eine später erscheinende Veröffentlichung verwiesen.

Wenn auch die Interpretation dieser Polarogramme berechtigt erscheint, so sollten doch zur Kontrolle die untersuchten Verbindungen mittels einer möglichst den polarographischen Aufnahmebedingungen angepassten Anordnung präparativ reduziert werden¹⁾, wie überhaupt nur so in viele ungeklärte polarographische Erscheinungen Licht gebracht werden könnte.

Für die geringere Höhe der zweiten Stufe in den Polarogrammen der oben erwähnten Verbindungen (ähnliche Anomalien zeigten sich übrigens bei allen mehrstufigen Reduktionen) haben wir noch keine Deutung gefunden. Nach der wahrscheinlichen Reaktionsgleichung muss der Elektronenverbrauch für beide Schritte der gleiche sein, auch die Diffusionsbedingungen sind natürlich identisch, so dass man gleiche Stufenhöhe erwartet hätte.

Kinetische Messungen.

Die Polarographie eignet sich sehr gut für kinetische und Gleichgewichtsmessungen²⁾, wenn einer der Reaktionsteilnehmer in irgend einem Potentialbereich eine charakteristische Stufe für sich allein aufweist. Durch Messung der Stufenhöhe kann dann ohne weiteres seine Konzentration bestimmt werden. Nach der Gleichung von *Ilković* besteht Proportionalität zwischen diesen beiden Grössen: in Wirklichkeit ist diese Beziehung aber nicht streng gültig. Bei genauen Untersuchungen muss deshalb eine Eichkurve erstellt werden. Doch ist selbst bei Beachtung aller Feinheiten immer mit einem

¹⁾ Eine Arbeit von *Siebert, H.*, Z. El. Ch. **44**, 768 (1938), könnte hierfür wegweisend sein.

²⁾ *Heyrovský, J.* und *Smolér, J.*, Collect. Trav. chim. Tchécosl. **4**, 521 (1932); *Herasymenko, P.* und *Tyvonuk, Z.*, Collect. Trav. chim. Tchécosl. **2**, 77 (1930); *Winkel, A.* und *Proske, G.*, Chemie **50**, 23 (1937); *Borcherdt, G.* und *Adkins, H.*, Am. Soc. **60**, 3 (1938).

minimalen Fehler von 1% in der einzelnen Konzentrationsbestimmung zu rechnen.

Wir machten für die Verfolgung des zeitlichen Verlaufs zweier Reaktionen von der Polarographie Gebrauch.

Sehr einfach gestaltete sich die Bestimmung der Verseifungsgeschwindigkeit von Benzylbromid in alkalischer Lösung, da man die Stufenhöhe des unveränderten Bromids direkt im Reaktionsgefäß messen konnte. Für solch einfache Verhältnisse kommt die Überlegenheit der polarographischen über andere Methoden besonders deutlich zum Ausdruck. Man kann nämlich ohne Schwierigkeiten die Messung mit 1 cm³ einer 0,001-m. Lösung durchführen, ohne dass die Genauigkeit der Messwerte darunter leidet und wenn nötig die Substanzmenge durch geeignete Anordnung noch weiter herabsetzen.

In Tabelle 1 sind die Werte der Geschwindigkeitskonstante zusammengestellt, berechnet für eine Reaktion erster Ordnung nach der Formel

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{c_{t_1}}{c_{t_2}}$$

Tabelle 1.

1. Messreihe.

| t (min.) | c × 10 ⁴ | k _a × 10 ² |
|----------|---------------------|----------------------------------|
| 0 | 9,13 | |
| 5 | 8,21 | 2,12 |
| 10 | 7,39 | 2,09 |
| 15 | 6,67 | 2,09 |
| 20 | 5,94 | 2,14 |
| 25 | 5,31 | 2,16 |
| 30 | 4,73 | 2,19 |
| 40 | 3,87 | 2,15 |
| 50 | 3,19 | 2,10 |
| | Mittel: | 2,13 ± 0,04 ¹⁾ |

In einer zweiten Messreihe erhielten wir als mittleren Wert der Konstanten (2,07 ± 0,06) × 10⁻².

(Benzylbromid in 85-proz. Äthanol und ca. 0,1-n. (CH₃)₃NOH.

Temperatur = 25,0° C ± 0,2. t = Zeit in Minuten. c = Konzentration in Mol/l.

k_a = Geschwindigkeitskonstante, bezogen auf die Anfangskonzentration.)

Die Werte zeigen zufälligerweise kleinere Schwankungen als der Genauigkeit der Methode entspricht.

In einem zweiten Beispiel verfolgten wir die Umwandlungsgeschwindigkeit der Diketoform des Dibenzoyl-methans in seine

¹⁾ Mittlerer Fehler der einzelnen Messung.

Mono-Enolform, das α -Oxybenzal-acetophenon. Die beiden Verbindungen unterscheiden sich polarographisch merklich in alkalischer Lösung, in der die Ketoform zwei, die Enolform nur eine Stufe besitzt. Die Umwandlungsgeschwindigkeit dagegen ist nur in saurer Lösung beträchtlich. Das Gleichgewicht liegt ganz auf der Seite der Enolform, nach *K. H. Meyer*¹⁾ zu 97 %, nach unseren Beobachtungen zu mehr als 99 %. Damit war uns die Messmethode gegeben: Wir entnahmen der sauren Reaktionslösung in bestimmten Zeitintervallen Proben, die wir alkalisch machten, um die Reaktion zu unterbrechen und zugleich die typische Stufe der Ketoform zu erhalten.

In Tabelle 2 sind in der gleichen Art wie in Tabelle 1 die für eine Reaktion erster Ordnung berechneten Konstanten zusammengestellt.

Tabelle 2.

| t (min.) | c $\times 10^3$ | k _a $\times 10^3$ |
|----------|-----------------|------------------------------|
| 0 | 1,32 | |
| 30 | 1,16 | 4,30 |
| 75 | 1,00 | 3,65 |
| 120 | 0,819 | 3,95 |
| 165 | 0,670 | 4,10 |
| 210 | 0,567 | 4,02 |
| 255 | 0,445 | 4,25 |
| 300 | 0,374 | 4,18 |
| 345 | 0,311 | 4,18 |
| | | Mittel: 4,08 \pm 0,20 |

In einer zweiten Messreihe erhielten wir für die Konstante den mittleren Wert von $4,00 \pm 0,12 \times 10^{-3}$.

(Dibenzoyl-methan. Reaktionslösung: 0,1-n. HCl in 85-proz. Alkohol.

Messlösung: 0,05-n. $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$ + 0,05-n. $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ in 80-proz. Alkohol. Bezeichnungen wie in Tabelle 1, Temperatur $25,0 \pm 0,2^\circ$.)

Wiederum zeigen die erhaltenen Werte befriedigende Konstanz. Dieses Beispiel weist darauf hin, dass die polarographische Methode eine grosse Bedeutung für die Bestimmung von Keto-Enol-Gleichgewichten erlangen kann, da im allgemeinen sich die beiden Formen polarographisch unterscheiden werden.

Auf die Brauchbarkeit der Polarographie für die Messung von ganz einseitig liegenden Gleichgewichten, falls ein in geringer Konzentration vorkommender Bestandteil die charakteristische Stufe besitzt, soll besonders hingewiesen werden. In diesem Fall kann nämlich durch Konzentrationserhöhung anderer Bestandteile des Gleichgewichtes auch dessen Konzentration bis zu einem messbaren Wert vergrössert werden. Auf diese Weise hat z. B. *S. M. Cantor*²⁾ die Gleichgewichtskonzentrationen der freien Aldehydform bei der *d*-Glucose zu 0,022% bestimmt.

¹⁾ *Meyer, K. H.*, B. 47, 826 (1914).

²⁾ *Cantor, S. M.*, Am. Soc. 62, 2113 (1940).

Die von uns untersuchten Verbindungen.

Unsere Untersuchungen erstreckten sich über eine Anzahl von Mono- und Polyketonen, ungesättigten Ketonen, Bromketonen, und einigen Verbindungen unbekannter Konstitution.

Diese Verbindungen wurden in neutraler, saurer und alkalischer Lösung aufgenommen.

Wir verzichten in dieser ersten Mitteilung darauf, die für die einzelnen Verbindungen erhaltenen Halbstufenpotentiale und Stufenhöhen anzugeben, da es uns in dieser Zusammenfassung vor allem darum geht, auf prinzipielle Zusammenhänge zwischen dem polarographischen Verhalten organischer Verbindungen hinzuweisen. Es wird, wie schon angedeutet, in anderem Zusammenhang über das von uns untersuchte Material noch einiges demnächst mitgeteilt werden.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Zürich.

Dezember 1945.

27. Über Steroide und Sexualhormone.

(122. Mitteilung¹).

Über Δ^2 -Androsten-dion-(6,17) und Δ^2 -Cholestenon-(6)

von L. Blunshy †²), E. Hardegger und H. L. Simon.

(22. XII. 45.)

Vor einiger Zeit beschrieben *K. Ladenburg*, *P. N. Chakravorty* und *E. S. Wallis*³) die Herstellung von Δ^4 -Cholestenon-(6) durch Abspaltung von Halogenwasserstoff aus 3-Brom- bzw. 3-Chlorcholestanon-(6) (VI bzw. IV) mit siedendem Chinolin. Es war zu erwarten, dass bei der Anwendung dieser Reaktion auf 3-Chlorandrostan-dion-(6,17) (II) in bequemer Weise das schon früher beschriebene⁴) Δ^4 -Androsten-dion-(6,17) zugänglich wäre.

Das für die Herstellung von 3-Chlorandrostan-dion-(6,17) (II) benötigte Δ^5 -3-Chlorandrostenon-(17) liess sich ohne Schwierigkeiten nach den Angaben von *E. S. Wallis* und *E. Fernholz*⁵) aus Δ^5 -3 β -Oxyandrostenon-(17) mit Phosphorpentachlorid herstellen. Die Nitrierung des Δ^5 -3-Chlorandrostenons-(17) zu Δ^5 -3-Chlor-6-nitroandrostenon-(17) (I) verlief in guter Übereinstimmung mit der analogen Umwandlung⁶) des Δ^5 -3-Chlorcholestens. Ebenso glatt

¹) 121. Mitt. Helv. **28**, 1660 (1946).

²) *Leo Blunshy* starb leider am 6. Februar 1944, kurz nach dem Abschluss des experimentellen Teils seiner Promotionsarbeit.

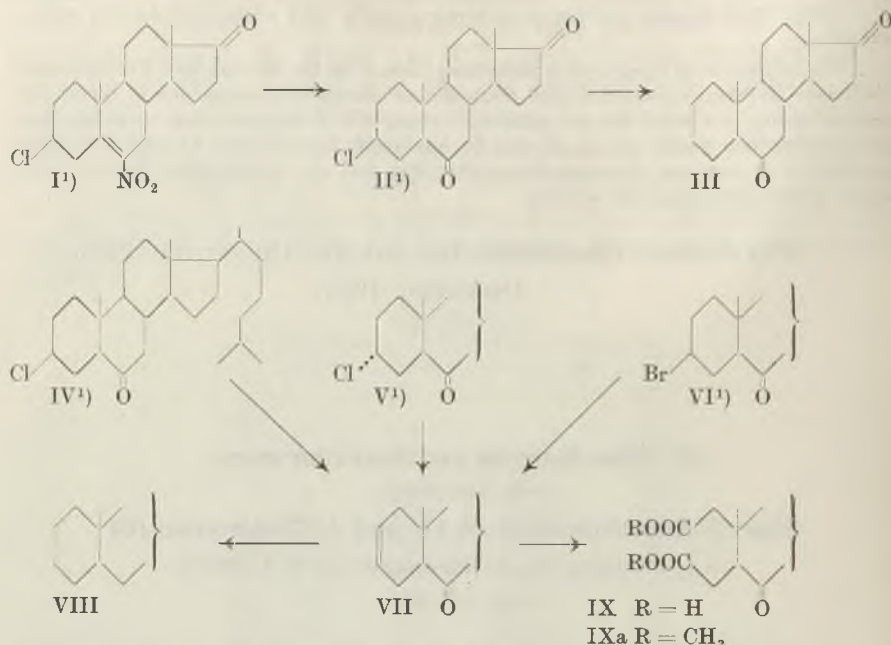
³) Am. Soc. **61**, 3483 (1939).

⁴) *L. Ruzicka*, *L. Grob* und *S. Raschka*, Helv. **23**, 1518 (1940).

⁵) Am. Soc. **59**, 764 (1937).

⁶) Vgl. z. B. *A. Windaus* und *A. v. Staden*, B. **54**, 1059 (1921).

gestaltete sich die Reduktion des Nitrokörpers (I) mit Zink und Essigsäure zu 3-Chlor-androstan-dion-(6,17) (II), welches als Dioxim charakterisiert wurde.



Die Behandlung des Chlor-diketons (II) mit Chinolin führte zu einem einfach ungesättigten Diketon $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_2$, welches entgegen den Erwartungen von Δ^4 -Androsten-dion-(6,17) auf Grund der Mischprobe und der spez. Drehung verschieden war. In Übereinstimmung mit der für das neue Diketon angenommenen Struktur (III) zeigt sein U.V.-Absorptionsspektrum eine für 2 isolierte Keto-Gruppen charakteristische Bande bei 285–300 $\text{m}\mu$, $\log \epsilon = 2,05$. Das neue Diketon wird von verdünnter Mineralsäure und von verdünntem Alkali bei kurzem Erwärmen nicht verändert; seine Doppelbindung liess sich mit Tetranitromethan nachweisen. Es steht ausser Zweifel, dass das Präparat (III) mit einem von *A. Butenandt* und *L. A. Suranyi*²⁾ aus 3-Brom-androstan-dion-(6,17) auf gleiche Weise erhaltenen Androsten-dion-(6,17) identisch ist.

Das verschiedenartige Verhalten von konfigurativ gleich gebauten Derivaten (II, IV) der Cholestan- und der Androstan-Reihe

¹⁾ In den Verbindungen I, II, IV, V, VI ist die Konfiguration (3 α - bzw. 3 β -) der Halogenatome ungewiss. Mit Sicherheit steht lediglich fest, dass I, II, IV, VI der gleichen, V der am C 3 epimeren Reihe angehören.

²⁾ B. 75, 591 (1942).

veranlasste uns, die von *K. Ladenburg*, *P. N. Chakravorty* und *E. S. Wallis* l. c. beschriebenen Versuche nachzuprüfen, und auch das am C-Atom 3 epimere Chlor-cholestanon-(6) (V) in die Untersuchung einzubeziehen.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass sich aus 3-Chlor- bzw. 3-Brom-cholestanon-(6) (IV bzw. VI) in der Tat ein Cholestenon-(6) herstellen liess, welches im Schmelzpunkt und im Schmelzpunkt seines Oxims mit jenem der amerikanischen Autoren übereinstimmt. Dasselbe Cholestenon entstand in schlechterer Ausbeute aus dem epimeren Chlor-keton (V), was bei dem sonst¹⁾ unterschiedlichen Verhalten von (IV) und (V) überraschte.

Das aus (IV), (V) und (VI) hergestellte Cholestenon-(6) zeigte bei 245 $m\mu$ keine selektive Absorption. Seine Konstitution gemäss der Strukturformel (VII) ergab sich bei der Oxydation mit Ozon bzw. Kaliumpermanganat zur 6-Keto-cholestan-2||3-disäure (IX), sowie durch die Umwandlung von (VII) in Neo-cholesten (VIII) nach *Wolff-Kishner*. (VIII) wurde als 2,3-Oxyd und durch Abbau zur Säure von *Windaus* und *Uibrig*²⁾ (Cholestan-2||3-disäure) identifiziert. Die als Δ^4 -Cholestenon-(6) beschriebene³⁾ Verbindung ist demnach als Δ^2 -Cholestenon-(6) (VII) zu bezeichnen. Aus Analogiegründen liegt im oben erwähnten, auch von *Butenandt* (l. c.) hergestellten Androsten-dion-(6,17) das Δ^2 -Androsten-dion-(6,17) (III) vor.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *CIBA Aktiengesellschaft* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil⁴⁾.

Δ^5 -3-Chlor-6-nitro-androstenon-(17) (I) aus Δ^5 -3-Chlor-androstenon-(17)⁵⁾.

1,57 g Δ^5 -3-Chlor-androstenon-(17) vom Smp. 154—155°, 10,5 cm³ reiner Eisessig und 2,6 cm³ konz. Salpetersäure (spez. Gew. 1,5) wurden eine Stunde heftig geschüttelt⁶⁾. Die Lösung wurde in Wasser gegossen und das ausgefallene Chlor-nitro-keton aus Methanol umkrystallisiert. Das Analysenpräparat, 1,01 g Subst. vom Smp. 189—190°, wurde 20 Stunden im Hochvakuum bei 50° getrocknet. Qualitativ wurden Stickstoff (*Emich*) und Halogen (*Beilstein*) nachgewiesen.

3,738 mg Subst. gaben 8,889 mg CO₂ und 2,519 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|---------|
| C ₁₉ H ₂₆ O ₃ NCl | Ber. C 64,85 | H 7,45% |
| | Gef. „ 64,89 | „ 7,54% |

¹⁾ z. B. gegenüber Alkali.

²⁾ B. **47**, 2384 (1914).

³⁾ Am. Soc. **61**, 3483 (1939).

⁴⁾ Die Schmelzpunkte sind auf $\pm 1^\circ$, die spez. Drehungen auf $\pm 2^\circ$ genau bestimmt.

⁵⁾ Δ^5 -3-Chlor-androstenon-(17) wurde nach *E. S. Wallis* und *E. Fernholz*, Am. Soc. **59**, 764 (1937), aus Δ^5 -3 β -Oxy-androstenon-(17) und PCl₅ hergestellt.

⁶⁾ Vgl. z. B. *A. Windaus* und *O. Dalmer*, B. **52**, 168 (1919).

3-Chlor-androstandion-(6,17) (II) aus Δ^5 -3-Chlor-6-nitro-androstenon-(17) (I)¹⁾.

700 mg reines²⁾ Δ^5 -3-Chlor-6-nitro-androstenon-(17), 30 cm³ Eisessig und 3,5 g Zinkstaub wurden 20 Stunden auf 100° erwärmt. Die heiss abfiltrierte Lösung wurde in Wasser gegossen. Das in Äther aufgenommene Reduktionsprodukt wurde mit verdünnter NaCl-Lösung gewaschen und nach dem Trocknen aus Methanol umkristallisiert. Das Chlor-diketon (440 mg) schmolz bei 210—211°. Das Analysenpräparat wurde 10 Stunden im Hochvakuum bei 90° getrocknet.

3,663 mg Subst. gaben 9,500 mg CO₂ und 2,766 mg H₂O

$C_{19}H_{27}O_2Cl$ Ber. C 70,68 H 8,43%
Gef. „ 70,78 „ 8,46%

Dioxim. Das Präparat wurde aus dem Chlor-diketon (II) mit überschüssiger methanolischer Hydroxylaminacetat-Lösung in der Wärme hergestellt. Das aus Methanol kristallisierte Analysenpräparat schmolz nach 10-stündigem Trocknen im Hochvakuum bei 214—217° (u. Zers.).

3,700 mg Subst. gaben 8,765 mg CO₂ und 2,731 mg H₂O

$C_{19}H_{29}O_2N_2Cl$ Ber. C 64,66 H 8,28%
Gef. „ 64,65 „ 8,26%

Δ^2 -Androstendion-(6,17) (III) aus 3-Chlor-androstendion-(6,17) (II)³⁾.

370 mg 3-Chlor-androstendion-(6,17) (II) wurden mit 6 cm³ frisch destilliertem Chinolin unter Stickstoff eine Stunde zum Sieden erhitzt. Das dunkel gefärbte Gemisch wurde in Wasser gegossen. Die mit Äther ausgeschüttelten Reaktionsprodukte wurden gründlich mit verdünnter H₂SO₄, dann mit verdünnter KHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen und zweimal mit wenig Kohle entfärbt. Beim Eindampfen der getrockneten ätherischen Lösung blieben 230 mg rohes Δ^2 -Diketon (III) als Rückstand. Zur Analyse wurde das Präparat aus Essigester-Hexan umkristallisiert und im Hochvakuum sublimiert. Das halogenfreie (*Beilstein*) Sublimat (75 mg) schmolz bei 190—192°. (III) gab mit Tetranitromethan Gelbfärbung. Das Spektrum von (III) zeigt bei 285—300 m μ ein Maximum von log $\epsilon = 2,05$.

3,615 mg Subst. gaben 10,549 mg CO₂ und 2,919 mg H₂O

$C_{19}H_{26}O_2$ Ber. C 79,68 H 9,15%
Gef. „ 79,64 „ 9,04%

$[\alpha]_D = +123^\circ$ (c = 1,6 in Chloroform)

Das Δ^2 -Diketon (III) gab mit Δ^4 -Androsten-dion-(6,17)⁴⁾ vom Smp. 182° und $[\alpha]_D = +97^\circ$ in der Mischprobe eine Schmelzpunkterniedrigung von mehr als 20°.

Das Δ^2 -Diketon (III) (70 mg) wurde nicht verändert a) beim 20-minütigen Kochen mit einer Mischung von 15 cm³ Methanol und 1 cm³ 2-n. HCl, b) bei 30-minütigem Kochen mit 25 cm³ 5-proz. methanolischer Kalilauge.

Δ^2 -Cholestenon-(6) (VII)⁵⁾.

Aus 3-Chlor-cholestanon-(6) (IV)⁶⁾. Je 600 mg 3-Chlor-cholestanon-(6) vom Smp. 130—131° wurden mit 9 cm³ frisch destilliertem Chinolin unter Stickstoff 1 Stunde im Sieden gehalten, bzw. mit synthetischem Kollidin 8 Stunden im Rohr auf 250° erhitzt.

¹⁾ Vgl. z. B. A. Windaus und O. Dalmer, B. 52, 168 (1919).

²⁾ Aus unreinen Präparaten wurde nur wenig (II) erhalten.

³⁾ Vgl. A. Butenandt und L. A. Saranyi, B. 75, 591 (1942).

⁴⁾ L. Ruzicka, L. Grob und S. Raschka, Helv. 23, 1518 (1940).

⁵⁾ Nacharbeitung der von K. Ladenburg, P. N. Chakravorty und E. S. Wallis, Am. Soc. 61, 3483 (1939), beschriebenen Versuche.

⁶⁾ Hergestellt nach den Angaben, bzw. Literaturzitaten von K. Ladenburg, P. N. Chakravorty und E. S. Wallis, l. c.

Die Aufarbeitung¹⁾ gab je 600 mg braunes Öl, welches aus Hexan an Aluminiumoxyd adsorbiert wurde. Das mit Benzol eluierte und aus Alkohol oder Methanol umkrystallisierte Δ^2 -Cholestenon-(6) (je ca. 280 mg) schmolz bei 104—105°.

Aus 3-Chlor-cholestanon-(6) (V). 500 mg 3-Chlor-cholestanon-(6) vom Smp. 180—181° wurden wie oben mit Chinolin behandelt. Aus den Reaktionsprodukten konnten 100 mg Δ^2 -Cholestenon-(6) vom Smp. 105—106° isoliert werden.

Aus 3-Brom-cholestanon-(6)²⁾ (VI). 500 mg Brom-ke-ton (VI) vom Smp. 123° gaben, wie oben mit Chinolin gekocht, 240 mg Δ^2 -Cholestenon vom Smp. 100—101°.

Die Analysenpräparate wurden 12 Stunden bei 90° im Hochvakuum getrocknet und vor dem Verbrennen geschmolzen.

3,488; 3,740; 3,802; 3,827 mg Subst. gaben 10,77; 11,551; 11,763; 11,809 mg CO₂ und 3,64; 3,860; 3,933; 3,907 mg H₂O

| | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| C ₂₇ H ₄₄ O | Ber. C 84,31 | H 11,53% |
| | Gef. „ 84,26; 84,28; 84,43; 84,20 | „ 11,68; 11,55; 11,58; 11,42% |

$[\alpha]_D = +30^\circ; \dots; +27^\circ; +26,5^\circ$ (c = 1,1; ...; 1,1; 0,9 in Chloroform)

Die 4 Präparate (VII) färbten sich mit Tetranitromethan gelb. Im U.V.-Absorptionsspektrum zeigten sie bei 285—300 m μ , log $\epsilon = 1,7$ eine isolierte Ketonbande. Die Präparate gaben in der Mischprobe untereinander keine und mit Iso-cholestanon eine grosse Schmelzpunkterniedrigung.

Oxim³⁾. Smp. 185—186°. Das 6 Stunden bei 110° getrocknete Präparat wurde analysiert.

3,652 mg Subst. gaben 10,85 mg CO₂ und 3,69 mg H₂O

| | | |
|------------------------------------|--------------|----------|
| C ₂₇ H ₄₅ ON | Ber. C 81,14 | H 11,35% |
| | Gef. „ 81,07 | „ 11,31% |

Oxydation von Δ^2 -Cholestenon-(6) (VII) zur 6-Ketocholestan-2|3-disäure (IX).

Durch eine Lösung von 500 mg Δ^2 -Cholestenon (VII) in 10 cm³ Eisessig wurde während einer Stunde ein schwacher Strom von ozonhaltigem Sauerstoff geleitet. Die Lösung wurde nach Zugabe von 2 cm³ Wasser 3 Stunden auf 100° erwärmt und dann mit 50 mg Chromtrioxyd 16 Stunden bei 20° nachoxydiert. Die mit NaHCO₃-Lösung isolierten sauren Anteile wurden mit Diazomethan verestert und an Aluminiumoxyd chromatographisch gereinigt. Die krystallisierten Benzol-Eluate wurden aus Methanol umkrystallisiert und zur Analyse im Hochvakuum sublimiert. Schmelzpunkt des Sublimats 109°. Die Mischprobe mit Δ^2 -Cholestenon-(6) (VII) gab eine starke Schmelzpunkterniedrigung.

3,332 mg Subst. gaben 8,907 mg CO₂ und 3,068 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|----------|
| C ₂₉ H ₄₈ O ₅ | Ber. C 73,07 | H 10,15% |
| | Gef. „ 72,95 | „ 10,30% |

Derselbe Dimethyl-ester (IXa) wurde auch durch Oxydation des Δ^2 -Ketons (VII) mit KMnO₄ in Aceton in der Wärme und nachfolgender Veresterung mit Diazomethan in schlechter Ausbeute erhalten.

Reduktion von Δ^2 -Cholestenon-(6) (VII) zu Δ^2 -Cholesten (VIII) (Neocholesten).

300 mg Δ^2 -Keton (VII) und 1 g Hydrazinhydrat wurden mit Natriumalkoholat aus 1 g Na und 15 cm³ Alkohol im Rohr 14 Stunden auf 165° erhitzt. Durch chromato-

¹⁾ Vgl. Herstellung des Δ^2 -Androstendions-(6,17).

²⁾ Hergestellt nach Angaben bzw. Literaturzitaten von K. Ladenburg, P. N. Chakravorty und E. S. Wallis, l. c.

³⁾ Nacharbeitung der von K. Ladenburg, P. N. Chakravorty und E. S. Wallis (l. c.) beschriebenen Versuche.

graphische Reinigung des Reduktionsproduktes wurden 270 mg Krystalle vom Smp. 65 bis 67° erhalten. Das aus Äther-Alkohol umkrystallisierte Analysenpräparat (Smp. 73—74°) wurde 16 Stunden bei 40° im Hochvakuum getrocknet und vor dem Verbrennen geschmolzen.

3,754 mg Subst. gaben 12,021 mg CO₂ und 4,168 mg H₂O

C₂₇H₄₆ Ber. C 87,49 H 12,51%
Gef. „ 87,39 „ 12,42%

[α]_D = +67° (c = 0,7 in Chloroform)

Oxyd. Aus Neo-cholesten mit Benzopersäure in Chloroform 16 Stunden bei -10°. Das aus Äther-Alkohol umkrystallisierte Analysenpräparat (Smp. 103—104°) wurde vor dem Verbrennen geschmolzen.

C₂₇H₄₆O Ber. C 83,87 H 11,99%
Gef. „ 83,78 „ 12,01%

[α]_D = +36° (c = 1 in Chloroform)

Die oxydative Spaltung¹⁾ des Neo-cholestens mit Ozon gab die bei 195—197° schmelzende Säure von *Windaus* und *Ubrig*. Die Identität der Säure wurde durch die Mischprobe mit einem Präparat anderer Herkunft gesichert.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn W. Manser ausgeführt.

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

28. Zur Kenntnis der Triterpene.

(101. Mitteilung²⁾)

Nachweis der Identität von Dihydro-agnosterin und γ-Lanosterin und über die Lage der hydrierbaren Doppelbindung im Agnosterin

von L. Ruzicka, R. Denss und O. Jeger.

(22. XII. 45.)

Im „Iso-cholesterin“³⁾, welches aus dem Wollfett der Schafe gewonnen wird, wurden bis jetzt vier tetracyclische Alkohole nachgewiesen: das Agnosterin C₃₀H₄₈O⁴⁾, das Lanosterin C₃₀H₅₀O⁴⁾, das Dihydro-lanosterin C₃₀H₅₂O⁵⁾ und das γ-Lanosterin C₃₀H₅₀O⁵⁾. Das γ-Lanosterin-acetat haben *Bellamy* und *Dorée*⁶⁾, schon vor der Isolierung aus dem „Iso-Cholesterin“, durch Oxydation des Dihydro-lanosterin-acetats mit Selendioxyd gewonnen. Diese Autoren wiesen

¹⁾ A. L. Henne und Ph. Hill, Am. Soc. **65**, 752 (1943).

²⁾ 100. Mitt. Helv. **28**, 1628 (1945).

³⁾ Schulze, B. **5**, 1075 (1872); **6**, 252 (1873).

⁴⁾ Windaus und Tschesche, Z. physiol. Ch. **190**, 55 (1930).

⁵⁾ Ruzicka, Rey und Muhr, Helv. **27**, 472 (1944).

⁶⁾ Soc. **1941**, 178.

bereits darauf hin, dass das von ihnen dargestellte γ -Lanosterin mit dem Dihydro-agnosterin, welches durch katalytische Hydrierung des Agnosterins gewonnen wird¹⁾, sehr wahrscheinlich identisch ist.

Um die Identität der beiden Verbindungen endgültig zu beweisen, war es notwendig, reines γ -Lanosterin und reines Dihydro-agnosterin herzustellen, da, wie früher gezeigt wurde, die Bestandteile des Iso-cholesterins sehr schwer trennbar sind²⁾.

Vor kurzem haben wir die Trennung der bei 113° schmelzenden Gemische des Lanosterin- und Dihydro-lanosterin-acetats beschrieben²⁾. Als vorteilhaft erwies sich damals die fraktionierte Krystallisation der Ketone, die durch Oxydation des Alkoholgemisches entstehen. Wir haben nun diese Methode auf die zwischen 172–174° schmelzende Fraktion des „Iso-cholesterin“-acetats übertragen und konnten dabei das Gemisch der erhaltenen Ketone glatt in Agnostatrienon $C_{30}H_{46}O$ (Smp. 93–94°) und γ -Lanostenon $C_{30}H_{48}O$ (Smp. 131–132°) auftrennen. Die beiden reinen Ketone wurden nach *Meerwein-Ponndorf* reduziert. Das Agnostatrienon gibt dabei das epi-Agnosterin und Agnosterin, das γ -Lanostenon die entsprechenden epimeren Alkohole epi- γ -Lanosterin und γ -Lanosterin, welche chromatographisch getrennt und so in reinem Zustande erhalten werden konnten³⁾4).

Das γ -Lanosterin, sein Acetat, das γ -Lanostenon und der durch Reduktion des Ketons nach *Wolff-Kishner* dargestellte Kohlenwasserstoff γ -Lanosten besitzen gleiche Schmelzpunkte und spez. Drehungen, wie die entsprechenden Derivate des Dihydro-agnosterin-acetats, das durch Hydrierung des Agnosterin-acetats gewonnen wurde⁵⁾ und geben mit ihnen keine Schmelzpunktserniedrigung. Dadurch ist die Identität des γ -Lanosterins und des Dihydro-agnosterins bewiesen. Die vier im „Iso-cholesterin“ nachgewiesenen Verbindungen mit 30 Kohlenstoffatomen besitzen darnach ein identisches Kohlenstoffgerüst⁶⁾ und die gleiche Lage der Hydroxylgruppe und unterscheiden sich nur in der Zahl (1 bis 3) und in der Lage der Doppelbindungen.

Die zwei Doppelbindungen des Lanosterins sind nicht konjugiert, weil es ebenso wie das Dihydro-lanosterin im U.V. bis 220 m μ kein charakteristisches Spektrum aufweist. Das γ -Lanosterin und

1) *Windaus* und *Tschesche*, Z. physiol. Ch. **190**, 55 (1930).

2) *Helv.* **28**, 759 (1945).

3) Im experimentellen Teil ist die Trennung der Acetate des γ -Lanosterins und epi- γ -Lanosterins beschrieben.

4) Die Epimerie der Hydroxylgruppe bei epi-Agnosterin und epi- γ -Lanosterin wurde durch Oxydation zu den entsprechenden Ketonen bewiesen.

5) *Windaus* und *Tschesche*, Z. physiol. Ch. **190**, 55 (1930).

6) Eine Verknüpfung des Agnosterins mit Lanosterin lag schon früher vor, indem *Marker* und *Mixon* [*Am. Soc.* **59**, 1368 (1937)] das Dihydro-lanosterin-acetat ins Dihydro-agnosterin-acetat überführten.

das Agnosterin besitzen dagegen ein System von zwei konjugierten, auf verschiedene Ringe verteilten Doppelbindungen, da sie ein Absorptionsmaximum im U.V. bei $240\text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,2$ zeigen. Die hydrierbare Doppelbindung des Lanosterins liegt in einer Isopropylidengruppierung vor ¹⁾²⁾, aus Analogiegründen war deswegen wahrscheinlich, dass die hydrierbare, isolierte Doppelbindung des Agnosterins in derselben Gruppierung vorliegt. Zur Beantwortung dieser Frage haben wir das aus Agnosterin gewonnene Keton Agnostatrienon ($\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}$) mit Osmiumtetroxyd zum Diol $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ umgesetzt und dieses mit Blei(IV)-acetat gespalten. Als leicht flüchtiges Reaktionsprodukt wurde 0,7 Mol Aceton als 2,4-Dinitro-phenylhydrazon isoliert. Das andere Spaltstück, die Dicarbonylverbindung $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_2$, konnte bis jetzt noch nicht kristallisiert erhalten werden.

Der *Rockefeller Foundation* in New York danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil³⁾⁴⁾.

Trennung des Gemisches von Agnostatrienon und γ -Lanostenon⁵⁾.

15 g des Gemisches von Agnosterin und γ -Lanosterin, das durch Verseifung einer zwischen $172\text{--}174^\circ$ schmelzenden Fraktion des „Iso-cholesterin“-acetats⁶⁾ erhalten wurde, werden in 180 cm^3 Benzol gelöst und mit einer Lösung von $13,5\text{ g}$ Chromtrioxyd in 180 cm^3 Eisessig und 120 cm^3 Wasser während 14 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach der Aufarbeitung erhält man in quantitativer Ausbeute neutrale Oxydationsprodukte, die nach dem Dreieckschema fraktioniert umkristallisiert werden. Aus den leicht löslichen Anteilen des Ketongemisches kristallisieren $3,7\text{ g}$ rohes Agnostatrienon vom Smp. $87\text{--}89^\circ$, das zur weiteren Reinigung durch eine Säule aus 112 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert wird. Petroläther-Benzol-Gemisch (1:1) eluiert $2,72\text{ g}$ des Ketons. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Chloroform-Methanol wird der Schmelzpunkt von $93\text{--}94^\circ$ erreicht. Das Analysenpräparat wurde 14 Stunden im Hochvakuum bei 50° getrocknet und vor dem Verbrennen kurz geschmolzen.

$3,737\text{ mg}$ Subst. gaben $11,673\text{ mg}$ CO_2 und $3,705\text{ mg}$ H_2O

$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}$ Ber. C 85,24 H 10,97%

Gef. „ 85,25 „ 11,09%

$[\alpha]_{\text{D}} = +47,2^\circ$ ($c = 0,794$)

Das aus den schwerer löslichen Fraktionen gewonnene γ -Lanostenon schmilzt bei $131\text{--}132^\circ$ ⁵⁾. Es wird aus Essigester-Methanol umkristallisiert.

¹⁾ Wieland und Benend, Z. physiol. Ch. **274**, 215 (1942); Wieland und Jost, A. **546**, 103 (1941).

²⁾ Ruzicka, Rey und Muhr, Helv. **27**, 472 (1944).

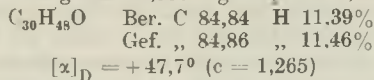
³⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert. Die optischen Drehungen wurden in Chloroform in einem Rohr von 1 dm Länge gemessen. Die Analysenpräparate wurden, wo nichts anderes bemerkt ist, im Hochvakuum sublimiert.

⁴⁾ Mitbearbeitet von O. Dürst.

⁵⁾ Die von uns hergestellten Präparate von γ -Lanostenon, γ -Lanosterin, γ -Lanosterin-acetat, Agnosterin und Agnosterin-acetat zeigen keine Schmelzpunktserniedrigungen mit den früher von Ruzicka und Mitarbeitern [Helv. **27**, 472 (1944)] hergestellten Produkten.

⁶⁾ Helv. **27**, 472 (1944).

3,652 mg Subst. gaben 11,356 mg CO₂ und 3,741 mg H₂O

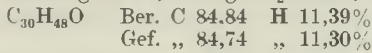


$$[\alpha]_D = +47,7^\circ \quad (c = 1,265)$$

Reduktion von Agnostatrienon nach *Meerwein-Ponndorf*.

