Copyright 1946 by: Schweizerische chemische Gesellschaft, Basel — Société suisse de Chimie, Bâle — Società svizzera di chimica, Basilea. Nachdruck verboten. — Tous droits réservés. — Printed in Switzerland.

96. Polarographische und spektrographische Untersuchungen an organischen Halogenverbindungen

von H. Keller, M. Hochweber und H. v. Halban.

(6. IV. 46.)

Brdizka[1]) sowie *Pasternak* und *v. Halban*[2]) haben gezeigt, dass organisch gebundenes Halogen polarographisch (kathodisch) wirksam sein kann. Wir haben es als wünschenswert erachtet, weitere Untersuchungen in dieser Richtung durchzuführen.

Es war vor allem von Interesse, über die Art der Halogenbindung der polarographisch wirksamen Halogenverbindungen etwas zu erfahren. Zu diesem Zweck haben wir einige Verbindungen aus dem Gebiet der Halogen-diphenyl-äthane polarographisch untersucht. Wie aus der angeführten Tabelle zu entnehmen ist, wurden Verbindungen untersucht, welche aromatisch und aliphatisch (I, II, III, IV, VI, VII), nur aromatisch (VIII) und nur aliphatisch (V) gebundenes Halogen enthalten. Wir konnten mit diesen Versuchen zeigen, dass nur aliphatisch gebundenes Halogen in den untersuchten Verbindungen polarographisch wirksam ist, denn es geben alle untersuchten Halogen-diphenyl-äthane eine Halogenstufe mit Ausnahme von Dichlordiphenyl-äthan (VIII). Es kann somit gesagt werden, dass bei den untersuchten Verbindungen nur Halogen abgespalten wird aus der Atomgruppe

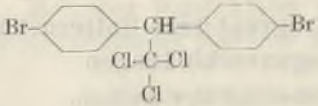
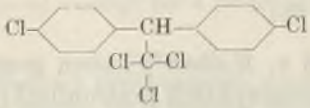
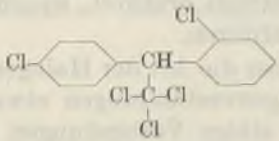
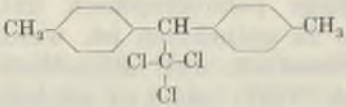
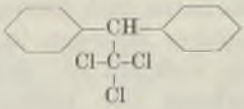
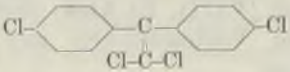
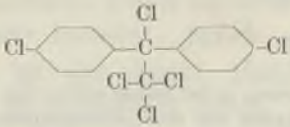
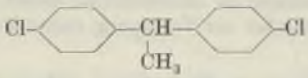
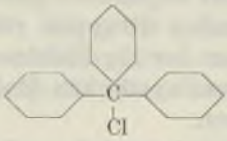
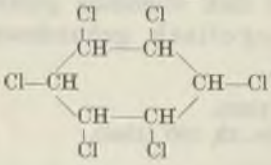
$$-\overset{|}{\underset{|}{C}}-CCl_3, \quad \text{resp.} \quad \overset{|}{\underset{|}{C}}=CCl_2.$$

Diese Versuchsergebnisse waren zu erwarten; es ist früher schon von *Proske*[3]) gezeigt worden, dass bei den Halogen-benzaldehyden nur eine polarographisch wirksame Gruppe vorliegt, die aromatische Halogenbindung ist offensichtlich derart stabil, dass in dem bei den polarographischen Arbeitsmethoden zur Verfügung stehenden Potentialbereich keine Reduktion eintritt.

Nachdem wir festgestellt hatten, dass aliphatisch gebundenes und durch die Anwesenheit von aktivierenden Gruppen reaktionsfähig gewordenes Halogen in offener Kette an der Hg-Elektrode reduziert wird, war es auch von Interesse, an einem cyclischen Halogenderivat polarographische Messungen auszuführen.

Hexachlor-cyclohexan (X) lässt sich ebenfalls polarographisch reduzieren, d. h. also, dass auch cyclisch gebundenes Halogen polarographisch erfassbar sein kann.

[1]) *Brdizka, R.*, J. gen. Physiol. **19**, 899 (1936).
[2]) *Pasternak, R.*, und *v. Halban, H.*, Helv. **29**, 190 (1946).
[3]) *Proske, G.*, Chemie **56**, 24 (1943).

	Substanz	Halbstufenpotential gegenüber Normal-Kalomel = 0	Stufenhöhe
I		−0,82 Volt	1
II		−0,84 Volt	1
III		−0,90 Volt	1
IV		−0,91 Volt	1,25
V		−0,93 Volt	1,5
VI		−1,98 Volt	2
VII		−2,02 Volt	2
VIII		nicht reduzierbar	
IX		−1,25 Volt	1
X		−1,85 Volt	2

Was nun die Werte der einzelnen Halbstufenpotentiale der untersuchten Halogen-diphenyl-äthane anbetrifft, so ist zu bemerken, dass die Halbstufenpotentiale (mit Ausnahme der Verbindungen VI und VII) aller Verbindungen innerhalb eines Spannungsbereiches von – 0,82 bis – 0,93 Volt liegen.

G. Proske[1]) hat an CO-Verbindungen, welche er polarographisch untersuchte, nachgewiesen, dass Phenylgruppen und Halogen in organischer Bindung auflockernd wirken, d. h. die Halbstufenpotentiale der CO-Bindungen werden durch diese aktivierend wirkenden Gruppen nach positiveren Werten verschoben, während Methylgruppen einen stabilisierenden Einfluss ausüben. Auch das Ansteigen der auflockernden Wirkung von Halogen auf die CO-Bindung innerhalb der Halogenreihe (Cl, Br, J, F) konnte *Proske* an dem Beispiel der Halogen-Benzaldehyde zeigen; so wird die Jod-Verbindung vor dem Bromderivat und letzteres vor dem Chlor-benzaldehyd reduziert.

Bei der Halogenstufe ist ein ähnlicher Effekt feststellbar; so wird das Bromderivat (Verbindung I) vor dem Chlorderivat, dem Dichlordiphenyl-trichlor-äthan (Verbindung II), reduziert.

Die Stellung der Chloratome in den beiden Phenylkernen übt auf die Grösse des Halbstufenpotentials einen Einfluss aus, die p,p′-Dichlordiphenyl-Verbindung wird vor der o,p′-Dichlordiphenyl-Verbindung reduziert. Weiter ist die verstärkend auflockernde Wirkung von Halogen + Phenylkern im Gegensatz zur Wirkung vom Phenylkern allein in der Molekel auch bei der Halogenstufe deutlich zu erkennen, das Halbstufenpotential von Diphenyl-trichlor-äthan liegt bei negativeren Werten als dasjenige von Verbindung II. Diese durch induktive Effekte hervorgerufenen Verschiebungen der Abscheidungspotentiale sind in den untersuchten Verbindungen relativ klein, so dass eine Trennung oder Identifizierung der einzelnen Halogen-diphenyl-äthane, sofern sie in einem Gemisch vorliegen, kaum möglich ist. Bedeutend ausgeprägter kommen diese induktiven Effekte in den Absorptionsspektren zum Ausdruck. Die polarographischen Messungen an den besprochenen Derivaten aus der Halogen-diphenyl-äthanreihe eignen sich zur Unterscheidung der einzelnen Verbindungen kaum. Dagegen ist vor allem hervorzuheben, dass in den technischen Produkten eine quantitative Gehaltsbestimmung an Aktivsubstanz polarographisch äusserst lohnend ist. Wir konnten Dichlordiphenyl-trichlor-äthan mit der polarographischen Methode bis zu einem Gehalt von 3 γ/cm^3 Lösung bestimmen.

(Zur polarographischen Bestimmung genügen Bruchteile eines cm^3, so dass mit 0,2 bis 0,5 cm^3 gearbeitet werden kann, d. h. es sind 0,6 bis 1,5 γ Aktivsubstanz direkt bestimmbar.)

---

[1]) *Proske, G.*, Chemie **56**, 24 (1943).

Bei diesen Bestimmungsversuchen konnten wir auch zeigen, dass bei Konzentrationen unter $3\gamma/cm^3$ das Dichlordiphenyl-trichloräthan zersetzt wird, es tritt HCl-Abspaltung ein, was polarographisch festgestellt werden kann, da sich das Halbstufenpotential der entstehenden Verbindung, des Dichlordiphenyl-dichlor-äthylens (VI), sehr deutlich vom Abscheidungspotential der Verbindung I unterscheidet. Zur Illustration sei hier noch eine Aufnahme von Dichlordiphenyl-trichlor-äthan und dem Hydrolysierungsprodukt mit der Doppelbindung aufgeführt. (Fig. 1) (Konzentration von Dichlordiphenyl-trichlor-äthan = 10^{-3}, Konzentration von Dichlordiphenyl-dichlor-äthylen = 10^{-4} molar). Ein weiterer Vorteil der polarographischen Dichlordiphenyl-trichlor-äthan-Bestimmung gegenüber der chemischen Bestimmungsmethode besteht darin, dass unter gewissen Voraussetzungen die Aktivsubstanz auch in technischen Produkten, so z. B. in Emulsionen, direkt bestimmbar ist. Figur 2 zeigt eine Bestimmung einer solchen Emulsion.

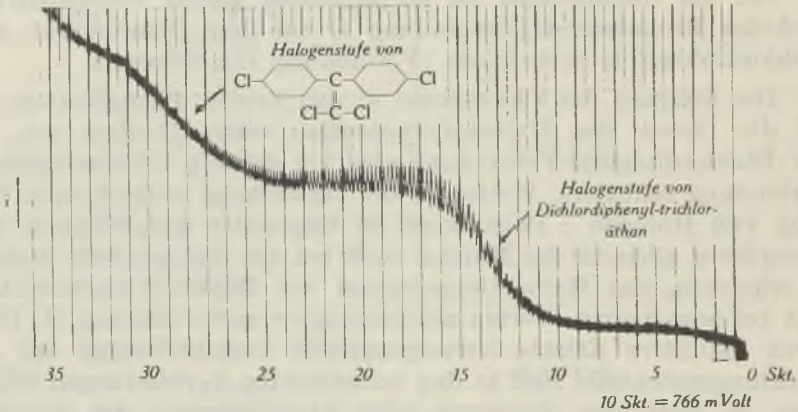


Fig. 1.

Ein bemerkenswerter Unterschied gegenüber den übrigen Verbindungen aus dem Gebiet der Halogen-diphenyl-äthane ist bei den beiden Verbindungen VI und VII festzustellen; Dichlordiphenyl-dichlor-äthylen (VI) und Dichlordiphenyl-tetrachlor-äthan (VII) werden erst bei sehr hohen negativen Werten reduziert. Diese Verschiebung des Abscheidungspotentials bei den beiden Verbindungen VI und VII dürfte auf die stabilisierende Wirkung der Doppelbindung bei Verbindung VI und auf das in der Tetrachloräthan-Verbindung (VII) befindliche Chloratom zurückzuführen sein.

Weiter sei noch einiges über die Stufenhöhen der einzelnen Verbindungen erwähnt. Wir haben beim Triphenyl-chlormethan (IX) ebenfalls eine Halogenstufe erhalten. Da hier nur ein Chloratom durch

die Reduktion abgespalten werden kann, haben wir für unsere Überlegungen die auftretende Stufenhöhe als Mass für die Abspaltung von einem Chloratom gewählt (sämtliche polarographischen Untersuchungen in dieser Arbeit wurden unter genau gleichen Versuchsbedingungen und bei gleicher Konzentration durchgeführt). Beim Vergleich der Höhen der einzelnen Halogenstufen ist festzustellen, dass bei den Verbindungen I, II, III und IX die Stufenhöhen alle gleich gross sind, während bei den Verbindungen VI, VII und X doppelt so grosse Halogenstufen auftreten.

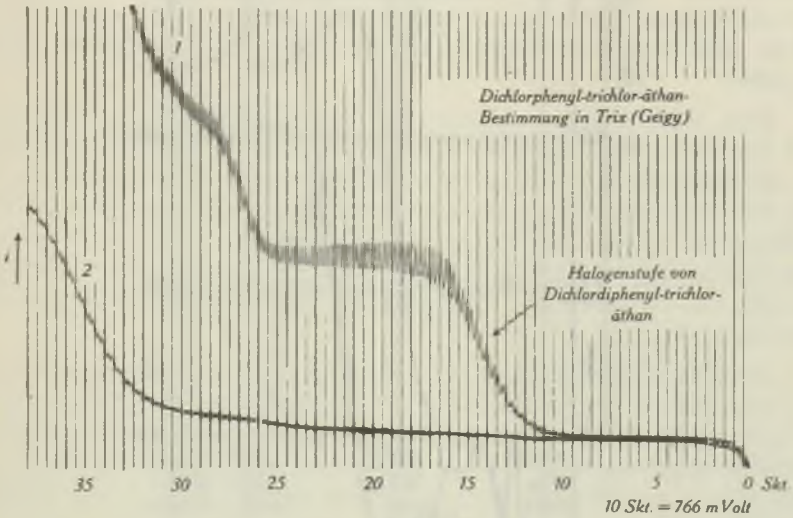


Fig. 2.

1. Dichlordiphenyl-trichlor-äthan-Bestimmung in der Emulsion.
2. Grundlösung $(CH_2)_4NBr$ 0,01-m.

Dieser Befund macht es wahrscheinlich, dass bei der Reduktion an der H_2-Hg-Tropfelektrode die erstgenannten Verbindungen ein Halogenatom abspalten, während die Verbindungen VII und X zwei Chloratome abspalten, die doppelte Stufenhöhe von VI wäre dann der Reduktion der Doppelbindung und eines Chloratoms zuzuschreiben.

Eine endgültige Aufklärung des Reaktionsmechanismus an der Hg-Tropfelektrode bei den untersuchten Verbindungen kann selbstverständlich erst dann gegeben werden, wenn die bei der Reduktion entstandenen Verbindungen auch als Substanz isoliert vorliegen[1]).

---

[1]) Elektrochemische Reduktionen von Diphenyl-trichlor-äthanen wurden bereits von *K. Brand* und Mitarbeitern mit Blei- und Cu-Elektroden ausgeführt, vgl. B. **46**, 2938, 2940 (1913); B. **54**, 2017 (1921); J. pr. [2] **127**, 231 (1930); **115**, 335, 339, 340 (1927).

Weiter haben wir von den Verbindungen aus der Halogendiphenyl-äthanreihe die Absorptionsspektren aufgenommen. Wir können die erhaltenen Spektren in zwei Gruppen aufteilen, in eine erste Gruppe der Verbindungen II, III, V und VIII und in eine zweite, welche aus den Verbindungen I, IV und VII besteht. Die erste Gruppe zeigt eine aus mehreren Banden bestehende Feinstruktur im Frequenzgebiet von $1{,}080 \times 10^{15}$ bis $1{,}215 \times 10^{15}$ ($n = 36000$—40000), während bei der zweiten Gruppe diese Bandengruppen in Einzelbanden und verdeckte Banden übergehen. (Fig. 3 und 5.)

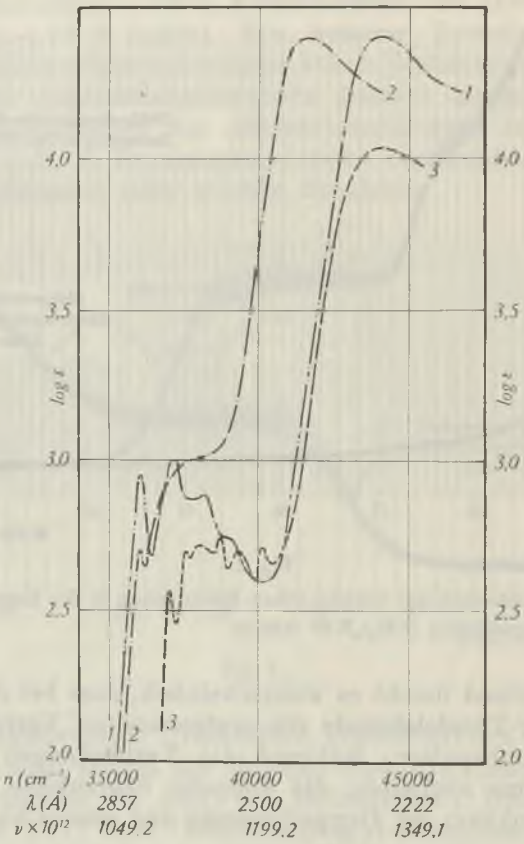
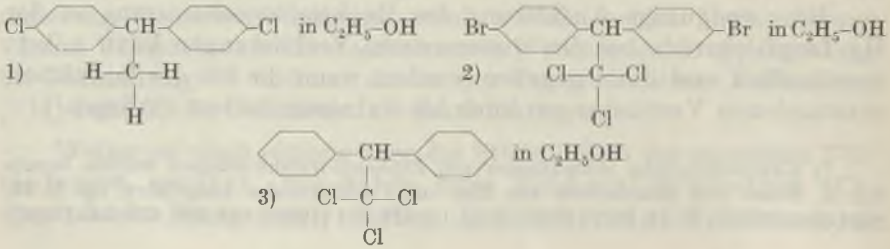


Fig. 3.



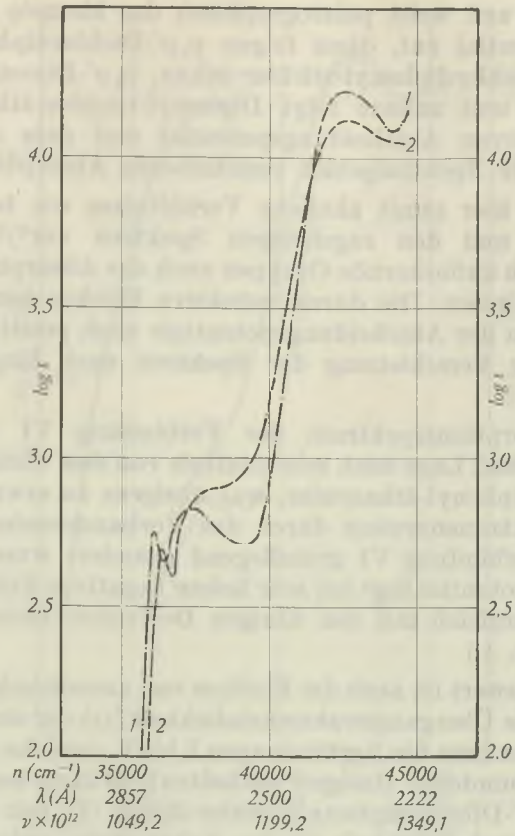
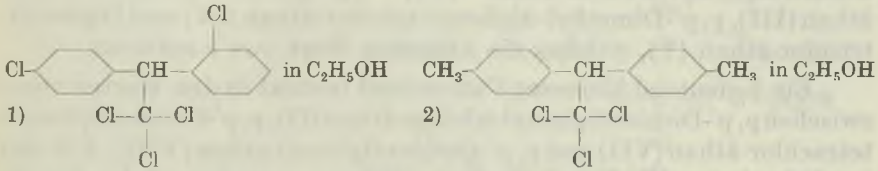


Fig. 5.



Im Gegensatz zu den polarographischen Messungen lassen sich die einzelnen Verbindungen durch ihre Spektren sehr deutlich charakterisieren.

Vergleicht man die polarographisch erhaltenen Abscheidungspotentiale der Verbindungen I—V mit der Lage der entsprechenden Absorptionsspektren, so kann festgestellt werden, dass mit steigendem negativem Abscheidungspotential auch das entsprechende Spektrum sich ins ultraviolette Spektralgebiet verschiebt. Von den Verbindungen I bis V absorbiert p,p′-Dibromdiphenyl-trichlor-äthan am

langwelligsten und weist polarographisch das kleinste negative Abscheidungspotential auf, dann folgen p,p'-Dichlordiphenyl-trichloräthan, o,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan, p,p'-Dimethyl-diphenyl-trichlor-äthan und zuletzt folgt Diphenyl-trichlor-äthan mit dem grössten negativen Abscheidungspotential und dem am weitesten ins ultraviolette Spektralgebiet verschobenen Absorptionsspektrum.

Es liegen hier somit ähnliche Verhältnisse wie bei den Ketoverbindungen und den zugehörigen Spektren vor[1])[2]), d. h. dass polarographisch auflockernde Gruppen auch das Absorptionsspektrum beeinflussen können. Die durch induktive Effekte hervorgerufenen Verschiebungen der Abscheidungspotentiale nach positiveren Werten gehen mit der Verschiebung der Spektren nach längeren Wellen parallel.

Das Absorptionsspektrum der Verbindung VI unterscheidet sich der Form und Lage nach sehr deutlich von den übrigen Spektren der Halogen-diphenyl-äthanreihe, was übrigens zu erwarten war, da das Valenzelektronensystem durch das Vorhandensein der Doppelbindung in Verbindung VI grundlegend geändert wurde. Auch das Abscheidungspotential liegt bei sehr hohen negativen Potentialwerten, so dass ein Vergleich mit den übrigen Derivaten kaum angebracht erscheint. (Fig. 4.)

Bemerkenswert ist auch der Einfluss von aromatisch gebundenem Halogen auf die Übergangswahrscheinlichkeit [(ε) der einzelnen Spektren]. Vergleicht man die Verbindungen I bis V, (welche alle gleichviel aliphatisch gebundenes Halogen enthalten), so kann festgestellt werden, dass p,p'-Dibromdiphenyl-trichlor-äthan (I) mit der grössten Übergangswahrscheinlichkeit an der Spitze steht, gefolgt von p,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan (II), o,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan (III), p,p'-Dimethyl-diphenyl-trichlor-äthan (IV) und Diphenyl-trichlor-äthan (V), welches die kleinsten Wert von ε aufweist.

Ein bedeutend kleinerer Unterschied besteht in den Werten von ε zwischen p,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan (II), p,p'-Dichlordiphenyl-tetrachlor-äthan (VII) und p,p'-Dichlordiphenyl-äthan (VIII), d. h. das in aliphatischer Bindung befindliche Halogen vermag auf das für die Lichtabsorption verantwortliche Valenzelektronensystem keinen grossen Einfluss auszuüben.

Die Spektren wurden in der im Institut üblichen Art aufgenommen, das gleiche gilt für die Aufnahme der Polarogramme (vgl. Helv. **29**, 512 (1946) und die dort aufgeführten Literaturangaben.)

Konzentration der untersuchten Lösung 1×10^{-3} molar
Konzentration der Grundlösung 1×10^{-2} $(CH_3)_4NBr$
Lösungsmittel: 80-proz. Alkohol.

---

[1]) Vgl. *Proske, G.*, Chemie **56**, (1943) sowie
[2]) *Keller, H., Pasternak, R.*, und *v. Halban, H.*, Helv. **29**, 512 (1946).

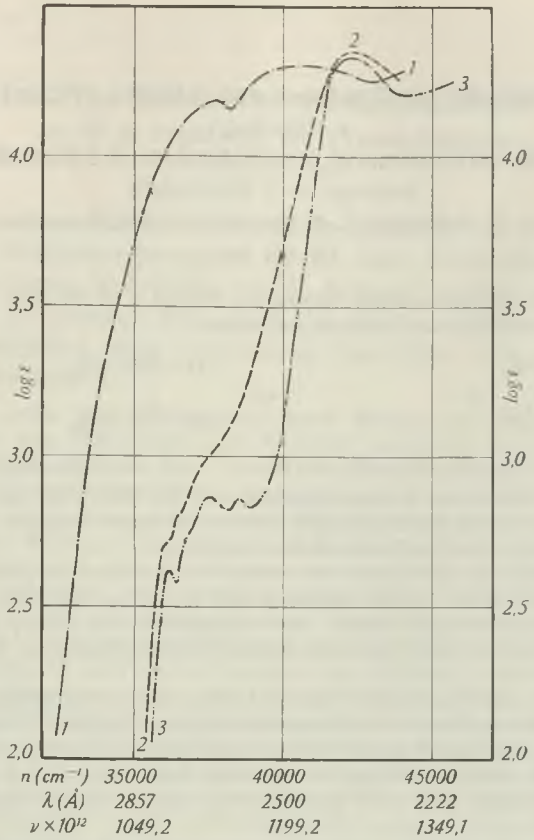
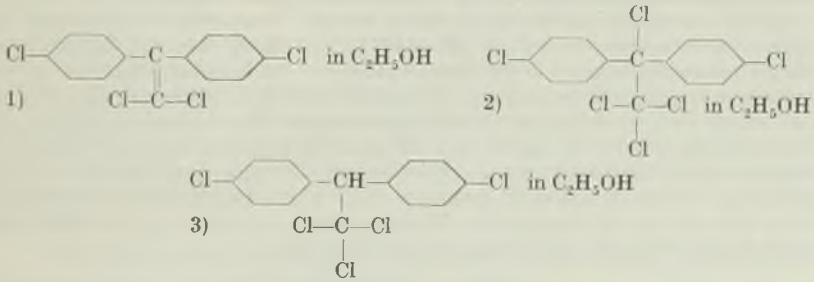


Fig. 4.



Den Frl. *U. Lauchenauer* und *C. Ebnöther* sind wir für ihre experimentelle Mitarbeit zu Dank verpflichtet.

Der Firma *J. R. Geigy A.G.* in Basel möchten wir auch an dieser Stelle für die Überlassung der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Präparate aus der Halogen-diphenyläthanreihe verbindlichst danken.

Zürich, Physikalisch-Chemisches Institut der Universität.
März 1946.

97. Versuche zur Synthese von β-Biotin (Vitamin H).

4. Mitteilung[1]).

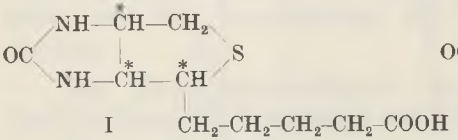
Die stereoisomeren synthetischen *d, l*-Biotine

Nachtrag zur 2. Mitteilung[2]).

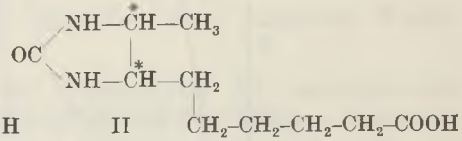
von **A. Grüssner, J.-P. Bourquin** und **O. Schnider.**

(9. IV. 46.)

Die Synthese des racemischen Biotins der Formel I ist bis jetzt von *Harris* und Mitarbeitern[3])[4]) und von uns[2]) beschrieben worden.



I



II

Durch das freundliche Entgegenkommen von Dr. *Harris* ist ein Austausch und Vergleich der von beiden Arbeitsgruppen isolierten Isomeren möglich geworden. Übereinstimmend wurde dabei von beiden Seiten festgestellt:

Das *d, l*-Biotin von *Harris* und Mitarbeitern[3])[4]) und unser *d, l*-β-Biotin[2]) sind identisch und biologisch aktiv. Das *d, l*-Allobiotin und das *d, l*-epi-Allobiotin von *Harris* und Mitarbeitern[4]) sind biologisch inaktiv und verschieden vom *d, l*-ψ-β-Biotin und vom *d, l*-iso-β-Biotin, den von uns[2]) isolierten beiden biologisch inaktiven Isomeren des *d, l*-β-Biotins.

Nach *Harris* und Mitarbeitern[5]) liefern *d, l*-Allo- und *d, l*-epi-Allobiotin bei der Entschwefelung mit *Raney*-Nickel ein und dasselbe biologisch inaktive *d, l*-Desthio-allobiotin. Dieses entspricht der trans-Form der beiden möglichen isomeren *d, l*-Desthiobiotine der Formel II, welche durch Loslösung des Schwefels aus I hervorgehen können. Das cis-Isomere, das biologisch aktive *d, l*-Desthiobiotin, entsteht durch Entschwefelung des *d, l*-Biotins.

Wir konnten die Richtigkeit dieser konstitutionellen Beziehungen durch folgende Beobachtungen bestätigen: Das von uns[6]) durch katalytische Reduktion von 4-Methyl-5-(ω-carboxy-n-pentyl)-2-oxo-dihydro-imidazol mittels *Raney*-Nickel synthetisch dargestellte *d, l*-Desthiobiotin vom Smp. 141—142° (*Kofler*-Block) liess sich durch häufiges Umlösen aus Isopropylalkohol in zwei Isomere trennen, von denen sich das eine mit dem *d, l*-Desthiobiotin, das andere mit dem *d, l*-Desthio-allobiotin identisch erwies. Dagegen war die durch Entschwefelung aus *d, l*-ψ-β-Biotin hergestellte Verbindung $C_{10}H_{18}O_3N_2$[2]) mit keinem dieser beiden Desthiobiotine identisch. Es kann ihr also trotz stimmender Bruttoformel nicht die Konstitution des Desthiobiotins (II) zukommen, die wir ihr früher zugeschrieben haben. Demgemäss entspricht auch das ψ-Biotin nicht der Formel I, und von den drei von uns dargestellten Biotinisomeren ist nur das *d, l*-β-Biotin in seinen chemisch-konstitutionellen Beziehungen restlos aufgeklärt.

Wissenschaftliches Laboratorium der
F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G., Basel.

---

[1]) 3. Mitteilung, Helv. **28**, 528 (1945). [2]) Helv. **28**, 517 (1945).

[3]) *S. A. Harris, D. E. Wolf, R. Mozingo, R. Ch. Anderson, G. E. Arth, N. R. Easton, D. Heyl, A. N. Wilson* und *K. Folkers*, Am. Soc. **66**, 1756 (1944).

[4]) *S. A. Harris, D. E. Wolf, R. Mozingo, G. E. Arth, R. Ch. Anderson, N. R. Easton,* und *K. Folkers*, Am. Soc. **67**, 2096 (1945).

[5]) *S. A. Harris, R. Mozingo, D. E. Wolf, A. N. Wilson* und *K. Folkers*, Am. Soc. **67**, 2101 (1945). [6]) Helv. **28**, 528 (1945).

98. Zur Konstitution des Molybdänblaus

von **W. D. Treadwell** und **Yvonne Schaeppi.**

(11. IV. 46.)

Molybdänblau entsteht als erstes Produkt bei der Reduktion von sauren Molybdatlösungen. Es ist eine Verbindung von fünf- und sechswertigem Molybdän, wie *P. Klason*[1]) gezeigt hat. Trotzdem wurde auch in neuerer Zeit noch die ältere Auffassung vertreten, dass Molybdänblau eine Verbindung von vier- und sechswertigem Molybdän darstelle[2]).

Bucholz[3]) stellte Molybdänblau dar durch Kochen von Molybdäntrioxyd und Molybdänpulver, resp. Molybdändioxyd. *Berzelius*[4]) vermischte eine konz. Lösung von Ammoniummolybdat mit einer konz. Lösung von Molybdänchlorid (*Berzelius* hat die verwendete Molybdän(V)-chloridlösung irrtümlicherweise als Molybdän(IV)-chloridlösung angesehen) und gewann daraus einen Molybdänblauniederschlag von der Bruttozusammensetzung $Mo_5O_{14} \cdot n\ H_2O$. *Muthmann*[5]) erhielt beim Eindampfen von Molybdän(VI)-sulfat in Gegenwart eines Überschusses von metallischem Molybdän eine wasserlösliche blaue Verbindung, deren Zusammensetzung der Bruttoformel $Mo_3O_8 \cdot n\ H_2O$ entsprach. Nach *Guichara*[6]) erhält man bei der Vereinigung von Molybdäntrioxyd und Molybdändioxyd in wässriger Aufschlämmung, bei der Reduktion von Molybdäntrioxyd in wässriger Lösung wie auch bei der Oxydation des Molybdän(V)-hydroxydes in Wasser mit verdünnter Salpetersäure oder mit Luft Molybdänblau, dessen Zusammensetzung ungefähr auf die Formel $Mo_5O_{14} \cdot 6\ H_2O$ stimmt. *Guichard* schliesst sich der Anschauung von *Berzelius* an, dass Molybdänblau eine Verbindung von vier- und sechswertigem Molybdän sei und stellt dafür die Konstitutionsformel $MoO_2 \cdot 4\ MoO_3 \cdot 6\ H_2O$ auf. Später ersetzt er diese Formel durch die äquivalente $Mo_2O_5 \cdot 3\ MoO_3 \cdot 6\ H_2O$[7]). *Bailhache*[8]) will durch Umsetzung von Molybdän(V)-sulfat mit normalem Bariummolybdat ein Molybdänblau von der Formel $Mo_4O_{11} \cdot 6\ H_2O$ erhalten haben, während er bei der Umsetzung von Molybdän(V)-sulfat mit Bariumparamolybdat ein Molybdänblau erhalten hat, dessen Zusammensetzung der Formel $Mo_{20}O_{57} \cdot 18\ H_2O$ entsprach. Bei der elektrolytischen Reduktion von Molybdat in salzsaurer Lösung scheidet sich an der Kathode zuerst eine blaue Verbindung ab, die bei längerer Reduktion wieder in Lösung geht, wobei sich dieselbe nach grün verfärbt. *Junius*[9]) fand in dem elektrolytisch gewonnenen Molybdänblauniederschlag ein Verhältnis von vier- und sechswertigem Molybdän von 1 : 6. Er formuliert dieses Molybdänblau von der Bruttozusammensetzung $Mo_7O_{20} \cdot aq$ als $MoO_2 \cdot 6\ MoO_3 \cdot n\ H_2O$. *Lautié*[10]) behandelt eine konz. Molybdatlösung mit schwefliger Säure und gewinnt aus der blauen Lösung einen Niederschlag, dessen Zusammensetzung auf die Formel $Mo_5O_{14} \cdot 6\ H_2O$ stimmt.

Dem nach einer der obigen Methoden hergestellten Molybdänblau nahe verwandt ist wahrscheinlich auch die von *E. Péchard*[11]) aus

---

1) B. **34**, 158 (1901).
2) *Denigès*, Mikroch., *Pregl*-Festschrift 27 (1929).
3) Gehlen J. **4**, 633 (1805).
4) Pogg. Ann. **6**, 387 (1826).
5) A. **238**, 126 (1887).
6) C. r. **131**, 389 (1900).
7) Bl. [4] **1**, 448 (1907).
8) C. r. **133**, 1210 (1901).
9) Z. anorg. Ch. **46**, 446 (1905).
10) Bl. [5] **1**, 108 (1934).
11) C. r. **132**, 628 (1901).

schwefelsaurer Molybdatlösung durch Reduktion mit Alkohol und Neutralisation mit Ammoniak erhaltene blaue Verbindung. Das Sulfation lässt sich in der Kälte aus der wässrigen Lösung der blauen Substanz mit Bariumchlorid nicht fällen; es muss demnach in dieser Verbindung komplex gebunden sein.

Ähnliche komplexe Verbindungen bildet Molybdänblau mit Phosphor- und Arsensäure in schwefelsaurer Lösung, ebenfalls mit Borsäure in stärkerer Schwefelsäure und mit Kieselsäure in ganz schwach alkalischer Lösung. Die Abscheidung dieser Komplexe aus ihren Lösungen stösst auf Schwierigkeiten, weil sie in Wasser sehr leicht löslich und die Verbindungen selbst nicht sehr beständig sind. Deshalb ist auch ihre stöchiometrische Zusammensetzung meist nicht genau bekannt.

Bei der kolloiden Natur des Molybdänblaus ist es aber schwierig, den Niederschlag in genau definierter Zusammensetzung zu isolieren. Dazu kommt, dass merkliche Unterschiede im Verhältnis von Mo(V) Mo(VI) in dem Blau nur kleinen Unterschieden im Molybdängehalt entsprechen, wie die folgenden Beispiele zeigen.

Formeln von Molybdän(V)-Molybdän(VI)-Oxyden

Brutto-formel	stöchiometrische Formel	Verhältnis Mo(V):Mo(VI)	MoO_x x =	Gehalt an Mo %	Gehalt an O %
Mo_3O_8	$Mo_2O_5 \cdot MoO_3$	2:1	2,67	69,23	30,67
Mo_4O_{11}	$Mo_2O_5 \cdot 2\,MoO_3$	2:2	2,75	68,57	31,33
Mo_5O_{14}	$Mo_2O_5 \cdot 3\,MoO_3$	2:3	2,80	68,18	31,82
Mo_6O_{17}	$Mo_2O_5 \cdot 4\,MoO_3$	2:4	2,83	67,92	32,08
Mo_7O_{20}	$Mo_2O_5 \cdot 5\,MoO_3$	2:5	2,86	67,74	32,26
Mo_8O_{23}	$Mo_2O_5 \cdot 6\,MoO_3$	2:6	2,88	67,60	32,40

Der Molybdängehalt der Niederschläge ist somit kein empfindliches Charakteristikum der Molybdänblaukomplexe. Viel geeigneter erscheint die Reduktionsstufe des Molybdäns und die auf die gesamte Molybdänkonzentration bezogene Extinktion. *Heim*, *Burawoy* und *Schwedler*[1]) versuchten daher, Heteropolysäuren des Molybdäns mit gemessenen Mengen von Zinn(II)-chlorid zur maximalen Farbstärke des entsprechenden Molybdänblaus zu reduzieren. Ihre bei Zimmertemperatur ausgeführten Versuche ergaben jedoch verschiedene Farbtöne der reduzierten Lösungen, je nachdem das Zinn(II)-chlorid oder die Phosphormolybdänsäure vorgelegt wurden, so dass ihre Ergebnisse nicht zu eindeutigen Resultaten geführt haben. Das angewandte Untersuchungsprinzip war jedoch zweckmässig gewählt und ist von uns im folgenden weiter verwendet worden.

[1]) Koll.-Z. **74**, 35 (1936).

Sehr eingehend ist die Verwendung des Phosphorsäure-Molybdänblaukomplexes zur Bestimmung von kleinen Mengen Phosphorsäure geprüft worden, wobei die Reduktion einer hochverdünnten Lösung von Phosphorsäure mit einem grossen Überschuss an schwefelsaurem Molybdat mit organischen Reduktionsmitteln, meist unter Zusatz von Hydrogensulfit und Sulfit, empfohlen wird. Die Brauchbarkeit solcher Reduktionsgemische ist in einer vergleichenden Untersuchung vor 14 Jahren von *E.* und *E. Tschopp*[1]) geprüft worden. Besonders geeignet erwies sich hierbei p-Methylamino-phenol-sulfat = Photorex und die von *C. H. Fiske* und *Y. Subbarow*[2]) empfohlene 1,2,4-Aminonaphtol-sulfosäure = Eikonogen als Reduktionsmittel.

Das von *Tschopp* ausgearbeitete Verfahren wurde von *H. Wuhrmann* und *O. Högl*[3]) weiter untersucht und für verschiedene Phosphatbestimmungen in Lebensmitteln mit sehr gutem Erfolg angewandt.

Mit Zinn(II)-chlorid gelingt die Reduktion schon in der Kälte, geht aber leicht weiter bis zur Mo(III)-Stufe, wie schon *Tischer*[4]) festgestellt hat. *B. Lange*[5]) bezeichnet die mit Zinn(II)-chlorid erzeugte Blaufärbung als die empfindlichste. Bei der kolorimetrischen Phosphorsäurebestimmung nach *Tischer* haben wir keine sehr günstigen Resultate erhalten und daher diese Methode zugunsten derjenigen von *Sch. R. Zinzadze*[6]) ganz verlassen.

Nach *Zinzadze* kann die Genauigkeit der Methode durch die im Überschuss verwendeten Reduktionsmittel stark beeinträchtigt werden infolge zu weit gehender Reduktion. Er hat deshalb als erster die Anwendung eines fertigen Molybdänblau-Schwefelsäure-Reagens empfohlen, bestehend aus 3 g MoO_3 in 100 cm³ Schwefelsäure 1:1, das durch Zugabe einer entsprechenden Menge Molybdän zu einem Molybdänblau von der ungefähren Formel von $4\,MoO_3 \cdot 1\,\frac{1}{2}\,Mo_2O_5$ reduziert wird.

Beim Verdünnen mit der dreifachen Menge Wasser wird die Molybdänblau-Schwefelsäure infolge hydrolytischer Spaltung entfärbt. Beim Erwärmen mit einer kleinen Menge von Phosphat, Arseniat, Pyrophosphat oder Subphosphat werden entsprechende, viel stabilere Molybdänblauverbindungen mit reproduzierbarer Farbstärke regeneriert. *Zinzadze* versetzt die zu bestimmende, sehr verdünnte Phosphatprobe mit 0,5 cm³ seines Reagens und entwickelt das stabile Molybdänblauphosphat durch halbstündiges Erwärmen auf dem Wasserbad.

Für die Phosphatbestimmungen haben wir eine Variante der *Thiel*schen[7]) Methode benützt, die *B. Lange*[8]) erwähnt und die von *F. Giesecke, G. Michael* und *L. Schulte*[9]) beschrieben worden ist.

---

[1]) Helv. **15**, 793 (1932). [2]) J. Biol. Chem. **66**, 375—400 (1925).
[3]) Mitt. Lebensmittelunters. Hyg. **35**, 273 (1944).
[4]) Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde [A] **33**, 192—242 (1934).
[5]) Kolorimetrische Analyse (1941).
[6]) Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde [A] **16**, 180 (1930).
[7]) Absolutkolorimetrie, Berlin 1939, S. 84. [8]) Kolorimetrische Analyse (1941).
[9]) Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde [A] **7** (52), 171 (1938).

Phosphatproben von 5—100 γ Phosphat in einem 50 cm³ Messkolben wurden mit Benützung von β-Dinitro-phenol als Indikator neutralisiert, dann mit 5 cm³ 1-n. H_2SO_4 und 5 cm³ einer 8-proz. $NaHSO_3$-Lösung versetzt, um vorhandenes Eisen(III)-Salz, das die Komplexbildung stört, zu unschädlichem Eisen(II)-Salz zu reduzieren. Hierzu wurde die Lösung über Nacht stehen gelassen. Statt mit Hydrogensulfit kann die eisenhaltige Phosphatlösung vor der Zugabe des Molybdänreagens in einem Cadmiumfilter reduziert werden. Zur Entwicklung der Färbung wurden am nächsten Tag je 5 cm³ eines frisch 1 : 10 verdünnten Molybdänblau-Schwefelsäurereagens zugesetzt, die Lösung mit Wasser zur Marke aufgefüllt und eine Stunde im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Extinktion in einer 5 cm Cuvette mit dem Gelbfilter Hg 578 im Stufenphotometer von *Zeiss* gemessen.

Mit Phosphatmengen im Bereich von 5—100 γ PO_4''' wurde als Ergebnis von sehr zahlreichen Versuchen eine exakte Eichgerade der Extinktion E erhalten, welche durch den Nullpunkt ging, mit einem Steigmass von

$$\frac{\Delta E}{\Delta \gamma (PO_4)} = 0{,}71 \times 10^{-2}$$

woraus sich die dekadische molare Extinktion pro 1 cm Schichtdicke des Molybdänblauphosphats zu

$$E\,(1\text{ m}, 1\text{ cm}) = \log \frac{J_0}{J} = 4{,}646$$

ergibt.

Wurde mit dem Filter der S-Serie und einer gewöhnlichen 8 Volt Nitralampe gearbeitet, um in einem grösseren Wellenbereich messen zu können, so wurden die folgenden Werte der Extinktion erhalten:

Tabelle 1.

Wellenlänge	430	470	500	530	570	610	720	750
Orthophosphat E =	0,049	0,080	0,112	0,147	0,197	0,247	0,374	0,444
Pyrophosphat E =	0,057	0,088	0,120	0,154	0,216	0,301	0,391	0,489
Subphosphat E =	0,084	0,130	0,157	0,276	0,395	0,517	0,540	0,568

Angewandte Konzentration: 100 γ PO_4/50 cm³.
Schichtdicke: 10 mm.

Ein direkter Vergleich mit den Messungen mittels der Quecksilberlampe und dem Hg-Filter 578 ist nicht zulässig. Die Extinktion mit dem Filter Hg 578 stimmt recht genau überein mit derjenigen vom S-Filter 530. Das genaue Absorptionsspektrum, welches zu den analytischen Bestimmungen noch nicht erforderlich war, soll später mitgeteilt werden.

Interessant ist der Vergleich dieser Färbungen mit den Angaben von *Högl* und *Wuhrmann*[1]). Diese Autoren benutzten zur Reduktion 1,2,4-Amino-naphtol-sulfosäure, gelöst in einer Mischung von Hydrogensulfit und Sulfit, und bemerken, dass es notwendig ist, die Extinktion der Proben genau nach derselben Entwicklungszeit zu messen.

Folgende Tabelle zeigt den Vergleich der Färbungen mit unserer Arbeitsweise.

[1]) L. c.

Tabelle 2.

	Eichgerade *Högl*	Eichgerade *Schaeppi*[1])
Acidität	0,5-n. H_2SO_4	0,1-n. H_2SO_4
Extinktion/cm für 20 γ Phosphat	0,27	0,42
Reagens	0,5 g Amino-naphtol-sulfonsäure in 195 cm³ 15-proz. $NaHSO_3$. Zugabe von der zur völligen Lösung notwendigen Menge 20-proz. Na_2SO_3 (5—30 cm³) + Ammoniummolybdatlösung	Reagens nach *Zinzadze* selbst hergestellt. Ungefähre Zusammensetzung: $4\ MoO_3 \cdot 1\frac{1}{2}\ Mo_2O_5$
Angewandte Mo-Konzentration	1 cm³ 0,283-m. Mo-Lösung	0,5 cm³ 0,21-m. Mo-Lösung
Konzentration des Reduktionsmittels	0,01-m. Eikonogen 1,3-m. Hydrogensulfit ca. 0,03-m. Sulfit (in 0,5 cm³)	—

Nach den weiter unten besprochenen Versuchen entsprechen unsere Resultate von Tabelle 2 der maximal erreichbaren Extinktion. Wie die Tabelle zeigt, ist dagegen bei den Versuchen von *Högl* und *Wuhrmann* die maximale Extinktion noch nicht erreicht. Die Autoren erwähnen auch in der Tat, dass bei ihren Phosphatbestimmungen die Extinktion noch im Steigen begriffen war.

Versuche zur Bestimmung der Formel des Molybdänblaukomplexes: Der Molybdänblau-Phosphatkomplex soll nach *Denigès*[2]) mit Äther extrahierbar sein und die Formel $H_3PO_4 \cdot Mo_{10}O_{28}$ besitzen. Konz. Chlorwasserstoffsäure zerstört den Komplex unter Entfärbung. Ganz ähnlich verhält sich auch der Molybdänblau-Arseniat- und der Molybdänblau-Boratkomplex. Molybdänblausulfat wurde in schwach alkalischer Lösung unter Abscheidung von Molybdän(V)-hydroxyd zersetzt. Bei Gegenwart von Kieselsäure bleibt die Abscheidung des Hydroxyds in der Kälte aus. Beim Erwärmen bildet sich eine ziemlich beständige Blaufärbung, die erst durch starkes Alkali unter Abscheidung von Molybdän(V)-hydroxyd zerstört wird. Beim Ansäuern von Molybdänblausilicat, über dessen Zusammensetzung noch keine genauen Angaben vorliegen, verschwindet die Farbe rasch.

Es ist wahrscheinlich, dass den verschiedenen Blaukomplexen dieselbe Reduktionsstufe des Molybdäns zu Grunde liegt, deren Komponenten jedoch, je nach der Natur des Zentralatoms, mit verschiedener Stärke zusammengehalten werden. Zur Prüfung der Frage haben wir das Oxydhydrat, Sulfat, Phosphat und das Arseniat des Molybdänblaus in bezug auf Färbung und Reduktionsstufe untersucht

[1]) Diss. E. T. H. (1945). [2]) C. r. **184**, 687 (1927).

und dabei die eben erwähnte Vermutung bestätigt gefunden, wie die folgenden Versuche zeigen.

Molybdänblauoxydhydrat: 50 cm³ einer gesättigten Lösung von Ammoniumparamolybdat, die mit 5 cm³ konz. Schwefelsäure angesäuert worden war, wurden in einer mattierten Platinschale als Kathode bei 70° C mit 0,4 Ampère elektrolysiert, wobei eine Platinscheibe als Anode diente[1]). Das verdampfende Wasser wurde ständig ersetzt. Beim Einschalten des Stromes färbte sich die Lösung sofort blau. Nach etwa einer Stunde konnte eine auffällige Steigerung der Viskosität der Lösung (Strukturviskosität des gebildeten Molybdänblau) beobachtet werden. Nach 2 Stunden hatte sich der grössere Teil der Molybdänverbindung als dunkelblauer Belag auf der Kathode abgeschieden. Der Strom wurde unterbrochen und nach dem Erkalten die überstehende Lösung vom Niederschlag abgegossen. Der leicht abtrennbare Niederschlag wurde durch Aufschwemmen in wenig Wasser und Absaugen auf der Glasnutsche gereinigt, wobei allerdings ein beträchtlicher Teil desselben verloren geht.

Ein passender Anteil des feuchten gewaschenen Niederschlages wurde nun in schwefelsaurer Lösung mit Permanganat titriert, um den Gehalt an Mo(V) zu ermitteln. Die fertig titrierte Lösung wurde hierauf in einem Cadmiumfilter zur Mo(III)-Stufe reduziert und durch erneute Titration mit derselben Permanganatlösung der gesamte Molybdängehalt bestimmt. Das Verhältnis des Permanganatverbrauches von der 1. und 2. Titration bestimmt nun in sehr deutlicher Weise die vorliegende Reduktionsstufe, wie die folgenden Beispiele zeigen.

Formel	Mo_3O_8	Mo_4O_{11}	Mo_5O_{14}	Mo_6O_{17}	Mo_7O_{20}
Verhältnis an verbr. $KMnO_4$	1:4,5	1:6	1:7,5	1:9	1:10,5

Drei separat hergestellte Proben von Molybdänblau ergaben bei der Titration mit Permanganat die Resultate der folgenden Tabelle:

Tabelle 3.

Nr.	cm³ $KMnO_4$ für Mo^{V}	cm³ $KMnO_4$ für ges. Mo^{III}	Verhältnis	Mittelwert
	I. Molybdänblau aus dem 1. Reduktionsversuch			
1	0,22	1,92	1:8,73	
2	0,31	2,95	1:9,51	
3	0,27	2,30	1:8,52	
4	0,41	3,70	1:9,03	1:8,95
	II. Molybdänblau aus dem 2. Reduktionsversuch			
1	0,98	8,90	1:9,10	
2	0,30	2,80	1:9,34	
3	0,33	3,15	1:9,55	
4	0,25	2,68	1:9,32	1:9,44
	III. Molybdänblau aus dem 3. Reduktionsversuch			
1	0,24	2,15	1:8,96	
2	0,19	1,70	1:8,94	
3	0,16	1,45	1:9,06	
4	0,20	1,80	1:9,00	1:8,99

Das Mittel der Mittelwerte beträgt 1:9,11.

[1]) Vgl. z. B.: *Treadwell*, Elektroanalytische Methoden, 154 (1915).

Wie man sieht, passt die erzielte Reduktionsstufe am besten auf die Formel $Mo_6O_{17} = Mo_2O_5 \cdot 4\ MoO_3$.

Die im Vakuumexsikkator getrockneten Oxydhydrate lösten sich ziemlich gut mit tiefblauer Farbe in Wasser. Aus der wässrigen Lösung liess sich das Molybdänblauoxydhydrat nicht ausäthern, wohl aber nach dem Erwärmen mit etwas Natriumphosphatlösung, wobei Phosphorsäuremolybdänblau gebildet wurde. Zusatz von Kochsalz begünstigte den Übergang in den Äther. Die wässrige Lösung des Oxydhydrates oxydierte sich langsam an der Luft. Schon nach einer Stunde war sie fast vollständig entfärbt. Seide wurde von der Lösung rasch und intensiv gefärbt, wobei der Farbstoff bis zur Erschöpfung der Lösung aufgenommen wurde.

Molekulargewichtsbestimmungen nach der *Beckmann*schen Methode ergaben die folgenden Resultate:

Konzentration der Lsg. in g Substanz/Liter	Δ	Molekulargewicht gef.
7	0,0275°	472
12	0,055°	410
11	0,0485°	427
		Mittel = 436

Ähnliche Werte (440—481) sind früher schon von *P. Marchetti*[1]) gefunden worden. Eine Lösung von 11,3 g Substanz/Liter zeigte mit der Glaselektrode einen p_H-Wert von 2,20. Mit dem obigen Wert für das Molekulargewicht beträgt die Konzentration dieser Lösung 2.6×10^{-2} m. Den zugrunde liegenden Farbkomplex nehmen wir auf Grund der weiter unten folgenden acidimetrischen Titration als einwertig an. Dann ergibt sich für die Dissoziationskonstante des Farbkomplexes $K_s = 2 \times 10^{-3}$.

Fig. 1 zeigt die konduktometrische Titration einer Lösung von 500 mg des elektrolytisch gefällten Molybdänblaus im Liter mit 0,1-n. NaOH. Für die Titration wurden Proben von je 100 cm³ verwendet.

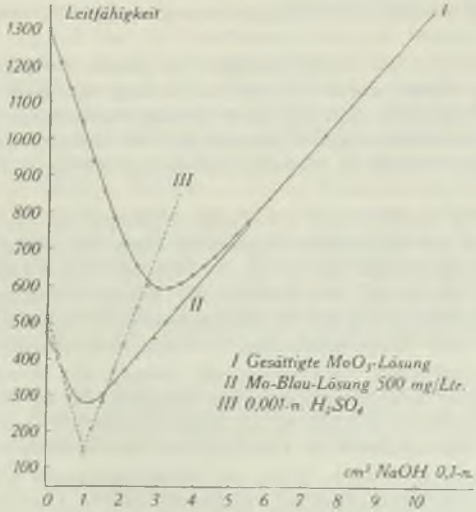


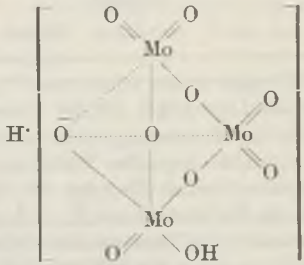
Fig. 1.

[1]) Z. anorg. Ch. **19**, 399 (1899).

Zum Vergleich wurden 100 cm³ einer gesättigten Lösung von Molybdäntrioxyd und 100 cm³ 10^{-3}-n. H_2SO_4 titriert. Diese letztere wurde so gewählt, dass sie den gleichen Laugeverbrauch wie die Lösung des Molybdänblaus zeigte.

Aus dem Vergleich der Kurven sieht man, dass das elektrolytisch gefällte Molybdänblau eine ähnliche Acidität wie die Molybdänsäure besitzt, sich dagegen sehr deutlich von der stärker sauren Schwefelsäure unterscheidet. Qualitativ konnten in dem Niederschlag keine merklichen Mengen von Schwefelsäure nachgewiesen werden. Die saure Reaktion des elektrolytisch gefällten Molybdänblaus rührt somit nicht von anhaftender Schwefelsäure, sondern von sauren Hydroxylgruppen her.