1,45 g Agnostatrienon werden mit 2 g Aluminiumisopropylat in 120 cm³ Isopropylalkohol über Nacht am Rückfluss gekocht. Nach der Aufarbeitung wird die Substanz (1,32 g) durch eine Säule von 40 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert. Benzol-Äther-Gemisch (9:1) eluiert 300 mg Substanz, die nach sechsmaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Methanol bei 145—146° schmilzt.

2,545 mg Subst. gaben 7,903 mg CO₂ und 2,570 mg H₂O

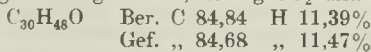


$$[\alpha]_D = +64,3^\circ \quad (c = 0,696)$$

Es liegt das epi-Agnosterin vor.

Benzol-Äther-Gemisch (4:1) eluiert 320 mg rohes Agnosterin (Smp. 154—156°). Dieses wird in Benzollösung erneut an 9,6 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) adsorbiert. Benzol-Äther-Gemisch (9:1) eluiert sehr langsam 120 mg Agnosterin. Aus Aceton-Methanol krystallisieren Nadeln vom Smp. 158—159°. Einmaliges Sublimieren im Hochvakuum erhöht den Schmelzpunkt auf 164,5—165,5°. Die Mischprobe mit epi-Agnosterin schmilzt bei 128—130°.

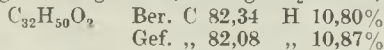
3,625 mg Subst. gaben 11,248 mg CO₂ und 3,717 mg H₂O



$$[\alpha]_D = +65,9^\circ \quad (c = 1,156)$$

Acetat: Umkrystallisiert aus Essigester-Methanol. Nach Sublimation im Hochvakuum wird der Smp. von 174,5—175,5° erreicht.

2,290 mg Subst. gaben 6,888 mg CO₂ und 2,224 mg H₂O



$$[\alpha]_D = +87,8^\circ \quad (c = 0,908)$$

Keton: 20 mg Substanz werden in der oben beschriebenen Weise mit Chromtrioxyd oxydiert. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Methanol wird der Schmelzpunkt von 92—93° erreicht. Mit Agnostatrienon vom Smp. 93—94° tritt keine Schmelzpunktserniedrigung ein.

$$[\alpha]_D = +51,6^\circ \quad (c = 0,125)$$

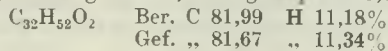
Oxydation des epi-Agnosterins mit Chromsäure. 70 mg Substanz werden wie oben angegeben mit Chromtrioxyd oxydiert. Nach der Aufarbeitung werden 30 mg rohes Keton erhalten, das nach zweimaligem Umlösen aus Essigester-Methanol bei 79—80° schmilzt. Die Mischprobe mit Agnostatrienon zeigt keine Erniedrigung des Schmelzpunktes.

$$[\alpha]_D = 48,9^\circ \quad (c = 0,757)$$

Reduktion von γ -Lanostenon nach *Meerwein-Ponndorf*.

1 g γ -Lanostenon wird in analoger Weise wie Agnostatrienon reduziert. Das nach der Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt (1 g) wird über Nacht mit 40 cm³ Acetanhydrid und 10 cm³ Pyridin stehen gelassen. Darnach wird das Gemisch der epimeren Acetate (1 g) an 30 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) absorbiert. Petroläther-Benzol-Gemisch (4:1) eluiert 330 mg γ -Lanosterin-acetat, das aus Chloroform-Methanol bis zum konstanten Smp. 168—169° umkrystallisiert wird.

3,580 mg Subst. gaben 10,714 mg CO₂ und 3,627 mg H₂O



$$[\alpha]_D = +87,8^\circ \quad (c = 0,945)$$

Beim weiteren Auswaschen des Chromatogramms mit Petroläther-Benzol-Gemisch (1:1) werden 230 mg Krystalle vom Smp. 153—156° erhalten. Erneutes Chromatographieren an Aluminiumoxyd (Aktivität II) — wobei die Substanz mit Petroläther eluiert wird — und Umkrystallisieren aus Chloroform-Methanol erhöht den Schmelzpunkt auf 160—161°. Die Mischprobe mit γ -Lanosterin-acetat schmilzt bei 150—151°. Es liegt das epi- γ -Lanosterin-acetat vor¹).

3,660 mg Subst. gaben 11,008 mg CO₂ und 3,616 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|----------|
| C ₃₂ H ₅₂ O ₂ | Ber. C 81,99 | H 11,18% |
| | Gef. „ 82,08 | „ 11,06% |

$[\alpha]_D = +78,8^\circ$ (c = 0,754)

Das durch alkalische Verseifung des oben gewonnenen γ -Lanosterin-acetats erhaltene γ -Lanosterin schmilzt nach wiederholtem Umlösen aus Aceton-Methanol und Sublimieren im Hochvakuum bei 157—158°.

3,676 mg Subst. gaben 11,356 mg CO₂ und 3,871 mg H₂O

| | | |
|-----------------------------------|--------------|----------|
| C ₃₀ H ₅₀ O | Ber. C 84,44 | H 11,81% |
| | Gef. „ 84,30 | „ 11,78% |

$[\alpha]_D = +67,5^\circ$ (c = 1,002)

Reduktion von Agnosterin zu Dihydro-agnosterin²) (γ -Lanosterin).

20 mg Agnosterin werden nach der Vorschrift von *Windaus* und Mitarb.²) mit 3 mg Platinoxid in 40 cm³ Eisessig hydriert. Nach drei Stunden wird von Platin abfiltriert und aufgearbeitet. Das Rohprodukt wird durch eine Säule von 600 mg Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert. Benzol eluiert 15 mg Dihydro-agnosterin, das nach Umlösen aus Aceton-Methanol und Sublimieren im Hochvakuum bei 156—157° schmilzt. Mit γ -Lanosterin vom Smp. 157—158° tritt keine Schmelzpunktserniedrigung ein.

3,688 mg Subst. gaben 11,410 mg CO₂ und 3,914 mg H₂O

| | | |
|-----------------------------------|--------------|----------|
| C ₃₀ H ₅₀ O | Ber. C 84,44 | H 11,81% |
| | Gef. „ 84,43 | „ 11,88% |

$[\alpha]_D = +66,6^\circ$ (c = 1,278)

Acetat: Nadeln aus Aceton-Methanol vom Smp. 167—168° die auch im Gemisch mit γ -Lanosterin-acetat bei 167—168° schmelzen.

3,744 mg Subst. gaben 11,242 mg CO₂ und 3,762 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|----------|
| C ₃₂ H ₅₂ O ₂ | Ber. C 81,99 | H 11,18% |
| | Gef. „ 81,94 | „ 11,24% |

$[\alpha]_D = +87,8^\circ$ (c = 1,094)

Dieselbe Verbindung wird ferner durch Reduktion einer bei 172—174° schmelzenden Fraktion des „Iso-cholesterin“-acetats erhalten. Unter denselben Bedingungen konnte bei der Hydrierung des γ -Lanosterin-acetats keine Wasserstoffaufnahme beobachtet werden³).

Keton: 80 mg Dihydro-agnosterin werden wie oben beschrieben mit Chromtrioxid oxydiert. Das rohe Agnostadienon (80 mg) wird in Benzollösung durch eine Säule von

¹) *Marker* und Mitarb. [*Am. Soc.* **59**, 2290 (1937)] haben bei der Reduktion von Dihydro-agnostenon (Agnostadienon) nach *Meerwein-Ponndorf* und nachfolgender Acetylierung neben Dihydro-agnosterin-acetat (Smp. 165°) ein epi-Dihydro-agnosterin-acetat (Smp. 160°) isoliert, das sehr wahrscheinlich mit der von uns gewonnenen Verbindung identisch ist.

²) *Z. physiol. Ch.* **190**, 55 (1930).

³) *Bellamy* und *Dorée* (*Soc.* **1941**, 180) geben an, γ -Lanosterin-acetat mit Pd-Kohle in Eisessig zu Dihydro-lanosterin-acetat reduziert zu haben. Wir konnten diesen Befund nicht bestätigen.

2,4 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) filtriert. Nach Umkrystallisieren aus Aceton-Methanol und Sublimieren im Hochvakuum schmilzt das Produkt bei 130—131° und gibt bei der Mischprobe mit γ -Lanostenen keine Schmelzpunktserniedrigung.

3,612 mg Subst. gaben 11,222 mg CO₂ und 3,656 mg H₂O

| | | |
|-----------------------------------|--------------|----------|
| C ₃₀ H ₄₈ O | Ber. C 84,48 | H 11,39% |
| | Gef. „ 84,79 | „ 11,32% |

$[\alpha]_D = +47,7^{\circ}$ ($c = 1,378$)

Kohlenwasserstoff: 20 mg Agnostadienon werden über das Semicarbazon (Smp. 216°, Zers.) nach *Wolff-Kishner* reduziert. Nach der Aufarbeitung wird das Rohprodukt in Petroläther durch eine Säule aus 1 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) filtriert. Blättchen aus Chloroform-Methanol. Das Agnostadien schmilzt bei 91,5—92,5°. Die Mischprobe mit γ -Lanostenen¹⁾ zeigt keine Schmelzpunktserniedrigung.

Umsetzung des Agnostatrienons mit Osmiumtetroxyd zum Diol C₃₀H₄₈O₃.

Eine Lösung von 1,01 g Agnostatrienon und 500 mg Osmiumtetroxyd in 30 cm³ absolutem Äther wird während 7 Tagen bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach dem Abdampfen des Äthers wird der Rückstand mit einer Lösung von 5 g Mannit in 20 cm³ Alkohol, 20 cm³ 2-n. wässriger Natronlauge und 10 cm³ Benzol 4 Stunden lang am Rückfluss gekocht. Nach der Aufarbeitung wird das Reaktionsprodukt durch eine Säule aus 32,5 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) chromatographiert. Äther eluiert 750 mg Krystalle, die nach Umkrystallisieren aus Aceton-Methanol und Sublimieren im Hochvakuum bei 182—183° schmelzen.

3,682 mg Subst. gaben 10,640 mg CO₂ und 3,492 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|----------|
| C ₃₀ H ₄₈ O ₃ | Ber. C 78,89 | H 10,60% |
| | Gef. „ 78,86 | „ 10,61% |

$[\alpha]_D = +47,1^{\circ}$ ($c = 1,236$)

Oxydation des Diols C₃₀H₄₈O₃ mit Blei(IV)-acetat.

300 mg Substanz werden in 16 cm³ Eisessig gelöst, in einem Destillierkolben mit einer Lösung von 397 mg Blei(IV)-acetat in 16 cm³ Eisessig versetzt und 6 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann werden 10 cm³ Wasser zugegeben und 9 cm³ Essigsäure in drei gleichen Fraktionen abdestilliert. Das Aceton wird nach einer früher angegebenen Vorschrift²⁾ nachgewiesen. Aus der ersten Fraktion erhält man 34,8 mg, aus der zweiten 23,1 mg und aus der dritten 8,8 mg Aceton-2,4-dinitro-phenylhydrazon vom Smp. 123 bis 125°. Unter Berücksichtigung einer gleichzeitig durchgeführten Blindprobe errechnet sich die Ausbeute an Aceton zu 70% der Theorie. Zur Analyse gelangte ein aus Methanol umkrystallisiertes Präparat (Smp. 127—128°), das im Hochvakuum 60 Stunden bei 70° getrocknet wurde.

3,648 mg Subst. gaben 6,053 mg CO₂ und 1,287 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|---------|
| C ₉ H ₁₀ O ₄ N ₄ | Ber. C 45,38 | H 4,23% |
| | Gef. „ 45,27 | „ 4,25% |

Bei der Aufarbeitung der nicht flüchtigen Produkte der Spaltung des Diols werden 280 mg eines Neutralkörpers erhalten, der bis jetzt auch nach chromatographischer Reinigung nicht krystallisiert werden konnte.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. *W. Manser* ausgeführt.

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

¹⁾ Helv. 27, 472 (1944).

²⁾ Helv. 28, 767 (1945).

29. Zur Kenntnis der Triterpene.

(102. Mitteilung¹⁾).Abbau der Oleanolsäure zu einem C₂₆-Oxy-tetrasäure-lacton.

von L. Ruzicka, A. Rudowski, J. Norymberski und O. Jeger.

(22. XII. 45.)

Vor kurzem²⁾ haben wir ein Arbeitsprogramm zum direkten Nachweis des Methyls am Kohlenstoffatom 5³⁾ des Oleanan-Gerüsts aufgestellt, das bei den früheren Abbauversuchen nicht erfasst werden konnte. Die dazu brauchbaren isomeren C₂₆-Oxy-tetrasäure-lactone XII und XIII wurden präparativ aus dem Hederagenin gewonnen, aus welchem sie jedoch relativ schwer zugänglich sind. Wir suchten deshalb nach einem bequemeren Verfahren zur Herstellung dieser Verbindungen.

Auf folgendem Wege liess sich nun die Verbindung XIII bzw. ihr Anhydrid (IXa) in zwei Stufen aus dem leicht zugänglichen Oleanolsäure-lacton (I)⁴⁾ mit guter Ausbeute erhalten.

Das Oleanolsäure-lacton (C₃₀H₄₈O₃) gibt mit Phosphorpentachlorid in Petroläther-Lösung eine ungesättigte, bei 297–299⁰ schmelzende Verbindung C₃₀H₄₆O₂ (II).

Vor kurzem konnten wir zeigen, dass man aus α -Amyrenonol und Lupanol mit Phosphorpentachlorid unter Retropinakolinumlagerung und Ringverengung Verbindungen erhält, in welchen der Ring B dem oxydativen Abbau zugänglich ist⁵⁾. Dass aus Oleanolsäure-lacton ein analoges Produkt entsteht, liess sich durch Oxydation von II mit Osmiumtetroxyd beweisen. Man erhält dabei ein Diol C₃₀H₄₈O₄ (III) vom Smp. 315–320⁰, welches bei der Umsetzung mit Blei(IV)-acetat eine Verbindung C₂₇H₄₀O₃ (IV) liefert. IV ist mit dem schon früher aus Hederagenin gewonnenen C₂₇-Keto-lacton identisch⁶⁾, wodurch die Teilformel II bewiesen ist.

Die Verbindung II ist demnach analog gebaut wie das aus α -Amyrin zugängliche α -Amyradienon-I, kann also als Anhydro-oleanolsäure-lacton-I bezeichnet werden.

Bei der Oxydation mit Chromsäure in kochender Eisessiglösung entsteht aus II das gesuchte, früher aus Hederagenin und Sumaresinolsäure gewonnene Anhydrid-

¹⁾ 101. Mitt. Helv. **29**, 204 (1946).

²⁾ Helv. **27**, 1185 (1944).

³⁾ An der Brücke zwischen den Ringen A und B.

⁴⁾ Winterstein und Stein, Z. physiol. Ch. **199**, 64 (1931).

⁵⁾ Helv. **28**, 767, 942, 1628 (1945).

⁶⁾ Helv. **26**, 2242 (1943).

lacton der C_{26} -Oxy-tetrasäure (IXa), welches durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt identifiziert wurde. Auch der Methyl-ester IXb ist mit dem früher beschriebenen Präparat identisch. IXa erhält man ferner in einer bedeutend gesteigerten Ausbeute bei der Ozonisation von II und der oxydativen Spaltung des nicht isolierten, amorphen Ozonides mit Chromsäure.

Die Wasserabspaltung mit Phosphorpentachlorid ist das einzige bisher gefundene Verfahren, um zu der Verbindung II zu gelangen. Bei der Wasserabspaltung mit aktivierter Fullererde in siedender Xylol-Lösung entsteht nämlich aus Oleanolsäure-lacton (I) vorwiegend ein bei $272-274^{\circ}$ schmelzendes Produkt $C_{30}H_{46}O_2$ (V). Die Verbindung ist ein Isomeres von II und lässt sich daraus durch Kochen mit alkoholischem Chlorwasserstoff oder durch Behandlung mit Palladium-Calciumcarbonat und Wasserstoff in alkoholischer Lösung erhalten. Eine analoge Verschiebung der Doppelbindung haben wir früher bei Umwandlungsprodukten der Sumaresinolsäure¹⁾ und des α -Amyrins²⁾ beobachtet. Wie früher kann auch diesmal angenommen werden, dass die Isomeren $C_{30}H_{46}O_2$ (II und V) das gleiche Kohlenstoffgerüst besitzen und sich nur durch die Lage der bei der Wasserabspaltung entstehenden Doppelbindung unterscheiden.

Im Einklang mit der angenommenen Konstitution von V stehen weiter folgende Reaktionen. Die Einwirkung von Osmiumtetroxyd auf V führt zu einem bei $293-296^{\circ}$ schmelzenden Diol $C_{30}H_{48}O_4$ (VI), welches mit Blei(IV)-acetat eine Verbindung $C_{30}H_{46}O_4$ (VII) liefert. Darnach liegt in dem Isomeren vom Smp. $272-274^{\circ}$ (V) die Doppelbindung nicht in einer Seitenkette, da sonst bei der Oxydation des aus ihr gewonnenen α -Glykols eine Verbindung mit geringerer Kohlenstoffzahl entstehen müsste. VII ist gegen Chromsäure bei Zimmertemperatur beständig, wonach die gleichfalls zur Diskussion stehende Formulierung als Keto-aldehyd (VIII) an Wahrscheinlichkeit verliert. V ist also analog gebaut wie das früher beschriebene α -Amyradienon-II und wird demnach Anhydro-oleanolsäure-lacton-II benannt.

Bei der Oxydation mit Chromsäure unter den gleichen Bedingungen, die oben bei der Oxydation des Anhydro-lactons-I (II) angegeben worden sind, liefert das Anhydro-lacton-II (V) in der Hauptsache ein neutrales Oxydationsprodukt $C_{30}H_{44}O_3$, welches im U.V. ein Absorptionsmaximum bei $240\text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,0^3$) besitzt. Die Verbindung $C_{30}H_{44}O_3$ ist mit dem aus Sumaresinolsäure gewonnenen Produkt gleicher Zusammensetzung XI⁴⁾ nicht identisch und könnte demnach mit Vorbehalt als X⁵⁾ formuliert werden.

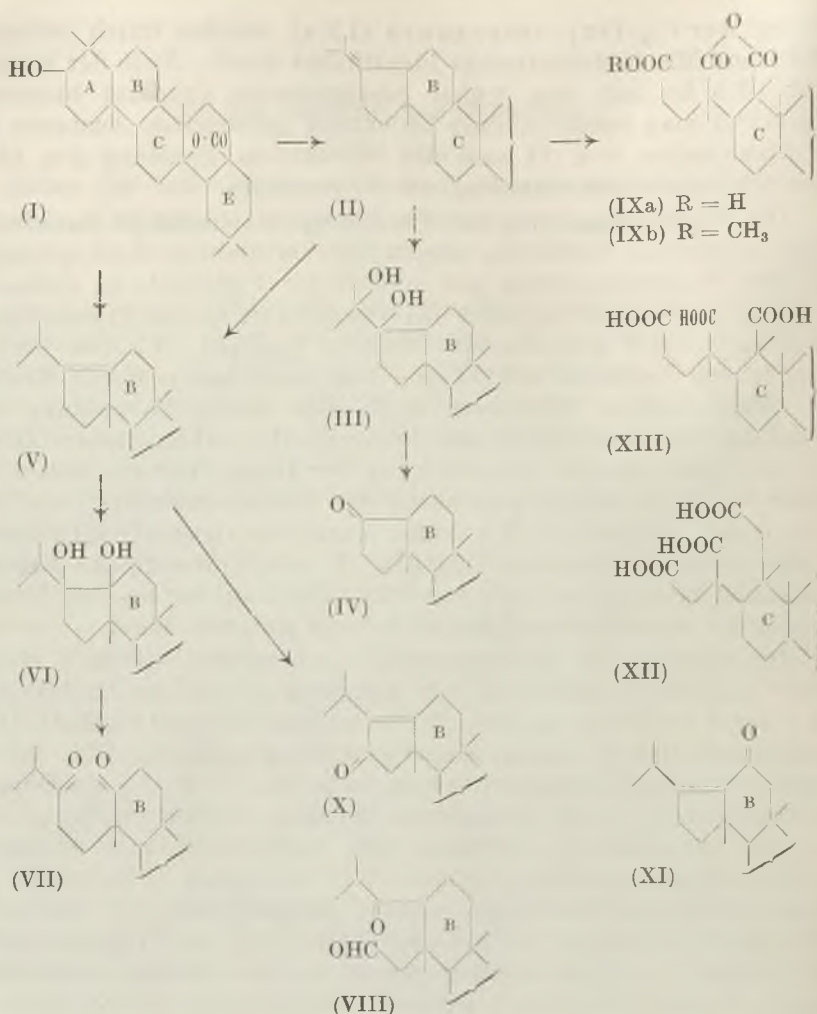
¹⁾ Helv. **28**, 380 (1945).

³⁾ Aufgenommen in alkoholischer Lösung.

²⁾ Helv. **28**, 1628 (1945).

⁴⁾ Helv. **28**, 380 (1945).

⁵⁾ Bzw. als Isomeres mit semicyclischer Lage der Doppelbindung, welche mit dem Absorptionsmaximum besser im Einklang stehen würde.



Der *Rockefeller Foundation* in New York danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil¹⁾.

Einwirkung von Phosphorpentachlorid auf Oleanolsäure-lacton (I).

5,5 g Oleanolsäure-lacton²⁾ werden in 250 cm³ Petroläther suspendiert, dann im Verlaufe von 3 Stunden portionsweise mit 3,6 g Phosphorpentachlorid versetzt und das Gemisch 20 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nur ein Teil der Substanz geht dabei in die Lösung; der Rückstand wird von der Lösung getrennt und in Chloroform

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert. Die spez. Drehungen wurden in Chloroform in einem Rohr von 1 dm Länge bestimmt.

²⁾ Hergestellt in Anlehnung an die Vorschrift von *Winterstein* und *Stein*, Z. physiol. Ch. 199, 64 (1931).

gelöst. Die Petroläther- und Chloroform-Lösungen werden getrennt, mit Wasser und verdünnter Natronlauge gewaschen, getrocknet und eingedampft. Die Rückstände werden vereinigt (5,7 g) und über eine Säule aus 100 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) chromatographiert.

| | | |
|----------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| Fractionen 1—6 | 1,3 Liter Benzol-Petroläther (1:1) | 3,30 g Smp. 286–291° (Hochvakuum) |
| 7—9 | 1,5 Liter Benzol-Petroläther (1:1) | 0,22 g Smp. 270–278° (Hochvakuum) |
| 10—13 | 1 Liter Benzol | 0,30 g chlorhaltig, ölig |
| 14—17 | 2,5 Liter Äther | 1,90 g Smp. 337–342° (Hochvakuum) |

Fractionen 1–6 und 7–9 kristallisieren aus Chloroform-Methanol in Blättchen vom Smp. 297–299° (Hochvakuum); sie sind chlorfrei und geben mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum bei 215° sublimiert.

3,722; 3,740 mg Subst. gaben 11,143; 11,213 mg CO₂ und 3,529; 3,487 mg H₂O

| | | |
|--|---------------------|-----------------|
| C ₃₀ H ₄₆ O ₂ | Ber. C 82,14 | H 10,57% |
| | Gef. „ 81,70; 81,82 | „ 10,61; 10,43% |

$$[\alpha]_D = -1^\circ \quad (c = 0,678)$$

Es liegt das Anhydro-oleanolsäure-lacton-I (II) vor. Fractionen 10–13 sind vorläufig nicht weiter untersucht worden.

Fractionen 14–17 bestehen aus unverändertem Ausgangsmaterial.

Oxydation des Anhydro-oleanolsäure-lactons-I (II) mit Ozon und Chromsäure zum C₂₆-Oxy-tetrasäure-lacton-anhydrid (IXa).

550 mg Subst. werden in 25 cm³ Chloroform gelöst und bei 0° bis zum Verschwinden der positiven Tetranitromethan-Probe ozonisiert. Das Chloroform wird dann verdampft, der Rückstand in 16 cm³ siedendem Eisessig mit einer Lösung von 1,06 g Chromtrioxyd in 14 cm³ Eisessig versetzt und das Gemisch 1 Stunde am Rückfluss erhitzt. Der Kaliumhydrogencarbonat-Auszug (360 mg) gibt aus Aceton-Hexan Blättchen oder Nadeln vom Smp. 244–246°. Zur Analyse wurde über Nacht bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

3,705 mg Subst. gaben 9,203 mg CO₂ und 2,600 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|---------|
| C ₂₆ H ₃₆ O ₇ | Ber. C 67,80 | H 7,88% |
| | Gef. „ 67,79 | „ 7,85% |

$$[\alpha]_D = \pm 0^\circ \quad (c = 0,942)$$

Nach Schmelzpunkt und Mischprobe ist die Verbindung mit dem früher beschriebenen C₂₆-Oxy-tetrasäure-anhydrid-lacton (IXa) identisch¹⁾.

Der Soda-Auszug (50 mg) konnte bis jetzt nicht kristallin erhalten werden, die Neutralprodukte der Oxydation (90 mg) wurden bis jetzt nicht untersucht. Das C₂₆-Oxy-tetrasäure-anhydrid-lacton (IXa) kann in schlechterer Ausbeute bei der direkten Oxydation von II mit Chromtrioxyd in siedender Eisessiglösung erhalten werden.

Der Methylester kristallisiert aus Chloroform-Methanol in Blättchen vom Smp. 253–254°. Die Substanz ist nach der Mischprobe mit dem früher von uns beschriebenen Präparat¹⁾ identisch. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 225° sublimiert.

3,713 mg Subst. gaben 9,289 mg CO₂ und 2,681 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|---------|
| C ₂₇ H ₃₈ O ₇ | Ber. C 68,33 | H 8,07% |
| | Gef. „ 68,28 | „ 8,08% |

$$[\alpha]_D = \pm 0^\circ \quad (c = 0,573)$$

Es liegt das C₂₆-Oxy-tetrasäure-anhydrid-methylester-lacton (IXb) vor.

Oxydation des Anhydro-oleanolsäure-lactons-I (II) mit Osmiumtetroxyd.

1 g Substanz wird in 20 cm³ Chloroform gelöst und mit 580 mg Osmiumtetroxyd versetzt. Nach 3 Tagen wird die dunkelbraune Lösung abgedampft, der Rückstand in 80 cm³ Benzol-Alkohol (1:1) gelöst und mit 1 g Kalilauge und 1,6 g Mannit während

¹⁾ Helv. 28, 380 (1945).

5 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Die Lösung wird auf $\frac{1}{3}$ des ursprünglichen Volumens eingengt, mit Wasser verdünnt und mit Äther gut ausgewaschen. Der Rückstand der ätherischen Lösung (1,08 g) wird in Benzol gelöst und durch eine Säule aus 30 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) chromatographiert.

| | | | |
|----------------|---|--------|----------------------------|
| Fraktionen 1—4 | 500 cm ³ Benzol | 40 mg | |
| | 5—9 1000 cm ³ Benzol | 420 mg | Smp. 300—310° (Hochvakuum) |
| | 10—16 2000 cm ³ Benzol-Äther | 480 mg | Smp. 310—320° (Hochvakuum) |
| | 17—24 1500 cm ³ Äther | 130 mg | Smp. 308—320° (Hochvakuum) |

In den Fraktionen 1—4 liegt unverändertes Ausgangsmaterial vor. Fraktionen 5—9, 10—16, 17—24 werden vereinigt und aus Chloroform-Hexan umkrystallisiert. Smp. 315—320°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum über Nacht bei 120° getrocknet.

3.190 mg Subst. gaben 8,839 mg CO₂ und 2,872 mg H₂O

C₃₀H₄₈O₄ Ber. C 76,22 H 10,24%
Gef. „ 75,62 „ 10,08%

Es liegt das Diol III vor.

Oxydation des Diols (III) mit Blei(IV)-acetat.

920 mg Substanz vom Smp. 310—315° werden in 20 cm³ Chloroform und 35 cm³ Eisessig gelöst, mit 1,21 g 90-proz. Blei(IV)-acetat versetzt und über Nacht stehen gelassen. Die Lösung wird dann mit Wasser verdünnt und wie üblich aufgearbeitet. Der neutrale Rückstand der Oxydation (910 mg) wird in Benzol-Petroläther (3:2) gelöst und durch eine Säule aus 27 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert.

| | | | |
|-----------------|--|--------|----------------------------|
| Fraktionen 1—10 | 1500 cm ³ Benzol-Petroläther 3:2 | 410 mg | Smp. 280—289° (Hochvakuum) |
| | 11—15 800 cm ³ Benzol-Petroläther 3:1 | 50 mg | Smp. 268—276° (Hochvakuum) |
| | 16—20 1000 cm ³ Benzol | 60 mg | Smp. 260—285° (Hochvakuum) |

Fraktionen 1—10 krystallisieren aus Chloroform-Methanol in Blättchen vom Smp. 287—289° (Hochvakuum). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 215° sublimiert.

3,709 mg Subst. gaben 10,666 mg CO₂ und 3,240 mg H₂O

C₂₇H₄₀O₃ Ber. C 78,59 H 9,77%
Gef. „ 78,48 „ 9,78%

$[\alpha]_D = +122^\circ$ (c = 1,208)

Es liegt das C₂₇-Oxy-keto-lacton (IV)¹⁾ vor.

Erhitzen des Oleanolsäure-lactons (I) mit Fullererde in Xylol-Lösung.

2,7 g Substanz werden in 75 cm³ trockenem Xylol mit 3,8 g aktivierter Fullererde²⁾ während 3 Stunden gekocht, dann abermals mit 4 g Fullererde versetzt und weitere 3 Stunden erhitzt. Nach der Aufarbeitung wird der krystalline Rückstand (2,2 g) dreimal mit 150 cm³ heissem Petroläther extrahiert. Der im Petroläther unlösliche Anteil (780 mg) schmilzt bei 265—267° (Hochvakuum). Nach Umkrystallisation aus Chloroform-Methanol erhöht sich der Schmelzpunkt auf 272—274° (Hochvakuum). Das im Hochvakuum bei 230° sublimierte Analysenpräparat gibt mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung.

3,708 mg Subst. gaben 11,142 mg CO₂ und 3,540 mg H₂O

C₃₀H₄₆O₂ Ber. C 82,14 H 10,57%
Gef. „ 82,00 „ 10,68%

$[\alpha]_D = +47,4^\circ$ (c = 0,632)

Es liegt das Anhydro-oleanolsäure-lacton-II (V) vor.

¹⁾ Helv. 26, 2242 (1943); bei dem Präparat aus Hederagenin wurde irrtümlicherweise eine spez. Drehung von +152° angegeben. Eine nun wiederholte Bestimmung der Drehung ergab $[\alpha]_D = 119^\circ$ (c = 0,706).

²⁾ Aktiviert durch Erhitzen auf 330° (11 mm).

Über die Verarbeitung der in Petroläther löslichen Reaktionsprodukte werden wir später berichten.

Oxydation des Anhydro-oleanolsäure-lactons-II (V) mit Osmiumtetroxyd.

500 mg Substanz werden in 100 cm³ Dioxan gelöst, mit 280 mg Osmiumtetroxyd versetzt und 13 Tage stehen gelassen. Nach der für die Oxydation des Anhydro-lactons-I beschriebenen Aufarbeitung erhält man 560 mg Substanz, die in Benzol gelöst und durch eine Säule aus 18 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert werden.

Fraktionen 1—7 1500 cm³ Benzol 150 mg amorph
8—20 2000 cm³ Äther 400 mg Smp. 280—290° (Hochvakuum)

Die Fraktionen 1—7 wurden verworfen. Die Eluate 8—20 krystallisieren aus Chloroform-Methanol in Nadeln vom Smp. 293—296° (Hochvakuum). Zur Analyse wurde im Hochvakuum 14 Stunden bei 110° getrocknet.

3,762 mg Substanz gaben 10,454 mg CO₂ und 3,376 mg H₂O

C₃₀H₄₈O₄ Ber. C 76,22 H 10,24%
Gef. „ 75,83 „ 10,04%

$[\alpha]_D = +13^\circ$ (c = 0,829)

Es liegt das Diol (VI) vor.

Oxydation des Diols (VI) mit Blei(IV)-acetat.

50 mg des Diols werden in 2 cm³ Chloroform und 5 cm³ Eisessig gelöst und mit 65 mg 90-proz. Blei(IV)-acetat versetzt. Aus Aceton-Hexan erhält man Nadeln vom Smp. 202—203,5°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum 14 Stunden bei 110° getrocknet.

3,712 mg Subst. gaben 10,397 mg CO₂ und 3,295 mg H₂O

C₃₀H₄₆O₄ Ber. C 76,55 H 9,85%
Gef. „ 76,44 „ 9,93%

$[\alpha]_D = -16,5^\circ$ (c = 0,903)

Es liegt das Diketon (VII) vor.

Beim Versuch der Oxydation von VII mit Chromtrioxyd in Eisessiglösung bei 20° wird das Oxydationsmittel nicht verbraucht und VII quantitativ zurückgewonnen. Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit dem Ausgangsmaterial 202—203,5° (Hochvakuum)

$[\alpha]_D = -18^\circ$ (c = 0,935)

Oxydation des Anhydro-oleanolsäure-lactons-II (V) mit Chromsäure.

320 mg Substanz werden in 16 cm³ Eisessig und 6 cm³ Tetrachlorkohlenstoff gelöst und mit einer Lösung von 670 mg Chromtrioxyd in 8 cm³ Eisessig während 1 Stunde gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung konnten weder aus dem Kaliumhydrogencarbonat-Auszug (90 mg) noch aus dem Soda-Auszug (70 mg) krystalline Produkte erhalten werden. Der neutrale Anteil der Oxydation (200 mg) wird durch eine Säule aus 2,5 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert.

Fraktionen 1—11 920 cm³ Benzol-Petroläther (1:1) 70 mg Krystalle
12—16 500 cm³ Benzol 60 mg Krystalle
17—23 600 cm³ Benzol-Äther (1:1) 50 mg Öl

Fraktionen 1—11: Blättchen aus Chloroform-Methanol vom Smp. 350—354° (Hochvakuum). Die Substanz konnte bis jetzt nicht analysenrein erhalten werden.

Fraktionen 12—16: Aus Chloroform-Methanol bei 253—255° (Hochvakuum) schmelzende, gegen Tetranitromethan gesättigte Blättchen. Analysiert wurden zwei verschiedene, im Hochvakuum bei 180° sublimierte Präparate.

3,770; 3,806 mg Subst. gaben 10,959; 11,090 mg CO₂ und 3,308; 3,353 mg H₂O

C₃₀H₄₄O₃ Ber. C 79,60 H 9,80%
Gef. „ 79,33; 79,52 „ 9,82; 9,86%

Es liegt die Verbindung X (?) vor.

Isomerisierung des Anhydro-oleanolsäure-lactons-I (II).

a) Mit Chlorwasserstoff in Alkohol.

120 mg Substanz werden in 100 cm³ Alkohol und 5 cm³ Tetrachlorkohlenstoff gelöst und mit 4 cm³ konz. Salzsäure 3 Stunden gekocht. Die Lösung wird im Vakuum auf die Hälfte eingengt, in Wasser gegossen und wie üblich aufgearbeitet. Das Präparat krystallisiert aus Chloroform-Methanol in Blättchen, die bei 269—270° (Hochvakuum) schmelzen, halogenfrei sind, mit Tetranitromethan Gelbfärbung und mit Anhydro-oleanolsäure-lacton-II keine Schmelzpunktserniedrigung geben. Nach weiterem Umlösen steigt der Schmelzpunkt auf 271—273° (Hochvakuum).

$$[\alpha]_D = +43^\circ \quad (c = 0,812)$$

b) Mit Palladium-Calciumcarbonat in Wasserstoffatmosphäre.

100 mg Substanz werden in 140 cm³ Feinsprit gelöst und mit 100 mg Palladium-Calciumcarbonat in Wasserstoffatmosphäre bei Zimmertemperatur während 20 Stunden geschüttelt. Die Substanz krystallisiert aus Chloroform-Methanol in Blättchen, die bei 270—272° (Hochvakuum) schmelzen und mit Anhydro-oleanolsäure-lacton-II (V) keine Schmelzpunktserniedrigung geben.

$$[\alpha]_D = +43^\circ \quad (c = 0,847)$$

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

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

30. Untersuchungen über die Gewebsatmung

1. Die Aktivierbarkeit der tierischen Atmung durch Aminosäuren

von S. Edlbacher und O. Wiss (unter Mitwirkung von Frieda Nebiker)

(22. XII. 45.)

Die gegenwärtigen Anschauungen über den Mechanismus der tierischen Gewebsatmung verdanken wir in erster Linie den grundlegenden Arbeiten von O. Warburg über das strukturgebundene eisenhaltige Häminferment. Die theoretisch wichtigen Untersuchungen von H. Wieland einerseits und Thunberg andererseits über Dehydrierungsvorgänge bildeten die Voraussetzung zur Entdeckung des wasserlöslichen eisenfreien Atmungsfermentes. Auch hier hat wiederum O. Warburg mit seiner Schule mit der Entdeckung des gelben Fermentes den entscheidenden Schritt getan. R. Kuhn, Theorell, P. Karrer, H. von Euler und Green haben dann in erster Linie entscheidende Fortschritte dieser Arbeitsrichtung erzielt. Die Charakterisierung der Cytochrome, einer dritten essentiellen Komponente der tierischen Atmung verdanken wir vor allem Untersuchungen von Keilin und Theorell. Später wurden dann durch Warburg und von Euler die Pyridin-Proteide als weitere enzymatische

Bestandteile in das Atmungssystem eingegliedert. *Szent Györgyi* und Mitarbeiter haben durch Untersuchungen über den Einfluss von Fumarsäure auf die Sauerstoffzehrung von Muskelgewebe dem Problem der Atmung eine neue Seite abgewonnen. Sie konnten zeigen, dass die Atmungsgrösse von überlebenden Geweben (Muskel, Leber, Niere) durch Zusatz von kleinen Mengen Fumarsäure sich ungefähr verdoppeln lässt. Der Ausbau dieser Untersuchungen hat sie dann zur Annahme geführt, dass die Fumarsäure durch cyclische Änderung ihrer Oxydationsstufe einen sogenannten Zwischenkatalysator der Atmung darstellt. Auf Grund der Tatsache, dass Citronensäure, dem Muskelgewebe zugesetzt, den Sauerstoffverbrauch steigert, und im Hinblick auf die von *F. Knoop* und *Martius* gefundene Kondensation von Brenztraubensäure und Oxalessigsäure zu Citronensäure hat schliesslich *H. A. Krebs* den sogenannten Citronensäurecyclus entwickelt.

Vor kurzem haben wir nachweisen können, dass Aminosäuren und Proteine als Katalysatoren den oxydativen Abbau von *d*-Aminosäuren entscheidend beeinflussen können¹). Es liess sich zeigen, dass unter geeigneten experimentellen Bedingungen, ohne den aktivierenden Einfluss von Aminosäuren oder Proteinen tatsächlich keine Oxydation der *d*-Aminosäure erfolgt, während nach Zusatz von geringen Mengen dieser Katalysatoren eine kräftige oxydative Desaminierung resultiert. Die folgenden Untersuchungen zeigen nun, dass die Atmung nativer Organextrakte und Organbreie durch Aminosäuren enorm gesteigert werden kann. Schon früher konnte der eine von uns (*E.*) gemeinsam mit *H. Grauer*²) zeigen, dass *l*- und *d*-Histidin den Sauerstoffverbrauch von Rattenleberextrakt steigert. Dabei ergab sich, dass weder ein Absinken der Imidazolwerte, noch eine Mehrbildung von Ammoniak zu beobachten war.

Diese Versuche wurden damals so gedeutet, dass das Histidin durch eine Oxydase in irgend einer unbekanntem Weise abgebaut wird. Auf Grund unserer jetzigen Einblicke ist nun zu sagen, dass diese mit Histidin ausgeführten Versuche ebenfalls so zu deuten sind, dass diese Aminosäure als Atmungsaktivator funktioniert und nicht als Substrat. Dadurch erklärt sich auch die Tatsache der Konstanz der Imidazolwerte und das Fehlen von Ammoniakbildung. Im weiteren geht aus unseren Versuchen hervor, dass dieser Reaktion ganz allgemeine Bedeutung zukommt, indem die Aktivierungseffekte an verschiedenen Organen bei der Ratte und beim Meerschweinchen nachgewiesen werden konnten. Bemerkenswert erscheint uns auch die Tatsache, dass es sich um ein eminent labiles Fermentsystem handelt. So gelingt es nur bei äusserst raschem Arbeiten und starker Kühlung der Gewebe bei der Präparation die typischen Steigerungseffekte zu erzielen.

¹) *Helv.* **28**, 797 und 1111 (1945).

²) *Helv.* **26**, 864 (1943).

Experimenteller Teil.

1. Methoden.

Die Messung des Sauerstoffverbrauchs und der Ammoniakbildung geschah in der üblichen Weise nach *O. Warburg* und *Conway* (l. c.) Der Histidinnachweis erfolgte einerseits nach *Eldbacher* und Mitarbeitern¹⁾, andererseits kam die von *Conrad* und *Berg*²⁾ modifizierte Bestimmung nach *Kapeller-Adler* zur Anwendung, die in unserem Institut eine weitere Ausarbeitung erfahren hat³⁾. Es hat sich als notwendig erwiesen, der Enzympräparation besondere Beachtung zu schenken. So hat sich gezeigt, dass die typischen Steigerungseffekte als Folgen von zu langsamem Arbeiten oder von ungenügender Kühlung vollständig unterbleiben können. Die Tiere wurden erst getötet, nachdem alle übrigen Versuchsvorbereitungen abgeschlossen waren, so dass nach Zugabe des Enzyms der Atmungsversuch sofort in Gang gesetzt werden konnte. Der Muskelbrei wurde folgendermassen präpariert: Dem durch Kopfschlag getöteten Tier wurde möglichst rasch das Fell abgezogen, mit wenigen Scherenschnitten die Ober- und Unterschenkelmuskulatur vom Knochen abgetrennt und die Muskelstücke sofort in ein in einer Kältemischung (Eis-Kochsalz) gekühltes Becherglas gegeben. Anschliessend wurden die Muskelstücke in der eisgekühlten *Latapie*-Mühle gemahlen, nachdem gemäss den Angaben von *Szent Györgyi* die Zermahlungsscheibe entfernt worden war. Der gewogene Brei wurde sofort mit eiskaltem Phosphatpuffer zu einer möglichst homogenen Mischung verrührt und mittels einer Pipette von weiter Ausflussöffnung in die *Warburg*-Gefässe verteilt. Vom Zeitpunkt der Tötung der Tiere bis zum Einhängen der Manometer in den Thermostaten sollten höchstens 20 Minuten verstreichen. Auch beim Arbeiten mit Extrakten erwiesen sich die angeführten Kautelen als unerlässlich. Nach rascher Isolierung der Organe wurden sie mittels Seesand im eiskalten Mörser zu einem homogenen Brei verrieben, im eiskalten Puffer suspendiert und während 1—2 Minuten zentrifugiert. Im allgemeinen wurde auch bei dieser Präparation die Zeitspanne von 20 Minuten nicht überschritten. Wie wir weiter unten am Beispiel zeigen werden, war es notwendig, das Substrat sofort in den Hauptraum zu geben. Wenn nämlich die Enzymlösung zum Temperaturengleich während 10 Minuten ohne Substrat geschüttelt wurde, so erwies sie sich in der Folge für unsere Untersuchungszwecke als wirkungslos. Wir haben deshalb immer Substrat und Effektor gleich zu Beginn des Versuches in den Hauptraum gegeben.

Unter Beachtung der angeführten Kautelen gelingt es regelmässig die typischen Steigerungseffekte zu erzielen. Doch es liegt wohl auf der Hand, dass bei der ausserordentlichen Labilität des Enzymsystems, die absolute Grösse des Aktivierungseffektes relativ grossen Schwankungen unterliegen muss. Möglicherweise werden Untersuchungen über Alter und Geschlechtsunterschiede und Einfluss der Stoffwechsellage systematische Abweichungen ergeben. In den vorliegenden Untersuchungen wurden diese Gesichtspunkte noch nicht berücksichtigt.

2. Untersuchungen an Leberextrakten.

Eldbacher und *Grauer*⁴⁾ haben feststellen können, dass bei Zusatz von *l*- und *d*-*Histidin* zu verdünnten Rattenleberextrakten eine Zunahme der Sauerstoffzehrung auftritt. Es konnte damals gezeigt werden, dass dabei im Falle des *d*-*Histidins* keine merkliche Menge Ammoniak gebildet wird, und dass keine Abnahme der Imidazolwerte nachweisbar war. Entsprechende Untersuchungen bei *l*-*Histidin*zusatz lassen sich wegen der Anwesenheit der *Histidase* nicht verwerten. In Unkenntnis der erst später entdeckten Effektorenwirkung der Aminosäuren musste damals der Schluss gezogen werden, dass *d*- und *l*-*Histidin* oxydativ abgebaut werden. Dass tatsächlich kein oxydativer Abbau der genannten Substrate stattfindet, geht aus den folgenden Untersuchungen klar hervor. Im übrigen ist es sehr wohl möglich, dass nach Kenntnis der aktivierenden Wirkung der Aminosäuren auf die verschiedensten enzymatischen Vorgänge, weitere solche Einzel-

1) Z. physiol. Ch. **270**, 157 (1941).

3) Helv. **29**, 226 (1946).

2) J. Biol. Chem. **117**, 350 (1937).

4) Helv. **26**, 864 (1943).

enzyme ihre Existenzberechtigung verlieren. Vor allem dann, wenn bei Verwendung von nativen Breien und Extrakten lediglich aus der Sauerstoffzehrung auf ein einzelnes Enzym geschlossen wird.

a) Steigerung der Leeratmung von Leberextrakten.

Verdünnter Rattenleberextrakt (1 Gewichtsteil Leber: 3 Gewichtsteile Phosphatpuffer $p_H = 8,0$) zeigt bei Zusatz von verschiedenen Aminosäuren eine deutliche Zunahme des Sauerstoffverbrauches. Die optischen Antipoden verhalten sich im Prinzip gleich. Die *d*-Mono-aminomonocarbonsäuren erwiesen sich für diese Untersuchungszwecke als ungeeignet, da eventl. Steigerungseffekte durch die intensive oxydative Desaminierung überdeckt werden.

Der durch die übrigen Aminosäuren verursachte Sauerstoffverbrauch ist von nur unbedeutender Ammoniakbildung begleitet. Dass die zugesetzten Aminosäuren tatsächlich als Aktivatoren wirken und nicht etwa oxydativ abgebaut werden, liess sich im Falle des *d*-Histidins eindeutig nachweisen. Der Nachweis mittels der *Kapeller-Adler*-Reaktion, deren Eintritt an die intakte Histidinmolekel gebunden ist, hat ergeben, dass vor und nach abgelaufener Reaktion genau die gleiche Menge *d*-Histidin nachweisbar ist.

Tabelle 1.

A.

Rattenleberbrei mit doppelter Phosphatpuffermenge versetzt $p_H = 8,0$.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 3 cm³.

Versuchsdauer = 1 Stunde.

| Leber- extrakt cm ³ | Zusatz | Mol | mm ³ O ₂ - Ver- brauch | mm ³ O ₂ - Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ NH ₃ - Bildung | mm ³ NH ₃ - Bildung abzüglich Leerwert |
|--------------------------------------|--------------------------|------|--|--|---|---|
| 1 | | | 90 | | 106 | |
| 1 | <i>l</i> -Histidin | m/10 | 174 | 84 | 441 | 335*) |
| 1 | <i>d</i> -Histidin | m/10 | 195 | 105 | 148 | 42 |
| 1 | <i>l</i> -Arginin | m/10 | 136 | 46 | 103 | 3 |
| 1 | <i>d</i> -Arginin | m/10 | 118 | 28 | 107 | 1 |
| 1 | <i>l</i> -Phenylalanin | m/10 | 159 | 69 | 128 | 22 |
| 1 | <i>l</i> -Asparaginsäure | m/10 | 151 | 61 | 130 | 24 |
| 1 | <i>l</i> -Glutaminsäure | m/10 | 161 | 71 | 121 | 15 |
| 1 | <i>l</i> -Leucin | m/10 | 162 | 72 | 133 | 27 |

*) Histidasewirkung.

B.

Rattenleberbrei mit doppelter Phosphatpuffermenge versetzt $p_H = 8,0$.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 3 cm³.

Versuchsdauer = 1 Stunde.

| Leber- extrakt cm ³ | <i>d</i> -Histidin Mol | mm ³ O ₂ -Ver- brauch | mm ³ O ₂ -Ver- brauch abzüglich Leerwert |
|--------------------------------------|---------------------------|--|---|
| 1 | | 160 | |
| 1 | m/50 | 287 | 127 |
| 1 | m/50 | 313 | 153 |

In mehreren Parallelansätzen zeigte sich, dass vor und nach Ablauf des Atmungsversuches genau die gleiche Histidinmenge nachgewiesen werden konnte. Die Bestimmung erfolgte nach der umgearbeiteten Methode von *Kapeller-Adler*.

| | |
|--|--------|
| Zugesetzte Histidinmenge | 3,1 mg |
| Vor dem Versuch nachgewiesene Histidinmenge | 3,3 mg |
| | 3,4 mg |
| Nach dem Versuch nachgewiesene Histidinmenge | 3,3 mg |
| | 3,3 mg |

Tabelle 2 zeigt, dass sich auch die Leeratmung von Meerschweinchen-Leberextrakten beträchtlich aktivieren lässt.

Tabelle 2.

Meerschweinchenleber mit Seesand verrieben, mit gleicher Phosphat-Puffermenge $p_H = 8,0$ versetzt.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 3 cm³.

Versuchsdauer = 2 Stunden.

| Leber-extrakt cm ³ | <i>l</i> -Histi- din Mol | <i>d</i> -Histi- din Mol | mm ³ O ₂ -Ver- brauch | mm ³ O ₂ - Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ NH ₃ - Bildung | mm ³ NH ₃ - Bildung abzüglich Leerwert |
|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---|--|---|---|
| 1 | | | 905 | | 251 | |
| 1 | m/100 | | 1325 | 420 | 945 | 694*) |
| 1 | | m/100 | 1165 | 260 | 306 | 55 |

*) Histidasewirkung.

b) Steigerung der Substratatmung in Leberextrakten.

Unter Beachtung der oben angegebenen Kautelen bei der Enzympräparation gelingt es, durch Aminosäuren nicht nur eine Steigerung der Leeratmung, sondern auch eine enorme Aktivierung der Substratatmung zu erzielen. In der folgenden Tabelle ist ein Aktivierungseffekt durch *l*-Histidin wiedergegeben. Die Tatsache, dass der durch Histidin zusätzlich verbrauchte Sauerstoff diejenige Menge Sauerstoff weit übersteigt, die bei vollständiger Oxydation des zugesetzten Histidins gebunden würde, beweist, dass das Histidin tatsächlich als Effektor wirkt.

Tabelle 3.

Rattenleber mit Seesand verrieben, mit gleicher Phosphatpuffermenge $p_H = 8,0$ versetzt.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 3 cm³.

Pyruvinat wurde in den Hauptraum, Histidin in den Ansatz eingefüllt.

Histidin nach Temperaturengleichperiode (10 Minuten) zugekippt.

| Leber-extrakt cm ³ | Pyruvinat Mol | <i>l</i> -Histidin Mol | mm ³ O ₂ - Verbrauch | mm ³ O ₂ -Ver- brauch abzüglich Leerwert |
|----------------------------------|------------------|---------------------------|---|---|
| 1,5 | | | 478 | |
| 1,5 | | m/500 | 493 | 15 |
| 1,5 | m/25 | | 620 | 142 |
| 1,5 | m/25 | m/500 | 1760 | 1282 |

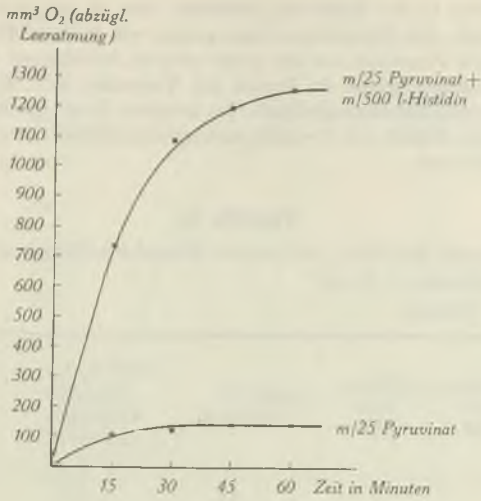


Fig. 1.

Die Ausdehnung der Aktivierungsversuche auf andere Aminosäuren hat gezeigt, dass sicher eine grosse Anzahl derselben als Effektoren wirken kann, und dass sowohl die natürlichen als auch die unnatürlichen Formen wirksam sind.

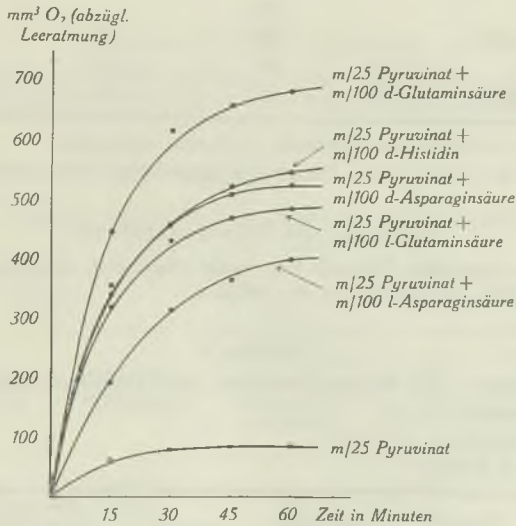


Fig. 2.

Rattenleber mit Seesand verrieben, mit gleicher Phosphatpuffermenge versetzt. $p_H = 8$. Gesamtlüssigkeitsvolumen = 3 cm . Versuchsdauer = 1 h. Pro Ansatz wurden 1,5 cm³ Extrakt eingefüllt.

Wir haben schon in der Einleitung erwähnt, dass es sich um ein äusserst labiles Enzymsystem handelt. Als Illustration dazu geben wir 2 Parallelversuche wieder. Es handelt sich in beiden Versuchen um die genau gleiche Anordnung. Im ersten Versuchsansatz wurde das Substrat gleich zu Beginn des Versuches zum Enzym zugegeben. Es zeigte sich der typische Aktivierungseffekt. Im zweiten Versuchsansatz hingegen wurde das Substrat erst nach Ablauf der Temperaturlausgleichsperiode zum Enzym eingekippt. Die Aktivierung blieb aus.

Tabelle 4.

Rattenleber mit Seesand verrieben, mit gleicher Phosphatpuffermenge versetzt $p_H = 8,0$.
Gesamtflüssigkeitsvolumen = 3 cm³.

Versuchsdauer = 1 Stunde.

| Leber- extrakt cm ³ | Pyruvi- nat Mol | <i>l</i> -Histi- din Mol | mm ³ O ₂ - Verbrauch | mm ³ O ₂ -Ver- brauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Ver- brauch durch Aktivierung bedingt |
|--------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|---|---|---|
| A* | | | | | |
| 1,5 | | | 460 | | |
| 1,5 | m/25 | | 512 | 52 | |
| 1,5 | | m/100 | 499 | 39 | |
| 1,5 | m/25 | m/100 | 1236 | 776 | 685 |
| B** | | | | | |
| 1,5 | | | 464 | | |
| 1,5 | m/25 | | 452 | - 12 | |
| 1,5 | | m/100 | 503 | 41 | |
| 1,5 | m/25 | m/100 | 452 | - 12 | - 41 |

*) Substrat zu Beginn des Versuches zum Enzym zugegeben.

**) Substrat im Ansatz, nach Temperaturlausgleichsperiode zugekippt.

Versuche mit Nierenextrakten.

Wie aus dem folgenden Versuch hervorgeht, lässt sich die Atmungsgrösse durch Zusatz von *l*-Histidin um ein Mehrfaches erhöhen.

Tabelle 5.

Meerschweinchenieren mit Seesand verrieben, mit 2½facher Menge Phosphatpuffer
 $p_H = 8,0$ versetzt.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 3 cm³.

Versuchsdauer = 2 Stunden.

| Nieren- extrakt cm ³ | <i>l</i> -Histidin Mol | mm ³ O ₂ - Verbrauch | mm ³ O ₂ - Verbrauch abzüglich Leerwert |
|---------------------------------------|---------------------------|---|--|
| 2 | | 550 | |
| 2 | m/100 | 1455 | 905 |

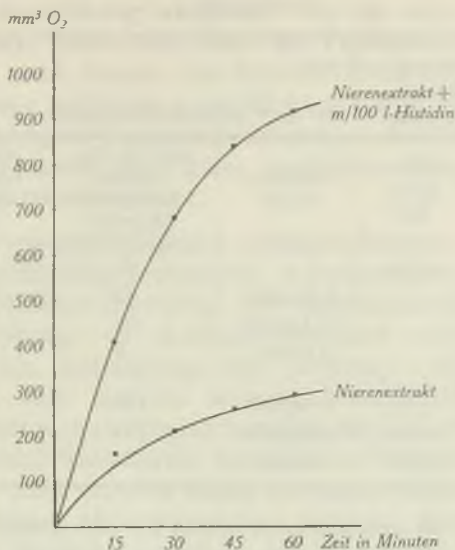


Fig. 3.

Meerschweinchennieren mit Seesand verrieben, mit $3\frac{1}{2}$ facher Phosphatpuffermenge versetzt. $p_H = 8$. Gesamtflüssigkeitsvolumen = 3 cm^3 . Versuchsdauer = 1 h. Pro Ansatz wurden 2 cm^3 Extrakt eingefüllt.

Versuche mit Gehirnextrakt.

In orientierenden Versuchen haben wir feststellen können, dass die typischen Aktivierungseffekte auch bei Verwendung von Gehirnextrakten nachweisbar sind.

Tabelle 6.

Rattengehirn mit Seesand verrieben, mit doppelter Phosphatpuffermenge versetzt
 $p_H = 8,0$.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 3 cm^3 .

Versuchsdauer = 1 Stunde.

| Gehirn-extrakt | l.Histi-din | mm ³ O ₂ -Verbrauch | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ NH ₃ -Bildung | mm ³ NH ₃ -Bildung abzüglich Leerwert |
|-------------------|-------------|---|--|--|---|
| 1 cm ³ | | 137 | | 86 | |
| 1 cm ³ | m/100 | 176 | 39 | 90 | 4 |

Versuche mit Muskelbrei.

Als Beispiel für die Atmungssteigerung im Muskelbrei haben wir die Aktivierung des Abbaus der Milchsäure durch Kreatin und Arginin herausgegriffen.

Tabelle 7.

Rattenmuskelbrei mit doppelter Phosphatpuffermenge versetzt $p_H = 8,0$.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 3 cm³.

Versuchsdauer = 1 Stunde.

Leerwert: 1 cm³ Muskelbrei = 220 mm³ Sauerstoffverbrauch.

| Muskelbrei cm ³ | Milchsäure Mol | Effektor m/50 | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert | mm ³ O ₂ -Verbrauch durch Aktivierung bedingt |
|-------------------------------|-------------------|-------------------|--|---|
| 1 | m/50 | | 54 | |
| 1 | | <i>l</i> -Arginin | 73 | |
| 1 | | <i>d</i> -Arginin | 38 | |
| 1 | | Kreatin | 8 | |
| 1 | m/50 | <i>l</i> -Arginin | 168 | 41 |
| 1 | m/50 | <i>d</i> -Arginin | 177 | 85 |
| 1 | m/50 | Kreatin | 158 | 96 |

Hemmungsversuch mit Kaliumcyanid.

Kaliumcyanid in m/1000 Konzentration hemmt den durch Aktivierung bedingten Sauerstoffverbrauch vollständig.

Tabelle 8.

Rattenleber mit Seesand verrieben, mit gleicher Phosphatpuffermenge versetzt, $p_H = 8,0$.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 3 cm³.

Versuchsdauer = 1 Stunde.

| Leberextrakt cm ³ | <i>l</i> -Histidin Mol | KCN Mol | mm ³ O ₂ - Verbrauch | mm ³ O ₂ -Verbrauch abzüglich Leerwert |
|---------------------------------|---------------------------|------------|---|--|
| 1,5 | | | 370 | |
| 1,5 | m/100 | | 605 | 235 |
| 1,5 | | m/1000 | 235 | |
| 1,5 | m/100 | m/1000 | 231 | - 4 |

Besprechung der Ergebnisse.

Aus den hier mitgeteilten Tatsachen geht hervor, dass die Atmung verschiedener tierischer Gewebe und Gewebsextrakte durch Aminosäuren stark aktivierbar ist. Es handelt sich hier offenbar um eine Reaktionsweise von ganz allgemeiner Bedeutung. Durch diese Feststellung wird auch auf die schon früher von *Edlbacher* und *Grauer* (l. c.) mitgeteilte Beobachtung über die Einwirkung von Leberextrakten auf Histidin neues Licht geworfen, indem diese Versuche so zu deuten sind, dass das Histidin nicht oxydiert wird, sondern als Aktivator der Atmung wirkt. Demnach ordnen sich alle diese Beobachtungen in vollkommener Übereinstimmung zu dem gemeinsamen Gesichtspunkt, dass Aminosäuren auf die Atmung eine

positive Effektorenwirkung ausüben. Wie im experimentellen Teil beschrieben wurde, lassen sich nun die Versuchsbedingungen auch so wählen, dass nach Zusatz des Substrats, der Brenztraubensäure, nur mehr eine ganz minimale zusätzliche Atmung zu beobachten ist. Gerade bei derartigen Versuchsbedingungen bewirkt nun die Zugabe von Aminosäuren eine ganz eminente Steigerung der Veratmung der Brenztraubensäure.

In unseren vorangegangenen Untersuchungen (l. c.) über die Wirkung der hochgradig gereinigten *d*-Aminosäure-oxydase konnte diese positive Effektorenwirkung der Aminosäuren durch die Annahme einer Bildung von Komplex-enzymen erklärt werden. Im jetzigen Falle der Aktivierung der Atmung durch Aminosäuren handelt es sich aber um ein äusserst kompliziertes Oxydationssystem, und es lässt sich auf Grund der bisherigen Beobachtungen noch nicht sagen, welche Teilenzyme am ganzen Vorgang beteiligt sind. Es erscheint uns aber doch in einem gewissen Grade wahrscheinlich, dass auch bei dieser Aktivierung der Atmung durch Aminosäuren die Bildung von Komplex-enzymen die Steigerung der Atmung bewirkt. Die vollständige Hemmbarkeit der durch die Aktivierung erzielten zusätzlichen Mehratmung durch Blausäure weist darauf hin, dass möglicherweise — und zwar im Gegensatz zu der bisher geltenden Meinung — eventuell die Häminfermente auch im zellfreien Milieu wirksam sein können. Durch ihre grosse Labilität ist die von uns gefundene Oxydationsreaktion bisher der Beobachtung entgangen. Die Tatsache, dass im zellfreien Extrakt die Brenztraubensäure in so intensiver Weise oxydiert werden kann, beweist, dass in den verschiedenen Geweben ein labiles, bisher unbekanntes Oxydationssystem existiert, welches wahrscheinlich bei den desmolytischen Vorgängen eine allgemeine und wichtige Rolle spielt. Es ist durchaus möglich, dass diese Feststellungen dazu führen werden, die bisherigen Vorstellungen über die „Hauptatmung“ der Gewebe einer Revision zu unterziehen. Wir haben schon in der 6. Mitteilung der Reihe über den Abbau der Aminosäuren im Organismus im Anschluss an die Effektorenwirkung der Aminosäuren auf die *d*-Aminosäure-oxydase die Beziehung zur spezifisch-dynamischen Wirkung der Aminosäuren erörtert. Nachdem wir nun zeigen konnten, dass dieser katalytischen Wirkung der Aminosäuren ganz allgemeine Bedeutung zukommt, erscheint uns die Annahme berechtigt, dass deren spezifisch-dynamische Wirkung mit der Effektorenwirkung auf enzymatische Vorgänge ihre Erklärung findet.

Zusammenfassung.

1. Aminosäuren können als starke Aktivatoren die Atmungs Vorgänge tierischer Gewebe katalysieren.

2. Es liess sich im zellfreien Organextrakt ein äusserst labiles Atmungssystem nachweisen, das bei Zusatz von Aminosäuren, Brenztraubensäure intensiv oxydiert.

3. Die durch Aktivierung bedingte Atmungsgrösse ist durch Kaliumcyanid in m/1000 Konzentration vollständig hemmbar, während die Leeratmung des Extraktes durch Kaliumcyanid auf ca. die Hälfte reduziert wird.

Basel, im Dezember 1945

Physiologisch-chemisches Institut der Universität.

31. Zur stufenphotometrischen Bestimmung des Histidins

von K. Schmid.

(22. XII. 45.)

Wie *Edlbacher* gemeinsam mit *Baur*, *Stachelin* und *Zeller*¹⁾ nachgewiesen hat, liefert die von *Hanke* und *Koessler*²⁾ ausgearbeitete Bestimmungsmethode des Histidins, welche auf der Kuppelung mit Diazobenzolsulfosäure nach *Pauly* basiert, zu ungenaue Werte. *Edlbacher* und Mitarbeiter konnten jedoch auf Grund derselben Reaktion durch Anwendung von p-Chloranilin einen in Butylalkohol sehr stabilen Azofarbstoff erhalten und so eine äusserst empfindliche Methode entwickeln. Sie schliesst aber den Nachteil in sich, dass sie für Histidin nicht spezifisch ist. Auch andere Imidazolderivate, Tyrosin und Polyphenole zeigen mit verschiedener Empfindlichkeit dieses Verhalten.

Für die Erforschung des Histidin-Stoffwechsels ist es aber von grosser Bedeutung, dass auf Grund einer spezifischen Reaktion gezeigt werden kann, ob am aliphatischen Rest dieser Aminosäure eine Veränderung eingetreten ist.

In der Bromierung des Histidins, die bekanntlich so durchgeführt wird, dass die Histidinlösung mit Bromwasser bis zur Gelbfärbung versetzt und der gebildete Farbstoff in der Wärme entwickelt wird, fand *F. Knoop* einen spezifischen Nachweis. *R. Kapeller-Adler*³⁾ modifizierte diese Reaktion, indem Brom bis zur Blaufärbung von Kaliumjodidstärkepapier zur Lösung zugefügt und der entstandene Farbstoff in Ammoniak-Ammoniumcarbonat-Gemisch entwickelt und seine Intensität stufenphotometrisch gemessen wurde. Arbeitet man jedoch nicht mit reinen Lösungen von Histidin, sondern

¹⁾ Z. physiol. Ch. **270**, 158 (1941).

²⁾ J. Biol. Chem. **59**, 803 (1924).

³⁾ Bioch. Z. **264**, 131 (1933).

z. B. mit Harn, so stösst diese Bestimmung auf grosse Schwierigkeiten, so dass diese Modifikation nur zur approximativen Schätzung des Histidingehaltes herangezogen werden kann. Die Schwierigkeit liegt besonders in der Abschätzung der erforderlichen Brommenge, die so bemessen wird, dass zur vollständigen Bromierung ein Überschuss dieses Reagenzes zur Lösung zugetropft werden muss. Aber schon der geringste Bromüberschuss beeinflusst die Nuance des im alkalischen Medium entstehenden Farbstoffes in entscheidender Weise.

Conrad und *Berg*¹⁾ haben deshalb bei der Bestimmung des Histidins in Eiweisshydrolysaten das überschüssige Brom mit arseniger Säure entfernt. Später versuchte *Racker*²⁾ durch eine weitere Modifikation der durch *Conrad* und *Berg* verbesserten Methode das Histidin im Harn zu bestimmen. Diese Variante liefert aber, wie *Edlbacher* (l. c.) bei deren Nachprüfung fand, keine befriedigenden Resultate.

In eigenen Versuchen wurde nun festgestellt, dass die Bromierung aber dann immer im gleichen Sinn verläuft, wenn die Bromierungslösung eine bestimmte Acidität aufweist. Beachtet man diese Bedingung und entfernt man das überschüssige Brom mit arseniger Säure, so ist es möglich, auch im Harn eine exakte Bestimmung durchzuführen.

Die endgültige Methode unterscheidet sich demnach von dem ursprünglichen Verfahren von *R. Kapeller-Adler* in den folgenden drei Punkten:

1. Das überschüssige Brom wird nach *Conrad* und *Berg* durch arsenige Säure entfernt.
2. Der Harn wird vor der Durchführung der Bestimmung sehr stark verdünnt.
3. Die Bromierung muss bei Gegenwart von überschüssiger Säure durchgeführt werden.

Beschreibung der Methode.

Der 24-Stundenharn einer Ratte wird auf 100 cm³ mit Wasser verdünnt. Proben von je 1 cm³ dieses verdünnten Harns werden mit steigenden Mengen einer Histidinlösung versetzt, die in 100 cm³ 100 mg Histidinhydrochlorid und 2 cm³ 2-n. Schwefelsäure enthält. Andererseits bereitet man sich eine Schwefelsäure von $\frac{1}{25}$ Normalität und füllt damit die mit Histidin versetzten Harnproben auf je 2 cm³ auf. Nun wird soviel einer Bromeisessiglösung (2,5 cm³ Brom + 250 cm³ Eisessig + 750 cm³ Wasser) zugetropft, dass nach 10 Minuten Stehen immer noch ein geringer Überschuss von Brom an der schwachen Gelbfärbung der Lösung zu erkennen ist. Nach 10 Minuten wird die Reaktionsflüssigkeit mit 2 Tropfen einer mit arseniger Säure gesättigten 10-proz. Ammoniaklösung und 2 cm³ eines Ammoniak-Ammoniumcarbonat-Gemisches (2 Teile konz. Ammoniak + 1 Teil 10-proz. Ammoniumcarbonat) versetzt und 5 Minuten im siedenden Wasserbad

¹⁾ J. Biol. Chem. 117, 350 (1937).

²⁾ Biochem. J. 34, 90 (1940).

exponiert, abgekühlt und weitere 10 Minuten zur Entwicklung der Farbe bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wird sie mit dem Ammoniak-Ammoniumcarbonat-Gemisch auf 10 cm³ aufgefüllt und anschliessend wird im Stufenphotometer die Intensität der violetten Lösung unter Vorschalten des Filters S 50 in der 5 mm Küvette gemessen. Als Kompensationsflüssigkeit dient der in gleicher Weise behandelte Harn.

Eichkurve zur Bestimmung des Histidins.

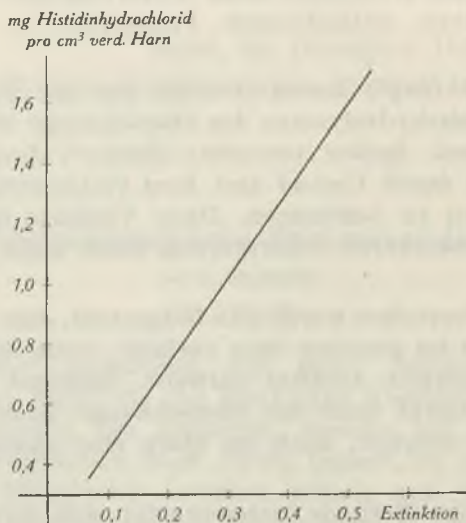


Fig. 1.

Die oben dargestellte Eichkurve ist als Mittel von drei Einzelkurven erhalten worden. Sie zeigt, dass 0,4—1,6 mg Histidinhydrochlorid pro cm³ verdünnten Harnes genau gemessen werden können. Die Einzelbestimmungen schwanken bei gleichem Histidingehalt bis zu 7%. Die Empfindlichkeit dieser Methode ist zehnmal kleiner als diejenige der Methode von *Edlbacher* und Mitarbeiter (l. c.), die auf der Kuppelung des Histidins mit diazotiertem p-Chloranilin fusst. Jedoch hat die hier mitgeteilte Methode den Vorteil, dass sie für Histidin spezifisch ist.

Basel, im Dezember 1945.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

32. Vom Kryptoxanthin sich ableitende Epoxyde und furanoide Oxyde

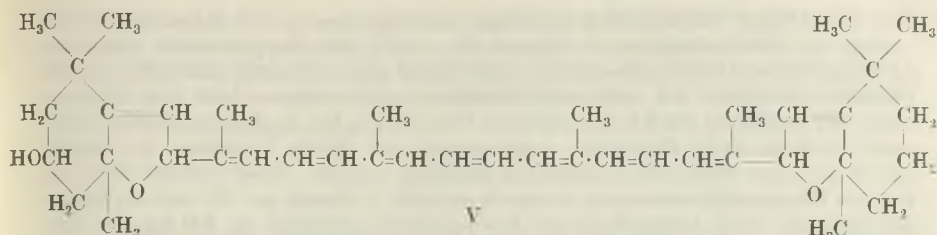
von P. Karrer und E. Jucker.

(23. XII. 45.)

Da Kryptoxanthin (I) wie β -Carotin und Zeaxanthin zwei β -Jononringe enthält, musste es möglich sein, auch aus diesem Carotinoidfarbstoff ein Mono-epoxyd (II oder IIa) und ein Di-epoxyd (III) darzustellen¹⁾. Dies ist uns ohne Schwierigkeit gelungen. Beide Epoxyde verhalten sich gegenüber wenig Chlorwasserstoff enthaltendem Chloroform wie die früher beschriebenen. Kryptoxanthin-mono-epoxyd wird durch dieses Reagens teils in das furanoide Oxyd (IV oder IVa) umgelagert, dem wir den Namen Kryptoflavin geben, teils bildet sich dabei Kryptoxanthin (I) zurück. Aus Kryptoxanthin-di-epoxyd entsteht unter der Wirkung von Chloroform-Chlorwasserstoff durch Umlagerung beider Sauerstoff-haltiger Ringe etwas Kryptochrom (V), durch einseitige Umlagerung und gleichzeitige Eliminierung des zweiten Oxidosauerstoffatoms Kryptoflavin (IV oder IVa) und schliesslich durch Abspaltung beider Sauerstoffatome etwas Kryptoxanthin. Die geringe, zur Verfügung stehende Menge von Kryptoxanthin-di-epoxyd – Kryptoxanthin gehört zu den in grösserer Menge schwer zugänglichen Carotinoidfarbstoffen – verunmöglichte vorläufig die Isolierung des Kryptochroms (V) in kristallisierter Form; wir können diese Verbindung daher vorerst nur durch ihr Spektrum und die Farbreaktionen charakterisieren. Dagegen sind Kryptoxanthin-mono-epoxyd (II oder IIa), Kryptoxanthin-di-epoxyd (III) und Kryptoflavin (IV oder IVa) in analysenreinem, schön kristallisiertem Zustand erhalten worden.

Was die Konstitution des Kryptoxanthin-mono-epoxyds und Kryptoflavins anbetrifft, so kommen für diese beiden Verbindungen je zwei isomere Formeln, II oder IIa bzw. IV oder IVa, in Frage. Zwischen diesen können wir noch nicht entscheiden. Der Konstitutionsbeweis wird sich durch die Prüfung des Kryptoflavins auf Vitamin A-Wirkung erbringen lassen, indem die Verbindung IV Vitamin A-Wirkung besitzen muss, IVa dagegen nicht. Es besteht noch die Möglichkeit, dass unser Präparat von Kryptoxanthin-mono-epoxyd eine Mischung von II und IIa ist und das Präparat von Kryptoflavin ein Gemisch aus IV und IVa. Anhaltspunkte für eine Uneinheitlichkeit der Verbindungen haben wir bisher allerdings nicht gefunden, insbesondere hat sich eine solche bei der Chromatographie der Präparate nicht zu erkennen gegeben.