Nach dem gefundenen Molekulargewicht von 436 und den Titrationsresultaten von Fig. 1 entspricht dem elektrolytisch gefällten Molybdänblau am besten eine Zusammensetzung von 1 $H^{\cdot}$-Ion pro $\frac{1}{2}$ $Mo_2O_5 \cdot 2\,MoO_3 = 424$ g. Unter Berücksichtigung der oben erwähnten Dissoziationskonstanten von $K_s = 2 \times 10^{-3}$ würde sich allerdings nur ein scheinbares Molekulargewicht von 358 für das Monohydrat der obigen Formel ergeben, was darauf hinweist, dass der einfache Oxydkomplex teilweise in polymerisierter Form in der Lösung vorhanden ist. Bei dem Solcharakter des Oxydhydrats ist dies verständlich. Wir möchten daher für das Molybdänblauoxydhydrat die folgende Konstitutionsformel vorschlagen:



Diese Formel würde auch die tiefe Farbe des Molybdänblauoxydhydrats und seine Neigung zur Bildung eines negativen Kolloids erklären (saurer Farbstoff). Durch Dehydratation könnten daraus sehr leicht höher polymere, weniger lösliche bis unlösliche Formen gebildet werden.

Molybdänblausulfat: Durch Auflösen von reinem MoO_3 in konz. Schwefelsäure und Verdünnen mit Wasser wurde eine 0,07-m. Lösung von Molybdänschwefelsäure in Schwefelsäure 1 : 3 hergestellt. Ein Teil dieser Lösung wurde einige Male durch einen ca. 10 cm hohen Cadmiumreduktor laufen gelassen und der Reduktionsgrad durch Titration mit 0,1-n. Permanganat bestimmt. Es wurde meistens eine 98-proz. Reduktion zu Mo(III) erreicht.

Nun wurden die Mo(III)- und die Mo(VI)-Lösungen bei immer gleich bleibender Gesamtkonzentration des Molybdäns so gemischt, dass die verschiedenen Proben eine mittlere Valenz des Molybdäns von 5, 5,1, 5,2, 5,3 usw. bis 6 aufwiesen, da innerhalb dieser Grenzen das Maximum der Blaufärbung vermutet wurde. Die entstandenen, tief blau gefärbten Lösungen wurden im Stufenphotometer unter Verwendung des Gelbfilters Hg 578 und einer Mikrocuvette von < 1 mm Schichtdicke kolorimetriert.

Schon bei geringfügiger Verdünnung der Lösung mit Wasser verschwindet die Blaufärbung sehr rasch infolge hydrolytischer Spaltung. Es ist daher unerlässlich, die Bestimmung der Extinktion der Lösung bei genau konstanter Gesamtkonzentration des Molybdäns und der Schwefelsäure im Lösungsmittel durchzuführen.

In Fig. 2 sind die gefundenen Werte der Extinktion gegen die mittlere Wertigkeit des Molybdänsulfatgemisches graphisch dargestellt. Kurve 1 zeigt die Extinktion unmittelbar nach der Mischung. Der stufenweise Anstieg in der Entwicklung des Blaus weist offenbar darauf hin, dass die Bildung in zwei deutlich getrennten Reaktionsstufen erfolgt. Wird der stationäre Endzustand der Reaktion abgewartet, so erhält man den

Kurventyp II. Auch in diesem Falle liegt das Maximum der Extinktion in dem engen Wertigkeitsbereich von Mo(5,67)—Mo(5,7). Es zeigt sich also, dass auch im Molybdänblausulfat dieselbe Reduktionsstufe des Molybdats vorliegt wie bei dem elektrolytisch gefällten Oxydhydrat.

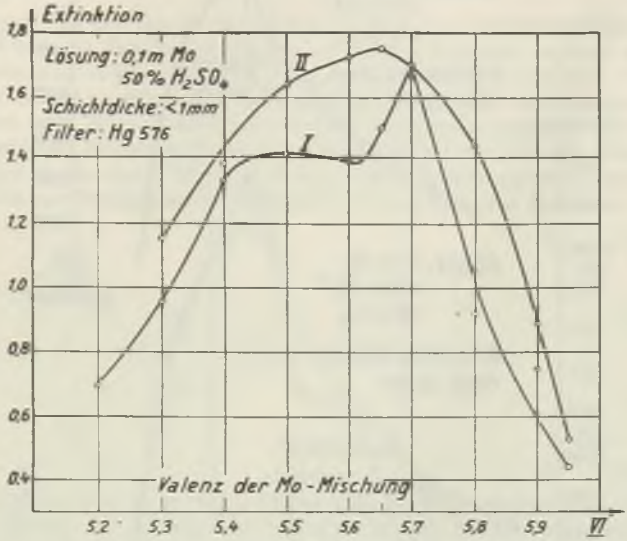


Fig. 2.

Molybdänblauphosphat: Wie bei den vorhergehenden Versuchen wurde eine 0,2-m. Lösung von Molybdäntrioxyd in Schwefelsäure 1 : 3 hergestellt und ein separater Anteil desselben in einem Cadmiumreduktor zur Mo(III)-Stufe reduziert. In Messkolben von 50 cm³ wurde durch Mischung gemessener Anteile der beiden Lösungen eine Reihe hergestellt, welche bei konstanter Gesamtmenge des Molybdäns mittlere Wertigkeiten desselben von 5, 5,1, 5,2, 5,3 usw. bis 6 aufwiesen. Mit einer bestimmten Menge Wasser wurden diese Lösungen bis zur Entfärbung verdünnt. Dann wurde allen Mischungen zur Entwicklung der Blaufärbung dieselbe Menge Phosphat zugefügt und die Kolben zur Marke aufgefüllt. Die Phosphatmenge wurde so bemessen, dass das Molybdat in grossem Überschuss vorhanden war. Zur Entwicklung der Blaufärbung wurden die Proben 1 Std. im siedenden Wasserbad gehalten und dann 24 resp. 50 Stunden später kolorimetriert. Zwei Versuchsreihen mit 0,001-m. Phosphat und einer Gesamtkonzentration des Molybdäns von 0,01-m. sind in Fig. 3 dargestellt. Bei einer Valenz der Molybdänlösung von 5,68 erscheint in den Lösungen, welche 50 Stunden gestanden hatten, ein ausgeprägtes Maximum der Extinktion. Die Extinktionswerte nach 24-stündigem Stehen der Lösung sind als gestrichelte Kurve eingezeichnet und lassen wiederum die Entwicklung der Farbe in zwei getrennten Reaktionsstufen mit annähernd gleich grossen Zunahmen der Extinktion erkennen. Das Maximum erscheint bei derselben Valenzstufe des Molybdäns [Mo(5,67)] wie zuvor.

Im untern Teil von Fig. 3 ist eine analoge Versuchsreihe dargestellt, bei welcher ein doppelt so grosser Zusatz an Phosphat verwendet worden ist. Es wurde hierbei ein ganz analoger Reaktionsverlauf der Blaufärbung beobachtet, mit dem Maximum der Extinktion bei Mo(5,67).

Wird der Zusatz des Phosphats weiter gesteigert, so verschiebt sich schliesslich das Maximum der Extinktion nach kleineren Wertigkeitsstufen der Molybdänmischung. wie aus dem Beispiel in Fig. 4 zu ersehen ist. Diese Verschiebung hängt offenbar mit der Bildung merklicher Mengen von Mo(V)-phosphat zusammen, welche an der Erzeugung des Molybdänblaus nicht teilnehmen.

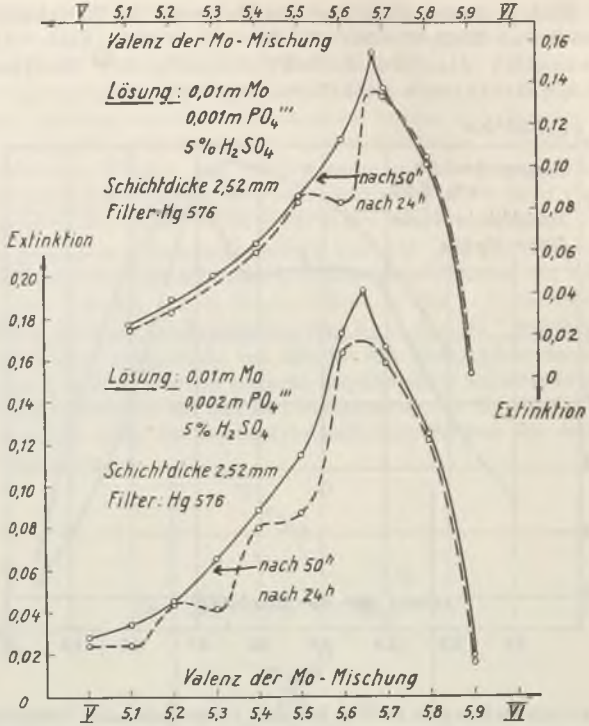


Fig. 3.

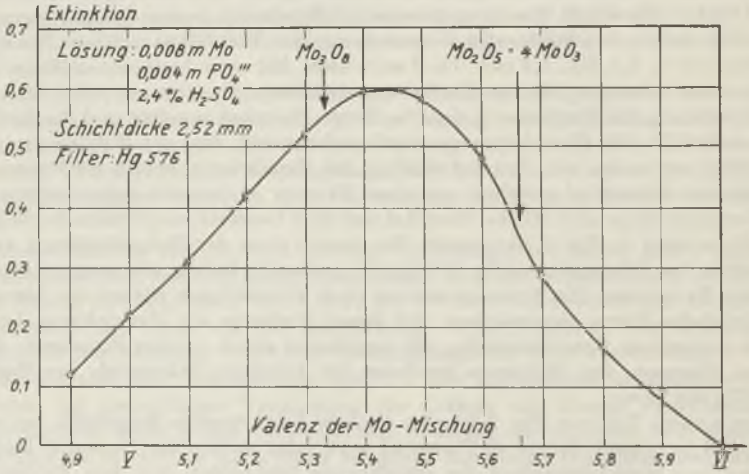
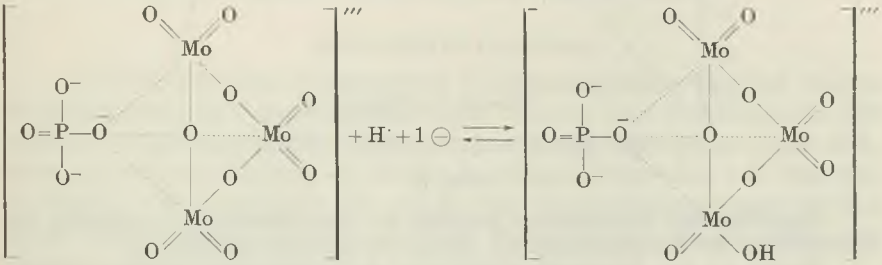


Fig. 4.

Orientierende Versuche über den zeitlichen Verlauf der Farbentwicklung von Molybdänblauphosphat bei 30, 40 und 50° C und optimaler mittlerer Wertigkeit des angewandten Molybdänsulfats [Mo(5,67)] zeigten einen anfänglichen raschen Anstieg während 5—8 Stunden, dann folgte eine langsame Annäherung an den stationären End-

wert, der je nach der Temperatur nach 6—24 Stunden erreicht worden ist. Bei diesen Versuchen mit der optimalen Wertigkeit des Molybdängemisches konnte die in Fig. 3 angedeutete stufenweise Entwicklung nicht beobachtet werden. Es ist vorgesehen, die Kinetik der Blaubildung mit verbesserten experimentellen Mitteln noch genauer zu untersuchen.

Geht man von der optimalen mittleren Valenz der Molybdänsulfatmischung von 5,67 aus und versetzt dieselbe mit steigenden Mengen Phosphat, so beobachtet man einen steilen Anstieg der Blaufärbung bis zum Verhältnis Mo : PO_4 = 12 : 1 was offenbar darauf hinweist, dass das Molybdänblauphosphat aus Phosphormolybdänsäure gebildet wird. Bei weiterer Steigerung der Phosphatmenge bleibt die Blaufärbung über einen grösseren Bereich konstant und nimmt schliesslich wieder ab. Die farbtragende Gruppe scheint durchwegs ½ $Mo_2O_5 \cdot 2\ MoO_3$ zu sein. Die Bildung derselben erfolgt offenbar sehr leicht aus Phosphormolybdänsäure nach der folgenden Reaktion:



Zur Vereinfachung ist in obiger Strukturformel die Entstehung der farbtragenden Gruppe aus $(MoO_3)_4$ nur an einem der 4 Sauerstoffatome der Phosphorsäure angegeben. Hiernach entsteht die farbtragende Gruppe aus dem MoO_3-Komplex durch die Aufnahme von einem Proton und einem Elektron. Über eine relativ niedrige Potentialschwelle kann das aufgenommene Proton an jedes der drei Molybdänatome übergehen und bewirkt dadurch die starke Extinktion. Durch die Reduktion der Phosphormolybdänsäure zum Phosphormolybdänblau muss die Polarität der komplexen Säure abnehmen, wodurch die Löslichkeit in Äther begünstigt wird.

Die obige Gleichung lässt erwarten, dass Phosphormolybdänsäure bereits durch Mo(V)-sulfat in Molybdänblauphosphorsäure übergeführt werden kann, infolge des Energiegewinns durch die komplexe Bindung des Mo(V).

Die Stabilität der Molybdänphosphorsäure erklärt die leichte Bildung des Molybdänblauphosphats auch in hochverdünnten Lösungen. Im Gegensatz dazu kann das Molybdänblausulfat nur in starker Schwefelsäure bestehen, weil die Existenz einer stabilen Molybdänschwefelsäure fehlt, welche die Voraussetzung für eine stabile Molybdänblauschwefelsäure sein müsste.

Molybdänblauarseniat: Wie die Phosphorsäure, so vermag auch die Arsensäure ein stabiles Molybdänblau zu bilden, das unter ganz analogen Versuchsbedingungen wie das Molybdänblauphosphat entsteht. Auch hier erscheint das Maximum der Extinktion bei einer mittleren Wertigkeit des Molybdänsulfatgemisches von Mo = 5,67, wie aus Fig. 5 zu ersehen ist. Wie von der Phosphorsäure, wird auch von steigenden Mengen Arsensäure das Maximum der Blaufärbung schliesslich nach der Mo(V)-Seite verschoben infolge der Blockierung von Mo(V) durch den Überschuss des Arseniations. In einem Gemisch von Mo(VI) : H_3AsO_4 = 1 : 1 erschien das Maximum der Extinktion, welches stets mit dem Hg-Filter 578 bestimmt wurde, bei einer Wertigkeitsstufe des Molybdäns von 5,3.

Wurden steigende Mengen von Phosphat resp. Arseniat nach der Arbeitsweise von *Zinzadze* mit 0,2 cm^3 vom weiter oben beschriebenen Molybdänblauschwefelsäurereagens versetzt und die im Wasserbad entwickelten Blaufärbungen nach dem Erkalten verglichen, so ergab sich für die molaren Extinktionswerte das folgende Verhältnis:

$$E_{Mol}\ (PO_4) : E_{Mol}\ (AsO_4) = 4{,}646 : 4{,}830$$

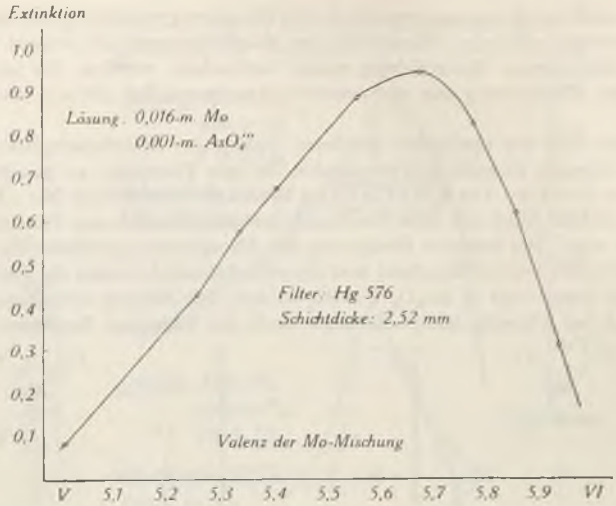


Fig. 5.

Gegenüber dem Arsensäureblau erscheint das Phosphorsäureblau grünstichig. Mit der Aufnahme der Absorptionsspektren werden wir uns noch beschäftigen.

Ähnlich wie mit Phosphat lässt sich auch mit Pyrophosphat ein entsprechendes Molybdänblau entwickeln. Bezogen auf die angewandte Phosphormenge zeigt es mit dem Hg-Filter 578 praktisch die gleiche Extinktion wie das Phosphorsäureblau. Über die Frage, ob dieses Blau aus PO_4-Ionen oder P_2O_7-Ionen aufgebaut ist, werden vielleicht die Adsorptionsspektren einige Anhaltspunkte liefern können.

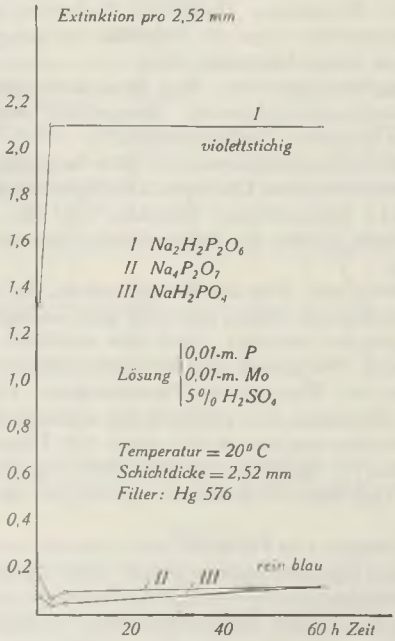


Fig. 6.

Ein violettstichiges Molybdänblau von noch grösserer Extinktion als mit den oben erwähnten Anionen wurde mit Natriumsubphosphat in schwefelsaurer Lösung erhalten. Mit diesem Anion bildet sich das Molybdänblau schon sehr rasch in der Kälte. Einen Vergleich der Bildungsgeschwindigkeiten der Molybdänblauverbindungen von Ortho-, Pyro- und Unterphosphorsäure zeigt Fig. 6. Bei diesen Versuchen wurde 0,01-m. Molybdänsulfat von der optimalen Wertigkeit (Mo = 5,67) in 5-proz. Schwefelsäure mit der gleichen molaren Konzentration an Phosphor, geliefert von den Natriumsalzen von Ortho-, Pyro- und Unterphosphorsäure, versetzt und die zeitliche Entwicklung der Färbung mit Benützung des Filters Hg 578 verfolgt. Entgegen der üblichen Entwicklungsmethode wurden die Lösungen in diesem Falle nicht erwärmt, sondern nur bei Zimmertemperatur stehen gelassen, um die grosse Bildungsgeschwindigkeit des Molybdänblausubphosphats zu zeigen.

Eine Molybdänblauperchlorsäure konnte nicht erhalten werden.

Zusammenfassung.

1. Elektrolytisch hergestelltes Molybdänblauoxydhydrat wurde oxydimetrisch und konduktometrisch titriert. Der Gefrierpunkt der sulfatfreien Lösung wurde bestimmt. Aus diesen Messungen ergab sich, dass die wässrige Lösung des Molybdänblauoxydhydrats 1 $H^{\cdot}$-Ion pro $\frac{1}{2}$ $Mo_2O_5 \cdot 2\ MoO_3$ enthält. Es wurde eine Konstitutionsformel für das Blau vorgeschlagen, welche die tiefe Färbung und die Tendenz zur Bildung eines negativen Sols verständlich macht.

2. Durch kolorimetrische Messungen konnte gezeigt werden, dass das Sulfat, Phosphat und Arseniat des Molybdänblaus mit maximaler Farbstärke entstehen, wenn das zur Bildung verwendete Molybdänsulfat die mittlere Wertigkeitsstufe von 5,67 besitzt.

3. Versetzt man eine gegebene Menge von Molybdänsulfat der optimalen Wertigkeitsstufe [Mo(5,67)] mit steigenden Mengen von Phosphorsäure, so beobachtet man eine Zunahme der Farbstärke des resultierenden Blaus, bis 1 PO_4:12 Mo erreicht ist. Maximale Farbstärke wird also erzielt, wenn zur Bildung des Blaus auf 1 PO_4 4 Mo(V) + 8 Mo(VI) verwendet werden.

Auf Grund dieser Befunde wurde eine Konstitutionsformel für das Molybdänblauphosphat vorgeschlagen.

4. Bezogen auf die angewandte Menge Phosphorsäure wurde die stärkste Farbvertiefung mit Subphosphat erhalten, wobei auch die Bildung des Blaus mit dieser Säure weitaus am schnellsten erfolgte.

Den HH. *K. Ryffel*, *J. Maciak*, *G. Baumgartner* und *J. Murdzinsky*, welche uns bei der Ausführung der analytischen Bestimmungen und der mehrfachen Kontrolle derselben unterstützt haben, möchten wir hier für ihre Mitwirkung bestens danken.

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

99. Untersuchungen über stereoisomere Salze des Leucin-methylesters

von K. Weil und Werner Kuhn.

(13. IV. 46)

1. Einleitung.

In einer Arbeit über den optischen Reinheitsgrad von Leucin in natürlichen Eiweißstoffen wurde eine Methode beschrieben[1]), um kleine Mengen des seltenen Antipoden neben grossen Mengen des natürlichen Antipoden von Leucin in Substanz nachzuweisen. Die Methode beruht darauf, dass *d*(−)-Leucin-methylester, also der seltene Antipode, mit der negativ drehenden Dioxy-dinaphtyl-dicarbonsäure ein sehr schwer lösliches Salz bildet, während das Salz von *l*(+)-Leucin-methylester mit derselben Säure extrem leicht löslich ist.

Es wurde darauf hingewiesen, dass für den Nachweis des seltenen Antipoden an Stelle der Dioxy-dinaphtyl-dicarbonsäure jede andere optisch aktive Säure verwendet werden könnte, wenn sie nur mit den beiden Antipoden des Leucin-methylesters diastereomere Salze mit genügend verschiedenen Eigenschaften bildet.

Es wurde ebenso darauf hingewiesen, dass es ein Vorteil sein würde, aus dem zu untersuchenden Leucin-methylester zunächst die Hauptmenge des natürlichen Antipoden herauszunehmen, weil damit der Nachweis des seltenen Antipoden, welcher sich im Rückstande anreichert, erleichtert würde.

Man erkennt dabei, dass für die Entfernung der Hauptmenge des natürlichen Antipoden auch die Bildung eines Salzes mit einer optisch inaktiven Säure in Frage kommen kann und dass sich die Entfernung dann besonders einfach gestaltet, wenn die inaktive Säure mit den beiden Antipoden des Leucin-methylesters enantiomorphe Salze (also keine Racematkrystalle) bildet. In diesem Falle muss sich nämlich aus der das Estersalz enthaltenden Lösung so lange ausschliesslich das Salz des häufigen Antipoden ausscheiden, bis die zurückbleibende Lösung in bezug auf den Leucin-methylester racemisch geworden ist. Dadurch kann die relative Konzentration des seltenen Antipoden von beispielsweise 0,5% auf 50% heraufgesetzt werden. Kommt es zwischen der inaktiven Säure und dem teilweise aktiven Leucin-methylester zur Bildung echter Racematkrystalle, so führt die Krystallisation des Salzgemisches ebenfalls zu einer gewissen, aber nicht zu einer so weitgehenden relativen Anreicherung des seltenen Antipoden (siehe unten).

[1]) *K. Weil* und *W. Kuhn*, Helv. **27**, 1648 (1944), im folgenden als l. c. I bezeichnet.

Die Hinweise zeigen, dass es für einen Ausbau des Nachweises der seltenen Antipoden in Leucin-methylester und ähnlichen Verbindungen von Wichtigkeit ist, die Eigenschaften der diastereomeren Salze, welche der Leucinester sowohl mit inaktiven als auch mit aktiven Säuren bildet, genauer zu studieren. Über das Ergebnis solcher Versuche soll nachstehend berichtet werden.

2. Methodisches über die Messung der Löslichkeit; Darstellung des *l*(+)-Leucin-methylesters.

a) Bestimmung der Löslichkeiten.

Zur Bestimmung der l. c. I angegebenen und auch der weiter unten mitgeteilten Löslichkeiten wurden die betreffenden rein dargestellten Salze mit dem Lösungsmittel in Flaschen mit eingeschliffenen Stopfen gebracht und unter steter Bewegung bis zu 10 Tagen im Thermostaten belassen. Das Gleichgewicht wurde sowohl von höherer als von tieferer Temperatur ausgehend eingestellt. Nach passender Zeit wurde der Glasstopfen durch einen doppelt durchbohrten Gummistopfen ersetzt; in die eine Bohrung war ein bis in die gesättigte Lösung reichendes Glasrohr eingesetzt, dessen in die Lösung tauchendes Ende durch eine Glasfritte abgeschlossen war; die andere Bohrung trug ein kurzes, oberhalb des Flüssigkeitsniveaus endigendes Glasrohr. Durch Einblasen von Luft in dieses kürzere Rohr konnte der Druck erhöht und ein Teil der gesättigten Lösung durch das Glasfrittenfilter in ein gewogenes Wägeglas hinübergepresst werden. Die Bestimmung des Gehaltes an Gelöstem geschieht in üblicher Weise durch Abdunsten des Lösungsmittels und Wägung des Rückstandes.

b) Darstellung des Leucinesters.

Der für die Versuche verwendete aktive und racemische Leucin-methylester wurde aus aktivem bzw. racemischem Leucin durch Verestern mit Methylalkohol und Salzsäure in bekannter Weise dargestellt. Da es sich, insbesondere beim aktiven Ester, um die Gewinnung eines reinen Präparates unter Vermeidung auch nur spurenweiser Racemisierung handelt, sei die Darstellung für den Fall des aktiven Esters kurz angegeben:

30 g *l*-Leucin (Drehungsvermögen in Wasser: $[\alpha]_D^{25} = -10{,}0^0$ in 2,27-proz. Lösung) werden in 150 cm³ absolutem Methylalkohol gelöst, worauf HCl bis zur Sättigung eingeleitet wird. Die Lösung wird darauf während einer halben Stunde auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt, der Alkohol anschliessend im Vakuum abdestilliert, wobei als Rückstand das Hydrochlorid des Leucinesters als feste weisse Krystallmasse erstarrt. Der Schmelzpunkt liegt bei 147° C (korr.). Das Esterhydrochlorid wird in 50 cm³ Wasser gelöst, die Lösung unter guter Kühlung mit 50-proz. Pottaschelösung alkalisch gemacht und sofort mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wird getrocknet, der Äther abdestilliert und der zurückbleibende Leucin-methylester im Vakuum destilliert.

Eigenschaften von *l*(+)-Leucin-methylester.

Siedepunkt: 47° C bei 3 mm Hg; 58° C bei 5 mm Hg; 80° C bei 12 mm Hg. Daten betreffend Dichte, Brechungsindex und Drehungsvermögen in Substanz sind in nachstehender Tabelle 1 zusammengestellt.

Die Daten stehen in Übereinstimmung mit Literaturangaben[1]), nach welchen $\varrho^{17} = 0{,}9533$ und $[\alpha]_D^{17} = 16{,}52$ sein soll.

Die mitgeteilten Werte für das Drehungsvermögen wurden stets wieder gefunden, z. B. auch dann, wenn der Ester aus dem mit Sicherheit optisch sehr reinen Salz mit (+)-Dioxy-dinaphtyl-dicarbonsäure freigesetzt wurde. Die Zahlen können daher als die Werte des optisch reinen *l*(+)-Leucin-methylesters angesehen werden.

[1]) *E. Abderhalden*, Z. physiol. Ch. **107**, 5 (1919).

BIBLIOTEKA POLITECHNIKI

Tabelle 1.
Dichte, Brechungsindex und Drehungsvermögen von Leucin-methylester

t °C	α_D (l = 1 dm) Dichte	n_D	$[\alpha]_D$
13°	0,9575	1,4327	
15°	0,9555	1,4319	
17°	0,9533		16,5°
18°	0,9524	1,4307	
20°	0,9504	1,4299	
23°	0,9465		15,3°
25°	0,9452	1,4279	
28°	0,9421	1,4267	
30°		1,4259	
40°		1,4218	

Im Zusammenhang mit den im folgenden zu bringenden Feststellungen über Bildung von echten Racematen oder äquimolekularen Gemischen monomerer Antipoden der gelösten Salze sind einige Angaben über das Mol.-Gewicht von Leucin-methylester in Lösung von Interesse:

Durch Bestimmung der Siedepunktserhöhung wurde festgestellt, dass der racemische Ester in Methylalkohol sowie in Äther völlig in *d*- und *l*-Ester dissoziiert ist.

3. Salze des Leucin-methylesters mit optisch inaktiven Säuren.

Das Kriterium dafür, ob das Salz einer aktiven Base mit einer inaktiven Säure im festen Zustande ein echtes Racemat oder ein Gemisch enantiomorpher Krystalle des *d*-Salzes und des *l*-Salzes ist, wurde bereits von *Pasteur* am berühmten Beispiel des Natriumammoniumtartrates geklärt.

In vielen Fällen, aber nicht immer, können wir schon aus den Löslichkeiten allein Rückschlüsse auf die Existenz oder Nichtexistenz von stabilen Racematkrystallen ziehen.

Insbesondere können wir bei Lösungsmitteln, in welchen keine elektrolytische Dissoziation eintritt, immer dann mit Sicherheit auf Racematkrystalle als stabile Bodenkörper schliessen, wenn die Löslichkeit des Racemates kleiner ist als das Doppelte der Löslichkeit der *d*-Krystalle bzw. der *l*-Krystalle für sich.

Ist die Löslichkeit des Racemates in einem solchen (elektrolytisch nicht dissoziierenden) Lösungsmittel gleich der doppelten Löslichkeit der *d*- bzw. *l*-Krystalle, so wird man dann den Schluss ziehen können, dass der Bodenkörper aus einem Gemisch enantiomorpher Krystalle besteht, wenn die in dem Salze enthaltene, optisch inaktive Komponente einwertig ist und wenn eine Dimerisation von Salzmolekeln in Lösung als ausgeschlossen betrachtet werden kann.

Wir wollen die komplizierteren Fälle, in welchen keine Schlüsse aus dem Vergleich der Löslichkeiten möglich sind, vorläufig nicht besprechen und werden auf einzelne Bemerkungen anlässlich der Mitteilung von Versuchsergebnissen zurückkommen.

a) Salze der Pikrinsäure.

Darstellung: Lösen der Pikrinsäure in warmem Benzol und Zutropfen äquimolekularer Mengen von *l*(+)-Leucinester bzw. von *d,l*-Leucinester; der ausfallende Niederschlag wird mit Benzol gewaschen. Beim Umkrystallisieren bleibt der (unten angegebene) Schmelzpunkt ungeändert. In allen Fällen besteht das auskrystallisierte Salz stöchiometrisch aus 1 Mol Ester und 1 Mol Pikrinsäure.

Eigenschaften:

1. Pikrat von *l*(+)-Leucinester: Smp. 136—137° C (nicht korr.). Löslichkeit in Benzol bei t= 29,1°—29,5° C: 0,13 ± 0,02 g Pikrat in 100 g Benzol.

2. Pikrat von *d,l*-Leucinester: Smp. 126° (nicht korr.). Löslichkeit in Benzol bei 29,1°—29,5° C: 0,15 ± 0,01 g in 100 g Benzol.

Folgerungen:

Racemischer Leucinester bildet mit Pikrinsäure echte Racematkrystalle (bestehend aus je 1 Mol *d*- und 1 Mol *l*-Ester, sowie 2 Mol Pikrinsäure).

Machen wir die wahrscheinlich richtige Voraussetzung, dass die gesättigten Lösungen praktisch genommen aus monomer gelösten Pikratmolekeln (*l*-Pikrat, *d*-Pikrat bzw. Gemischen monomerer Pikrate) bestehen, so folgt aus der Löslichkeit des Racemates (0,15 g in 100 g Lösung) für beliebige Lösungen, welche das Racemat als Bodenkörper enthalten, ein Löslichkeitsprodukt[1])

$$L = C_{lL,P} \cdot C_{dL,P} = \left(\frac{0,15}{2}\right)^2 \cdot \left(\frac{10}{M_{[L,P]}}\right)^2 \cdot \varrho_B^2 \qquad (1)$$

wobei $C_{lL,P}$ die Konzentration an [*l*(−)L,P] in Mol pro Liter, $M_{[L,P]}$ das Molekulargewicht von Leucin-methylester-pikrat (374,3), ϱ_B die Dichte von Benzol bei der Versuchstemperatur = 0,865 ist. Andererseits folgt aus der Löslichkeit von [*l*(+)-L,P] (gleich 0,13 g in 100 g Lösung) für beliebige Lösungen, welche das Pikrat von *l*(+)-Leucinmethylester (Abkürzung [*l*(+)-L,P]) als Bodenkörper enthalten:

$$C_{lL,P} = 0,13 \frac{10}{M_{[L,P]}} \varrho_B \qquad (2)$$

---

[1]) Es ist nämlich die (nach Voraussetzung sehr kleine, d. h. analytisch nicht ins Gewicht fallende) Konzentration an Racematmolekeln $C_{d,lL,P}$ nach dem Massenwirkungsgesetz allgemein gleich

$$C_{d,lL,P} = K \cdot C_{lL,P} \cdot C_{dL,P}$$

wenn K die Gleichgewichtskonstante für die Bildung der Racematmolekel aus den Komponenten bedeutet. Sind Racematkrystalle als Bodenkörper vorhanden, so muss $C_{d,lL,P}$ einen für die Temperatur und das vorgegebene Lösungsmittel bestimmten konstanten Wert haben, etwa den Wert C_0. Das in Gleichung (1) definierte Löslichkeitsprodukt L ist dann gleich der Konstante C_0, geteilt durch K.

Lösungen, welche sowohl das Racemat als auch das aktive Salz [l(+)L,P] als Bodenkörper enthalten, müssen die Bedingungen (1) und (2) gleichzeitig erfüllen. Für sie gilt infolgedessen

$$C_{d\,L,P} = \frac{L}{C_{l\,L,P}} = \left(\frac{0{,}15}{2}\right)^2 \left(\frac{10\,\varrho_B}{M_{[L,P]}}\right)^2 \cdot \frac{M_{[L,P]}}{10\,\varrho_B}\,\frac{1}{0{,}13}$$

oder für den Gehalt der Lösung an [d(+)L,P] in 100 g Lösung:

$$p_{d\,L,P} = \left(\frac{0{,}15}{2}\right)^2 \left(\frac{10\,\varrho_B}{M_{[L,P]}}\right)^2 \frac{M_{[L,P]}}{10\,\varrho_B}\,\frac{1}{0{,}13}\,\frac{M_{[L,P]}}{10\,\varrho_B} = \left(\frac{0{,}15}{2}\right)^2 \frac{1}{0{,}13} = 0{,}043\ g$$

pro 100 g Lösung, entsprechend 0,017 g d(−)-Leucin-methylester in 100 g Lösung. Wenn daher 1 g l(+)-Leucin-methylester mit einem Gehalt von 1%, also mit 0,01 g an seltenem Antipoden gegeben ist, so müsste dieser Ester in etwa 50 g Benzol gelöst und dann mit Pikrinsäure (1,58 g) neutralisiert werden, damit bei der anschliessenden Krystallisation des Pikrates das Löslichkeitsprodukt des Racemkörpers nicht unterschritten und der seltene Antipode quantitativ in Lösung gehalten wird. Die Mutterlauge von den aus der Lösung sich ausscheidenden Krystallen [lL,P] würde, wie angegeben, 0,13 g [lL,P] neben 0,043 g [dL,P] enthalten, so dass also die relative Häufigkeit des seltenen Antipoden (ohne Verlust an Substanz des seltenen Antipoden) von 1/100 auf 0,043/0,13 = 1/3 heraufgesetzt würde.

b) Saure Salze der Oxalsäure.

Darstellung durch Zusammengeben der berechneten Menge von Leucin-methylester mit Oxalsäure in Methylalkohol; Umkrystallisieren unter Kontrolle des Schmelzpunktes, welcher konstant bleibt.

1. Saures Oxalat von l(+)-Leucin-methylester; Abkürzung: [l(+)L; Ox]. Smp. 180° C. Spezifische Drehung in Methylalkohol: $[\alpha]_D^{28} = 21{,}5°$ in 0,5-proz. Lösung. Löslichkeit in Methylalkohol etwa 2,2 g in 100 g Lösung bei 15° C und 1,7 g in 100 g Lösung bei 28° C.

2. Saures Oxalat von d,l-Leucin-methylester; Abkürzung: [d,lL; Ox_2], Smp. 169° C. Löslichkeit in Methylalkohol etwa 2,1 g in 100 g Lösung bei 15° C und 1,5 g in 100 g Lösung bei 28° C.

Die Löslichkeitsbestimmungen sind mühsam und nicht genau, da die Einstellung des Lösungsgleichgewichts viel Zeit erfordert. Aus diesem Grunde kommt auch eine praktische Anwendung dieser Salze kaum in Frage.

Da das Racemat eine Löslichkeit besitzt, welche sicher kleiner ist als das Doppelte der Löslichkeit von [l(+)L; Ox], müssen als Bodenkörper des Racemates echte Racematkrystalle vorliegen.

c) Neutrale Salze mit Oxalsäure.

Darstellung wie bei b).

1. Neutrales Oxalat von l(+)-Leucin-methylester; Abkürzung [l(+)L_2; Ox]. Smp. 161° C; Löslichkeit in Methylalkohol etwa 6,5 g in 100 g Lösung bei 15° C.

2. Neutrales Oxalat von d,l-Leucin-methylester; Abkürzung [d,lL; Ox]. Smp. 162° C. Löslichkeit in Methylalkohol etwa 5,4 g bei 15° C.

Auch hier erfolgt die Einstellung des Lösungsgleichgewichtes sehr langsam. Aus den Löslichkeiten ergibt sich ebenso wie bei b) der Schluss, dass der Bodenkörper der racemischen Lösung ein echtes Racemat ist; derselbe Schluss ergibt sich hier auch daraus, dass die Krystalle des Racemates einen (um 1°) höheren Schmelzpunkt als die Krystalle des aktiven neutralen Oxalates besitzen.

d) Salze mit 2,4-Dinitrobenzoesäure und p-Nitrobenzoesäure.

Die Eigenschaften sind zur groben Orientierung in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt. In allen Fällen erforderte die Einstellung des Lösungsgleichgewichtes sehr viel Zeit, so dass diese Salze für die Durchführung von Trennungen nicht gut brauchbar sind.

Säure	Base	Schmelzpunkt	Temperatur	g gelöst in 100 g Lösungsmittel	Lösungsmittel
2,4-Dinitrobenzoesäure	*l*(+)Leucinmethylester	143°C	28,5°	2,5	Essigsäureäthylester
2,4- ,,	*d,l*- ,,	137°C	28,5°	2,4	,,
p-Nitrobenzoesäure	*l*(+) ,,	145°C	28,5°	2,7	,,
p- ,,	*d,l*- ,,	142°C	28,5°	3,2	,,

Auf Grund dieser nur orientierenden Messungen dürften in allen Fällen als Bodenkörper der racemischen Lösungen echte Racematkrystalle vorliegen.

e) Hydrochloride von Leucin-methylester.

Die Hydrochloride von aktivem und racemischen Leucin-methylester zeigen, insbesondere in ätherischer Lösung, bemerkenswerte Unterschiede. In beiden Fällen kann man die Hydrochloride erhalten, indem man Salzsäuregas in die trockene ätherische Lösung des Esters einleitet, oder noch besser, indem man die ätherische Lösung des Esters mit einer vorher titrierten ätherischen HCl-Lösung neutralisiert.

I. Das Hydrochlorid von *l*(+)-Leucin-methylester.

Es krystallisiert aus der ätherischen Lösung sofort und praktisch genommen quantitativ aus. Smp. 147° C (korr.). Spezifische Drehung in Methylalkohol: $[\alpha]_D^{26} = 20{,}85$ in 4,47-proz. Lösung. Chlorgehalt in 0,1548 g Substanz gefunden: 0,0310 g; berechnet: 0,0318 g.

Das Hydrochlorid des aktiven Leucin-methylesters ist in der Literatur bereits beschrieben und existiert nach *Takahashi*[1]) in zwei Modofikationen, einer α-Modifikation mit dem Smp. 118° C, welche unterhalb 77,5° beständig ist, und einer oberhalb 77,5°, beständigen β-Modifikation vom Smp. 148°. Aus der ätherischen Lösung bei Zimmertemperatur erhalten wir offenbar (nach der vorhin gemachten Angabe) die bei dieser Temperatur metastabile β-Modifikation.

Nachstehend einige Angaben über die Löslichkeit der β-Form des Hydrochlorids von *l*(+)-Leucin-methylester in Äther. Die Löslichkeit hängt vom HCl-Gehalt des Äthers ab und beträgt bei 16,9—17,4° C:

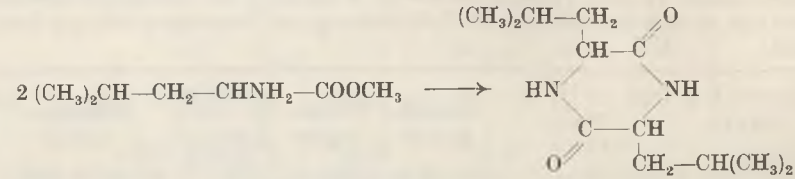
in Äther ohne HCl-Überschuss	0,12 g in 1000 cm³ Lösung
in Äther mit 0,9 Mol HCl pro Liter	0,73 g in 1000 cm³ Lösung
in Äther mit 2,76 Mol HCl pro Liter	2,10 g in 1000 cm³ Lösung

II. Hydrochlorid von racemischem Leucin-methylester.

Es fällt ebenfalls aus der ätherischen Lösung aus und muss sofort von der Mutterlauge befreit werden, da es sich sonst wieder auflöst (unter Bildung von Diketo-piperazin; vgl. unten). Smp. 113—114° (korr.). Chlorgehalt in 0,2183 g: gefunden 0,0425 g, berechnet 0,0426 g.

[1]) *G. Takahashi* und *T. Yaginuma*, Proc. Imp. Acad. Tokio **6**, 75—77 (1930).

Die Löslichkeit des racemischen Hydrochlorides in Äther konnte nicht bestimmt werden, da sowohl in der neutralen wie insbesondere in der salzsäurehaltigen ätherischen Lösung eine Umwandlung des racemischen Esters bzw. des Hydrochlorids in racemisches 2,5-Di-isobutyl-3,6-diaci-piperazin stattfindet:



Dass diese Reaktion stattfindet, geht beispielsweise aus nachstehendem Versuch hervor: 0,1950 g *d,l*-Leucin-methylester werden in 50 cm³ Äther, welche 1,635 g HCl gelöst enthalten, aufgelöst. HCl ist dabei in grossem Überschuss vorhanden, da für die Neutralisation des Esters nur 0,048 g HCl notwendig sind. Eine Ausscheidung von Esterhydrochlorid findet nicht statt; dagegen beobachtet man nach etwa 2—3-wöchigem Stehen eine Ausscheidung schöner Krystalle, welche mit Äther gewaschen und anschliessend bei 110° getrocknet werden und die sich auf Grund ihres Chlorgehaltes als reines Diaci-piperazin-monohydrochlorid identifizieren lassen. (In 0,2130 g Subst. werden gefunden 0,0355 g Cl; berechnet 0,0335 g.) Durch Zufügen der berechneten Menge von $KOCH_3$ in Methylalkohol kann die Substanz von HCl befreit werden. Man erhält dann das racemische 2,5-Di-isobutyl-3,6-diaci-piperazin vom Smp. 273° (korr.), das sich mit dem auf anderm Wege zu gewinnenden rac. Diaci-piperazin als identisch erweist.

Zum Vergleich sei ein mit aktivem Leucin-methylester durchgeführter analoger Versuch erwähnt: 0,1 g *l*(+)-Leucinesterhydrochlorid werden in 100 cm³ 2,7-n. ätherischer HCl-Lösung während 24 Std. geschüttelt. Die Krystalle zeigen nach ihrer Rückgewinnung einen Schmelzpunkt von 142° C (korr.); d. h. sie erweisen sich als praktisch reines, unverändertes Esterhydrochlorid.

Es sei noch erwähnt, dass die auffällige Bildung von Diketo-piperazin aus racemischem Esterhydrochlorid nur in ätherischer, nicht aber in methylalkoholischer Lösung auftritt. Methylalkoholische Lösungen des Esterhydrochlorids können mit oder ohne überschüssige Salzsäure aufbewahrt oder erwärmt werden, ohne dass Diketopiperazinbildung eintreten würde.

Das dem aktiven Leucin-methylester ensprechende Diketo-piperazin bildet sich also in salzsaurer oder neutraler ätherischer Lösung nur langsam. Dabei ist das aktive Diketo-piperazin wohlbekannt und bildet sich z. B., wenn der aktive Ester in Substanz längere Zeit bei Zimmertemperatur aufbewahrt wird.

Smp. 263—264° (korr.). Drehungsvermögen in Methylalkohol: $[\alpha]_D^{25} = -40{,}08°$ in 0,70-proz. Lösung. Nach Literaturangaben[1]) ist das Drehungsvermögen in Eisessig $[\alpha]_D^{20} = -42{,}9°$ in 8,1-proz. Lösung.

Einige weitere Versuche mit Mischungen von viel aktivem mit wenig racemischem Leucin-methylesterhydrochlorid zeigen, dass die Bildung des racemischen Diketo-piperazins ausserordentlich rasch vor sich geht, und zwar auch dann, wenn man sich bemüht, einen Überschuss an Salzsäure in der ätherischen Lösung des Esterhydrochlorids zu vermeiden:

---

[1]) *E. Abderhalden* und *C. Funk*, Z. physiol. Ch. **53**, 30 (1907).

Löst man beispielsweise 1 g *l*(+)-Leucin-methylester und 0,038 g *d,l*-Leucin-methylester in 20 cm³ Äther und versetzt die Lösung unter Umrühren und Kühlen tropfenweise mit 5,14 cm³ einer 1,35-n. ätherischen HCl-Lösung, so bleibt die Lösung alkalisch, indem nur 1,0 g Ester durch die angegebene Salzsäuremenge neutralisiert werden. Wird hierauf rasch vom ausgeschiedenen aktiven Esterhydrochlorid abfiltriert, der Äther durch Abdunsten aus der Mutterlauge entfernt und der Rückstand mit Methylalkohol aufgenommen, so lässt sich in der erhaltenen Lösung mit Hilfe von linksdrehender Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure keine Spur von *d*(−)-Leucinester nachweisen; dagegen findet man reichlich racemisches Diketo-piperazin, sowie *l*(+)-Leucin-methylester, welcher mit Hilfe von positiv drehender Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure nachgewiesen werden kann.

Die Versuche liefern ein ähnliches Ergebnis, wenn der in der ätherischen Lösung vorhandene Ester völlig mit Salzsäure neutralisiert oder mit einem Überschuss an Salzsäure versetzt wird: Aus einer den aktiven Ester neben einer kleinen Racematmenge des Esters enthaltenden Lösung krystallisiert beim Versetzen mit ätherischer Salzsäure stets das aktive Hydrochlorid rasch und schmelzpunktsrein aus, während sich der dem Racemat entsprechende Anteil in kürzester Zeit in das Diketo-piperazin umwandelt und gelöst bleibt. Es ist wahrscheinlich, dass sich dieser Unterschied im Reaktionsverhalten von aktivem und racemischem Ester zu einem Nachweis kleiner Racematmengen neben grossen Mengen des aktiven Esters benützen lässt.

f) Salze mit Citronensäure.

Zur Orientierung sei mitgeteilt, dass Versuche angestellt wurden, durch Zusammengeben der Komponenten in ätherischer und in methylalkoholischer Lösung Salze von Leucin-methylester mit Citronensäure herzustellen. Auch bei Anwendung verschiedener Mengenverhältnisse konnte innerhalb eines Monats im Eisschrank keinerlei Krystallisation eines neutralen oder sauren Citrates beobachtet werden.

g) Salze mit o-Nitrobenzoesäure

Auch zwischen o-Nitrobenzoesäure und Leucin-methylester konnte innert eines Monats weder aus CH_3OH noch aus Chloroform noch aus Äther die Bildung eines krystallisierten Salzes beobachtet werden.

h) Salz mit Bernsteinsäure.

Krystallisierte neutrale Salze werden durch Zusammengeben der Komponenten in siedendem Essigester und nachfolgendes Abkühlen der Lösung erhalten. Neutrales Salz des aktiven Leucin-methylesters mit Bernsteinsäure: Smp. 85—88° korr. Salz des racemischen Leucin-methylesters mit Bernsteinsäure: Smp. 75° korr.

3. Salze des Leucin-methylesters mit optisch aktiven Säuren.

Als erstes Beispiel wurde untersucht das System

a) Leucin-methylester-Mandelsäure.

Für die Darstellung der racemischen Mandelsäure durch Cyanhydrinsynthese sei auf die Literatur verwiesen[1]), ebenso für die Spaltung der racemischen Mandelsäure in

[1]) Organic Synthesis Bd. 1, S. 329 (1932).

die Antipoden[1]) mit Hilfe von α-Phenäthylamin[2]). Der Smp. der verwendeten racemischen Mandelsäure war 118° C, der Smp. der aktiven Mandelsäure 133° korr. Das Drehungsvermögen der verwendeten $l(+)$-Mandelsäure in Wasser war $[\alpha]_D^{26} = +163 \pm 1^0$ in 1,3-proz. Lösung; das Drehungsvermögen der d-Mandelsäure in Wasser: $[\alpha]_D = -155 \pm 2^0$ in 1,05-proz. Lösung. Der beste in der Literatur angegebene Wert ist: $[\alpha]_D^{20} = -157{,}6^0 \pm 0{,}6^0$ für 7,2-proz. Lösung in Wasser[3]).

Als Bodenkörper können beim Zusammengeben der Antipoden von Mandelsäure und Leucinester in Frage kommen:

1. Salz von $d(-)$-Mandelsäure mit $l(+)$Leucin-methylester, Abkürzung: $[d(-)M;\ l(+)L]$ und dessen Spiegelbild $[l(+)M;\ d(-)L]$.

2. Salz der $l(+)$-Mandelsäure mit $l(+)$-Leucin-methylester, Abkürzung: $[l(+)M;\ l(+)L]$, bzw. dessen Spiegelbild $[d(-)M;\ d(-)L]$.

3. Racematkrystalle, Abkürzung: $[d(-)M;\ l(+)M;\ d(-)L;\ l(+)L$.

Ausserdem wäre die Bildung von Halbracematen wie $[d(-)M;\ l(+)M;\ d(-)L;\ d(-)L]$ usw. möglich. Die unter 1 bis 3 genannten Salze wurden durch Zusammengeben der Komponenten in ätherischer Lösung hergestellt; vergleiche das bei der Darstellung der Pikrate Gesagte.

Eigenschaften:

1. Das Salz $[d(-)M;\ l(+)L]$: Smp. 105° C (unkorr.). Löslichkeit in Benzol bei 29,3° C: 0,95 g in 100 g Benzol. Aus Symmetriegründen gelten dieselben Zahlen auch für das Spiegelbild $[l(+)M;\ d(-)L]$.

Eine Bestimmung des Molekulargewichts in Benzollösung durch Messung der Siedepunktserhöhung zeigt, dass dieses Salz in Benzol zu Doppelmolekeln assoziiert ist.

2. Das Salz $[l(+)M;\ l(+)L]$. Smp. 126° C (korr.). Löslichkeit in Benzol bei 29,3° C: 0,14 g in 100 g Benzol. Aus Symmetriegründen gelten dieselben Zahlen auch für das Spiegelbild $[d(-)M;\ d(-)L]$.

3. Das Totalracemat. Smp. 126° unkorr. Löslichkeit in Benzol bei 29,3° C: 0,14 g in 100 g Benzol.

Es folgt aus diesen Zahlen mit Sicherheit die Existenz von totalracemischen Krystallen in der Racematlösung; wäre nämlich der Bodenkörper in der totalracemischen Lösung ein Gemisch gleicher Mengen der enantiomorphen Krystalle $[l(+)M,\ l(+)L]$ und $[d(-)M,\ d(-)L]$ (was analytisch ebenfalls ein totales Racemat wäre), so müssten sich in 100 g Lösungsmittel mindestens je 0,14 g $[l(+)M;\ l(+)L]$ und $[d(-)M, d(-)]L$, zusammen also mindestens 0,28 g racemisches Salz auflösen.

Ein Gemisch gleicher Mengen von $[d(-)M;\ l(+)L]$ und $[l(+)M;\ d(-)L]$, welches ebenfalls analytisch ein totales Racemat wäre, muss von vornherein als Bodenkörper ausser Betracht fallen, weil dann der Gehalt der gesättigten Lösung mindestens $2 \times 0{,}95 = 1{,}90$ g in 100 g Benzol sein müsste; eine solche Lösung wäre sowohl gegenüber dem Gemisch von $[l(+)M,\ l(+)L]$ und $[d(-)M;\ d(-)L]$ als Bodenkörper als auch gegenüber den Racematkrystallen metastabil.

---

[1]) *L. Smith*, J. pr. [2] **84**, 743 (1911); *A. H. Ingersoll, S. H. Babock* und *S. B. Burns*, Am. Soc. **55**, 411 (1933).

[2]) *Loven*, J. pr. [2] **72**, 5305 (1905); *Ingersoll*, Am. Soc. **47**, 1168 (1925).

[3]) *J. Walker*, Z. physikal. Ch. **46**, 31 (1903).

Eine Frage, welche sich auf Grund dieser Löslichkeitsangaben wenigstens teilweise beantworten lässt, betrifft die Möglichkeit eines unmittelbaren Nachweises kleiner Mengen von *d*(−)-Leucinester neben grösseren Mengen von *l*(+)-Leucinester durch Neutralisierung des Estergemisches in Benzollösung mit *d*(−)-Mandelsäure. Man sieht sofort, dass sich in der Lösung die beiden Salze [*d*(−)M, *l*(+)L] mit der Löslichkeit 0,95 und [*d*(−)M, *d*(−)L] mit der Löslichkeit 0,14 bilden werden. Daneben können in Lösung noch Doppelmolekel von der Zusammensetzung [*d*(−)M, *l*(+)L; *d*(−)M, *d*(−)L] entstehen, ohne dass es zu einer Ausscheidung des entsprechenden Bodenkörpers kommt. Bei Vernachlässigung des Einflusses dieser Mischmolekel auf die Löslichkeiten können wir die Frage beantworten, wie gross der Relativgehalt des Leucinesters am seltenen Antipoden [*d*(−)L] sein muss, damit bei Anwendung der geeigneten Lösungsmittelmenge der seltene Antipode als (−)-mandelsaures Salz ausfällt, ohne dass eine gleichzeitige Ausscheidung des häufigen Antipoden erfolgt.