¹⁾ Vgl. Helv. 28, 300, 427, 471, 474, 717, 1143, 1146, 1156 (1945).



Wie andere Carotinoid-mono-epoxyde und ihre mono-furanoiden Umlagerungsverbindungen färben Kryptoxanthin-mono-epoxyd und Kryptoflavin wässrige konz. Salzsäure, mit der man die ätherische Lösung der Farbstoffe schüttelt, schwach blau; die Farbe ist nicht sehr beständig. Kryptoxanthin-di-epoxyd und Kryptochrom geben dagegen unter denselben Bedingungen tiefblaue Salzsäurelösungen, und diese Färbung bleibt tagelang bestehen. Die beiden Pigmente schliessen sich damit anderen Di-epoxyden (z. B. Violaxanthin, β -Carotin-di-epoxyd usw.) und ihren Umlagerungsprodukten (Auroxanthin, Aurochrom usw.) an.

Die Absorptionsspektren der vom Kryptoxanthin abgeleiteten neuen Oxyde entsprechen jenen der analogen Derivate des β -Carotins und Zeaxanthins, mit denen sie in den chromophoren Systemen übereinstimmen.

| | Smp. | Absorpt. Max. in CS ₂ |
|--|------|-------------------------------------|
| Kryptoxanthin-mono-epoxyd . . | 154° | 512 479 m μ |
| β -Carotin-mono-epoxyd | 160° | 511 479 m μ |
| Zeaxanthin-mono-epoxyd (Antheraxanthin) | 205° | 510 478 m μ |
| Kryptoflavin | 171° | 490 459 m μ |
| Mutatochrom | 164° | 489 459 m μ |
| Mutatoxanthin | 177° | 488 459 m μ |
| Kryptoxanthin-di-epoxyd | 194° | 503 473 m μ |
| β -Carotin-di-epoxyd | 184° | 502 470 m μ |
| Zeaxanthin-di-epoxyd (Violaxanthin) | 200° | 500 469 m μ |
| Kryptochrom | ? | 456 424 m μ |
| Aurochrom | 185° | 457 426 m μ |
| Auroxanthin | 203° | 454 423 m μ |

Experimenteller Teil.

Oxydation des Kryptoxanthins.

0,920 g Kryptoxanthin wurden in 100 cm³ absolutem Pyridin gelöst und mit 10 g frisch destilliertem Essigsäure-anhydrid versetzt. Dieses Gemisch erwärmte man 1 Stunde auf 60–70°, liess es erkalten und zog den Farbstoff mit Äther aus. Diese ätherische Lösung von Kryptoxanthin-acetat wurde, nach wiederholtem Waschen mit Wasser,

über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und mit einer -15° kalten ätherischen Lösung von Phtalmonopersäure versetzt, die, auf 1 Mol Kryptoxanthin berechnet, 2,1 Atome aktiven Sauerstoff enthielt. Nach Verlauf von 20 Stunden schüttelte man die Phtalsäure wiederholt mit verdünnter Natronlauge aus, trocknete kurz über Natriumsulfat und destillierte das Lösungsmittel im Vakuum ab. Der dunkelrote, harzige Rückstand wurde in wenig Petroläther aufgenommen und zwecks Verseifung der Acetate mit 50 cm^3 einer 10-proz. methanolischen Kalilauge versetzt. Dieses Gemisch liess man kurz bei Raumtemperatur stehen, erwärmte es noch $\frac{1}{2}$ Stunde auf 50° und zog hierauf mit Äther aus. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels verblieben ca. 200 mg eines kristallinen, aber nicht einheitlichen Farbstoffes, der in Benzol gelöst und an Calciumhydroxyd chromatographiert wurde. (Entwicklungsflüssigkeit Benzol.) Wir erhielten dabei folgende Schichten:

| | | | | |
|-------------------|--------------------|--------------------------------|-----|------------|
| 1. (oberste) Zone | 2 cm gelb-orange | Absorpt. Max. in CS_2 | 507 | 478 $m\mu$ |
| 2. | „ 3 cm gelb-orange | „ „ „ „ | 504 | 472 $m\mu$ |
| 3. | „ 10 cm orange-rot | „ „ „ „ | 512 | 479 $m\mu$ |

Die oberste Zone lieferte eine geringe Menge eines harzigen Farbstoffes mit sehr unscharfen Absorptionsbanden. Es handelt sich wahrscheinlich um ein Gemisch von Kryptoxanthin-di-epoxyd mit höheren Oxydationsprodukten.

Die zweite Schicht ergab 12 mg Kryptoxanthin-di-epoxyd und die unterste Zone lieferte nach üblicher Aufarbeitung 90 mg rohes Kryptoxanthin-mono-epoxyd.

Kryptoxanthin-mono-epoxyd.

Der rohe Farbstoff der dritten Zone (90 mg) wurde 3 mal aus Benzol-Petroläther umkristallisiert. Die Verbindung, 55 mg, schmolz bei 154° (unkorr. in Vakuum).

| | | | |
|------------------------------------|------------------------|-----|------------|
| Absorptionsmaxima in CS_2 | | 512 | 479 $m\mu$ |
| „ | „ Benzol | 494 | 461 $m\mu$ |
| „ | „ Chloroform | 488 | 456 $m\mu$ |
| „ | „ Äthanol | 481 | 449 $m\mu$ |

Beim Schütteln der ätherischen Lösung des Farbstoffes mit konz. wässriger Salzsäure nimmt diese eine blaue, nicht sehr beständige Färbung an.

| | | |
|--|--------------|----------|
| $\text{C}_{10}\text{H}_{56}\text{O}_2$ | Ber. C 84,43 | H 9,95% |
| | Gef. „ 84,24 | „ 10,59% |

Kryptoxanthin-di-epoxyd.

Nach zweimaliger Krystallisation aus Benzol-Petroläther erhielt man aus der zweiten Schicht 10 mg Kryptoxanthin-di-epoxyd vom Schmelzpunkt 194° (unkorr. im Vakuum).

| | | | |
|------------------------------------|------------------------|-----|------------|
| Absorptionsmaxima in CS_2 | | 503 | 473 $m\mu$ |
| „ | „ Benzol | 486 | 455 $m\mu$ |
| „ | „ Chloroform | 482 | 453 $m\mu$ |
| „ | „ Äthanol | 473 | 442 $m\mu$ |

Schüttelt man die ätherische Lösung des Kryptoxanthin-di-epoxyds mit konz. wässriger Salzsäure, so nimmt diese eine dunkelblaue Färbung an, welche mehrere Tage bestehen bleibt.

| | | |
|--|--------------|----------|
| $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_3$ | Ber. C 82,14 | H 9,65% |
| | Gef. „ 82,20 | „ 10,04% |

Umwandlung des Kryptoxanthin-mono-epoxyds in Kryptoflavin.

Die Umwandlung wurde auf die übliche Weise mit chlorwasserstoffhaltigem Chloroform ausgeführt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels haben wir den Rückstand aus Benzol an Calciumhydroxyd chromatographiert:

| | | | | |
|-------------------|-------------------|--------------------------------|-----|------------|
| 1. (oberste) Zone | 5 cm gelb-orange | Absorpt. Max. in CS_2 | 490 | 459 $m\mu$ |
| 2. | „ 3 cm orange-rot | „ „ „ „ | 519 | 488 $m\mu$ |

Die oberste Zone ergab nach üblicher Aufarbeitung und Krystallisation aus Benzol-Petroläther 15 mg des furanoiden Oxydes. Nach nochmaligem Umkrystallisieren aus demselben Lösungsmittelgemisch betrug die Ausbeute 12 mg. Die Verbindung krystallisierte in prachtvollen Blättchen mit starkem Oberflächenglanz. Smp. 171⁰ (unkorr. im Vakuum).

| | | |
|--|-----|-------------|
| Absorptionsmaxima in CS ₂ | 490 | 459 m μ |
| „ „ Benzol | 470 | 439 m μ |
| „ „ Chloroform | 468 | 438 m μ |
| „ „ Äthanol | 460 | 430 m μ |

Gegenüber konz. wässriger Salzsäure zeigt der Farbstoff dasselbe Verhalten wie Kryptoxanthin-mono-epoxyd.

| | | |
|--|--------------|----------|
| C ₄₀ H ₃₆ O ₂ | Ber. C 84,43 | H 9,95% |
| | Gef. „ 83,93 | „ 10,16% |

Die 2. Zone ergab nach üblicher Aufarbeitung eine geringe Menge Kryptoxanthin.

Umwandlung des Kryptoxanthin-di-epoxyds in Kryptochrom:

Die Mutterlaugen der Krystallisation des Farbstoffes wurden auf die übliche Weise mit chlorwasserstoffhaltigem Chloroform umgelagert und der Farbstoff aus Benzol an Calciumhydroxyd chromatographiert:

| | | | | |
|-------------------|----------------------|----------------------------------|-----|-------------|
| 1. (oberste) Zone | 2 cm gelb | Absorpt. Max. in CS ₂ | 456 | 424 m μ |
| 2. | „ 1,5 cm gelb-orange | „ „ „ „ | 489 | 456 m μ |
| 3. | „ 2 cm gelb-orange | „ „ „ „ | 489 | 456 m μ |
| 4. | „ 2 cm gelb-orange | „ „ „ „ | 489 | 456 m μ |
| 5. | „ 3 cm orange-rot | „ „ „ „ | 519 | 488 m μ |

Aus den in Schwefelkohlenstoff bestimmten Absorptionsmaxima der einzelnen Farbstoffzonen geht hervor, dass Schicht 1 das bi-furanoide Kryptochrom enthält, die Schichten 2—4 aus dem mono-furanoid gebauten Kryptoflavin bestehen, während sich in Schicht 5 das durch Eliminierung beider Oxido-sauerstoff-atome aus dem Kryptoxanthin-di-epoxyd zurückgebildete Kryptoxanthin vorfindet. Die geringen Substanzmengen reichten leider nicht aus, die einzelnen Farbstoffe zu krystallisieren und zur Analyse zu bringen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

33. Einwirkung von Alkylmagnesiumsalzen auf Carotinoid-epoxyde

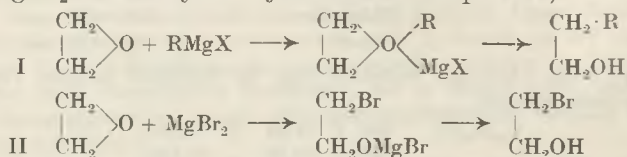
von P. Karrer, E. Jucker und K. Steinlin.

(23. XII. 45.)

Die Epoxyde von Carotinoiden, die wir in letzter Zeit untersuchten¹⁾, zeigten in verschiedener Beziehung ein eigenartiges und unerwartetes Verhalten. Wir haben daher mit ihnen weitere Umsetzungen auszuführen versucht. Von diesen sollen hier diejenigen Erwähnung finden, die in der Einwirkung von Alkylmagnesiumsalzen auf solche Epoxyde beruhen.

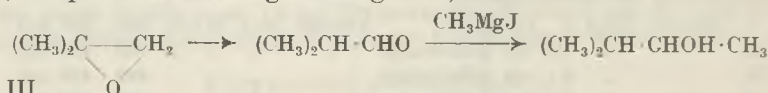
¹⁾ P. Karrer, E. Jucker, Helv. **28**, 300, 427, 471, 1143 (1945); P. Karrer, J. Rutschmann, Helv. **27**, 1684 (1944); P. Karrer, Helv. **28**, 474 (1945); P. Karrer, E. Jucker, J. Rutschmann, R. Steinlin, Helv. **28**, 1146 (1945); P. Karrer, E. Jucker, J. Rutschmann, Helv. **28**, 1156 (1945).

Aus Äthylenoxyd und Alkylmagnesiumsalz kann sich nach Gleichung I ein Alkohol bilden¹⁾, oder nach dem Reaktionsschema II ein Alkylbromhydrin, indem das bei der Zersetzung des Anlageproduktes von AlkylMgBr an Äthylenoxyd durch Wasser gebildete MgBr₂ die Äthylenoxydmolekel aufspaltet²⁾:

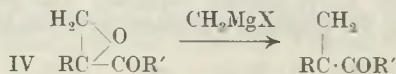


Bei dialkylierten Äthylenoxyden verläuft der Umsatz mit Grignard'schen Verbindungen gewöhnlich abnormal, indem Alkohole entstehen, die nur nach einer intramolekularen Umlagerung des Epoxydes gebildet werden konnten³⁾.

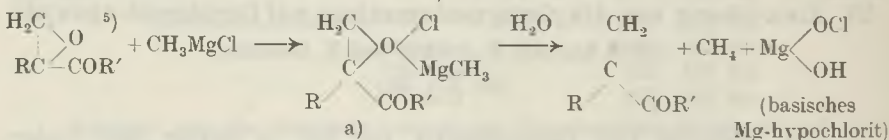
(Beispiel: Reaktionsgleichung III.)



Schliesslich beobachteten kürzlich R. C. Fuson, D. J. Byers, C. A. Sperati, R. E. Forster und P. F. Warfield⁴⁾ bei der Einwirkung von Alkylmagnesiumsalzen auf α -Oxidoketone die Abspaltung des Oxidosauerstoffes und Rückbildung des ungesättigten Ketons (Reaktionsgleichung IV):



Der Mechanismus dieser letzteren Umsetzung ist nicht bekannt. Man wird aber annehmen müssen, dass sich zunächst eine Additionsverbindung aus dem Epoxyd und dem Alkylmagnesiumsalz bildet, etwa von der Konstitution a, und diese hierauf durch Wasser in der nachstehenden Art zersetzt wird, wobei ein Mol. Methan entsteht:



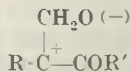
¹⁾ F. Grignard, C. r. **136**, 1260 (1903).

²⁾ Blaise, C. r. **134**, 552 (1902).

³⁾ Henry, C. r. **145**, 21, 154, 406, 453 (1907).

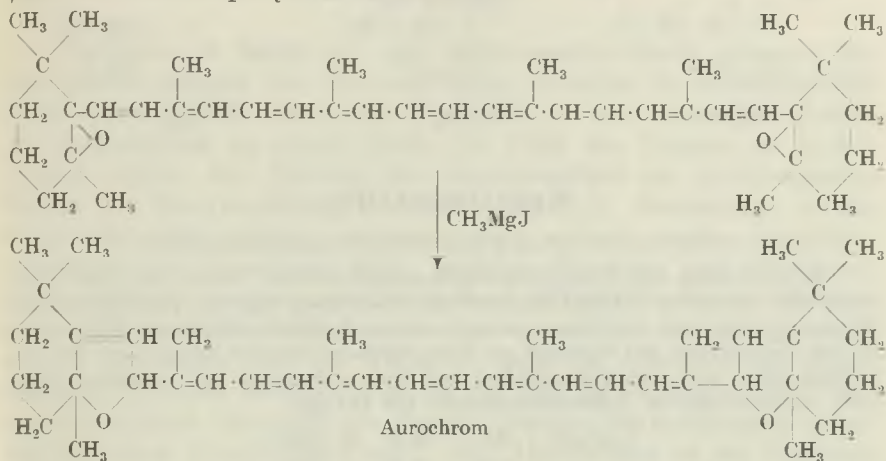
⁴⁾ J. Org. Chem. **10**, 69 (1945).

⁵⁾ Für diese α -Oxidoketone kommt, wie für die Carotinoid-epoxyde, unseres Erachtens auch die elektromere Formel

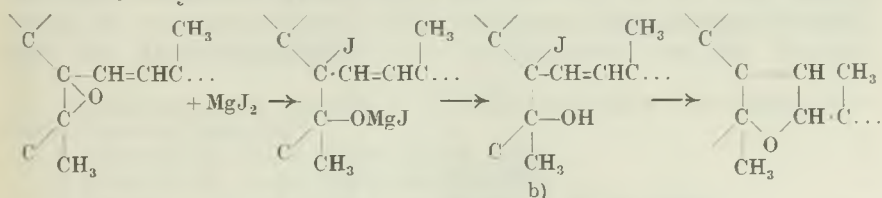


in Betracht, besonders im Hinblick auf ihre oxydierenden Eigenschaften, die sie z. B. befähigen, Jodwasserstoff quantitativ zu Jod zu oxydieren.

In einer weiteren, von den bisher beobachteten Reaktionsmechanismen verschiedenen Art spielt sich der Umsatz von Alkylmagnesiumsalzen mit Carotinoid-epoxyden ab. Es erfolgt hier, ähnlich wie bei der Einwirkung chlorwasserstoffhaltigen Chloroforms auf das Epoxyd eine Umlagerung der Epoxyde zu den furanoiden Oxyden; aus β -Carotin-di-epoxyd bildet sich Aurochrom, aus β -Carotin-mono-epoxyd Mutatochrom.



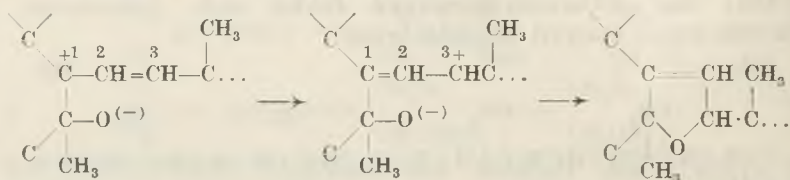
Diese Umlagerungen vollziehen sich glatt; als Nebenprodukte werden bisweilen die aus den Epoxyden durch Eliminierung des Oxidosauerstoffs zurückgebildeten Carotinoide gefunden. Über den Mechanismus der Reaktion kann man Vermutungen äussern, die indessen noch unbewiesen sind. Es ist möglich, dass sich der Umsatz der Carotinoid-epoxyde mit Alkylmagnesiumsalz in der ersten Phase im Sinn der oben angeführten Reaktionsgleichung II vollzieht, dass somit zuerst eine Additionsverbindung aus Epoxyd und Alkylmagnesiumsalz entsteht, die beim Zusatz von Wasser unter der Wirkung des gebildeten MgJ_2 in ein Zwischenprodukt b übergeht. Letzteres würde sich unter Abspaltung von HJ spontan in das furanoide Oxyd umwandeln:



Analog kann man sich die Umwandlung der Carotinoid-epoxyde in furanoide Oxyde unter der Wirkung von chlorwasserstoffhaltigem Chloroform vorstellen¹⁾.

¹⁾ Vgl. Helv. 28, 474 (1945).

Es ist schliesslich aber auch möglich, dass die polare Alkylmagnesiumsalzmolekel im Carotinoid-epoxyd eine Verschiebung eines Elektronenpaares von den C-Atomen 2,3 nach den C-Atomen 1,2 begünstigt und damit die Voraussetzung für den Ringschluss zum Fünfferring schafft:



Experimentelles.

β -Carotin-di-epoxyd und Methylmagnesiumjodid.

Zu der Lösung von 50 mg β -Carotin-di-epoxyd in 2 cm³ Benzol und 2 cm³ Äther wurde eine solche von CH₃MgJ in Äther (im Überschuss) zugefügt. Nach kurzem Erwärmen zersetzte man mit Wasser, trennte die den Farbstoff enthaltende Ätherschicht ab und krystallisierte den Farbstoff aus Äther-Methanol-Gemisch zweimal um. Die Verbindung erwies sich nach Eigenschaften und Analyse identisch mit Aurochrom. Smp. 178°; Absorpt.-Max. in Schwefelkohlenstoff: 458 420 m μ .

| | | |
|--|--------------|---------|
| C ₄₀ H ₅₆ O ₂ | Ber. C 84,43 | H 9,95% |
| | Gef. „ 84,80 | „ 10,3% |

Einwirkung von CH₃MgJ auf β -Carotin-mono-epoxyd und auf Violaxanthin.

Wenn man nach der im vorhergehenden Beispiel gegebenen Vorschrift Methylmagnesiumsalz auf β -Carotin-mono-epoxyd einwirken lässt, so entsteht zur Hauptsache Mutatochrom. Bei der chromatographischen Reinigung wurden ausserdem Spuren von β -Carotin nachgewiesen.

Aus Violaxanthin bildete sich Auroxanthin, das sich leicht krystallisiert gewinnen lässt. Bei der chromatographischen Trennung der in den Mutterlaugen verbliebenen Farbstoffreste konnten kleine Mengen Mutatoxanthin und Zeaxanthin nachgewiesen werden.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

34. Untersuchung über Proteasen.

1. Aminosäuren, Blausäure und Pyrophosphat als Effektoren des Pepsins

von O. Wiss.

(24. XII. 45.)

Nachdem es *Northrop*¹⁾ und seinem Arbeitskreis gelungen ist, eine grosse Anzahl der proteolytischen Enzyme in krystallisierter Form darzustellen, stehen die Proteasen in der Entwicklungsreihe der Reinenzyme an erster Stelle. Im Falle des Pepsins ist in den letzten Jahren das Tyrosin der Enzymmolekel als entscheidender Faktor der Enzymwirkung erkannt worden²⁻⁶⁾. Neuerdings ist die Frage diskutiert worden, ob nicht noch weitere solche spezifische Gruppen von Bedeutung sind. *Tiselius*, *Henschen* und *Svensson*⁷⁾ haben das nach *Northrop* gereinigte krystallisierte Pepsin der Elektrophorese unterworfen. Es liessen sich so weitere inaktive Proteinanteile abtrennen. Aus der Tatsache, dass die Aktivität des so gereinigten Enzyms geringer war, als die des Ausgangsmaterials, und dass sie je nach Herkunft des Pepsins grossen Schwankungen unterlag, vermutet *Linderström-Lang*⁸⁾, dass Aktivatoren an der Reaktion beteiligt sein könnten. Soweit sich die Literatur überblicken lässt, liegen bisher jedoch keine Untersuchungen vor, welche die Existenz von Aktivatoren des Pepsins nachgewiesen hätten. *Edbacher* und *Wiss*⁹⁾ haben am Beispiel der *d*-Aminosäure-oxydase nachweisen können, dass Aminosäuren und Proteine als negative und positive Effektoren wirken können. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass Aminosäuren in entsprechender Weise die Pepsinaktivität beeinflussen. Untersuchungen über die Effektorenwirkung der Blausäure und des Pyrophosphats, die an der *d*-Aminosäure-oxydase¹⁰⁾ und am Pepsin zur Durchführung gelangten, ergaben im Prinzip das gleiche Resultat: Pyrophosphat und Blausäure können als Effektoren der *d*-Aminosäure-oxydase und des Pepsins in Erscheinung treten. Es war aus früheren, oben erwähnten Mitteilungen bekannt, dass der Aktivierungseffekt von Aminosäuren von der Enzym-

¹⁾ Zusammenfassende Darstellung: *Crystalline Enzymes* by *John Northrop* (Columbia University Press 1939).

²⁾ *Herriot R. M.*, *J. gen. Physiol.* **19**, 283 (1936).

³⁾ *Herriot, R. M.*, *J. gen. Physiol.* **20**, 335 (1937).

⁴⁾ *Philpot, J. S. L.* and *Small, P. A.*, *Biochem. J.* **32**, 534 (1938).

⁵⁾ Dieselben: *Biochem. J.* **32**, 542 (1938).

⁶⁾ Dieselben: *Proc. Roy. Soc. (London) [A]* **170**, 62 (1939).

⁷⁾ *Biochem. J.* **32**, 1814 (1938).

⁸⁾ *Ann. Rev. of Bioch.* **8**, 38 (1939).

⁹⁾ *Helv.* **28**, 797 und 1111 (1945).

¹⁰⁾ *S. Edbacher, O. Wiss* und *A. Walser*, *Helv.* **29**, 162 (1946).

konzentration abhängig ist, indem bei Verwendung geringer Enzymkonzentration die Aktivierung deutlich sichtbar wird. Weiterhin liess sich damals nachweisen, dass mehrere gleichzeitig zugesetzte Effektoren sich in komplexer Weise gegenseitig beeinflussen, so dass sich unter Umständen die Aktivierungseffekte gegenseitig aufheben können. Es waren deshalb im Falle des Pepsins, wo Substrat und Abbauprodukt als Eiweisskörper die Enzymaktivität beeinflussen könnten, keine Steigerungseffekte vom Ausmass der *d*-Aminosäureoxydase-Aktivierung zu erwarten. In Übereinstimmung mit den erwähnten Zusammenhängen hat sich auch gezeigt, dass nur bei kurzen Expositionszeiten sich die erwarteten Effekte nachweisen liessen.

Experimenteller Teil.

1. Methoden.

Pepsinum purum (*Siegfried*, Zofingen) wurde nach den Angaben von *Northrop* (l. c.) gereinigt. Als Präparat A bezeichneten wir das durch Magnesiumsulfat gefällte und ausgewaschene Fermentprotein, welches als Trockenpräparat im Eisschrank aufbewahrt wurde. Im Verlauf des weiteren Reinigungsvorganges fällt das wirksame Ferment teils kristallin, teils als amorpher Niederschlag aus. Das Trockenpräparat dieser Reinigungsstufe ist als Präparat B beschrieben.

Zur Bestimmung der Pepsinaktivität benötigten wir eine sehr empfindliche Methode, um auch sehr kleine Abbaugrössen genau ermitteln zu können. Die Titration der freien Aminogruppen oder deren volumetrische Bestimmung erwies sich für unsere Untersuchungszwecke als ungeeignet. In Anlehnung an die photometrische Bestimmungsmethode des abgebauten Substrates nach *Anson* und *Mirsky*¹⁾ haben wir nach Enteisung im Filtrat die Imidazolwerte bestimmt. Nach Ablauf der Expositionszeit wurden die Versuchsansätze mit 10 cm³ 5-proz. Trichloressigsäure enteisigt und im Filtrat die Imidazolwerte nach der von *Edlbacher* und Mitarbeiter²⁾ beschriebenen Methode stufenphotometrisch bestimmt. Als Mass des Substratabbaues ist in den Tabellen die im Filtrat nachgewiesene Histidinmenge angegeben. Zur Kontrolle der so ermittelten Versuchsergebnisse wurde in anderer Versuchsanordnung das nicht abgebaute Substrat nephelometrisch³⁾ nachgewiesen. Die Methode ist sehr empfindlich, erwies sich jedoch für die vorliegende Untersuchung als nicht sehr geeignet. Da nämlich die Effektorenwirkung in erster Linie bei Verwendung von kleinen Enzymkonzentrationen und nach kurzer Expositionszeit in Erscheinung tritt, ist das Substrat nach Ablauf der Reaktion noch in grossem Überschuss vorhanden. Auch ein kleiner Fehler bei der Bestimmung des restlichen Substrates verursacht bei der Berechnung des abgebauten Anteiles grosse Ungenauigkeit. Die typischen Steigerungseffekte liessen sich jedoch auch bei Verwendung der nephelometrischen Bestimmungsmethode eindeutig nachweisen. Ein aliquoter Teil der Versuchslösung wurde mit Wasser auf 20 cm³ ergänzt und mit 5 cm³ 20-proz. Sulfosalicylsäure versetzt. Der Trübungswert wurde nach Ablauf von 15 Minuten mittels des Trübungsmessers des *Pulfrich*-Photometers bestimmt.

Als Substrat gelangte im Falle der Imidazolbestimmungsmethode Rinderhämoglobin zur Verwendung⁴⁾. Während 48 Stunden dialysierter Erythrocytenbrei wurde im *Straub*'schen Trockenapparat getrocknet. Zur nephelometrischen Bestimmung wurde Edestin als Substrat verwendet. Der Säuregrad betrug in allen Versuchsansätzen m/30 HCl.

2. Versuche mit wenig gereinigtem Pepsin (Präparat A).

Es lässt sich nachweisen, dass sich Pepsin in Gegenwart unspezifischer Begleitstoffe durch Aminosäuren mässig hemmen lässt.

¹⁾ *J. gen. Physiol.* **16**, 59 (1932/33). ²⁾ *Z. physiol. Ch.* **270**, 158 (1941).

³⁾ *Rona* und *Kleinmann*, *Bioch. Z.* **174**, 18 (1926). ⁴⁾ l. c. *Northrop*.

Tabelle 1.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 7 cm³.

Temperatur = 25°.

Versuchsdauer = 10 Minuten.

| Pepsin Präparat A mg | Hämoglo- bin Endkonz. | Zusatz | mg Histidin im Filtrat nachgewiesen | Hem- mung |
|----------------------------|-----------------------------|-----------------------|---|--------------|
| 5 | | | 0,61 | |
| 5 | 1,4% | | 2,89 | |
| 5 | 1,4% | Glykokoll m/50 | 2,24 | - 29% |
| 5 | 1,4% | l-Alanin m/50 | 2,45 | - 19% |
| 5 | 1,4% | l-Asparaginsäure m/50 | 2,29 | - 26% |

Tabelle 2.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 7 cm³.

Temperatur = 25°.

Versuchsdauer = 10 Minuten.

| Pepsin Präparat A mg | Hämoglobin Endkonz. | l-Aspara- ginsäure Zusatz | mg Histidin im Filtrat nachgewiesen | Hem- mung |
|----------------------------|------------------------|---------------------------------|---|--------------|
| 0,25 | 1,4% | | 0,587 | |
| 0,25 | 1,4% | m/50 | 0,476 | - 19% |
| 0,125 | 1,4% | | 0,34 | |
| 0,125 | 1,4% | m/50 | 0,281 | - 17% |

3. Versuche mit weitgehend gereinigtem Pepsin (Präparat B).

a) Hemmung und Aktivierung durch Aminosäuren.

Bei Verwendung fallender Enzymkonzentrationen geht die hemmende Wirkung der Aminosäuren allmählich in eine Aktivierung über. Alle untersuchten Aminosäuren zeigten die typische Effektorenwirkung.

Tabelle 3.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 7 cm³.

Temperatur = 38°.

Versuchsdauer = 1 Stunde.

| Pepsin Präparat B mg | Hämoglobin Endkonz. | d-Alanin Zusatz | mg Histidin im Filtrat nachgewiesen | |
|----------------------------|------------------------|--------------------|---|------------------|
| 1 | 1,4% | | 3,94 | |
| 1 | 1,4% | m/60 | 3,54 | Hemmung 10% |
| 0,25 | 1,4% | | 3,34 | |
| 0,25 | 1,4% | m/60 | 2,72 | Hemmung 19% |
| 0,06 | 1,4% | | 1,24 | |
| 0,06 | 1,4% | m/60 | 1,46 | Aktivierung 18% |
| 0,015 | 1,4% | | 0,31 | |
| 0,015 | 1,4% | m/60 | 0,68 | Aktivierung 120% |

Tabelle 4.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 7 cm³.

Temperatur = 38°.

Versuchsdauer = 1 Stunde.

| Pepsin Präparat B mg | Hämoglobin Endkonz. | <i>l</i> -Histidin Zusatz | <i>l</i> -Asparaginsäure Zusatz | mg Histidin im Filtrat nachgewiesen | Effekt |
|----------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|--------|
| — | 1,4% | m/10000 | | 0 | |
| 0,05 | 1,4% | | | 1,12 | |
| 0,05 | 1,4% | m/10000 | | 1,34 | + 20% |
| 0,05 | 1,4% | | m/50 | 1,16 | + 5% |
| 0,0125 | 1,4% | | | 0,357 | |
| 0,0125 | 1,4% | m/10000 | | 0,615 | + 72% |
| 0,0125 | 1,4% | | m/50 | 0,442 | + 24% |
| 0,006 | 1,4% | | | 0,205 | |
| 0,006 | 1,4% | m/10000 | | 0,325 | + 59% |
| 0,006 | 1,4% | | m/50 | 0,27 | + 30% |

Tabelle 5.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 7 cm³.

Temperatur = 38°.

Versuchsdauer = 4 Stunden.

| Pepsin Präparat B mg | Hämoglobin Endkonz. | Zusatz | Mol | mg Histidin im Filtrat nachgewiesen | Effekt |
|----------------------|---------------------|-------------------------|---------|-------------------------------------|--------|
| 0,01 | 1,4% | | | 0,75 | |
| 0,01 | 1,4% | <i>d</i> -Alanin | m/100 | 0,7 | - 7% |
| 0,01 | 1,4% | <i>l</i> -Alanin | m/100 | 0,71 | - 5% |
| 0,01 | 1,4% | <i>l</i> -Glutaminsäure | m/100 | 0,71 | - 5% |
| 0,01 | 1,4% | <i>l</i> -Histidin | m/10000 | 0,76 | + 1% |
| — | 1,4% | <i>l</i> -Histidin | m/10000 | 0,068 | |
| 0,005 | 1,4% | | | 0,315 | |
| 0,005 | 1,4% | <i>d</i> -Alanin | m/100 | 0,353 | + 12% |
| 0,005 | 1,4% | <i>l</i> -Alanin | m/100 | 0,357 | + 13% |
| 0,005 | 1,4% | <i>l</i> -Glutaminsäure | m/100 | 0,442 | + 40% |
| 0,005 | 1,4% | <i>l</i> -Histidin | m/10000 | 0,459 | + 46% |

b) Hemmung durch Blausäure.

Bei Verwendung hoher Enzymkonzentration kann Blausäure als Hemmkörper des gereinigten Pepsins wirken. Bei dem relativ hohen Säuregrad ist trotz der sehr kurzen Versuchszeiten anzunehmen, dass sich das zugesetzte Kaliumcyanid teilweise als Cyanwasserstoff verflüchtigt. Das beeinträchtigt jedoch keineswegs die Tatsache, dass Cyanion als Effektor wirkt.

Tabelle 6.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 7 cm³.

Temperatur = 38°.

Versuchsdauer = ½ Stunde.

| Pepsin Präparat B mg | Hämoglobin Endkonz. | KCN | mg Histidin im Filtrat nachgewiesen | Hemmung |
|----------------------------|------------------------|-------|---|---------|
| 0,5 | 1,4% | | 5,03 | |
| 0,5 | 1,4% | m/100 | 4,18 | - 17% |

Tabelle 7.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 7 cm³, Temperatur = 38°.

| Pepsin Präpa- rat B mg | Hämoglobin Endkonz. | KCN | mg Histidin im Filtrat nachgewiesen | Hem- mung | |
|---------------------------------|------------------------|------|---|--------------|--------------------------|
| 2 | 1,4% | | 2,47 | | |
| 2 | 1,4% | m/50 | 1,62 | - 34% | } Versuchsdauer 6'30" |
| 1 | 1,4% | | 2,18 | | |
| 1 | 1,4% | m/50 | 1,72 | - 21% | } Versuchsdauer 10' |

c) Aktivierung durch Blausäure.

Analog zum Verhalten des Pepsins gegenüber von Aminosäuren, lässt sich der Hemmungseffekt der Blausäure durch Verkleinerung der Enzymkonzentration in eine Aktivierung umkehren.

Tabelle 8.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 7 cm³.

Temperatur = 38°.

Versuchsdauer = ½ Stunde.

| Pepsin Präparat B mg | Hämoglobin Endkonz. | KCN | mg Histidin im Filtrat nachgewiesen | Effekt |
|----------------------------|------------------------|-------|---|--------|
| 0,2 | 1,4% | | 1,73 | |
| 0,2 | 1,4% | m/100 | 1,67 | - 3,5% |
| 0,05 | 1,4% | | 0,578 | |
| 0,05 | 1,4% | m/100 | 0,595 | + 3% |
| 0,0125 | 1,4% | | 0,119 | |
| 0,0125 | 1,4% | m/100 | 0,238 | + 100% |
| 0,006 | 1,4% | | 0,077 | |
| 0,006 | 1,4% | m/100 | 0,221 | + 187% |

d) Hemmung durch Pyrophosphat.
Pyrophosphat in hohen Enzymkonzentrationen wirkt als schwacher Inhibitor.

Tabelle 9.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 7 cm³. Temperatur = 38°. Versuchsdauer = ½ Stunde.

| Pepsin Präparat B mg | Hämoglobin Endkonz. | Pyro- phosphat | mg Histidin im Filtrat nachgewiesen | Hemmung |
|----------------------------|------------------------|-------------------|---|---------|
| 0,5 | 1,4% | | 5,03 | |
| 0,5 | 1,4% | m/100 | 4,52 | - 10% |

e) Aktivierung durch Pyrophosphat.

Pyrophosphat aktiviert in kleinen Enzymkonzentrationen das gereinigte Enzym.

Tabelle 10.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 7 cm³. Temperatur = 38°. Versuchsdauer = ½ Stunde.

| Pepsin Präparat B mg | Hämoglobin Endkonz. | Pyro- phosphat | mg Histidin im Filtrat nachgewiesen | Aktivierung |
|----------------------------|------------------------|-------------------|---|-------------|
| 0,2 | 1,4% | | 1,73 | |
| 0,2 | 1,4% | m/100 | 1,90 | + 13% |
| 0,05 | 1,4% | | 0,578 | |
| 0,05 | 1,4% | m/100 | 0,697 | + 21% |
| 0,0125 | 1,4% | | 0,119 | |
| 0,0125 | 1,4% | m/100 | 0,166 | + 40% |
| 0,006 | 1,4% | | 0,077 | |
| 0,006 | 1,4% | m/100 | 0,119 | + 55% |

4. Nephelometrischer Nachweis der Steigerung der Pepsinaktivität durch Aminosäuren.

Bei Verwendung von gereinigtem Pepsin lässt sich auch der Edestinabbau durch Aminosäuren aktivieren.