Da sich auf 100 g Benzol 0,95 g des häufigen Salzes und 0,14 g des Salzes des seltenen Antipoden lösen, sieht man sofort, dass der seltene Antipode allein ausfällt, falls auf 0,95 g des häufigen mehr als 0,14 g des seltenen Antipoden oder auf die Gesamtmenge von 0,95 + 0,14 = 1,09 g an Leucin-methylester mehr als 0,14 g des seltenen Antipoden kommen; d. h. es muss der seltene Antipode im vorgelegten Leucin mit mehr als 12,8% vertreten sein, wenn ein direkter Nachweis des seltenen Antipoden im Gemisch in Frage kommen soll.

Die Genauigkeit ist, wie man sieht, für einen direkten Nachweis des seltenen Antipoden im allgemeinen nicht ausreichend. Von Wichtigkeit war es deshalb, dass die entsprechende Grenze bei Verwendung von Dinaphtyl-dioxyd-dicarbonsäure bei etwa 0,5% liegt.

Andererseits sehen wir auf Grund der angegebenen Löslichkeiten, dass wir aus einem Gemisch, welches beispielsweise 99% *l*(+)-Leucin-methylester neben 1% *d*(−)-Ester enthält, mit Hilfe des positiv drehenden Antipoden der Mandelsäure den häufigen Antipoden des Esters weitgehend entfernen können, ohne eine Spur des nachzuweisenden seltenen Antipoden aus der Lösung zu entfernen. Der ursprünglich seltene Antipode muss sich also durch Ausfällung des ursprünglich häufigeren Antipoden ganz wesentlich konzentrieren lassen.

Bei den geschilderten vereinfachenden Annahmen würde sich die relative Konzentration des ursprünglich seltenen Antipoden von z. B. 1% *d*(−)-Ester ohne Verlust auf 87,2% bringen lassen.

Es ist klar, dass nach einer solchen Konzentrierung der direkte Nachweis des ursprünglich seltenen Antipoden etwa mit Hilfe von Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure besonders einfach sein wird. Hierzu sei allerdings bemerkt, dass sich selbstverständlich bei der angedeuteten Beseitigung des ursprünglich häufigen Antipoden in der zurückbleibenden Lösung mit dem gesuchten seltenen Antipoden auch alle in der ursprünglichen Substanz vorhandenen Verunreinigungen (Isomere usw.) anreichern; die Erfassung des seltenen Antipoden durch eine Drehungsmessung der in Lösung gebliebenen Substanz würde dann eine unsichere Sache sein. Der Nachweis durch Isolierung eines wohldefinierten Salzes, etwa mit Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure, wird weiterhin notwendig sein.

b) p-Methyl-mandelsäure und Atrolactinsäure.

Orientierende Versuche wurden auch über die Salzbildung zwischen den genannten Säuren und Leucin-methylester ausgeführt. Man erhält aus Benzollösung gut krystallisierende Salze, deren Löslichkeitsverhältnisse ähnlich wie bei den Salzen mit Mandelsäure zu liegen scheinen.

In Wasser zeigen alle diese Salze, auch die der Mandelsäure mit Leucin-methylester, eine sehr hohe Löslichkeit, so dass Umsetzungen in wässriger Lösung für die Trennung oder den Nachweis von Diastereomeren kaum in Frage kommen.

c) Weinsäure.

d-Weinsäure gibt mit *l*(+)-Leucin-methylester ein aus Methylalkohol gut krystallisierendes Salz vom Smp. 152° unkorr. Seine Löslichkeit ist 10,35 g in 100 g Methylalkohol bei 15,3° C.

d) Salze mit 6,6′-Dinitro-diphensäure.

Betreffend die Darstellung von 6,6′-Dinitro-diphensäure darf auf die Literatur verwiesen[1]) werden, ebenso betreffend der Spaltung des Racemates mit Hilfe von (+) und (−)α-Phenäthylamin[1]).

Das Racemat besitzt einen Smp. von 259° (unkorr.), in Übereinstimmung mit den Angaben der Literatur (l. c.).

Der rechtsdrehende Antipode zeigt einen Smp. von 229° (korr.) und ein Drehungsvermögen in Methylalkohol $[\alpha]_D^{25} = 135°$ in 1,5-proz. Lösung. Der in der Literatur[1]) angegebene Drehwert ist (ebenfalls für Methylalkohol als Lösungsmittel): $[\alpha]_D^{20} = 127°$ in 4-proz. Lösung.

Der linksdrehende Antipode besitzt denselben Smp. von 229° (korr.) und ein Drehungsvermögen in Methylalkohol $[\alpha]_D^{24} = -134°$ in 1,6-proz. Lösung.

Betreffend optische Absorption und Rotationsdispersion von Dinitro-diphensäure siehe eine kürzlich erschienene Arbeit[2]).

1. Der negativ drehende Antipode der Dinitro-diphensäure gibt mit *l*(+)-Leucin-methylester ein gut krystallisiertes neutrales Salz; Abkürzung

$$\begin{bmatrix} l(+)\mathrm{L} \\ l(+)\mathrm{L} \end{bmatrix} - \mathrm{D}$$

Es wird durch Zusammengeben der Komponenten im stöchiometrischen Verhältnis aus Benzollösung oder auch gleich gut aus Aceton oder Essigsäure-äthylester erhalten. Beispiel: 0,288 g [−D] und 0,25 g [*l*(+)L] in 30 cm³ Benzol. Smp. 105—106° (unkorr.). Dieselben Eigenschaften besitzt aus Symmetriegründen das Spiegelbild:

$$\begin{bmatrix} d(-)\mathrm{L} \\ d(-)\mathrm{L} \end{bmatrix} + \mathrm{D}$$

Smp. 105—106° (unkorr.).

2. Der positiv drehende Antipode der Dinitro-diphensäure gibt mit [*l*(+)L] ein Salz, welches sehr löslich ist und aus keinem der genannten Lösungsmittel krystallin erhalten werden konnte. Abkürzung:

$$\begin{bmatrix} l(+)\mathrm{L} \\ l(+)\mathrm{L} \end{bmatrix} + \mathrm{D}$$

nicht krystallisierbar, nur löslich. Dieselben Eigenschaften besitzt aus Symmetriegründen das Spiegelbild:

$$\begin{bmatrix} d(-)\mathrm{L} \\ d(-)\mathrm{L} \end{bmatrix} - \mathrm{D}$$

---

[1]) *Ingersoll Little*, Am. Soc. **56**, 2124 (1934), und *Stoughton Adams*, Am. Soc. **54**, 4426 (1932).

[2]) *R. Rometsch* und *W. Kuhn*, Helv. **27**, 1080 (1944).

3. Positiv drehender $l(+)$-Leucin-methylester und racemische Dinitro-diphensäure. Beim Zusammengeben der Komponenten in benzolischer Lösung (Beispiel 1,15 g $[d,l-\mathrm{D}]$ mit 1,0 g $[l(+)\mathrm{L}]$ in 150 cm³ warmem Benzol) entsteht ein gelbbrauner Niederschlag (0,9 g), welcher mit Benzol gewaschen und im Vakuum getrocknet wird. Smp. 162° unkorr. Die Dinitro-diphensäure, welche aus dieser Substanz durch Freisetzen mit Salzsäure erhalten wird, erweist sich als racemische Dinitro-diphensäure. Man sieht, dass offenbar beim Zusammengeben von $[l(+)\mathrm{L}]$ mit $[d,l\,\mathrm{D}]$ nicht, wie es an sich möglich wäre, das schwerlösliche gut krystallisierende

$$\begin{bmatrix} l(+)\mathrm{L} \\ l(+)\mathrm{L} \end{bmatrix} - \mathrm{D}$$

sondern ein offenbar noch schwerer lösliches Halbracemat von der wahrscheinlichen Zusammensetzung

$$\begin{bmatrix} l(+)\mathrm{L} \\ l(+)\mathrm{L} \\ l(+)\mathrm{L} \\ l(+)\mathrm{L} \end{bmatrix} \begin{matrix} -\mathrm{D} \\ \\ +\mathrm{D} \end{matrix} \quad \text{ausfällt.}$$

4. Ähnliche Verhältnisse traten beim Zusammengeben von positiv drehender Dinitro-diphensäure mit racemischem Leucinester auf. Dieses Auftreten von Halbracematen und die zum Teil erheblichen Krystallisationsverzögerungen gestalten die Verhältnisse, wenn auch interessant, so doch kompliziert.

Da die Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure in ihrem Verhalten zu den Antipoden des Leucin-methylesters grössere Einfachheit neben ebenso ausgeprägter stereochemischer Spezifität besitzt, ist sie zum Nachweis des seltenen Antipoden in Leucin-methylester besser als die Dinitro-diphensäure geeignet. Überhaupt zeigt die Übersicht, dass keine der untersuchten Säuren bei der Salzbildung mit Leucin-methylester eine solche Einfachheit und ausgeprägte stereochemische Spezifität besitzt, wie die l. c. I. beschriebene Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure. Die letztere Verbindung ist daher für den Nachweis des seltenen Antipoden in Leucinpräparaten besser geeignet als alle andern bisher untersuchten Verbindungen.

Die Salze des Leucinesters mit den im vorstehenden beschriebenen weiteren Säuren haben daher vorläufig nur theoretisches Interesse, wenn es auch, wie angedeutet, möglich ist, sie praktisch zur Eliminierung der in grosser Menge vorkommenden häufigen Antipoden und damit zur indirekten Anreicherung der seltenen Antipoden heranziehen.

Zusammenfassung.

Es werden die Eigenschaften, insbesondere die Löslichkeiten diastereomerer Salze von $d(-)$- und von $l(+)$-Leucin-methylester mit optisch inaktiven sowie mit optisch aktiven Säuren untersucht. Aus solchen Löslichkeitsbestimmungen lassen sich Schlüsse ziehen auf die Verwendbarkeit der einzelnen Säuren für die Eliminierung des im natürlichen Leucin in grosser Menge vorhandenen häufigen und damit für eine Anreicherung des seltenen Antipoden.

Der Vergleich der Löslichkeiten von diastereomeren Salzen ergibt in mehreren Fällen Aussagen über das Vorliegen von echten Racematen oder von Konglomeraten als Bodenkörper in racemischen Salzlösungen.

Untersucht wurden die Salze des Leucinesters mit folgenden Säuren:

a) Inaktive Säuren: Pikrinsäure, Oxalsäure, 2,4-Dinitrobenzoesäure, p-Nitrobenzoesäure, Salzsäure, Citronensäure, o-Nitrobenzoesäure, Bernsteinsäure.

b) Aktive Säuren: Mandelsäure, p-Methyl-mandelsäure, Atrolactinsäure, Weinsäure, 6,6′-Dinitro-diphensäure.

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

Basel, Physikalisch-Chemisches Institut der Universität.

---

100. Paul Ruggli

1884—1945.

(13. VI. 46.)

Paul Ruggli kam am 26. Februar 1884 in Montevideo zur Welt, seine Eltern waren Bürger von Hauptwil im Thurgau. Sein Vater war in Montevideo in der pharmazeutischen Industrie tätig. Nach seinem frühen Tode zog die Mutter mit dem kleinen Paul nach Wiesbaden. Dort durchlief er das Gymnasium und erhielt 1903 das Reifezeugnis als primus inter omnes.

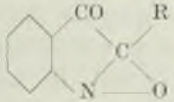
Schon in jener Schulzeit zeigten sich seine uns so wohlbekannten Charaktereigenschaften; er war ein ernster, stiller Schüler, der es mit seinen Pflichten genau nahm. Und nun kam das Studium. Welchem Berufe sollte er sich zuwenden? Wie er uns erzählte, schwankte er zwischen Theologie, Musik und Chemie. Obgleich seinem Herzen Musik am nächsten lag, entsagte er ihr, weil er fürchtete, sie könne zu kurz kommen.

Er wählte nun das Studium der Chemie und der Weg führte ihn zuerst nach München, wo *Baeyer* noch das Szepter führte, und von dort nach Leipzig, wo er 1908 das Doktorexamen ablegte, magna cum laude. Der Titel seiner Dissertation, die er unter der Leitung von Professor *Hantzsch* ausführte, lautet: „Zur Konstitution der Trithio-cyanursäure und der Thio-oxanilide“. In Leipzig knüpften sich auch die engen Freundschaftsbande mit Dr. *Wiegner* an, dem späteren Professor an der E. T. H., die bis zu dessen Tode dauern sollten.

Nach dem Doktorexamen reiste Ruggli nach Montevideo zurück. Vom Schweizer Militärdienst war er befreit, weil er bei der Musterung als untauglich befunden worden war. In Argentinien trat er 1909 in dieselbe chemische Fabrik ein, in der schon sein Vater gearbeitet hatte. Er traf aber dort derartig unangenehme Arbeitsverhältnisse an (Ausnützung der Arbeiter), dass er bald nach Europa zurückkehrte, vor allem um sich wissenschaftlich weiter auszubilden. Zuerst finden wir ihn bei *Willstätter* in Zürich als dessen Assistenten; dann aber entschloss er sich, in Strassburg bei Professor *Thiele* zu arbeiten. 1912 wurde er dort Unterrichtsassistent, zunächst in der anorganischen, dann in der organischen Abteilung. Er behielt diese Tätigkeit sechs Jahre bei; 1913 habilitierte er sich als Privatdozent.

Die erste Arbeit im Strassburger Laboratorium wurde von ihm unter der Leitung des grossen Experimentators *Thiele* ausgeführt: Reduktionsversuche mit ungesättigten Ketonen und die Bildung von Indenderivaten (1912). Im gleichen Jahre erschien von ihm eine Broschüre in *Ahrens*' Sammlung (Verlag Enke) über „Die Valenzhypothese von *J. Stark* vom chemischen Standpunkt". Eine weitere Arbeit aus dem Strassburger Institut beschreibt die Synthese eines zweifach kondensierten Indols. Hier begegnen wir einer Untersuchung, die massgebend für die Zukunft wurde, nämlich der Darstellung von heterocyclischen Verbindungen. Ruggli ist diesem Arbeitsgebiete bis zuletzt treu geblieben[1]). Nahe hängt mit dieser Arbeit zusammen die Darstellung eines 12-gliedrigen Ringes mit dreifacher Bindung aus o,o'-Diamidotolan. Ruggli hat in dieser elegant und sauber durchgeführten Untersuchung zum ersten Male die jetzt häufig zitierte Methodik des Arbeitens in sehr verdünnten Lösungen angewendet.

Bald darauf beginnt die Reihe der Arbeiten über Isatogene; schon die zweite Abhandlung entstammt dem Basler Laboratorium. Ruggli hat in mehreren Veröffentlichungen das interessante Kapitel der Isatogene ausführlich bearbeitet, die dort herrschenden Isomerie-Verhältnisse und Umlagerungen, zum Beispiel der Isatogensäure, eingehend studiert, mit *A. Bolliger*, *W. Leonhard* u. a. Er hat bei dieser Gelegenheit eine zweite Form des Isatogens aufgefunden:



Nicht umsonst war er bei einem fruchtbaren Experimentierkünstler in die Lehre gegangen, der Einfluss von *Thiele* war zweifellos von

[1]) Interessant ist, dass Ruggli hier schon ein Beispiel dafür fand, dass die dreifache Bindung weniger ungesättigt reagiert als die Doppelbindung. Dies wurde später durch die Untersuchungen an optisch aktiven Körpern im Basler Laboratorium bestätigt. B. **50**, 885 (1917).

grosser Bedeutung für sein Schaffen; denn in der Beherrschung der experimentellen Methoden rückte er immer mehr zur Meisterschaft heran.

Unterdessen trat eine grosse Veränderung in seinem Leben ein. Nach Beendigung des ersten Weltkrieges zog er nach Basel, wo er sich 1919 habilitierte. Während des vorletzten Kriegsjahres 1917 konnte im Basler Universitätslaboratorium dank einem grossen Geschenk der Firma vorm. *Sandoz* ein Laboratorium für Färberei und Zeugdruck eingerichtet werden. Dr. Ruggli erklärte sich bereit, die Leitung dieses Institutes zu übernehmen, hatte aber vorher noch — auf Wunsch von Professor *Rupe* — einen praktischen Kurs über Färberei und Zeugdruck in der Musterfärberei der Gesellschaft für chemische Industrie durchzumachen, um mit dieser Materie näher vertraut zu werden. Er hat die Leitung dieses Laboratoriums bis zu seinem Tode beibehalten. Diese Tätigkeit führte ihn auf eines seiner Hauptforschungsgebiete, auf die Arbeiten über Farbstoffe einerseits und über Färberei anderseits. Es waren besonders die Azofarbstoffe, die sein Interesse von Anfang an in Anspruch nahmen. Diese und ihre Zwischenprodukte bilden den Inhalt von 31 Mitteilungen in den Helvetica chimica acta. Eng damit zusammen hängen die Untersuchungen über das Verhalten der Farbstoffe beim Färben, über das Aufziehen von sauren Wollfarbstoffen und von substantiven Baumwollfarbstoffen. Bei dieser Gelegenheit wurden auch (mit *A. Fischli*) die analytischen Methoden zur Bestimmung von Farbstoffen in Flotten kritisch studiert.

Einen grösseren Raum nehmen jetzt die schon oben erwähnten Untersuchungen über die Isatogene ein. Zumeist zusammen mit *A. Bolliger* durchgeführt, zeichnen sich auch diese Arbeiten durch vorzügliche experimentelle Durchdringung aus. Die Konstitution dieser Körper, die Umlagerungen der Isomeren, ihre Überführung in Isatine, ihre Additionsprodukte usw., dann die Isatogene der Anthrachinonreihe gaben Anlass zu sieben Publikationen.

Hatte sich der Forscher gleich am Anfang seiner Tätigkeit für Acetylenderivate interessiert, so kommt er bald darauf zurück in wiederum sieben Publikationen über diese Materie.

Paul Ruggli war auch Mitglied der Sektion Schweiz des internationalen Vereins der Chemiker-Koloristen geworden, und zwar ein sehr eifriges und tätiges Mitglied. Er hatte Gelegenheit, im Schosse dieser Gesellschaft häufig über seine Arbeiten vorzutragen.

1925 erscheint sein vorzügliches Buch: Praktikum der Färberei und Farbstoffanalyse (Verlag Bergmann, München). Er hatte es speziell für seine Studenten und Praktikanten im Färbereilaboratorium verfasst und es erfreute sich dort grosser Beliebtheit. Er hat sich grosse Mühe gegeben, sich in das ihm vorher nur wenig

bekannte Gebiet einzuarbeiten. Er studierte gründlich Kolloidchemie und verwandte Fächer, so dass er mit Erfolg neben dem Praktikum Vorlesungen über verschiedene Teile der Chemie, der Färberei und des Zeugdruckes halten konnte. Dazu kam das Kolleg über die Chemie der Teerfarbstoffe, das regelmässig von ihm gelesen wurde. Auch historisch hat er sich betätigt; für den Festband der Verhandlungen der Basler Naturforschenden Gesellschaft im Jahre 1927 verfasste er eine Geschichte der Färberei.

Paul Ruggli verheiratete sich 1913 mit Fräulein *Anette Blume*, mit der er sich 1912 in Rom verlobt hatte. Er hatte sich in Basel zusammen mit seiner Gemahlin bald gut eingelebt. Sie schenkte ihm einen Sohn, der jetzt Dr. med. in Amerika ist.

Die vielseitige, fruchtbare Tätigkeit des Verstorbenen blieb den Behörden nicht verborgen. Schon im Mai 1922 wurde er auf Vorschlag der Fakultät zum ausserordentlichen Professor ernannt mit einem Lehrauftrag für Farbstoffchemie, Färberei, Zeugdruck und verwandte Gebiete. Zu den übrigen Fächern, über die er vortrug, gehörten Vorlesungen über Kohlehydrate, Heterocyclen, Alkaloide, Anthracenderivate, Textilchemie, und, als er Ordinarius geworden war, das grosse Winterkolleg über allgemeine organische Chemie. Im Rahmen der Basler Volkshochschulkurse behandelte er die anorganische und die organische Chemie.

Die Vielseitigkeit Rugglis ist höchst bemerkenswert, aber niemals tritt bei ihm irgend eine Oberflächlichkeit zutage. Wenn er im Laboratorium seine Schüler und Doktoranden besuchte, so war man immer wieder erstaunt darüber, in welch hohem Masse er die experimentelle Technik seiner Zeit übersah und beherrschte. Er hielt auf sehr exaktes Arbeiten und liess keine Nachlässigkeit durch. Er verlangte auch, dass seine Schüler die für ihre Arbeiten in Betracht kommende Literatur gründlich studierten.

In die Zeit, da unser Kollege Extraordinarius wurde, fallen seine ersten Arbeiten über Anthracenderivate. Den Anfang bildet eine Untersuchung über die Darstellung von zwei strukturisomeren o-Nitroaldehyden, dann über Methyl-anthrachinone und Derivate des Anthraflavons. Es sei hier noch erwähnt, dass zu seinen Farbstoffarbeiten auch eine mit seinem Kollegen Professor *Bürki* ausgeführte Messung von Absorptionsspektren von ortho-Disazofarbstoffen und den ihnen isomeren para-Verbindungen gehört.

Es sind dann besonders zwei grössere Gebiete, welche fortlaufend neben diesen mit zahlreichen Schülern bearbeitet werden: die Stilben- und Styrylverbindungen in ihrem Zusammenhang mit Isatogenen, Indoxyl- und Oxindol-derivaten.

Ein sehr interessantes, bisher etwas vernachlässigtes Gebiet wurde dazwischen von Ruggli und Mitarbeitern behandelt: das der

Acetylenderivate. Trichloräthylen wurde ein viel gebrauchtes Ausgangsmaterial. Er veröffentlichte seine Arbeiten über Farbstoffe nicht nur in den Helvetica chimica acta, sondern auch in *Melliand*'s Textilberichten. Es ist ja selbstverständlich, dass der Verstorbene ein eifriges und höchst tätiges Mitglied der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft wurde. Während seines verhältnismässig kurzen Lebens in der Schweiz hat er die Ergebnisse seiner mühevollen Arbeiten in über 150 in den Helvetica chimica acta erschienenen Abhandlungen niedergelegt.

Im Jahre 1938/39 war Professor *Berthoud* (Neuchâtel) Präsident der Schweiz. chem. Gesellschaft; er starb plötzlich 1939. Da musste Professor Ruggli als damaliger Vizepräsident seine Befugnisse sogleich übernehmen und war dann Präsident in den Jahren 1940 bis 1941. Er hatte während seiner Amtsführung unter anderm eine wichtige Revision der Statuten zu überwachen, was in vorzüglicher, präziser Weise geschah.

Unserer Zeitschrift hat er in ausgezeichneter Weise seine Dienste gewidmet; er amtete als deutscher Sekretär von 1929 bis 1938.

Als im Jahre 1924 die Basler Chemische Gesellschaft endlich gegründet werden konnte[1]), war Ruggli von Anfang an ein sehr tätiges Mitglied; er war mehrere Male ihr Präsident. Er war ein ausgezeichneter Diskussionsredner; selten kam es vor, dass er zu einem Vortrag nicht das Wort ergriff. Als in den ersten Jahren der Basler Chemischen Gesellschaft in den Sitzungen noch kleinere Vorträge und Mitteilungen gebracht wurden, hat er sich immer und gerne daran beteiligt.

Die Arbeiten Rugglis und seiner Schüler über Stickstoffheterocyclen gingen in den dreissiger Jahren und anfangs der vierziger Jahre stets ruhig weiter. Sie bezweckten in erster Linie den Aufbau von Ringsystemen unter Verwendung von meist sehr interessanten Ausgangsmaterialien. So wurden Diamino- und Triamino-isophtalaldehyde und Phtalaldehyde, Kondensation von o-Nitrobenzaldehyd mit Phenyl-nitromethan, Synthesen mit p-Phenylen-diglyoxal, mit 4,5-Dinitro-1,3-dichlorbenzol ausgeführt. Dann erschienen fortlaufend die Arbeiten über Benzodipyridin-Derivate. Im Jahre seines Todes hatte die Anzahl der Veröffentlichungen über Stickstoffheterocyclen die Zahl 54 erreicht; die letzte Arbeit auf diesem Gebiet war die mit *Emil Girod* ausgeführte: Eine neue Synthese des 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolins (Benzodipicolins) und hydrierter Derivate, Helv. **27**, 1464 (1944).

---

[1]) Das geschah erst so spät, weil dies unmöglich war, so lange Dr. *T. Sandmeyer* in Basel tätig war; er fürchtete sich vor Indiskretionen.

P. Ruggli

Unterdessen aber arbeitete er auch über Farbstoffe und ihre Anwendung weiter und gelangte zu immer neuen interessanten Erfolgen. Es waren besonders die Beziehungen zwischen der Konstitution und der Substantivität der Farbstoffe, die das Interesse unseres Forschers in Anspruch nahmen, sowie die Darstellung neuer Küpenfarbstoffe. Doch mussten diese Untersuchungen in den letzten Jahren hinter diejenigen zurücktreten, welche den Synthesen neuer Stickstoffheterocyclen galten. Zu den letzten Arbeiten gehören auch die Studien über die Kondensationen von Natriummalonester mit Dicarbonsäurechloriden (Mitteilungen über Ketonsäuren, Enol-lactone und Ringketone), so mit Succinylchlorid, Phtalylchlorid, Arbeiten, die jetzt noch im Basler Laboratorium fortgeführt werden.

Seine Vorlesungen wurden von den Studierenden sehr gerne besucht; sie zeichneten sich durch Anschaulichkeit und Klarheit aus und durch die olympische Ruhe, mit der sie vorgetragen wurden.

In den Zeiten zwischen den beiden Weltkriegen herrschte eine rege wissenschaftliche Tätigkeit auf internationaler Grundlage. Es fanden damals die grossen Kongresse statt: 1934 der internationale Chemiker-Kongress in Madrid, an dem Professor Ruggli teilnahm, dann die internationale chemische Konferenz in Luzern und in Zürich. In dieser letzteren Veranstaltung, die allen Teilnehmern in schönster Erinnerung bleiben wird, war er Vorsitzender des Unterhaltungs-Komitees. Schon zwei Jahre später präsidierte er im letzten internationalen Chemiker-Kongress in Rom 1938 die Gruppe: Wohnung, Möbel und Kleidung als Forschungsobjekte der Chemie. Er hielt bei dieser Gelegenheit einen interessanten einleitenden Vortrag.

Für solche Anlässe war der Verstorbene ganz besonders durch seine verblüffenden Sprachkenntnisse der gegebene Mann. Er sprach ein schönes Englisch und fliessend Italienisch, daneben Spanisch und Portugiesisch.

Auch in Basel fanden damals kleine Kongresse statt: 1933 und 1937 eine gemeinsame Tagung der Basler chemischen Gesellschaft mit den Sektionen Mulhouse, Strasbourg und Nancy der Société chimique de France, sowie zwei Tagungen der gleich nach dem ersten Kriege gegründeten Gesellschaft der Südwestdeutschen Chemie-Dozenten. An allen diesen Veranstaltungen nahm Ruggli regen Anteil; er fand hier stets Gelegenheit, über seine neuesten Arbeiten vorzutragen.

Um zu den weiteren Untersuchungen des verstorbenen Forschers zurückzukehren, finden wir ihn nun auch damit beschäftigt, die katalytische Hydrierung zu seinen Zwecken mit Erfolg zu verwenden. Es handelte sich zuerst um die Darstellung der p-Methoxy-cyclohexylessigsäure und der einseitig kernhydrierten Benzoine und Desoxybenzoine. Bei dieser Gelegenheit wurde auch die ältere Reduktionsmethode nach *Sabatier* zur Hydrierung von Hydrochinon-mono-

methyläther mit recht gutem Erfolg verwendet, doch wurde später dieser Weg zugunsten der neueren Schüttelmethode wieder verlassen. Diese Arbeiten mit p-Methoxy-cyclohexyl-essigsäure und p-Methoxy-cyclohexyl-buttersäure (Synthese der einseitig kernhydrierten Desoxybenzoine) sind reich an schönen synthetischen und experimentellen Methoden und sehr interessant zu lesen. (Helv. **24**, 339, 346, 1112 [1941].) Dasselbe gilt besonders auch für die späteren Arbeiten des Verstorbenen über die Enol-lacton-Spaltung, die zu den Mitteilungen über Ketone, Ketonsäuren und Enol-lactone gehören (Helv. **27**, 436, 499 [1944].) Diese Untersuchungen der letzten Jahre, die mit zahlreichen Mitarbeitern *(J. Wegmann, H. Dahn, M. Herzog, P. Fries)* ausgeführt wurden, zeigen auch wieder so recht die Freude des Verstorbenen am Experimentieren. Er beherrscht die Methoden der katalytischen Hydrierung mit Nickel und Platin vollkommen und handhabt sie mit Meisterschaft. Eine seiner letzten Arbeiten (mit *Franz Buchmeier*), welche die Kondensationen des Benzofuroxans mit aromatischen Aminen zu Azopheninen betrifft, beweist dies. Besonders typisch ist das mit β-Napthylamin erhaltene β-Naphtophenazin (aus β-Naphtylamin und Benzofuroxan), an welchem gezeigt wird, dass der zentrale Benzolkern aus dem Benzofuroxan stammt.

Interessant ist die Reduktion von Diphenyl-tetraketonen und von Benzoyl-formoin. Es wurde hier sowohl mit Nickel als auch mit Platin als Katalysatoren gearbeitet. Die Schwierigkeiten waren nicht gering, welche der sauberen Trennung der hier entstehenden Stereoisomeren entgegenstanden; sie konnten aber in den meisten Fällen auf elegante Weise überwunden werden.

Zu den letzten Arbeiten des Verstorbenen gehören noch die Abhandlungen über Verwendung von Aluminiumchlorid zur Darstellung von Ketonen. Ausgehend von Halogendiketonen wurden Körper vom Typus des Dibrom-diacetyls mit Aluminiumchlorid und Benzol behandelt; dabei lagerte sich Benzol an eine Carbonylgruppe an, ohne Halogenwasserstoffabspaltung, und bildete 2-Phenyl-1,4-dibromaceton, eine ganz unerwartete Additionsreaktion, die jetzt von Ruggli's Schülern *H. Dahn* und *J. Wegmann* weiter verfolgt wird.

Anfangs der dreissiger Jahre bestand zwischen Basel und den englischen Universitäten ein lebhafter Professorenaustausch (angeregt durch Reverend *Smith* † in Basel). Auch Ruggli beteiligte sich daran; er hielt im Sommer 1931 unter der Ägide von Prof. *R. Robinson* Vorträge in Oxford über: „On Dyes and intermediate Products".

Als er 1937 als Nachfolger von Professor Rupe (er war 1935 odentlicher Honorar-Professor geworden) Ordinarius und Leiter der Anstalt für organische Chemie wurde, stand er als Lehrer und Forscher auf dem Höhepunkt seines Lebens. Er war 1939 zum Dekan

der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät gewählt worden, und es darf hier als selbstverständlich erwähnt werden, dass er dieses Amt in ausgezeichneter Weise versehen hat.

Die Arbeitslast, die in jenen Jahren auf ihm ruhte, war eine übermässig grosse, und seine Freunde und Kollegen sahen mit Sorge, wie seine Gesundheit unter ihr litt. Er musste, um gegen seine Schlaflosigkeit anzukämpfen, immer grössere Dosen von Schlafmitteln nehmen. Trotzdem fing er in letzter Zeit an, ein Lehrbuch der organischen Chemie zu schreiben.

Bis wenige Jahre vor seinem Tode holte er sich immer wieder Frische und Arbeitslust auf seinen Sonntagswanderungen in den Bergen. Er lernte den ihm vorher ganz unbekannten Jura kennen und lieben, begleitet von seinem nächsten Kollegen, nicht zu vergessen seinen getreuen Hund Widu, einen grossen, schönen Airedale-Terrier, der nie fehlen durfte. Diese Ausflüge wurden auch im Winter fortgesetzt. Ruggli hatte schon während seines Strassburger Aufenthaltes in den Vogesen die Anfangsgründe des Skilaufens gelernt. Das kam ihm jetzt sehr zu statten; er wurde mit der Zeit ein guter Skifahrer mit der nötigen Begeisterung für diesen Sport. In schöner Erinnerung bleibt uns immer eine Skitour, die uns einst während der Weihnachtsferien in das entlegene, damals den Skifahrern fast unbekannte Safiental (Graubünden) führte. Unterwegs wurden die Touristen von einem heftigen Schneesturm überrascht, der sie zwang, zwei Tage in dem einsamen Versam zu bleiben, bis die grösste Lawinengefahr vorbei war und der Weitermarsch nach Safien-Platz angetreten werden konnte. Von dort ging es dann, unter beständiger Lawinenbedrohung, über den Glaspass und auf einer schönen Abfahrt am Piz Beverin vorbei nach Thusis. — In den allerletzten Jahren verbrachte Ruggli die Weihnachtsferien in Arosa, wo er sich freute, seinen lieben Skisport ausüben zu können.

Professor Ruggli war ein stiller, ernster Mensch, der des Lebens ernstes Führen ganz zu seinem eigenen gemacht hatte. Er besass zwar einen feinen Humor und war fröhlicher Geselligkeit, besonders im Kreise seiner Schüler und Studenten, durchaus nicht abhold, sonst lebte er seiner Musik, die ihn, wie er gerne betonte, über manches Schwere hinweghob. Unser Kollege war äusserst musikalisch, ein vorzüglicher Klavierspieler. Vor allem schätzte er die Romantiker Schubert und Schumann. Wenn er sich an seinen Flügel setzte, konnte er seine Zuhörer wahrhaft begeistern. Die Laborfeste verschönerte er durch sein prachtvolles Spiel; besondern Jubel erregte er dann beim Vortrag von Chopin.

Als sein sechzigster Geburtstag nahte, verbat er sich jede äussere Feier. Aber seine Schüler und Freunde liessen es sich nicht nehmen, dieses Ereignis ein wenig zu begehen. Im Sommer 1944 fand in einem ländlichen Gasthaus in Bottmingen im Leimental eine höchst

gelungene kleine Feier statt, an der alle seine früheren und derzeitigen Schüler teilnahmen, um ihrem verehrten Lehrer ihren Dank für alles, was er für sie während eines Menschenalters getan hatte, auszudrücken. Es herrschte dort an jenem schönen Sommerabend eine fröhliche, gehobene Stimmung. Wer konnte ahnen, dass nach kaum mehr als einem Jahr der Schatten des Todes über dies reiche Leben sich legen würde?

Unser Kollege starb am 4. September 1945 nach ganz kurzer Krankheit (Gallenleiden).

Es war ein schöner Herbsttag am 6. September 1945, als eine grosse Gemeinde von Freunden und Kollegen von Professor Ruggli Abschied nahm. Leichte Nebelwölkchen zogen um die Höhen des Jura und des Schwarzwaldes, die wir so oft mit ihm durchwandert hatten. Der grosse, schöne Basler Waldfriedhof des „Hörnli" strahlte in der Farbenpracht des Herbstes.

Prof. Ruggli wird unvergessen bleiben. *Hans Rupe.*

Publikationen von *P. Ruggli.*

Wir verdanken diese Zusammenstellung Hrn. cand. chem. *Hans Kehlstadt.*

Reduktionsversuche bei α,β-ungesättigten Ketonen und Bildung von Indenderivaten, A. **393**, 61 (1912). Mit Prof. *J. Thiele.*

Die Valenzhypothese von *J. Stark* vom chemischen Standpunkt. Broschüre in *Ahrens*' Sammlung, Verlag Enke, 1912.

Über einen Ring mit dreifacher Bindung, A. **392**, 92 (1912).

Über Ringe mit dreifacher Bindung. 2. Mitteilung: Über das Optimum der Gliederzahl, A. **399**, 174 (1913).

Über Ringe mit dreifacher Bindung. 3. Mitteilung: Zur Konstitution des Cyclosuccinyl-diamidotolans, A. **412**, 1 (1916).

Über 1,2- und 2,3-Diphenyl-inden, A. **414**, 125 (1917).

Die Bildung eines zweifach kondensierten Indols, B. **50**, 883 (1917).

Über eine neue Isomerie der Isatogene, B. **52**, 1 (1919).

Über Abbauversuche mit Dibrom-maleinsäure und Chlorfumarsäure. Mit *C. Hartmann*, Helv. **3**, 493 (1920).

Über Versuche zur Darstellung von Derivaten des Diamido-acetylens. 4. Mitteilung über Acetylenderivate. Helv. **3**, 559 (1920).

Über die Konstitution der Iso-isatogene. 2. Mitteilung über Isatogene. Mit *A. Bolliger*, Helv. **4**, 626 (1921).

Über die Einwirkung von Phenylhydrazin auf Isatogene. 3. Mitteilung über Isatogene. Mit *A. Bolliger*, Helv. **4**, 637 (1921).

Über Stilben-o,o'-dicarbonsäure. Mit *R. E. Meyer*. Helv. **5**, 28 (1922).

Über Additionsprodukte der Isatogene. 4. Mitteilung über Isatogene. Mit *A. Bolliger* und *W. Leonhardt*, Helv. **6**, 594 (1923).

Über das Aufziehen von sauren Wollfarbstoffen des Orange II-Typus. 1. Mitteilung über Färbevorgänge. Mit *A. Fischli*. Helv. **7**, 507 (1924).

Über die analytische Bestimmung von Farbstoffen in Flotten. 2. Mitteilung über Färbevorgänge. Mit *A. Fischli*, Helv. **7**, 507 (1924).

Über das Aufziehen einiger substantiver Baumwollfarbstoffe. 3. Mitteilung über Färbevorgänge. Mit *A. Fischli*, Helv. **7**, 514 (1924).

Über Oxy-hydrochinonderivate der Isatogenreihe. 5. Mitteilung über Isatogene. Mit *W. Leonhardt*, Helv. **7**, 689 (1924).

Die Umlagerung von Isatogen-Derivaten in Isatine. 6. Mitteilung über Isatogene. Mit *W. Leonhardt*, Helv. **7**, 898 (1924).

Über den Einfluss der Teilchengrösse von Farbstoffen auf den Färbevorgang. 4. Mitteilung über Färbevorgänge. Mit *A. Fischli*. Helv. **7**, 1013 (1924).

Über Ortho-nitro-aldehyde der Anthrachinonreihe. 1. Mitteilung über Anthracenderivate. Mit *E. Brunner*. Helv. **8**, 155 (1925).

Praktikum der Färberei und der Farbstoffanalyse. Verlag Bergmann, München 1925.

Über Neolan-Farbstoffe, Vortrag, *Melliand*'s Textilb. **1925**, Heft 9.

Über Phenyl-β-naphtyl-acetylen. 5. Mitteilung über Acetylenderivate. Mit. *M. Reinert*, Helv. **9**, 67 (1926).

Über die Baumwollaffinität von Derivaten des Dehydro-thiotoluidins und Primulins. 5. Mitteilung über Färbevorgänge. Mit *S. M. Pestalozzi*, Helv. **9**, 364 (1926).

Über o,o'-Disulfosäuren der Stilben-, Tolan- und Desoxybenzoinreihe. 6. Mitteilung über Acetylenderivate. Mit *Ed. Peyer*, Helv. **9**, 929 (1926).

Über Derivate des Acenaphtens. Mit *A. Jenny*, Helv. **10**, 228 (1927).

Über Anthrachinonyl-isatogen und weitere Kondensationsprodukte aus Anthrachinon-2-aldehyd. Mit *A. Disler*, Helv. **10**, 938 (1927).

Geschichte der Färberei. Verh. Naturf. Ges. Basel, **38**, 263 (1927).

Über die Reaktion der Trichloräthylens mit Aminen. 7. Mitteilung über Acetylenderivate. Mit *I. Marszak*, Helv. **11**, 180 (1928).

Chemische und physikalisch-chemische Betrachtung der Färbevorgänge, *Melliand*'s Textilb. **1929**, Heft 7.

Über Derivate des 2-Methyl-anthrachinons und des Anthraflavons. Mit *Emil Merz*, Helv. **12**, 71 (1929).

Über Benzoylderivate des Diamino-äthylens und ihre Umwandlung in Imidazolone. Mit *E. Henzi* und *R. Ratti*, Helv. **12**, 332 (1929).

Über die Gewinnung von Imidazol-Lösungen und Imidazol-Spaltungsprodukte. Mit *E. Henzi*, Helv. **12**, 362 (1929).

Über Konstitution und Abbau der nitrierten 1-Diazo-2-oxynaphtalin-4-sulfosäure. Mit *F. Knapp*, *E. Merz* und *A. Zimmermann*, Helv. **12**, 1034 (1929).

Über Indolderivate des Anthracens. Mit *E. Henzi*, Helv. **13**, 409 (1930).

Über die reduktive Spaltung von Eriochromschwarz und die 1,6-Diamino-2-naphtol-4-sulfosäure. 2. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. (Mit *A. Zimmermann* und *F. Knapp*, Helv. **13**, 748 (1930).

Über die 6-Amino-2-naphtol-4-sulfonsäure als Farbstoffkomponente. 3. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *A. Zimmernann*, Helv. **13**, 756 (1930).

Über Monoacetyl-1,5-naphtylendiamin und seine Kupplung. 4. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *F. Knapp*, Helv. **13**, 763 (1930).

Konstitution und Dispersitätsgrad von Azofarbstoffen. 5. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *A. Zimmermann*, Helv. **14**, 101 (1931).

Über Beziehungen zwischen Molekulargrösse und Eigenschaften von Azofarbstoffen. 6. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *A. Zimmermann*, Helv. **14**, 127 (1931).

Über 2,1-Thio-indigoide der Anthrachinonreihe. 5. Mitteilung über Anthracenderivate. Mit *W. Heitz*, Helv. **14**, 257 (1931).

Derivate des Anthrachinon-2,1-thiazols und andere Produkte aus 1-Amino-2-mercapto-anthrachinon und Halogenverbindungen. 6. Mitteilung über Anthracenderivate. Mit *W. Heitz*, Helv. **14**, 275 (1931).

Über o,o′-Dicyan-stilben. Helv. **14**, 541 (1931).

Über Bromierung der 1-Diazo-2-oxy-naphtalin-4-sulfosäure. 7. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *M. Michels*, Helv. **14**, 779 (1931).

Über Kondensationsprodukte aus Dinitro-xylol und Aldehyden. Mit *R. Thouvay* und *A. Zimmermann*, Helv. **14**, 1250 (1931).

Über Isatogene aus 4,6-Dinitro-1,3-xylol. 8. Mitteilung über Isatogene. Mit *R. Thouvay*, Helv. **14**, 1256 (1931).

Über ortho-Disazofarbstoffe. 8. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *A. Courtin*, Helv. **15**, 75 (1932).

Vergleich der Absorptionsspektren einiger ortho-Disazofarbstoffe mit denen der isomeren p-Verbindungen. 9. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *F. Bürki* und *A. Courtin*, Helv. **15**, 108 (1932).

Über peri-Disazofarbstoffe I. 10. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *A. Courtin*, Helv. **15**, 110 (1932).

Über o,o′-Disulfosäuren der Stilben- und Tolan-Reihe. 8. Mitteilung über Acetylenderivate Mit *M. Welge*, Helv. **15**, 576 (1932).

Halogenderivate des 1,3-Distyryl-4,6-dinitrobenzols und ihre Umwandlung in Isatogene. 9. Mitteilung über Isatogene. Mit *A. Zimmermann*, Helv. **15**, 865 (1932).

Über peri-Disazofarbstoffe II. 11. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *A. Courtin*, Helv. **15**, 1342 (1932).

Die substantive Färbung von Zellulosefasern, Koll. Z. **63**, 129 (1933).

Synthese eines Isatogens und Indoxyls der Benzo-dipyrrolreihe. 10. Mitteilung über Isatogene. Mit *A. Zimmermann*, Helv. **16**, 69 (1933).

Die Reduktionsprodukte des Di-styryl-dinitro-benzols und des Di-styryl-trinitrobenzols. 11. Mitteilung über Isatogene. Mit *W. Heitz* und *A. Zimmermann*, Helv. **16**, 454 (1933).

Darstellung von azohomologen Farbstoffen mit höherer Molekulargrösse (II). 12. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *O. Braun*, Helv. **16**, 858 (1933).

Über den Einfluss der Molekulargrösse auf die Eigenschaften der Azofarbstoffe (III). 13. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit. *O. Braun*, Helv. **16**, 873 (1933).

Eine neue oxydative Aufspaltung von Indoxylderivaten durch Luftsauerstoff in alkalischer Lösung. 12. Mitteilung über Isatogene und Indole. Mit *O. Schmid* und *A. Zimmermann*, Helv. **16**, 1249 (1933).

Zur Kenntnis der substantiven Färbungen. *Melliand*'s Textilb. **14**, 600 (1933).

Die zahlenmässige Bestimmung der Substantivität von Farbstoffen. *Melliand*'s Textilb. **15**, 68 (1934).

Bestrebungen und Fortschritte der neueren Textilchemie. *Melliand*'s Textilb. **15**, 68 (1934).

Was ist unter Substantivität zu verstehen? *Mellind*'s Textilb. **15**, 361 (1934).

Reaktionen der zum Färben von Lebensmitteln zugelassenen natürlichen, organischen Farbstoffe. Mit *H. Benz*, Mitt. Lebensmittelunters. Hyg. **25**, 345 (1934).

Acylderivate des 2-Phenyl-6-nitro-indoxyls. 13. Mitteilung über Isatogene und Indole. Mit *A. Zimmermann* und *O. Schmid*, Helv. **17**, 9 (1934).

Über die Darstellung von m,m′-Diamino-azobenzol und analogen Verbindungen. 14. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *M. Hinovker*, Helv. **17**, 396 (1934).

Über o-Disazo- und o,o′-Trisazo-farbstoffe (III). 15. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *M. Hinovker*, Helv. **17**, 973 (1934).

Über die Reduktion der Isatogene. 14. Mitteilung über Isatogene und Indole. Mit *O. Schmid* und *A. Zimmermann*, Helv. **17**, 1328 (1934).

m-Phenylen-diacrylsäure. 15. Mitteilung über Isatogene und Indole. Mit *A. Staub*, Helv. **17**, 1523 (1934).

Reaktionen der zum Färben von Lebensmitteln zugelassenen natürlichen, organischen Farbstoffe. Mit *A. Stoll* und *O. Walker*, Mitt. Lebensmittelunters. Hyg. **26**, 1 (1935).

Beziehungen zwischen der Konstitution und der Substantivität der Farbstoffe, Tiba **13**, 5 (1935).

Über 4,6-Dinitro-isophtalsäure und einige Kondensationsprodukte aus Dinitroxylol und Dinitro-toluol mit Aldehyden. 16. Mitteilung über Isatogene und Indole. Mit *O. Schmid*, Helv. **18**, 247 (1935).

Benzo-dipyrrole II. Über zwei Oxindole der Benzo-dipyrrolreihe. 17. Mitteilung über Isatogene und Indole. Mit *B. B. Bussemaker* und *W. Müller*, Helv. **18**, 613 (1935).

Die chromatographische Adsorptionsanalyse in ihrer Anwendung auf wässrige Lösungen künstlicher organischer Farbstoffe. 12. Mitteilung über Adsorption und Färbevorgänge. Mit *P. Jensen*, Helv. **18**, 624 (1935).

Über die Darstellung eines Küpenfarbstoffes aus o,o′-Dinitro-tolan und seine Überführung in Dindol. 18. Mitteilung über Isatogene und Indole. Mit *H. Zaeslin*, Helv. **18**, 845 (1935).

Die katalytische Hydrierung von o,o′-Dinitro-tolan. 9. Mitteilung über Acetylenderivate. Mit *H. Zaeslin*, Helv. **18**, 853 (1935).

Umlagerung o-aminierter Tolane bzw. Stilbene in Derivate des Indols bzw. Indolins. 19. Mitteilung über Isatogene und Indole. Mit *O. Schmid*, Helv. **18**, 1215 (1935).

Über aminierte Doppelstilbene. 20. Mitteilung über Isatogene und Indole. Mit *O. Schmid*, Helv. **18**, 1229 (1935).

Darstellung von m-und p-Phenylen-diäthylamin sowie Benzohexamethylenimin aus den drei Phenylen-di-acetonitrilen. Mit *B. B. Bussemaker*, *W. Müller* und *A. Staub*, Helv. **18**, 1388 (1935).

Über einige Reaktionen mit Tetrazoverbindungen der Benzol- und Naphtalinreihe. peri-Disazofarbstoffe III. 16. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *E. Caspar*, Helv. **18**, 1414 (1935).

Studien über Azofarbstoffe. IX. Congreso international de quimica pura y aplicada, Madrid, 5—11 abril 1934. T. **4**, 414 (1936).

Les colorants substantifs et la theorie de la substantivité (conférence). Bl. [5] **3**, 2165 (1936).

Über die Kondensation der drei Phtalaldehyde mit nitrierten Toluolen und die Darstellung von Di-isatogenen. 21. Mitteilung über Isatogene und Indole. Mit *E. Wolff*, Helv. **19**, 5 (1936).

Chromatographische Adsorption von Teerfarbstoffen und Zwischenprodukten II. Derivate des α- und β-Naphtils. Mit *P. Jensen*, Helv. **19**, 64 (1936).

Benzo-dipyrrole III. Über 2,6-Dimethyl-lin. m-benzo-dipyrrol. 22. Mitteilung über Indole und Isatogene. Mit *O. Straub*, Helv. **19**, 326 (1936).

Über ein hydriertes lin. m-Benzo-di-pyridin. 23. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *A. Staub*, Helv. **19**, 439 (1936).

Benzo-dipyrrole IV. Ringschluss mit einem m-Phenylen-dihydrazon. 24. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *Ch. Petitjean*, Helv. **19**, 928 (1936).

Über m-Phenylen-di-propiolsäure und m-Diacetyl-benzol. 25. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *A. Staub*, Helv. **19**, 962 (1936).

Über cis- und trans-Formen von Stilbenfarbstoffen. 18. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *F. Lang*, Helv. **19**, 996 (1936).

Die Stereochemie der Phenanthrensynthese nach *R. Pschorr* I. 3. Mitteilung über cis-trans-isomere Stilbene. Mit *A. Staub*, Helv. **19**, 1288 (1936).

Stereoisomere o-Nitro- und o-Amino-stilbene, o-Amino-dibenzyl und Ringschluss zu Phenanthren bzw. Dihydro-phenanthren II. 4. Mitteilung über cis-trans-isomere Stilbene. Mit *A. Staub*, Helv. **20**, 37 (1937).

Darstellung o-aminierter p-Phenylen-di-äthylamine. 26. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *W. Müller*, Helv. **20**, 189 (1937).

Zur Darstellung von 2-Phenyl-isatogen und 2-Phenyl-6-carbäthoxy-isatogen. 27. Mitteilung über Stickstoff heterocyclen. Mit *E. Caspar* und *B. Hegedüs*, Helv. **20**, 250 (1937).

Über 4,6-Dinitro- und Diamino-iso-phtalaldehyd I. 28. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *P. Hindermann*, Helv, **20**, 272 (1937).

Über Derivate des m- und p-Phenylendiamins sowie des 6-Amino-oxindols. Mit *R. Grand*, Helv. **20**, 373 (1937).

Über 4,6-Diamino-1,3-diacetyl-benzol und seine Überführung in Derivate des lin. Benzo-dipyridins. 30. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *H. Reichwein*, Helv. **20**, 905 (1937).

Beitrag zur Indigosynthese aus o-substituierten Acetophenonen. 31. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *H. Reichwein*, Helv. **20**, 913 (1937).

Benzo-dipyridinderivate IV. 32. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *A. Staub*, Helv. **20**, 918 (1937).

Ergänzung zur Hochdruckhydrierung des o-Phenylen-diacetonitrils. 33. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *A. Staub*, Helv. **20**, 925 (1937).

Die Reduktion der Isatogene III. Reduktion des 2-Phenyl-isatogens. 34. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *H. Zaeslin* und *R. Grand*, Helv. **21**, 33 (1938).

Tolan- und Desoxy-benzoin-Farbstoffe. 19. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *F. Lang*. Helv. **21**, 38 (1938).

Über Poly-azobenzole. 20. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *Ch. Petitjean*, Helv. **21**, 711 (1938).

4,6-Dinitro- und Diamino-iso-phtalaldehyd II; lin. Benzo-di-α-picolin und Benzo-di-pyridin. 35. Mitteilung über Stickstoffheterocylen. Mit *P. Hindermann* und *H. Frey*, Helv. **21**, 1066 (1938).

Reaktionen und Ringschlüsse mit 4,6-Dinitro-1,3-dichlorbenzol II; Benzo-di-pyrrole IV. 36. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *O. Straub*, Helv. **21**, 1084, (1938).

Umwandlung von o,o-′-Dinitro-tolan in eine Nitrosoverbindung durch unsymmetrische Halogenaddition. 10. Mitteilung über Acetylenderivate. Mit *H. Zaeslin* und *F. Lang*, Helv. **21**, 1240 (1938).

Darstellung eines chlorhaltigen Küpenfarbstoffes aus o,o′-Dinitro-tolan. 37. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *H. Zaeslin*, Helv. **22**, 134 (1939).

Über Iso-isatogene. 38. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *B. Hegedüs* und *E. Caspar*, Helv. **22**, 140 (1939).

Die Reduktion des o-Nitro-benzils und eine weitere Synthese des 2-Phenyl-isatogens. 39. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *B. Hegedüs*, Helv. **22**, 147 (1939).

Über die Kondensation von o-Nitro-benzaldehyd mit Phenylnitro-methan. 40. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *B. Hegedüs*, Helv. **22**, 405 (1939).

Über einige Additionsprodukte der Isatogene. 41. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *B. Hegedüs* und *E. Caspar*, Helv. **22**, 411 (1939).

Über lineare und angulare Benzo-di-pyridine VI. (1,5-Anthrazoline und 4,5-Phenanthroline.) 42. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *Ed. Preiswerk*, Helv. **22**, 478 (1939).

Über Di- und Tri-acetylbenzol und p-Phenylen-di-glyoxal. 43. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *E. Gassenmeier*, Helv. **22**, 496 (1939).

Über o,o′-Dinitro-desoxy-benzoin. 44. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *A. Dinger*, Helv. **22**, 908 (1939).

Über die Substantivität einiger Azofarbstoffe mit J-Säure als Kupplungskomponente. 21. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *O. Leupin*, Helv. **22**, 1170 (1939).

Nitrosierung primärer Amine (Diamino-iso-phtalaldehyd III). Über 4,5,6-Triamino-iso-phtalaldehyd und seine Kondensationen. 45. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *H. Frey*, Helv. **22**, 1403 (1939).

Über 4,6-Diamino-iso-phtalaldehyd III. 46. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *H. Frey*, Helv. **22**, 1413 (1939).

Die Nitrierung des 1-Naphtaldehyds. Mit *E. Burckhardt*, Helv. **23**, 441 (1940).

Die Nitrierung des 2-Naphtol-1-aldehyds. Mit *E. Burckhardt*, Helv. **23**, 445 (1940).

Über Indigosole und ihr adsorptives Verhalten. Mit *M. Stäuble*, Helv. **23**, 689 (1940).

Kondensationen mit Iso-phtalaldehyd und Terephtalaldehyd. 47. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *O. Schetty*, Helv. **23**, 718 (1940).

Synthese des 2,7-Phenanthrolins. 48. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *O. Schetty*, Helv. **23**, 725 (1940).

Über die stereoisomeren Formen des o-p′-Dinitro-stilbens; Phenanthren-Synthesen III. 5. Mitteilung über cis-trans-isomere Stilbene. Mit *A. Dinger*, Helv. **24**, 173 (1941).

Die Säurechloride der m-Sulfo-benzoesäure und ihre Umsetzungen mit Aminen und Phenolen. 1. Mitteilung über Sulfo-carbonsäuren. Mit *F. Grün*, Helv. **24**, 197 (1941).

Über p-Methoxy-cyclohexyl-essigsäure. Mit *O. Leupin* und *A. Businger*, Helv. **24**, 339 (1941).

Über α-(p-Methoxy-cyclohexyl)-buttersäure. Mit *A. Businger*, Helv. **24**, 346 (1941).

Über die Atomverschiebung bei der Bromierung des o-Nitro-diphenylmethans. Mit *B. Hegedüs*, Helv. **24**, 703 (1941).

Über Derivate des p-Phenylen-β,β′-diäthylalkohols, des m- und p-Diacetylbenzols und der p-Phenylen-diacryl-säure. 49. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *W. Theilheimer*, Helv. **24**, 899 (1941).

Über Sulfosäuren von Poly-azo-benzolen. 22. Mitteilung über Azofarbstoffe und ihre Zwischenprodukte. Mit *M. Stäuble*, Helv. **24**, 1080 (1941).

Über Derivate des einseitig kernhydrierten Benzoins und Desoxybenzoins. Mit *A. Businger*, Helv. **24**, 1112 (1941).

Über Derivate des 5-Brom-1-naphtaldehyds und des 1-Naphtaldehyds. 3. Mitteilung über Naphtaldehyde. Mit *R. Preuss*, Helv. **24**, 1345 (1941).

Über 1,3,5-Nitro-sulfo-benzoylchlorid und seine Verwendung zur Synthese von Poly-amiden. 2. Mitteilung über Sulfocarbonsäuren. Mit *F. Grün*, Helv. **24**, 9 E (1941).

Zur Synthese des β-Alanins. Mit *A. Businger*, Helv. **25**, 35 (1942).

Über Umsetzungen des β-Keto-adipinsäure-esters; Synthese von Stickstoffheterocyclen, insbesondere Pyrrolonen und *d,l*-Ecgoninsäure. Mit *A. Maeder*, Helv. **25**, 936 (1942).

Synthesen in der 1,4-Diphenyl-butan-Reihe I. 1. Mitteilung über Acyloine, Di- und Poly-ketone. Mit *B. Hegedüs*, Helv. **25**, 1285 (1942).

Über o-Disazobenzol. 23. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte. Mit *J. Rohner*, Helv. **25**, 1533 (1942).

Über Hydrazoverbindungen des Dis-(benzol-azo)-diphenyls. 24. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte. Mit *K. Hölzle*, Helv. **26**, 814 (1943).

Über Amino-hydrazo-körper. 25. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte. Mit *K. Hölzle*, Helv. **26**, 1190 (1943).

Die Reaktion von Succinylchlorid mit Natrium-malonester I. Über den sogenannten Succinyl-malonester (2-Butanoliden-malonester) und den Succinyl-dimalonester. 1. Mitteilung über Ketonsäuren, Enol-lactone und Ringketone. Mit *A. Maeder*, Helv. **26**, 1476 (1943).

Die Reaktion von Succinylchlorid mit Natrium-malonester II. 2. Mitteilung über Ketonsäuren, Enol-lactone und Ringketone. Mit *A. Maeder*, Helv. **26**, 1499 (1943).

Über ein neues lineares Benzo-di-picolin, das 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolin. 51. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *F. Brandt*, Helv. **27**, 274 (1944).

Die Enol-lacton-Spaltung. Eine neue Methode zur Darstellung von β-Keton- und β,β'-Diketonsäure-estern, die zugleich 1,4-Diketone sind. 3. Mitteilung über Ketone, Ketonsäuren und Enol-lactone. Mit *A. Maeder*, Helv. **27**, 436 (1944).

Zur Frage der Cyclo-pentan-1,3-dione. 4. Mitteilung über Ketone, Ketonsäuren und Enol-lactone. Mit *J. Schmidlin*, Helv. **27**, 499 (1944).

Über Pyridyl-isatogen. 52. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *H. Cuenin*, Helv. **27**, 649 (1944).

Über die säureamidartige Selbstkondensation der 1,3,5-Amino-sulfo-benzoesäure. 3. Mitteilung über Sulfocarbonsäuren. Mit *H. Dahn*, Helv. **27**, 867 (1944).

Über m-Phenylen-di-glykol. 53. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *K. Knecht*, Helv. **27**, 1108 (1944).

Zur Charakterisierung der 1,3,5-Amino-sulfo-benzoesäure und ähnlicher Amino-sulfo-carbonsäuren. 4. Mitteilung über Sulfocarbonsäuren. Mit *H. Dahn*, Helv. **27**, 1116 (1944).

Über p-Nitrosoverbindungen, ihre Molekulargrösse und ihre Kondensation mit aromatischen Aminen. 26. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte. Mit *G. Bartusch*, Helv. **27**, 1371 (1944).

Eine neue Synthese des 2,6-Dimethyl-1,5-anthrazolins (Benzodipicolins) und hydrierter Derivate. 54. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *E. Girod*, Helv. **27**, 1464 (1944).

Über die Hydrazoverbindungen aus p-Disazobenzol. 27. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte. Mit *E. Iselin*, Helv. **27**, 1711 (1944).

Indolin aus o-Amino-phenäthylamin. 55. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *H. Steiger* und *P. Schobel*, Helv. **28**, 333 (1945).

Über die Struktur von Toluylenblau G. 28. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte. Mit *R. Fischer*, Helv. **28**, 445 (1945).

Über m-Phenylen-β,β'-di-äthylbromid. Ein Beitrag zur Desaminierung aliphatischer Diamine. 56. Mitteilung über Stickstoffheterocyclen. Mit *B. Prijs*, Helv. **28**, 674 (1945).

Synthesen in der 1,4-Diphenyl-butanreihe II. Über Dibenzylglyoxal (1,4-Diphenyl-butan-2,3-dion). 5. Mitteilung über Ketone, Ketonsäuren und Enol-lactone. Mit *P. Zeller*, Helv. **28**, 741 (1945).

Ein Beitrag zur Osazon-theorie (Diphenyl-butanreihe III). 6. Mitteilung über Ketone, Ketonsäuren und Enol-lactone. Mit *P. Zeller*, Helv. **28**, 747 (1945).

Über m-Disazo-benzol. 29. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte. Mit *W. Wüst*, Helv. **28**, 781 (1945).

Über Kondensationen des Benzo-furoxans mit aromatischen Aminen zu Azopheninen. 30. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte. Mit *F. Buchmeier*, Helv. **28**, 850 (1945).

Über die reduktive Spaltung von m-Phenylendiamin-disazofarbstoffen zu Derivaten des Tetra-amino-benzols. 31. Mitteilung über Azoverbindungen und ihre Zwischenprodukte. Mit *R. Fischer*, Helv. **28**, 1270 (1945).

Beitrag zur Kenntnis der Tautomerie und der Ringöffnung des Phtalyl-acetessigesters. 7. Mitteilung über Ketone, Ketonsäuren und Enol-lactone. Mit *Chr. Zickendrahl*, Helv. **28**, 1377 (1945).

Über die Addition von Benzol an symm. Dibrom-diacetyl. 1. Mitteilung über Carbonylgruppen und aromatische Kohlenwasserstoffe. Mit *M. Herzog* †, *J. Wegmann* und *H. Dahn*, Helv. **29**, 95 (1946).

Über das Verhalten von α-Halogenketonen bei der *Friedel-Crafts*'schen Reaktion. 3. Mitteilung über Carbonylgruppen und aromatische Kohlenwasserstoffe. Mit *J. Wegmann* und *H. Dahn*, Helv. **29**, 113 (1946).

Über die Reduktion von Diphenyl-tetraketon und von Benzoyl-formoin (Synthesen in der 1,4-Diphenyl-butan-reihe III). Mit *H. Dahn* und *P. Fries*, Helv. **29**, 302 (1946).

Zur Kenntnis der Cyclopentan-1,3-dione. 8. Mitteilung über Ketone, Ketonsäuren und Enol-lactone. Mit *J. Schmidlin*, Helv. **29**, 383 (1946).

Zur Kenntnis der Cyclopentan-1,3-dione. 9. Mitteilung über Ketone, Ketonsäuren und Enol-lactone. Mit *J. Schmidlin*, Helv. **29**, 396 (1946).

---

101. Komplexone VI. Neue einfache Titriermethoden zur Bestimmung der Wasserhärte

von **G. Schwarzenbach, W. Biedermann** und **F. Bangerter.**

(17. IV. 46.)

In früheren Abhandlungen[1]) ist bereits darauf hingewiesen worden, dass gewisse Derivate der Imino-diessigsäure, die wir „Komplexone" nennen, auch zur Ermittlung der Wasserhärte geeignet sind. Wir wollen diese neuen Titriermethoden hier eingehender beschreiben und etwas über ihre Leistungsfähigkeit aussagen. Unter einfachen Methoden wollen wir dabei solche verstehen, zu deren Durchführung man keiner besondern Apparatur bedarf. Es sei aber darauf hingewiesen, dass man die Titrationen mit Komplexonen auch mit Hilfe von potentiometrischer oder konduktometrischer Endpunktsindikation ausführen kann und dabei die Genauigkeit noch zu steigern vermag.

Als einfache Titriermethoden zur Bestimmung der Wasserhärte stehen heute das Verfahren von *Wartha-Pfeifer* und dasjenige von *Blacher* zur Verfügung. Bei der ersteren dieser Methoden werden die Härtebildner als Carbonate mit eingestellten Lösungen von $\{Na_2CO_3\}$ und $\{NaOH\}$ ausgefällt und nach Entfernen des Niederschlages mit Säure zurücktitriert. Die Methode ist deshalb zeitraubend, weil man zur vollständigen Abscheidung der Erdalkalicarbonate die Lösung entweder viele Stunden stehen lassen oder dann eindampfen muss. Zudem wird das Resultat als Differenz zweier verhältnismässig grosser Zahlen erhalten. Im Schrifttum wird der zu erwartende Fehler der Methode von *Wartha-Pfeifer* mit 0,5—1 franz. Härtegraden angegeben[2]). Für die *Blacher*'sche Methode werden kleinere Fehler genannt[3]). Man arbeitet dabei mit einer

---

[1]) Schw. Ch. Z. **28**, 181, 377 (1945); Helv. **28**, 828, 1133 (1945); **29**, 364 (1946). Prospekt über Komplexonmethoden der Firma *vorm. B. Siegfried*, Zofingen.

[2]) S. Literaturzusammenstellung bei *I. N. Kolthoff*, „Die Massanalyse", Berlin 1928, S. 165, insbesondere *Grünhut*, Z. anal. Chem. **58**, 555 (1919), und *Kannhäuser*, Ch. Z. **47**, 57 (1933). Ferner: *Gussew*, Z. anal. Ch. **109**, 280 (1937) (Referat).

[3]) *Kolthoff*, „Die Massanalyse", 1928, S. 174, und ferner *Wesly*, Z. anal. Ch. **90**, 23—30 (1936), Sammelreferat Z. anal. Ch. **107**, 369 (1936), und *Nikiforow* (Referat), Z. anal. Ch. **110**, 223 (1937).

alkalisch reagierenden Lösung von Kaliumpalmitat und benützt Phenolphtalein zum Anzeigen des raschen p_H-Anstieges, der in dem Moment eintritt, in welchem die letzten Mengen Erdalkaliionen aus der Lösung verschwinden. Die Fehler sollen hier maximal 0,5 franz. Grade betragen. Es ist dabei aber daran zu erinnern, dass bei der *Blacher*'schen Methode die Masslösung gegen eine Calciumsalzlösung von etwa derselben Verdünnung einzustellen ist, wie sie ein natürliches Wasser darstellt. Dem gegenüber kann die Methode von *Wartha-Pfeifer* eine „absolute" Methode genannt werden, da hier nicht ein künstliches hartes Wasser als Standard dient. Man kann natürlich die Genauigkeit jeder Methode dadurch erhöhen, dass man sie durch Anwendung auf eine Lösung möglichst ähnlicher Zusammensetzung standardisiert.

Die vier neuen Methoden, die wir hier für die Härtebestimmung vorschlagen, sind ebenfalls „absolute" Methoden, da die Resultate auf Einwagen an Komplexonsubstanzen basiert werden. Das muss bei der Beurteilung der angegebenen Fehler berücksichtigt werden. Diese Fehler sind bei der Methode B recht gross, können aber bedeutend verringert werden, wenn man die Masslösung auf ein künstlich erzeugtes hartes Wasser einstellt.

Wir haben die Methoden an Hand von Erdalkalichloridlösungen ausprobiert, welche $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ etwa in solchen Konzentrationen enthielten, wie es bei natürlichen Wässern der Fall ist. Der Gehalt dieser Lösungen wurde gravimetrisch durch Bestimmung von $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ sowie potentiometrisch durch Titration des Gegenions Cl' mit Silbernitrat ermittelt.

Methode A.

Das Purpureat-ion, das Anion des altbekannten Farbstoffes Murexid (Ammoniumpurpureat), erwies sich als ausgezeichneter Indikator für $Ca^{\cdot\cdot}$-Ionen. Besonders schön ist der Farbwechsel in alkalischer Lösung. Hier zeigt das Purpureat-ion eine blauviolette Farbe, die bei Zugabe von $Ca^{\cdot\cdot}$ nach Rotviolett umschlägt. Von diesem Farbwechsel, mit dem wir uns in einer späteren Mitteilung eingehend beschäftigen wollen, ist bereits in einer alten Abhandlung eine Bemerkung vorhanden[1]). Später ist aber darüber nie wieder berichtet worden. Neben $Ca^{\cdot\cdot}$ geben noch viele andere Metallkationen mit Murexid Farbumschläge, z. B. $Zn^{\cdot\cdot}$, $Cd^{\cdot\cdot}$, $Hg^{\cdot\cdot}$, $Cu^{\cdot\cdot}$ und andere. Das Magnesiumion ist jedoch ohne Wirkung, so dass man mit Hilfe von Purpureat $Ca^{\cdot\cdot}$ neben $Mg^{\cdot\cdot}$ titrieren kann.

Das Prinzip der Methode A besteht darin, dass das zu untersuchende Wasser stark alkalisch gemacht und dann mit einer Masslösung, welche Komplexon enthält, titriert wird, bis das Murexid die Farbe wechselt. Als Komplexon dient Äthylendiamin-tetraacetat.

[1]) *F. Beilstein*, A. **107**, 186 (1858).

Man kann auch Uramil-diacetat verwenden. Hingegen ist Nitrilotriacetat für diese Titrationsart ungeeignet.

Als Masslösung diente 0,1-m. Dinatrium-äthylendiamin-tetraacetatlösung, die durch Auflösen von 37,21 g des Salzes $\{Na_2C_{10}H_{14}O_8N_2 \cdot 2\,H_2O\}$ zu einem Liter Lösung zubereitet wurde. Das betreffende Salz wird von der Firma *Siegfried* in Zofingen unter dem Namen „Komplexon III" in den Handel gebracht. 1 cm³ dieser Lösung entspricht 0,1 Milligrammion $Ca^{\cdot\cdot}$. Als Indikatorlösung diente eine gesättigte Lösung von Murexid in destilliertem Wasser.

Zur Ausführung der Titration wurden 200 cm³ des zu untersuchenden Wassers mit 10 cm³ n. NaOH und mit 0,3 cm³ Indikatorlösung versetzt und sogleich titriert. Es ist ungünstig, die alkalisch gemachte Lösung vor der Titration längere Zeit stehen zu lassen, da dabei Calciumcarbonat auskrystallisieren kann. Der Farbwechsel erfolgt innerhalb von 3 Tropfen. Man erhält die besten Resultate, wenn man nicht bis zum völligen Farbumschlag, sondern bis zu einer mittleren Farbstufe titriert.

1. Titration von reinen Calciumchloridlösungen von einer Konzentration von $c = 2{,}025 \times 10^{-3}$ Mol/Liter. 200 cm³ dieser Lösung verbrauchten in 7 einzelnen Titrationen bis zum völligen Farbwechsel durchschnittlich:

Verbrauch = 4,10 cm³ entsprechend 20,50 franz. Härtegraden
Sollwert = 4,05 cm³ entsprechend 20,25 franz. Härtegraden

Bei der Titration bis zu einer mittleren Farbnuance wurden durchschnittlich 1—2 Tropfen weniger gebraucht. Der durchschnittliche Verbrauch war dabei der folgende:

Verbrauch = 4,05 cm³ entsprechend 20,25 franz. Härtegraden
Sollwert = 4,05 cm³ entsprechend 20,25 franz. Härtegraden

2. Titration von $Ca^{\cdot\cdot}$ in Gegenwart von $Mg^{\cdot\cdot}$. Es wurde eine Lösung verwendet, welche dieselbe Menge Calciumchlorid enthielt wie vorhin, neben etwas Magnesiumchlorid. Konzentration des $\{CaCl_2\} = 2{,}025 \times 10^{-3}$ Mol/Liter, Konzentration des $\{MgCl_2\} = 0{,}40 \times 10^{-3}$ Mol/Liter. 200 cm³ dieser Lösung wurden mit 10 cm³ n. NaOH und 0,3 cm³ Murexidlösung versetzt und mit der Komplexonlösung auf eine mittlere Farbnuance titriert:

Durchschnittlicher Verbrauch = 4,07 cm³ entsprechend 20,35 franz. Härtegraden
Sollwert = 4,05 cm³ entsprechend 20,25 franz. Härtegraden

Der Magnesiumionzusatz bewirkt also vielleicht eine kleine Verzögerung des Umschlages. Der dadurch bewirkte Fehler dürfte aber auch in ungünstigen Fällen 0,2 Härtegrade nicht übersteigen.

Das Prinzip der drei weiteren Methoden besteht darin, dass die zu bestimmenden Erdalkaliionen mit Hydrogensalzen der Komplexone umgesetzt werden, nämlich bei Methode B mit Dialkali-äthylendiamin-tetraacetat H_2Y'', bei Methode C mit Trialkali-äthylendiamin-tetraacetat HY''' und bei Methode D mit Dialkali-uramildiacetat HZ''. Dabei entstehen nach den folgenden Reaktionen pro Erdalkaliion ein oder zwei Protonen, welche alkalimetrisch titriert werden können:

Methode B: $Ca^{\cdot\cdot} + H_2Y'' \rightarrow 2H^{\cdot} + [CaY]''$
Methode C: $Ca^{\cdot\cdot} + HY''' \rightarrow H^{\cdot} + [CaY]''$
Methode D: $Ca^{\cdot\cdot} + HZ'' \rightarrow H^{\cdot} + [CaZ]'$

Der Buchstabe Y steht dabei für das Anion der Äthylendiamin-tetraessigsäure $[(OOC—CH_2)_2N—CH_2—CH_2—N(CH_2—COO)_2]''''$, und der Buchstabe Z für das Anion der Uramil-diessigsäure[1])

[1]) Helv. **29**, 364 (1946).

$[C_4H_2O_3N_2—N(CH_2COO)_2]'''$. Wie es die Gleichungen angeben, ist pro Grammatom Erdalkaliion mindestens 1 Mol Komplexonsalz zuzugeben. In den folgenden Beispielen, die an Wässern mit einer Härte von etwa 20 franz. Graden durchgeführt wurden, betrug die zugesetzte Komplexonmenge 2—3 Mole pro Erdalkaliion.

Methode B.

Die Äthylendiamin-tetraessigsäure H_4Y ist eine vierprotonige Säure. Die Figur 1 zeigt ihre Neutralisationskurve, aus welcher hervorgeht, dass zwei Protonen der vier Carboxylgruppen schon unterhalb $p_H = 4$ abgegeben werden, während das dritte Proton ein Puffergebiet bei $p_H = 6{,}5$ und das vierte ein solches bei $p_H = 10{,}4$ aufweist. Der Mittelpunkt des ersten kleinen Sprunges der Neutralisationskurve bei $a = 2$ entspricht einer Lösung des Dialkalisalzes der Säure mit dem Ion H_2Y''. Diese Lösung besitzt einen p_H-Wert von 5,0. Wenn zu einer solchen Lösung vom p_H-Wert 5 eine kleine Menge eines Calciumsalzes einer starken Säure zugegeben wird, so fällt das p_H um etwa eine Einheit und verändert sich beim Zugeben von Alkalihydroxyd gemäss Figur 2. Bei dieser bedeuten die Abszissenwerte Mole Alkalihydroxyd pro Grammion $Ca^{\cdot\cdot}$, und man erkennt, dass beim Abszissenwert 2 ein p_H-Sprung auftritt mit einem Mittelpunkt von $p_H = 5{,}3$. Dieser etwas kleine p_H-Sprung wird bei der Methode B ausgewertet. Man geht dabei folgendermassen vor:

Die Lösung, in welcher $Ca^{\cdot\cdot}$ bestimmt werden soll, wird auf $p_H = 5$ gebracht und ein Überschuss einer Lösung von Dinatriumäthylendiamin-tetraacetat, ebenfalls vom p_H-Wert 5, zugegeben. Das sauer gewordene Gemisch wird nun mit Standardalkalihydroxyd auf $p_H = 5$ zurücktitriert, wobei pro $Ca^{\cdot\cdot}$ zwei Äquivalente Base verbraucht werden. Eigentlich sollte auf $p_H = 5{,}3$ titriert werden. Es ist aber praktischer, bei der Titration auf denselben Wert zurückzukommen, von dem man ausgegangen ist, was jedoch einen Fehler bedingt und die Resultate etwas zu klein werden lässt.

Lösungen: 1. 0,1-m. Komplexonlösung, die durch Auflösen von 37,21 g des Salzes $\{Na_2C_{10}H_{14}O_8N_2 \cdot 2\,H_2O\}$ (Komplexon III von *Siegfried*) zu einem Liter zu gewinnen ist. 2. 0,1-n. NaOH, ebenfalls mit Komplexon III eingestellt. 37,21 g des Komplexonsalzes verbrauchen nämlich nach Zugabe eines Überschusses an neutraler Calciumchloridlösung 2 Äquivalente Alkalihydroxyd bis zum Methylrotumschlag. 3. Als Indikator für das Anzeigen von $p_H = 5$ eignet sich ein Gemisch von Methylrot und Bromkresolgrün im Verhältnis von 2:3 und einer Konzentration von 0,2% in Alkohol[1]).

1. Titration von reiner Calciumchloridlösung von der Konzentration $c = 2{,}025 \times 10^{-3}$ Mol/Liter. 200 cm³ dieser Lösung wurden mit 15 Tropfen Indikator versetzt und mit sehr verdünnter HCl auf die Umschlagsfarbe gebracht. Als Vergleich für die Farbnuance diente ein Gemisch von 190 cm³ dest. Wasser mit 10 cm³ Komplexonlösung und ebenfalls 15 Tropfen Indikator. Nun wurde zur Calciumlösung ebenfalls

[1]) s. *Kolthoff*, „Die Massanalyse", Berlin 1928.

10 cm³ Komplexon zugegeben und darauf mit 0,1-n. NaOH auf die Vergleichsfarbe titriert. Folgende Zahlen sind das durchschnittliche Ergebnis von 7 Titrationen:

Verbrauch = 7,85 cm³ entsprechend 19,63 franz. Härtegraden
Sollwert = 8,10 cm³ entsprechend 20,25 franz. Härtegraden

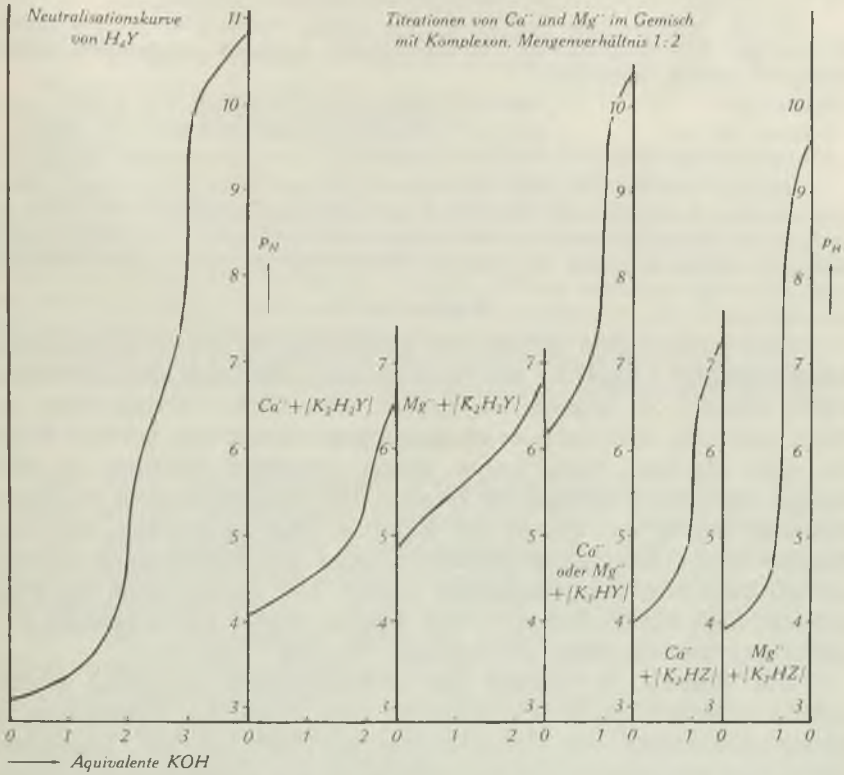


Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3. Fig. 4. Fig. 5. Fig. 6.

Der Fehler beträgt also durchschnittlich 0,6 franz. Grade, und zwar wird ein zu niedriger Wert gefunden, was ja auch an Hand der Fig. 2 vorauszusehen war, da nicht auf p_H 5,3, sondern auf 5 titriert wird. Wie schon eingehend erwähnt, kann man diesen systematischen Fehler zum Verschwinden bringen, wenn man die alkalische Masslösung auf Kalkwasser einstellt. Der Farbumschlag beim Endpunkt ist ziemlich schleppend, da der dort vorhandene p_H-Sprung gering ist. Trotzdem kann man bei einiger Übung gut übereinstimmende Resultate erzielen. Der eine von uns (*F. B.*) hat an natürlichen Wässern des Zürichseegebietes mit dieser Methode gute Ergebnisse erzielt. Die Methode B hat den Vorteil, dass man die temporäre und die Kalkhärte gleich hintereinander bestimmen kann. Die temporäre Härte wird ja dadurch gewonnen, dass man das Wasser am Anfang auf p_H 5 titriert und das CO_2 austreibt. In die austitrierte Lösung gibt man nun Komplexon und titriert gleich wieder auf p_H 5 zurück. Es hat sich dabei als vorteilhaft erwiesen, zunächst wieder einen kleinen Überschuss an alkalischer Masslösung zuzugeben und diesen mit Säure zurückzunehmen, da man dabei den richtigen Farbton in beiden Fällen von der alkalischen Seite erreicht.

2. Titration in Gegenwart von Magnesiumion. Wird die Lösung des Salzes $\{Na_2H_2Y\}$ vom p_H 5 im Überschuss zu einer Magnesiumchloridlösung gegeben, so sinkt der p_H-Wert nur auf 4,5. Bei der Titration des Gemisches an der Wasserstoffelektrode wurde die Kurve der Fig. 3 erhalten, aus der hervorgeht, dass man $Mg^{\cdot\cdot}$ nicht nach Methode B titrieren kann. Die Anwesenheit von $Mg^{\cdot\cdot}$ stört aber auch die Titration von $Ca^{\cdot\cdot}$. Das geht auch aus den folgenden Versuchsdaten hervor:

Bei der Anwendung der Methode auf eine Lösung, welche $2{,}025 \times 10^{-3}$ Grammion $Ca^{\cdot\cdot}$ und $4{,}0 \times 10^{-4}$ Grammion $Mg^{\cdot\cdot}$ im Liter enthielt, wurden durchschnittlich folgende Mengen Masslösung verbraucht:

Verbrauch	= 8,50 cm³	entsprechend einer Härte von 21,25°
Sollwert für $Ca^{\cdot\cdot}$	= 8,10 cm³	entsprechend einer Kalkhärte von 20,25°
Sollwert für $Mg^{\cdot\cdot} + Ca^{\cdot\cdot}$	= 9,70 cm³	entsprechend einer Gesamthärte von 24,25°

Das $Mg^{\cdot\cdot}$ wird also bei dieser Titrationsart nur zum kleinen Teil erfasst[1]). Etwas besser steht es damit, wenn die Masslösung auf Kalkwasser eingestellt wird. Nicht nur die Lage des Endpunktes wird aber durch $Mg^{\cdot\cdot}$ verschoben, sondern der Farbumschlag wird auch schleppender und bei grösseren Mengen $Mg^{\cdot\cdot}$ schliesslich ganz undeutlich.

Methode C.

Hier kommt eine Lösung des Trialkalisalzes der Äthylendiamintetraessigsäure $\{Na_3HY\}$ zur Verwendung. Wie aus der Titrationskurve Figur 1 zu ersehen ist, besitzt eine solche Lösung einen p_H-Wert von 8,45. Gibt man zu einer solchen Lösung eine geringe Menge Ca- oder Mg-Salz, beide haben genau denselben Einfluss, so sinkt das p_H auf etwa 6 ab und die Zugabe von Alkalihydroxyd zu diesem Gemisch liefert die Kurve der Figur 4. Der p_H-Sprung, der nach Zugabe von 1 Äquivalent Alkalihydroxyd pro Erdalkaliion auftritt, ist hier steil und von erheblicher Länge. Der Mittelpunkt des Steilgebietes liegt wieder bei $p_H = 8{,}5$. Daraus ergibt sich folgendes Vorgehen zur Bestimmung der Summe von $Mg^{\cdot\cdot}$ und $Ca^{\cdot\cdot}$:

Die Lösung, in welcher die Erdalkaliionen bestimmt werden sollen, wird auf $p_H = 8{,}5$ gebracht und dann ein Überschuss an Komplexonlösung, die ebenfalls den p_H-Wert 8,5 hat, zugegeben. Das acider gewordene Gemisch wird dann mit alkalischer Masslösung auf $p_H = 8{,}5$ zurücktitriert. Dabei werden pro $Mg^{\cdot\cdot}$ und pro $Ca^{\cdot\cdot}$ je 1 Äquivalent Base gebraucht.

Lösungen: 1. 0,1-m. Komplexonlösung, gewonnen durch Einwage von 37,21 g des Salzes $\{Na_2C_{10}H_{14}O_8N_2 \cdot 2\,H_2O\}$ (Komplexon III *Siegfried*), Zugabe von genau 0,1 Mol $\{NaOH\}$ (z. B. 100 cm³ n. NaOH) und Auffüllen auf 1 Liter. 2. 0,1-n. NaOH, eingestellt mit Komplexon. 3. Phenolphtalein 0,1% in Alkohol als Indikator.

Ausführung: 200 cm³ ausgekochtes, destilliertes Wasser werden mit 10 cm³ Komplexonlösung und 10 Tropfen Indikator versetzt und auf bleibend Rosa titriert, Verbrauch = a cm³. 200 cm³ der Lösung, in der die Erdalkalien zu bestimmen sind, werden schwach angesäuert, CO_2 ausgetrieben, 10 Tropfen Indikator zugegeben und mit NaOH auf dasselbe Rosa gebracht. Nun werden 10 cm³ Komplexonlösung zugefügt und wieder mit 0,1-n. NaOH auf Rosa titriert. Vom tatsächlichen Verbrauch wird die kleine Zahl a abgezogen. Die folgende Zusammenstellung enthält wieder Durchschnittswerte:

---

[1]) Die Angaben auf der Etikette der Flasche für „Komplexon III" von *Siegfried* sind entsprechend zu berichtigen.

1. Titration einer reinen Calciumchloridlosung von $c = 2{,}025 \times 10^{-3}$ Mol/Liter.

Verbrauch = 4,08 cm³ entsprechend 20,40 franz. Härtegraden
Sollwert = 4,05 cm³ entsprechend 20,25 franz. Härtegraden

2. Titration von $Ca^{\cdot\cdot}$- und $Mg^{\cdot\cdot}$-Gemischen. Bei einer Lösung, welche $2{,}025 \times 10^{-3}$ Grammion Ca und $1{,}0 \times 10^{-4}$ Grammion Mg enthielt, wurde erhalten:

Verbrauch = 4,28 cm³ entsprechend 21,40 franz. Härtegraden
Sollwert für Summe $Mg^{\cdot\cdot} + Ca^{\cdot\cdot}$ = 4,25 cm³ entsprechend 21,25 franz. Härtegraden

Bei einer Lösung mit $2{,}025 \times 10^{-3}$ Grammion $Ca^{\cdot\cdot}$ und $4{,}0 \times 10^{-4}$ Grammion $Mg^{\cdot\cdot}$ im Liter fanden wir folgende Durchschnittswerte:

Verbrauch = 4,88 cm³ entsprechend 24,40 franz. Härtegraden
Sollwert für $Mg^{\cdot\cdot} + Ca^{\cdot\cdot}$ = 4,85 cm³ entsprechend 24,25 franz. Härtegraden

Aus diesen Zahlen ist zu ersehen, dass die Methode C die Summe von $Mg^{\cdot\cdot}$ nnd $Ca^{\cdot\cdot}$ genau zu erfassen erlaubt. Das Verfahren ist deshalb gut geeignet zur Bestimmung der Gesamthärte. Es ist dabei etwas angenehmer zu titrieren, wenn, wie es oben angegeben ist, das CO_2 entfernt wird. Unbedingt notwendig ist diese Operation aber nicht. Man kann direkt natürliches Wasser auf den Indikatorumschlag bringen, Komplexon zugeben und titrieren. Da dabei aber freies CO_2 zu titrieren ist, erfolgt die Neutralisation nicht momentan, so dass die Lösung bei Zugabe jeden Tropfens der Masslösung rot wird und dann wieder ausbleicht. Es ist dann soweit zu titrieren, bis die Farbe stehen bleibt[1]).

Methode D.

Hier dient als Komplexon Uramil-diessigsäure, deren Eigenschaften in der Abhandlung Komplexone III[2]) beschrieben sind. Aus der dort dargestellten Neutralisationskurve geht hervor, dass man die Lösung des Dialkalisalzes einfach dadurch gewinnen kann, dass man die Säure bis $p_H = 6$ neutralisiert. Die Kurve verläuft von 5,5 bis 8 fast vollkommen senkrecht. Gibt man zu einer solchen Lösung wenig Ca-Salz, so sinkt der p_H-Wert auf 4 ab und die Neutralisation des Gemisches liefert an der Wasserstoffelektrode die Kurve der Fig. 5, die ein Steilgebiet zwischen den p_H-Werten 5,2 und 6 aufweist. Das Abschwenken der Kurve oberhalb 6 ist darauf zurückzuführen, dass sich hier höhere Komplexe bilden. Günstiger ist es bei Magnesium, welches die Kurve der Fig. 6 liefert, die zwischen 5,2 und 7,2 praktisch senkrecht ist. Der Unterschied zwischen $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ ist darauf zurückzuführen, dass letzteres weniger stabile höhere Komplexe liefert. Nach den Kurven der Fig. 5 und 6 ist folgendermassen zu verfahren, wenn die Summe von $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ bestimmt werden soll:

Die Lösung der Erdalkalien wird auf $p_H = 5{,}5$ gebracht, eine Lösung von HZ'' von demselben p_H-Wert zugegeben und mit alkalischer Masslösung auf $p_H = 5{,}5$ zurücktitriert. Pro Erdalkaliion wird dabei 1 Äquivalent Base gebraucht.

---

[1]) Wie mir Herr Dr. *Meyer* (Firma *Geigy*, Basel) mitteilt, hat er die Titrationsmethode C, lediglich angeregt durch die Angaben im Artikel Schw. Ch. Z. **28**, 181 (1945), sonst aber unabhängig von uns, selbst ausgearbeitet und damit sehr gute Resultate erzielt.

[2]) Helv. **29**, 364 (1946).

Lösungen: 0,1-n. Komplexonlösung wurde durch Einwage von 27,71 g reiner Uramil-diessigsäure, Neutralisation gegenüber Methylrot mit NaOH und Auffüllen auf 1 Liter, gewonnen. 2. 0,1-n. NaOH, eingestellt mit Komplexon III. 3. Als Indikator diente dasselbe Gemisch von Methylrot und Bromkresolgrün wie bei Methode B.

Ausführung: Eine Mischung von 200 cm^3 dest. Wasser, 14 cm^3 n. Natriumacetat, 2 cm^3 n. Essigsäure und 10 Tropfen Indikator diente als Vergleichslösung für die Farbe vom p_H-Wert 5,5. 200 cm^3 der zu bestimmenden Erdalkalisalzlösung wurden ebenfalls mit 10 Tropfen Indikator versetzt und mit HCl oder NaOH auf die Vergleichsfarbe eingestellt. Nun wurden 10 cm^3 Komplexonlösung zugefügt und mit 0,1-n. NaOH auf denselben Farbton titriert. Die folgenden Zahlen bedeuten Durchschnittswerte:

1. Titration von reinen Calciumchloridlösungen vom Gehalt $2{,}00 \times 10^{-3}$ Mol/Liter.

Verbrauch = 3,98 cm^3 entsprechend 19,90 franz. Härtegraden
Sollwert = 4,00 cm^3 entsprechend 20,00 franz. Härtegraden

Durch Variation der zugegebenen Menge Komplexon wird an diesem Ergebnis kaum etwas geändert. Bei Zugabe von 5 cm^3 Komplexon haben wir etwas kleinere und bei Zugabe von 20 cm^3 etwas grössere Werte gefunden. Die Unterschiede sind aber so klein, dass sie vielleicht zufällig sind.

2. Titration von $Mg^{\cdot\cdot}$-$Ca^{\cdot\cdot}$-Gemischen. Eine Lösung mit $2{,}00 \times 10^{-3}$ Grammion $Ca^{\cdot\cdot}$ und $1{,}0 \times 10^{-4}$ Grammion $Mg^{\cdot\cdot}$ ergab durchschnittlich:

Verbrauch = 4,17 cm^3 entsprechend 20,85 franz. Härtegraden
Sollwert = 4,20 cm^3 entsprechend 21,00 Graden Gesamthärte

Eine Lösung mit $2{,}00 \times 10^{-3}$ $Ca^{\cdot\cdot}$ und $4{,}0 \times 10^{-4}$ $Mg^{\cdot\cdot}$ ergab:

Verbrauch = 4,75 cm^3 entsprechend 23,75 franz. Härtegraden
Sollwert = 4,80 cm^3 entsprechend 24,00 Graden Gesamthärte

Aus diesen Zahlen geht hervor, dass auch die Methode D gut geeignet ist zur Bestimmung der Gesamthärte. Vor der Methode C hat man den Vorteil, dass die Kohlensäure keinen Einfluss ausübt, da man während der ganzen Bestimmung im sauren p_H-Gebiet bleibt. Leider ist aber die Uramil-diessigsäure im Handel nicht erhältlich.

Zusammenfassung.

Es werden vier neue Methoden zur Bestimmung der Wasserhärte beschrieben. Besonders empfehlenswert sind die Methoden A und C, von denen die eine die Kalkhärte und die andere die Gesamthärte liefert. Diese beiden Methoden sind einfacher als diejenigen von *Wartha-Pfeifer* und *Blacher*, liefern genauere Resultate und beanspruchen für die Durchführung weniger Zeit. Die Methode B ist etwas weniger genau und nur anwendbar, wenn kein Magnesiumion vorliegt. Für die vierte Methode D, die ebenfalls gute Resultate liefert, ist das notwendige Komplexon im Handel nicht erhältlich[1]).

Zürich, Chem. Institut der Universität.
Chem. Fabrik Uetikon am Zürichsee.

[1]) Die Komplexonsubstanzen sind von der Firma *Siegfried* in Zofingen beziehbar.

102. Le dosage de l'alcool éthylique sanguin: Une modification de la méthode de *Nicloux*

par J. Rochat.

(29 IV 46)

Si, à la suite des travaux bien connus de *Nicloux*, la mesure de l'alcoolémie est entrée dans la pratique médico-légale courante depuis près d'une cinquantaine d'années, il est assez piquant de constater que, malgré cet âge respectable, la valeur de la méthode, au point de vue diagnostic de l'ivresse, demeure l'objet de réserves relativement fréquentes, voire même d'un certain scepticisme. Sans vouloir faire preuve d'un pessimisme exagéré, il faut avouer que l'unanimité est loin d'être réalisée, notamment en ce qui concerne l'interprétation des résultats d'analyse; des divergences d'appréciation subsistent, parfois considérables, ainsi que le montrerait, par exemple, pour nous borner à quelques articles récents, la comparaison des données tirées des publications de *Schwarz*[1]) d'une part, de *Hausser*[2]), *Huitric*[3]), etc., de l'autre. Il résulte de tels désaccords des conséquences faciles à deviner.

«Il arrive encore souvent — ont pu écrire *Schwarz* et *Thélin*[4]) il y a quelques années — que les tribunaux se contentent d'admettre une ivresse légère, soit sans conséquence d'ordre juridique, voire même de la nier, dans des cas où l'analyse chimique du sang ou du cerveau donne des résultats tels que nécessairement on doit médicalement admettre une ébriété prononcée.»

Cet état de choses est dû, sans doute pour une bonne part, à l'imprécision, à l'élasticité des termes ivresse, ébriété — et surtout à l'extrême variabilité de certains facteurs individuels: sensibilité à l'alcool, degré de tolérance ou d'accoutumance éthyliques, etc. Toutefois, il faut également bien prendre garde au degré de précision, parfois très relatif, des techniques de dosage utilisées; à notre avis, cet aspect du problème pourrait ne pas avoir été pris assez au sérieux jusqu'ici. Il est évident que certaines discordances apparemment inexplicables tiennent peut-être à l'emploi de méthodes d'analyses insuffisamment contrôlées et dont toutes les causes d'erreurs n'ont pas été parfaitement maîtrisées. Il n'est pas nécessaire d'insister longuement sur certaines grossières fautes de manipulations, comme par

---

[1]) *Schwarz, F.*, «Die quantitative Alkoholbestimmung und ihre Bedeutung für Medizin und Rechtspflege», article tiré de «Alkoholfrage in der Schweiz», publié sous la direction de *Zurukzoglou* (1940).

[2]) *Hausser, G.*, Presse médicale, avril **1937**, p. 522; *Truffert, L.*, et *Hausser, G.*, Presse médicale, nov. **1940**, p. 962.

[3]) *Huitric, M.*, Presse médicale, nov. **1940**, p. 908.

[4]) *Schwarz, F.*, et *Thélin, H.*, Rev. méd. Suisse rom. **60**, 293 (1940).

exemple le prélèvement du sang au moyen d'une seringue conservée dans l'alcool ou dans un autre désinfectant volatil (éther, formol, etc.). Notre expérience nous a montré que le cas n'est pas aussi rare qu'on pourrait le penser; il peut bien être à l'origine de certains chiffres particulièrement aberrants, ce qui indique qu'on n'insistera jamais trop, auprès du praticien, sur la nécessité d'une extrême minutie lors du prélèvement sanguin. Cependant d'autres erreurs moins massives pourront être en définitive tout aussi dangereuses, parce que moins facilement repérables. *Schwarz* et *Thélin* signalent, par exemple, que leurs résultats sont de 20 à 25% plus faibles que ceux obtenus par la méthode de *Widmark*. Nous avons nous-même observé plusieurs cas où deux laboratoires analysant séparément le même sang ont obtenu des chiffres divergeant encore davantage, alors que parfois, circonstance aggravante, les méthodes employées étaient presque semblables. Ces discordances inadmissibles ne peuvent manquer d'éveiller certains doutes quant à la sûreté des techniques utilisées et risqueraient même, si elles devaient se répéter, de les discréditer complètement.

En Suisse, comme en France, c'est l'ancien procédé de *Nicloux* qui est presque exclusivement utilisé, parfois avec de légères modifications — et les remarques précédentes le concernent donc au premier chef. Avant toute autre considération, on peut bien se demander s'il mérite la faveur unanime dont il a été et est encore l'objet. Nous admettons volontiers qu'en mains expertes il peut donner des résultats satisfaisants — pour preuve, s'il en fallait une, on pourrait citer les travaux de l'Institut de médecine légale de Zurich, grâce auxquels le problème de la preuve chimique de l'ivresse commence, en Suisse, à être situé sur une base expérimentale solide[1]). Il n'en reste pas moins que la précision de la méthode n'est pas très grande; brièvement résumées, ses principales causes d'erreur sont les suivantes:

a) tout d'abord, il y a lieu de mentionner — ce qui va sans dire — la difficulté d'apprécier au terme de la réaction un changement de teinte très discret, ainsi que la variabilité de la sensibilité visuelle selon l'observateur, la nature de la lumière, le degré de fatigue, etc.;

b) le mode opératoire habituel est accompagné de pertes d'alcool. La solution à titrer, additionnée d'acide sulfurique, est portée au voisinage de l'ébullition, puis on laisse couler le réactif jusqu'à virage. La proportion d'alcool qui s'échappe par évaporation, comme tel ou après oxydation en aldéhyde acétique, dépendra de la durée du titrage, de la surface du liquide, de sa température, etc. D'après nos essais, elle varie généralement entre 5 et 15‰.;

c) l'acide sulfurique, même le plus pur, contient en général des traces de matières organiques pouvant contribuer à la réduction du

[1]) *Schwarz, F.*, loc. cit.

réactif. A ce point de vue, la méthode ordinaire ne permet pas le contrôle précis de l'acide, ni la détermination de la correction, parfois importante, qu'il est nécessaire d'effectuer. On peut faire la même remarque à propos de l'acide picrique, employé généralement pour empêcher la formation de mousse au cours de la distillation, en notant que les impuretés de l'acide picrique peuvent donner lieu à des erreurs encore beaucoup plus considérables;

d) les expérimentateurs n'ont pas encore réussi à se mettre d'accord en ce qui concerne le calcul des équivalences entre l'alcool et le réactif bichromique: 1 cm^3 d'alcool absolu correspond pour les uns, l'auteur de la méthode en tête, à 3,80 gr. $K_2Cr_2O_7$ (facteur établi empiriquement), pour les autres (par exemple *Schwarz* et ses collaborateurs[1])) à 3,39 gr. $K_2Cr_2O_7$, chiffre calculé conformément à l'équation théorique:

$$3\,C_2H_5OH + 2\,K_2Cr_2O_7 + 8\,H_2SO_4 = 2\,K_2SO_4 + 2\,Cr_2(SO_4)_3 + 3\,CH_3COOH + 11\,H_2O$$

L'écart résultant de cette seule incertitude dépasse déjà 10 %[2]).

Ce qui précède nous conduit à penser que la marge d'erreur de 5 %, habituellement admise, ne doit pas souvent être respectée, même par des opérateurs entraînés. Il est évidemment délicat d'émettre des doutes à l'égard d'une méthode si fréquemment utilisée, pourtant la nécessité d'une mise au point nous semble difficile à contester.

En 1931, *Nicloux*[3]) a proposé une nouvelle technique beaucoup plus exacte, destinée aux recherches scientifiques de haute précision, tout en continuant de penser, contrairement à ce qui précède, que l'ancienne méthode méritait d'être conservée pour les recherches médico-légales courantes. On ne peut manquer de reconnaître la valeur du nouveau procédé; il nous a paru, toutefois, comme à d'autres sans doute, un peu compliqué pour l'usage ordinaire. C'est ainsi que nous avons été amené à reprendre l'étude de la question. Après quelques tâtonnements, nous nous sommes arrêté au mode opératoire indiqué ci-après et appliqué depuis plus de 10 ans, dans notre Institut, à des centaines d'analyses.

Les modifications apportées à la technique primitive, d'ailleurs légères et ne lui enlevant pas son caractère de simplicité, ont porté sur deux points principaux: 1° Le bichromate est ajouté en léger excès à la solution à titrer. On mesure cet excès à l'aide d'un titrage en retour. Il s'agit là d'une opération volumétrique élémentaire et l'on peut s'étonner qu'elle n'ait pas été d'emblée pratiquée partout. 2° L'erreur mentionnée sous b) est plus difficile à éviter. *Nicloux*,

---

[1]) *Schwarz, F.*, Dtsch. Z. ger. Med. **10**, 377 (1927).

[2]) Si l'on ne veut pas s'exposer à des sources de confusion supplémentaire, il faut bien prendre garde à l'unité choisie pour exprimer les résultats: c'est en général le cm^3 d'alcool absolu par kg. de sang; plus rarement le gr.‰.

[3]) *Nicloux, M.*, Bl. Soc. Chim. biol. **13**, 857 (1931).

et plus récemment *Rapin*[1]), effectuent la réaction en tube fermé. Plus simplement, nous avons observé qu'en présence d'un léger excès de réactif, l'addition d'un volume suffisant d'acide sulfurique concentré provoque une élévation de température telle que la réaction est presque instantanée; dans ces conditions, les pertes d'alcool ou d'aldéhyde sont négligeables.

Description de la technique proposée.

Solutions titrées et réactifs:

1. $K_2Cr_2O_7$ 8,475 gr./l.

La concentration de cette solution a été choisie de façon que 1 cm³ corresponde exactement, d'après l'équation d'oxydation théorique, à 5 cm³ d'alcool à 0,5 vol. ⁰/₀₀.

2. $KMnO_4$ 0,1 N.

3. Sel de *Mohr* environ 0.02 N (dissoudre 7,8 gr. de sel dans un litre d'eau distillée additionnée de 20 cm³ H_2SO_4 conc.). Cette solution n'a pas besoin d'être très exacte.

4. Acide sulfurique concentré, pur, bouilli.

5. Solution saturée et filtrée d'acide picrique. L'acide picrique du commerce n'est fréquemment pas assez pur et sera recristallisé. Il suffira, parfois, de le sécher à 100°.

Mode opératoire.

Un poids connu de sang, 5 à 15 gr. — il s'agit, bien entendu, de sang frais; le cas du sang putréfié a été étudié par *Nicloux*[2]) — est introduit dans un ballon Iéna de 300 cm³, à fond rond et col allongé. On l'additionne de 6,5 fois son volume de solution picrique saturée. Le caillot, s'il y en a un, est auparavant dilacéré dans un petit bécher, à l'aide de ciseaux, et transvasé quantitativement dans le ballon. Vérifier à l'odeur l'absence d'éther (ou d'autres solvants organiques). Boucher (caoutchouc) et mélanger soigneusement le contenu, que l'on laissera au repos quelques heures ou une nuit.

Distillation: l'appareil que nous utilisons est celui de *Schloesing-Aubin*, avec réfrigérant en étain, tel qu'il est décrit par *Nicloux* ([3]), p. 874). Le réfrigérant se termine par un tube de verre dont l'extrémité effilée plonge dans quelques cm³ d'eau, au fond d'un cylindre gradué de 50 cm³, se bouchant à l'émeri. La distillation s'effectue à la pression ordinaire. (Nous ne sommes pas sûr que les distillations sous pression réduite ne soient fréquemment accompagnées de pertes d'alcool, surtout lorsque l'extrémité du réfrigérant ne plonge pas dans le liquide.) Tout l'alcool est pratiquement contenu dans le premier quart du distillat, mais, pour plus de sûreté, on en distillera les 2/5. Boucher, agiter. Noter le volume.

Titrage.

On commencera par établir les correspondances volumétriques des solutions titrées en procédant comme suit: 1° Pipeter 5 cm³ de sel de *Mohr*, ajouter 40 à 50 cm³ d'eau, quelques gouttes d'H_2SO_4 conc., puis laisser couler $KMnO_4$ 0,1 N, d'une microburette de 1 cm³ divisée en centièmes, jusqu'à début de virage rose. Appelons a le volume utilisé, exprimé en cm³. 2° Dans un nouvel essai, pipeter 5 cm³ de sel de *Mohr*, ajouter 0,50 cm³ de $K_2Cr_2O_7$ (microburette), mélanger, diluer, comme précédemment, avec de l'eau et quelques gouttes d'acide sulfurique, titrer l'excès de sel de *Mohr* au $KMnO_4$ 0,1 N; soit b le volume utilisé.

Chacune de ces opérations sera effectuée, cela va de soi, au moins deux fois et l'on prendra les moyennes.

On voit immédiatement que 0,50 cm³ $K_2Cr_2O_7$ équivaut oxydimétriquement à a – b cm³ de $KMnO_4$ 0,1 N. Réciproquement, 1 cm³ $KMnO_4$ 0,1 N correspondra donc à

$$\frac{1}{2\,(a-b)}\ \text{cm}^3\ K_2Cr_2O_7 \qquad \text{(I)}$$

[1]) *Rapin, A.*, Helv. **22**, 72 (1939).

[2]) *Nicloux, M.*, Bl. Soc. Chim. biol. **18**, 318 (1936).

[3]) *Nicloux, M.*, Bl. Soc. Chim. biol. **13**, 857 (1931).

Notons que ces deux solutions, contenues dans des flacons bruns et bouchés à l'émeri, sont d'une conservation pratiquement illimitée. Par conséquent, la différence a – b est une constante ne dépendant que de l'exactitude des solutions et burettes utilisées et qu'il suffira de contrôler une fois pour toutes. Sa valeur théorique est 0,864. La solution de sel de *Mohr*, par contre, peut diminuer légèrement de titre: le volume a doit donc être vérifié avant chaque nouvelle série de mesures.