Tabelle 11.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 10 cm³. Temperatur = 38°. Versuchsdauer = 25 Min.

| Pepsin Präparat B γ | Edestin Endkonz. | l-Histidin- Zusatz | Abgebautes Substrat abzüglich Leerwert mg % | Aktivierung |
|---------------------------|---------------------|-----------------------|---|-------------|
| 10 | 40 mg % | | 10,1 | |
| 10 | 40 mg % | m/100 | 10,6 | + 4% |
| 5 | 40 mg % | | 5,8 | |
| 5 | 40 mg % | m/100 | 6,5 | + 12% |
| 2,5 | 40 mg % | | 1,8 | |
| 2,5 | 40 mg % | m/100 | 3,8 | + 111% |
| 1,25 | 40 mg % | | 0,9 | |
| 1,25 | 40 mg % | m/100 | 3,5 | + 289% |

Tabelle 12.

Gesamtflüssigkeitsvolumen = 10 cm³.

Temperatur = 38°.

Versuchsdauer = 30 Minuten.

| Pepsin Präpa- rat B γ | Edestin Endkonz. | Effektor | Mol | Abgebautes Substrat abzüglich Leerwert mg % | Aktivierung |
|--------------------------------|---------------------|------------------|-------|--|-------------|
| 2 | 40 mg % | | | 0,6 | |
| 2 | 40 mg % | <i>d</i> -Alanin | m/50 | 2,7 | + 350% |
| 2 | 40 mg % | <i>d</i> -Alanin | m/200 | 1,9 | + 217% |
| 2 | 40 mg % | <i>l</i> -Alanin | m/50 | 1,9 | + 217% |
| 2 | 40 mg % | <i>l</i> -Alanin | m/200 | 1,3 | + 117% |

Besprechung der Ergebnisse.

Wenn trotz der schon seit relativ langer Zeit erfolgten Reindarstellung einer ganzen Reihe proteolytischer Fermente noch grosse Unklarheit über deren Wirkungsart, die zur Lösung der Peptidbindungen führt, besteht, so ist dies zum Teil dem Umstand zuzuschreiben, dass es bis heute nicht gelungen ist, die Enzymaktivität mit einer prosthetischen Gruppe in Beziehung zu setzen. Die Kenntnis eines chemisch einwandfrei definierbaren Cofermentes gestattet in vielen Fällen über die Wirkungsweise eines Fermentes genauere Aussagen zu machen. Als typische Beispiele seien hier die Hämin-, Flavin- und Pyridinfermente erwähnt. Es wäre jedoch sicher eine einseitige Betrachtungsweise, die Wirkungen der Enzyme nur auf die chemische Konstitution des Cofermentes zu beziehen; denn es ist bekannt, dass dieselbe prosthetische Gruppe von Fermenten durch Verbindung mit verschiedenen Apofermenten zu spezifischen Einzelleistungen fähig wird. Die gereinigte *d*-Aminosäure-oxydase, ein typisches Beispiel eines Enzyms von spezifischer Wirkungsweise, grossem Reinheitsgrad und bekannter Konstitution des Cofermentes, ist damit als Einzelenzym keineswegs erschöpfend charakterisiert. *Edblacher* und *Wiss*¹⁾ konnten zeigen, dass alle untersuchten Aminosäuren und Proteine in spezifischer Weise dessen Wirkungsart modifizieren können. Die hier mitgeteilten Versuchsergebnisse beweisen, dass das Pepsin, ein typischer Vertreter eines sogenannten Proteinenzymes, sich durch Aminosäuren analog der *d*-Aminosäure-oxydase beeinflussen lässt.

Wie aus neueren Untersuchungen hervorgeht, ist die Krystallisation eines Enzymproteins keine Garantie dafür, dass es in reiner Form vorliegt. So haben, wie oben erwähnt, *Tiselius* und Mitarbeiter

¹⁾ Helv. 28, 797, 1111 (1945).

(l. c.) nachweisen können, dass von krystallisiertem Pepsineiweiss auf elektrophoretischem Wege weitere inaktive Proteine abgetrennt werden können. Alle diese Tatsachen berechtigen zur Annahme, dass auch im Falle des Pepsins ein Enzymsystem von komplexer Natur vorliegt.

Neben der Charakterisierung von Einzelenzymen durch präparative Trennung nimmt die Abgrenzung einzelner Enzymindividuen durch Hemmkörper und durch die Verschiedenheit der p_H -Optima in der Enzymchemie breiten Raum ein. Bisher wurden z. B. die Enzyme Pepsin und Kathepsin durch das verschiedene Verhalten in den folgenden Punkten differenziert:

1. Das p_H -Optimum liegt beim Pepsin zwischen p_H 1—2, beim Kathepsin zwischen p_H 4—5.

2. Pepsin wird durch Cyanwasserstoff und durch Schwefelwasserstoff nicht aktiviert. Kathepsin ist durch die beiden Stoffe deutlich aktivierbar^{1) 2)}.

3. Bisher hielt man das Kathepsin für ein typisches Endoenzym, während das Pepsin ein Ektoenzym ist.

Die Mehrzahl dieser Unterscheidungsmerkmale wird jedoch unter speziellen Bedingungen hinfällig:

1. *Bergmann* und *Fruton*³⁾ konnten zeigen, dass reines Pepsin Peptide von bestimmter Bauart bei p_H 4,5 optimal spaltet. In dieser Hinsicht sei auch auf das Verhalten der Lipasen hingewiesen. *Willstätter* und *Haurowitz*⁴⁾ konnten nämlich nachweisen, dass mit fortschreitender Reinigung eine Verschiebung des p_H -Optimums stattfindet. Das p_H -Optimum ist also auch in diesem Falle nicht geeignet, als alleiniges Kriterium für die Abgrenzung eines Einzelenzym zu gelten, denn es wird durch die Coadsorbentien entscheidend beeinflusst.

2. *E. Freudenberg*⁵⁾ erbrachte neuerdings den eindeutigen Beweis, dass Kathepsin genau so wie Pepsin sezerniert werden kann. Demnach ist die Unterscheidung zwischen Endo- und Ektoenzym ebenfalls zur Identifizierung von Einzelenzymen ungeeignet.

3. In den hier mitgeteilten Versuchen konnte der Beweis geführt werden, dass reines Pepsin durch Cyanwasserstoff aktiviert werden kann. Dadurch fällt auch in bezug auf die Aktivierungsmöglichkeiten die grundsätzliche Unterscheidung von Pepsin und Kathepsin dahin.

¹⁾ *Willstätter* und *Bamann*, Z. physiol. Ch. **180**, 127 (1928).

²⁾ *Waldschmidt-Leitz* und *Mit.*, Z. physiol. Ch. **188**, 17 (1929).

³⁾ J. Biol. Chem. **127**, 627 (1939).

⁴⁾ *Willstätter*, Z. physiol. Ch. **140**, 203 (1927); *Willstätter* und *Haurowitz*, Z. physiol. Ch. **144**, 68 (1925).

⁵⁾ *Enzymologia* **8**, 385 (1940); *Schweiz. med. Wsch.* **75**, 735 (1945).

Weitere Untersuchungen werden mit grosser Wahrscheinlichkeit ergeben, dass reines Pepsin sich unter speziellen Bedingungen durch Schwefelwasserstoff aktivieren lassen wird. Die Klärung dieser Fragen ist experimentell schon in Angriff genommen. In unseren Mitteilungen über die *d*-Aminosäure-oxydase (l. c.) wurde gezeigt, dass dieses Enzym sich je nach seinem Reinheitsgrad gegenüber Effektoren wie Blausäure, Pyrophosphat usw. verschieden verhalten kann.

Als einen weiteren Unterschied zwischen Kathepsin und Pepsin lässt sich die verschiedene Temperaturempfindlichkeit der Rohfermente anführen. *Bergmann* konnte nun aber zeigen, dass reines Trypsin sogar durch Kochen nicht inaktiviert wird, während das Rohferment seine Aktivität durch Erhitzen auf 70° vollständig verliert. Verschiedene Temperaturempfindlichkeit im Zustand des Rohfermentes kann deshalb nicht als essentielle Eigenschaft eines Enzyms bezeichnet werden.

Auf Grund aller dieser Tatsachen lässt sich demnach sagen, dass eine grosse Anzahl der bisher als wesentlich bezeichneten Unterschiede zwischen Pepsin und Kathepsin nur unter ganz bestimmten experimentellen Bedingungen Gültigkeit haben. Es darf deshalb wohl die Vermutung ausgesprochen werden, dass möglicherweise kein essentieller Unterschied zwischen Pepsin und Kathepsin besteht, sondern dass es nur die Vergesellschaftung mit verschiedenen Begleitstoffen ist, die diese Differenzierung in Erscheinung treten lässt. In Analogie zu der von *Edlbacher* und *Wiss* (l. c.) entwickelten Vorstellung über die Komplexenzyme der *d*-Aminosäure-oxydase erscheint es möglich, dass Kathepsin und Pepsin von der gleichen Grundproteinase abstammen, dass aber die beiden Enzyme in vivo sich durch Bildung von Komplexenzymen differenziert haben¹⁾.

In diesem Sinne stehen diese Anschauungen durchaus in Übereinstimmung mit der von *E. Freudenberg* (l. c.) ausgesprochenen Meinung, dass das Kathepsin die phylogenetisch primitivere Stufe der beiden Einzelenzyme ist. Gerade dieser Autor hat auf die physiologische Notwendigkeit der Kathepsinwirkung bei der Eiweissverdauung hingewiesen. Unter der Annahme, dass also Pepsin und Kathepsin phylogenetische Differenzierungen einer zunächst hypothetischen Grundprotease darstellen, erscheint das von *E. Freudenberg* nachgewiesene Auftreten des Komplexenzym Kathepsin im menschlichen Verdauungstractus vom physiologischen Standpunkt aus äusserst sinnvoll.

Herrn Prof. *Edlbacher*, der die Anregung zu diesen Untersuchungen gegeben hat, sei auch an dieser Stelle für seine Ratschläge bestens gedankt.

¹⁾ Vgl. *Edlbacher*, Exper. 1946, im Druck.

Zusammenfassung.

1. Die Aktivität von gereinigtem Pepsin lässt sich durch Aminosäuren in negativem oder positivem Sinne beeinflussen.
2. Der Aktivierungseffekt tritt vorwiegend in kleinen Enzymkonzentrationen und bei kurzer Versuchsdauer in Erscheinung.
3. Kaliumcyanid und Pyrosphosphat können in analoger Weise als Effektoren des Pepsins wirken.

Ich danke Fr. *Frieda Nebiker* für ihre wertvolle und sorgfältige Mithilfe bei der Durchführung der Versuche.

Basel, im Dezember 1945

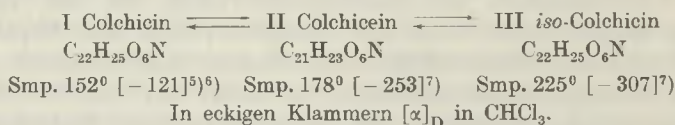
Physiologisch-chemisches Institut der Universität.

35. *iso*-Colchicin

von **M. Sorkin**.

(25. XII. 45.)

Colchicin (I) lässt sich durch relativ milde saure Hydrolyse leicht in Colchicein (II) und Methanol spalten¹⁾²⁾. *Johanny* und *Zeisel*³⁾ gelang auch eine Rücksynthese. Beim Erhitzen von Colchicein mit Natriummethylat und Methyljodid in Methanol erhielten sie ca. 13% (I) neben unverändertem (II) und einem amorphen Methylcolchicin $C_{23}H_{27}O_6$. *Lettré* und *Fernholz*⁴⁾ methylierten Colchicein (II) mit Diazomethan, wobei ein amorphes Produkt entstand, aus dem sie kein kryst. Colchicin (I) gewinnen konnten. *Meyer* und *Reichstein*⁵⁾ haben dieselbe Reaktion ausgeführt und gezeigt, dass Colchicein (II) bei der Methylierung mit Diazomethan ein Gemisch liefert, aus dem sich zwar nicht mit Chloroform, wohl aber mit Essigester⁶⁾ etwa 2% kryst. Colchicin (I) abscheiden lässt. Die Hauptmenge des Reaktionsproduktes blieb amorph und zeigte in $CHCl_3$ eine erheblich stärkere Linksdrehung als Colchicin, besass aber dieselbe analytische Zusammensetzung wie dieses.



1) *S. Zeisel*, M. **7**, 557 (1886).

2) *E. Boyland, E. H. Mawson*, Biochem. J. **32**, 1204 (1938).

3) *G. Johanny, S. Zeisel*, M. **9**, 865 (1888).

4) *H. Lettré, H. Fernholz*, Z. physiol. Ch. **278**, 175 (1943).

5) *K. Meyer, T. Reichstein*, Pharm. acta Helv. **19**, 127 (1944).

6) *H. W. B. Clewer, S. I. Green, F. Tutin*, Soc. **107**, 839 (1915).

7) Exp. Teil dieser Arbeit.

Durch chromatische Trennung ist es nunmehr gelungen, das bei der Einwirkung von Diazomethan auf (II) entstehende Gemisch zu trennen. Aus 650 mg Rohprodukt wurden 300 mg analysenreines Colchicin (I) sowie 200 mg eines neuen, gut krystallisierten Stoffes ebenfalls in analysenreiner Form erhalten. Da er sich mit (I) als isomer erwies, wird er als *iso*-Colchicin (III) bezeichnet. Er zeigt eine sehr starke Linksdrehung. Wenn das Rohprodukt ausschliesslich aus (I) und (III) bestanden hat, so ergibt die Bestimmung der Drehung, dass es etwa 45% (I) und 55% (III) enthielt, was von der präparativen Ausbeute nicht allzu stark abweicht. *iso*-Colchicin wird beim Erwärmen mit wässrigen Mineralsäuren wie (I) unter Bildung von Colchicein (II) gespalten, doch scheint die Reaktion hier etwas langsamer zu verlaufen. In wässrigen Säuren löst sich (III) genau wie (I) mit gelber Farbe.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze $\pm 2^\circ$.)

Colchicin (I) und *iso*-Colchicin(III) aus Colchicein(II).

650 mg rohes Methylierungsprodukt mit der spez. Drehung $[\alpha]_D^{21} = -223,5^\circ$ ($c = 1,284$ in CHCl_3)¹⁾ (aus reinstem Colchicein vom Smp. 178—179°) wurden in Chloroform-Äther (1 : 2) gelöst und durch eine mit demselben Lösungsmittelgemisch bereitete Säule von 22 g alkalifreiem Al_2O_3 filtriert. Die ersten 10 mit je ca. 60 cm³ desselben Lösungsmittelgemisches erhaltenen Eluate (total 50 mg) gaben aus Essigester-Petroläther auch nach Animpfen mit Colchicin nur wenig Krystalle. 7 weitere gleich bereitete Eluate lieferten 200 mg fast reines Colchicin. Aus den folgenden mit Chloroform-Äther (1 : 1) abgelösten Fraktionen konnten noch 130 mg weniger reines (I) isoliert werden. Zweimaliges Umkrystallisieren der vereinigten Rohkrystalle aus Essigester-Petroläther gab 270 mg reines (I) vom Smp. 152—154°, Mischprobe ebenso.

Die weiteren mit reinem Chloroform, sowie Chloroform-Methanol (1 : 1) erhaltenen Eluate (280 mg) gaben aus Essigester-Äther, dann aus Dioxan-Äther 160 mg analysenreines (III) in Form farbloser, rechtwinklig oder sechseckig begrenzter Platten vom Smp. 225—226°. Aus den Mutterlaugen konnten durch nochmalige Chromatographie noch 30 mg (I) und 40 mg (III) in reiner Form abgetrennt werden.

iso-Colchicin (III) zeigte nach Trocknen im Hochvakuum bei 80° die spez. Drehung $[\alpha]_D^{12} = -306,7^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 1,063$ in CHCl_3).

10,780 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{12} = -3,26^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde eine Stunde im Hochvakuum getrocknet.

3,706 mg Subst. gaben 8,963 mg CO₂ und 2,114 mg H₂O

3,599 mg Subst. gaben 0,115 cm³ N₂ (16°, 716 mm)

C₂₂H₂₅O₆N (399,43) Ber. C 66,15 H 6,31 N 3,51%

Gef. „ 66,00 „ 6,39 „ 3,56%

Colchicein (II) aus *iso*-Colchicin (III).

96 mg *iso*-Colchicin vom Smp. 225—226° wurden mit 3 cm³ 0,2-n. HCl 4 Std. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Die Krystalle gingen dabei mit intensiv gelber Farbe in Lösung, worauf sich wieder Nadeln abschieden. Es wurde mit Soda alkalisch gemacht,

¹⁾ K. Meyer, T. Reichstein, Pharm. acta Helv. 19, 127 (1944).

wobei sich die Krystalle lösten, und 4 mal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Sodalösung und wenig Wasser gewaschenen und über Natriumsulfat getrockneten Chloroformlösungen hinterliessen beim Eindampfen nur wenig amorphen Rückstand.

Die alkalischen Anteile und Waschwasser wurden mit 2-n. Schwefelsäure angesäuert und mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Natriumsulfat getrockneten Chloroformauszüge wurden eingedampft und der im Hochvakuum getrocknete Rückstand (72 mg) aus Essigester-Äther, dann aus Dioxan-Äther umkrystallisiert. Es resultierten 63 mg blassgelbe Nadelchen vom Smp. 178–179°. Colchicein (II) aus (I) und Mischprobe ebenso. Die spez. Drehung nach Trocknen im Hochvakuum betrug:

$$[\alpha]_D^{14} = -252,7^0 \pm 3^0 \quad (c = 1,021 \text{ in } \text{CHCl}_3)$$

$$10,357 \text{ mg Subst. zu } 1,0141 \text{ cm}^3; l = 1 \text{ dm}; \alpha_D^{14} = -2,58^0 \pm 0,02^0.$$

Gleich gereinigtes Colchicein (II) aus (I) zeigte: $[\alpha]_D^{14} = -252,5^0 \pm 3^0$ ($c = 1,192$ in CHCl_3).

$$12,084 \text{ mg Subst. zu } 1,0141 \text{ cm}^3; l = 1 \text{ dm}; \alpha_D^{14} = -3,01^0 \pm 0,02^0.$$

Ein anderer analoger Ansatz wurde nur 75 Minuten erhitzt, worauf noch etwa die Hälfte *iso*-Colchicein unverändert zurückerhalten wurde.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

36. Über Steroide und Sexualhormone.

(123. Mitteilung¹⁾).

Synthetische Versuche in der Periplogenin-Strophanthidin-Reihe

von *L. Ruzicka, Pl. A. Plattner, H. Heusser und O. Ernst.*

(26. XII. 45.)

Eine Reihe von Aglykonen der Digitalis-Gruppe besitzen in Stellung 5 des Steroid-Kernes eine Hydroxyl-Gruppe. Die am besten untersuchten derselben sind Periplogenin (V) und Strophanthidin. Aber auch die noch weniger erforschten Genine des Ouabains, Antiarins und Calotropins sollen ein solches tertiäres Hydroxyl besitzen. Periplogenin und Strophanthidin, bei denen nach Untersuchungen von *Jacobs* und Mitarbeitern²⁾ in den Ringen A und B die gleichen sterischen Verhältnisse vorliegen, werden meist als Derivate des 3 α -Oxy-5-oxy-koprostans formuliert. Verschiedene Reaktionen des Strophanthidins, auf die an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden soll³⁾, können allerdings mit einem solchen sterischen Bau der Molekel nicht leicht erklärt werden.

¹⁾ 122. Mitt. Helv. 29, 199 (1946).

²⁾ *W. A. Jacobs, R. C. Elderfield, T. B. Grave und E. W. Wignall, J. Biol. Chem.* 91, 617 (1931); *W. A. Jacobs und R. C. Elderfield, J. Biol. Chem.* 91, 625 (1931).

³⁾ Vgl. *W. Lang, Diss. ETH.* 1945.

Nachdem vor einiger Zeit in diesem Institut eine Methode zur Einführung von Oxy-Gruppen in Stellung 5 des Steroid-Kernes ausgearbeitet worden ist¹⁾, schien es uns von Interesse, die Herstellung synthetischer Digitalis-Lactone mit dieser tertiären 5-Oxy-Gruppe zu versuchen. Man gelangt damit zu Vergleichsverbindungen, die auch aus dem natürlichen Periplogenin (V) relativ leicht zugänglich sind.

In Verfolgung dieses Arbeitsplanes haben wir das β' -[3 β ,5-Dioxy-ätio-allo-cholanyl-(17)]- $\Delta^{\alpha' \beta'}$ -butenolid (IVa) hergestellt, das mit 14-Desoxy-periplogenin oder einem Stereoisomeren (an C₃ bzw. C₅) desselben identisch sein müsste.

Als Ausgangsmaterial diente uns Δ^5 -3 β ,21-Diacetoxy-20-ketopregnen (I)²⁾, das wir der Oxydation mit Benzopersäure unterwarfen. In Übereinstimmung mit den Erfahrungen, die bei der Oxydation ähnlicher Δ^5 -Verbindungen¹⁾ mit Benzopersäure gemacht wurden, bildeten sich auch hier zwei stereoisomere Oxyde (II und IIa), die durch Krystallisation und Adsorption an Aluminiumoxyd getrennt werden konnten. Die sterische Zuordnung zur Cholestan- bzw. Koprostan-Reihe lässt sich auf Grund des Drehungsvermögens der beiden Oxyde eindeutig vornehmen, da auch hier die früher beobachteten Drehungsverschiebungen¹⁾ auftreten (vgl. Tabelle 1).

Bei der reduktiven Aufspaltung des Oxyd-Ringes in der Verbindung II wird gleichzeitig die Keto-Gruppe am Kohlenstoffatom 20 angegriffen³⁾. Wir sahen uns deshalb gezwungen, die Hydrierung bis zur Bildung des 3 β ,21-Diacetoxy-5,20-dioxy-allo-pregnans weiterzuführen. Aus dem rohen Hydrierungsprodukt, das wohl ein Gemisch der isomeren 20-Oxy-Verbindungen darstellt, wurde eines der Isomeren durch Acetylierung und Krystallisation rein hergestellt. Im übrigen wurde das Hydrierungsprodukt nicht näher untersucht, sondern der direkten Oxydation mit Chromtrioxyd unterworfen. Nach chromatographischer Reinigung konnte dann das 3 β ,21-Diacetoxy-5-oxy-20-keto-allo-pregnan (III) in guter Ausbeute isoliert werden. Das Ketol-acetat (III) lieferte nun bei der Umsetzung mit Bromessigester und Zink in Äther-Benzol das 3-Acetoxy-5-oxy-lacton (IV), das mit methanolischer Salzsäure in der Kälte zum 3,5-Dioxy-lacton (IVa) verseift wurde.

Die Drehungsverschiebungen, die bei den einzelnen Umsetzungen auftreten, nehmen, wie aus Tabelle 1 hervorgeht, den erwarteten Verlauf.

¹⁾ Pl. A. Plattner, Th. Petrzilka und W. Lang, Helv. 27, 513, 1872 (1944); L. Ruzicka und A. C. Muhr, Helv. 27, 503 (1944).

²⁾ T. Reichstein und C. Montigel, Helv. 22, 1212 (1939); L. Ruzicka, T. Reichstein und A. Fürst, Helv. 24, 76 (1941).

³⁾ Vgl. L. Ruzicka und A. C. Muhr, Helv. 27, 503 (1944).

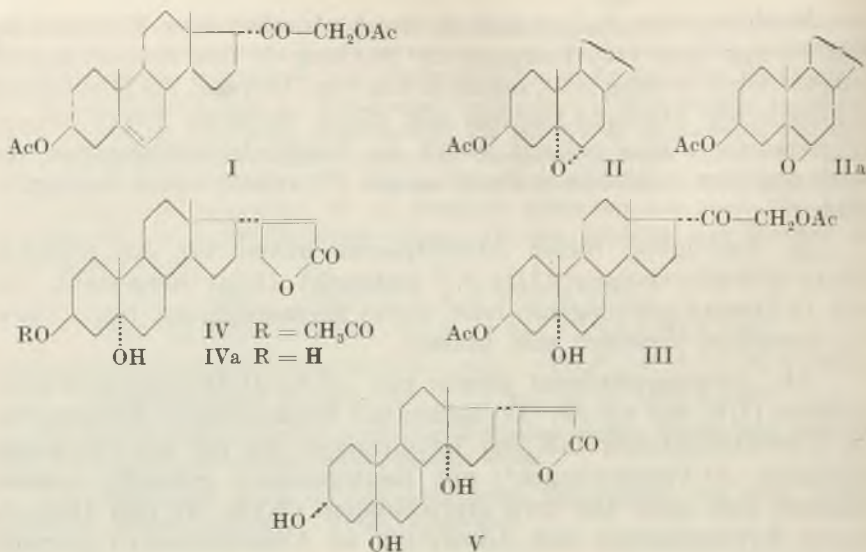


Tabelle 1.

| | 1 | 2 | 3 | Differenz 1—2 | Differenz 2—3 |
|---|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|--------------------|
| | | $[M]_D$ | $[M]_D$ | $[M]_D$ | $\Delta [M]_D$ |
| 1 ⁵ -3 β -Acetoxy- | - 182 ⁰ ¹⁾ | + 127 ⁰ ³⁾ | - 237 ⁰ ⁴⁾ | + 309 ⁰ | - 364 ⁰ |
| 3 β -Acetoxy-5,6 α -oxido- . . | - 205 ⁰ ²⁾ | + 97 ⁰ ³⁾ | - 267 ⁰ ^{4a)} | + 302 ⁰ | - 364 ⁰ |
| 3 β -Acetoxy-5,6 β -oxido- . . | - 5 ⁰ ^{2a)} | + 304 ⁰ ³⁾ | - 72 ⁰ ^{4b)} | + 309 ⁰ | - 376 ⁰ |
| 3 β -Acetoxy-5 α -oxy- . . . | + 48 ⁰ ^{2b)} | + 346 ⁰ ³⁾ | - 39 ⁰ ³⁾ | + 298 ⁰ | - 385 ⁰ |

Der Rockefeller Foundation in New York und der CIBA Aktiengesellschaft in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil ⁵⁾.

3 β ,21-Diacetoxy-5,6 α -oxido-20-keto-allo-pregnan (II) und 3 β ,21-Diacetoxy-5,6 β -oxido-20-keto-pregnan (IIa).

10 g 1⁵-3 β ,21-Diacetoxy-20-keto-pregnen (I) wurden in 60 cm³ trockenem Chloroform gelöst. Dann wurden zur vollständigen Trocknung 6 cm³ Chloroform abdestilliert

¹⁾ H. Wieland und Mitarbeiter, A. 548, 27 (1941).

²⁾ Pl. A. Plattner, Th. Petrzilka und W. Lang, Helv. 27, 519 (1944), $[\alpha]_D = -46,2^0$;

^{2a)} $[\alpha]_D = -1,0^0$; ^{2b)} $[\alpha]_D = +10,7^0$.

³⁾ $[\alpha]_D$ im experimentellen Teil dieser Arbeit.

⁴⁾ L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und H. Heusser, Helv. 27, 1883 (1944), $[\alpha]_D = -59,0^0$;

^{4a)} $[\alpha]_D = -64,5^0$; ^{4b)} $[\alpha]_D = -17,5^0$.

⁵⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

und darauf bei -10° die berechnete Menge von Benzopersäure in 60 cm^3 Chloroform langsam zugegeben. Nach 20 Stunden war die Benzopersäure verbraucht. Der Ansatz wurde mit Äther verdünnt und unter Eiskühlung mit Soda und Wasser gewaschen. Der nach dem Trocknen und Verdampfen des Lösungsmittels verbleibende kristalline Rückstand ($10,3 \text{ g}$) zeigte eine Drehung von $+29,7^{\circ}$, was einem Gemisch von ca. 82% „ $\alpha^{\prime\prime}$ -Oxyd (II) und 18% „ $\beta^{\prime\prime}$ -Oxyd (IIa) entspricht. Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Essigester konnten $4,95 \text{ g}$ reines $3\beta,21$ -Diacetoxy-5,6 α -oxido-20-keto-allo-pregnan (II) erhalten werden. Das Produkt krystallisierte in schönen Nadeln und hatte einen Smp. von 180 — 182° . Zur Analyse wurde die Substanz im Hochvakuum 48 Stunden bei 70° getrocknet.

3,704 mg Subst. gaben $9,414 \text{ mg CO}_2$ und $2,751 \text{ mg H}_2\text{O}$

$\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_6$ Ber. C 69,42 H 8,39%

Gef. „ 69,36 „ 8,31%

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +22,8^{\circ}; +22,3^{\circ}$ ($c = 0,789; 1,103$ in Chloroform)

500 mg der Mutterlaugen wurden in $1,5 \text{ cm}^3$ Benzol gelöst und an einer Säule aus 12 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit Petroläther-Benzol $95:5$ konnten 120 mg $3\beta,21$ -Diacetoxy-5,6 β -oxido-20-keto-pregnan (IIa) eluiert werden, das nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol konstant bei 160 — $160,5^{\circ}$ schmolz. Zur Analyse wurde das Präparat 30 Stunden bei 90° im Hochvakuum getrocknet.

3,726 mg Subst. gaben $9,468 \text{ mg CO}_2$ und $2,817 \text{ mg H}_2\text{O}$

$\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_6$ Ber. C 69,42 H 8,39%

Gef. „ 69,35 „ 8,46%

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +70,5^{\circ}$ ($c = 1,210$ in Chloroform)

Mit Petroläther-Benzol ($90:10$) wurden 220 mg eines Gemisches von „ $\alpha^{\prime\prime}$ - und „ $\beta^{\prime\prime}$ -Oxyd-acetat und mit Petroläther-Benzol ($80:20$) weitere 160 mg reines „ $\alpha^{\prime\prime}$ -Oxyd-acetat (II) vom Smp. 179 — 180° eluiert.

$3\beta,20,21$ -Triacetoxy-5-oxy-allo-pregnan.

Zu 2 g in 50 cm^3 reinem Eisessig vorhydriertem Platinoxyd wurden $10,4 \text{ g}$ $3\beta,21$ -Diacetoxy-5,6 α -oxido-20-keto-allo-pregnan (II) vom Smp. 179 — 181° , in 260 cm^3 Eisessig gelöst, hinzugefügt. In $5\frac{1}{2}$ Stunden waren 2 Mol Wasserstoff aufgenommen und die Hydrierung stand still. Nach Abtrennung des Platins wurde in Wasser gegossen und der kristalline Rückstand ($10,35 \text{ g}$) abfiltriert (Smp. 145 — 147°). Eine Probe desselben zeigte nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Methanol einen Smp. von 193 — 194° . Das umkrystallisierte Produkt wurde in 2 cm^3 Acetanhydrid und 2 cm^3 Pyridin über Nacht bei Zimmertemperatur acetyliert, worauf nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Methanol eine Verbindung vom Smp. 159 — $159,5^{\circ}$ erhalten wurde. Es dürfte das $3\beta,20,21$ -Triacetoxy-5-oxy-allo-pregnan vorliegen. Zur Analyse wurde es 48 Stunden bei 105° im Hochvakuum getrocknet.

3,732 mg Subst. gaben $9,244 \text{ mg CO}_2$ und $2,928 \text{ mg H}_2\text{O}$

$\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_7$ Ber. C 67,75 H 8,84%

Gef. „ 67,60 „ 8,77%

$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +4,4^{\circ}$ ($c = 0,455$ in Chloroform)

$3\beta,21$ -Diacetoxy-5-oxy-20-keto-allo-pregnan (III).

Der Rest ($10,2 \text{ g}$) des Rohproduktes der oben beschriebenen Hydrierung wurden in 300 cm^3 Eisessig gelöst, mit 43 cm^3 einer Lösung von 320 mg Chromtrioxyd in 90 -proz. Eisessig versetzt und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Zusatz von 2 cm^3 Methanol wurde die Lösung im Vakuum auf 50 cm^3 eingengt, in Wasser gegossen und mit Äther extrahiert. Nach dem Abdampfen der gewaschenen und getrockneten ätherischen Lösung verblieb ein kristalliner Rückstand ($10,1 \text{ g}$) vom Smp. 158 — 160° . Das Rohprodukt wurde in 20 cm^3 Benzol gelöst und an 250 g Aluminiumoxyd chromato-

graphiert. Es konnten so 7,7 g reines β ,21-Diacetoxy-5-oxy-20-keto-allo-pregnan (III) (Smp. 172—173,5°) eluiert werden. Zur Analyse wurde das Präparat einmal aus Methanol umkrystallisiert und 48 Stunden im Hochvakuum bei 105° getrocknet.

3,702 mg Subst. gaben 9,369 mg CO₂ und 2,898 mg H₂O

C₂₅H₃₈O₆ Ber. C 69,09 H 8,81%
Gef. „ 69,07 „ 8,76%

$[\alpha]_D^{21} = +79,8^{\circ}; 82,3^{\circ}$ (c = 0,663; 1,019 in Chloroform)

β' [β -Acetoxy-5-oxy-ätio-allo-cholanyl-(17)]- $\Delta^{\alpha,\beta'}$ -butenolid (IV).

1,6 g β ,21-Diacetoxy-5-oxy-20-keto-allo-pregnan (III) wurden in einem Gemisch von 15 cm³ absolutem Benzol und 15 cm³ absolutem Äther gelöst und nach Zugabe von 3 g mit Jod angeätzten Zinkflittern 3 cm³ Lösungsmittel abgedampft. Darauf wurden 6 g Bromessigester zugegeben und kurz erwärmt, bis die Reaktion eintrat und 10 Minuten ohne weiteres Erwärmen anhiet. Nach Abflauen der Reaktion wurden 10 cm³ absolutes Dioxan hinzugefügt und $\frac{1}{4}$ Stunde auf dem Wasserbad erwärmt, wobei sich der Ansatz klärte, indem die harzigen Produkte in Lösung gingen. Das Reaktionsprodukt wurde dann in verdünnte, eisgekühlte Salzsäure gegossen und mit Äther extrahiert. Die Lösung wurde gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittelgemisch abgedampft. Das Rohprodukt (2,1 g), das aus einem dunkelgelben, mit Krystallen durchsetzten Öl bestand, wurde mit 4 cm³ Acetanhydrid und 4 cm³ Pyridin über Nacht bei Zimmertemperatur nachacetyliert und an 50 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit Benzol, Benzol-Äther und Äther konnten 1,17 g einheitliche Substanz vom Smp. 229—234° eluiert werden, die das gewünschte β' [β -Acetoxy-5-oxy-ätio-allo-cholanyl-(17)]- $\Delta^{\alpha,\beta'}$ -butenolid darstellt. Zur Analyse wurde das Präparat dreimal aus Methanol umkrystallisiert und 48 Stunden im Hochvakuum bei 105° getrocknet.

3,796 mg Subst. gaben 10,039 mg CO₂ und 2,985 mg H₂O

C₂₅H₃₆O₅ Ber. C 72,08 H 8,71%
Gef. „ 72,17 „ 8,80%

$[\alpha]_D^{20} = -10,3^{\circ}; -9,5^{\circ}$ (c = 0,774; 0,529 in Chloroform)

Das Produkt zeigte positiven *Legal*-Test. Das U.V.-Absorptionsspektrum weist die typische Bande bei 219 m μ (log ϵ = 4,3) auf.

β' [β ,5-Dioxy-ätio-allo-cholanyl-(17)]- $\Delta^{\alpha,\beta'}$ -butenolid (IVa).
($\Delta^{20,22}$ - β ,5 α ,21-Trioxo-nor-cholensäure-lacton.)

190 mg β' [β -Acetoxy-5-oxy-ätio-allo-cholanyl-(17)]- $\Delta^{\alpha,\beta'}$ -butenolid wurden in 10 cm³ Methanol gelöst und nach Zugabe von 10 cm³ 7-proz. methanolischer Salzsäure 14 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Unter Zusatz von Chloroform wurde im Vakuum eingedampft und das Rohprodukt aus Methanol und Essigester umkrystallisiert. Das Präparat spaltet bei 230° Wasser ab und schmilzt dann scharf bei 255—256°¹⁾. Zur Analyse wurde das Präparat 70 Stunden im Hochvakuum bei 160° getrocknet.

3,108 mg Subst. gaben 8,378 mg CO₂ und 2,521 mg H₂O

C₂₃H₃₄O₄ Ber. C 73,76 H 9,15%
Gef. „ 73,56 „ 9,08%

$[\alpha]_D^{17} = -13,2^{\circ}$ (c = 0,603 in Chloroform)

Das Produkt zeigt positiven *Legal*-Test.

Die Analysen und die Spektralaufnahme wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

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

¹⁾ Es bildet sich das $\Delta^{5,6:20,22}$ - β ,21-Dioxy-nor-choladiensäure-lacton.

37. Über Steroide und Sexualhormone.

(124. Mitteilung¹⁾)

Steroid-Verbindungen vom Typus des α -Angelica-Lactons

von Pl. A. Plattner, H. Heusser und W. Oeschger.

(26. XII. 45.)

Das unter dem Namen α -Angelica-Lacton (IX) bekannte Enol-lacton der Lävulinsäure zeigt, wie auch das isomere β -Angelica-Lacton (X), in mancher Hinsicht ein ähnliches chemisches Verhalten wie die Aglykone der Digitalis-Stoffe. Die beiden Lactone IX und X sind deshalb schon frühzeitig zum Vergleich mit den herzwirksamen Stoffen herangezogen worden. Nach neueren Untersuchungen²⁾ kommt ihnen übrigens eine gewisse, wenn auch geringe Herzwirkung zu. Analog gebaute Butenolide, die am γ -Kohlenstoffatom an Stelle der Methyl-Gruppe einen Steroid-Rest tragen, sind bis heute nicht bekannt. Wir beschreiben hier die Synthese zweier solcher Lactone (IV und VII).

Δ^5 -3 β -Oxy-20-keto-21-brom-pregnen (I) bzw. sein Acetat lieferten durch Umsetzung mit Natrium-malonester und nachfolgende Verseifung die [Δ^5 -3 β -Oxy-20-keto-pregnenyl-(21)]-malonsäure (II). Trotz vielfacher Bemühungen gelang es uns nicht, diese Dicarbonsäure in analysenreiner Form zu erhalten, dagegen gibt der gut kristallisierte Dimethylester (IIa) stimmende Analysenwerte. Beim Schmelzen im Vakuum oder bei der Sublimation im Hochvakuum ging die Malonsäure (II) in die γ' -[Δ^5 -3 β -Oxy-ätio-cholenyl-(17)]- γ' -keto-buttersäure (III) über, die weiter durch Herstellung des Methylesters (IIIa) und des Acetyl-methylesters (IIIb) charakterisiert wurde. Beim Behandeln der Keto-buttersäure (III) mit einem Gemisch von Acetanhydrid und Acetylchlorid trat, unter gleichzeitiger Acetylierung der Hydroxyl-Gruppe in Stellung 3, Lactonisierung zum Butenolid (IV) ein. Da die Lacton-Gruppe in dieser Verbindung ausserordentlich leicht hydrolytisch aufgespalten wird, schlugen sämtliche Versuche zur Herstellung des 3-Oxy-lactons durch partielle Verseifung in 3-Stellung fehl. Unter sehr milden Bedingungen konnte keine Reaktion beobachtet werden; bei energischerer Behandlung des Butenolids (IV) mit Säuren oder Alkali wurde die Keto-buttersäure (III) zurückgebildet.

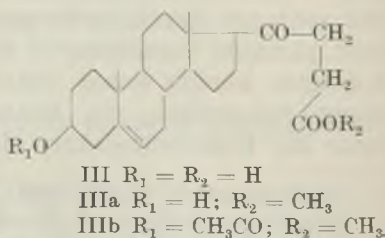
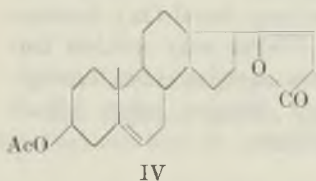
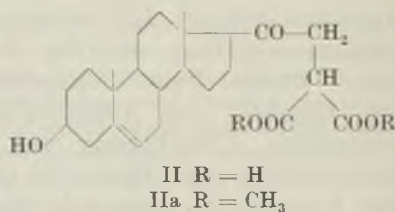
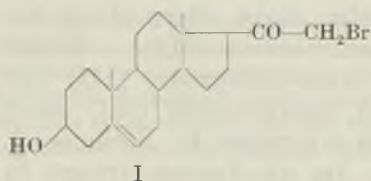
¹⁾ 123. Mitt. Helv. 29, 248 (1946).

²⁾ O. Kraye, R. Mendez, E. Moisset de Espanes und R. P. Linstead, J. Pharmacol. Exp. Therap. 74, 372 (1942); K. K. Chen, F. A. Steldt, J. Fried und R. C. Elderfield, J. Pharmacol. Exp. Therap. 74, 381 (1942).

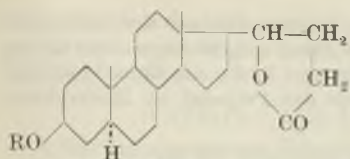
Aus Analogiegründen teilen wir der Verbindung die Formel IV eines β,γ -ungesättigten Lactons zu. Eine Verschiebung der Doppelbindung durch Erhitzen mit Triäthylamin, wie sie bei den Angelica-Lactonen beobachtet wurde¹⁾, liess sich nicht erreichen.

Da eine Festlegung der Lage der Doppelbindung im Lacton-Ring der Verbindung IV durch die Anwesenheit einer zweiten Doppelbindung (5, 6) in der Molekel erschwert wird, haben wir auch das im Steroid-Kern gesättigte Butenolid (VII) hergestellt. Als Ausgangsmaterial verwendeten wir den Methylester (IIIa) der ungesättigten Ketosäure (III), dessen partielle Hydrierung am besten in Essigester bei Verwendung von Palladium-Calciumcarbonat-Katalysator gelang. Der erhaltene gesättigte Methylester (Vb) wurde dann zur freien Säure (V) verseift. Hydrierung unter anderen Bedingungen führte zu Gemischen oder, bei Verwendung von Platin und Eisessig und vollständiger Hydrierung bis zum Stillstand, zum gesättigten Lacton (VI), von dem zur Charakterisierung noch das Acetat (VIa) hergestellt wurde.

Die gesättigte Ketosäure (V) gab bei analoger Behandlung wie oben das acetylierte Lacton (VII). Dieses addiert Brom sehr rasch und ist demnach wohl als β,γ -ungesättigt anzusprechen. Bei der Ozonisierung des Lactons (VII) wurden nur saure Bestandteile gebildet, aus denen allerdings keine krystallisierten Produkte erhalten werden konnten. Dieser Befund spricht gegen eine semicyclische Lage der Doppelbindung (vgl. Formel VIII). Auch die U.V.-Absorptionsspektren der beiden Lactone (IV und VII) weisen auf das Vorliegen β,γ -ungesättigter Verbindungen hin. Das entsprechende experimentelle Material werden wir im Zusammenhang mit einer Untersuchung der Angelica-Lactone später bekannt geben.



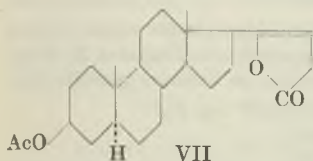
¹⁾ J. Thiele, R. Tischbein und E. Lossow, A. 319, 180 (1901).



VI R = H
VIa R = CH₃CO



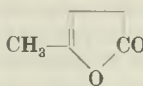
V R₁ = R₂ = H
Va R₁ = CH₃CO; R₂ = CH₃
Vb R₁ = H; R₂ = CH₃



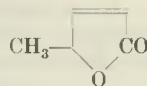
VII



VIII



IX



X

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *CIBA Aktiengesellschaft* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil¹⁾.

[Δ^5 -3 β -Oxy-20-keto-pregnenyl-(21)]-malonsäure (II).

1,0 g Malonester, 75 mg pulverisiertes Natrium und 3 cm³ absolutes Benzol wurden bis zur völligen Lösung des Natriums am Rückfluss gekocht. Zum erkalteten Ansatz wurden 1,14 g Δ^5 -3 β -Oxy-20-keto-21-brom-pregnen²⁾ (I) in 10 cm³ absolutem Benzol zugefügt. Nach 3-stündigem Kochen wurde mit Äther verdünnt, die ätherische Lösung mit Salzsäure und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand, 1,8 g gelbes Öl, war halogenfrei.

Das Rohprodukt wurde in 25 cm³ 12-proz. methanolischer Kalilauge 2 Stunden am Rückfluss gekocht, das ausgeschiedene Kaliumsalz der Dicarbonsäure (II) (1,5 g) abgenutzt und mit Methanol und Äther gewaschen. Das Salz wurde durch Kochen mit 30 cm³ 10-proz. wässriger Kalilauge gelöst und aus der siedenden Lösung die freie Säure durch Ansäuern ausgeschieden. Die aus Äther umkrystallisierte Dicarbonsäure (730 mg) zeigte einen Smp. von 243—245°. Aus den Mutterlaugen konnten weitere 100 mg der Säure (Smp. 241—243°) gewonnen werden.

Trotz wiederholten Umkrystallisierens aus Aceton-Pentan und Äthanol wurden bei der Verbrennung stets zu tiefe C-Werte gefunden. Smp. des reinsten Präparates: 245—246°.

$$[\alpha]_D^{16} = +34,0^{\circ} \quad (c = 0,64 \text{ in Feinsprit})$$

Dimethylester (IIa). Der mit Diazomethan hergestellte Dimethylester schmolz nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Äthanol bei 117°. Zur Analyse wurde das Präparat 10 Stunden im Hochvakuum bei 60° getrocknet und vor dem Verbrennen im Vakuum geschmolzen.

3,533 mg Subst. gaben 9,084 mg CO₂ und 2,798 mg H₂O

C₂₆H₃₈O₆ Ber. C 69,93 H 8,58%

Gef. „ 70,17 „ 8,86%

$$[\alpha]_D = +34,7^{\circ} \quad (c = 0,649 \text{ in Feinsprit})$$

γ' -[Δ^5 -3 β -Oxy-ätio-cholenyl-(17)]- γ' -keto-buttersäure (III).

2,0 g [Δ^5 -3 β -Oxy-20-keto-pregnenyl-(21)]-malonsäure (II) wurden im Wasserstrahlvakuum 15 Minuten auf 250—260° erhitzt. Die Schmelze liess sich durch Kochen mit

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

²⁾ T. Reichstein und G. Fuchs, *Helv.* **23**, 658 (1940).

50 cm³ 10-proz. methanolischer Kalilauge in Lösung bringen. Das aus der eingeengten Lösung beim Ansäuern anfallende Produkt wurde in Äther aufgenommen. Aus der gewaschenen ätherischen Lösung schieden sich beim Einengen 1,15 g der Säure in kristalliner Form aus. Smp. 241—242°. Zur Analyse wurde das Präparat im Hochvakuum sublimiert. Smp. 243—243,5°.

2,435 mg Subst. gaben 6,578 mg CO₂ und 1,987 mg H₂O

C₂₃H₃₄O₄ Ber. C 73,76 H 9,15%

Gef. „ 73,72 „ 9,13%

$[\alpha]_D^{20} = +45,5^{\circ}$ (c = 0,435 in Feinsprit)

Methylester (IIIa). Der mit Diazomethan bereitete Methylester schmolz nach zweimaligem Umkrystallisieren bei 117—118°. Zur Analyse wurde das Präparat 20 Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet und vor dem Verbrennen im Vakuum geschmolzen.

3,647 mg Subst. gaben 9,900 mg CO₂ und 3,069 mg H₂O

C₂₄H₃₆O₄ Ber. C 74,19 H 9,34%

Gef. „ 74,08 „ 9,42%

$[\alpha]_D^{20} = +43,8^{\circ}$ (c = 0,395 in Feinsprit)

Methylester-acetat (IIIb). Das durch Acetylierung des Methylesters mit Pyridin-Acetanhydrid hergestellte Derivat schmolz nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Methanol bei 142,5—143,5° und wurde zur Analyse 16 Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,775 mg Subst. gaben 10,019 mg CO₂ und 2,961 mg H₂O

C₂₆H₃₈O₅ Ber. C 72,52 H 8,90%

Gef. „ 72,43 „ 8,78%

$[\alpha]_D^{20} = +44,5^{\circ}$ (c = 0,392 in Feinsprit)

γ' -[Δ^5 -3 β -Acetoxy-ätio-cholenyl-(17)]- $\Delta^{\beta',\gamma'}$ -butenolid (IV).

1,40 g γ' -[Δ^5 -3 β -Oxy-ätio-cholenyl-(17)]- γ' -keto-buttersäure wurden in einer zugschmolzenen Ampulle mit 4,5 cm³ Acetanhydrid, welches 0,1% Acetylchlorid enthielt, 1 1/2 Stunden auf 100° erhitzt und anschliessend über Nacht bei -10° stehen gelassen. Dabei schieden sich kugelige Krystallkonglomerate aus. Diese wurden abgenutscht und aus Methanol umkrystallisiert. Ausbeute 890 mg vom Smp. 165—169°. Durch zweimaliges Umkrystallisieren aus Methanol stieg der Schmelzpunkt auf 172—175°.

Zur Analyse (a) wurde eine Probe dieses Präparates im Hochvakuum bei 155° sublimiert.

Eine weitere Probe wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die ersten Petroläther-Benzol-Eluate lieferten nach dem Umkrystallisieren aus Methanol in 50-proz. Ausbeute feine Nadeln vom Smp. 185—187°. Das Präparat wurde 24 Stunden im Hochvakuum bei 90° getrocknet (Analyse b).

3,648 (a); 3,603 (b) mg Subst. gaben 10,072; 9,922 mg CO₂ und 2,863; 2,858 mg H₂O

C₂₅H₃₄O₄ Ber. C 75,34 H 8,60%

Gef. „ 75,35; 75,15 „ 8,78; 8,88%

$[\alpha]_D^{16} = -40,1^{\circ}$ (c = 0,598 in Feinsprit)

Verseifungs- und Umlagerungsversuche mit γ' -[Δ^5 -3 β -Acetoxy-ätio-cholenyl-(17)]- $\Delta^{\beta',\gamma'}$ -butenolid (IV).

Sämtliche Versuche, die Acetoxy-Gruppe in Stellung 3 des β,γ -Butenolids (IV) partiell zu verseifen, schlugen fehl. Bei der Behandlung des Lactons (IV) mit 6-proz. methanolischer Salzsäure bei 20° konnte als einheitliches Reaktionsprodukt der Keto-säure-methylester (IIIa) gefasst werden. In Dioxan-Salzsäure bei 20° reagierte das Lacton (IV) nicht. In Dioxan-Salzsäure bei 55° wurde neben der Ketosäure (III) nur Ausgangsmaterial isoliert. Auch Verseifungsversuche mit verdünntem Alkali führten nicht zum Ziel.

Bei der Behandlung des Lactons (IV) mit Triäthylamin im Einschlussrohr bei 90° wurde die Doppelbindung des Butenolid-Restes nicht verschoben. Es konnte nur unverändertes Ausgangsmaterial isoliert werden.

γ' -[3 β -Oxy-ätio-allo-cholanyl-(17)]-butanolid (VI).

320 mg ungesättigte Ketosäure (III) vom Smp. 240—242° wurden in 30 cm³ Eisessig mit 65 mg vorreduziertem Platinoxid bis zum Stillstand der Wasserstoffaufnahme (2 Mol) hydriert. Nach üblicher Aufarbeitung lieferte die Krystallisation des Rohproduktes aus Äther 305 mg feine Blättchen vom Smp. 242—244°. Zur Analyse wurde das Präparat im Hochvakuum bei 210° sublimiert. Smp. 246—246,5°.

3,692 mg Subst. gaben 10,361 mg CO₂ und 3,264 mg H₂O

C₂₃H₃₆O₃ Ber. C 76,62 H 10,07%

Gef. „ 76,58 „ 9,89%

$[\alpha]_D^{20} = -21,9^{\circ}$ (c = 0,433 in Feinsprit)

Acetat (VIa). 20 mg Oxy-lacton (VI) wurden in 0,15 cm³ Acetanhydrid, das 0,1-proz. Acetylchlorid enthielt, eine Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Anschliessend wurde mit Wasser zersetzt, der Krystallbrei abgenutscht, aus Alkohol umkrystallisiert und zur Analyse ein Teil des Präparates im Hochvakuum bei 180° sublimiert. Smp. 203—204°.

3,729 mg Subst. gaben 10,174 mg CO₂ und 3,194 mg H₂O

C₂₅H₃₆O₄ Ber. C 74,59 H 9,52%

Gef. „ 74,45 „ 9,53%

$[\alpha]_D^{20} = -23,0^{\circ}$ (c = 0,567 in Feinsprit)

γ' -[3 β -Oxy-ätio-allo-cholanyl-(17)]- γ' -keto-buttersäure (V).

250 mg der ungesättigten Ketosäure (III) vom Smp. 240—242° wurden in 45 cm³ Eisessig mit 40 mg vorhydriertem Platinoxid bis zur Aufnahme von 1,1 Mol Wasserstoff hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde die Säure durch Zusatz von Wasser ausgefällt und abgenutscht. Durch anschliessendes häufiges Umkrystallisieren aus Äthanol-Äther wurde in schlechter Ausbeute die gesättigte Ketosäure (V) erhalten. Zur Analyse wurde die Säure im Hochvakuum bei 200° sublimiert. Smp. 252—254⁰¹).

2,292 mg Subst. gaben 6,162 mg CO₂ und 1,993 mg H₂O

C₂₃H₃₆O₄ Ber. C 73,36 H 9,64%

Gef. „ 73,37 „ 9,73%

$[\alpha]_D^{20} = +67,1^{\circ}$ (c = 0,167 in Feinsprit)

Methylester-acetat (Va) 350 mg des ungesättigten Acetoxy-methylesters (IIIb) wurden, wie die Säure (III) hydriert. Nach eingehender chromatographischer Reinigung an Aluminiumoxyd krystallisierte die Substanz aus Alkohol in gut ausgebildeten Nadeln vom Smp. 120—122°. Das Präparat wurde zur Analyse 24 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

3,550 mg Subst. gaben 9,440 mg CO₂ und 2,972 mg H₂O

C₂₆H₄₀O₅ Ber. C 72,19 H 9,32%

Gef. „ 72,56 „ 9,37%

$[\alpha]_D^{20} = +69,0^{\circ}$ (c = 0,560 in Feinsprit)

Methylester (Vb). 460 mg ungesättigter Ketosäure-methylester (IIIa) wurden in 40 cm³ Essigester mit 500 mg 2-proz. Palladium-Calciumcarbonat-Katalysator bis zum völligen Stillstand der Wasserstoffaufnahme hydriert. Vom Katalysator wurde abfiltriert

1) Wie dies zwischen Δ^5 -ungesättigten Verbindungen und den entsprechenden Derivaten der „allo“-Reihe häufig der Fall ist, gibt die Ketosäure III in der Mischprobe mit der Säure V keine Schmelzpunktserniedrigung, jedoch zeigt der deutlich höhere Schmelzpunkt, dass kein Ausgangsmaterial vorliegt.

und das Rohprodukt aus Alkohol umkrystallisiert. Die Nadeln (400 mg) schmolzen bei 140—143°¹⁾. Zur Analyse wurde das Präparat noch zweimal aus Alkohol umkrystallisiert und vor dem Verbrennen im Vakuum geschmolzen.

3,666 mg Subst. gaben 9,904 mg CO₂ und 3,189 mg H₂O

C₂₄H₃₈O₄ Ber. C 73,80 H 9,81%
Gef. „ 73,72 „ 9,73%

$[\alpha]_D = +66,8^0$ (c = 0,494 in Feinsprit)

Bei der alkalischen Verseifung des Methylesters wurde die bereits oben beschriebene Ketosäure (V) vom Smp. 252—254° erhalten.

γ' -[3 β -Acetoxy-ätio-allo-choleanyl-(17)]- $\Delta^{\gamma,\beta}$ -butenolid (VII).

310 mg der gesättigten Ketosäure (V) wurden wie die Säure (III) lactonisiert. Das Rohprodukt wurde viermal aus Methanol umkrystallisiert und zur Analyse im Hochvakuum bei 170° sublimiert. Smp. 195—197°.

3,786 mg Subst. gaben 10,399 mg CO₂ und 3,080 mg H₂O

C₂₅H₃₆O₄ Ber. C 74,96 H 9,06%
Gef. „ 74,96 „ 9,10%

$[\alpha]_D^{20} = +31,1^0$ (c = 0,467 in Feinsprit)

Die Ozonisation des Lactons (VII) lieferte nur saure Bestandteile, die jedoch auch nach Reacetylierung und Veresterung mit Diazomethan nicht zur Krystallisation gebracht werden konnten.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

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

38. Recherches sur l'ozonation du cholestérol

par M. Berenstein, A. Georg et E. Briner.

(27 XII 45)

A la suite des travaux de *Harries* relatifs à l'action de l'ozone sur des corps organiques non saturés, plusieurs expérimentateurs ont eu recours à ce gaz en vue de reconnaître la présence de doubles liaisons dans le cholestérol et d'en déterminer le nombre. Les résultats auxquels ils sont parvenus marquant des différences assez grandes, il nous a paru intéressant et utile de reprendre l'étude de ce sujet, bien que, depuis lors, on ait établi — par des méthodes autres que l'ozonation — que la molécule de cholestérol comporte une seule double liaison. Ainsi le but principal de nos recherches a été d'élucider les causes des divergences auxquelles il vient d'être fait allusion et de préciser les conditions expérimentales qui conduisent à la production d'un ozonide normal.

¹⁾ Zeigt mit IIIb, das einen ähnlichen Schmelzpunkt besitzt, eine starke Schmelzpunktserniedrigung.

Avant d'exposer les résultats essentiels de nos recherches, il n'est pas superflu de donner un résumé sommaire des travaux effectués précédemment dans l'étude de cette question¹⁾.

Les premiers résultats d'études sur l'ozonation du cholestérol ont été communiqués en 1908. Ce sont, dans l'ordre chronologique, ceux de *Dorée et Gardner*, de *Langheld*, de *Diels* et de *Molinari et Fenaroli*. *Dorée et Gardner*²⁾, opérant l'ozonation dans le chloroforme, notent la fixation d'une molécule d'ozone par molécule de cholestérol, alors que *Langheld*³⁾, se servant aussi du chloroforme comme dissolvant, conclut à l'addition d'au moins deux molécules d'ozone sur celle de cholestérol. Utilisant ce même dissolvant, *Diels*⁴⁾ obtient un produit correspondant d'abord à une addition de 5 atomes d'oxygène sur la molécule de cholestérol; mais une purification du produit réduit le taux de fixation à 4. *Molinari et Fenaroli*⁵⁾ ont opéré avec un ozone relativement peu concentré (à 1%). Pour établir le taux de fixation des atomes d'oxygène, ils ont eu recours soit à l'analyse élémentaire du produit obtenu, soit à la pesée de la substance avant et après ozonation. Par la première méthode, ils obtiennent un taux de fixation de 7 et par la seconde de 6. Ils en déduisent la présence de deux doubles liaisons dans la molécule de cholestérol. En reprenant, sur des dérivés du cholestérol, l'étude du problème, *Dorée*⁶⁾ est conduit à admettre, d'accord avec *Molinari et Fenaroli*, que le cholestérol réagit vis-à-vis de l'ozone comme s'il possédait deux doubles liaisons. Toutefois, il envisage aussi la possibilité que l'ozonation, après fixation d'une première molécule d'ozone, produise une modification dans la structure de la molécule de cholestérol permettant la fixation d'une deuxième molécule d'ozone.

Dans ses recherches avec *Seitz, Harries*⁷⁾ remplace, comme dissolvant, le chloroforme — auquel il reproche, avec justice d'ailleurs, certains défauts pour l'ozonation — par l'hexane ou par le tétrachlorure de carbone. L'ozonation dans l'hexane a fourni à ces expérimentateurs un corps très peu soluble, dont l'analyse élémentaire correspond à la fixation d'une molécule d'ozone. En revanche, l'ozonation dans le tétrachlorure leur a donné, après précipitation par l'éther de pétrole, un corps dont la composition répondrait à la fixation de 5 atomes d'oxygène. Pour interpréter ce dernier fait, *Harries* est d'avis que, pendant l'ozonation, il se produirait un processus de déshydratation, avec départ d'une molécule H₂O du groupe —CH₂—CHOH— du cholestérol, et formation de cholestérylène (C₂₇H₄₄), dont la seconde double liaison serait saturée à son tour par l'ozone.

Bien que les travaux de *Furth* et de *Felsenreich*⁸⁾ aient été publiés en 1915, ces auteurs ont employé les mêmes procédés que *Molinari*, mais ont opéré avec un ozone à une concentration de 8—9%. Les essais ont porté sur le cholestérol, le dihydro-cholestérol et le β -cholestane. Suivant la durée de l'ozonation, ils enregistrent des taux de fixation de 4,5 à 12 atomes d'oxygène pour le cholestérol, de 5,4 à 12,9 atomes pour le dihydro-cholestérol, et de 4,5 à 14,4 atomes pour le β -cholestane. Ces constatations les amènent à contester les conclusions de *Molinari* et de *Fenaroli*, selon lesquelles l'ozone est le réactif le plus approprié à la mise en évidence de doubles liaisons, attendu que le β -cholestane, dont la molécule ne comporte pas de double liaison, est capable, malgré cela, de fixer jusqu'à 14—15 atomes d'oxygène.

1) On trouvera une bibliographie plus détaillée, avec commentaires critiques, dans la thèse de *M. Berenstein*, Genève 1944.

2) Soc. 93, 1331 (1908).

3) B. 41, 1023 (1908).

4) B. 41, 2596 (1908).

5) B. 41, 2785 (1908). Dans cette publication, *Molinari* relate qu'en 1905, en collaboration avec *Bono*, et en se servant d'éther comme dissolvant, il a enregistré des fixations, sur la molécule de cholestérol, de 4 atomes d'oxygène, et de 3 sur celle d'acétate de cholestérol.

6) Soc. 95, 638 (1909).

7) B. 45, 936 (1912).

8) Bioch. Z. 69, 417 (1915).

Enfin, en 1916, *Dorée*¹⁾ revient à nouveau sur l'étude de la question. Avec son collaborateur *Orange*, il opère sur le cholestérol en suspension dans l'acide acétique glacial²⁾. Faisant créance à la théorie de l'oxozone de *Harries*, encore en honneur à cette époque, ils font passer le courant d'ozone dans une solution de soude caustique, en vue de la débarrasser de l'oxozone (O_4)³⁾. Suivant les conditions de leurs expériences: ozonation poussée ou ozonation limitée, ils obtiennent des produits correspondant à des additions de 6—7 ou de 3—4 atomes d'oxygène par molécule de cholestérol. Ces constatations les portent à conclure à l'existence d'une seule double liaison originale et à expliquer la formation d'un di-ozonide par l'ouverture d'un des cycles, selon le processus déjà envisagé par *Dorée* (voir plus haut).

Comme on le voit d'après cette brève bibliographie, les résultats obtenus sont loin de concorder, non seulement d'un auteur à l'autre, mais aussi pour un même auteur. On comprend dès lors que *Windaus* ait pu écrire, en 1925, dans *Abderhalden's Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*⁴⁾, que l'ozonation donne des résultats trop incertains pour qu'on en puisse déduire le nombre de doubles liaisons de la molécule de cholestérol.

Dans notre étude visant à apporter des éclaircissements au problème, nous avons pu bénéficier de l'expérience acquise au Laboratoire de Chimie technique et théorique de Genève dans la pratique de l'ozonation. Nous avons notamment eu recours à la méthode de l'ozonation quantitative mise au point dans ce laboratoire. Cette méthode permet, comme il a été précisé dans différents mémoires issus de ce laboratoire, de contrôler les quantités d'ozone absorbées, au fur et à mesure de l'avancement de l'opération. De cette façon, il n'est pas nécessaire, comme l'ont fait la plupart de nos devanciers, de pousser à fond l'ozonation, avec tous les risques d'altération de la molécule par une oxydation excessive que comporte une telle pratique. Il ne faut pas oublier notamment que l'ozone est un réactif d'oxydation très énergique, surtout lorsqu'il est concentré. De fait, des suroxydations marquées ont été maintes fois constatées dans les recherches effectuées sur l'ozonation dans ce laboratoire.

Dans le présent travail, nous avons encore amélioré l'application de cette méthode en procédant à des ozonations par étapes successives, avec représentation graphique des proportions d'ozone consommées (courbes d'ozonation)⁵⁾.

Comme premier point important, nous avons relevé que, dans un dissolvant où le produit d'ozonation est soluble — c'est le cas

1) Soc. 109, 46 (1916).

2) Dans ce dissolvant, l'ozonide est soluble, alors que le cholestérol l'est très peu.

3) Or, sur ce dernier point, il faut rappeler que les travaux récents ont établi d'une façon irréfutable qu'un corps tel que l'oxozone n'existe pas (*S. Karrer et O. R. Wulf*, Am. Soc. 44, 2391 (1922); *Briner et Biedermann*, Helv. 16, 213 (1933); *Lainé*, Ann. physique [11] 3, 554 (1935)). La diminution de concentration en oxygène actif après le passage du gaz ozoné dans la soude caustique provient tout simplement de ce qu'une partie de l'ozone est détruite, et non pas de l'enlèvement de l'oxozone.

4) Abt. 1, Tl. 6; 172.

5) Voir quelques-uns de ces graphiques plus loin, dans la partie expérimentale.

dans CCl_4 , CHCl_3 , etc. — la consommation d'ozone ne s'arrête nullement après l'étape correspondant à une fixation d'une ou deux molécules d'ozone, mais qu'elle continue toujours, plus ou moins ralentie. Il ne s'agit pas là d'une consommation d'ozone due seulement à l'attaque du dissolvant, car ce fait s'est produit aussi pour les solutions de cholestérol dans le tétrachlorure de carbone, liquide qui reste à peu près inaltéré s'il est purifié d'une manière appropriée. Toutefois, en opérant soit sur le cholestérol, soit sur son acétate, la consommation de l'ozone marque des ralentissements visibles sur les graphiques après l'absorption d'une molécule d'ozone. Il s'est donc bien produit un ozonide que l'on peut désigner du nom d'ozonide normal, puisqu'il répond à la saturation par l'ozone de la double liaison du cholestérol. D'ailleurs, en procédant à une ozonation ménagée du cholestérol dans ce dissolvant, nous avons pu préparer et isoler un ozonide dont l'analyse élémentaire confirme bien ce résultat. Mais la continuation de l'absorption de l'ozone lorsqu'on prolonge la durée de l'opération prouve bien que des processus d'oxydation interviennent après ou même pendant l'ozonation proprement dite; ces processus expliquent les taux de fixation d'oxygène supérieurs auxquels sont parvenus plusieurs des expérimentateurs qui se sont occupés de cette question avant nous.

Dans ce même ordre d'idées, la comparaison des courbes d'ozonation nous a permis de tirer des renseignements intéressants sur la nature de ces processus d'oxydation. C'est ainsi qu'en comparant les courbes d'ozonation, dans le tétrachlorure de carbone, du cholestérol et de son acétate, dans des conditions identiques, on constate qu'elles se superposent presque complètement si l'ozonation a été effectuée avec un ozone dilué (0,5 %) alors que, avec un ozone plus concentré (1,7 %), l'absorption d'ozone, après formation de l'ozonide normal, est, dans le cas du cholestérol, environ du double de ce qu'elle est dans celui de son acétate. On peut en conclure que l'ozone, à l'état plus concentré, porte son action d'oxydation ultérieure de préférence sur le groupe hydroxyle secondaire du cholestérol; ce fait trouve son analogue par exemple dans l'oxydation du bornéol en camphre.

Mais c'est en nous servant d'hexane comme dissolvant que nous avons obtenu les résultats les plus satisfaisants. Ce dissolvant est, il est vrai, fortement attaqué par l'ozone. Mais comme l'ozonide de cholestérol est beaucoup moins soluble dans l'hexane que le cholestérol — qui l'est très peu — il précipite et échappe ainsi aux oxydations ultérieures. L'analyse élémentaire du produit ainsi préparé indique bien que l'on est en présence d'un ozonide normal.

L'ozonide normal de cholestérol se présente sous forme d'une masse blanche homogène, fondant à $115-118^\circ$, alors que les produits obtenus par des ozonations prolongées ne sont pas homogènes

et fondent plus bas (85–95°). Outre le résultat des analyses signalées plus haut, la pureté de l'ozonide est attestée encore par l'absence des réactions caractérisant la double liaison (coloration jaune avec le tétranitrométhane) ou le cholestérol (réaction de *Liebermann-Burchard*). Le chromatogramme de l'ozonide normal présente, à la lumière de *Wood*, une zone de fluorescence unique rouge brique, tandis que les chromatogrammes des produits suroxydés donnent lieu à quatre zones de fluorescence différentes, ce qui témoigne de leur hétérogénéité.

La formation de l'ozonide de cholestérol se distingue de celle de beaucoup d'autres ozonides par sa lenteur, qui fait que l'ozone n'est que partiellement absorbé, même au début de l'ozonation. Or on sait que les ozonations des composés à double liaison éthylénique, comme celle de l'anéthol par exemple, que nous avons pris comme base de comparaison en opérant dans les mêmes conditions, sont caractérisées par une absorption totale de l'ozone se poursuivant presque jusqu'à la fin de l'ozonation. En revanche, l'ozonide de cholestérol fait montre d'une certaine stabilité: après deux mois, l'analyse d'un échantillon n'a révélé aucune décomposition, alors que de nombreux autres ozonides étudiés dans ce laboratoire¹⁾ sont le siège de processus de destruction²⁾ donnant lieu au dégagement de divers gaz (H_2 , CH_4 , CO_2 , CO).

La stabilité de l'ozonide apparaît aussi dans la lenteur de l'attaque de l'ozonide par l'iodure de potassium. Les quantités d'oxygène actif déterminées ainsi par l'iode mis en liberté sont en effet toujours bien inférieures à celles qui correspondent à l'ozonide normal, contrairement à ce qui se passe pour d'autres ozonides³⁾.

Les autres méthodes de scission⁴⁾ réductrice que nous avons employées: par le nickel-*Raney* ou par l'hydrogénosulfite de sodium, n'ont pas non plus donné des résultats nets pour la recherche de la nature des produits de la scission. Mentionnons pourtant que l'on a obtenu une semicarbazone bien cristallisée, de point de fusion 236°, du produit de scission par l'hydrogénosulfite de sodium; mal-

¹⁾ Notamment l'ozonide de butylène et d'isobutylène (*E. Briner et R. Meier*, *Helv.* **12**, 529 (1929)), de l'acide oléique (*E. Briner, C. Denzler et H. Paillard*, *ibid.* **16**, 800 (1933)), du crotonate d'éthyle (*E. Briner et D. Franck*, *ibid.* **22**, 587 (1939)). *M. Stoll et A. Rouvé* (*Helv.* **27**, 950 (1944)) signalent des dégagements de gaz par les produits d'ozonolyse réductrice (au moyen de l'hydrogène en présence de palladium) des ozonides qu'ils ont étudiés dans leur travail.

²⁾ Sur l'interprétation des processus de destruction et de scission des ozonides, voir *E. Briner*, *Helv.* **22**, 591 (1939).

³⁾ Par exemple pour l'ozonide d'anéthol (*E. Briner et S. de Nemitz*, *Helv.* **21**, 748 (1938)).

⁴⁾ Nous utilisons ce terme de préférence à ozonolyse, car il marque mieux que le processus qu'il désigne est une coupure, s'effectuant sur la double liaison saturée par la molécule d'ozone.

heureusement, les quantités de ce corps ont été trop faibles pour se prêter à une étude.

Quant aux essais de scission au moyen de l'eau chaude, à la pression ordinaire ou sous pression, qui pour d'autres ozonides ont abouti à des indications utiles¹⁾, par l'analyse de l'aldéhydité et de l'acidité produites, ils n'ont pas non plus fourni de données utilisables.

Ainsi, comme résultats essentiels de cette étude, nous avons obtenu, dans les conditions appropriées aux dissolvants utilisés, un ozonide normal de cholestérol et de son acétate, conformément à ce que l'on pouvait attendre de la formule de constitution établie pour ces corps. De plus, nous avons pu élucider la raison des résultats divergents obtenus par les expérimentateurs précédents.

On trouvera dans la partie expérimentale une description sommaire des méthodes qui ont été mises en œuvre, et l'exposé des principaux résultats signalés plus haut, ainsi que quelques autres de moindre importance.

Partie expérimentale.

Méthode de travail.

La méthode d'ozonation quantitative, pour en rappeler le principe²⁾, consiste à diviser le courant d'oxygène ozoné sortant de l'effluveur en deux courants partiels: l'un de ces courants passe dans un flacon barboteur contenant le liquide ou la solution du corps à ozoner, l'autre circule dans un flacon barboteur contenant une solution d'iode de potassium, destinée à l'analyse de l'ozone. Des mesures préliminaires, faites en plaçant sur le premier circuit également un flacon barboteur avec de l'iode de potassium, donnent le rapport d'ozone passant dans les deux circuits pour des conditions bien déterminées. Ainsi, en reproduisant ces conditions dans les expériences proprement dites, on sait, par l'analyse de l'iode libéré dans le second circuit, la quantité d'ozone ayant circulé dans le liquide à ozoner.

De plus, comme on a installé après le flacon contenant le liquide à ozoner un autre flacon barboteur renfermant une solution d'iode de potassium, on connaîtra, par l'iode libéré dans ce dernier flacon, la fraction de l'ozone non absorbé par la substance.

Cette méthode a été améliorée dans son application en procédant par étapes successives, après chacune desquelles on change les flacons barboteurs à iode de potassium dans les deux circuits. L'analyse de l'iode libéré après chaque étape renseigne sur le rapport de la quantité d'ozone absorbé à celle qui a circulé dans le liquide à ozoner. En portant ces résultats sur un graphique, on est renseigné exactement sur la marche de l'ozonation³⁾.

Conditions expérimentales.

Dans les expériences d'ozonation effectuées, nous avons fait varier: la substance à ozoner: cholestérol ou acétate de cholestérol; le dissolvant: hexane, tétrachlorure de carbone ou chloroforme; la concentration de la substance à ozoner et sa quantité; la concentration de l'ozone; la durée de l'ozonation; la température d'ozonation et la lumière.

¹⁾ Par exemple dans le cas des ozonides de l'anéthol et de l'estragol (*E. Briner et S. de Nemitz*, loc. cit.).

²⁾ Elle a été décrite à plusieurs reprises dans des mémoires antérieurs issus de ce laboratoire et portant sur l'ozonation, ainsi que dans la thèse de *M. Berenstein*, loc. cit.

³⁾ Voir plus loin des exemples d'application de cette méthode à l'ozonation du cholestérol.

Le cholestérol provenait de la maison *F. Hoffmann-La Roche & Cie.* à Bâle, p. de f. 147,5°; $[\alpha]_D^{20} = -31^\circ$ (éther).

L'acétate de cholestérol a été préparé par nous selon trois méthodes différentes: La méthode de *Paget et Pierrard*¹⁾ ne nous a fourni qu'un faible rendement. La méthode de *Noyons*²⁾ nous a donné un rendement d'environ 80% en acétate pur, p. de f. 114°. Le meilleur rendement (90—95% de la théorie) et le produit le plus pur ont été obtenus en appliquant au cholestérol la méthode d'acétylation par l'anhydride acétique en présence de pyridine, à une température peu élevée³⁾. Le produit a été recristallisé dans l'alcool absolu chaud; p. de f. 114°.