Titrage proprement dit. — Un premier essai d'orientation est conduit de la façon suivante: on pipette 5 cm³ de distillat dans un bécher de 150 cm³, ajoute 6 à 7 cm³ H_2SO_4 conc., mesuré dans un cylindre gradué, on mélange et laisse couler rapidement $K_2Cr_2O_7$ de la microburette jusqu'à coloration distinctement jaunâtre. On détermine ainsi, grossièrement, un volume de $K_2Cr_2O_7$ nettement supérieur à celui qui est réellement nécessaire à l'oxydation de l'alcool.

Dans une nouvelle opération, précise cette fois, on procédera, comme nous y avons déjà fait allusion, dans un ordre d'addition inverse afin d'éviter toute perte d'alcool. A 5 cm³ de distillat, ajouter le volume de $K_2Cr_2O_7$ tel qu'il vient d'être évalué, puis 6 à 8 cm³ de H_2SO_4 conc. Le volume de l'acide doit être approximativement égal au volume total, distillat + $K_2Cr_2O_7$, augmenté de 1,5 cm³. Il faut le laisser couler le long des parois du bécher, tenu légèrement incliné; le mélange doit s'effectuer *d'un coup*; on réalise cette condition importante en imprimant au liquide un brusque mouvement de rotation; parachever le brassage à l'aide d'une baguette de verre. Attendre 25 ou 30 secondes à partir de l'instant où s'est effectué le mélange, diluer avec environ 50 cm³ d'eau[1]), et pipeter 5 cm³ de sel de *Mohr* pour réduire l'excès de $K_2Cr_2O_7$. La teinte du liquide doit devenir vert-bleue sinon il faudrait ajouter une seconde fois 5 cm³ de sel de *Mohr*. Titrer en retour au $KMnO_4$ 0,1 N (aux fortes concentrations en $Cr^{\cdots}$, jusqu'à teinte verte très légèrement teintée de pourpre).

Calculs et corrections.

Soient c et d les volumes de $K_2Cr_2O_7$ et $KMnO_4$ respectivement employés. Dans le cas où l'on a ajouté 5 cm³ de sel de *Mohr*, le volume de $K_2Cr_2O_7$ en excès, c'est-à-dire n'ayant pas pris part à l'oxydation de l'alcool, correspond à a – d cm³ $KMnO_4$ 0,1 N. D'après la formule (I), cet excès vaut a – d/2 (a – b) cm³ $K_2Cr_2O_7$ et le volume de $K_2Cr_2O_7$ réellement utilisé, u, sera donc donné par la relation

$$u = c - \frac{a - d}{2\,(a - b)} \qquad \text{(II)}$$

Si l'on avait ajouté 10 cm³ de sel de *Mohr*, l'expression deviendrait:

$$u = c - \frac{2\,a - d}{2\,(a - b)} \qquad \text{(III)}$$

L'opération précédente — qui, avec un peu d'entraînement, ne prend, calcul compris, que quelques minutes — sera effectuée à double ou à triple, en faisant varier, si l'on veut, le volume initial de $K_2Cr_2O_7$ de façon, toutefois, que ce réactif reste en excès modéré: 0,20 à 0,50 cm³ par exemple. Du reste, un excès de quelques centièmes suffit à assurer l'oxydation complète. Finalement on prendra la moyenne des valeurs ainsi déterminées, qui doivent d'ailleurs concorder à quelques % près.

Le reste du distillat sera utilisé pour les réactions qualitatives de contrôle, aldéhydes, acétone, etc.

Le chiffre ainsi obtenu mesure le volume de $K_2Cr_2O_7$ réduit non seulement par l'alcool, mais encore par les impuretés des acides sulfurique et picrique. La correction correspondante, rarement négligeable même avec des réactifs purifiés, se déterminera le plus simplement par un essai à blanc dans lequel on distillera le même volume d'acide picrique que celui qui a été utilisé pour le sang. Recueillir un volume identique à celui du distillat sanguin et procéder au titrage comme il vient d'être indiqué; on trouvera

[1]) Dans toutes ces opérations: dilutions, lavages, essais à blanc, l'eau de robinet peut remplacer avantageusement, du moins à Lausanne, l'eau distillée.

ainsi le volume r de $K_2Cr_2O_7$ réduit par les substances étrangères des acides; u – r correspondra donc au volume réellement consommé par l'alcool contenu dans 5 cm³ de distillat, et la concentration x dans le sang, exprimée en cm³ alcool absolu par kg., sera donnée par l'expression

$$x = \frac{u - r}{2} \frac{V}{P} F \qquad \text{(IV)}$$

où P désigne le poids du sang (en gr.); V le volume du distillat (en cm³) et F un facteur empirique de correction qui tient compte de légères pertes au cours de la distillation ainsi que du fait que, dans les conditions où nous opérons, l'équation d'oxydation classique ne s'applique pas absolument rigoureusement. Nos expériences, comme nous le verrons tout à l'heure, nous ont conduit aux valeurs de F suivantes:

solutions aqueuses pures	0,97
sangs fluorés	0,98
sangs coagulés	0,99

La reproductibilité du dosage peut être évaluée en solution diluée à ± 0,01 cm³ $K_2Cr_2O_7$ ce qui correspond dans le sang à environ ± 0,02‰; elle sera un peu moins bonne en solution concentrée. Les volumes de $K_2Cr_2O_7$ sont calculés au $^1/_{500}$ de cm³ près; cette exigence est rendue possible, d'une part grâce au fait, bien mis en évidence par *Nicloux*, que la solution de bichromate ne mouille pas le verre et peut dès lors être mesurée avec une précision parfaite, d'autre part en raison de la très grande sensibilité du titrage permanganique, un écart de 0,005 à 0,01 cm³ restant nettement perceptible à un œil exercé. Quant à la précision effectivement réalisée, elle ressortira des chiffres indiqués plus loin; pour n'être pas illusoire, il va sans dire qu'elle nécessite les précautions habituelles concernant le calibrage des pipettes et microburettes, une propreté méticuleuse de la verrerie et de l'appareil à distillation (que nous lavons en distillant de l'eau avant chaque opération) et, en particulier, une vérification minutieuse du titre de la solution de $K_2Cr_2O_7$ (nous la contrôlons iodométriquement par comparaison avec une solution de $KMnO_4$, elle-même titrée exactement à l'oxalate de sodium).

En ce qui concerne le calcul de la valeur r mentionnée précédemment, il sera avantageux, si l'on effectue des mesures en série, de calculer séparément, une fois pour toutes, les corrections correspondant aux deux acides. Le volume s de $K_2Cr_2O_7$ réduit par H_2SO_4 se mesurera immédiatement dans quelques titrages à blanc en remplaçant le distillat par un égal volume d'eau. On déterminera, d'autre part, le taux t des matières réductrices volatiles de la solution picrique en distillant un volume connu, que l'on titrera à la façon ordinaire, en tenant compte de la réduction s due à l'acide sulfurique. Connaissant s et t, un calcul simple montre que r est donné par la relation

$$r = s + \frac{2\,t \cdot V'}{V}$$

où V est le volume du distillat sanguin, V′ le volume d'acide picrique ajouté au sang.

s et t sont des grandeurs pratiquement constantes pour des échantillons conservés dans des flacons bruns, rodés et, dans le cas de l'acide picrique, en solution filtrée; s, pour un acide de pureté satisfaisante, est compris entre 0,01 et 0,03; si tel n'est pas le cas, on obtiendra, en général, un résultat suffisant en chauffant l'acide à l'ébullition, ainsi que le recommande *Nicloux*. Si l'on conserve la solution picrique en présence d'un excès de substance solide pour en assurer la saturation, ainsi que nous procédions au début, on s'expose à de très graves erreurs. La concentration des matières réductrices augmente en fonction du temps, avec une rapidité qui dépend de la quantité de l'acide picrique en excès et qui est souvent déconcertante. Voici, à titre d'exemple, quelques séries de mesures effectuées à ce propos:

Séries I et II: solutions saturées d'acide picrique en présence d'un dépôt abondant de substance solide, occupant 25—50% du volume total. Température du laboratoire.

I.

temps (en jours)	1	2	7	16	43	53
matières réductrices volatiles . (exprimées en cm³ alcool ⁰/₀₀)	0,017	0,022	0,023	0,035	0,060	0,080

II.

temps (en jours)	0	30	70
matières réductrices	0,017	0,187	0,34

L'augmentation est plus rapide dans la série II parce que le dépôt est beaucoup plus volumineux. Pour évaluer l'erreur correspondante dans une analyse de sang, il faut noter que ces chiffres doivent être multipliés par 6,5, puisqu'on emploie 6,5 vol. d'acide picrique pour 1 vol. de sang.

Séries III—IV: solutions saturées filtrées.

III.

temps (en jours)	0	60	230	360
matières réductrices	0,002	0,005	0,007	0,0095

IV.

temps (en jours)	0	45	80	180
matières réductrices	0,003	0,006	0,007	0,007

L'augmentation des matières réductrices, on le voit, est négligeable en milieu picrique filtré. Un très léger dépôt est d'ailleurs, pratiquement, sans répercussion.

Expériences de contrôle.

Nous sommes parti de différents échantillons d'alcool absolu, vérifiés exactement au point de vue densité. Par des opérations de dilution appropriées, nous avons ensuite préparé, à partir de solutions-bases de titre intermédiaire, les concentrations bien déterminées dont nous avions besoin. Les séries d'essais suivantes ont été entreprises: a) titrages directs, sans distillation, de l'alcool en solution aqueuse pure; b) titrages après distillation; c) analyses de sangs d'individus strictement à jeun d'alcool; d) analyses des mêmes sangs additionnés, «in vitro», de quantités d'alcool connues.

Nos résultats, en résumé, sont les suivants:

A. *Titrage direct de solutions aqueuses diluées d'alcool.*

Les concentrations étudiées, correspondant à celles que l'on rencontre habituellement dans un distillat sanguin, ont été comprises entre 0,10 et 1,00⁰/₀₀.

Effectué 32 mesures, chacune étant la moyenne de deux ou trois dosages. Si, dans la formule (IV), nous fixons provisoirement F = 1, nos chiffres sont en moyenne trop forts de 3,3%. En faisant intervenir une correction de cette valeur, nous reproduisons les chiffres théoriques avec une erreur moyenne de 1,15%. La répartition des erreurs est la suivante:

Nombre de mesures	Erreur relative (en %)
15	0—1,0
14	1,0—2,0
2	2,0—3,0
1	3,0—4,0

Le fait que les chiffres, en solution aqueuse pure, sont trop élevés d'environ 3% ne doit pas surprendre. En effet, comme l'a montré *Nicloux*, l'alcool en milieu sulfochromique n'est oxydé quantitativement en acide acétique que dans des conditions d'acidité et de température strictement définies. En cas d'acidité et de température insuffisantes, il y aura oxydation incomplète accompagnée de pertes d'aldéhyde acétique, dans le cas contraire, le stade acétique pourra être partiellement dépassé avec formation d'H_2O et CO_2. Dans sa nouvelle méthode, *Nicloux* se place nettement dans les conditions d'oxydation incomplète, d'où la nécessité, pour assurer néanmoins l'exactitude des résultats, de prolonger la durée du temps de réaction et d'opérer en vase clos. Si l'on renonce à ce dispositif, l'erreur correspondant à une perte d'aldéhyde acétique ne pourra être éliminée qu'à la condition de travailler en milieu sulfurique relativement concentré, ce qui peut donner lieu à des oxydations trop poussées, d'ailleurs sans conséquences fâcheuses si ce n'est l'obligation de se servir d'un facteur de correction[1]), l'essentiel étant d'opérer dans de bonnes conditions de reproductibilité. L'expérience suivante montre qu'à partir d'une certaine concentration d'acide sulfurique les chiffres tendent à devenir pratiquement constants:

A 5 cm³ d'alcool à 0,403‰ on ajoute 1,25 cm³ $K_2Cr_2O_7$ et des volumes croissants d'H_2SO_4 conc. On obtient les titres suivants, en tenant compte naturellement de l'effet des impuretés de l'acide, qui augmente avec la concentration.

vol. H_2SO_4 conc. (cm³) . . .	4,5	6	7	8	9	12	16
titre alcool mesuré	0,384	0,410	0,415	0,419	0,420	0,423	0,420

B. *Contrôle de distillation.*

Nous avons distillé 10 cm³ de solution titrée, en présence de 65 cm³ de solution picrique saturée; zone de concentrations étudiées 0,25 à 5,0 vol.‰ (au-dessous de 0,6‰, les titrages ont porté sur 10 et non pas 5 cm³ de distillat).

14 expériences nous ont conduit à des résultats trop forts de 2,2% en moyenne[2]), avec un écart moyen de 1,6%. Les divergences sont donc légèrement plus accentuées que dans la série précédente, notamment en solution très diluée.

C. *Analyses de sangs d'individus normaux à jeun d'alcool.*

Les prélèvements que nous avons pu examiner, au nombre de 9, ont donné des taux compris entre 0,00 et 0,025 vol. d'alcool ‰.

D. *Sangs additionnés «in vitro» de doses d'alcool déterminées.*

Ces additions ont été réalisées de la façon suivante: 8 à 10 cm³ de sang, prélevés à l'aide d'une seringue sèche stérilisée au four, sont introduits dans une éprouvette tarée contenant 1 cm³, très exactement mesuré, de solution alcoolique titrée. L'éprouvette est bouchée, on mélange doucement, pèse, ce qui permet d'établir la concentration en alcool. On laisse ensuite la coagulation s'opérer; le volume de solution ajouté étant relativement petit, ce processus n'est pas troublé. — Une série d'essais identiques a été préparée également en présence d'un anticoagulant (NaF).

Nos additions, au nombre de 43, ont porté sur 8 échantillons sanguins différents, avec des taux d'alcool compris entre 0,5 et 3,5 vol. ‰. Les résultats ont été en moyenne trop forts de 1,2% (si l'on admet le facteur F, formule IV, égal à 1). Nous avons toutefois constaté une légère différence entre sangs fluorés (17 cas, en moyenne trop forts de 1,9%) et sangs coagulés (26 cas, 0,8% trop forts).

---

[1]) Il ne nous a pas été possible de déceler une réduction de $K_2Cr_2O_7$ en présence d'acide acétique, aux concentrations utilisées dans nos dosages, pas plus d'ailleurs qu'une auto-réduction du réactif sulfochromique. Peut-être qu'une petite fraction de l'alcool est-elle oxydée selon un processus autre que le mécanisme classique?

[2]) Bien entendu, en supposant F = 1.

Si nous multiplions nos chiffres par les facteurs correspondants à nos moyennes[1]), soit sensiblement 0,99 pour les sangs coagulés et 0,98 pour les sangs fluorés, nous obtenons les doses théoriques avec un écart moyen de 1,0% et une répartition suivante des erreurs:

Nombre d'additions	Erreur relative %
26	0—1,0
11	1,0—2,0
6	2,0—3,0

Notons encore les points suivants:

1. D'après les essais rapportés en A et B, la perte d'alcool au cours de la distillation est de l'ordre de 1% en solution aqueuse pure. Pour le sang, elle paraît légèrement plus élevée: 1,5—2,5%. La différence, qui ne dépasse d'ailleurs guère la marge d'erreur possible, correspond peut-être à une légère absorption d'alcool par les albumines coagulées en milieu picrique.

2. Répartition de l'alcool entre sérum et caillot.

Nous avons centrifugé 8 échantillons sanguins différents (dont 2 fluorés) et analysé séparément sérums (ou plasmas) et caillots (ou globules). Le rapport

$$\frac{\text{teneur alcool du caillot}}{\text{teneur alcool du sérum}}$$

a été trouvé en moyenne égal à 0,81 (valeurs extrêmes 0,77 et 0,85); ce chiffre représente également sensiblement le quotient des teneurs en eau correspondantes, en accord avec la loi de répartition établie expérimentalement par *Nicloux* et *Gosselin*[2]): dans les liquides et tissus de l'organisme, lorsque l'équilibre est atteint, il y a *in vitro* rapport constant entre les quantités d'alcool et d'eau.

3. Le phénomène de coagulation n'entraîne pas d'erreur appréciable par absorption d'alcool dans le caillot. La différence moyenne observée entre sang fluoré et sang coagulé est de 1,1%. Toutefois, il faudrait tenir compte, au cours d'une analyse de sang coagulé, du sérum resté adhérent aux parois de l'éprouvette, en quantité non négligeable (environ 0,5 gr.); ce sérum étant de 10 à 12% plus alcoolisé que le sang total, il s'en suivrait une correction ramenant l'écart entre sang fluoré et sang coagulé à environ 0,5%, chiffre de l'ordre des erreurs d'expériences.

Dosage de l'alcool en présence d'acétone.

Parmi les substances assez nombreuses pouvant, dans certaines circonstances, troubler ou fausser le dosage de l'alcool sanguin, le cas de l'acétone[3]) mérite d'être examiné ici, car notre technique, et c'est l'un de ses grands avantages, permet, en prenant quelques précautions supplémentaires, d'éliminer cette importante cause d'erreur «endogène». Il suffit d'utiliser la propriété que l'acétone est oxydable au réactif sulfochromique, mais

[1]) Nous avons considéré comme négligeables les traces de matières réductrices préexistantes à toute addition d'alcool. En tenir compte reviendrait à utiliser les facteurs de correction 0,995 (sangs coagulés) et 0,985 (sangs fluorés), la répartition des erreurs n'étant guère modifiée (0—1%: 23 cas; 1—2%: 13 cas; 2—3%: 6 cas; 3—4%: 1 cas; ce dernier correspondant à un résultat de 0,604 au lieu de 0,627, donc encore très admissible).

[2]) *Nicloux, M.*, et *Gosselin, G.*, Bl. Soc. Chim. biol. **16**, 338 (1934).

[3]) La réaction la plus recommandable pour déceler l'acétone, paraît être ici celle de *Lieben* (celle de *Legal* n'est pas assez sensible): on pourra effectuer du même coup la recherche qualitative et le dosage. Il faut se rappeler, toutefois, que cette réaction n'est pas absolument spécifique; les aldéhydes, notamment, donnent également un résultat positif.

beaucoup moins facilement que l'alcool éthylique. Dans ces conditions, en réduisant au strict minimum le temps de réaction ainsi que l'excès de réactif, on arrive, dans une solution diluée d'alcool et d'acétone, à oxyder tout l'alcool alors que l'acétone reste pratiquement inattaquée; un temps de réaction réduit à 15 secondes, avec un excès de 0,02 à 0,03 de $K_2Cr_2O_7$ réalisent les conditions optima: le dosage de l'alcool reste quantitatif alors qu'il n'y a pas d'oxydation sensible d'acétone. En définitive, on procèdera comme suit: effectuer un premier titrage de façon ordinaire, on détermine ainsi un volume de $K_2Cr_2O_7$, u, réduit par 5 cm³ de distillat. Dans une seconde opération ajouter à ce même volume de distillat u cm³ de $K_2Cr_2O_7$, puis le volume convenable d'H_2SO_4 conc., attendre 15 secondes, diluer avec de l'eau, etc. Le volume u′ de $K_2Cr_2O_7$ réduit dans ce nouveau titrage sera plus petit que u (la fraction consommée par l'alcool reste la même, mais celle correspondant à l'acétone diminue). Si la différence u – u′ ne dépasse pas 0,03—0,04, on peut considérer le dosage comme terminé, quitte à le vérifier par un nouvel essai identique; dans le cas contraire, renouveler l'opération en ajoutant u′ cm³ $K_2Cr_2O_7$. On obtiendra un volume u″; u′ – u″ ne doit pas dépasser 0,03 à 0,04, sinon recommencer avec u″. Généralement deux opérations suffisent. — Le volume de $K_2Cr_2O_7$ correspondant à l'alcool ainsi qu'aux impuretés réductrices des acides étant déterminé de cette façon, la suite des calculs et des corrections s'effectuera sans changement.

Comme épreuves de contrôle à l'appui des indications précédentes, nous avons préparé 2 séries de solutions, l'une en présence, l'autre en l'absence d'acétone, chaque solution de l'une des séries correspondant à une solution de titre alcoolique identique de l'autre. Les taux d'alcool sont de l'ordre de ceux que l'on rencontre dans un distillat sanguin.

Titres d'alcool (en cm³ ⁰/₀₀)				Titres d'alcool (en cm³ ⁰/₀₀) mesurés en présence d'acétone	
théoriques	mesurés en l'absence d'acétone	acétone ajoutée en cm³ ⁰/₀₀	nombre de dosages	valeurs extrêmes	moyennes
0,050	0,0515	0,20	5	0,049—0,0525	0,0515
0,100	0,1005	0,20	8	0,100—0,1075	0,1045
0,500	0,495	0,20	5	0,48 —0,495	0,490
1,00	1,005	0,20	3	0,98 —1,00	0,99
—	0,061	0,60	4	0,061—0,072	0,067
—	0,543	0,60	4	0,528—0,563	0,548
0,251	0,249	1,0	3	0,241—0,255	0,246
0,251	0,251	2,5	3	0,270—0,276	0,273
0,5025	0,485	2,0	3	0,496—0,502	0,498
0,5025	0,505	2,5	2	0,508—0,515	0,512
0,754	0,749	2,0	4	0,738—0,748	0,743
0,754	0,760	2,5	3	0,747—0,762	0,756
1,005	1,008	2,0	3	1,00 —1,013	1,005
1,005	1,006	2,5	2	0,991—0,996	0,993

La comparaison des colonnes 1, 2 et 6 du tableau montre l'approximation réalisée dans nos mesures et qui, ajoutons-le, est en relation plus étroite avec la pureté de l'acide sulfurique en présence, qu'en l'absence d'acétone.

Le mode opératoire décrit ci-dessus pourra rendre des services toutes les fois qu'il est à craindre que certains corps plus ou moins réducteurs accompagnent l'alcool. En l'absence de données précises permettant d'exclure une telle éventualité, il sera prudent

d'effectuer, de la façon indiquée, au moins un des titrages, ce qui permettra de diminuer certaines possibilités d'erreur, sans naturellement prétendre à les éliminer complètement.

Dosage de l'alcool par semi-microméthode.

Malgré la faveur dont jouissent actuellement les microméthodes, il ne semble pas qu'il faille en préconiser l'emploi dans la détermination courante de l'alcoolémie, en raison de l'importance accrue des causes d'erreur et des précautions minutieuses devant être observées pour les éliminer. Il va sans dire qu'elles pourront, par contre, rendre de grands services dans les essais en série, lorsque les conditions du patient et celles du prélèvement sont bien définies. Dans cet ordre d'idées, ainsi qu'afin d'éprouver la valeur de la technique adoptée, nous avons fait quelques dosages dans des prises de 1 cm^3 (solutions aqueuses et sangs). Bien que nous n'ayons pas poussé la vérification aussi loin que dans le cas de la macrométhode, les résultats obtenus montrent que l'on peut réaliser une approximation comparable en observant les conditions, brièvement résumées, que voici:

Peser environ 1 gr. de sang fluoré dans une petite éprouvette tarée, transvaser quantitativement, à l'aide de 4 cm^3 eau et 10 cm^3 acide picrique saturé, dans un ballon à distiller à long col de 50—100 cm^3. Distillation: l'appareil ordinaire de *Schloesing-Aubin* à réfrigérant d'étain, un peu incommode en raison de ses dimensions, peut être utilisé si l'on n'a pas à disposition le modèle microdistillateur décrit par *Nicloux*[1]). On distillera tout d'abord 4—5 cm^3 comme d'habitude, l'extrémité du réfrigérant arrivant dans un peu d'eau au fond d'une éprouvette tarée, qu'on abaisse par la suite, de façon que le tube ne plonge plus. On distille encore environ le même volume, en interrompant à 2 ou 3 reprises le chauffage quelques instants. Le refroidissement du ballon provoque une légère rentrée d'air, accompagnée du brassage et d'une aspiration partielle des gouttelettes à l'intérieur du réfrigérant; ensuite, lorsque le chauffage est repris, une poussée d'air inverse assure l'expulsion intégrale du liquide dans l'éprouvette où l'on recueille le distillat. Cet artifice, répété une ou deux fois, réalise le lavage du réfrigérant et permet d'éviter toute perte d'alcool. On recueille ainsi au total 8 à 10 cm^3 de liquide, dont on déterminera exactement le volume par pesée. Titrage: se fera dans une grande éprouvette de 20—30 cm^3, sur une prise de 2 cm^3, à l'aide d'une solution de $K_2Cr_2O_7$ à 3,39 gr.‰; le volume d'H_2SO_4 conc. doit dépasser de 1 cm^3 le volume total: prise + vol. $K_2Cr_2O_7$; on titrera l'excès de réactif au moyen de sel de *Mohr* 0,01 N et $KMnO_4$ 0,02 N. Le volume distillé permet de faire 3 ou 4 dosages. Les corrections et essais à blanc se déterminent de façon analogue à ce qui a été indiqué précédemment.

Expériences de contrôle.

A. 1 cm^3 de solution alcoolique titrée est amené à 10 cm^3. On procède au titrage direct, sans distillation.

titre théorique	cm^3 ‰	0,32	0,645	1,01	2,015	3,025
trouvé	cm^3 ‰	0,32	0,63	1,02	2,06	3,085

B. Distillation et dosage de 1 cm^3 solution titrée.

titre théorique	0,33	0,665	1,00	2,00	3,33
trouvé série I	0,345	0,69	1,005	1,985	3,345
trouvé série II . . .	—	—	1,02	2,01	3,33

C. Un prélèvement de sang fluoré, provenant d'un individu à jeun d'alcool, est additionné de doses d'alcool déterminées. Les analyses portent sur 1 gr. de chacun des échantillons ainsi obtenus.

Un contrôle, par macrométhode, donne, avant toute addition, une teneur de 0,025‰.

Alcool ajouté	0,00	0,34	0,72	1,05	2,055	3,305
Alcool trouvé (série I)	0,03	0,36	0,72	1,065	2,11	3,35
Alcool trouvé (série II)	0,01 et 0,06	0,375	0,745	1,055	2,125	3,375

[1]) *Nicloux, M., Le Breton, E.* et *Dontcheff, A.*, Bl. Soc. Chim. biol. **16**, 1314 (1934).

Les résultats ont été calculés en utilisant les facteurs de correction habituels. Si l'on tient compte des substances réductrices préexistantes, qui dans ce cas ne sont pas tout à fait négligeables (en moyenne 0,03), la concordance des résultats peut être considérée comme satisfaisante.

RÉSUMÉ.

1. La technique de dosage de l'alcool sanguin, décrite dans ce travail, est basée sur l'ancien procédé de *Nicloux*, modifié à deux points de vue: a) détermination de l'excès de $K_2Cr_2O_7$ par manganimétrie; b) interversion de l'ordre d'addition des réactifs et augmentation de la proportion d'acide sulfurique.

2. Cette double modification permet d'améliorer la précision de la méthode de façon très marquée. En multipliant les résultats par les facteurs correctifs suivants: solutions aqueuses pures 0,97; sangs fluorés 0,98; sangs coagulés 0,99, on obtient les chiffres théoriques avec une approximation de 1—2 %.

3. Cette technique donne le moyen de doser exactement l'alcool en présence d'acétone.

4. Elle nécessite normalement 5—10 cm³ de sang, mais sa sensibilité rend possible, en observant certaines précautions, de doser l'alcool dans 1 cm³ de sang avec une précision du même ordre.

Lausanne, Institut de chimie clinique.

---

103. Modellmässige Deutung der inneren Viskosität (der Formzähigkeit) von Fadenmolekeln II

von **Werner Kuhn** und **Hans Kuhn.**

(1. V. 46.)

In dem kürzlich erschienenen Teil I der vorliegenden Arbeit[1]) haben wir modellmässige Betrachtungen durchgeführt über die Entstehung einer Formzähigkeit von Fadenmolekeln auf Grund der Unvollkommenheit der Drehbarkeit um die in der Kette vorkommenden Valenzrichtungen als Achsen. Diese Betrachtungen werden nachstehend fortgesetzt, wobei sich die Numerierung von Abschnitten und Formeln an Teil 1 anschliesst.

5. Spannungsrelaxationszeit τ.

a) Qualitatives.

Wir haben gezeigt, dass eine Fadenmolekel, deren Endpunkte mit einer Geschwindigkeit h· relativ zueinander bewegt werden, der

[1]) Helv. **29**, 609 (1946).

Deformation eine mit $h^{\cdot}$ proportionale Kraft entgegensetzt (Gleichung 1). Es rührt dies davon her, dass eine Anregungsenergie q benötigt wird, wenn der eine Molekelteil durch Drehung um eine Kettenvalenz als Achse aus einer Winkelstellung minimaler potentieller Energie in eine benachbarte hinüberwechseln soll.

Auf Grund hiervon müssen wir uns vorstellen, dass sich bei Aufrechterhaltung einer endlichen Dehnungsgeschwindigkeit $h^{\cdot}$ gar nicht alle Molekelteile in Lagen minimaler potentieller Energie befinden, namentlich nicht hinsichtlich der Winkelstellungen φ, die bei Drehung um die Valenzrichtungen als Achsen durchlaufen werden. Es wird im Mittel eine von der Dehnungsgeschwindigkeit $h^{\cdot}$ abhängige potentielle Energie der Lage und dementsprechend neben der statistischen eine auf Energieelastizität beruhende, von $h^{\cdot}$ abhängige elastische Rückstellkraft auftreten.

Wenn die Dehnungsgeschwindigkeit $h^{\cdot}$ lange aufrechterhalten wird, so würde aber diese Energieaufspeicherung in der Molekel und damit die energetische Rückstellkraft zu beliebig hohen Beträgen anwachsen, wenn nicht auf Grund der an der Molekel trotz allem erfolgenden Muldenwechsel eine Neuordnung der gegenseitigen Lage der Molekelteile stattfinden würde, in solcher Weise, dass die mit der erzwungenen Formänderung verbundene Energieelastizität wieder verschwindet.

Wir erwarten hiernach: Wenn wir den Abstand zwischen Anfangs- und Endpunkt der von energetischen Spannungen freien Fadenmolekel rasch von h auf h + dh verändern, so rasch, dass während der für die Längenänderung erforderlichen Zeit keine Muldenwechsel stattfinden, so wird infolge von Drehungen der Molekelteile gegeneinander eine elastische Rückstellkraft energetischen Ursprungs auftreten, welche im Zeitpunkt $t = 0$ nach erfolgter Dehnung einen Betrag $\mathfrak{K}_{20}$ besitzen wird; wir erwarten weiter, dass diese Rückstellkraft anschliessend durch Ausnützung der teilweisen Drehbarkeiten absinkt, so dass sie im Zeitpunkt t den Betrag

$$\mathfrak{K}_2 = \mathfrak{K}_{20}\, e^{-\frac{t}{\tau}} \tag{41}$$

besitzen wird. Die Grösse τ ist die Spannungsrelaxationszeit, d. h. die Zeit, innerhalb deren die elastische Rückstellkraft auf den e-ten Teil des anfänglichen Betrages absinkt. Es entsteht die Frage nach dem Zusammenhang der Spannungsrelaxationszeit τ mit der Muldenwechselzeit ϑ_μ, der Mikroumdrehungszeit ϑ_μ^* und der Makrokonstellationswechselzeit Θ.

Es muss betont werden, dass sich diese Spannungsrelaxation bei den jetzt gemachten Voraussetzungen ausschliesslich auf einen Energieanteil der Spannung bezieht; daneben existiert eine

statistische Rückstellkraft $\mathfrak{R}_1$ (Gleichung 2), für welche eine Spannungsrelaxation, wenn der Betrag des Vektors h konstant gehalten wird, nicht in Frage kommt.

Die Beantwortung der gestellten Frage wird dadurch ermöglicht werden, dass Überlegungen, welche den Zusammenhang zwischen elastischen und viskosen Eigenschaften homogener Stoffe vermittelt haben, sinngemäss auf das elastische und viskose Verhalten einer einzelnen Fadenmolekel übertragen werden. Für homogene Stoffe, für welche ein einziger Zusammenhaltsmechanismus und eine einzige Relaxationszeit vorliegt, ist der Zusammenhang zwischen Viskosität und Elastizität von *Maxwell*[1]) gegeben worden; er wurde vor einigen Jahren von *W. Kuhn*[2]) auf den bei Hochpolymeren stets verwirklichten Fall verallgemeinert, dass nebeneinander mehrere Zusammenhaltsmechanismen mit verschiedenen Relaxationszeiten vorliegen. Wir werden sehen, dass schon bei der einzelnen Fadenmolekel eine nochmalige Verallgemeinerung der Problemstellung notwendig wird.

Um schrittweise vorzugehen, betrachten wir zuerst den einfachsten Fall, in dem die Beweglichkeit des Fadens von einer einzigen am Punkte y der Fig. 1[3]) lokalisierten, beschränkt freien Drehachse herrührt.

b) Spannungsrelaxationszeit τ_1 bei Vorliegen einer einzigen Drehachse mit beschränkt freier Drehbarkeit.

α) Torsionsbeanspruchung bei rascher Gestaltänderung des Fadens.

Lassen wir auf den Fadenendpunkt in Fig. 1 in Richtung des Vektors h eine Kraft $\mathfrak{R}_2$ wirken und nehmen wir zunächst an, dass eine Spannungsrelaxation nicht stattfindet, so erfolgt bei einer Drehung um die am Punkte y liegende Drehachse um einen kleinen Winkel α eine Verschiebung des Fadenendpunktes um einen Betrag

$$\Delta \mathrm{r} = \alpha \cdot \mathrm{h}' \sin \psi \tag{42}$$

wenn wir wiederum mit ψ den Winkel zwischen der betrachteten Drehachse und dem Vektor h′ bezeichnen. Die Komponente dieser Verschiebung Δr in der Richtung des Vektors h ist

$$\Delta \mathrm{h} = \alpha \mathrm{h}' \sin \psi \cdot \cos \varphi = \Delta \mathrm{r} \cdot \cos \varphi \tag{43}$$

wenn mit φ der Winkel bezeichnet wird, welchen die Richtung der Verschiebung Δr mit der des Vektors h einschliesst.

Falls, wie wir voraussetzten, Muldenwechsel zunächst ausgeschlossen sind, so wird für die Aufrechterhaltung der Längenänderung Δh eine Kraft $\mathfrak{R}_2$, welche in Richtung des Vektors h wirkt, notwendig

---

[1]) *J. C. Maxwell*, Philos. Mag [IV] **35**, 134 (1867).

[2]) *W. Kuhn*, Z. physikal. Ch. [B] **42**, 1 (1939); Z. angew. Ch. **52**, 289 (1939).

[3]) Helv. **29**, 617 (1946).

sein. Wird die Verzerrung vom Betrag Δh auf den Betrag $\Delta h + d(\Delta h)$ verändert, so wird infolgedessen eine Arbeitsleistung vom Betrage

$$dA = \mathfrak{K}_2 d(\Delta h) = \mathfrak{K}_2 h' \sin\psi \cos\varphi \, d\alpha = \mathfrak{K}_2 d(\Delta r) \cos\varphi \tag{44}$$

notwendig sein.

Diese Arbeitsleistung (44) muss gleich der Änderung der potentiellen Energie E sein, welche der Molekel dadurch erteilt wird, dass um die im Punkte y befindliche Bindung eine Drehung aus der Lage minimaler potentieller Energie heraus vom Betrage α auf $\alpha + d\alpha$ erfolgt.

Bezeichnen wir mit

$$\mathfrak{M}_\mu = \alpha \cdot Y \tag{45}$$

das Drehmoment, welches um die Drehachse wirken muss, um die Molekelteile aus der Lage minimaler potentieller Energie heraus um einen Winkel α gegeneinander zu drehen, so ist Y eine für die Bindung charakteristische Proportionalitätskonstante. Es wäre, genauer gesagt, Y das für die Erzeugung eines Torsionswinkels $\alpha = 1$ erforderliche Drehmoment. Die Konstante Y kann beispielsweise im Falle von Äthan aus der Frequenz der Torsionsschwingungen bestimmt werden. Über einen näherungsweisen Zusammenhang des Torsionswiderstandsfaktors Y mit der für einen Muldenwechsel erforderlichen Anregungsenergie vergleiche unten Gleichung (58).

Auf Grund von (45) ist die bei Änderung des Torsionswinkels von α auf $\alpha + d\alpha$ zu leistende Arbeit gleich

$$dA = \mathfrak{M}_\mu \cdot d\alpha = \alpha Y d\alpha \tag{45a}$$

und die Arbeit E, welche aufzuwenden ist, um den Torsionswinkel vom Betrage 0 auf den Wert α zu bringen, wäre entsprechend

$$E = \frac{\alpha^2}{2} Y \tag{45b}$$

Da nach dem Gesagten die Arbeitsbeträge (44) und (45a) dasselbe bedeuten, erhalten wir offenbar

$$\mathfrak{K}_2 h' \sin\psi \cos\varphi d\alpha = \alpha Y d\alpha$$

oder

$$\alpha = \frac{h' \sin\psi \cos\varphi}{Y} \mathfrak{K}_2 \tag{46}$$

Einsetzen der letzteren Beziehung in (43) ergibt jetzt

$$\Delta h = \frac{h'^2 \sin^2\psi \cos^2\varphi}{Y} \mathfrak{K}_2 \tag{46a}$$

Da die Winkel ψ statistisch verteilt sind, können wir, wie im Anschluss an Gleichung (16) näher begründet wurde, $\overline{\sin^2\psi} = 1/2$ setzen. Da φ der Winkel ist, welchen die Richtung der Verschiebung Δr mit dem Vektor h einschliesst, haben wir aus ähnlichen, im Anschluss an Gleichung (26) erläuterten Gründen $\overline{\cos^2\varphi} = 1/3$ zu setzen.

Es wird dann aus (46a):

$$\Delta h = \frac{1}{6} \mathfrak{K}_2 \frac{h'^2}{Y}$$

bzw. unter Berücksichtigung von (15):

$$\Delta h = \frac{1}{6} \mathfrak{K}_2 \left(\frac{L}{2} - y\right) A_m \frac{1}{Y} \tag{46b}$$

Wenn wir also eine Änderung des Vektors h des von energetischen Spannungen freien Fadens um den Betrag Δh so rasch vornehmen, dass eine Spannungsrelaxation durch Ausnützung von Drehbarkeiten nicht eintreten kann, so tritt eine Rückstellkraft energetischer Natur auf, welche von einer Torsion um die Achse beschränkt freier Drehbarkeit herrührt[1]) und welche im Zeitpunkt $t = 0$ nach Erzeugung der Verschiebung Δh den Betrag $\mathfrak{K}_{20}$ besitzt. Dabei ist

$$\mathfrak{K}_{20} = \frac{6\,Y}{\left(\frac{L}{2} - y\right) A_m} \cdot \Delta h = J_1 \cdot \Delta h \tag{46c}$$

Der Faktor

$$\frac{6\,Y}{\left(\frac{L}{2} - y\right) A_m} = J_1 \tag{47}$$

steht in einer gewissen Analogie zum Elastizitätsmodul ε bei homogenen Substanzen. Tatsächlich ist ja die Rückstellkraft bei der Dehnung eines homogenen Körpers proportional dem Dehnungsgrade mit einem Proportionalitätsfaktor ε, welcher als Elastizitätsmodul bezeichnet wird. Die Analogie wird sich bei der Beschreibung des elastisch-viskosen Verhaltens der Fadenmolekel einerseits, des homogenen Mediums anderseits wieder finden.

Wir stellen noch an Hand von (46c) und (47) fest, dass die bei einer Abstandsänderung von der Grösse $\Delta h = 1$ auftretende Gegenkraft J_1 von der Lage des Punktes y, an welcher sich die drehbare Bindung befindet, abhängt. Die Gegenkraft, also die Härte des Fadens, ist am kleinsten, wenn die drehbare Bindung bei $y = 0$, in der Mitte des Fadens liegt, am grössten, wenn y nahezu gleich L/2 ist, d. h., wenn dieselbe drehbare Bindung (Bindung mit demselben Y) in der Nähe des Fadenendpunktes liegt.

---

[1]) Wir nehmen bei dieser ganzen Betrachtung an, dass Änderungen des Valenzwinkelbetrages oder der Atomabstände in der Molekel nicht vorkommen; diese Annahme dürfte für eine Gestaltänderung statistisch geknäuelter Molekel gut erfüllt sein, da die für Änderungen des Atomabstandes oder des Valenzwinkels notwendige Energie viel grösser ist als die für eine Torsion um Achsen beschränkt freier Drehbarkeit.

β) Spannungsrelaxationszeit τ_1; Beziehung zur Formzähigkeitskonstante B_1.

Wir stellten zu Anfang dieses Abschnittes fest, dass die an der rasch gedehnten Fadenmolekel zunächst auftretende energetische Rückstellkraft (46c) abnimmt, wenn wir die Länge (auf dem Betrage $h + \Delta h$) nach erfolgter Dehnung konstant halten.

Wir erwarten, dass dies auch dann eintritt, wenn, wie wir jetzt angenommen haben, die Flexibilität des Fadens nur von einer am Punkte y lokalisierten Bindung herrührt. Wir vermuten also, dass durch an jener Bindung erfolgende Muldenwechsel eine Spannungsrelaxation eintrete, d. h., dass

$$\frac{d\mathfrak{K}_2}{dt} = -\frac{1}{\tau_1}\mathfrak{K}_2 \tag{48}$$

sein wird, wo $1/\tau_1$ die durch die eine Bindung bewirkte Abklingungskonstante ist. Anschliessend an die konstant gehaltene Verzerrung Δh erwarten wir also (durch Integration von 48):

$$\mathfrak{K}_2 = \mathfrak{K}_{20}\, e^{-\frac{t}{\tau_1}} \tag{49}$$

Beziehung zur Formzähigkeit: Wir zeigen jetzt weiter, dass wir die Formzähigkeitskonstante B_1, welche wir in anderer Weise in Gleichung (39) bestimmt hatten, angeben können, sobald wir τ_1 in (48) und J_1 von Gleichung (47) als bekannt voraussetzen. Zu diesem Zwecke setzen wir die zeitliche Änderung, welche die Kraft $\mathfrak{K}_2$, welche auf die Fadenendpunkte wirkt, erfährt, wenn wir den Abstand h zwischen Anfangs- und Endpunkt der Fadenmolekel mit einer konstanten Geschwindigkeit $\dot{h}$ ändern, gleich Null. Wie in Teil I denken wir uns dabei die Fadenmolekel in einem Lösungsmittel mit verschwindend kleiner Viskosität eingebettet, so dass die zu leistende Arbeit nur zur Überwindung der inneren Zähigkeit des Fadens aufzuwenden ist.

Dehnen wir den Faden mit konstanter Geschwindigkeit $\dot{h}$, so haben wir einerseits nach (46b) einen Spannungszuwachs von der Grösse

$$\frac{d\mathfrak{K}_2}{dt} = \frac{dh}{dt}\,\frac{6\,Y}{\left(\frac{L}{2} - y\right) A_m} \tag{50}$$

Anderseits erfolgt nach (48) infolge Relaxation eine mit der gerade vorhandenen Spannung proportionale Spannungsabnahme. Im stationären Zustande muss, wie gesagt, die Summe von (48) und (50) gleich Null sein, also

$$\frac{1}{\tau_1}\mathfrak{K}_2 = \frac{dh}{dt}\,\frac{6\,Y}{\left(\frac{L}{2} - y\right) A_m}$$

Es muss also, wenn eine konstante Deformationsgeschwindigkeit $\dot{h}$ aufrechterhalten werden soll, auf die Fadenendpunkte eine konstante Kraft $\mathfrak{K}_2$ wirken vom Betrage

$$\mathfrak{K}_2 = \frac{6\,Y\tau_1}{\left(\frac{L}{2} - y\right) A_m} \frac{dh}{dt} \tag{51}$$

Genauer gesagt: Die auf die Endpunkte wirkende Gesamtkraft muss die statistische Rückstellkraft $\mathfrak{K}_1$ (Gleichung 2), vermehrt um eventuelle Diffusionskräfte, um den Betrag $\mathfrak{K}_2$ übertreffen, solcherweise, dass $\mathfrak{K}_2$ die nach Kompensation aller übrigen Kräfte für die Erzielung einer Deformationsgeschwindigkeit verfügbare Kraft ist.

Der Vergleich mit Gleichung (1) liefert uns sofort die Formzähigkeitskonstante, die wir im jetzigen Falle mit B_1 bezeichnen müssen, da das Formänderungsvermögen der Molekel auf eine einzige Drehbarkeit zurückgeführt wird. Es wird:

$$B_1 = \frac{6\,Y\tau_1}{\left(\frac{L}{2} - y\right) A_m} \tag{52}$$

oder unter Benützung der Beziehung (47):

$$B_1 = J_1\tau_1 \tag{53}$$

Die Konstante B_1, welche der inneren Viskosität des Fadens Rechnung trägt, ist also gleich dem Produkt aus der dem Elastizitätsmodul analogen Starrheitskonstante J_1 und der Relaxationszeit τ_1. [J_1 wäre ja die elastische Rückstellkraft (energetischen Ursprungs) mit welcher sich der Faden nach plötzlicher Dehnung um $\Delta h = 1$ zusammenzuziehen bestrebt.]

Die Beziehung (53) steht in völliger Analogie zu der eingangs erwähnten *Maxwell*schen Beziehung, nach welcher der Koeffizient η der inneren Reibung einer Flüssigkeit gleich ist dem Produkt aus dem Torsionsmodul G_1 und der Spannungsrelaxationszeit τ_1 einer Substanz, deren viskos-elastisches Verhalten durch einen einzigen Zusammenhaltsmechanismus beschrieben wird; in Formeln:

$$\eta = G_1\tau_1 \tag{54}$$

γ) Beziehung zur Muldenwechselzeit und Mikroumdrehungszeit.

Eine Beziehung der Spannungsrelaxationszeit τ_1 der am Punkte y befindlichen Bindung zu den weiteren für die Bindung charakteristischen Grössen erhalten wir, indem wir B_1 aus (39) in (52) einsetzen. Wir erhalten dann, indem wir gleichzeitig nach τ_1 auflösen:

$$\tau_1 = \frac{6\,kT}{\sqrt{2}\,\varphi_\mu} \sqrt{\frac{M_g}{A_m\,b\,q\,N_L}} \frac{e^{\frac{q}{kT}}}{6\,Y} \left(\frac{L}{2} - y\right) A_m = \frac{kT}{\sqrt{2}\,Y\varphi_\mu} \left(\frac{L}{2} - y\right) \sqrt{\frac{M_g A_m}{b\,q\,N_L}}\, e^{\frac{q}{kT}} \tag{55}$$

Hierin ist Y gemäss (45) das Drehmoment, welches um die Rotationsachse wirken muss, um, ausgehend von einer Lage minimaler potentieller Energie, eine Drehung um den Winkel $\alpha = 1$ zu

erzwingen; φ_μ ist der Winkel, um den wir die Molekelteile gegeneinander drehen müssen, um von einer Lage minimaler potentieller Energie in eine benachbarte, energetisch gleichwertige Lage zu gelangen; M_g ist das Molgewicht der Grundmolekel, q die für einen Muldenwechsel erforderliche Anregungsenergie, A_m der Vorzugswert der Länge des statistischen Fadenelementes, b die hydrodynamische Länge des monomeren Restes, y die dem Faden entlang gemessene Entfernung zwischen Molekelmittelpunkt und derjenigen Bindung, um welche Drehbarkeit vorliegt. Wir sehen, dass alle in (55) rechtsstehenden Grössen bis auf y vom Ort, an welchem die drehbare Bindung liegt, unabhängig sind. Es ist somit die Spannungsrelaxationszeit τ_1 vom Ort, an welchem die Drehbarkeit lokalisiert ist, abhängig; die Spannungsrelaxationszeit ist am grössten, wenn die die Relaxation verursachende Drehbarkeit in der Nähe des Fadenmittelpunktes lokalisiert ist.

Eine Beziehung der Spannungsrelaxationszeit τ_1 zu der früher eingeführten Muldenwechselzeit ϑ_μ erhalten wir, indem wir $(L/2 - y)$ aus (21) berechnen und in (55) einführen. Wir erhalten dann

$$\tau_1 = \frac{2\,kT}{Y\,\varphi_\mu^2}\,\vartheta_\mu \tag{56}$$

Es ist also τ_1 proportional, jedoch nicht etwa gleich der Muldenwechselzeit ϑ_μ; der Proportionalitätsfaktor hängt u. a. von dem zwischen zwei benachbarten Energiemulden liegenden Winkel φ_μ, dagegen nicht vom Orte, an welchem die drehbare Bindung im Molekelfaden angebracht ist, ab.

In ähnlicher Weise erhalten wir als Beziehung zwischen τ_1 und der Mikroumdrehungszeit ϑ_μ^* der die Relaxation verursachenden Bindung (durch Einsetzen von (22) in (55)):

$$\tau_1 = \frac{1}{\pi^2}\,\frac{kT}{Y}\,\vartheta_\mu^* \tag{57}$$

Es ist also die Spannungsrelaxationszeit τ_1 proportional der Mikroumdrehungszeit ϑ_μ^*, unabhängig von der Grösse des Muldenwinkels φ_μ und unabhängig davon, an welchem Punkte des Fadens die die Relaxation verursachende Drehachse gelegen ist. Dagegen ist ϑ_μ^* selber (sowie auch ϑ_μ) vom Ort y, an dem die Drehachse lokalisiert ist, abhängig (Gleichung 21 und 22).

δ) Beziehung zwischen Torsionswiderstandsfaktor Y und Anregungsenergie q.

Durch eine weitere Überlegung ist es möglich, die in (55) bis (57) vorkommende, in Gleichung (45) definierte Konstante Y mit dem Muldenwinkel φ_μ und der für einen Muldenwechsel notwendigen Anregungsenergie q, wenigstens annähernd, in Beziehung zu bringen.

(45b) gibt uns ja die Energie, welche wir aufwenden müssen, um die Molekelteile [ausgehend von einer Lage minimaler potentieller Energie] um einen Winkel α gegeneinander zu drehen. Eigentlich gilt (45b) nur für kleine Beträge des Winkels α. Mit einiger Näherung wird sie aber auch bei etwas grösserem Betrage von α noch gültig sein; im allgemeinen steigt E bei grösseren Werten von α etwas überproportional, später weniger als proportional an, um beim Werte $\alpha = \varphi_\mu/2$ ein Maximum, nämlich den für einen Muldenwechsel erforderlichen kritischen Wert q zu erreichen. In roher Näherung erhalten wir daher die für einen Muldenwechsel erforderliche Anregungsenergie q, wenn wir die Grösse α in (45b) gleich $\varphi_\mu/2$ setzen. Wir erhalten so:

$$q = \frac{\varphi_\mu^2}{8} Y \quad \text{oder} \quad Y = \frac{8q}{\varphi_\mu^2} \tag{58}$$

Indem wir dies in (55) bis (57) einsetzen, erhalten wir Beziehungen zwischen der Spannungsrelaxationszeit τ_1 und den die Fadenmolekel bzw. die Drehbarkeit der Bindung kennzeichnenden Konstanten:

$$\tau_1 = \frac{kT}{8\sqrt{2q}} \varphi_\mu \left(\frac{L}{2} - y\right) \sqrt{\frac{M_g A_m}{bqN_L}} e^{\frac{q}{kT}} \tag{55a}$$

$$\tau_1 = \frac{kT}{4q} \vartheta_\mu \tag{56a}$$

$$\tau_1 = \frac{1}{8\pi^2} \frac{kT}{q} \varphi_\mu^2 \vartheta_\mu^* \tag{57a}$$

Es bleibt nach diesen Beziehungen die bereits im Anschluss an (55) hervorgehobene Feststellung, dass die Spannungsrelaxationszeit τ_1 einer Fadenmolekel, deren Relaxation auf den Muldenwechseln einer an der Stelle y gelegenen, beschränkt freien Rotationsachse beruht, bei gegebener Natur dieser beschränkten Drehbarkeit (bei gegebener Anregungsenergie q) davon abhängt, ob die Rotationsachse ungefähr in der Mitte des Fadens oder in der Nähe eines Fadenendes lokalisiert ist.

Wenn sich die Achse teilweiser Drehbarkeit in der Nähe der Fadenmitte befindet ($y = 0$), ist die Starrheitskonstante J_1 der Molekel besonders klein (Gleichung 47 und 46c), gleichzeitig aber die Spannungsrelaxationszeit τ_1 gross (Gleichung 55a); in diesem Falle wird die Molekel schon durch kleine Kräfte stark elastisch deformiert; es nehmen aber die so hervorgerufenen energetischen Spannungen durch Relaxation nur langsam ab. Eine in der Nähe des Fadenendpunktes lokalisierte Achse beschränkter Drehbarkeit ($y \simeq L/2$) liefert dagegen (bei gleichem q usw.) eine kleinere elastische Deformierbarkeit (grössere Starrheitskonstante J_1), bei gleichem Δh eine grössere elastische Spannung, die aber auch rascher infolge Relaxation abklingt.

c) Spannungsrelaxationszeit bei Vorliegen vieler Drehachsen mit beschränkter Drehbarkeit in derselben Fadenmolekel.

Wir gehen jetzt wieder zu den wirklichen Fadenmolekeln über, bei welchen nebeneinander viele, in bezug auf den q-Wert gleiche Drehachsen, über den ganzen Faden verteilt, vorliegen. Die vorhin beschriebenen Unterschiede im Verhalten der nahe der Fadenmitte bzw. nahe dem Fadenende liegenden Drehachsen werden dabei weitgehend erhalten bleiben. Es werden also bei Einwirkung einer Kraft in Richtung des Vektors h die nahe der Fadenmitte liegenden Achsen grosse Drehwinkel aufweisen und bei anschliessend konstant gehaltener Verzerrung Δh langsam relaxieren, während die nahe dem Fadenende liegenden Achsen kleine Drehwinkel aufweisen und rasch relaxieren. Das Vorkommen einer Mehrzahl von in Serie liegenden verschieden starken elastischen Widerstandselementen mit unter sich verschiedenen Relaxationszeiten macht es notwendig, die durch äussere Kräfte hervorgerufenen Deformationsvorgänge und den Spannungsverlauf sorgfältig zu untersuchen.

d) Längenänderung Δh unter Einwirkung einer Kraft $\mathfrak{K}_2$ bei Fehlen von Relaxationseffekten.