L'hexane. Ce dissolvant est fortement attaqué par l'ozone⁴⁾. On verra plus loin pour quelle raison son emploi est motivé pour la préparation d'un ozonide normal de cholestérol. L'hexane utilisé comme dissolvant a été redistillé deux fois. La fraction employée passait à environ 67°. Elle a été conservée sur le sodium métallique. Le tétrachlorure de carbone a été purifié en y faisant passer un courant d'ozone à 3% pendant plusieurs heures en présence d'eau. Il a été ensuite lavé successivement par une solution de Na_2CO_3 et par l'eau distillée, séché sur Na_2SO_4 , redistillé deux fois et conservé sur CaCl_2 anhydre. Ainsi purifié, le tétrachlorure n'est pratiquement pas altéré par l'ozone aux concentrations auxquelles nous avons utilisé ce gaz; ce qui n'est pas le cas pour un tétrachlorure impur, dans lequel il se forme des quantités appréciables de HCl. Le chloroforme a été lavé à l'eau distillée, séché sur le sulfate de magnésium et distillé deux fois. (L'action de l'ozone sur ce dissolvant donne lieu à la formation d'acide chlorhydrique et de phosgène).

La quantité de substance ozonée en une opération a été, dans la plupart des expériences, de 3 millimoles (1,158 gr. de cholestérol, 1,248 gr. d'acétate). Dans quelques expériences, faites avec le cholestérol, elle a été portée à 5,6 ou 8 millimoles.

La concentration de la substance à ozoner, en gr./100 cm^3 a varié avec le dissolvant employé. Pour le cholestérol, elle a été, dans l'hexane, d'environ 1% (concentration voisine de la saturation à température ordinaire); dans le CCl_4 et le CHCl_3 , généralement de 4%, occasionnellement jusqu'à 6 et même 8%. Pour l'acétate, la concentration a été de 4 à 5% dans le CCl_4 et de 2,5 à 3% dans l'hexane.

Pour la concentration en ozone, nous sommes arrêtés à deux concentrations types (en vol./100 cm^3) 1,7% et 0,5%. Le débit d'oxygène ozoné a été le même dans toutes nos expériences: 10 l/h.

La durée d'ozonation a varié avec la quantité de produit à ozoner et selon le but à atteindre. Dans les expériences où il s'agissait d'obtenir un ozonide normal, l'opération a été arrêtée généralement lorsque la consommation d'ozone correspondait à 1 molécule pour 1 molécule de produit à ozoner, ou même auparavant⁵⁾; dans les expériences où il s'agissait de déterminer l'absorption maximum d'ozone par la substance à examiner, elle a été poussée jusqu'au moment où le rapport ozone absorbé/ozone ayant circulé devenait approximativement constant.

1) Bl. Soc. chim. biol. **21**, 337 (1939).

2) Bioch. Z. **298**, 391 (1938).

3) Pour plus de détails, voir thèse *M. Berenstein*.

4) Voir notamment les recherches de *Blair* et ses collaborateurs, *J. Soc. Chem. Ind.* **43**, 2891 (1923), et celles faites dans ce laboratoire, thèse *E. Niewiazska*, Genève (1937). Le cyclohexane, qui est moins attaqué par l'ozone que l'hexane, a également été essayé comme dissolvant. Mais nous avons dû renoncer à son emploi, attendu que ses produits d'oxydation sont solides, contrairement à ceux de l'hexane, et de ce fait difficilement séparables des ozonides à étudier.

5) Cependant dans le cas du cholestérol ozoné dans l'hexane, un ozonide normal peut aussi être obtenu lors d'une ozonation plus prolongée, vu que l'ozonide formé, insoluble dans le milieu ambiant, échappe pour la plus grande partie à l'action ultérieure de l'ozone.

La température d'ozonation a généralement été celle du laboratoire (environ +20°). Quelques expériences ont été faites à température plus basse (0 à +5°). Les résultats obtenus n'ont pas été influencés, dans les limites de la précision expérimentale, par ces variations de température.

Quelques ozonations ont été effectuées à l'obscurité (flacon d'ozonation enveloppé d'un papier noir), les autres à la lumière du jour. Aucune variation des résultats n'a été observée de ce fait.

Ozonation dans CCl₄ à 1,7% de concentration en ozone.

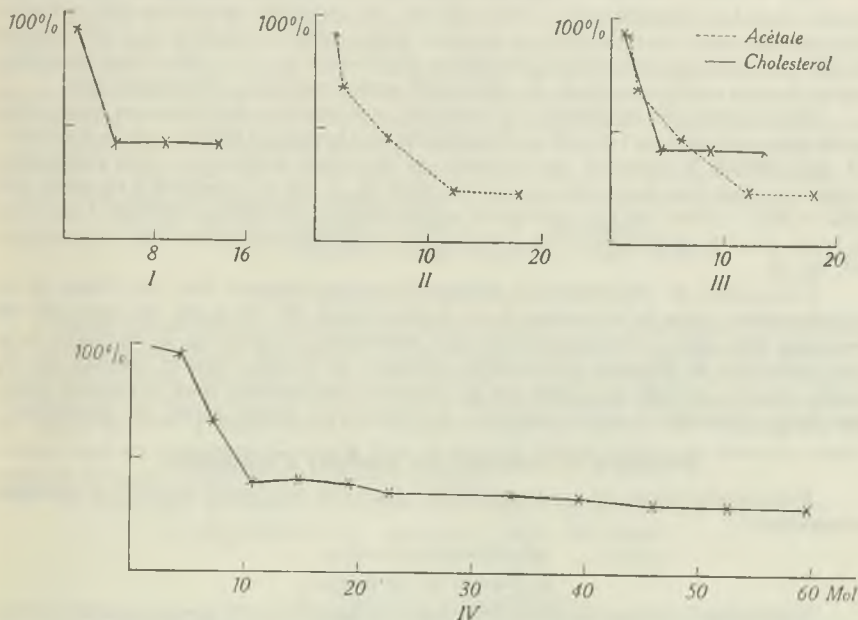


Fig. 1.

Ozonation à 0,5% de concentration en ozone.

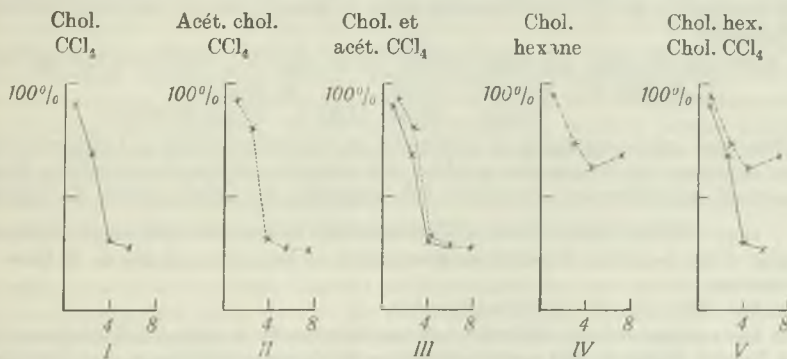


Fig. 2.

Description de quelques ozonations-types.

Les graphiques des fig. 1 et 2 traduisent en courbes les résultats des mesures¹⁾.

La quantité de la substance ozonée a été de 8 m-moles pour la courbe IV, fig. 1; pour toutes les autres courbes, la quantité de la substance ozonée a été de 3 m-moles.

On a porté en abscisses le nombre de m-moles d'ozone ayant traversé la solution à ozoner et en ordonnées la proportion moyenne, exprimée en %, de l'ozone consommé par rapport à l'ozone ayant circulé, ceci entre deux dosages successifs. Les points reliés par la courbe marquent les étapes successives d'une opération.

Interprétation. Tous ces graphiques montrent la forte consommation (90% et plus) de l'ozone au début. Lorsque cette consommation atteint et dépasse la quantité théorique requise pour la saturation de la double liaison, on enregistre une baisse très marquée. Mais ensuite cette consommation se poursuit d'une manière continue en s'affaiblissant de très peu, comme le montrent les graphiques I et IV de la fig. 1. Ce fait atteste les actions oxydantes que subit la molécule de cholestérol après l'ozonation proprement dite.

Pour l'acétate de cholestérol, la baisse de consommation de l'ozone est encore plus accentuée avec l'ozone à 1,7% (II et III de la fig. 1). On peut en déduire que le cholestérol est plus sensible à l'attaque, qui se porte sur le groupe hydroxyle. Cette supposition trouve un appui dans les graphiques I à III de la fig. 2, qui se rapportent à un ozone plus dilué et dont l'action est par conséquent moins intense; l'oxydation est alors à peu près la même pour le cholestérol et son acétate (superposition des courbes dans le graphique III, fig. 2).

L'ozonation du cholestérol en solution hexanique marque bien une baisse de la consommation, après la saturation de la double liaison (IV de la fig. 2); mais elle est beaucoup plus faible (comparaison des deux dissolvants, V de la fig. 2) en raison de la forte altération de l'hexane par l'action oxydante de l'ozone. Celle-ci est telle que la courbe remonte quelque peu, alors que le cholestérol est précipité pour la majeure partie sous forme d'ozonide et que ce dernier a été éliminé en grande partie par décantation.

Obtention et isolation des produits d'ozonation.

Nous ne donnerons ici que les résultats, parmi de nombreux autres²⁾, de quelques préparations.

*A. Ozonides normaux.**a) Ozonide du cholestérol.*

3 millimoles (1,158 gr.) de cholestérol, dissoutes dans 115 cm³ d'hexane ont été traitées, à température ordinaire, par un courant d'ozone à 0,5% pendant 330 minutes en 5 étapes successives. Il se forme bientôt un trouble dans la solution, puis l'ozonide précipite. Au moment où ce précipité a été filtré, 4,6 millimoles d'ozone avaient circulé, dont 3,4 avaient été consommées. L'ozonide filtré, lavé à l'hexane et séché au vide, représentait une masse blanche fondant à 115—117° avec décomposition, et pesant 1,046 gr., soit 80% du rendement théorique.

3,825; 3,900 mgr. de subst. ont donné 10,490; 10,750 mgr. CO₂ et 3,710; 3,765 mgr. H₂O

| | | |
|---|-----------------------|-------------------------------|
| C ₂₇ H ₄₅ OH · O ₃ | Calculé C 74,59 | H 10,68% |
| | Trouvé „ 74,80; 74,90 | „ 10,85; 10,80% ³⁾ |

Dans une autre expérience, 6 millimoles de cholestérol (2,316 gr.) dissoutes dans 300 cm³ d'hexane ont été ozonées pendant 240 minutes en 3 étapes successives. Ozone ayant circulé: 8,0 millimoles; consommé: 6,9 millimoles. (La solution filtrée de l'ozonide

¹⁾ Deux tableaux reproduisant schématiquement la marche et les résultats obtenus pour plus d'une douzaine d'opérations d'ozonation se trouvent à la fin de la thèse de *M. Berenstein*.

²⁾ Voir thèse de *M. Berenstein*, loc. cit.

³⁾ Les analyses ont été effectuées soit par les soins de la maison *L. Givardan & Cie, S.A.*, à Vernier (Genève), soit par le laboratoire de chimie analytique et de microchimie de l'École de Chimie de Genève, Directeur: Prof. Dr. *Paul E. Wenger*.

ne jaunissait plus avec le tétranitrométhane, et ne contenait donc plus de cholestérol non attaqué.)

L'ozonide, traité comme dans l'opération précédente, représentait une masse blanche, partiellement transparente, fondant à 116—118° avec décomposition. Rendement: 1,875 gr. ou 73% de la théorie.

3,39 mgr. de subst. ont donné 9,29 mgr. CO₂ et 3,14 mgr. H₂O

| | | | | |
|---|-----------|-------|---|--------|
| C ₂₇ H ₄₅ OH·O ₃ | Calculé C | 74,59 | H | 10,68% |
| | Trouvé „ | 74,78 | „ | 10,36% |

L'ozonide normal peut également être obtenu, comme il a déjà été dit, par ozonation dans le CCl₄, à condition d'arrêter l'opération à temps.

5 millimoles (1,93 gr.) dissoutes dans 30 cm³ de CCl₄ ont été ozonées pendant 180 minutes en une seule opération à température ordinaire (ozone à 0,5%). Circulation d'ozone: 4,24 millimoles, consommation: 4,07. La solution a ensuite été évaporée dans le vide à 40°, le résidu trituré plusieurs fois avec de l'éther de pétrole pour le débarrasser des restes de dissolvant et du cholestérol qui n'a pas réagi, puis séché dans le vide à poids constant à une température ne dépassant pas 40°. Rendement: 1,8 gr., soit environ 82% de la théorie, c. à d. presque exactement celui qui se déduit de la consommation d'ozone.

4,94; 3,10 mgr. de subst. ont donné 13,53; 8,49 mgr. CO₂ et 4,90; 3,10 mgr. H₂O

| | | | | |
|---|-----------|--------------|---|---------------|
| C ₂₇ H ₄₅ OH·O ₃ | Calculé C | 74,59 | H | 10,68% |
| | Trouvé „ | 74,70; 74,89 | „ | 10,87; 10,69% |

b) Ozonide de l'acétate de cholestérol.

3 millimoles (1,248 gr.) d'acétate de cholestérol dissoutes dans 40 cm³ d'hexane ont été ozonées pendant 120 minutes en 2 étapes (ozone à 0,5%) à température ordinaire. Circulation d'ozone 3,24 millimoles, consommation 2,22¹⁾. Par évaporation de la solution, trituration du résidu avec peu d'hexane pour en éliminer l'acétate non ozoné et dessiccation au vide à 48—50°, à poids constant, l'ozonide normal de l'acétate de cholestérol a été obtenu avec un rendement d'environ 70% (d'après la consommation en ozone un rendement de 74% au maximum pouvait être obtenu).

4,63 mgr. de subst. ont donné 12,37 mgr. CO₂ et 4,15 mgr. H₂O

| | | | | |
|--|-----------|-------|---|--------|
| C ₂₇ H ₄₅ OCOCH ₃ ·O ₃ | Calculé C | 73,11 | H | 10,08% |
| | Trouvé „ | 72,85 | „ | 10,03% |

B. Produits de suroxydation.

Lorsque l'ozonation se fait dans un dissolvant dans lequel l'ozonide formé est soluble, il suffit d'un léger excès d'ozone consommé par rapport à la quantité théoriquement requise pour la formation de l'ozonide normal, ou même d'une quantité restant juste en dessous de cette limite, pour provoquer la formation de produits suroxydés, se révélant à l'analyse par une teneur trop basse, soit en carbone, soit en hydrogène. Tel a par exemple été le cas dans une opération où 6 millimoles de cholestérol, ozonées en solution CCl₄, avaient absorbé 5,8 millimoles d'ozone, ou dans une autre, où 3 millimoles d'acétate ozonées dans l'hexane avaient absorbé 3,5 millimoles d'ozone. Et même dans le cas où, par une précipitation de l'ozonide au sein de la solution, les dangers d'une suroxydation sont moindres, celle-ci peut néanmoins se produire lorsque l'ozonation est par trop prolongée, ce que nous avons observé dans une expérience où 3 millimoles de cholestérol, dissoutes dans 100 cm³ d'hexane, avaient consommé 4,3 millimoles d'ozone. La teneur en oxygène de tels produits correspond à une addition de 3 à 4 atomes d'oxygène par molécule, composition notée à diverses reprises par nos prédécesseurs.

¹⁾ En comparant la proportion d'ozone consommé à celle obtenue pour le cholestérol lui-même en solution hexanique dans des conditions analogues, on constate que ce rapport est sensiblement plus faible dans le cas de l'acétate. Celui-ci absorbe donc moins bien l'ozone que le cholestérol en solution hexanique, contrairement à ce qui se passe en solution CCl₄, où, nous l'avons vu, les courbes d'absorption dans le cas de l'ozone à 0,5% se confondent pratiquement.

En poussant plus à fond encore l'ozonation, nous sommes arrivés, comme eux, à des produits dont l'analyse conduit à une addition de 6 à 7 atomes d'oxygène. Ainsi, 8 millimoles de cholestérol dissoutes dans 50 cm³ de CCl₄ ont été ozonées pendant 600 minutes par un courant d'ozone à 1,7%. Consommation totale d'ozone 26 millimoles. Le produit, qui avait précipité sous forme d'une gelée, a été séparé des eaux-mères par centrifugation et décantation, lavé, séché. Poids 2 gr. environ. Point de fusion environ 90°, soit à peu près le même que celui trouvé par *Dorée* et *Orange* pour des produits analogues.

| | | |
|---|--------------------------------------|-----------------------------|
| 4,91; 4,82 mgr. de subst. ont donné | 12,12; 11,89 mgr. CO ₂ et | 3,52; 3,40 H ₂ O |
| C ₂₇ H ₄₅ OH O ₆ | Calculé C 67,17 | H 9,62% |
| | Trouvé ,, 67,32; 67,28 | ,, 8,02; 7,90% |

Voici un dernier exemple, qui montrera combien sont peu satisfaisants les résultats de l'ozonation effectuée en solution chloroformique; 3 millimoles de cholestérol, dissoutes dans 30 cm³ de ce dissolvant, ont été ozonées pendant 135 minutes avec un courant d'ozone à 0,4% seulement. Consommation: 3,3 millimoles sur 3,7 ayant circulé. La suroxydation a donc été faible. La solution, qui n'a pas précipité, a été évaporée à sec dans le vide.

| | | |
|---|-------------------------------------|-----------------------------|
| 6,48; 3,89 mgr. de subst. ont donné | 15,54; 9,40 mgr. CO ₂ et | 5,85; 3,64 H ₂ O |
| C ₂₇ H ₄₅ OH O ₇ | Calculé C 65,01 | H 9,31% |
| | Trouvé ,, 65,4; 65,9 | ,, 10,01; 10,47% |

La teneur en carbone tendrait ainsi à faire croire à une addition d'environ 7 atomes d'oxygène, alors que, d'après l'ozone consommé, la moitié seulement de cette quantité peut avoir été additionnée. L'étude ultérieure du produit nous a fourni la clé de cette divergence: un essai d'acidité γ a en effet révélé la présence de fortes quantités d'acide chlorhydrique, provenant de l'attaque du dissolvant par l'ozone. Cette présence, qui a échappé à nos prédécesseurs, explique le résultat étonnant de l'analyse centésimale: teneur basse en carbone et teneur apparente élevée en oxygène, qui les a induits à une interprétation entièrement erronée des faits observés.

Propriétés des produits d'ozonation.

L'ozonide normal de cholestérol est soluble dans le chloroforme et le tétrachlorure de carbone, moins dans l'éther, très peu soluble ou insoluble dans les alcools méthylique et éthylique, l'acétone, l'hexane. Les solutions sont fluorescentes. Il ne donne pas, avec le réactif de *Liebermann-Burchard*, la réaction caractéristique du cholestérol (coloration verte transitoire, produite en solution chloroformique par l'addition d'anhydride acétique et d'acide sulfurique, en quelques minutes), mais, après 24 heures, une coloration jaune sale, accompagnée d'une fluorescence blanc-verdâtre intense, apparaît. Ses solutions ne jaunissent pas par adjonction de tétranitrométhane¹), preuve qu'il ne contient plus de double liaison.

Comparé à la plupart des autres ozonides examinés dans ce laboratoire, l'ozonide du cholestérol est d'une stabilité beaucoup plus grande. Comme il a été mentionné déjà dans la partie générale, un échantillon analysé à deux mois d'intervalle n'a révélé aucune modification de sa composition. La viscosité d'un autre échantillon, redéterminée après 8 jours, a fourni les mêmes résultats qu'à la première détermination²).

L'ozonide normal de l'acétate de cholestérol se distingue de celui du cholestérol par sa plus grande solubilité dans les dissolvants organiques, surtout l'hexane.

Il est sans intérêt de s'arrêter longuement sur les propriétés des mélanges de substances que représentent les produits de suroxydation. Notons seulement que leurs solutions dans le chloroforme ou l'éther ont une coloration jaune intense, alors que celles des ozonides normaux sont incolores. Les produits de suroxydation se distinguent en outre par une odeur tout à fait particulière.

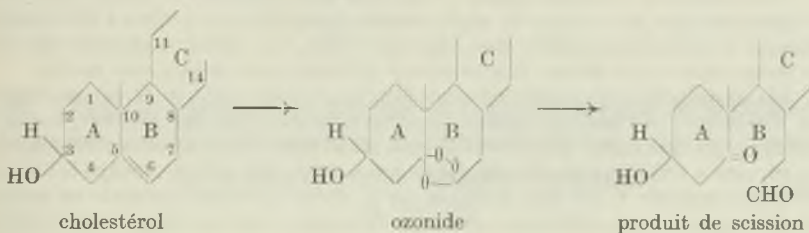
¹) Ce réactif caractéristique d'une double liaison a été trouvé par *I. Ostromisslensky*, B. 43, 197 (1910); J. pr., [2] 84, 459 (1911).

²) Pour plus de détails concernant cette viscosité, ainsi que pour l'étude d'autres propriétés physiques et physico-chimiques de l'ozonide, nous renvoyons à l'article suivant de *M. Berenstein*, *H. Paillard* et *E. Briner*.

Etude des produits de scission (ozonolyse) des ozonides du cholestérol et de son acétate.

Nous avons examiné la réaction de l'iodure de potassium, en vue de la détermination de l'oxygène actif, sur les produits d'ozonation. Pour plusieurs ozonides préparés et étudiés dans le laboratoire, notamment l'ozonide d'anéthol¹⁾, cette réaction, qui est en définitive une scission réductrice, donne des quantités d'iode libéré assez voisines de celles correspondant à l'oxygène actif de l'ozone fixé. Pour l'ozonide du cholestérol et de son acétate, les résultats trouvés ont toujours été inférieurs. C'est ainsi que le dosage de l'oxygène actif de l'ozonide du cholestérol (ozonation dans l'hexane) n'a donné que le 20% environ de la quantité attendue, valeur obtenue aussi pour l'ozonide de l'acétate. Ces constatations sont en rapport avec la stabilité plus grande de l'ozonide de ces deux corps. Les essais de scission par action de l'eau froide et de l'eau chaude à la pression ordinaire ou sous pression n'ont pas donné d'indication nette touchant l'existence d'aldéhydes ou d'acides aliphatiques (emploi de réactifs usuels pour la recherche et le dosage de ces corps²⁾).

Un échantillon d'ozonide normal (ozonation en solution d'hexane) traité par une solution de NaOH 0,1 N en vue de la scission, a donné une acidité qui, étant donnés les résultats négatifs des traitements par l'eau seule, doit se rapporter à un acide de poids moléculaire élevé. Ces résultats nous ont conduits à examiner plus spécialement les produits de la scission réductrice de l'ozonide. D'après la place de la double liaison dans la molécule de cholestérol, l'ozonide de cholestérol et son produit de scission réductrice doivent avoir les constitutions suivantes:



Comme agents de scission réductrice, nous avons utilisé le nickel-Raney³⁾ et l'hydrogénosulfite de sodium.

Utilisé, à titre d'essai, pour la réduction de l'ozonide d'anéthol, le nickel-Raney nous a donné l'aldéhyde anisique attendu, identifié par sa semicarbazone. L'ozonide de cholestérol (ozonation dans l'hexane) a été dissous dans l'éther et traité pendant plusieurs jours par un grand excès du réactif; pour amener la disparition de l'oxygène actif, il a fallu encore remplacer l'éther par l'alcool et chauffer pendant une dizaine d'heures. On a obtenu ainsi une huile plus ou moins colorée, dont nous n'avons pu retirer, par des traitements appropriés, aucune oxime, hydrazone ou semicarbazone cristallisées.

En revanche, l'ozonide de l'acétate de cholestérol, qui est soluble dans l'hexane, a pu être réduit beaucoup plus facilement dans ce dissolvant par le nickel-Raney. Après 12 heures de chauffage, l'oxygène actif n'était plus décelable; l'huile brune, résidu de l'évaporation de l'hexane, a donné avec le chlorhydrate de semicarbazide, après un traitement approprié, une petite quantité de produit solide (p. de f. 250°).

¹⁾ E. Briner et S. de Nemitz, *Helv.* **21**, 748 (1938), mémoire dans lequel on trouvera une description de la technique opératoire appropriée à la mesure de l'oxygène actif des ozonides. Voir aussi sur ce sujet E. Briner et P. Schnorf, *Helv.* **12**, 154 (1929). Des détails sur les précautions à prendre dans l'application de cette méthode sont donnés dans la thèse de M. Berenstein, loc. cit.

²⁾ Voir E. Briner et S. de Nemitz, loc. cit., et M. Berenstein, loc. cit.

³⁾ Appliqué pour la première fois à la réduction des ozonides par Cook et Whilmore, *Am. Soc.* **63**, 3540 (1941).

La réduction au moyen de l'hydrogénosulfite a conduit aux résultats suivants: l'ozonide de cholestérol (ozonation dans l'hexane) traité par le réactif dans des conditions appropriées, a donné avec le chlorhydrate de semicarbazide un produit finement cristallisé, fondant avec décomposition à 234° (corr. 238°). Une substance également bien cristallisée et de p. de f. voisin 236°, a été obtenue en traitant de la même façon un produit d'ozonation du cholestérol en solution de CCl_4 . Malheureusement les quantités de ces deux substances ont été trop faibles pour se prêter à des examens plus approfondis.

Recherche de CO_2 . La forte consommation d'ozone enregistrée lors de l'ozonation du cholestérol en solution de CCl_4 pourrait conduire à supposer que la molécule même du cholestérol était détruite par une oxydation poussée, comme on l'a observé dans ce laboratoire pour l'ozonation de plusieurs corps. En pareil cas, on enregistre un fort dégagement d'anhydride carbonique¹. Or, plusieurs essais effectués en installant dans le circuit d'ozonation et après la solution à ozoner un flacon barboteur renfermant une solution de baryte caustique n'ont pas donné de quantités de CO_2 décelables par la méthode de *Kohn-Abrest*.

Il faut en conclure que l'ozonation même poussée du cholestérol, dans les conditions où nous l'avons opérée, conduit à des oxydations qui ne dégradent pas la molécule au point de transformer certains de ses atomes de carbone en CO_2 .

Analyse chromatographique de l'ozonide normal du cholestérol et des produits de suroxydation.

Une solution de l'ozonide normal (obtenu par ozonation dans l'hexane) dans CHCl_3 a été adsorbée dans une colonne de Al_2O_3 *Schering* (préalablement activée à 120° pendant 40 heures) et le chromatogramme développé par CHCl_3 . La colonne a présenté une seule zone fluorescente rouge brique. Les tentatives d'élution sont restées sans succès.

Les produits de suroxydation adsorbés dans une colonne Al_2O_3 de *Merck*, standardisé selon *Brockmann*, ont présenté quatre zones fluorescentes, une zone bleuâtre, une autre blanchâtre, une zone jaune intense et une zone jaune clair. Cette dernière a été éluee par CCl_4 ; par contre l'élution complète des autres zones n'a pu être réalisée, malgré la diversité des éluants employés. Il est donc probable que ce dernier produit représente un mélange d'au moins quatre corps différents, tandis que l'ozonide normal est un produit homogène.

RÉSUMÉ.

Les auteurs qui se sont occupés de l'ozonation du cholestérol étant parvenus à des résultats très divergents quant au nombre de molécules d'ozone fixées pour la formation d'un ozonide, nous avons repris l'étude du problème en nous servant d'une méthode d'ozonation quantitative, avec représentation graphique des proportions d'ozone consommées aux différentes étapes successives de l'ozonation.

Nous avons pu préparer ainsi, par une ozonation ménagée en solution de tétrachlorure de carbone (dissolvant non altéré par l'ozone), un ozonide (ozonide normal) répondant bien, selon les résultats des analyses, à la fixation d'une molécule d'ozone sur la double liaison du cholestérol. La continuation de l'absorption d'ozone, bien après cette fixation, atteste l'intervention de processus d'oxydation qui rendent compte des taux de fixation d'oxygène supérieurs enregistrés par plusieurs auteurs. Mais l'ozonide normal de cholestérol a été obtenu dans des conditions plus favorables en

¹ Par exemple l'ozonation de l'acide maléique, des maléate et fumarate de sodium, de l'acide citraconique, etc. *E. Briner et D. Franck, Helv. 21, 1282 (1938).*

opérant l'ozonation dans l'hexane, dissolvant dans lequel l'ozonide est très peu soluble et échappe, de ce fait, aux oxydations ultérieures. L'ozonide de l'acétate de cholestérol, qui, lui, est plus soluble dans l'hexane, a été préparé par une ozonation ménagée dans ce dissolvant.

L'ozonide normal de cholestérol est un solide blanc doué d'une certaine stabilité, comme tel ou en solution; cette stabilité explique les difficultés rencontrées dans les déterminations de son oxygène actif et dans les essais de scission (ozonolyse) tentés sur lui. Néanmoins des semicarbazones, malheureusement en trop petites quantités pour être étudiées, ont pu être obtenues pour les produits de scission réductrice de l'ozonide de cholestérol par l'hydrogénosulfite de sodium et de l'ozonide d'acétate de cholestérol par le nickel-Raney.

Nous tenons à remercier Monsieur *H. Paillard* du concours qu'il nous a prêté dans ce travail.

Genève, Laboratoires de Chimie technique, théorique et
d'Electrochimie, Décembre 1945.

39. Etude de quelques propriétés physico-chimiques du cholestérol et de ses produits d'ozonation, notamment de son ozonide normal

par *M. Berenstein*, *H. Paillard* et *E. Briner*.

(27 XII 45)

Faisant suite au mémoire précédent¹⁾ relatif à une étude méthodique de l'ozonation du cholestérol, nous donnons ici quelques résultats de mesures physico-chimiques faites sur le cholestérol et ses produits d'ozonation.

Ces déterminations ont porté sur : le poids moléculaire d'un ozonide ; la densité, l'indice de réfraction, le pouvoir rotatoire, la tension superficielle, la viscosité et le spectre d'absorption du cholestérol et de quelques-uns de ses produits d'ozonation²⁾.

1. Détermination du poids moléculaire de l'ozonide.

Ces mesures ont été faites sur l'ozonide dit normal du cholestérol, dont la composition centésimale correspond à celle de la formule

¹⁾ Voir *M. Berenstein*, *A. Georg* et *E. Briner*, *Helv.* **29**, 258 (1946), et pour les détails la thèse de *M. Berenstein*, Genève, 1944.

²⁾ On trouvera dans la thèse de *M. Berenstein* citée plus haut les résultats de quelques déterminations de spectres *Raman* du cholestérol et de spectres de fluorescence du cholestérol et de son ozonide normal. Ces résultats sont peu concluants et nous comptons y revenir ultérieurement. Signalons que le spectre *Raman* du cholestérol a fait l'objet de déterminations de la part de *C. Sannié* et *V. Poremski*, *C. r.* **210**, 400 (1940).

théorique $C_{27}H_{45}OH.O_3$, soit dans l'exaltone (p. de f. 50^0), soit dans le bromoforme (p. de f. $7^0,5$).

| | | | |
|---|-----------------------|-------------------|---------|
| Cryoscopie dans l'exaltone ¹⁾ : | | | |
| 3,55 mg. subst. | 8,125 mg. dissolvant, | Δt^0 1,7, | PM 541 |
| Cryoscopie dans le bromoforme: | | | |
| 0,2 gr. subst. | 17,5 gr. dissolvant, | Δt^0 0,1, | PM 1500 |
| Calculé pour $C_{27}H_{45}OH.O_3$: 434 ²⁾ | | | |

On voit que l'ozonide tend à l'association³⁾ et que dans le bromoforme, ce facteur d'association est voisin de 4. Notons que la cryoscopie dans l'exaltone se fait à une température supérieure à celle faite dans le bromoforme. Cette circonstance, la nature du dissolvant, le fait que les déterminations ont été exécutées sur deux ozonides normaux mais provenant de préparations distinctes, expliqueraient les discordances entre les résultats de nos mesures.

2. Densités, indices de réfraction, tensions superficielles et pouvoirs rotatoires de solutions de cholestérol et de divers produits de son ozonation.

Mesures faites avec les techniques usuelles; les tensions superficielles ont été déterminées par la méthode d'ascension capillaire, les dissolvants utilisés ont été le tétrachlorure de carbone purifié par ozonation et le chloroforme traité selon la technique de Weigert⁴⁾. A titre comparatif nous avons relevé les densités et les indices de réfraction des dissolvants purs et trouvé des valeurs concordant avec celles données dans les tables de constantes. Les produits à différents degrés d'ozonation et l'ozonide normal ont été préparés selon les indications que l'on trouvera dans le mémoire précédent. Les tableaux ci-dessous résument nos observations:

Tableau I.

Densités, indices de réfraction, tensions superficielles et pouvoirs rotatoires en solution dans le tétrachlorure de carbone

| Produits | Conc. en m-moles dans 100 cm ³ CCl ₄ ⁵⁾ | Densité d_4^{18} | Indices de réfraction n_D^{18} | Tension superficielle γ 18 ⁰ | Pouvoir rotatoire α_D^{18} observé |
|--------------------------|--|--------------------|----------------------------------|--|---|
| CCl ₄ | • | 1,5958 | 1,4619 | 26,4 | 0 ⁰ |
| Cholestérol . | 20,0 | 1,5420 | 1,4679 | 23,6 | -3 ⁰ ,56 |
| Cholestérol . | 10,0 | 1,5760 | 1,4632 | 23,7 | -1 ⁰ ,36 |
| Chol. 65% + Oz. 35% . | 10,0 | 1,5782 | 1,4642 | 24,5 | -0 ⁰ ,64 |
| Chol. 30% + Oz. 70% . | 10,0 | 1,5825 | 1,4641 | 25,8 | -0 ⁰ ,69 |
| Chol. 10% + Oz. 90% . | 10,0 | 1,5826 | 1,4649 | 27,0 | +0 ⁰ ,52 |

¹⁾ Cette mesure a été effectuée par les soins de la maison L. Givaudan S. A. à Vernier (Genève).

²⁾ Nous avons fait plusieurs cryoscopies dans l'exaltone et le bromoforme; les résultats sont concordants pour chaque série.

³⁾ Voir à ce sujet: Harries, A. 410, 29 (1915); Rieche, Meister et Sauthoff, A. 553, 187 (1942). ⁴⁾ F. Weigert, Optische Methoden der Chemie, Leipzig 1927.

⁵⁾ Pour le calcul des concentrations indiquées, nous avons admis pour l'ozonide le poids moléculaire de 434.

Tableau II.

Densités, indices de réfraction, tensions superficielles, pouvoirs rotatoires en solution dans le chloroforme

| Produits | Conc. en m-moles dans 100 cm ³ ¹⁾ | Densité d ₄ ¹⁸ | Indices de réfraction | | Tension superf. γ 18° | Pouvoir rotatoire α _D ¹⁸ observé |
|-------------------|---|--------------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------|--|
| | | | n _D ¹⁶ | n _D ²² | | |
| Chloroforme . . . | — | 1,4935 | 1,4479 | — | 26,2 | 0° |
| Cholestérol . . . | 20 | 1,4561 | 1,4534 | — | 24,9 | -2°, 97 |
| Cholestérol . . . | 10 | 1,4758 | 1,4484 | 1,4480 | 26,4 | -1°, 57 |
| Ozonide normal. | 10 | 1,4810 | 1,4483 | 1,4479 | 26,0 | -0°, 73 |

Les chiffres contenus dans ces tableaux n'appellent que peu de commentaires. Signalons que les variations de propriétés physiques de ces solutions en fonction de la concentration et du degré d'ozonation ne sont pas toujours régulières. Ces irrégularités s'expliquent aisément par le fait que les ozonides sont en réalité plus ou moins polymérisés et que ce degré de polymérisation n'est pas absolument reproductible d'une expérience à une autre; en outre, comme il est impossible de les purifier par recristallisation, ils peuvent être accompagnés de produits secondaires non éliminables. Nous ferons cependant quelques remarques à propos des pouvoirs rotatoires.

Constatons qu'en solution dans le tétrachlorure de carbone, le pouvoir rotatoire diminue en valeur absolue au fur et à mesure de l'avancement de l'ozonation et que pour l'ozonide à 90 %, il s'inverse et devient positif. Nous devons mentionner cependant qu'un ozonide, résultant de l'action d'un excès d'ozone, a montré, dans des conditions semblables de concentration, une faible activité optique négative ($\alpha = -0^{\circ},40$). Ce fait est dû probablement à la formation de produits provenant d'une oxydation ultérieure de l'ozonide²⁾. D'ailleurs nos chiffres ne concordent pas avec les observations de Dorée³⁾; cet auteur et son collaborateur ont obtenu en effet des produits d'ozonation fortement dextrogyres.

Sans prétendre avoir trouvé la véritable explication de ces phénomènes observés par nous-mêmes et d'autres expérimentateurs, nous désirons émettre à cet égard une hypothèse explicative. On sait que l'activité optique du cholestérol est due à la présence de 8 centres d'asymétrie et que la saturation de sa double liaison en crée un nouveau au C₅.

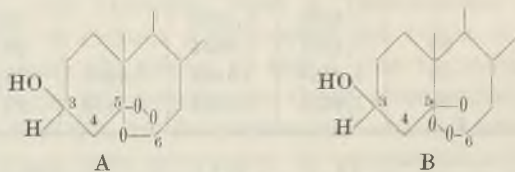
Le cholestérol, comme les autres stérols naturels (à l'exception du coprostérol), est lévogyre, tandis que les dérivés résultant de la

¹⁾ v. ⁵⁾ p. 272.

²⁾ Voir mémoire précédent.

³⁾ Ch. Dorée et L. Orange, Soc. 109, 46 (1916).

saturation de sa double liaison par l'hydrogène sont presque tous dextrogyres. En est-il forcément de même lorsque cette double liaison fixe de l'ozone? En adoptant les formules proposées par *Staudinger*¹⁾ et *Rieche*²⁾ pour la constitution des ozonides, on aboutit pour l'ozonide du cholestérol à la possibilité de l'existence de deux formes stéréoisomères A et B³⁾:



Ces deux stéréoisomères doivent posséder des pouvoirs rotatoires différents; on peut donc supposer que suivant les conditions d'ozonation et la nature du dissolvant, ils se forment en proportions variables, ce qui expliquerait les divergences observées dans les mesures des pouvoirs rotatoires effectuées par nous-mêmes ou d'autres auteurs. Mentionnons aussi que le degré de polymérisation de ces divers ozonides, degré également variable selon les circonstances, peut jouer un rôle quant à l'activité optique.

3. Coefficients de viscosité.

L'expérience a montré que des solutions de divers ozonides abandonnées à elles-mêmes en vase clos subissent de fortes modifications de viscosité en fonction du temps; ce fait est dû à une évolution spontanée des ozonides avec modifications de leurs propriétés chimiques⁴⁾. Pratiquement, la viscosité d'une solution d'ozonide de cholestérol dans le tétrachlorure de carbone (ozonide à 90%) ne varie pas après plusieurs jours à la température ordinaire et à l'abri de la lumière: valeurs observées: 1er jour: $\eta_{18} = 0,01294$; 8ème jour: $\eta_{18} = 0,01294$. Il en résulte que les produits d'ozonation du cholestérol apparaissent comme étant dotés d'une certaine stabilité⁵⁾ en solution dans le tétrachlorure de carbone.

¹⁾ *H. Staudinger*, B. **58**, 1088 (1925).

²⁾ *H. Rieche*, Alkylperoxyde und Ozonide, Dresden 1931.

³⁾ On trouvera sur ce sujet des considérations plus détaillées dans la thèse de *M. Berenstein* (loc. cit.). Nous tenons à remercier très vivement ici M. le Dr. *Alfred Georg*, chef de travaux de chimie technique, pour les précieuses suggestions qu'il nous a faites lorsque nous avons examiné cette question.

⁴⁾ Ces processus d'évolution des ozonides ont été signalés à maintes reprises dans les travaux de ce laboratoire sur les ozonides; voir pour l'interprétation énergétique de ces phénomènes, *E. Briner*, Helv. **22**, 591 (1934).

⁵⁾ La stabilité relative de l'ozonide du cholestérol a été relevée dans le mémoire précédent.

4. Spectres d'absorption du cholestérol et de son ozonide normal.

Pour ces déterminations, nous avons utilisé la technique de *Scheibe* et un spectrographe *Zeiss*; la source lumineuse était une lampe à hydrogène. L'ozonide normal a été préparé dans de l'hexane purifié selon les indications de *Weigert*¹⁾ et exempt de benzène; après l'élimination de l'hexane par action du vide, l'ozonide a été dissous dans du chloroforme également purifié et vérifié quant à son spectre d'absorption. Le cholestérol a été examiné dans le même dissolvant.

Le spectre d'absorption du cholestérol que nous avons employé pour nos essais ne présente pas de bandes, mais seulement une absorption généralisée commençant vers 3000 Å et augmentant vers l'ultra-violet lointain; le spectre d'absorption d'une solution d'ozonide normal est très analogue; l'absorption est déplacée vers les grandes longueurs d'onde et commence vers 3300 Å. On a observé ce phénomène sur d'autres ozonides.

RÉSUMÉ.

Nous avons fait quelques recherches physico-chimiques sur le cholestérol et ses produits d'ozonation, et en particulier déterminé le poids moléculaire de deux échantillons d'ozonide normal; ces déterminations ont montré que ces ozonides avaient une tendance plus ou moins marquée à l'association. Les mesures comparatives de l'activité optique du cholestérol et de ses produits d'ozonation et leur comparaison avec les données publiées par d'autres auteurs nous ont conduits à formuler une hypothèse sur les structures possibles de l'ozonide normal.

Les mesures portant sur la densité, l'indice de réfraction, la tension superficielle, la viscosité et les spectres d'absorption ne donnent pas lieu à des conclusions déterminées, mais confirment, d'une manière générale, nos connaissances sur les propriétés des ozonides.

Genève, Laboratoires de chimie technique,
théorique et d'électrochimie de l'Université.

Décembre 1945.

40. Zur Kenntnis der Polythiazolverbindungen

von H. Erlenmeyer und M. Erne.

(27. XII. 45.)

Im folgenden berichten wir über Versuche, die im Zusammenhang mit Untersuchungen über Kondensationsreaktionen von Dithioamiden mit Dihalogen-diketonen durchgeführt wurden²⁾.

¹⁾ *F. Weigert*, *Optische Methoden der Chemie*, Leipzig 1927.

²⁾ *H. Lehr*, *H. Erlenmeyer*, *Helv.* **27**, 489 (1944); *G. Bischoff*, *O. Weber*, *H. Erlenmeyer*, *Helv.* **27**, 947 (1944); siehe auch: *Diss. W. Bächler*, Basel 1944.

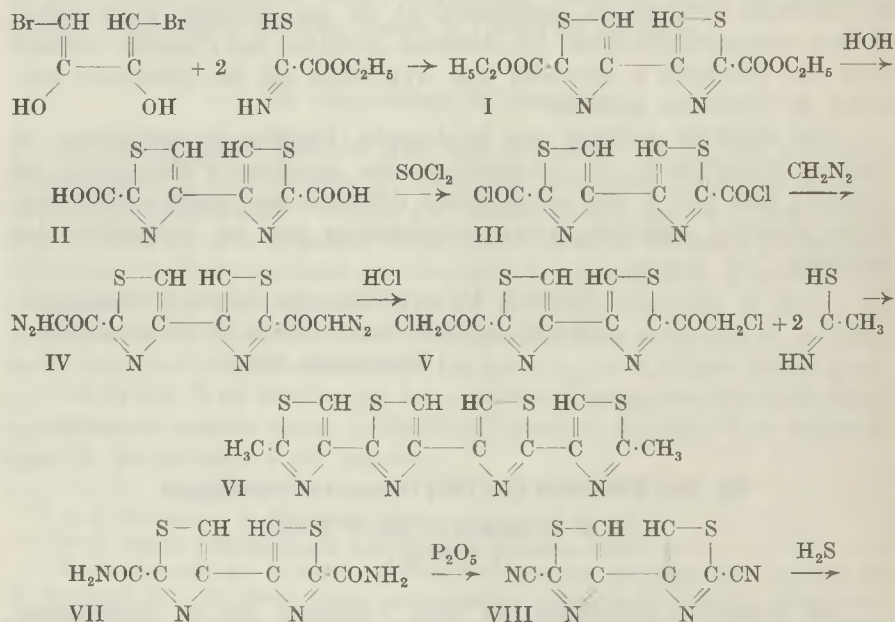
Als Dithioamid wurde das 4,4'-Dithiazolyl-2,2'-dicarbonsäure-dithioamid (IX) neu hergestellt und mit dem gleichfalls neu gewonnenen 4,4'-Dithiazolyl-2,2'-bis-[chlormethylketon] (V) zur Kondensation gebracht. Bei der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Kondensationsmethode wird von den beiden Reaktionswegen:

1. Bildung einer kettenpolymeren Verbindung,
2. Bildung eines makrocyclischen Hexathiazols,

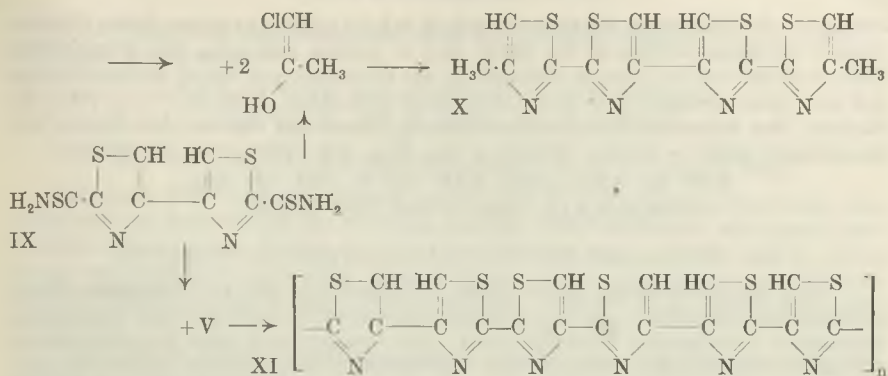
nur der erste realisiert (XI).

Das Ausgangsmaterial für die beiden Komponenten bildete die aus 1,4-Dibrom-diacetyl und dem Thio-oxaminsäure-äthylester zu gewinnende 4,4'-Dithiazolyl-2,2'-dicarbonsäure (II), die einerseits über das Säurechlorid (III) mit Diazomethan in das bis-Chlormethylketon (V) übergeführt wurde und aus der andererseits über das Säureamid (VII) und Nitril (VIII) durch Anlagerung von Schwefelwasserstoff das entsprechende Dithioamid (IX) zu gewinnen war. Die Fähigkeit der beiden Komponenten V und IX zu Thiazolkondensationen wurde durch Gewinnung des 2,2''-Dimethyl-4-2,4-4,2-4-tetrathiazols (VI) und des 4,4'''-Dimethyl-2-2,4-4,2-2-tetrathiazols (X) belegt¹⁾.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.



¹⁾ Über Polythiazolverbindungen siehe: *H. Erlenmeyer, E. Schmid*, *Helv.* **22**, 698 (1939); *H. Erlenmeyer, H. Überwasser*, *Helv.* **22**, 938 (1939); *H. Lehr, H. Erlenmeyer*, *loc. cit.*; *P. Karrer, M. C. Sanz*, *Helv.* **26**, 1778 (1943); **27**, 619 (1944); *P. Karrer, P. Leiser, W. Graf*, *Helv.* **27**, 624 (1944); *P. Karrer und F. Forster*, *Helv.* **28**, 315 (1945); *P. Karrer, W. Graf*, *Helv.* **28**, 824 (1945).



Experimenteller Teil.

4,4'-Dithiazolyl-2,2'-dicarbonsäure-diäthylester (Formel I).

26 g Thio-oxaminsäure-äthylester und 24 g 1,4-Dibrom-diacetyl werden mit einem Gemisch von 200 cm³ Äther und 20 cm³ Äthylalkohol eine Stunde auf dem Wasserbade zum Sieden erhitzt. Das Gemisch färbt sich dabei braun und aus der zuerst klaren Lösung scheidet sich das Kondensationsprodukt als orangegelber Niederschlag ab. Dieser wird abgesaugt und das Filtrat auf ein kleines Volumen eingedampft, wobei noch eine zweite Menge Ester gewonnen wird, der hellbraun gefärbt ist.

Die Gesamtausbeute beträgt 25 g, entsprechend 80% der Theorie. Der Ester kann aus einem Gemisch von 3 Teilen Dioxan und 5 Teilen Alkohol umkrystallisiert werden. Man erhält ihn dann in farblosen Nadeln vom Smp. 178—179^o (unkorr.).

2,670 mg Subst. gaben 0,207 cm³ N₂ (20,5^o, 742 mm)

C₁₂H₁₂O₄N₂S₂ Ber. N 8,97 Gef. N 8,80%

4,4'-Dithiazolyl-2,2'-dicarbonsäure (Formel II).

10 g Ester (I) werden in 100 cm³ Dioxan-Alkoholgemisch (3 : 5) suspendiert und zum Sieden erhitzt. Nun setzt man eine Lösung von 4 g Kaliumhydroxyd in 6 cm³ Wasser hinzu und erhitzt noch eine Viertelstunde auf dem Wasserbade. Das sich abscheidende Kaliumsalz wird abgesaugt und in 200 cm³ Wasser unter Kochen und Zusatz von etwas Kalilauge gelöst. Die Lösung wird mit Tierkohle behandelt und zur Krystallisation eingedampft. Hierbei scheidet sich das Kaliumsalz in schwach bräunlichen Blättchen ab, die bei nochmaligem Umkrystallisieren farblos werden.

Aus der wässrigen Lösung des Kaliumsalzes fällt man mit Salzsäure die freie Dithiazolyl-dicarbonsäure als flockigen Niederschlag aus. Ausbeute: 7,5 g, entsprechend 91% der Theorie. Der Schmelzpunkt der Säure liegt bei 152^o, bei welcher Temperatur sie sich auch gerade decarboxyliert. Der Rückstand schmilzt nach dem Festwerden wieder bei 170—171^o, dem Schmelzpunkt des von *H. Erlenmeyer* und *H. Überwasser*¹⁾ dargestellten 4,4'-Dithiazolyls. Die Säure ist unlöslich in Wasser, Äther und Alkohol. Da sie sich beim Kochen mit Lösungsmitteln leicht decarboxyliert, konnte sie nur durch Umfällen gereinigt werden. Sie bildet so ein sehr lockeres, weisses Pulver. Analysiert wurde das leichter zu reinigende Kaliumsalz.

4,743 mg gaben 0,328 cm³ N₂ (21^o, 746 mm)

C₈H₂O₄N₂S₂K₂ Ber. N 7,86 Gef. N 7,88%

4,4'-Dithiazolyl-2,2'-dicarbonsäure-dichlorid (Formel III).

12 g fein gepulverte Säure (II) werden mit 80 cm³ Thionylchlorid am Rückflusskühler gekocht. Für das Gelingen der Reaktion ist die Qualität des Thionylchlorids von

¹⁾ Helv. 22, 938 (1939).

entscheidender Bedeutung. Am besten bewährte sich ein nicht ganz reines, gelbes Produkt. Nach 5-stündigem Kochen ist die Säure ganz in Lösung gegangen. Das überschüssige Thionylchlorid wird im Vakuum abdestilliert, der Rückstand mit Benzol aufgeschwemmt und nach dem Absaugen über Natriumhydroxyd getrocknet. Ausbeute 11,5 g (83% der Theorie). Das Säurechlorid ist löslich in Benzol, Toluol und Ligroin. Aus Ligroin umkrystallisiert bildet es farblose Blättchen vom Smp. 198—199° (unter Zersetzung).

3,007 mg Subst. gaben 0,247 cm³ N₂ (15°, 736 mm)

C₈H₂O₂N₂S₂Cl₂ Ber. N 9,56 Gef. N 9,43%

4,4'-Dithiazolyl-2,2'-bis-[chlormethylketon] (Formel V).

10 g fein pulverisiertes Säurechlorid (III) werden in 500 cm³ ätherische Diazomethanolösung (hergestellt aus 35 g Nitrosomethylharnstoff) portionenweise eingetragen, wobei unter Aufschäumen Reaktion eintritt. Das Gemisch wird unter Feuchtigkeitsausschluss über Nacht stehen gelassen. Nach dem Absaugen des gebildeten Diazoketons (IV) wird dieses portionenweise in ein erkaltetes Gemisch von 150 cm³ Eisessig und 150 cm³ konz. Salzsäure eingetragen, wobei unter Aufschäumen das Chlorketon gebildet wird. Nach dem Eintragen erhitzt man bis zur beendeten Stickstoffentwicklung auf dem Wasserbade. Die abgesaugte Substanz, die ein Hydrochlorid darstellt, wird zur Gewinnung der freien Base mit einer Lösung von Natriumhydrogencarbonat geschüttelt, bis sich kein Kohlendioxyd mehr entwickelt. Das so dargestellte Rohprodukt bildet ein braunes Krystallpulver. Es wird zur Reinigung aus Xylol umkrystallisiert, wobei man es in gelblichen, sehr fein verfilzten Nadelchen erhält.

Die Ausbeute beträgt 4,5 g, entsprechend 41% der Theorie auf Säurechlorid berechnet. Zur weiteren Reinigung kann man das Chlorketon im Hochvakuum sublimieren und erhält es dann in fast weissen, etwas gelbstichigen Krystallen vom Smp. 253—255° unter Zersetzung und Gasentwicklung.

5,838 mg Subst. gaben 0,427 cm³ N₂ (16,5°, 751 mm)

6,223 mg Subst. gaben 5,545 mg AgCl

C₁₀H₆O₂N₂S₂Cl₂ Ber. N 8,72 Cl 22,08%

Gef. „ 8,52 „ 22,04%

2,2'''-Dimethyl-4-2,4-4,2-4-tetrathiazol (Formel VI).

0,2 g Chlorketon (IV) werden mit 0,1 g Thioacetamid fein zusammengerieben und im Ölbad bis zum Schmelzpunkt des Thioamids (108°) erhitzt. Unter Aufblähen und Salzsäureentwicklung tritt hierbei Kondensation ein. Das Rohprodukt wird einmal aus Pyridin und dann zweimal aus Tetralin umkrystallisiert. Es bildet glänzende, etwas gelbliche Blättchen, die unter Zersetzung bei 320—322° schmelzen.

Das Tetrathiazol ist in konz. Schwefelsäure farblos löslich.

1,638 mg Subst. gaben 0,225 cm³ N₂ (24,5°, 743 mm)

C₁₄H₁₀N₄S₄ Ber. N 15,46 Gef. N 15,40%

4,4'-Dithiazolyl-2,2'-dicarbonsäure-diamid (Formel VII).

Das Amid kann gewonnen werden durch tagelanges Stehenlassen einer Lösung von Ester (I) in Dioxan-Alkoholgemisch und alkoholischem Ammoniak, wobei aber wegen der Schwerlöslichkeit des Esters grosse Flüssigkeitsmengen erforderlich sind. Die Ausbeute ist auf diese Weise sehr schlecht. In Suspension setzt sich der Ester mit Ammoniak in der Kälte wie auch beim Siedepunkt des Lösungsmittels mangelhaft um, weshalb wir die Umsetzung im Bombenrohr vornahmen.

Der Ester wird in Portionen von 5 g mit 50 cm³ bei 0° mit Ammoniak gesättigtem Dioxan-Alkoholgemisch (3 : 5) eingeschmolzen und 12 Stunden auf 125—130° erhitzt. Zur Entfernung von etwa vorhandenem, unverändertem Ester wird das abgesaugte Rohamid mit Dioxan ausgekocht. Die Reinigung des Amids gestaltet sich sehr schwierig, da es in allen gebräuchlichen Lösungsmitteln unlöslich ist. Es kann aber aus sehr viel

Nitrobenzol umkrystallisiert werden und bildet dann farblose Blättchen vom Smp. 340 bis 341° (unter Zersetzung).

2,354 mg Subst. gaben 0,452 cm³ N₂ (16°, 750 mm)

C₈H₆O₂N₄S₂ Ber. N 22,03 Gef. N 22,38%

4,4'-Dithiazolyl-2,2'-dicarbonsäure-dinitril (Formel VIII).

Das Amid (VII) wird in Portionen von 2 g mit 7,5 g Phosphorpentoxyd innig vermischt und im Hochvakuum bei 10⁻³ mm und 200—220° sublimiert. Als Apparat verwendeten wir einen mit Kühzapfen versehenen Kolben, der es erlaubt, relativ grosse Mengen auf einmal zu verarbeiten. Das Sublimat wird zur Entfernung von mitsublimiertem Phosphorpentoxyd mit Wasser behandelt. Ausbeute 0,7 g, entsprechend 40% der Theorie.

Das Nitril ist ziemlich löslich in siedendem Alkohol, wie auch in siedendem Benzol. Leicht löst es sich in Anisol.

Zur Reinigung wird es im Hochvakuum resublimiert. Man erhält so farblose Krystalle vom Smp. 238—239° (im geschlossenen Röhrchen).

3,054 mg Subst. gaben 0,681 cm³ N₂ (16,5°, 749 mm)

C₈H₂N₄S₂ Ber. N 25,67 Gef. N 25,91%

4,4'-Dithiazolyl-2,2'-dicarbonsäure-dithioamid (Formel IX).

Man löst 0,1 g Kalium in 50 cm³ Äthylalkohol und sättigt bei -15° mit Schwefelwasserstoff. Zu dieser Lösung gibt man 1 g fein pulverisiertes Nitril (VIII) und erhitzt das ganze 20 Stunden in einer Druckflasche auf 60°. Das abgesaugte Rohprodukt wird zur Entfernung von Katalysator und etwas unverändertem Nitril mit Alkohol ausgekocht und zwecks Befreiung von Schwefel im Soxhlet mit Schwefelkohlenstoff extrahiert. Das Thioamid bildet ein gelbes Krystallpulver und ist in allen gebräuchlichen Lösungsmitteln unlöslich, kann aber wie das Amid (VII) aus sehr viel Nitrobenzol umkrystallisiert werden. Ausbeute: 1 g, entsprechend 76% der Theorie. Das reine Thioamid krystallisiert in kleinen, gelben Blättchen, die sich bei 300° zersetzen, ohne zu schmelzen.

1,490 mg Subst. gaben 0,258 cm³ N₂ (19°, 745 mm)

C₈H₆N₄S₄ Ber. N 19,57 Gef. N 19,84%

4,4'''-Dimethyl-2-2,4-4,2-2-tetrathiazol (Formel X).

0,3 g Dithioamid (IX) werden mit 5 cm³ Chloraceton 5 Stunden am Rückflusskühler bis zum Siedepunkt des Chloracetons erhitzt. Das Thioamid färbt sich dabei braun. Der Überschuss an Chloraceton wird nun im Vakuum abdestilliert und der Rückstand wiederholt aus Pyridin umkrystallisiert.

Durch Hochvakuumsublimation erhält man das Tetrathiazol in fast farblosen Nadeln vom Smp. 297—298° (unter Zersetzung).

3,980 mg Subst. gaben 0,546 cm³ N₂ (22°, 740 mm)

C₁₄H₁₀N₄S₄ Ber. N 15,46 Gef. N 15,40%

Kondensation von Chlorketon (V) mit Thioamid (IX).

Je 0,2 g der Komponenten werden miteinander innig verrieben und im Ölbad auf ca. 250° erhitzt, wobei sich das Gemisch unter Chlorwasserstoffentwicklung verfärbt. Das Reaktionsgemisch wird zur Entfernung von überschüssigem Chlorketon mit Xylol ausgekocht. Das so dargestellte Kondensationsprodukt bildet ein amorphes, unlösliches und unschmelzbares Pulver, und entspricht wahrscheinlich einem Polymeren von der Formel XI.

Die Mikroanalysen wurden in unserem Laboratorium durch E. Beck ausgeführt.

Universität Basel, Anstalt für anorganische Chemie.

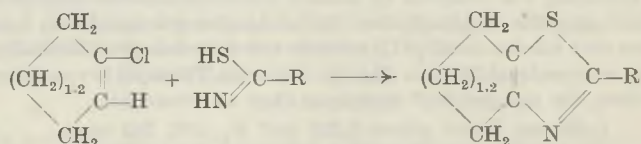
41. Zur Kenntnis des Cyclopenteno-thiazol und des Cyclohexeno-thiazol

von H. Erlenmeyer und G. Bischoff.

(27. XII. 45.)

In einer früheren Mitteilung wurde über die Darstellung von Derivaten von Cyclo-polymethylen-thiazolen berichtet¹⁾. Diese Untersuchungen wurden durchgeführt, um einen von *Mills* und *Nixon* an dem Verbindungspaar Hydrinden-Tetrahydro-naphtalin zum erstenmal beobachteten Effekt²⁾, der durch den Einfluss der Spannung des Cyclopenteno- bzw. -hexenoringes auf die Struktur des annelierten aromatischen Ringes verursacht werden soll, an einem andern Verbindungspaar mit Thiazol als aromatischen Ring zu überprüfen. Bei dieser Gelegenheit wurden an Derivaten hergestellt und charakterisiert 2-Amino-cyclopenteno-thiazol und 2-Amino-cyclohexeno-thiazol.

Die Darstellung solcher Körper erfolgte durch Kondensation der in 2-Stellung chlorierten alicyclischen Ketone – Cyclopentanon und Cyclohexanon — mit Thioamiden nach folgendem Schema:



Die Prüfung der biologischen Eigenschaften dieser Verbindungen hatte ein interessantes Ergebnis gezeigt, indem gefunden wurde, dass 2-Amino-cyclopenteno-thiazol eine langanhaltende Blutdrucksteigerung von mittlerer Höhe bewirkt. Im Gegensatz hierzu wirkt 2-Amino-cyclohexeno-thiazol blutdrucksenkend³⁾. Diese Beobachtung machte es wünschenswert, die Grundkörper herzustellen und zu charakterisieren.

Cyclopenteno-thiazol (I) wurde durch Kondensation von Thioformamid mit 2-Chlor-cyclopentanon-1 gewonnen und entsprechend wurde zum Vergleich, ausgehend von 2-Chlor-cyclohexanon-1, das schon früher beschriebene Cyclohexeno-thiazol⁴⁾ dargestellt. Zur Charakterisierung der Verbindungen wurden die Absorptionskurven in alkoholischer Lösung im Bereich zwischen 230 und 275 m μ aufgenommen (Fig. 1).

¹⁾ *H. Erlenmeyer* und *W. Schoenauer*, *Helv.* **24**, 172E (1941).

²⁾ *Soc.* **1930**, 2510.

³⁾ Gleichfalls blutdrucksenkend wirkt 2-Amino-cyclohepteno-thiazol und 2-Amino-cyclo-octeno-thiazol, siehe: *H. Erlenmeyer* und *W. Schoenauer*, *loc. cit.*

⁴⁾ *H. Erlenmeyer* und *M. Simon*, *Helv.* **25**, 362 (1942).

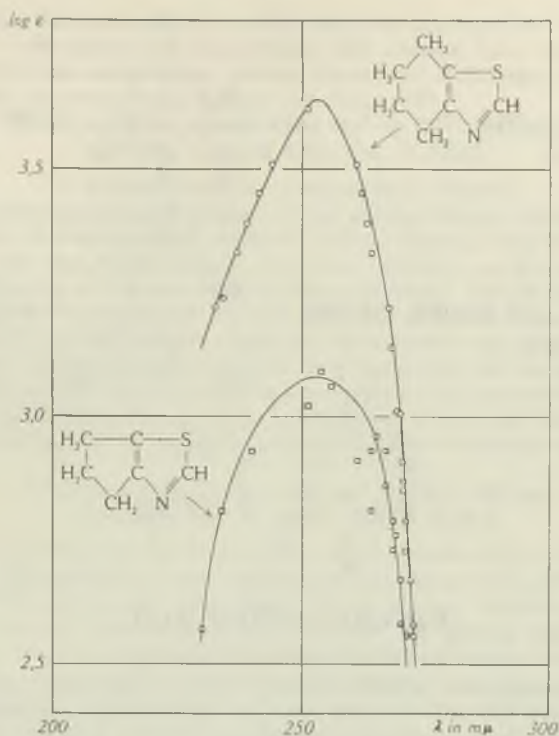


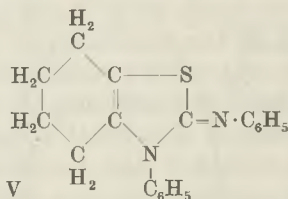
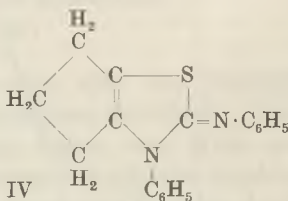
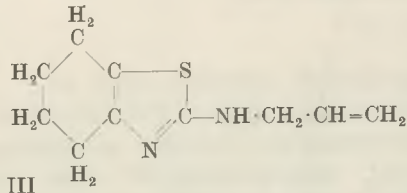
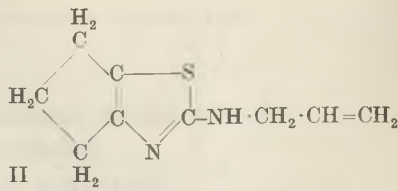
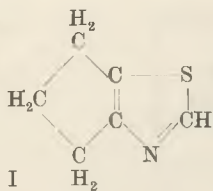
Fig. 1.

Die biologische Prüfung des Cyclopenteno-thiazols ergab, dass die Substanz in geringem Umfange blutdrucksenkend wirkt¹⁾. Es lässt sich somit aus diesen Beobachtungen entnehmen, dass die Blutdruck steigernde Wirkung des 2-Amino-penteno-thiazols durch die in 2-Stellung eingeführte Aminogruppe bedingt ist.

An Derivaten des Cyclopenteno-thiazols wurden sodann noch hergestellt: 2-Methyl-4,5-cyclopenteno-thiazol und 2-Mercapto-4,5-cyclopenteno-thiazol. Des weitern wurden Derivate von 2-Aminocyclopenteno- und 2-Amino-cyclohexeno-thiazol, die an der Aminogruppe substituiert sind, gewonnen. Mit Allylthioharnstoff wurden erhalten: 2-Allylamino-4,5-cyclopenteno-thiazol (II), 2-Allylamino-4,5-cyclohexeno-thiazol (III) und mit sym. Diphenyl-thioharnstoff Kondensationsprodukte, die als 3-Phenyl-4,5-cyclopenteno-1⁴-thiazolinon-2-anil (IV) und 3-Phenyl-4,5-cyclohexeno-1⁴-thiazolinon-2-anil (V) aufgefasst werden können²⁾.

¹⁾ Wir möchten auch an dieser Stelle der *Ciba Aktiengesellschaft* für die biologische Prüfung dieser Verbindungen unsern besten Dank aussprechen.

²⁾ Über fermentchemische Untersuchungen mit diesen Verbindungen siehe *B. Schär*, *Helv.* **26**, 1836 (1943).



Experimenteller Teil.

4,5-Cyclopenteno-thiazol.

2-Chlorcyclopentanon-1 und Thioformamid (10% Überschuss) werden in der dreifachen Menge Äther eine halbe Stunde unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt. In der sich trübenden Reaktionsflüssigkeit bildet sich mit der Zeit eine zähe, unlösliche rotbraune Masse. Die Base wird mit Sodalösung in Freiheit gesetzt und mit Wasserdampf im Vakuum bei niedriger Temperatur übergeblasen, vom Wasser getrennt, in Äther aufgenommen und über Natriumsulfat getrocknet. 4,5-Cyclopenteno-thiazol siedet unter 11 mm Druck bei 80°.

2,001 mg Subst. gaben 0,198 cm³ N₂ (24°, 742 mm)
 C₆H₇NS Ber. N 11,20 Gef. N 11,10%

Cyclopenteno-thiazol ist eine farblose Flüssigkeit mit einem an Chinolin erinnernden Geruch. Die Base ist nicht sehr beständig, indem sie sich bereits nach zwei Tagen gelb färbt. Ein aus ätherischer Lösung erhaltenes Pikrat schmilzt bei 162°. Hydrochlorid und Hydrobromid sind hygroskopisch. Mit Wismutsalzen konnte ein roter Wismutmetallkomplex erhalten werden.

2-Methyl-4,5-cyclopenteno-thiazol.

Äquivalente Mengen von 2-Chlorcyclopentanon-1 und Thioacetamid werden in alkoholischer Lösung kondensiert. Mit verdünnter Alkalicarbonatlösung setzt man die Base in Freiheit und nimmt das sich ausscheidende Öl in Äther auf. Zur Reinigung schüttelt man mit verdünnter Salzsäure aus, worauf nochmals aus alkalischer Lösung die Base in Äther gelöst und mit Natriumsulfat getrocknet wird. Im Vakuum siedet 2-Methyl-4,5-cyclopenteno-thiazol unter einem Druck von 13 mm bei 100° und besitzt einen ähnlichen Geruch wie der Grundkörper der Reihe.

1,754 mg Subst. gaben 0,161 cm³ N₂ (23°, 739 mm)
 C₇H₉NS Ber. N 10,07 Gef. N 10,29%

2-Mercapto-4,5-cyclopenteno-thiazol.

2-Chlorcyclopentanon-1 wird zu der in Alkohol gelösten äquivalenten Menge Ammoniumdithiocarbamat gegeben und die Lösung kurz auf dem Wasserbad erwärmt.

Nach Zusatz von Natriumhydroxyd entfernt man das Lösungsmittel und filtriert vom Ungelösten ab. Mercapto-cyclopenteno-thiazol fällt alsdann beim Ansäuern mit verdünnten Mineralsäuren als hellgelbe pulvrige Masse aus. Mehrfaches Umkrystallisieren aus Benzol führt zu einem reinen Körper vom Smp. 188°.

2,444 mg Subst. gaben 0,196 cm³ N₂ (22°, 744 mm)

C₆H₇NS₂ Ber. N 8,92 Gef. N 9,08%

2-Allylamino-4,5-cyclopenteno-thiazol.

6 g 2-Chlorcyclopentanon-1 werden mit der gleichen Menge Allylthioharnstoff und 15 cm³ Eisessig, als Lösungsmittel, vermischt. Dieses Gemenge wird bis zur Lösung des Allylthioharnstoffs zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen auf 40° wird der Eisessig bei dieser Temperatur im Vakuum entfernt. Die verbleibende, rote bis braune, zähflüssige Masse, die sehr stark hygroskopisch ist, wird in salzsäurehaltigem Wasser gelöst und vom ungelösten Anteil durch Filtration abgetrennt. Auf Zusatz von Ammoniak fällt dann ein rein weisser Niederschlag aus, der sich nach kurzer Zeit zu amorphen plastischen Gebilden zusammenballt. Erst nach mehrtägigem Stehen in der ammoniakalischen Lösung wird die Masse krystallin. Eine analysenreine Substanz konnte aus Petroläther erhalten werden. Der Schmelzpunkt des hellgelb gefärbten 2-Allylamino-4,5-cyclopenteno-thiazols liegt bei 96°.

1,728 mg Subst. gaben 0,237 cm³ N₂ (21°, 732 mm)

C₉H₁₂N₂S Ber. N 15,55 Gef. N 15,33%

3-Phenyl-4,5-cyclopenteno-Δ⁴-thiazolinon-2-anil.

Unter Rückflusskühlung werden 4 g Chlorcyclopentanon mit 8 g Diphenylthioharnstoff in 15 cm³ Eisessig bis zur vollständigen Lösung gekocht. Aus der Reaktionslösung, die eine gelbe bis rote Farbe angenommen hat, wird der Eisessig unter vermindertem Druck entfernt. Der hygroskopische Rückstand wird in verdünnter Salzsäure gelöst und durch Filtration gereinigt. Die mit Ammoniak in Freiheit gesetzte Base wird nach einigen Tagen isoliert und getrocknet. Durch Umkrystallisieren aus Petroläther erhält man schwach gelblich gefärbte Krystalle vom Smp. 123—124°.

3,605 mg Subst. gaben 0,310 cm³ N₂ (22°, 738 mm)

C₁₈H₁₆N₂S Ber. N 9,58 Gef. N 9,66%

2-Allylamino-4,5-cyclohexeno-thiazol.

5 g 2-Chlorcyclohexanon-1 werden mit 4,4 g Allylthioharnstoff und 15 cm³ Eisessig versetzt und bis zur vollständigen Lösung unter Rückflusskühlung gekocht. Das gebildete Hydrochlorid wird im Vakuum vom Eisessig befreit, in salzsäurehaltigem Wasser gelöst, filtriert und mit Ammoniak in die Base übergeführt. Nach mehrtägigem Stehen wird die getrocknete Masse aus Petroläther umkrystallisiert. Man erhält ein schwach gelbliches Produkt vom Smp. 76°.

2,143 mg Subst. gaben 0,274 cm³ N₂ (24°, 740 mm)

C₁₀H₁₄N₂S Ber. N 14,43 Gef. N 14,31%

3-Phenyl-4,5-cyclohexeno-Δ⁴-thiazolinon-2-anil.

Eine Mischung von 4,7 g Chlorcyclohexanon und 8 g Diphenylthioharnstoff wird mit 15 cm³ Eisessig versetzt und bis zum vollständigen in Lösung gehen zum Sieden erwärmt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wird das Reaktionsprodukt in verdünnter Salzsäure aufgenommen, von Ungelöstem durch Filtration getrennt und mit Ammoniak gefällt. Zur Reinigung wird das Produkt mehrfach aus Petroläther umkrystallisiert. Der Smp. des farblosen Körpers liegt bei 120°.

2,633 mg Subst. gaben 0,218 cm³ N₂ (21°, 736 mm)

C₁₉H₁₈N₂S Ber. N 9,15 Gef. N 9,33%

Die Mikroanalysen wurden z. T. in unserm Laboratorium durch Fr. I. Ramser ausgeführt, z. T. verdanken wir sie dem analytischen Laboratorium der Ciba Aktiengesellschaft (Dr. H. Gysel).

Universität Basel, Anstalt für anorganische Chemie.

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.)

W. Theilheimer, Synthetische Methoden der Organischen Chemie, Repertorium I. Mit einem Geleitwort von Prof. Dr. *T. Reichstein*. Lex.-8^o, VIII + 222 SS., in Leinen gebunden, Fr. 25.—, 1946. S. Karger, Basel, New York.

Südkurier, Tagblatt für Bodensee, Schwarzwald und das obere Donaugebiet; Direktor *Johannes Weyl*; verantwortlich für die Redaktion Dr. *Fritz Harzendorf*; Verlag: Südkurier-Verlag; Druck: Druckerei und Verlagsanstalt Konstanz G. m. b. H.; Adresse des Südkurier: Konstanz, Marktstätte.

The Svedberg 1884—1944. 731 pages, Uppsala and Stockholm, 1945. (Offert par la Bibliothèque de l'Université Royale d'Uppsala).

Errata.

Helv. 28, 1224 (1945); mémoire 157 de *Y. R. Naves*, pour α_D du terpinéol lire « $-36,35^0$ » et non « $36,35^0$ ».

Helv. 28 (1945); mémoire 158 de *Y. R. Naves* et *P. Bachmann*, lire p. 1228, au sujet des caractères de l'époxylynalol, « ergs/cm² » et non « ergs/cm ». P. 1229 et p. 1230, au sujet des indices de réfraction de l'acétate d'époxylynalyle et du glycol, inverser les symboles n_D^{20} et n_C^{20} .