Zu diesem Zwecke lassen wir auf den Fadenendpunkt in Richtung des Vektors h wiederum eine Kraft $\mathfrak{K}_2$ wirken. Wir fragen nach der Deformation des Fadens, d. h. nach der Änderung der Länge des Vektors h (zwischen Fadenanfangs- und -endpunkt) in einem Zeitpunkt, in welchem die durch Torsion um Drehachsen entstandenen Spannungen (welche der Kraft $\mathfrak{K}_2$ das Gleichgewicht halten) noch nicht infolge Muldenwechsels abgeklungen sind.

Wie wir vorhin gesehen haben (Gleichung 46b), führt die Existenz einer am Punkte y gelegenen Achse beschränkter Drehbarkeit im Mittel bei Einwirkung der Kraft $\mathfrak{K}_2$ zu einer Veränderung des Vektors h um

$$\Delta h_1 = \frac{\mathfrak{K}_2}{J_1} = \mathfrak{K}_2 \frac{A_m}{6\,Y}\left(\frac{L}{2} - y\right) \tag{59}$$

Auf einer in der Nähe des Punktes y dem Faden entlang gemessenen Strecke von der Länge dy befinden sich, wie wir in Teil I in Anschluss an Gleichung (24) gezeigt haben, $j_\mu \cdot dy/b$ Achsen beschränkter Drehbarkeit, von denen jede unter Wirkung der Kraft $\mathfrak{K}_2$ im Mittel eine Verschiebung des Fadenendpunktes um den in (59) angegebenen Betrag liefert. Es wird daher zufolge der Existenz der auf dem genannten Fadenstück befindlichen Achsen beschränkter Drehbarkeit unter Wirkung der Kraft $\mathfrak{K}_2$ eine Verschiebung des Fadenendpunktes gegen den Anfangspunkt hervorgebracht vom Betrage

$$(\Delta h)_{y,\,y+dy} = \frac{j_\mu}{b}\,\frac{\mathfrak{K}_2}{6\,Y}\,A_m\left(\frac{L}{2} - y\right) dy \tag{60}$$

Die Verschiebung Δh, welche die Kraft $\mathfrak{K}_2$ am Gesamtfaden herbeiführt, indem sich an sämtlichen $Z \cdot j_\mu$ Achsen mehr oder weniger grosse Torsionen ergeben, erhalten wir, wenn wir (60) von $y = 0$ bis $L/2$ integrieren und das Ergebnis mit 2 multiplizieren (Berücksichtigung beider Fadenhälften). Wir erhalten dann

$$\Delta h = 2 \int_0^{\frac{L}{2}} \mathfrak{K}_2 \frac{A_m}{6\,Y} \frac{j_\mu}{b} \left(\frac{L}{2} - y\right) dy = \frac{A_m}{24\,Y} \frac{j_\mu}{b} L^2 \cdot \mathfrak{K}_2 \tag{61}$$

Ganz allgemein gilt offenbar für eine Molekel, welche n in Serie liegende Zusammenhaltsmechanismen enthält, von denen der erste für sich unter Wirkung der Kraft $\mathfrak{K}_2$

$$\Delta h_1 = \frac{\mathfrak{K}_2}{J_1}$$

der zweite

$$\Delta h_2 = \frac{\mathfrak{K}_2}{J_2} \tag{61a}$$

liefert usw.:

$$\Delta h = \mathfrak{K}_2 \left[\frac{1}{J_1} + \frac{1}{J_2} + \cdots + \frac{1}{J_n}\right] \tag{61b}$$

oder

$$\mathfrak{K}_2 = J \cdot \Delta h \tag{61c}$$

wobei

$$\frac{1}{J} = \frac{1}{J_1} + \frac{1}{J_2} + \cdots + \frac{1}{J_n} \tag{61d}$$

ist.

Hiernach und gemäss (61) können wir auch die durch die Kraft $\mathfrak{K}_2$ bewirkte Verzerrung Δh der $Z \cdot j_\mu$ Achsen beschränkter Drehbarkeit enthaltenden Fadenmolekel durch die Beziehung (61c) darstellen, wobei wir zu setzen haben

$$J = \frac{24\,Y\,b}{j_\mu \cdot A_m L^2} \tag{62}$$

oder unter Berücksichtigung von (58) und (6):

$$J = \frac{192 \cdot q}{\varphi_\mu^2 \cdot j_\mu A_m\, b \cdot Z^2} \tag{62a}$$

Nach (61c) ist J die Kraft, welche wir aufwenden müssen, um den Abstand h einer zunächst spannungsfreien Fadenmolekel um 1 cm zu verändern, und zwar so rasch, dass während der Erzeugung der Längenänderung keine Muldenwechsel vorkommen. Analog dazu wie J_1 (Gleichung 47) der Härteparameter des mit einer einzigen Drehachse versehenen Modells war, stellt J (Gleichung 62) einen die Gesamtmolekel kennzeichnenden energieelastischen Härteparameter dar, welcher dem Elastizitätsmodul homogener Substanzen an die Seite gestellt werden kann.

Aus (61) oder (62) entnehmen wir die interessante Feststellung, dass die energieelastische Verzerrung, welche eine Fadenmolekel im

Mittel unter der Wirkung einer Kraft $\mathfrak{K}_2$ erfährt, mit dem Quadrat des Polymerisationsgrades Z ansteigt. Die durch dieselbe Kraft $\mathfrak{K}_2$ bewirkte Längenänderung Δh ist also beispielsweise für eine Molekel vom Polymerisationsgrad 3Z 9mal grösser als für eine vom Polymerisationsgrad Z.

β) Relaxationseffekt bei einem System vieler, verschieden rasch relaxierender, in Serie liegender Zusammenhaltsmechanismen.

Wie wir eingangs dieses Abschnittes qualitativ überlegten, wird die energieelastische, auf den Faden wirkende Rückstellkraft nach rascher Hervorbringung einer Dehnung Δh und nachheriger Konstanthaltung des Abstandes (auf dem Betrage $h + \Delta h$) nur so lange durch (61c) gegeben sein, als in dem (nunmehr etwas energieelastisch gespannten Faden) keine Muldenwechsel stattgefunden haben. Infolge der in Wirklichkeit stattfindenden Muldenwechsel wird ein allmähliches Relaxieren des energieelastischen Spannungsanteils $\mathfrak{K}_2$, vermutlich gemäss Gleichung (41), eintreten.

Bei der durch die Dehnung Δh energieelastisch beanspruchten Fadenmolekel treten indessen gleichzeitig eine Vielzahl von Zusammenhaltsmechanismen (Rotationsachsen) auf, welche gemäss Gleichung (47) verschiedene Härtekonstanten J_i und gemäss Gleichung (55) unter sich verschiedene Relaxationszeiten τ_i (je nach dem Ort y, an welchem die Drehachsen liegen) besitzen. Die J_i und τ-Werte sind uns gemäss Vorstehendem alle bekannt. Wir müssen daher die Frage behandeln, wie ein aus n in Serie befindlichen Zusammenhaltsmechanismen bestehendes System relaxiert, wenn von jedem einzelnen Mechanismus die Härtekonstante J_i und die Relaxationszeit τ_i (welche der einzelne Zusammenhaltsmechanismus für sich allein zeigen würde) bekannt ist.

Zu diesem Zwecke betrachten wir zunächst ein System, welches aus zwei in Serie geschalteten Zusammenhaltsmechanismen besteht. Die beiden Zusammenhaltsmechanismen seien durch die Härtekonstanten J_1 und J_2 (definiert durch Gleichung 61a) und durch die Relaxationszeiten τ_1 und τ_2 gekennzeichnet (Fig. 2).

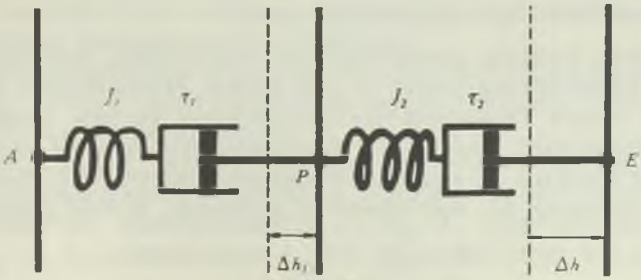


Fig. 2.

Der Endpunkt E des Systems werde um den Betrag Δh in der Richtung des Vektors h zwischen Anfangspunkt A und Endpunkt E verschoben. Nach Gleichung (61c und d) tritt dann im ersten Augenblick eine rücktreibende Kraft auf von der Grösse:

$$\mathfrak{K}_0 = \frac{\Delta h}{\frac{1}{J_1} + \frac{1}{J_2}} \tag{63}$$

Gefragt wird nach der Änderung, welche die rücktreibende Kraft $\mathfrak{K}$ erfährt, wenn anschliessend an die Dehnung Δh der Abstand zwischen Anfangspunkt A und Endpunkt E konstant gehalten wird. Da die beiden Mechanismen mit verschiedener Geschwindigkeit relaxieren, erkennen wir sofort, dass sich die beiden Zusammenhaltsmechanismen in der an die Dehnung Δh anschliessenden Relaxationsperiode in einer zeitlich wechselnden Weise beeinflussen. Ohne die Allgemeinheit der Betrachtung einzuschränken, können wir annehmen, der Zusammenhaltsmechanismus 2 habe eine gegenüber dem Zusammenhaltsmechanismus 1 grosse Relaxationszeit.

Der zu Beginn des Versuchs erzwungenen Verschiebung des Endpunktes E um den Betrag Δh entspricht dann, ebenfalls zu Beginn des Versuchs, eine Verschiebung Δh_1 des Punktes P in Fig. 2, in welchem die beiden Mechanismen miteinander verknüpft sind. Würden wir jetzt, anschliessend an die Verschiebung Δh des Endpunktes, auch die Verschiebung Δh_1 des Punktes P konstant halten, so müssten wir feststellen, dass nach einer gewissen Zeit (ungefähr der Zeit τ_1) die im Mechanismus 1 vorhandene Rückstellkraft abgeklungen ist, während die im Mechanismus 2 vorhandene Kraft (wegen $\tau_2 \gg \tau_1$) praktisch noch ungeschwächt geblieben ist. Dies bedeutet aber, dass in Wirklichkeit dann, wenn der Verknüpfungspunkt P nicht festgehalten wird, ein Wandern von P in Richtung nach dem mit grösserer Relaxationszeit behafteten Mechanismus (in Fig. 2 nach rechts hin) stattfinden wird. Dadurch wird der Mechanismus 1 erneut gespannt, während der Mechanismus 2 teilweise entspannt wird. Es findet also eine gegenseitige Beeinflussung im Abklingen der an den beiden Mechanismen ursprünglich erzeugten energieelastischen Spannungsanteile statt.

Um den Vorgang quantitativ zu beschreiben, stellen wir fest, dass der Verknüpfungspunkt P der beiden Mechanismen in einem Zeitpunkt t nach Erzeugung der Deformation Δh eine Geschwindigkeit v besitzen wird. Zufolge des Vorhandenseins dieser Geschwindigkeit v des Punktes P wird am Zusammenhaltsmechanismus 1 eine zeitliche Änderung der Spannkraft $\mathfrak{K}$ auftreten, welche gegeben wird durch

$$\frac{d\mathfrak{K}}{dt} = -\frac{\mathfrak{K}}{\tau_1} + J_1 \cdot v \tag{64a}$$

Die an diesem Mechanismus vorhandene Spannung wird nämlich infolge Abklingens (Relaxationszeit τ_1) eine Abnahme erfahren vom Betrage

$$\frac{d\mathfrak{K}}{dt} = -\frac{\mathfrak{K}}{\tau_1}$$

andererseits aber infolge Verschiebung des Punktes P eine Zunahme um den Betrag

$$\frac{d\mathfrak{K}}{dt} = J_1 \frac{d(\Delta h_1)}{dt} = J_1 \cdot v$$

Für den Mechanismus 2 gilt aus analogen Gründen:

$$\frac{d\mathfrak{K}}{dt} = -\frac{\mathfrak{K}}{\tau_2} - J_2 \cdot v \tag{64b}$$

Wenn wir (64a) mit J_2 und (64b) mit J_1 erweitern und die so entstehenden Gleichungen addieren, erhalten wir

$$(J_1 + J_2)\frac{d\mathfrak{K}}{dt} = -\frac{\mathfrak{K} J_2}{\tau_1} - \frac{\mathfrak{K} J_1}{\tau_2} = -\mathfrak{K} J_1 J_2 \left(\frac{1}{\tau_1 J_1} + \frac{1}{\tau_2 J_2}\right)$$

oder, indem wir beide Seiten der Gleichung durch $(J_1 + J_2)$ teilen:

$$\frac{d\mathfrak{K}}{dt} = -\frac{\mathfrak{K}}{\tau_{1,2}} \tag{65}$$

wobei:

$$\tau_{1,2} = \frac{\dfrac{1}{J_1} + \dfrac{1}{J_2}}{\dfrac{1}{\tau_1 \cdot J_1} + \dfrac{1}{\tau_2 \cdot J_2}} \tag{65a}$$

gesetzt ist.

Die Beziehung (65) sagt aus: das System, welches aus zwei in Serie wirkenden verschieden harten und verschieden rasch relaxierenden Zusammenhaltsmechanismen besteht, benimmt sich hinsichtlich des Abklingens der durch rasche Dehnung erzeugten mechanischen Spannung wie ein einheitlicher Zusammenhaltsmechanismus mit einer einzigen durch Gleichung (65a) gegebenen Relaxationszeit. Das System ist in seinem Verhalten hinsichtlich Gesamtdeformation und Spannungsrelaxation von einem einheitlichen Mechanismus nicht zu unterscheiden.

Ganz anders verhalten sich die von *W. Kuhn* erstmals betrachteten parallel geschalteten Zusammenhaltsmechanismen[1]), welche, wie man leicht erkennt, unabhängig voneinander, jeder mit seiner eigenen Relaxationszeit, abklingen.

Die Beziehung (65, 65a) lässt sich leicht auf ein System von beliebig vielen hintereinandergeschalteten Zusammenhaltsmechanismen erweitern.

Betrachten wir nämlich zunächst ein System, welches aus drei in Serie geschalteten Mechanismen besteht. Die drei Mechanismen seien durch die Härteparameter J_1, J_2, J_3 und die Relaxationszeiten τ_1, τ_2, τ_3 gekennzeichnet. Wir erkennen, dass wir nach dem

[1]) *W. Kuhn*, l. c.

Gesagten je zwei, etwa die beiden ersten, zu einem einzelnen Zusammenhaltsmechanismus mit einer durch (65a) gegebenen Relaxationszeit und einer Härtekonstante $J_{1,2}$ zusammenfassen können. Für letztere ist nach (61d) zu setzen:

$$J_{1,2} = \frac{1}{\frac{1}{J_1} + \frac{1}{J_2}} \quad \text{oder} \quad \frac{1}{J_{1,2}} = \frac{1}{J_1} + \frac{1}{J_2} \tag{66}$$

Es folgt dann wiederum aus (65a) der Reihe nach:

$$\tau_{1,2,3} = \frac{\frac{1}{J_{1,2}} + \frac{1}{J_3}}{\frac{1}{\tau_{1,2} \cdot J_{1,2}} + \frac{1}{\tau_3 J_3}} = \frac{\frac{1}{J_1} + \frac{1}{J_2} + \frac{1}{J_3}}{\left(\frac{1}{J_1} + \frac{1}{J_2}\right) \frac{\frac{1}{\tau_1 J_1} + \frac{1}{\tau_2 J_2}}{\frac{1}{J_1} + \frac{1}{J_2}} + \frac{1}{\tau_3 J_3}}$$

oder

$$\tau_{1,2,3} = \frac{\frac{1}{J_1} + \frac{1}{J_2} + \frac{1}{J_3}}{\frac{1}{\tau_1 J_1} + \frac{1}{\tau_2 J_2} + \frac{1}{\tau_3 J_3}} \tag{67}$$

Analog hierzu wird die Relaxationszeit eines Systems, das aus n hintereinandergeschalteten Zusammenhaltsmechanismen besteht, gleich:

$$\tau = \frac{\frac{1}{J_1} + \frac{1}{J_2} + \cdots + \frac{1}{J_n}}{\frac{1}{\tau_1 J_1} + \frac{1}{\tau_2 J_2} + \cdots + \frac{1}{\tau_n J_n}} \tag{68}$$

Dabei war der Härteparameter J desselben Systems durch (61d) gegeben. Wir könnten also anstatt (68) auch setzen:

$$\tau = \frac{1}{J\left[\frac{1}{\tau_1 J_1} + \frac{1}{\tau_2 J_2} + \cdots + \frac{1}{\tau_n J_n}\right]} \tag{68a}$$

γ) Spannungsrelaxationszeit der Fadenmolekel.

In Gleichung (68) haben wir eine Beziehung gefunden, welche uns gestattet, die Relaxation eines Systems anzugeben, welches beliebig viele verschiedene Zusammenhaltsmechanismen in Serie enthält, sobald die Härtekonstanten J_i und die Relaxationszeiten τ bekannt sind, welche die einzelnen Mechanismen, wenn sie allein wären, besitzen würden; anderseits können wir allen in der Fadenmolekel vorkommenden, beschränkt freien Drehachsen je eine vom Ort, an dem sie sich befinden, abhängige Härtekonstante J_1 (Gleichung 47) und eine Relaxationszeit τ_1 (Gleichung 55) zuordnen.

Wir sind auf Grund dieser beiden Feststellungen in der Lage, der statistisch geknäuelten Fadenmolekel als Gesamtheit eine Spannungsrelaxationszeit τ zuzuordnen und deren

Zahlenwert anzugeben. Wir haben nur den Zähler und den Nenner von (68) je durch das entsprechende Integral zu ersetzen.

Die Ersetzung der im Zähler von (68) stehenden Summe durch ein Integral und dessen Auswertung haben wir bereits in Gleichung (61) behandelt. Wir erhielten (nach 62):

$$\frac{1}{J} = \sum_i \frac{1}{J_i} = \frac{j_\mu A_m b Z^2}{24\,Y} \tag{68b}$$

Der einzelne Summand des Nenners von (68) lautet nach Gleichung (47) und (55):

$$\frac{1}{J_1 \tau_1} = \frac{\sqrt{2}\,A_m \varphi_\mu}{6\,kT} \sqrt{\frac{bqN_L}{M_g A_m}}\, e^{-\frac{q}{kT}}$$

Der Beitrag eines dem Faden entlang gemessenen Fadenstücks von der Länge dy in der Nähe des Punktes y liefert also zum Nenner von (68) den Beitrag

$$\frac{1}{b}\, j_\mu \cdot dy\, \frac{\sqrt{2}\,\varphi_\mu}{6\,kT} \sqrt{\frac{bqN_L A_m}{M_g}}\, e^{-\frac{q}{kT}}$$

und die Integration über die beiden Fadenhälften liefert sofort

$$\sum_i \frac{1}{\tau_i J_i} = \frac{\sqrt{2}\,j_\mu \varphi_\mu L}{6\,kT} \sqrt{\frac{qN_L A_m}{bM_g}}\, e^{-\frac{q}{kT}} \tag{68c}$$

Für die Spannungsrelaxationszeit τ des Gesamtfadens ergibt sich also durch Bildung des Quotienten von (68b) und (68c) (wenn in (68b) noch Z durch L/b ersetzt wird):

$$\tau = \frac{kT\,L}{4\sqrt{2}\,\varphi_\mu Y} \sqrt{\frac{A_m M_g}{qbN_L}}\, e^{\frac{q}{kT}} \tag{69}$$

oder

$$\tau = \frac{kT\,Z}{4\sqrt{2}\,\varphi_\mu Y} \sqrt{\frac{A_m b M_g}{qN_L}}\, e^{\frac{q}{kT}} \tag{69a}$$

Wir stellen fest, dass hiernach die Spannungsrelaxationszeit τ in einer polymerhomologen Reihe proportional mit dem Polymerisationsgrade Z ansteigt.

Sie ist genau halb so gross als die Spannungsrelaxationszeit, welche man erhalten würde, wenn die Deformierbarkeit und Spannungsrelaxation ausschliesslich durch Bindungen, welche in der Fadenmitte lokalisiert sind, hervorgerufen würden. (Es ist dies der Wert von τ, den man erhält, wenn man in (55) $y = 0$ setzt).

Bei der Diskussion von (55) haben wir schon darauf hingewiesen, dass die nahe der Fadenmitte (bei $y = 0$) liegenden Bindungen am langsamsten, die in der Nähe des Fadenendes liegenden am schnellsten relaxieren, während die Deformierbarkeit der Molekel hauptsächlich von den nahe der Fadenmitte herrührenden Achsen be-

schränkter Drehbarkeit herrührt (kleiner Wert von J_1, gemäss Gleichung 47). Beim raschen Dehnen um Δh werden also namentlich die der Fadenmitte benachbarten (weichen) langsam relaxierenden Drehachsen auf Torsion beansprucht; die raschere Relaxation der dem Fadenende benachbarten Drehachsen setzt dann die effektive Relaxationszeit auf die Hälfte der bei alleiniger Betätigung der Fadenmitte zu erwartenden Relaxationszeit herab.

In ähnlicher Weise wie wir beim Übergang von (56) zu (56a) die Torsionskonstante Y der beschränkt drehbaren Bindung mit Hilfe der Beziehung (58) angenähert haben, können wir auch in (69) oder (69a) die Grösse Y aus (58) einsetzen. Wir erhalten dann beispielsweise anstatt (69):

$$\tau = \frac{1}{32 \cdot \sqrt{2}} \frac{kT\varphi_\mu \cdot L}{q} \sqrt{\frac{M_g A_m}{N_L q b}} e^{\frac{q}{kT}} \tag{70}$$

oder anstatt (69a)

$$\tau = \frac{kT\varphi_\mu \cdot Z}{32 \cdot \sqrt{2q}} \sqrt{\frac{A_m b M_g}{N_L q}} e^{\frac{q}{kT}} \tag{70a}$$

Berücksichtigen wir, dass q/kT eine Grösse ist, welche nicht sehr grosse Zahlenwerte annehmen wird, wenn überhaupt von einer bemerkenswerten Drehbarkeit der Bindungen die Rede sein soll, so können wir durch Vergleich von (70) mit (21) erkennen, dass die dem Gesamtfaden zuzuschreibende Spannungs-Relaxationszeit τ zwar deutlich kleiner, aber doch nur um einen Zahlenfaktor verschieden ist von der durchschnittlichen Muldenwechselzeit ϑ_μ einer in der Nähe der Fadenmitte (bei $y = 0$) befindlichen Drehachse.

Es ist interessant, die Spannungs-Relaxationszeit τ auch mit der Makrokonstellationswechselzeit Θ zu vergleichen. Durch Gegenüberstellung von (28) mit (70) erhalten wir:

$$\tau = \frac{kTLj_\mu}{48\,Yb}\,\Theta \tag{71}$$

oder, indem wir L aus (6) und Y aus (58) einsetzen:

$$\tau = \frac{kTZj_\mu}{48\,Y}\,\Theta = \frac{kTZj_\mu\varphi_\mu^2}{8 \cdot 48 \cdot q}\,\Theta \tag{72}$$

Wir machen die Feststellung, dass die Spannungsrelaxationszeit τ mit der Makrokonstellationswechselzeit Θ [Zeit, welche die Molekel braucht, damit sich der Abstand zwischen Anfangs- und Endpunkt um Beträge von der Grösse $2\sqrt{NA^2} = 2\sqrt{h^2}$ ändert] durchaus nicht identisch ist: die Makrokonstellationswechselzeit Θ einer in einem Lösungsmittel mit verschwindend kleiner Viskosität befindlichen Fadenmolekel hat sich nach Gleichung (28) als unabhängig vom Polymerisationsgrad erwiesen, wogegen die Spannungsrelaxationszeit τ proportional mit Z anwächst. Gemäss (72) hat dies zur Folge, dass τ für sehr grosse

Werte des Polymerisationsgrades Z um einen beliebigen Faktor grösser als Θ werden kann.

Das Ergebnis ist auf den ersten Blick paradox, da man doch erwarten möchte, dass eine Zeit, welche ausreicht, damit der Vektor h seinen Betrag um 100% ändert, auch ungefähr ausreichen sollte, damit eine an derselben Fadenmolekel vorhandene energieelastische Spannung durch Relaxation (Muldenwechsel) ausgeglichen wird. Die Sachlage findet ihre qualitative Erklärung in folgendem: Eine durch Dehnung des Fadens hervorgebrachte energieelastische Spannung ist ungefähr dann verschwunden, wenn die in der Mitte des Fadens befindlichen Drehachsen, welche bei der Dehnung am meisten deformiert werden, einen Muldenwechsel durchgeführt haben (τ war etwa gleich τ_1 bzw. etwa gleich ϑ_μ in den Gleichungen (55) und (21), wenn dort $y = 0$ gesetzt wird). Dagegen tragen nach Gleichung (24) die an verschiedenen Stellen der Molekel lokalisierten Drehachsen im Mittel je gleich viel zur Verschiebung $\Delta \overline{r^2}$ des Fadenendpunktes durch *Brown*'sche Bewegung bei. Bei einer Molekel von sehr grossem Polymerisationsgrade Z ist nun $\sqrt{\overline{h^2}} \ll L$, so dass der Fadenendpunkt nur einen im Vergleich zur hydrodynamischen Länge L des Fadens kleinen Weg zurückzulegen braucht, damit $\Delta \overline{h^2} = 2\overline{h^2}$ wird. Wenn sich zudem die sämtlichen $Z \cdot j_\mu$ Drehachsen an dem Zustandekommen dieser verhältnismässig kleinen Verschiebung des Fadenendpunktes durchschnittlich gleich stark beteiligen, so erkennen wir, dass tatsächlich in der Zeit Θ, welche der Endpunkt braucht, um den Weg von der Grösse $2\overline{h^2}$ zurückzulegen, eine einzelne Achse beschränkter Drehbarkeit, insbesondere eine nahe der Fadenmitte befindliche Drehachse, auf die es bei der Frage nach der Spannungsrelaxation ankommt, durchaus noch keinen Muldenwechsel auszuführen braucht. Wir verstehen also, dass τ für grosse Werte von Z wesentlich grösser als Θ werden kann.

Aus den Werten, welche die Zahlenfaktoren in (72) besitzen oder annehmen können ($q/kT \leqslant 10$ usw.), erkennen wir im übrigen, dass τ für Molekel mit kleinem Polymerisationsgrade Z im allgemeinen wesentlich kleiner als die Makrokonstellationswechselzeit Θ wird, dass τ und Θ bei Polymerisationsgraden Z von einigen Hundert ungefähr gleich gross und dass erst bei extrem grossen Werten von Z der vorhin plausibel gemachte Fall eintritt, dass τ wesentlich grösser als Θ wird.

Auf alle Fälle zeigt die Überlegung qualitativ und quantitativ, dass es unrichtig wäre, die Spannungsrelaxationszeit τ mit der Makrokonstellationswechselzeit Θ ohne weiteres gleichzusetzen. Eine Auseinanderhaltung dieser Grössen ist notwendig, ebenso die gesonderten Überlegungen, welche deren angenäherte Bestimmung ermöglicht haben.

δ) Beziehung der Spannungsrelaxation zur inneren Viskosität (Formzähigkeit) der Fadenmolekel.

Wir haben in Teil I gesehen, wie man von dem in einer Zeit t zu erwartenden mittleren Verschiebungsquadrat $\overline{\Delta h^2}$ (Gleichung 27) in einfacher Weise zur Makrokonstellationswechselzeit Θ [Gleichung 28], bzw. zur Diffusionskonstante D (Gleichung 30) und mit ihrer Hilfe zur Formzähigkeitskonstanten B (Gleichung 37) gelangt; zwischen der Makrokonstellationswechselzeit Θ und der Formzähigkeitskonstanten B bzw. β (Gleichung 40) ist also der quantitative Zusammenhang klar und sogleich einleuchtend.

Im vorstehenden Abschnitt haben wir gesehen, dass die Makrokonstellationswechselzeit Θ von der Spannungsrelaxationszeit τ grundsätzlich und nicht nur im Zahlenfaktor verschieden ist. (Es war ja τ proportional dem Polymerisationsgrade Z, Θ dagegen von Z unabhängig.)

In Anbetracht dieses Unterschiedes zwischen τ und Θ ist es interessant zu zeigen, dass auch zwischen der Spannungsrelaxationszeit τ und der durch Gleichung (1) definierten Formzähigkeit B ein einfacher Zusammenhang besteht. Er wird von ähnlicher Beschaffenheit sein wie die Beziehung (53) und ist eine Verallgemeinerung jener Beziehung auf den Fall einer Fadenmolekel, welche viele Achsen beschränkter Drehbarkeit enthält. Die Überlegung wird zu der Betrachtung, welche uns zu (53) geführt hatte, ebenfalls analog sein.

Wir brauchen nur daran zu erinnern, dass wir der Fadenmolekel, welche eine Vielzahl von Zusammenhaltsmechanismen mit den Härtekonstanten J_1, J_2, ... und den Relaxationszeiten τ_1, τ_2, ... in Serie wirkend enthält, eine für die Gesamtmolekel gültige Härtekonstante J (Gleichung 61d) und eine Spannungsrelaxationszeit τ (Gleichung 68) zuordnen können. Daraus folgt für den Fall, dass wir eine Deformationsgeschwindigkeit $h^{\cdot}$ stationär aufrecht erhalten, eine wegen fortschreitender Verformung pro Zeiteinheit eintretende Zunahme der energieelastischen Rückstellkraft $\mathfrak{K}_2$ vom Betrage

$$\frac{d\mathfrak{K}_2}{dt} = J \cdot h^{\cdot} \tag{73}$$

neben einer im selben Zeitraum infolge Relaxation erfolgenden Spannungsabnahme vom Betrage

$$\frac{d\mathfrak{K}_2}{dt} = -\frac{\mathfrak{K}_2}{\tau} \tag{73a}$$

Die Summe von (73) und (73a) ist für den stationären Zustand gleich Null zu setzen, so dass wir erhalten:

$$\mathfrak{K}_2 = \tau J h^{\cdot} \tag{74}$$

Hieraus folgt durch Vergleich mit der Definitionsgleichung (1) sofort

$$B = \tau \cdot J \tag{75}$$

Es ist also die Konstante B, welche die Formzähigkeit des Gesamtfadens misst, gleich dem Produkt aus der dem Elastizitätsmodul analogen Starrheitskonstanten J und der Relaxationszeit τ des Gesamtfadens.

Die Beziehung ist voll analog zu Gleichung (53), in welcher B_1 die Konstante der inneren Viskosität, J_1 die Starrheitskonstante und τ_1 die Spannungsrelaxationszeit eines Fadens sind, dessen Flexibilität von einer einzigen Achse beschränkt freier Drehbarkeit herrührt.

Um B mit Hilfe der für τ und J gefundenen Beziehungen darzustellen, brauchen wir nur τ aus (69) und J aus (62) in (75) einzusetzen und erhalten:

$$B = \frac{kTL}{4\sqrt{2}\,\varphi_\mu Y}\sqrt{\frac{A_m M_g}{q b N_L}}\,e^{\frac{q}{kT}}\,\frac{24\,Y b}{j_\mu A_m L^2} = \frac{6\,kT}{\sqrt{2}\,j_\mu \varphi_\mu L}\sqrt{\frac{M_g b}{A_m q N_L}}\,e^{\frac{q}{kT}}$$

Man überzeugt sich, dass dieser Ausdruck für die Konstante B der innern Zähigkeit des Fadens mit dem auf ganz anderem Wege in Teil I gewonnenen Ausdrucke (37) identisch ist.

Anstatt die speziellen Werte (69) und (62) in (75) einzusetzen, können wir auch die im allgemeinen Falle (für beliebige in Serie liegende Zusammenhaltsmechanismen) geltenden Beziehungen (68) und (61d) in (75) einsetzen. Wir erhalten dann allgemeiner:

$$B = \frac{1}{\frac{1}{\tau_1 J_1} + \frac{1}{\tau_2 J_2} + \cdots + \frac{1}{\tau_n J_n}} \tag{76}$$

oder unter Benützung von (53):

$$\frac{1}{B} = \frac{1}{B_1} + \frac{1}{B_2} + \cdots + \frac{1}{B_n} \tag{76a}$$

eine Beziehung, welche zu (61d) ganz analog ist.

Würden wir

$$\frac{1}{J_i} = W_i \tag{77}$$

als die „Weichheit" des i-ten Zusammenhaltsmechanismus bezeichnen und

$$\frac{1}{B_i} = \Phi_i \tag{78}$$

als Fluidität desselben, so würden wir also für die Weichheit $W = 1/J$ und die Fluidität $\Phi = 1/B$ des Gesamtsystems haben:

$$W = \sum_i W_i \tag{79}$$

$$\Phi = \sum_i \Phi_i \tag{80}$$

An Stelle von (75) hätten wir dann

$$\tau = \frac{W}{\Phi} \tag{75a}$$

Auf Grund von (75) stellen wir weiter fest, dass wir die Spannungsrelaxationszeit τ in verhältnismässig einfacher Weise hätten erhalten können, nachdem B durch eine Betrachtung der *Brown*'schen Bewegung des Fadenendpunktes (Gleichung 37) bestimmt worden war und nachdem weiter die Härtekonstante J des Gesamtfadens durch eine ebenfalls ziemlich einfache Betrachtung (Gleichung 61d und 62) gewonnen war.

6. Abhängigkeit der Grössen Θ, ϑ_μ und ϑ_μ^* von der Viskosität des Einbettungsmediums.

Wir haben l. c. I gezeigt, dass die radiale Diffusionskonstante D_{rad} des Fadenendpunktes in einem Medium der Viskosität η_0 durch (31) gegeben ist. Wir sind auf Grund dieser Angabe sofort in der Lage, die Abhängigkeit der Makrokonstellationswechselzeit Θ von der Viskosität des Einbettungsmediums anzugeben.

Nach den beim Übergang von (27) zu (28) angegebenen Definitionen und Überlegungen ist nämlich die Makrokonstellationswechselzeit Θ gleich

$$\Theta = \frac{4\,\bar{h}^2}{2\,D_{rad}}$$

Dies wird wegen (7) und (31) gleich

$$\Theta = \frac{2\,L A_m}{kT}\left[\frac{L}{4}\lambda\eta_0 + \frac{6\,kT}{\sqrt{2\,L j\,\varphi_\mu}}\sqrt{\frac{b M_g}{A_m q N_L}}\,e^{\frac{q}{kT}}\right] \tag{81}$$

Wir können hierfür wegen (37) auch schreiben

$$\Theta = \frac{L^2\lambda\eta_0 A_m}{2\,kT} + \frac{L A_m}{kT}\,B \tag{81a}$$

oder weiter wegen (12) und (6)

$$\Theta = \frac{L^2\lambda\eta_0 A_m}{2\,kT} + \frac{2\,A_m\beta b}{kT} \tag{81b}$$

Es ist interessant zu sehen, dass sich die Makrokonstellationswechselzeit (81) offenbar aus 2 Summanden zusammensetzt, von denen der eine nur von der Viskosität η_0 des Einbettungsmediums, der andere nur von der Formviskosität des Fadens (B oder β) abhängt. Wir können also schreiben:

$$\Theta = \Theta_{Formvisk} + \Theta_{Einbettg} \tag{82}$$

wobei (wegen $\lambda \sim 3\,\pi/2$)

$$\Theta_{Einbettg} = \frac{3\,\pi L^2 \eta_0 A_m}{4\,kT} \tag{82a}$$

und

$$\Theta_{Formvisk} = \frac{2\,A_m b\beta}{kT} \tag{82b}$$

ist.

Wir stellen fest, dass der Einbettungsanteil der Makrokonstellationswechselzeit proportional dem Quadrat des Polymerisationsgrades Z ansteigt, während der von der innern Viskosität (Formviskosität) des Fadens herrührende Anteil vom Polymerisationsgrade unabhängig ist. In etwas anderer Form haben wir diese Beziehung schon l. c. (Gleichung 6,3 ff.) besprochen und mit der Erfahrung in Übereinstimmung gefunden. L. c. I haben wir die Makrokonstellationswechselzeit mit $\bar{t}_{rad}$ bezeichnet.

Um den Überblick vollständiger zu machen, geben wir auch noch die Muldenwechselzeit ϑ_μ und Mikroumdrehzeit ϑ^*_μ an für eine Fadenmolekel, deren Beweglichkeit von einer einzigen am Punkte y (Fig. 1) lokalisierten Achse beschränkter Drehbarkeit herrührt, die sich aber in einem Medium mit endlicher Viskosität η_0 befindet.

Zunächst war die Diffusionskonstante D_1 des Fadenendpunktes für eine Molekel, die in einem Lösungsmittel mit verschwindend kleiner Viskosität suspendiert ist, durch (33) gegeben; die Geschwindigkeit μ_1, die der Endpunkt unter Wirkung einer Kraft 1 Dyn erhält, wird daher gemäss (34) gleich

$$\mu_1 = \frac{D_1}{kT} = \frac{\sqrt{2\,\varphi_\mu}}{6\,kT}\sqrt{\frac{A_m\,b\,q\,N_L}{M_g}}\;e^{-\frac{q}{kT}}$$

Die Kraft $\mathfrak{K}_2$, welche notwendig ist, um eine Geschwindigkeit $h^{\cdot}$ des Endpunktes aufrecht zu erhalten (die Kraft, welche zur Überwindung der Formviskosität des Fadens benötigt wird) wird daher gleich:

$$\mathfrak{K}_2 = \frac{h^{\cdot}}{\mu_1} = h^{\cdot}\,\frac{6\,kT}{\sqrt{2\,\varphi_\mu}}\sqrt{\frac{M_g}{A_m\,b\,q\,N_L}}\;e^{\frac{q}{kT}}$$

$\mathfrak{K}_2$ ist von der Lage y des Punktes, an welchem sich die beschränkt drehbare Bindung befindet, unabhängig. Siehe auch das in Teil I im Anschluss an Gleichung (24) Gesagte.

Macht sich neben der inneren Starrheit des Fadens die äussere Reibung des Einbettungsmediums (Viskosität η_0) bemerkbar, so ist zu bedenken, dass der Fadenendpunkt, vom Orte der Drehachse an gerechnet und dem Faden entlang gemessen, um die Strecke $(L/2 - y)$ entfernt ist. Gemäss einem früheren Ansatze können wir uns vorstellen, dass die Hälfte dieses Fadenstückes, was den hydrodynamischen Widerstand betrifft, im Fadenendpunkt lokalisiert sei; die Kraft, welche zur Überwindung der Lösungsmittelreibung aufgewendet werden muss, um den Fadenendpunkt mit der Geschwindigkeit $h^{\cdot}$ zu bewegen, ist dann

$$\mathfrak{K}_2' = \frac{\lambda}{2}\left(\frac{L}{2} - y\right)h^{\cdot}\eta_0$$

wobei λ ungefähr den Zahlenwert $3\,\pi/2$ besitzt.

Die Gesamtkraft, welche auf den Fadenendpunkt wirken muss, damit sowohl die innere als auch die äussere Reibung überwunden werden, ist daher, wenn der Fadenendpunkt die Geschwindigkeit $h^{\cdot}$ erhalten soll, gleich

$$\mathfrak{K} = \frac{h^{\cdot}}{\mu_1} = h^{\cdot}\left[\frac{6\,kT}{\sqrt{2\,\varphi_\mu}}\sqrt{\frac{M_g}{A_m\,b\,q\,N_L}}\;e^{\frac{q}{kT}} + \frac{\lambda}{2}\left(\frac{L}{2} - y\right)\eta_0\right]$$

Die Beweglichkeit $\mu_{1\,ges}$ des Fadenendpunktes wird jetzt

$$\mu_{1\,ges} = \frac{1}{\frac{6\,kT}{\sqrt{2\,\varphi_\mu}}\sqrt{\frac{M_g}{A_m\,b\,q\,N_L}}\;e^{\frac{q}{kT}} + \frac{3\,\pi}{4}\left[\frac{L}{2} - y\right]\eta_0}$$

Infolgedessen wird jetzt die Diffusionskonstante des Fadenendpunktes (Gleichung 34) gleich

$$D_1 = \frac{kT}{\frac{6\,kT}{\sqrt{2}\,\varphi_\mu}\sqrt{\frac{M_g}{A_m b q N_L}\,e^{\frac{q}{kT}} + \frac{3\pi}{4}\left(\frac{L}{2} - y\right)\eta_0}}$$

Das in der Zeit t zu erwartende Verschiebungsquadrat $\Delta\overline{h_1^2}$ (Quadrat der Änderung des Abstandes zwischen Molekelanfangs- und -endpunkt) wird jetzt gleich

$$\Delta\overline{h_1^2} = 2\,D_1\,t$$

Das mittlere Verschiebungsquadrat $\Delta\overline{r_1^2}$ des Fadenendpunktes (in beliebiger Richtung genommen) wird gleich dem Dreifachen hiervon (siehe in Teil I den Übergang von Gleichung 26 zu 27), also:

$$\Delta\overline{r_1^2} = 6\,D_1 \cdot t$$

Die Zeit t, die wir zuwarten müssen, bis der Fadenendpunkt einen Weg vom Betrage Δr_1 zurückgelegt hat, ist also $t = \Delta r_1^2/6\,D_1$. Nun ist das einem Muldenwechsel entsprechende mittlere Verschiebungsquadrat des Fadenendpunktes gleich $\frac{1}{2}\varphi_\mu^2 h'^2$; die diesem Verschiebungsquadrat entsprechende Zeit ist die Muldenwechselzeit ϑ_μ, für welche wir somit erhalten:

$$\vartheta_\mu = \frac{\varphi_\mu}{2\sqrt{2}}\left(\frac{L}{2} - y\right)\sqrt{\frac{A_m M_g}{b q N_L}\,e^{\frac{q}{kT}} + \frac{\pi}{16}\,\frac{\left(\frac{L}{2} - y\right)^2 \eta_0 A_m \varphi_\mu^2}{kT}} \tag{83}$$

Für ϑ_μ^* wird weiter auf Grund von (14)

$$\vartheta_\mu^* = \frac{4\pi^2}{\varphi_\mu^2}\,\vartheta_\mu = \frac{\sqrt{2}\,\pi^2}{\varphi_\mu}\left(\frac{L}{2} - y\right)\sqrt{\frac{A_m M_g}{b q N_L}\,e^{\frac{q}{kT}} + \frac{\pi}{4}\,\frac{\left(\frac{L}{2} - y\right)^2 \eta_0 A_m}{kT}} \tag{84}$$

Auch ϑ_μ und ϑ_μ^* werden somit je gleich der Summe eines von der innern Viskosität des Fadens allein herrührenden Anteils (Teil I, Gleichung 21, bzw. 22) und eines ausschliesslich von der Viskosität η_0 des Einbettungsmediums abhängigen Anteils (zweiter Summand in Gleichung 83, bzw. 84).

Während Makrokonstellationswechselzeit Θ und Muldenwechselzeit ϑ_μ nach dem eben Gesagten von der Viskosität des Einbettungsmediums abhängen, hängt die Spannungsrelaxationszeit τ, den zugrunde gelegten Vorstellungen gemäss, von der Viskosität des Einbettungsmediums nicht ab. Die Spannungsrelaxation ist ja ein Vorgang, der sich bei festgehaltenen Fadenenden abspielt, in solcher Weise also, dass eine merkliche Relativbewegung zwischen Fadenteil und umgebender Flüssigkeit nicht stattfindet.

Sachlich ist allerdings klar, dass hier eine Idealisierung vorliegt; im Grunde genommen ist es die Idealisierung, dass die Spannungsrelaxation durch viele nacheinander erfolgende Muldenwechsel vollzogen werde, dass die Gestaltänderung bei jedem Muldenwechsel unendlich klein sei und dass daher die Spannungsrelaxation praktisch ohne Gestaltänderung des Fadens verwirklicht werden kann. In dem Masse, als diese Vorstellung unrichtig ist, muss mit einer Abhängigkeit der Spannungsrelaxationszeit τ von der Viskosität des Einbettungsmediums gerechnet werden. Auf jeden Fall aber dürfte diese Abhängigkeit weniger ausgeprägt sein als bei der Makrokonstellations-

wechselzeit, bei welcher die Relativbewegung zwischen Fadenteilen und Einbettungsmedium auch bei Einteilung des Gesamtvorgangs in noch so geringfügige Elementarakte wesentlich zum Vorgang gehört.

Wir haben in Teil I durch Betrachtung der freiwilligen *Brown*schen Bewegung die Diffusionskonstante D des Fadenendpunktes und daraus mit Hilfe der allgemeinen Beziehung (34) die Beweglichkeit μ und hieraus wiederum die Formzähigkeitskonstante B bestimmt. Die Benützung der Beziehung (34) stellt, wenn man auf deren in dieser Arbeit nicht wiederholte Begründung (durch *Einstein* und *Smoluchowski*) zurückgeht, eine thermodynamische Betrachtung dar.

Es muss daher möglich und im Interesse der Klarlegung des bei Betätigung der Formzähigkeit sich abspielenden Vorganges wünschbar sein, ohne Benützung von (34) durch Betrachtung der am energie-elastisch gespannten Faden stattfindenden Muldenwechsel das Auftreten der Formzähigkeitskonstante B und deren Zahlenwert zu finden. Wir geben nachstehend eine solche Betrachtung, welche die Formzähigkeit der Fadenmolekel von einer nochmals etwas andern Seite beleuchtet.

7. Muldenwechsel und Deformationsgeschwindigkeit bei einer energie-elastisch gespannten Fadenmolekel.

Wir denken uns, ähnlich wie in Teil I, die Fadenmolekel in einem Lösungsmittel mit verschwindend kleiner Viskosität suspendiert. Den Anfangspunkt halten wir fest und lassen auf den Endpunkt eine Kraft $\mathfrak{K}_2$ einwirken. Wir fragen sogleich nach der Geschwindigkeit $\mathrm{h}^{\cdot}$, welche der Fadenendpunkt unter Wirkung der konstant gehaltenen Kraft annehmen wird.

Wieder betrachten wir zunächst den Fall, dass die Beweglichkeit des Fadenendpunktes nur von der beschränkten Drehbarkeit um eine einzige an der Stelle y gelegene Drehachse herrührt. Sodann fragen wir nach dem Einfluss, welchen die an den Fadenenden angreifende Spannkraft $\mathfrak{K}_2$ auf die Häufigkeit von Muldenwechseln ausübt, welche an der hervorgehobenen Bindung nach der einen bzw. der andern Richtung hin erfolgen.

Erfolgt an der betrachteten Bindung ein Muldenwechsel (Drehung um den Muldenwinkel φ_μ), so verschiebt sich der Fadenendpunkt nach Gleichung (43) um den Betrag

$$\Delta \mathrm{h} = \mathrm{h}' \varphi_\mu \sin \psi \cos \varphi \tag{85}$$

und zwar in positiver oder in negativer Richtung, je nachdem der Muldenwechsel an der betrachteten Bindung nach der einen oder nach der andern Seite hin erfolgt. Da nach den gemachten Annahmen in Richtung des Vektors h die Kraft $\mathfrak{K}_2$ wirkt, müssen wir erwarten, dass „positive Muldenwechsel", d. h. solche, die den Abstand h um

den Betrag (85) vergrössern, häufiger vorkommen werden als negative, d. h. als solche, die den Abstand h verringern.

Nur falls $\mathfrak{K}_2 = 0$ ist, sind Muldenwechsel nach beiden Seiten gleich wahrscheinlich; nach der einen wie nach der andern Seite ist dann dieselbe Aktivierungsenergie q notwendig. Eine Molekel, welche die notwendige Anregungsenergie q besitzt, benötigt nach Gleichung (19) für einen Muldenwechsel die Zeit δ_μ; sie besitzt aber bei einer Beobachtungsdauer von einer Sekunde nur während der Zeit $e^{-\frac{q}{kT}}$ die Anregungsenergie q und nimmt daher pro Sekunde $\delta_\mu^{-1} e^{-\frac{q}{kT}}$ Muldenwechsel vor. Die Anzahl von Muldenwechseln, welche an der betrachteten Bindung praktisch genommen nach der einen, z. B. der positiven Richtung pro Sekunde stattfinden, ist, wenn $\mathfrak{K}_2 = 0$ ist, die Hälfte hiervon, also gleich

$$\frac{1}{2\delta_\mu} e^{-\frac{q}{kT}} = \frac{\sqrt{2}}{\varphi_\mu\left(\frac{L}{2} - y\right)} \sqrt{\frac{q b N_L}{A_m M_g}} e^{-\frac{q}{kT}} \tag{86}$$

Wir haben jetzt zu untersuchen, wie diese Muldenwechselhäufigkeit verändert wird, wenn in Richtung des Vektors h eine Kraft $\mathfrak{K}_2$ wirkt. Hierzu stellen wir fest: Falls wir den einen Molekelteil gegen den andern um die hervorgehobene Drehachse aus einer Lage minimaler potentieller Energie um einen Winkel $\varphi_\mu/2$ nach der einen oder andern Richtung herausdrehen, so gelangen wir je nach einer Lage maximaler potentieller Energie mit einem Energieunterschied vom Betrage q gegenüber der Lage minimaler potentieller Energie. Bei Drehung nach der positiven Richtung besitzt aber der Abstand zwischen Anfangs- und Endpunkt der Molekel den Betrag $h + \Delta h/2$, bei Drehung nach der negativen Richtung den Betrag $h - \Delta h/2$, wobei Δh den in (85) angegebenen Betrag besitzt. Bei Drehung nach der positiven Richtung wird daher durch die von aussen wirkende Kraft $\mathfrak{K}_2$ die Arbeit

$$dA = \frac{\Delta h}{2} \mathfrak{K}_2$$

auf die Molekel übertragen; bei Drehung in der negativen Richtung muss eine Arbeit vom gleichen Betrage gegen die äussere Kraft geleistet werden. Um vom Potentialminimum aus in der positiven Richtung die Potentialschwelle zu erreichen, muss also der Molekel durch Stösse von seiten der Umgebung nur die Energie $q - \mathfrak{K}_2 \Delta h/2$ zugeführt werden; um die benachbarte negative Potentialschwelle zu erreichen, ist im Gegensatz hierzu die durch Stösse seitens der Umgebung aufzubringende Energie gleich $q + \mathfrak{K}_2 \Delta h/2$.

Hieraus folgt aber sofort, dass die Anzahl der durchschnittlich pro Sekunde in positiver Richtung erfolgenden Muldenwechsel anstatt durch (86) gegeben sein wird durch

$$\frac{1}{2\,\delta_\mu}\,e^{-\frac{q-\frac{\Delta h}{2}\,\mathfrak{K}_2}{kT}} = \frac{\sqrt{2}}{\varphi_\mu\left(\frac{L}{2}-y\right)}\sqrt{\frac{q\,h\,N_L}{A_m M_g}}\,e^{-\frac{q-\frac{\Delta h}{2}\,\mathfrak{K}_2}{kT}} \tag{87a}$$

und die Zahl der in negativer Richtung erfolgenden Muldenwechsel durch

$$\frac{1}{2\,\delta_\mu}\,e^{-\frac{q+\frac{\Delta h}{2}\,\mathfrak{K}_2}{kT}} = \frac{\sqrt{2}}{\varphi_\mu\left(\frac{L}{2}-y\right)}\sqrt{\frac{q\,b\,N_L}{A_m M_g}}\,e^{-\frac{q+\frac{\Delta h}{2}\,\mathfrak{K}_2}{kT}} \tag{87b}$$

Der Überschuss der Anzahl der pro Sekunde in positiver über die Anzahl der in negativer Richtung erfolgenden Muldenwechsel wird hiernach gleich

$$\frac{1}{2\,\delta_\mu}\left[e^{-\frac{q-\frac{\Delta h}{2}\,\mathfrak{K}_2}{kT}} - e^{-\frac{q+\frac{\Delta h}{2}\,\mathfrak{K}_2}{kT}}\right] \tag{87c}$$

Wenn die von aussen angelegte Kraft genügend klein ist, wird $\mathfrak{K}_2\,\Delta h/2 \ll kT$ sein; (87c) geht dann über in

$$\frac{1}{2\,\delta_\mu}\,\frac{\Delta h}{kT}\,\mathfrak{K}_2\,e^{-\frac{q}{kT}} \tag{88}$$

Da der Fadenendpunkt bei jedem Muldenwechsel eine Strecke vom Betrage Δh (Gleichung 85) zurücklegt, entspricht dies einer im Durchschnitt pro Sekunde erfolgenden Verschiebung, d. h. einer Geschwindigkeit $h^{\cdot}$ des Fadenendpunktes vom Betrage

$$h^{\cdot} = \frac{1}{2\,\delta_\mu}\,\frac{(\Delta h)^2}{kT}\,\mathfrak{K}_2\,e^{-\frac{q}{kT}} \tag{89}$$

Nach (85) ist dabei

$$(\Delta h)^2 = h'^2\varphi_\mu^2 \sin^2\psi \cos^2\varphi$$

Dabei ist h'^2 aus (15) einzusetzen; für $\sin^2\psi$ können wir, ähnlich wie bei Gleichung (17), den Mittelwert ½ und für $\cos^2\varphi$, so wie im Anschluss an (46a) gezeigt wurde, den Mittelwert ⅓ einsetzen. Es wird dann

$$\overline{\Delta h^2} = \left(\frac{L}{2}-y\right) A_m\,\frac{\varphi_\mu^2}{6} \tag{90}$$

und wir erhalten durch Einsetzen dieses Wertes in (89)

$$h^{\cdot} = \frac{\left(\frac{L}{2}-y\right) A_m\,\varphi_\mu^2}{12\,\delta_\mu\,kT}\,e^{-\frac{q}{kT}}\,\mathfrak{K}_2$$

bzw. unter Berücksichtigung von (86):

$$h^{\cdot} = \frac{\sqrt{2}\,\varphi_\mu}{6\,kT}\sqrt{\frac{q\,b\,N_L\,A_m}{M_g}}\,\mathfrak{K}_2\,e^{-\frac{q}{kT}} \tag{91}$$

Durch Vergleich mit (1) folgt hieraus sofort als Formzähigkeitskonstante B_1 der Fadenmolekel, welche eine einzige Achse beschränkter Drehbarkeit am Punkte y (Fig. 1) besitzt:

$$B_1 = \frac{6\,kT}{\sqrt{2}\,\varphi_\mu}\sqrt{\frac{M_g}{A_m b q N_L}}\,e^{\frac{q}{kT}}$$

Dies ist eine Beziehung, welche mit der in Teil I erhaltenen Gleichung (39) exakt übereinstimmt.

Der Übergang von der eine einzelne beschränkt drehbare Bindung enthaltenden Molekel zur Molekel mit vielen über den ganzen Faden verteilten Achsen beschränkter Drehbarkeit ist einfach: Der Ausdruck (91) ist von der Lage des Punktes y, an dem sich die Drehachse befindet, unabhängig. Die ganze Molekel enthält aber $j_\mu \cdot L/b$ Achsen beschränkter Drehbarkeit über die Gesamtlänge L des Fadens verteilt. Für den Gesamtfaden wird daher h · gleich dem Ausdruck (91), multipliziert mit $L\,j_\mu/b$. Durch Vergleich mit (1) ergibt sich dann für den Gesamtfaden sofort der Ausdruck (37).

Die in diesem Abschnitt beschriebene Überlegung lässt uns sofort den Sachverhalt überblicken, falls die Molekel, auf welche eine Kraft $\mathfrak{K}_2$ in Richtung des Vektors h wirkt, in einem viskosen Medium suspendiert ist: Da ein Teil der Kraft $\mathfrak{K}_2$ für die Überwindung der äusseren Viskosität benötigt wird, ist nur ein Bruchteil dieser Kraft, z. B. die Hälfte, für die Erzeugung einer Spannung im Faden und damit zur Beeinflussung der Richtung der Muldenwechsel verfügbar. Die Wirksamkeit des für diese Beeinflussung verfügbaren Teils der Kraft $\mathfrak{K}_2$ ist aber, bezogen auf den für diesen Zweck verbliebenen Teilbetrag, dieselbe wie im Falle des praktisch viskositätsfreien Lösungsmittels. Diesem Ansatz entspricht es, dass die Anzahl von gerichteten Muldenwechseln, welche unter dem Einfluss einer am Faden liegenden Spannung erfolgen, proportional der vorhandenen Spannung ist, unabhängig von der Viskosität des Einbettungsmediums. Dem wiederum entspricht, dass die Spannungsrelaxationszeit τ von der Viskosität des Einbettungsmediums unabhängig ist.

Eine weitere Bemerkung, welche nach den in diesem § gegebenen Ausführungen verständlich wird, betrifft die genaue Bedeutung der in (83) beschriebenen Muldenwechselzeit ϑ_μ der in einem viskosen Medium eingebetteten Fadenmolekel. Im Falle sehr kleiner Viskosität η_0 des Einbettungsmediums geht (83) in (21) über. Der Muldenwechsel wird dort (in 21) als Elementarakt betrachtet. Bei der Begründung von (83) anderseits haben wir den Muldenwechsel als einen aus vielen Schritten zusammengesetzten Vorgang behandelt: wir haben nämlich aus Teil I die Feststellung entnommen, dass der Fadenendpunkt dann, wenn bei der an der Stelle y gelegenen

Drehachse ein Muldenwechsel stattfindet, einen Weg Δr_1 zurücklegt, wobei

$$\overline{\Delta r_1^2} = \frac{1}{2} \varphi_\mu^2 \left(\frac{L}{2} - y\right) A_m \tag{92}$$

ist. Während diese Grösse in Teil I (fehlende Viskosität des Einbettungsmediums) auch der bei einem Elementarakt zurückgelegte Weg war, haben wir bei der Begründung von (83)

$$\vartheta_\mu = \frac{\overline{\Delta r_1^2}}{6 D_1} \tag{93}$$

gesetzt, d. h. wir haben die Zurücklegung des Weges Δr_1 (Gleichung 92) als einen aus vielen Einzelschritten zusammengesetzten Vorgang, bei welchem der Ansatz (93) (für das Verschiebungsquadrat) anzuwenden ist, behandelt. Tatsächlich ist auch die Zurücklegung des Weges (92) für den im viskosen Medium eingebetteten Faden ein zusammengesetzter Vorgang, welcher eine längere Zeit in Anspruch nimmt, eine Zeit, während welcher in Wirklichkeit viele temporäre Überschreitungen des zwischen den Mulden liegenden Energiemaximums vorkommen werden.

Die Beziehung (83) für die Muldenwechselzeit der im viskosen Medium befindlichen Molekel ist also so zu verstehen, dass ϑ_μ die Zeit bedeutet, welche der Fadenendpunkt braucht, um den Weg (92) von einem Energieminimum zum nächsten tatsächlich zurückzulegen. Die Zahl der während dieser Zeit vorkommenden Überschreitungen des Energiebergs ist in Wirklichkeit gleich dem Quotienten von (83) und (21). Entsprechendes gilt für ϑ_μ^*.

Zum Schlusse sei noch auf die Möglichkeit einer weiteren Vervollkommnung der Betrachtungen über die an Fadenmolekeln möglichen Formänderungen hingewiesen. Die Vervollkommnung dürfte darin bestehen, dass neben der in dieser Arbeit betrachteten Drehbewegung der Fadenteile um einzelne hervorgehobene Drehachsen simultane Drehungen um mehrere, z. B. um zwei in der Molekel vorhandene Achsen beschränkter Drehbarkeit berücksichtigt werden. Solche simultane Drehungen würden beispielsweise die Möglichkeit geben, dass ein in der Gegend der Fadenmitte befindlicher Teil des Gesamtfadens eine Rotation ausführt, während die rechts und links davon liegenden weiteren Teile des Gesamtfadens in Ruhe bleiben. Auf Grund der in Teil I dargestellten Überlegungen ist sofort einzusehen, dass für eine solche simultane Betätigung mehrerer Drehachsen die Anregungsenergie q, gleichzeitig aber auch die Aktionskonstante (Winkelgeschwindigkeit, mit welcher die Drehung ausgeführt wird), vergrössert wird. Solche simultane Bewegungen dürften namentlich bei Molekeln mit sehr grossem Polymerisationsgrad Z in Betracht zu ziehen sein.

Zusammenfassung von Teil II.

Eine Fadenmolekel, welche eine oder mehrere Achsen beschränkt freier Drehbarkeit enthält und bei welcher der Abstand h zwischen Fadenanfangs- und -endpunkt rasch um den Betrag Δh geändert wird, wird der Deformation zunächst eine energie-elastische Gegenkraft entgegenstellen. Der energie-elastische Anteil der Gegenkraft wird, wenn der Abstand nach erfolgter Dehnung auf dem Betrage h + Δh konstant gehalten wird, mit einer Relaxationszeit τ abklingen.

Zunächst wird für eine Fadenmolekel, welche eine einzige Achse beschränkt freier Drehbarkeit enthält, die energie-elastische Rückstellkraft sowie die Spannungsrelaxation angegeben. Beide Grössen hängen vom Ort, an welchem sich die Achse beschränkter Drehbarkeit innerhalb der Molekel befindet, ab.

Bei einer Fadenmolekel, welche viele Achsen beschränkter Drehbarkeit über den ganzen Faden verteilt enthält, finden sich in Serie eine Vielzahl von Zusammenhaltsmechanismen mit unter sich verschieden elastischen Konstanten und unter sich verschiedenen Relaxationszeiten.

Es wird gezeigt, dass einem solchen System allgemein eine Härtekonstante und eine Spannungsrelaxationszeit τ zugeordnet werden kann. Anschliessend werden elastische Härtekonstante und Relaxationszeit einer Fadenmolekel in Abhängigkeit vom Polymerisationsgrad sowie von den die beschränkte Drehbarkeit kennzeichnenden Konstanten (Anregungsenergie q, Muldenwinkel φ_μ usw.) angegeben. Aus elastischer Härtekonstante und Spannungsrelaxationszeit lässt sich die Formzähigkeit B des Fadens bestimmen, in Übereinstimmung mit dem auf anderem Wege in Teil I gefundenen Ergebnis.

Die Makrokonstellationswechselzeit Θ sowie die Muldenwechselzeit ϑ_μ sind von der Viskosität des Einbettungsmediums abhängig; dagegen ist die Spannungsrelaxationszeit τ in erster Näherung von der Viskosität des Einbettungsmediums unabhängig.

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel.

104. Über Steroide.

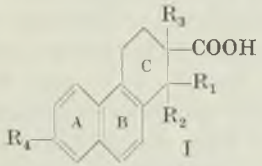
50. Mitteilung[1]).

C-Nor-bisdehydro-doisynolsäure. Über oestrogene Carbonsäuren VIII

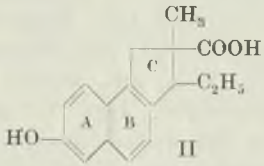
von J. R. Billeter und K. Miescher.

(8. V. 46.)

In den bisherigen Mitteilungen der Reihe „Über oestrogene Carbonsäuren"[2]) wurde eingehend über die Umwandlung von Equilenin in Bisdehydro-doisynolsäure und ihre Synthese sowie diejenige solcher Homologen und Analogen der allgemeinen Formel I berichtet, die durch Variierung der Substituenten R_1, R_2, R_3 und R_4 entstanden waren. Dabei ergaben sich interessante Zusammenhänge zwischen Konstitution und Wirkung. Nachdem *M. Goldberg* und Mitarbeiter[3]) zeigen konnten, dass durch Erweiterung des 5-Rings der Sexualhormone zum 6-Ring die Wirkung mehr oder weniger erhalten bleibt, schien uns die Frage von Interesse, wie sich umgekehrt die Verengerung des hydroaromatischen 6-Rings der Bisdehydro-doisynolsäure zum 5-Ring (siehe Formel II) in oestrogener Richtung auswirke.



I



II

Um den Zusammenhang zwischen den neuen Säuren und den Bisdehydro-doisynolsäuren zu wahren, haben wir zur Bezeichnung der drei Ringe wie in der Steroidreihe die Buchstaben A, B und C gewählt und das 5-Ring-haltige Homologe als C-Nor-bisdehydro-doisynolsäure bezeichnet, indem wir uns einem Vorschlag von *Ruzicka* und *Mehldahl*[4]) für analoge Fälle in der Steroidreihe anschlossen.

Kann die Bisdehydro-doisynolsäure als Derivat des Tetrahydrophenanthrens III angesehen werden, so lässt sich die neue Säure als Abkömmling des 10,11-Cyclopenteno-naphthalins (IV) auffassen, wobei folgende Numerierung sich als vorteilhaft erweist[5]):

---

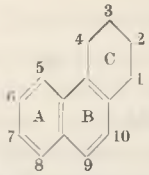
[1]) 49. Mitteilung, siehe Helv. **29**, 743 (1946).

[2]) VII, siehe Helv. **29**, 586 (1946).

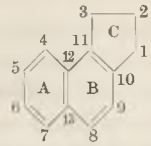
[3]) *M. Goldberg* und *R. Monnier*, Helv. **23**, 840 (1940); *M. Goldberg* und *G. Studer*, Helv. **24**, 478 (1941).

[4]) *L. Ruzicka* und *K. F. Mehldahl*, Helv. **23**, 366 (1940).

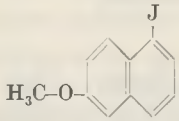
[5]) *Stelzner*, Literaturregister der organischen Chemie, III, 61 (1921).



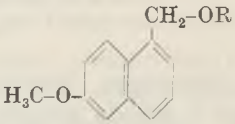
III



IV



V



VIa R = H Smp. 101°
VIb R = CO–CH_3 Smp. 86°

Wir versuchten zuerst, den 1-Keto-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester (XXI) analog der Synthese des entsprechenden Phenanthrenderivats von *Bachmann*[1]), über das Keton X aufzubauen. Aus XXI sollte nach dem von *J. Heer J. R. Billeter* und *K. Miescher*[2]) bei der ersten Synthese der Bisdehydro-doisynolsäure eingeschlagenen Weg die C-Norsäure gewonnen werden.

Dazu setzten wir zunächst das aus Jodnerolin (V) in Gegenwart von Äthylbromid mit Magnesium erhältliche 6-Methoxy-naphthylmagnesiumjodid-(1) mit Formaldehyd zum 1-Oxymethyl-6-methoxy-naphthalin (VIa) um, wovon wir das Acetat (VIb) und das Chlorid (VII) herstellten. Das 1-Chlormethyl-6-methoxy-naphthalin (VII) wurde mit Malonester kondensiert und über die β-[6-Methoxy-naphthyl-1]-methylmalonsäure (VIII) die β-[6-Methoxy-naphthyl-1]-propionsäure (IX) vom Smp. 162°[3]) erhalten. Durch Cyclisierung mit Phosphorpentoxyd in Phosphorsäure gewannen wir daraus das 1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin (X), von dem sich ein Semicarbazon und ein 2-Benzylidenderivat darstellen liessen. Durch Kondensation von X mit Oxalsäure-dimethylester erhielten wir das 1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-methylglyoxalat (XI), woraus durch Kohlenoxydabspaltung der 1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester entstehen sollte. Dies gelang aber in keiner Weise, selbst als wir in Gegenwart von Glaspulver oder Borsäure erhitzten[4]).

---

[1]) *W. E. Bachmann* und Mitarb., Am. Soc. **62**, 830 (1940).

[2]) *J. Heer, J. R. Billeter* und *K. Miescher*, Helv. **28**, 1342 (1945).

[3]) Diese Säure wurde auf anderen Wegen schon von *K. H. Lin, J. Resuggan, R. Robinson* und *J. Walker* (Smp. 159°), Soc. **1937**, 70, sowie von *G. Haberland*, (Smp. 155°), B. **72**, 1225 (1939) hergestellt.

[4]) *W. E. Bachmann, W. Cole* und *A. L. Wilds*, Am. Soc. **62**, 825 (1940); *V. Prelog*, Helv. **27**, 1855 (1944).

Da wir auf diese Weise nicht zum Ziele kamen, versuchten wir einen anderen, neuerdings von *G. Anner* und *K. Miescher*[1]) für die Synthese der Bisdehydro-doisynolsäure gefundenen Weg auf die Darstellung der C-Norsäure zu übertragen. Wir kondensierten das 1-Chlormethyl-6-methoxy-naphthalin (VII) mit dem Kaliumsalz des α-Propionyl-propionsäure-methylesters und erhielten in vorzüglicher Ausbeute den 1-Methyl-1-propionyl-2-[6′-methoxy-naphthyl-1′]-propionsäure-methylester (XII). Durch Schütteln bei 0° mit 80-proz. Schwefelsäure ging er in die beiden stereoisomeren 1-Äthyliden-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester (XIIIa und b) über, die sich durch Krystallisation gut trennen liessen. Kochen in Chloroform in Gegenwart von wenig Jod gestattet, die Ester teilweise ineinander überzuführen. Durch Verseifung mit Ätzkali bei 175—185° erhielten wir die beiden entsprechenden freien Säuren (XIVa und b).

Die Hydrierung der ungesättigten Säuren XIVa und XIVb erfolgte in wässrig-alkalischer Lösung in Gegenwart von *Rupe*-Nickel. Je nach den Bedingungen, insbesondere den Konzentrationsverhältnissen, bildete sich ein Gemisch der beiden möglichen diastereoisomeren 1-Äthyl-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäuren (XVa und b; R = H) oder nur die Säure XVb (vom Smp. 152°). Aus dem Säuregemisch konnte auch die isomere Säure XVa vom Smp. 200° rein gewonnen werden. Beide Säuren liessen sich mit Diazomethan in ihre Methylester (XVa und b; R = CH_3) überführen.

Durch zweistündiges Kochen mit wässriger Bromwasserstoffsäure in Eisessig oder durch 4-stündiges Erhitzen auf 180° mit Pyridinhydrochlorid gewannen wir aus der Methoxysäure XVa (R = H) die C-Nor-bisdehydro-doisynolsäure (IIa; R = H) vom Smp. 162° und aus der Methoxysäure XVb (R = H) die diastereoisomere Säure (IIb; R = H) vom Smp. 198—199°, die wir beide durch ihre Methylester charakterisierten. Die freien Säuren gaben mit konz. Schwefelsäure die gleiche hellgelbbraune Färbung; dagegen färbten sich damit die ungesättigten Säuren XIVa und XIVb und ihre Ester tiefrot[2]).

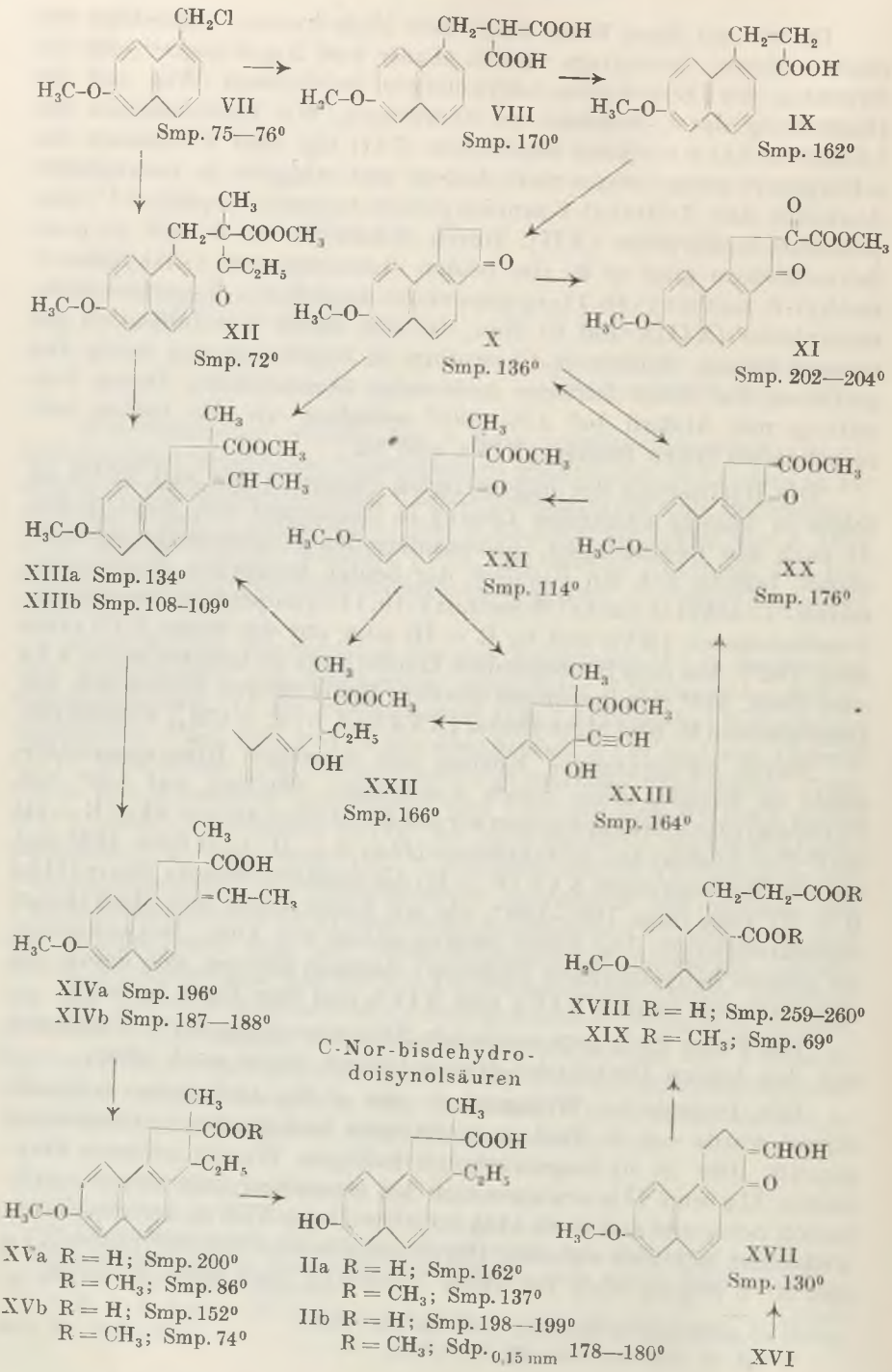
Die Frage nach dem sterischen Zusammenhang der C-Norsäuren mit den beiden Bisdehydro-doisynolsäuren bleibt noch offen.

Die biologische Wirksamkeit der C-Nor-bisdehydro-doisynolsäuren wurde von *E. Tschopp* in unserem biologischen Laboratorium geprüft. Die in hydrogencarbonat-haltigem Wasser gelösten Oxysäuren IIa und IIb erwiesen sich bei einmaliger subcutaner Applikation beide erst mit etwa 1 mg im *Allen-Doisy*-Test an der kastrierten weiblichen Ratte als wirksam. Die entsprechenden Methoxysäuren XVa und XVb zeigten auch bei dieser Dosierung noch keine Wirkung.

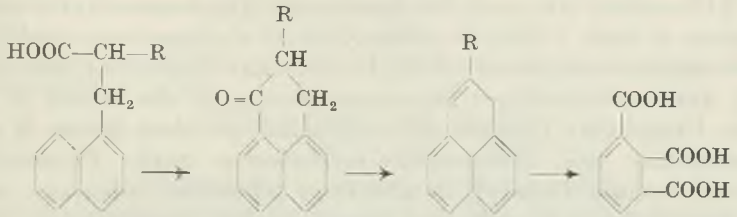
---

[1]) *G. Anner* und *K. Miescher*, Helv. **29**, 586 (1946).

[2]) Vgl. *K. Miescher*, Helv. **29**, 743 (1946).

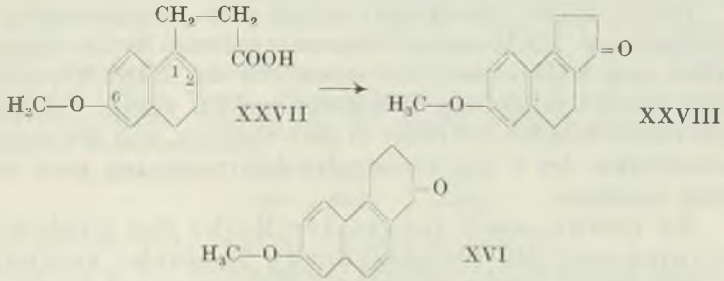

VII
Smp. 75—76°
VIII
Smp. 170°
IX
Smp. 162°
XII
Smp. 72°
X
Smp. 136°
XI
Smp. 202—204°
XIIIa Smp. 134°
XIIIb Smp. 108–109°
XXI
Smp. 114°
XX
Smp. 176°
XXII
Smp. 166°
XXIII
Smp. 164°
XIVa Smp. 196°
XIVb Smp. 187—188°
XVIII R = H; Smp. 259–260°
XIX R = CH3; Smp. 69°
C-Nor-bisdehydro-
doisynolsäuren
XVa R = H; Smp. 200°
R = CH3; Smp. 86°
XVb R = H; Smp. 152°
R = CH3; Smp. 74°
IIa R = H; Smp. 162°
R = CH3; Smp. 137°
IIb R = H; Smp. 198—199°
R = CH3; Sdp. 0,15 mm 178—180°
XVII
Smp. 130°
XVI

Die unbedeutende Wirksamkeit der C-Nor-säuren erweckte Bedenken, ob ihnen überhaupt die erwartete Konstitution zukomme. Sie schienen um so berechtigter, als nach *Mayer* und *Sieglitz*[1]) die Cyclisierung von β-[Naphthyl-1]-propionsäure XXIIIa oder von α-Äthyl-β-[naphthyl-1]-propionsäure (XXIIIb) mit Schwefelsäure zu 7,8-Dihydro-phenalon-(9) (XXIVa) bzw. zum 8-Äthylderivat (XXIVb führt, die weiterhin zu Phenalin (XXVa) bzw. 8-Äthyl-phenalin (XXVb) reduziert werden konnten[2]). Der Ringschluss war in Peristellung erfolgt, was durch den oxydativen Abbau von XXVb zu einer Tricarbonsäure, der Hemimellithsäure (XXVI) hervorging, während in derselben Weise aus Cyclopenteno-naphthalin eine Tetracarbonsäure, die Mellophansäure, entsteht.



XXIIIa R = H XXIVa R = H XXVa R = H XXVI
XXIIIb R = C_2H_5 XXIVb R = C_2H_5 XXVb R = C_2H_5

Es bestanden aber Gründe, anzunehmen, dass die 6-Methoxylgruppe den Ringschluss in 2-Stellung begünstigen würde. So erfolgt die Acetylierung des Nerolins nach *Friedel-Crafts* in Nitrobenzol in ana-Stellung[3]), und auch *Haberland*[4]) schreibt dem von ihm aus β-[3,4-Dihydro-6-methoxy-naphthyl-1]-propionsäure (XXVII) gewonnenen Keton (XXVIII), einem Dihydroderivat von X, die Konstitution eines 10,11-Cyclopenteno-naphthalin-Derivats zu, ohne aber diese Formulierung experimentell zu stützen.



[1]) *F. Mayer* und *A. Sieglitz*, B. **55**, 1835 (1932).

[2]) Nach *Cook* und *Hewett*, Soc. **1934**, 368, führt der Ringschluss von XXIIIa vorzugsweise zu Phenalon, neben einem Keton vom Smp. 120°, das sie als Dihydro-phenalon oder als das isomere 4,5-Benzhydrindanon ansehen.

[3]) *R. Haworth* und *G. Sheldrick*, Soc. **1934**, 864.

[4]) *G. Haberland*, B. **72**, 1225 (1939).

Wir konnten auf eindeutigem, synthetischem Wege zeigen, dass die von uns beschriebenen Verbindungen tatsächlich Derivate des 10,11-Cyclopenteno-naphthalins (IV) und nicht des Phenalins darstellen.

Zu diesem Zweck versuchten wir, den ketonhaltigen Ring des 1-Keto-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthrens (XVI)[1]) zur β-[2-Carboxy-6-methoxy-naphthyl-1]-propionsäure (XVIII) aufzuspalten. Es gelang uns dies aber weder mit Hypojodit noch mit Permanganat oder Chromsäure, wohl aber liess sich das 2-Oxymethylenderivat (XVII), das durch Kondensation mit Ameisensäureester gut erhältlich ist, mit Wasserstoffperoxyd in alkalischer Lösung leicht zur gewünschten Säure XVIII oxydieren. Ihren Dimethylester XIX setzten wir nach *Dieckmann* mit Natriummethylat um und gelangten so zum 1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester (XX). Durch saure Verseifung liess er sich leicht, unter gleichzeitiger Decarboxylierung, in das Keton X überführen. Umgekehrt konnten wir schliesslich aus dem Keton X durch Kondensation mit Kohlensäure-methylester nach *Preobrajenski*, *Schtschukina* und *Lapina*[2]) in allerdings schlechter Ausbeute, wieder zum Keto-ester XX gelangen. Somit ist die Konstitution von X bewiesen.

Wir methylierten den Keto-ester XX und setzten den erhaltenen 1-Keto-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester (XXI) mit Äthylmagnesiumbromid um. In unbefriedigender Ausbeute bekamen wir den 1-Äthyl-1-oxy-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester (XXII). Vorteilhafter ist es, den Methylketo-ester XXI mit Natrium-acetylenid in flüssigem Ammoniak bei -60^0 zu kondensieren und das erhaltene dreifach ungesättigte Carbinol XXIII mit Hilfe von Platin zu XXII zu hydrieren.

Durch kurzes Erwärmen mit 90-proz. Ameisensäure ging das Äthylcarbinol XXII unter Wasserabspaltung in die Äthylidenester XIIIa und XIIIb über, die schon aus der Naphthyl-propionsäure (XII) durch Cyclisierung dargestellt worden waren. Folglich erfolgte auch dieser Ringschluss nicht in peri-Stellung, und die angenommene Konstitution der C-Nor-bisdehydro-doisynolsäuren wird damit endgültig bewiesen.

Es bleibt somit innert der Reihe der Bisdehydro-doisynolsäuren die überraschende Tatsache bestehen, dass die Verengerung des die Carboxylgruppe tragenden, hydroaromatischen Ringes um ein Glied die oestrogene Wirkung praktisch völlig aufhebt.

---

[1]) *A. Butenandt* und *G. Schramm*, B. **68**, 2083 (1935); *G. Haberland*, B. **70**, 169 (1937); *W. E. Bachmann*, *W. Cole* und *A. L. Wildes*, Am. Soc. **62**, 830 (1940).

[2]) *N. A. Preobrajenski*, *N. N. Schtschukina* und *R. A. Lapina*, B. **69**, 1615 (1936).

Experimenteller Teil [1]).

I. Darstellung von 1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin (X) aus 1-Oxymethyl-6-methoxy-naphthalin (VIa).

1-Oxymethyl-6-methoxy-naphthalin (VIa).

Zu 95 g Magnesium in 1,5 Liter Äther wurde eine Lösung von 555 g Jodnerolin und 215 g Äthylbromid in 1 Liter Benzol zugetropft. Nach 5 Stunden war das Magnesium gelöst. Man kühlte auf 0° und leitete innerhalb 2 Stunden den durch Zersetzung von 123 g Paraformaldehyd erhaltenen Formaldehyd unter ständigem Kühlen in die Lösung ein. Nun rührte man über Nacht, zersetzte in üblicher Weise mit Eis und Salzsäure, nahm in Äther auf und wusch mit Wasser und Natriumcarbonatlösung. Nach Eindampfen der benzol-ätherischen Lösung löste man den Rückstand in 700 cm³ Äthanol und versetzte die Lösung unter Eiskühlung und starkem Rühren langsam mit der gleichen Menge Wasser, wobei das 1-Oxymethyl-6-methoxy-naphthalin in 80-proz. Ausbeute krystallisierte (300 g). Zur Analyse wurde eine Probe aus Methanol umkrystallisiert. Smp. 101°.

$C_{12}H_{12}O_2$	Ber. C 76,57	H 6,43%	
	Gef. „ 76,61	„ 6,40%	

Acetat (VIb). Mit Acetanhydrid in Pyridin hergestellt und aus Äthanol umkrystallisiert schmolz es bei 86°.

$C_{14}H_{14}O_3$	Ber. C 73,02	H 6,13%
	Gef. „ 72,87	„ 6,26%

1-Chlormethyl-6-methoxy-naphthalin (VII).

Wir tropften unter starkem Rühren, innerhalb 2 Stunden, 120 cm³ Thionylchlorid in die eisgekühlte Suspension von 300 g des Carbinols VIa in 1,5 Liter Benzol. Die Chlorierung setzte sofort ein. Wir rührten über Nacht, versetzten mit Eis und wuschen die benzolische Lösung mit Natriumcarbonat neutral. Das erhaltene 1-Chlormethyl-6-methoxy-naphthalin siedete bei 150—151°/0,2 mm und erstarrte sofort krystallinisch in der Vorlage. Smp. 75—76°. Die Ausbeute betrug 180 g (55% der Theorie). Im Destillierkolben blieb ein bedeutender, harziger Rückstand zurück.

$C_{12}H_{11}OCl$	Ber. C 69,74	H 5,37	Cl 17,16%
	Gef. „ 69,80	„ 5,26	„ 17,26%

β-[6-Methoxynaphthyl-1]-methylmalonsäure (VIII).

Aus 13 g Natrium dargestelltes und scharf getrocknetes Äthylat versetzten wir mit 220 cm³ Malonester und erwärmten, bis klare Lösung eingetreten war. Hierauf tropften wir 75 g des Chlorids VII hinzu und kochten 10 Stunden. Das Reaktionsprodukt wurde noch warm in eine Lösung von 175 g Ätzkali in 240 cm³ Wasser und 75 cm³ Alkohol unter Rühren gegossen. Die Verseifung setzte sofort ein, wobei ein Teil des Alkohols und des Benzols abdestillierte. Wir konzentrierten stark, kühlten ab und gossen in 350 cm³ konz. Salzsäure und 1 Liter Wasser. Die β-[6-Methoxynaphthyl-1]-methylmalonsäure fiel in praktisch quantitativer Ausbeute aus. Aus wässrigem Alkohol umkrystallisiert schmolz sie bei 170° unter Zersetzung.

$C_{15}H_{14}O_5$	Ber. C 65,69	H 5,15%
	Gef. „ 65,89	„ 5,33%

β-[6-Methoxy-naphthyl-1]-propionsäure (IX).

98 g der Malonsäure VIII wurden unter 11 mm Druck auf 170° erwärmt. Nachdem sie geschmolzen waren, wurde bis zum Aufhören der starken Gasentwicklung noch eine halbe Stunde erhitzt. Man krystallisierte aus Essigester um und erhielt 78 g β-[6-Methoxynaphthyl-1]-propionsäure vom Smp. 162°. Ausbeute 95%.

$C_{14}H_{14}O_3$	Ber. C 73,02	H 6,13%
	Gef. „ 73,18	„ 6,02%

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin (X).

10 g der Säure IX wurden mit 100 cm³ 90,8-proz. Phosphorsäure gut angerührt und mit 80 g Phosphorpentoxyd in 4 Portionen zu 20 g versetzt. Nach dem Zusatz der ersten Portion stieg die Temperatur auf 60°. Die zweite und die dritte Portion wurden je nach 3 Minuten zugegeben, wobei die Temperatur 100° und 117° erreichte. Wir rührten weiter, bis die Temperatur auf 75° gesunken war und setzten die vierte Portion zu, wobei nochmals Erwärmung bis auf 95° stattfand. Anschliessend erwärmten wir noch 20 Minuten auf 130°. Nach dieser Zeit war keine Säure IX mehr in der Reaktionsmasse nachzuweisen. Wir gossen auf Eis und extrahierten mit Essigester. Zur Entfernung von Phosphorsäureestern wurde mehrmals mit Natriumcarbonatlösung ausgewaschen. Nach Krystallisation aus Methanol erhielten wir 5,2 g 1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin vom Smp. 133°.

$C_{14}H_{12}O_2$	Ber. C 79,22	H 5,70%	
	Gef. „ 79,09	„ 5,60%	

(Bei grösseren Ansätzen sank die Ausbeute. Die Umsetzung verlief zu heftig, und es trat dabei Spaltung der Methoxygruppe unter gleichzeitiger Veresterung mit Phosphorsäure ein. Trotz Verseifung liess sich nur wenig Oxyketon gewinnen.)

Semicarbazon. Es schmolz bei 280—284°, konnte aber nicht umkrystallisiert werden.

2-Benzylidenderivat. Es bildete sich bei kurzem Erwärmen eines Gemisches von 0,3 g Keton und 1 cm³ Benzaldehyd mit der Lösung von 0,39 g Ätzkali in 10 cm³ Alkohol. Aus Alkohol umkrystallisiert schmolz es bei 195—198°.

$C_{21}H_{16}O_2$	Ber. C 83,98	H 5,37%
	Gef. „ 83,83	„ 5,36%

1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-methylglyoxalat (XI).

Wir stellten aus 3 g Natrium Methylat her, trockneten es scharf, versetzten tropfenweise mit 15,4 g Oxalsäure-dimethylester in 100 cm³ Benzol und rührten unter Stickstoff, bis klare Lösung eingetreten war. Dann gaben wir die Lösung von 14 g Keton X in 200 cm³ Benzol rasch hinzu. Nach 3 Minuten war ein homogener Krystallbrei entstanden, den wir nach 4 Stunden mit Eis versetzten. Wir trennten die wässrige Schicht ab und fällten durch Ansäuern das 1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-methylglyoxalat aus. Nach Umkrystallisieren aus Eisessig schmolz es bei 202—204°. Die Ausbeute betrug 15,5 g (79% der Theorie).

$C_{17}H_{14}O_5$	Ber. C 68,45	H 4,73%
	Gef. „ 68,44	„ 4,81%

Wir konnten dieses Glyoxalat weder als solches, noch in Gegenwart von Glaspulver oder von Spuren Borsäure durch Erhitzen bis auf 200°, unter normalem Druck oder im Wasserstrahl-, bzw. im Hochvakuum in den 1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester XX überführen.

II. Darstellung der C-Nor-bisdehydro-doisynolsäuren (IIa und b) aus 1-Chlormethyl-6-methoxy-naphthalin (VII).

1-Methyl-1-propionyl-2-[6′-methoxy-naphthyl-1′]-propionsäure-methylester (XII).

Zu 8,6 g fein pulverisiertem Kalium in 250 cm³ Xylol tropften wir 37 g α-Propionyl-propionester im Stickstoffstrom zu. Unter lebhafter Wasserstoffentwicklung bildete sich das Kaliumsalz des Esters, das als voluminöser Niederschlag ausfiel. Wir setzten 38 g des Chlorids VII, in 100 cm³ Xylol gelöst, hinzu und kochten 26 Stunden. Nach Zugabe von Eiswasser säuerten wir mit 15 cm³ Eisessig an. Das Reaktionsprodukt, der 1-Methyl-1-propionyl-2-[6′-methoxy-naphthyl-1′]-propionsäure-methylester destillierte bei

178—185°/0,2 mm (Hauptmenge 183—184°/0,2 mm) als klares Öl über, das nach einigen Tagen erstarrte und bei 72° schmolz. Die Ausbeute betrug 51 g (89,5% der Theorie).

$C_{19}H_{22}O_4$	Ber. C 72,59	H 7,09%
	Gef. ,, 72,89	,, 7,28%

1-Äthyliden-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester (XIIIa und XIIIb).

Zu der eiskalten Lösung von 460 cm³ Wasser und 2 kg konz. Schwefelsäure setzten wir 50 g Keto-ester XII in fester Form und schüttelten über Nacht bei 0°. Unter kirschroter Färbung ging der Ester vollständig in Lösung. Wir gossen auf 2 kg Eis und nahmen in Äther auf. Den aus dem Äther gewonnenen Rückstand krystallisierten wir aus 175 cm³ kochendem Aceton um. Beim Abkühlen schieden sich 21,6 g des 1-Äthyliden-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylesters (XIIIa) ab, der nach mehrmaligem Umlösen aus Methanol-Aceton bei 134° schmolz. Hierauf dampften wir die vereinigten Mutterlaugen ein. Das zurückbleibende Öl erstarrte beim Verrühren mit Methanol bei 0° krystallinisch. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Äthanol erhielten wir den isomeren Ester XIIIb vom Smp. 108—109°. Die Gesamtausbeute betrug 39,8 g (84% der Theorie).

XIIIa $C_{19}H_{20}O_3$	Ber. C 77,00	H 6,80%
	Gef. ,, 77,02	,, 6,74%
XIIIb $C_{19}H_{20}O_3$	Ber. ,, 77,00	,, 6,80%
	Gef. ,, 76,86	,, 6,68%

Versuche zur Umlagerung der beiden isomeren Ester.

1. 2 g Ester XIIIa vom Smp. 134° wurden 1 Stunde mit 0,2 g Jod in 25 cm³ Chloroform erwärmt. Durch fraktionierte Krystallisation aus Aceton und Methanol erhielten wir 470 mg Ester XIIIb vom Smp. 108—109°, neben 1,29 g unverändertem Ester XIIIa.

2. 0,5 g Ester XIIIb kochten wir mit 0,1 g Jod 1 Stunde in 10 cm³ Chloroform. Die Aufarbeitung ergab 270 mg Ester XIIIa vom Smp. 134° neben 100 mg unverändertem Ester XIIIb vom Smp. 108—109°.

1-Äthyliden-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäuren (XIVa und XIVb).

1. Verseifung des Esters (XIIIa) vom Smp. 134°.

Wir erhitzten im offenen Kolben 17 g Ester XIIIa mit 65 g Ätzkali, 15 cm³ Alkohol und 15 cm³ Wasser im Ölbad 40 Minuten auf 175—185°. Nach kurzer Zeit überschichtete sich die Schmelze mit einer festen Kruste des Kaliumsalzes der ungesättigten Säure. Nach 15 und 30 Minuten wurden noch 5 cm³ Alkohol zugesetzt. Wir nahmen in 500 cm³ Wasser auf, säuerten an und extrahierten mit im ganzen 1 Liter Essigester. Beim Konzentrieren krystallisierte die 1-Äthyliden-2-methyl-6-methoxy-10,11cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure (XIVa) vom Smp. 196° sofort rein aus. Die Ausbeute betrug 14,9 g entsprechend 89% der Theorie. In alkalischer Lösung fluoresziert das ziemlich schwerlösliche Natriumsalz leicht blau. Die Säure schmolz unter Kohlendioxyd-Abspaltung.

$C_{18}H_{18}O_3$	Ber. C 76,57	H 6,43%
	Gef. ,, 76,69	,, 6,51%

2. Verseifung des Esters (XIIIb) vom Smp. 108—109°.

4,8 g Ester XIIIb verseiften wir wie im Versuch 1 mit 20 g Ätzkali, 5 cm³ Wasser und 5 cm³ Alkohol. Die Aufarbeitung ergab 3,95 g der Säure XIVb die, aus Essigester umkrystallisiert, bei 180° unter Kohlendioxyd-Abspaltung schmolz. Ausbeute 89% der Theorie.

Das Kaliumsalz von XIVb ist leichter löslich als dasjenige der isomeren Säure XIVa und fluoresziert in Lösung nicht.

$C_{18}H_{18}O_3$	Ber. C 76,57	H 6,43%
	Gef. ,, 76,43	,, 6,38%

1-Äthyl-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäuren (XVa und XVb, R = H).

1. Hydrierung der ungesättigten Säure XIVa.

a) Wir nahmen 7,5 g der ungesättigten Säure XIVa in einer Lösung von 2,6 g Ätznatron (2,6 Mol) in 450 cm³ Wasser (1 g Säure in 64 cm³ Lösung) auf und hydrierten in Gegenwart von 4 g Nickelkatalysator. Innert 70 Minuten wurde etwas mehr als 1 Mol Wasserstoff aufgenommen. Die Aufarbeitung ergab 5,44 g 1-Äthyl-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure (XVb) vom Smp. 152°.

$C_{18}H_{20}O_3$ Ber. C 76,03 H 7,09%
Gef. „ 76,02 „ 7,00%

b) Hydrierten wir mit Nickelkatalysator 2 g der gleichen ungesättigten Säure XIVa in einer Lösung von 0,32 g Ätznatron (2 Mol) in 250 cm³ Wasser (1 g Säure in 125 cm³ Lösung), so erhielten wir nach der Aufnahme von etwas mehr als 1 Mol Wasserstoff innerhalb 3 Stunden durch fraktionierte Krystallisation aus Methanol 410 mg der hydrierten Säure XVb vom Smp. 152° neben 780 mg der diastereomeren Säure XVa vom Smp. 200°.

$C_{18}H_{20}O_3$ Ber. C 76,03 H 7,09%
Gef. „ 75,88 „ 7,31%

Der Mischschmelzpunkt der ungesättigten Säure XIVa vom Smp. 196° mit der gesättigten Säure XVa vom Smp. 200° lag bei 184—185°.

c) Durch Hydrierung von 3 g der Säure XIVa in einer Lösung von 0,48 g Ätznatron (2 Mol) in 1,5 Liter Wasser (1 g Säure in 500 cm³ Lösung) mit 4 g Nickelkatalysator erhielten wir nach der Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff in 1½ Stunde nur die gesättigte Säure XVb, ohne eine Spur der höher schmelzenden Säure XVa. Ausbeute 95%.

2. Hydrierung der ungesättigten Säure XIVb.

In ähnlicher Weise hydrierten wir auch die ungesättigte Säure XIVb vom Smp. 178°.

a) Bei der Konzentration von 1 g Säure in 60 cm³ Lösung mit 2 Mol Ätznatron erhielten wir nur die Säure XVb.

b) Als wir die Säure XIVb in zweifach verdünnter Lösung (1 g Säure in 125 cm³ Lösung) hydrierten, gelangten wir zu einem Gemisch der beiden Säuren XVa und XVb, die sich ungefähr im Verhältnis 1:1 bildeten.

Methylester. (XVa und b, R = CH_3). Wir erhielten sie mit Diazomethan. Derjenige aus der Säure XVa schmolz, nach Umkrystallisieren aus wässrigem Methanol, bei 86°, derjenige aus der Säure XVb, aus Methanol umgelöst, bei 74°.

XVa $C_{19}H_{22}O_3$ Ber. C 76,48 H 7,43%
Gef. „ 76,65 „ 7,70%

XVb $C_{19}H_{22}O_3$ Ber. C 76,48 H 7,43%
Gef. „ 76,23 „ 7,25%

1-Äthyl-2-methyl-6-oxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäuren (IIa und IIb, R = H); C-Nor-bisdehydro-doisynolsäuren.

1. Spaltung der Methoxysäure XVa.

1,1 g der freien Säure XVa kochten wir mit 25 cm³ Eisessig und 25 cm³ 48-proz. Bromwasserstoffsäure. Sie ging langsam in Lösung. Nach 2 Stunden versetzten wir mit Wasser, wobei die Nor-bisdehydro-doisynolsäure IIa auskrystallisierte. Nach Umlösen aus Methanol schmolz sie bei 162°. Ausbeute 71%. Wir erhielten sie auch, allerdings nur in 40-proz. Ausbeute, als wir die Säure XVa mit dem vierfachen Gewicht Pyridinhydrochlorid 4 Stunden auf 180° erhitzten.

$C_{17}H_{18}O_3$ Ber. C 75,33 H 6,71%
Gef. „ 75,25 „ 6,60%

Methylester (IIa, R = CH_3). Er wurde mit Diazomethan gewonnen und aus Methanol umkrystallisiert. Smp. 137°.

$C_{18}H_{20}O_3$ Ber. C 76,03 H 7,09%
Gef. „ 76,02 „ 7,02%

2. Spaltung der Methoxysäure XVb.

3 g der freien Säure XVb spalteten wir durch dreistündiges Kochen mit 30 cm³ Eisessig und 20 cm³ 48-proz. Bromwasserstoffsäure. Durch Zusatz von 75 cm³ Wasser fiel die C-Nor-bisdehydro-doisynolsäure IIb aus, die, aus wässrigem Methanol umkrystallisiert, bei 198—199° schmolz. Die Ausbeute betrug 2,23 g (78% der Theorie). Die gleiche Säure bildete sich auch durch vierstündiges Erhitzen mit der vierfachen Menge Pyridinhydrochlorid auf 180°.

$C_{17}H_{18}O_3$	Ber. C 75,33	H 6,71%
	Gef. ,, 75,25	,, 6,82%

Methylester. (IIb, R = CH_3). Wir erhielten ihn mit Diazomethan als dickes Öl, das unter 0,15 mm bei 178—180° destillierte.

$C_{18}H_{20}O_3$	Ber. C 76,03	H 7,09%
	Gef. ,, 75,90	,, 7,43%

III. 1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin (X) durch Ringverengerung von 1-Keto-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren (XVI).

1-Keto-2-oxymethylen-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren (XVII).

Wir überschichteten aus 8 g Natrium dargestelltes Natriummethylat mit 200 cm³ Benzol und tropften unter Stickstoff zuerst eine Lösung von 29,9 g Ameisensäure-ester in 100 cm³ Benzol und dann eine solche von 40 g 1-Keto-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydrophenanthren zu. Wir rührten 9 Stunden und versetzten mit 500 cm³ n. Schwefelsäure. Aus der getrockneten benzolischen Lösung gewannen wir das 1-Keto-2-oxymethylen-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren in nahezu quantitativer Ausbeute. Aus Äthanol umkrystallisiert schmolz es bei 130°.

$C_{16}H_{14}O_3$	Ber. C 75,57	H 5,55%
	Gef. ,, 75,41	,, 5,81%

β-[2-Carboxy-6-methoxy-naphthyl-1]-propionsäure (XVIII).

20 g des Oxymethylenketons (XVII) wurden in 135 cm³ 10-proz. Ätzkali und 200 cm³ Alkohol gelöst und zu dieser Lösung innerhalb 10 Minuten unter Eiskühlung 52,8 g 30-proz. Wasserstoffperoxyd zugetropft. Wir rührten noch eine Stunde bei 0° und säuerten mit 2-n. Schwefelsäure an, wobei die β-[2-Carboxy-6-methoxy-naphthyl-1]-propionsäure ausfiel. Nach Umlösen aus Eisessig schmolz sie bei 259—260°. Sie ist auffallend schwer löslich in den üblichen Lösungsmitteln. Die Ausbeute betrug 63%.

$C_{15}H_{14}O_5$	Ber. C 65,69	H 5,15%
	Gef. ,, 65,54	,, 5,23%

Dimethylester XIX: Die Veresterung der Säure XVIII mit ätherischer Diazomethanlösung verlief erst befriedigend, als wir die Säure mit Dioxan überschichteten und einige Zeit stehen liessen. Der Dimethylester wurde aus wässrigem Methanol umkrystallisiert und schmolz bei 69°.

$C_{17}H_{18}O_5$	Ber. C 67,54	H 6,00%
	Gef. ,, 67,56	,, 5,99%

1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester (XX).

Wir kochten 24,3 g des Diesters XIX 8 Stunden unter Stickstoff mit aus 2,2 g Natrium hergestelltem Natriummethylat in 350 cm³ Benzol. Nun versetzte man mit Wasser, säuerte schwach mit 2-n. Schwefelsäure an und nutschte ab. Die benzolische Mutterlauge wurde eingedampft und der Rückstand gewaschen und zusammen mit der abgenutschten Fraktion aus Eisessig umkrystallisiert. Wir erhielten den sehr schwer löslichen 1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester in

kurzen, dicken Krystallen vom Smp. 176°. Ausbeute 69% der Theorie. Der Keto-ester gab mit Eisen(III)-chlorid eine grüne Färbung.

$C_{16}H_{14}O_4$ Ber. C 71,10 H 5,22%
Gef. „ 71,19 „ 5,26%

1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin (X) aus dem Keto-ester XX.

Wir lösten 1,5 g Keto-ester XX in 30 cm³ Eisessig auf dem kochenden Wasserbad und versetzten langsam mit 10 cm³ konz. Salzsäure. Es setzte sofort Kohlendioxydentwicklung unter intensiver Rotfärbung der Lösung ein. Nach einer Stunde verdünnten wir bis zu beginnender Krystallisation mit Wasser. Die erhaltene Substanz schmolz bei 136° und war identisch mit dem bereits früher gewonnenen Keton X vom Smp. 133°. Die Mischprobe schmolz bei 135°. Die Mischproben der beiden Semicarbazone vom Smp. 280—284° und der beiden 2-Benzylidenderivate vom Smp. 195—198° zeigten ebenfalls die Identität der beiden Ketone.

1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester (XX) aus dem Keton X.

Wir erhitzten langsam unter Stickstoff eine Lösung von 2 g Keton X und 1,7 g Kohlensäure-dimethylester in 20 cm³ Benzol in Gegenwart von 0,46 feingepulvertem Kalium. Bei 70° (Ölbadtemperatur) setzte eine deutliche Reaktion ein, die nach und nach lebhafter wurde. Nach 10 Minuten war das Kalium gelöst. Wir versetzten die braune halbfeste Reaktionsmasse mit Eiswasser, säuerten schwach mit verdünnter Schwefelsäure an und extrahierten mehrmals mit Äther. Aus dem von harzigen Verunreinigungen abfiltrierten Äther erhielten wir einen braunen Rückstand, der zweimal aus Essigester mit Petroläther gefällt wurde. Nach zweimaligem Umlösen aus Aceton erhielten wir 0,2 g 1-Keto-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester vom Smp. 173°. Die Mischprobe mit dem aus dem Di-ester XIX hergestellten Keto-ester XX vom Smp. 176° schmolz bei 173—175°. Beide Keto-ester gaben mit Eisen(III)-chlorid die gleiche grüne Färbung.

IV. Überführung des 1-Keto-6-methoxy-10.11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylesters XX in die C-Nor-bisdehydro-doisynolsäuren IIa und b.

1-Keto-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester (XXI).

2,72 g Natrium wurden in 100 cm³ Methanol gelöst und die Lösung mit einer solchen von 6 g Keto-ester XX in 100 cm³ Benzol versetzt. Die Natriumverbindung des Ketoesters fiel sofort aus. Wir gaben 25 cm³ Methyljodid zu und kochten eine Stunde, bis klare Lösung eingetreten war. Nun versetzten wir mit Wasser und zogen dreimal mit Benzol aus. Den Rückstand aus der getrockneten benzolischen Lösung krystallisierten wir aus 30 cm³ Methanol, unter Zusatz einiger Tropfen Wasser, um und erhielten 5,1 g 1-Keto-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester vom Smp. 114°.

$C_{17}H_{16}O_4$ Ber. C 71,82 H 5,67%
Gef. „ 71,73 „ 5,85%

1-Äthyl-1-oxy-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester (XXII).

1. Durch Behandlung von XXI nach *Grignard*.

Zu einer aus 0,17 g Magnesium und 0,8 g Äthylbromid in 10 cm³ Äther dargestellten Äthylmagnesiumbromid-Lösung gaben wir 2 g des Methyl-keto-esters XXI in 75 cm³ Äther, wobei ein voluminöser Niederschlag ausfiel. Wir dampften den Äther zum grössten Teil ab und erhitzten 3 Stunden auf dem Wasserbad. Nach üblicher Aufarbeitung mit

Eis und verdünnter Schwefelsäure extrahierten wir mit Äther. Krystallisation des Rückstandes aus 30 cm³ Methanol ergab 0,8 g Ausgangsmaterial. Nach längerem Stehen schieden sich aus der stark eingeengten Mutterlauge 250 mg 1-Äthyl-1-oxy-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester ab. Aus Methanol umkrystallisiert schmolz er bei 166°.

$C_{19}H_{22}O_4$ Ber. C 72,59 H 7,05%
Gef. „ 72,61 „ 7,12%

2. Über das Äthinylcarbinol.

a) Darstellung des 1-Äthinyl-1-oxy-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylesters (XXIII).

Aus 0,3 g Kalium in 20 cm³ flüssigem Ammoniak wurde bei —60° eine Kaliumacetylenidlösung gewonnen und diese mit 2 g Methyl-keto-ester XXI versetzt. Wir gaben noch 50 cm³ Äther zu und rührten bei Raumtemperatur, bis das Ammoniak verdunstet war, worauf wir mit einer wässrigen Ammoniumchloridlösung zersetzten. Der aus dem gewaschenen und getrockneten Äther gewonnene Rückstand ergab nach Krystallisation aus Methanol 1,7 g 1-Äthinyl-1-oxy-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester vom Smp. 164°. Die Ausbeute betrug 1,7 g (74% der Theorie).

$C_{19}H_{18}O_4$ Ber. C 73,53 H 5,85%
Gef. „ 73,65 „ 5,98%

b) Hydrierung des Äthinylcarbinols (XXIII) zum Äthylcarbinol (XXII).

Wir lösten 750 mg des Äthinylcarbinols in 70 cm³ Alkohol und hydrierten mit Hilfe von 100 mg Platinkatalysator. Nach Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff innerhalb 30 Minuten blieb die Hydrierung stehen. Wir filtrierten vom Katalysator ab, dampften die Lösung ein und krystallisierten den Rückstand aus Methanol um. Das Carbinol XXII schmolz bei 166°. Die Mischprobe mit dem nach *Grignard* hergestellten Äthylcarbinol gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

1-Äthyliden-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylester (XIIIa und XIIIb) aus dem Äthylcarbinol XXII.

240 mg des Carbinols XXII erhitzten wir 10 Minuten auf dem Wasserbad mit 3 cm³ 90-proz. Ameisensäure. Es trat vorübergehend Rotfärbung ein. Wir gossen in Wasser, nahmen in Äther auf, wuschen den Äther mit verdünnter Carbonatlösung neutral, trockneten und dampften ihn ein. Dann lösten wir den öligen Rückstand in 5 cm³ Aceton, konzentrierten auf die Hälfte und setzten 3 cm³ Methanol zu. Im Kühlschrank krystallisierten 130 mg des 1-Äthyliden-2-methyl-6-methoxy-10,11-cyclopenteno-naphthalin-2-carbonsäure-methylesters vom Smp. 133—134° aus. Sie waren mit dem aus XII hergestellten Äthylidenester XIIIa identisch (Mischprobe Smp. 133—134°).

Aus den Mutterlaugen konnten wir 30 mg des isomeren Äthylidencarbinols XIIIb isolieren. Sein Schmelzpunkt lag zwar 4° zu tief (104°), die Mischprobe (Smp. 105—106°) mit dem früher gewonnenen Carbinol vom Smp. 108° sprach aber für die Identität der beiden Verbindungen.

Die Überführung von XIIIa und XIIIb in die C-Nor-bisdehydro-doisynolsäuren erfolgt wie vorne beschrieben.

Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium unter der Leitung von Hrn. Dr. *Gysel* durchgeführt.

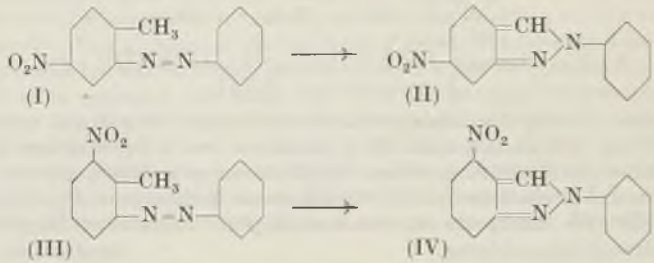
Forschungslaboratorium der CIBA Aktiengesellschaft, Basel,
Pharmazeutische Abteilung.

105. Sur l'aptitude réactionnelle du groupement méthylique X[1]). Dérivés du 2-méthyl-azobenzène

par Louis Chardonnens et Max Buchs.

(10 V 46)

Dans le 7ème mémoire de cette série[2]), *P. Heinrich* et l'un de nous ont montré que le 2-méthyl-5-nitro-azobenzène (I), en solution alcoolique bouillante et en présence de carbonate de sodium, se transforme, par l'action déshydrogénante des nitroso-dérivés tels que la p-nitroso-diméthylaniline ou le nitrosobenzène, en 6-nitro-2-phényl-indazole (II). Le 2-méthyl-3-nitro-azobenzène (III) se comporte qualitativement de la même manière et donne le 4-nitro-2-phényl-indazole (IV).



Ces auteurs ont émis l'opinion que l'action déshydrogénante des nitroso-dérivés sur le groupement méthylique, précédant la fermeture du cycle pyrazolique, avait pour raison l'aptitude réactionnelle particulière de ce groupement, due à la présence des substituants activants «benzène-azo» en position ortho et nitré en para ou en ortho. Ils y voyaient un appui dans les faits suivants: d'une part le 2-méthyl-azobenzène, où manque le deuxième substituant activant, traité dans les mêmes conditions, reste complètement inaltéré; d'autre part le rendement en dérivé indazolique est meilleur dans le cas du 2-méthyl-5-nitro-azobenzène (I) que dans celui du 2-méthyl-3-nitro-azobenzène (III), ce qui s'explique si l'on se rappelle que l'action activante des substituants est plus prononcée s'ils sont en position ortho-para que s'ils se trouvent en ortho-ortho[3]).

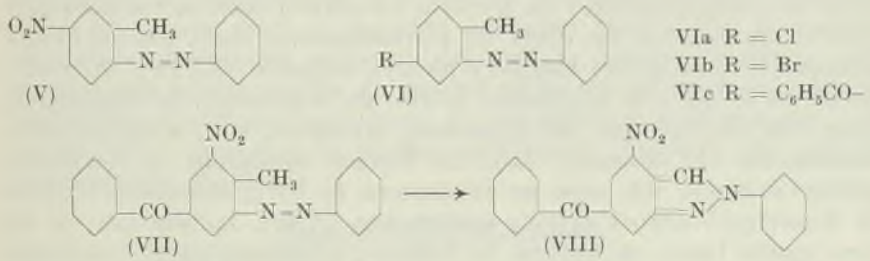
Nous nous sommes proposé d'apporter d'autres preuves à l'appui de cette opinion. Nous avons étudié tout d'abord le comportement du 2-méthyl-4-nitro-azobenzène[4]) (V), où le groupe nitré est en méta

[1]) IX: Helv. **28**, 221 (1945).
[2]) *L. Chardonnens* et *P. Heinrich*, Helv. **23**, 1399 (1940).
[3]) Helv. **22**, 1476 (1939); **23**, 294 (1940).
[4]) *J. Meisenheimer* et *E. Hesse*, B. **52**, 1174 (1919).

au méthyle, donc dans une position qui, comme on le sait, est beaucoup moins favorable à une activation[1]). Ce composé, traité dans les mêmes conditions que ses isomères (I) et (III), ne donne pas trace de dérivé indazolique.

Nous avons ensuite remplacé, dans le 2-méthyl-5-nitro-azobenzène (I), le groupe nitré en position para au méthyle par des substituants dont on sait par ailleurs que leur pouvoir activant est moindre que celui du groupe nitré: halogènes[2]), benzoyle[3]). Les composés correspondants, soit le 2-méthyl-5-chloro-azobenzène (VIa), le 2-méthyl-5-bromo-azobenzène (VIb), et le 2-méthyl-5-benzoyl-azobenzène (VIc), ont été préparés par condensation avec le nitrosobenzène des o-toluidines substituées adéquates. Ces trois produits se sont comportés, vis-à-vis des nitroso-dérivés, comme le 2-méthyl-azobenzène et le 2-méthyl-4-nitro-azobenzène (V); ils n'ont fourni, dans les conditions expérimentales habituelles, aucun dérivé indazolique.

Il est donc nécessaire, pour que la réaction ait lieu, que le groupement méthylique soit rendu réactif par un groupe nitré, de pouvoir activant suffisant, en position favorable. Le 2-méthyl-3-nitro-5-benzoyl-azobenzène (VII), que l'on obtient en condensant la 4-méthyl-3-amino-5-nitro-benzophénone[4]) avec le nitrosobenzène, satisfait à cette condition, comme d'ailleurs le 2-méthyl-3-nitro-azobenzène (III) dont il ne diffère que par un groupement benzoyle en plus. Mais la présence simultanée des deux substituants activants, nitré en ortho et benzoyle en para, renforçant de manière notable l'aptitude réactionnelle du groupement méthylique, facilite ici considérablement la synthèse indazolique. Le 2-méthyl-3-nitro-5-benzoyl-azobenzène (VII) donne en effet, sous l'action du nitrosobenzène, avec un excellent rendement, le 4-nitro-6-benzoyl-2-phényl-indazole (VIII).



Nous avons enfin étudié, au même point de vue, des dérivés du 2-méthyl-5-nitro-azobenzène substitués dans le noyau benzénique encore libre. On pouvait penser que de tels composés se comporteraient comme le 2-méthyl-5-nitro-azobenzène lui-même (I) et don-

[1]) Helv. **22**, 1476 (1939).
[2]) Helv. **23**, 292 (1940).
[3]) Helv. **16**, 1295 (1933); **22**, 822 (1939).
[4]) *W. Blakey* et *H. A. Scarborough*, Soc. **1928**, 2493.

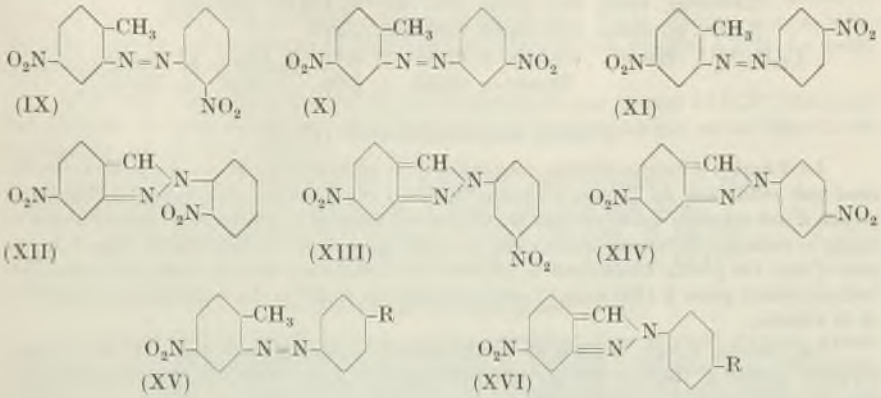
neraient aussi, dans des conditions analogues, des dérivés du 2-phényl-indazole.

Nous avons fait porter nos essais tout d'abord sur les trois composés nitrés isomères: le 2-méthyl-5,2′-dinitro-azobenzène (IX), le 2-méthyl-5,3′-dinitro-azobenzène (X) et le 2-méthyl-5,4′-dinitro-azobenzène (XI). On les obtient en condensant le 2-nitroso-4-nitro-toluène[1]) avec les trois nitro-anilines isomères; mais on prépare le premier mieux encore par condensation de l'o-nitroso-nitro-benzène[2]) avec le 2-amino-4-nitro-toluène et le troisième s'obtient aussi par nitration directe du 2-méthyl-5-nitro-azobenzène. Traités en solution alcoolique bouillante, en présence de carbonate de sodium, par un excès de nitrosobenzène, ils donnent tous trois, avec de bons rendements, les dérivés indazoliques attendus: le 6-nitro-2-(2-nitro-phényl)-indazole (XII), le 6-nitro-2-(3-nitro-phényl)-indazole (XIII) et le 6-nitro-2-(4-nitro-phényl)-indazole (XIV). L'introduction de groupes nitrés dans le substituant «benzène-azo» a modifié son pouvoir activant dans un sens favorable, car la cyclisation indazolique se fait ici beaucoup mieux qu'avec le 2-méthyl-5-nitro-azobenzène.

On constate un effet beaucoup moins favorable, voire nettement défavorable, si l'on introduit dans le noyau benzénique libre du 2-méthyl-5-nitro-azobenzène, en position para à la liaison azoïque, les groupements méthoxyle, éthoxyle ou diméthylaminé. Le 2-méthyl-5-nitro-4′-méthoxy-azobenzène (XVb) et le 2-méthyl-5-nitro-4′-éthoxy-azobenzène (XVc) se préparent par action du sulfate de diméthyle ou de diéthyle sur le 2-méthyl-5-nitro-4′-oxy-azobenzène (XVa) que l'on obtient par copulation du sel de diazonium du 2-amino-4-nitro-toluène avec le phénol. On prépare le 2-méthyl-5-nitro-4′-diméthyl-amino-azobenzène (XVd) par copulation du même sel de diazonium avec la diméthylaniline. Le 2-méthyl-5-nitro-4′-méthoxy-azobenzène (XVb) donne avec un excès de nitrosobenzène dans les conditions usuelles le 6-nitro-2-(4-méthoxy-phényl)-indazole (XVIa); le rendement est de 43% de la théorie. L'effet de la présence du méthoxyle, sans être considérable, est cependant favorable, le 2-méthyl-5-nitro-azobenzène (I) donnant, dans les mêmes conditions, le 6-nitro-2-phényl-indazole (II) avec un rendement de 37% seulement[3]). Avec le 2-méthyl-5-nitro-4′-éthoxy-azobenzène (XVc), la réaction va un peu moins bien; on obtient le 6-nitro-2-(4-éthoxy-phényl)-indazole (XVIb) avec un rendement qui ne se monte plus qu'à 35%, compte tenu du produit de départ resté inchangé, et une prolongation de la durée de réaction comme un plus grand excès de nitrosobenzène n'améliorent pas le résultat. Le 2-méthyl-5-nitro-4′-diméthylamino-azobenzène (XVd) enfin semble ne pas réagir du tout; nous avons

[1]) Helv. **23**, 1412 (1940).
[2]) *E. Bamberger* et *R. Hübner*, B. **36**, 3803 (1903).
[3]) Helv. **23**, 1415 (1940).

récupéré quasi quantitativement le produit de départ mis en œuvre et n'avons pu isoler, à côté de l'azoxybenzène formé aux dépens du nitrosobenzène, que des traces d'un produit orangé fondant à 198—200°. Ce produit représente peut-être le composé indazolique attendu, mais la minime quantité obtenue n'a pas permis de l'étudier davantage.



XVa R = OH
XVb R = OCH_3
XVc R = OC_2H_5
XVd R = $N(CH_3)_2$

XVIa R = OCH_3
XVIb R = OC_2H_5

Ces résultats montrent, nous semble-t-il, avec assez d'évidence que la facilité avec laquelle se fait à partir de dérivés du 2-méthylazobenzène la fermeture du cycle indazolique dépend de l'influence activante des substituants sur le groupe méthylique, influence qui elle-même est conditionnée à la fois par leur nature et par leur position: un groupe nitré en position adéquate semble être nécessaire; un autre substituant activant, tel que le groupe benzoyle, peut ajouter son action à celle du groupe nitré, s'il est aussi en position favorable; l'influence activante du substituant «benzène-azo» est accrue par la présence de groupes acidifiants, diminuée par celle de groupements basifiants.

Partie expérimentale[1]).

2-Méthyl-5-chloro-azobenzène (VIa).

On dissout séparément dans 25 cm³ d'acide acétique glacial 14,2 gr. (0,1 mol) de 2-amino-4-chloro-toluène et 11 gr. (0,1 mol) de nitrosobenzène, ajoute 10 cm³ d'alcool absolu et laisse reposer pendant deux semaines à la température ordinaire. On verse ensuite dans de l'eau et extrait le tout à l'éther. La solution éthérée, lavée à l'acide chlorhydrique dilué, puis à l'eau et séchée sur le chlorure de calcium, abandonne par évaporation du dissolvant un produit huileux rouge brun qu'on reprend au benzène et chromatographie sur l'oxyde d'aluminium. Le produit cherché est contenu dans la zone in-

[1]) Sauf indication contraire, les points de fusion ont été corrigés.

férieure rouge du chromatogramme et se laisse laver complètement au benzène. Par évaporation du dissolvant, on obtient 9,1 gr. d'épais bâtonnets rouge brun; le rendement est de 39% de la théorie.

Le produit, très facilement soluble dans la plupart des dissolvants usuels, ne se laisse cristalliser dans aucun. On le purifie le mieux par distillation dans le vide; il passe à 190° sous 12 mm. Après ce traitement il fond à 31°.

0,2088 gr. subst. ont donné 0,5220 gr. CO_2 et 0,0915 gr. H_2O
0,1698 gr. subst. ont donné 18,9 cm³ N_2 (10,5°, 704 mm)
0,1430 gr. subst. ont donné 0,0905 gr. AgCl

$C_{13}H_{11}N_2Cl$ (230,69)	Calculé	C 67,68	H 4,81	N 12,15	Cl 15,37%
	Trouvé	„ 68,22	„ 4,90	„ 12,41	„ 15,65%

2-Méthyl-5-bromo-azobenzène (VIb).

Le 2-amino-4-bromo-toluène nécessaire à la préparation de ce composé a été obtenu par réduction du 2-nitro-4-bromo-toluène[1]) en solution alcoolique bouillante au moyen d'une solution chlorhydrique de chlorure d'étain(II). Après avoir chassé l'alcool et rendu le mélange fortement alcalin par la soude caustique, on entraîne la base à la vapeur d'eau. On purifie finalement le produit par distillation dans le vide. Le 2-amino-4-bromo-toluène passe à 139° sous 17 mm et fond alors à 33° [2]). Le rendement est de 86% de la théorie.

On dissout 9,3 gr. (0,05 mol) de 2-amino-4-bromo-toluène dans 15 cm³ d'acide acétique glacial et traite à 70° par une solution de 5,4 gr. (0,05 mol) de nitrosobenzène dans le moins possible d'acide acétique. Puis on chauffe le mélange pendant une heure à 80°. Le traitement ultérieur se fait comme dans l'exemple précédent. Le rendement, après chromatographie, est de 9,4 gr., soit 68% de la théorie.

Ici aussi, la purification se fait le mieux par distillation dans le vide. Le 2-méthyl-5-bromo-azobenzène passe à 195° sous 16 mm; p. de f. 35°. Il se présente en aiguilles orangées, facilement solubles dans les dissolvants usuels.

0,2652 gr. subst. ont donné 25,3 cm³ N_2 (15°, 695 mm)
0,1296 gr. subst. ont donné 0,0886 gr. AgBr

$C_{13}H_{11}N_2Br$ (275,15)	Calculé	N 10,18	Br 29,04%
	Trouvé	„ 10,34	„ 29,09%

2-Méthyl-5-benzoyl-azobenzène (VIc).

On dissout séparément, en chauffant modérément, dans la quantité nécessaire d'acide acétique glacial 21,1 gr. (0,1 mol) de 4-méthyl-3-amino-benzophénone[3]) et 10,7 gr. (0,1 mol) de nitrosobenzène, mélange les solutions et chauffe le tout à 75—80° pendant 12 heures. On verse ensuite dans l'eau et extrait au benzène. La solution benzénique, séchée sur du chlorure de calcium, est chromatographiée sur l'oxyde d'aluminium. La zone inférieure, de couleur orangée, se laisse laver au benzène et fournit 25 gr. de produit de réaction fondant à 83°.

On purifie le produit par cristallisation dans l'alcool. Le rendement final est de 19 gr., soit 63% de la théorie. Belles aiguilles orangées, fondant à 86°, facilement solubles dans le benzène et l'acétone, moins dans l'alcool.

0,1640 gr. subst. ont donné 0,4822 gr. CO_2 et 0,0830 gr. H_2O
0,2804 gr. subst. ont donné 24,5 cm³ N_2 (21°, 683 mm)

$C_{20}H_{16}ON_2$ (300,35)	Calculé	C 79,97	H 5,37	N 9,33%
	Trouvé	„ 80,24	„ 5,66	„ 9,12%

[1]) *W. Rottig*, J. pr. [2] **142**, 35 (1935).
[2]) *H. Hübner* et *P. F. Roos* (B. **6**, 799 (1873)) donnent le p. de f. à 32°.
[3]) *L. Chardonnens*, Helv. **12**, 649 (1929).

2-Méthyl-3-nitro-5-benzoyl-azobenzène (VII).

On dissout à chaud dans 120 cm³ d'acide acétique glacial 2,5 gr. (0,01 mol) de 4-méthyl-3-amino-5-nitro-benzophénone[1]) et 1,1 gr. (0,01 mol) de nitrosobenzène et maintient la solution pendant 8 heures à 75°. Après refroidissement, on verse le mélange réactionnel dans un litre d'eau, neutralise le tout par le carbonate de sodium et extrait à l'éther. On lave la solution éthérée à l'acide chlorhydrique dilué, puis à l'eau, la dessèche sur le chlorure de calcium et évapore le dissolvant. Le résidu est repris par le benzène et la solution chromatographiée sur l'oxyde d'aluminium. Le chromatogramme montre de haut en bas 4 zones: noire, brune, orangée et jaune brun. Cette dernière zone se laisse laver au benzène et fournit 0,85 gr. de produit de condensation fondant à 123°. Le rendement est de 24% de la théorie.

Après une cristallisation dans l'alcool, le produit est pur et fond à 124,5°. Bâtonnets brun orangé, facilement solubles dans l'acétone et le benzène, un peu moins dans l'acide acétique glacial et dans l'alcool.

0,1244 gr. subst. ont donné 0,3165 gr. CO_2 et 0,0519 gr. H_2O
0,1602 gr. subst. ont donné 18,2 cm³ N_2 (15°, 695 mm)

$C_{20}H_{15}O_3N_3$ (345,35)	Calculé	C 69,55	H 4,38	N 12,17%
	Trouvé	„ 69,43	„ 4,67	„ 12,31%

4-Nitro-6-benzoyl-2-phényl-indazole (VIII).

On dissout 0,35 gr. (0,001 mol) du produit précédent dans 100 cm³ d'alcool, ajoute 0,11 gr. de carbonate de sodium anhydre, chauffe le mélange à l'ébullition au réfrigérant à reflux et y introduit, par petites portions, 0,53 gr. (0,005 mol) de nitrosobenzène. Au bout d'une heure, on laisse refroidir et essore le précipité. Le rendement est de 0,32 gr., soit 93% de la théorie; p. de f. 218°.

Le 4-nitro-6-benzoyl-2-phényl-indazole cristallise dans le benzène en fines aiguilles d'un jaune légèrement verdâtre, fondant à 220°, se dissolvant facilement à chaud dans le benzène, l'acétone et l'acide acétique glacial, difficilement dans l'alcool.

3,615 mgr. subst. ont donné 9,250 mgr. CO_2 et 1,240 mgr. H_2O
3,865 mgr. subst. ont donné 0,435 cm³ N_2 (28°, 731,5 mm)

$C_{20}H_{13}O_3N_2$ (343,33)	Calculé	C 69,96	H 3,82	N 12,24%
	Trouvé	„ 69,83	„ 3,84	„ 12,28%

2-Méthyl-5,2'-dinitro-azobenzène (IX).

On dissout séparément, en chauffant modérément, dans la quantité nécessaire d'acide acétique glacial 7,6 gr. (0,05 mol) de 2-amino-4-nitro-toluène et 7,6 gr. (0,05 mol) de 2-nitroso-nitrobenzène[2]), mélange les solutions et chauffe le tout à 80° durant $2^1/_2$ heures. Le produit qui se dépose par refroidissement est purifié par deux cristallisations dans l'acide acétique glacial. Le rendement est de 9,45 gr., soit 66% de la théorie.

Prismes plats rouge brun, fondant à 171—172°, facilement solubles dans l'acétone, moins dans le benzène, assez difficilement dans l'alcool et l'acide acétique.

0,1320 gr. subst. ont donné 0,2649 gr. CO_2 et 0,0443 gr. H_2O
0,1546 gr. subst. ont donné 28,0 cm³ N_2 (15,5°, 699 mm)

$C_{13}H_{10}O_4N_4$ (286,24)	Calculé	C 54,54	H 3,52	N 19,57%
	Trouvé	„ 54,76	„ 3,75	„ 19,71%

2-Méthyl-5,3'-dinitro-azobenzène (X).

On dissout à chaud dans la quantité nécessaire d'acide acétique glacial 1,5 gr. de 2-nitroso-4-nitro-toluène[3]) et 1,5 gr. de m-nitro-aniline et chauffe la solution pendant

[1]) *W. Blakey* et *H. A. Scarborough*, Soc. **1928**, 2493.
[2]) *E. Bamberger* et *R. Hübner*, B. **36**, 3803 (1903).
[3]) *L. Chardonnens* et *P. Heinrich*, Helv. **23**, 1412 (1940).

5 heures à 80°. Le produit de réaction est recristallisé deux fois dans l'acide acétique glacial. Rendement 2,2 gr., soit 85% de la théorie.

Prismes orangés fondant à 181—182°, facilement solubles dans l'acétone et le benzène, solubles à chaud dans l'alcool et l'acide acétique.

0,1664 gr. subst. ont donné 0,3330 gr. CO_2 et 0,0540 gr. H_2O
0,1100 gr. subst. ont donné 19,7 cm³ N_2 (14°, 702 mm)

$C_{13}H_{10}O_4N_4$ (286,24)	Calculé	C 54,54	H 3,52	N 19,57%
	Trouvé	„ 54,61	„ 3,63	„ 19,67%

2-Méthyl-5,4'-dinitro-azobenzène (XI).

On chauffe sur le bain-marie pendant 5 heures une solution de 1,5 gr. de 2-nitroso-4-nitro-toluène et de 1,5 gr. de p-nitro-aniline dans la quantité nécessaire d'acide acétique glacial. On obtient, après refroidissement, 1,97 gr. de produit de réaction, ce qui correspond à 76% de la théorie; p. de f. 189°.

On purifie le composé par chromatographie de sa solution benzénique sur l'oxyde d'aluminium. De la zone inférieure du chromatogramme, on tire par lavage au benzène le produit cherché que l'on cristallise encore dans l'acide acétique glacial ou dans l'alcool. Minces bâtonnets rouge grenat fondant à 193°, facilement solubles dans l'acétone et le benzène.

0,0954 gr. subst. ont donné 0,1914 gr. CO_2 et 0,0324 gr. H_2O
0,2327 gr. subst. ont donné 41,4 cm³ N_2 (15°, 698 mm)

$C_{13}H_{10}O_4N_4$ (286,24)	Calculé	C 54,54	H 3,52	N 19,57%
	Trouvé	„ 54,75	„ 3,80	„ 19,37%

On obtient le même composé en nitrant le 2-méthyl-5-nitro-azobenzène[1]). On introduit 1 gr. de ce dernier produit, finement pulvérisé, dans 50 cm³ d'acide nitrique de D = 1,42. Une fois que tout est dissous, on chauffe la solution pendant un quart d'heure à 90—95°. On verse ensuite dans l'eau glacée, essore le précipité et le cristallise deux fois dans le moins possible d'acide acétique glacial. Le rendement final est de 0,72 gr.; p. de f. 193°. Le p. de f. du mélange ne manifeste aucune dépression.

6-Nitro-2-(2-nitro-phényl)-indazole (XII).

On dissout 2,86 gr. (0,01 mol) de 2-méthyl-5, 2'-dinitro-azobenzène (IX) dans 500 cm³ d'alcool, ajoute 1,06 gr. (0,01 mol) de carbonate de sodium calciné et chauffe le mélange à l'ébullition au réfrigérant à reflux pendant 8 heures. Durant ce laps de temps, on introduit, en 6 portions, une solution alcoolique concentrée de 4,29 gr. (0,04 mol) de nitrosobenzène. On laisse reposer une nuit et essore le précipité: 1,75 gr.; p. de f. 175°. De l'eau-mère alcoolique on tire encore, par dilution avec de l'eau et addition de sel, 0,75 gr. de produit fondant à 173°.

Les précipités réunis sont dissous dans le benzène et la solution benzénique versée sur une colonne d'oxyde d'aluminium très actif. Du benzène de lavage on tire de l'azoxybenzène, de p. de f. 36°. Le chromatogramme, développé au benzène, montre trois zones: une zone supérieure brune, une zone médiane jaune et une zone inférieure orangée. La dernière contient un peu de l'azoïque de départ. De la zone médiane, on tire par élution à l'acétone un produit jaune qui n'est autre que le dérivé indazolique attendu. On le purifie encore par cristallisation dans l'acide acétique glacial. Le rendement final est de 2,03 gr., soit 71% de la théorie.

Le 6-nitro-2-(2-nitro-phényl)-indazole cristallise en fines aiguilles jaunes fondant à 176°. Le produit se dissout facilement dans l'acétone, un peu moins dans le benzène; dans l'alcool et l'acide acétique glacial il n'est soluble qu'à chaud.

19,20 mgr. subst. ont donné 38,57 mgr. CO_2 et 4,80 mgr. H_2O
10,44 mgr. subst. ont donné 1,84 cm³ N_2 (19°, 723 mm)

$C_{13}H_8O_4N_4$ (284,23)	Calculé	C 54,93	H 2,84	N 19,71%
	Trouvé	„ 54,82	„ 2,80	„ 19,60%

[1]) *L. Chardonnens* et *P. Heinrich*, Helv. **23**, 1413 (1940).

6-Nitro-2-(3-nitro-phényl)-indazole (XIII).

On chauffe à l'ébullition au réfrigérant à reflux pendant 4 heures le mélange de 1,43 gr. (0,005 mol) de 2-méthyl-5,3'-dinitro-azobenzène (X), 0,53 gr. de carbonate de sodium calciné et 500 cm³ d'alcool. Durant ce laps de temps, on ajoute par petites portions une solution alcoolique de 1,6 gr. (0,015 mol) de nitrosobenzène. On distille ensuite la majeure partie de l'alcool et laisse refroidir. On obtient 1,28 gr. de produit de réaction, de couleur brune, fondant à 197°. Le rendement est de 90% de la théorie.

Après une cristallisation dans la pyridine, le produit est pur et fond, après ramollissement, à 202—203°. Feuillets bruns brillants, difficilement solubles dans l'acétone, le benzène et l'acide acétique, encore moins dans l'alcool.

18,93 mgr. subst. ont donné 38,29 mgr. CO_2 et 4,85 mgr. H_2O
0,1473 gr. subst. ont donné 26,8 cm³ N_2 (15,5°, 694 mm)

$C_{13}H_8O_4N_4$ (284,23)	Calculé	C 54,93	H 2,84	N 19,71%
	Trouvé	„ 55,20	„ 2,87	„ 19,66%

6-Nitro-2-(4-nitro-phényl)-indazole (XIV).

On dissout dans 300 cm³ d'alcool bouillant 1,43 gr. (0,005 mol) de 2-méthyl-5,4'-dinitro-azobenzène (XI), ajoute 0,53 gr. de carbonate de sodium calciné et, tout en chauffant le mélange à l'ébullition au réfrigérant à reflux, dans l'espace de deux heures, par petites portions, 1,6 gr. de nitrosobenzène. Au bout de ce temps, on laisse refroidir et essore le produit de réaction: 1,25 gr., soit 88% de la théorie; p. de f. 313°.

Le dérivé indazolique cristallise dans la pyridine en aiguilles jaunes brillantes. Le p. de f. du produit pur est à 315—316°. Le composé ne se dissout que difficilement dans les dissolvants usuels.

18,83 mgr. subst. ont donné 37,84 mgr. CO_2 et 4,92 mgr. H_2O
11,84 mgr. subst. ont donné 2,12 cm³ N_2 (22°, 723 mm)

$C_{13}H_8O_4N_4$ (284,23)	Calculé	C 54,93	H 2,84	N 19,71%
	Trouvé	„ 54,84	„ 2,92	„ 19,71%

2-Méthyl-5-nitro-4'-oxy-azobenzène (XVa).

On dissout à chaud 7,6 gr. (0,05 mol) de 2-amino-4-nitro-toluène dans un mélange de 30 cm³ d'acide chlorhydrique concentré et de 100 cm³ d'eau, refroidit rapidement tout en agitant, ajoute 80 gr. de glace et diazote à —4° avec une solution de 3,5 gr. de nitrite de sodium dans 25 cm³ d'eau. On fait couler ensuite la solution claire du sel de diazonium, en agitant vigoureusement, dans une solution refroidie à —2° de 4,7 gr. (0,05 mol) de phénol dans 65 cm³ de soude caustique à 20%. Par acidulation de la solution au moyen d'acide chlorhydrique (1:1), on obtient un précipité jaune brun, que l'on cristallise dans l'acide acétique glacial et dans le benzène. Le rendement final est de 7,1 gr., soit 55% de la théorie.

Feuillets ou bâtonnets brun orangé, fondant à 217°, facilement solubles dans la plupart des dissolvants usuels.

0,1358 gr. subst. ont donné 20,9 cm³ N_2 (21°, 697 mm)
$C_{13}H_{11}O_3N_3$ (257,24) Calculé N 16,34; trouvé N 16,39%

2-Méthyl-5-nitro-4'-méthoxy-azobenzène (XVb).

On dissout 5,2 gr. du produit précédent dans 20 cm³ de soude caustique 2 n, dilue avec 40 cm³ d'eau, ajoute goutte à goutte 3 cm³ de sulfate de diméthyle et agite le tout vigoureusement pendant un quart d'heure. Le produit de réaction se précipite peu à peu. Après l'avoir laissé reposer durant quelques heures à la température ordinaire, on l'essore, le sèche, le reprend par le benzène et soumet la solution benzénique à l'analyse chromatographique sur l'oxyde d'aluminium. La zone inférieure du chromatogramme, de couleur orangée, se laisse laver au benzène et fournit 4,0 gr. du dérivé méthylé fondant à 100°. Le rendement est de 73% de la théorie.

On purifie le produit en le cristallisant encore dans le méthanol. Longs bâtonnets orangés, fondant à 102°, facilement solubles dans l'acétone, l'alcool et l'acide acétique.

0,1886 gr. subst. ont donné 0,4266 gr. CO_2 et 0,0789 gr. H_2O
0,1148 gr. subst. ont donné 16,7 cm³ N_2 (19°, 698,5 mm)

$C_{14}H_{13}O_3N_3$ (271,27)	Calculé	C 61,98	H 4,83	N 15,49%
	Trouvé	„ 61,73	„ 4,68	„ 15,63%

2-Méthyl-5-nitro-4'-éthoxy-azobenzène (XVc).

On dissout 2,57 gr. (0,01 mol) de 2-méthyl-5-nitro-4'-oxy-azobenzène dans 10 cm³ de soude caustique 2 n, ajoute par petites portions 3 cm³ de sulfate de diéthyle et agite le tout, à la température ordinaire, pendant 5 jours. Le précipité est essoré, lavé à l'eau, séché et cristallisé dans l'alcool: 2,33 gr., soit 81% de la théorie; p. de f. 92°.

Après traitement chromatographique comme dans le cas du dérivé méthylé ci-dessus et recristallisation dans l'alcool, le 2-méthyl-5-nitro-4'-éthoxy-azobenzène se présente en aiguilles orangées fondant à 95°.

20,60 mgr. subst. ont donné 47,57 mgr. CO_2 et 9,30 mgr. H_2O
14,84 mgr. subst. ont donné 1,98 cm³ N_2 (23°, 721 mm)

$C_{15}H_{15}O_3N_3$ (285,30)	Calculé	C 63,15	H 5,30	N 14,73%
	Trouvé	„ 63,02	„ 5,05	„ 14,60%

6-Nitro-2-(4-méthoxy-phényl)-indazole (XVIa).

On dissout 0,54 gr. (0,002 mol) de 2-méthyl-5-nitro-4'-méthoxy-azobenzène dans 25 cm³ d'alcool, ajoute 0,22 gr. de carbonate de sodium et, tout en chauffant à l'ébullition au réfrigérant à reflux durant 48 heures, 0,66 gr. (0,006 mol) de nitrosobenzène en six portions. On distille ensuite les deux tiers de l'alcool, verse la solution alcoolique restante dans l'eau et extrait le tout à l'éther. La solution éthérée, dûment lavée et séchée, abandonne par évaporation 0,4 gr. d'un produit jaunâtre encore impur. On opère une première purification en le traitant par l'éther de pétrole qui ne dissout pas le produit de réaction mais bien l'azoïque de départ. On n'obtient cependant un produit parfaitement pur que par traitement chromatographique de la solution benzénique sur l'oxyde d'aluminium. La zone inférieure du chromatogramme fournit 0,23 gr. de dérivé indazolique, cristallisant dans le benzène en fines et longues aiguilles jaunes. Le rendement est de 43% de la théorie.

Le 6-nitro-2-(4-méthoxy-phényl)-indazole fond à 152°; il est facilement soluble à froid dans l'acétone, l'éther et l'acide acétique glacial, ainsi qu'à chaud dans l'alcool. Il se dissout assez facilement dans l'acide chlorhydrique concentré à froid; par addition d'eau à la solution chlorhydrique, il se précipite inchangé.

20,10 mgr. subst. ont donné 46,11 mgr. CO_2 et 7,74 mgr. H_2O
12,76 mgr. subst. ont donné 1,88 cm³ N_2 (21°, 722 mm)

$C_{14}H_{11}O_3N_3$ (269,25)	Calculé	C 62,45	H 4,12	N 15,61%
	Trouvé	„ 62,60	„ 4,31	„ 16,25%

6-Nitro-2-(4-éthoxy-phényl)-indazole (XVIb).

On chauffe pendant 30 heures sur le bain-marie au réfrigérant à reflux le mélange de 0,57 gr. (0,002 mol) de 2-méthyl-5-nitro-4'-éthoxy-azobenzène, 0,22 gr. de carbonate de sodium calciné, 35 cm³ d'alcool et 0,33 gr. (0,003 mol) de nitrosobenzène que l'on ajoute en cinq portions. On évapore ensuite à siccité, reprend le résidu par le benzène et soumet la solution benzénique à l'analyse chromatographique sur l'oxyde d'aluminium. Le chromatogramme se compose de trois zones: une zone supérieure étroite brun rouge, une zone médiane assez étendue de couleur jaune à jaune verdâtre et une large zone inférieure orangée. De cette dernière on récupère 0,4 gr. de produit de départ; la zone médiane, éluée à l'acétone, fournit 0,06 gr. de dérivé indazolique fondant à 148°. Compte tenu du produit de départ récupéré, le rendement est de 35% de la théorie. Une prolongation de la durée de la réaction jusqu'à 60 heures, de même que l'emploi d'une quantité double, voire triple, de nitrosobenzène, n'améliorent pas le résultat.

Le produit est finalement purifié par deux cristallisations dans l'alcool. Belles et longues aiguilles jaunes fondant à 150,5°. Dans l'acide chlorhydrique concentré à froid, le composé se dissout avec assez de peine: l'eau le reprécipite inchangé.

19,89 mgr. subst. ont donné 46,67 mgr. CO_2 et 8,28 mgr. H_2O
15,15 mgr. subst. ont donné 2,03 cm³ N_2 (22°, 719 mm)

$C_{15}H_{13}O_3N_3$ (283,28)	Calculé	C 63,59	H 4,63	N 14,83%
	Trouvé	„ 64,03	„ 4,66	„ 14,67%

2-Méthyl-5-nitro-4'-diméthylamino-azobenzène (XVd).

A la solution chlorhydrique diazotée de 15,2 gr. (0,1 mol) de 2-amino-4-nitrotoluène, on ajoute à froid une solution de 12,1 gr. de diméthylaniline dans 100 cm³ d'acide chlorhydrique à 10%. On laisse reposer une heure, ajoute, par petites portions, 100 gr. d'acétate de sodium cristallisé, puis, deux heures plus tard, neutralise complètement par adjonction de carbonate de sodium. Le précipité, lavé à l'eau et séché, est finalement cristallisé dans le benzène, l'acide acétique glacial et l'acétone. Rendement: 17 gr.

Beaux bâtonnets brillants de couleur rouge, fondant à 173°, très peu solubles dans l'alcool.

0,2326 gr. subst. ont donné 42,4 cm³ N_2 (20°, 702 mm)
$C_{15}H_{16}O_2N_4$ (284,31) Calculé N 19,71; trouvé N 19,62%

Si l'on chauffe à l'ébullition au réfrigérant à reflux pendant 32 heures la solution de 2,84 gr. (0,01 mol) de ce produit dans 1500 cm³ d'alcool en présence de 1,1 gr. de carbonate de sodium anhydre et de 6,6 gr. (0,06 mol) de nitrosobenzène ajoutés en 10 portions, on obtient, après refroidissement, 2,1 gr. de l'azoïque de départ. Des eaux-mères on tire, par concentration, encore 0,25 gr. de ce même produit, puis, par extraction au benzène et chromatographie sur l'oxyde d'aluminium, 5 gr. d'azoxybenzène fondant à 35° et quelques mgr. d'un produit cristallisant dans l'acide acétique glacial en prismes irréguliers orangés fondant à 198—200° (non corr.). Il se peut que ce soit là le dérivé indazolique que l'on pouvait attendre; la minime quantité obtenue n'a permis ni purification plus poussée ni analyse.

Institut de Chimie de l'Université de Fribourg (Suisse).

---

106. Beitrag zur Emissionsspektralanalyse von Molekeldämpfen

von M. Handelsmann.

(10. V. 46.)

1. Ziel und Methode der Untersuchung.

Die vorliegende Untersuchung verfolgt den Zweck, zu prüfen, ob und inwieweit sich Molekeln auf Grund geeigneter Emissionsbandenspektren quantitativ nachweisen lassen. Es soll versucht werden, auf diesem Wege eine untere Grenze für die Nachweisbarkeit bestimmter Molekeln anzugeben. Zu diesem Zweck eignet sich naturgemäss vor allem eine elektrische Entladung im Geisslerrohr, da hier die Möglichkeit besteht, die minimalen

Drucke, bei denen gewisse charakteristische Molekelspektren noch auftreten, zu ermitteln. Um eine Reaktion oder Adsorption an den Metallelektroden zu vermeiden, wird man zweckmässigerweise Aussenelektroden verwenden, die bei geeigneter elektrischer Hochfrequenzerregung noch ziemlich lichtstarke Entladungen hervorzurufen gestatten. Fast alle in der Flamme, im Lichtbogen oder in der Geisslerentladung auftretenden Bandenspektren gehören zweiatomigen Molekeln oder Radikalen an. So genügen Spuren von organischen Dämpfen (Hahnfett) oder von Feuchtigkeit, um die Bandenspektren CN, C_2, CO, OH u. a. hervorzurufen. Es schien uns aber nicht ratsam, eine Methode der quantitativen Spektralanalyse gerade mit Hilfe dieser und ähnlicher Banden auszuarbeiten, die als „Verunreinigungsbanden" ausserordentlich leicht auftreten und sich oft kaum vermeiden lassen. Daher haben wir eine emissionsspektroskopische Untersuchung mit Dämpfen begonnen, die bei Zimmertemperatur einen unmessbar kleinen Dampfdruck besitzen.

Von diesem Gesichtspunkte geleitet, haben wir die vorliegende Untersuchung mit den Halogeniden von Cadmium, Zink und Quecksilber begonnen. Diese Salze lassen sich ohne merkliche thermische Zersetzung leicht verdampfen, und ihre Dampfdrucke sind fast durchwegs genügend genau bekannt. Ausserdem ist bekannt, dass die Halogenide dieser Metallgruppe charakteristische Bandenspektren besitzen[1]), die sich in einer Geisslerentladung ohne weiteres anregen lassen und die dem zweiatomigen Radikal MeX angehören (nicht der dreiatomigen Molekel MeX_2, wie ursprünglich vermutet worden ist).

Im Gegensatz zur quantitativen Absorptionsspektroskopie eignet sich die quantitative Emissionsspektroskopie nicht als Absolutmethode. Die quantitative Ermittlung der Menge einer Substanz auf Grund ihres Emissionsspektrums kann nur relativ zu einem geeichten Normalspektrum derselben Substanz erfolgen. Die Herstellung solcher Eichspektren bildet ein Hauptproblem der Emissionsspektralanalyse. In unserem Falle hat sich die Hoffnung, reproduzierbare Eichspektren mittels genau eingewogenen Substanzmengen erhalten zu können, nicht befriedigend erfüllt, wie weiter unten näher ausgeführt werden wird. Wir sind daher dazu übergegangen, ein Emissionsspektrum unter möglichst konstanten elektrischen und optischen Arbeitsbedingungen in Abhängigkeit vom Sättigungsdruck der untersuchten Substanz zu photographieren, und haben auf diesem Wege eine verhältnismässig gut definierte untere Grenze für das Auftreten eines Bandenspektrums festlegen können.

---

[1]) *K. Wieland*, Helv. phys. acta **2**, 46 (1929).

2. Experimentelle Anordnung.

Die experimentelle Anordnung zur Anregung der Emissionsspektren in einer Geisslerentladung geht aus folgender Figur hervor:

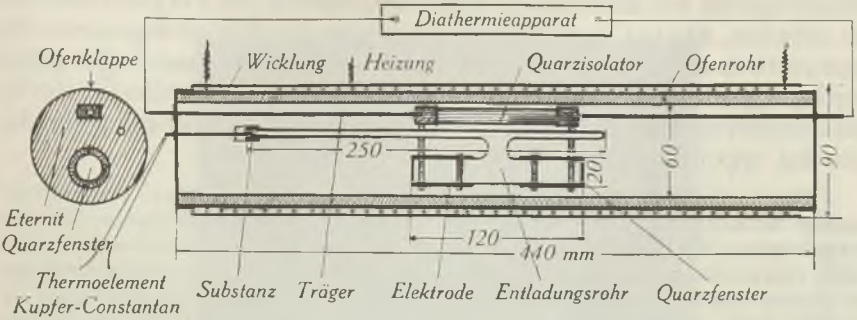


Fig. 1.

Elektrische Entladung in einem geheizten Geisslerrohr.

Das aus Quarz gefertigte und mit planen Fenstern versehene Entladungsrohr trug Aussenelektroden aus rostfreiem Stahl oder aus Nickelblech und liess sich im elektrischen Ofen in genau reproduzierbarer Lage befestigen. Die Zuführungen für die Hochfrequenzentladung, die von einem handelsüblichen Diathermieapparat der Firma *Siemens & Halske* gespeist wurde, dienten gleichzeitig als Träger des Quarzrohres. Die elektrische Ofenheizung liess sich derart reglieren, dass ein Kondensieren der Substanz an den Quarzfenstern des Entladungsrohres nicht auftrat. Die für den Sättigungsdruck massgebende Temperatur wurde mit einem Kupfer-Konstantan-Thermoelement ermittelt, dessen Spitze in einer Vertiefung des Ansatzrohres lag und ausserdem, zur Vermeidung lokaler Temperaturschwankungen, von einem kleinen Kupferzylinder umgeben war. Die kalte Lötstelle wurde immer auf 0^0 C gehalten.

Für die untersuchten Substanzen standen uns reinste Reagenzien der Firma *Merck* bzw. *Schering-Kahlbaum* zur Verfügung. Die Substanz wurde nach mehrmaligem Umdestillieren im Hochvakuum direkt in das vorher gut ausgeglühte Entladungsgefäss hineinsublimiert. Trotzdem liess sich das Auftreten von Fremdspektren, meist OH- und N_2-Bandenspektren, im kalten Entladungsrohr selten vermeiden. Dieser Umstand bedeutete indessen keine nennenswerte Störung, da diese „Verunreinigungsspektren" mit steigender Temperatur allmählich verschwinden und den gesuchten charakteristischen Spektren der Salzdämpfe Platz machen.

Die Spektralaufnahmen wurden grösstenteils mit einem *Hilger*'schen Quarzspektrographen mittlerer Grösse (Modell E 2), teilweise auch mit einem Glasspektrographen der Firma *Halle* ausgeführt. Die Expositionszeiten variieren zwischen 2 bis 10 Minuten.

Die Untersuchung wurde in der Weise ausgeführt, dass bei stufenweise steigender Temperatur laufend Emissionsaufnahmen gemacht wurden, um die minimale Temperatur bzw. den entsprechenden minimalen Sättigungsdruck zu ermitteln, bei dem das charakteristische Bandenspektrum des untersuchten Salzdampfes zum erstenmal deutlich in Erscheinung trat. Auf der gleichen Platte wurde jeweils eine Serie von Aufnahmen bei fallender und steigender Temperatur gemacht, wobei selbstverständlich die Temperatur bei einer bestimmten Aufnahme konstant gehalten wurde. Auf diese Weise liess sich das Temperaturintervall des Sättigungsdruckes, innerhalb dessen die charakteristischen Banden zum erstenmal auftraten, auf etwa ± 3 Grad angeben.

3. Ergebnisse.

A. Versuche mit eingewogener Substanzmenge.

Wie eingangs erwähnt, wurde zunächst versucht, mittels genau eingewogener Substanzmenge Standardspektren für Vergleichszwecke zu erhalten, um bei Kenntnis des Volumens des Entladungsrohres die untere Grenze der Nachweisbarkeit eines Spektrums möglichst genau festlegen zu können. So haben wir insbesondere mit Sublimat ($HgCl_2$) eine Serie von Aufnahmen bei immer kleineren Abwägungen gemacht, bis das HgCl-Spektrum nicht mehr auftrat.

Dabei zeigte sich aber bei einer Einfüllung von 0,05 mg $HgCl_2$ in einem 18 cm^3 grossen Entladungsrohr, dass bei den ersten Aufnahmen noch Andeutungen der charakteristischen HgCl-Banden zu sehen waren, bei einer späteren Aufnahme aber nicht mehr. Dies ist offenbar infolge eines „clean up"-Effektes erfolgt, wie das in Gasentladungen bei kleinen Drucken häufig beobachtet wird. Bei einer etwas grösseren Einwägung von ungefähr 0,06 mg $HgCl_2$ (entsprechend einem auf 0^0 C reduzierten Druck von 0,2 mm) traten die HgCl-Banden bereits deutlich hervor, ohne später wieder zu verschwinden. Ähnliche Feststellungen konnten wir auch bei anderen der untersuchten Salze machen. Versuche, das Auftreten des „clean up"-Effektes mittels Fremdgaszusatz zu vermeiden, haben sich als zwecklos erwiesen. Aus diesen Beobachtungen geht hervor, dass man durch Abwägungen nur einen ungefähren Anhaltspunkt für die untere Grenze, bei welcher die typischen Molekelspektren eines bestimmten Salzes auftreten, erhalten kann.

B. Versuche mit Sättigungsdruck.

Für die endgültige Untersuchung sind wir schliesslich dazu übergegangen, die Emissionsspektren verschiedener Salzdämpfe in Abhängigkeit von ihrem Sättigungsdruck zu untersuchen. Dies sei an einem Beispiel erläutert (vgl. Fig. 2).

Hier wurde das Emissionsspektrum von Quecksilber(II)-jodid bei gleichbleibenden Entladungsbedingungen in Abhängigkeit von der Sättigungstemperatur bzw. vom entsprechenden Sättigungsdruck aufgenommen. Wir stellen dabei fest, dass bei niederen Temperaturen (unterhalb 90^0 C) ausser Atomlinien nur die Bandenspektren von N_2 und OH auftreten, während das bei λ 4400 ÅE liegende Intensitätsmaximum des langwelligen Bandenspektrums von HgJ schwach zum erstenmal bei der Sättigungstemperatur von 90^0 C, deutlich bei 100^0 C auftritt. Mit steigender Temperatur nimmt die Intensität dieses Spektrums zu, wobei weitere Banden im ultravioletten und langwelligen Spektralbereich erscheinen, bis bei zu hoher Sättigungstemperatur (in diesem Falle bei 180^0 C entsprechend einem Sättigungsdruck von rund 3 mm) schliesslich die Entladung abbricht.

Auf diese Weise haben wir die hier vorliegenden 9 Halogenide spektroskopisch untersucht. Alle diese Salzdämpfe besitzen, ähnlich wie HgJ_2, ausgedehnte Banden im sichtbaren Spektralgebiet, die für unsere Untersuchung benutzt worden sind. In folgender Tabelle findet sich das Ergebnis unserer Untersuchung zusammengestellt.

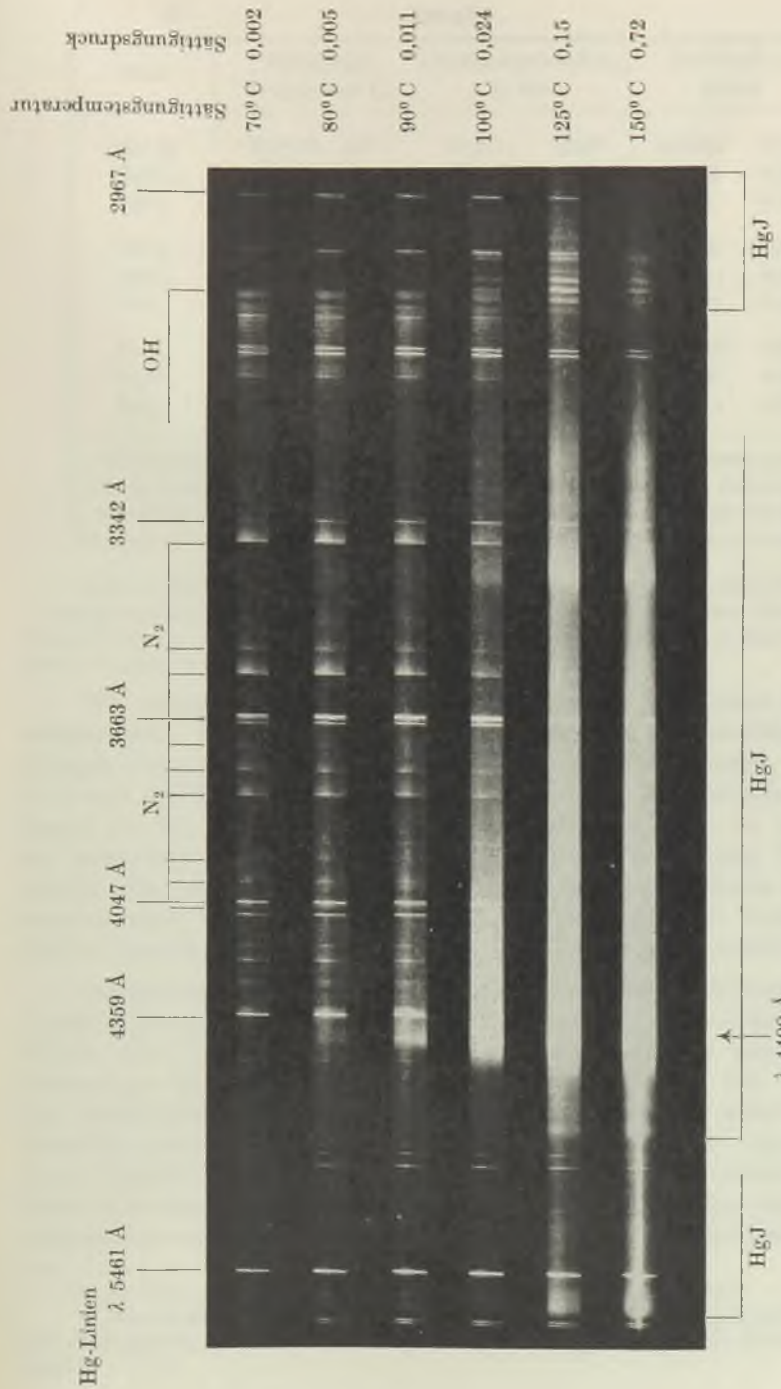


Fig. 2.
Emissionsspektrum von HgJ in Abhängigkeit vom Sättigungsdruck von HgJ_2.

Tabelle.

Salz	Sättigungs-temperatur t_S		Sättigungsdruck p_S in mm		Nulldruck p_0 in mm	
$HgCl_2$	(70° C)	80° C	(0,011)	0,023	(0,008)	0,015
$HgBr_2$	(75° C)	85° C	(0,013)	0,031	(0,009)	0,021
HgJ_2	(90° C)	100° C	(0,011)	0,024	(0,008)	0,016
$CdCl_2$	(420° C)	440° C	(0,005)	0,011	(0,002)	0,004
$CdBr_2$	(390° C)	410° C	(0,009)	0,023	(0,004)	0,008
CdJ_2	(300° C)	320° C	(0,005)	0,012	(0,002)	0,005
$ZnCl_2$	(280° C)	300° C	(0,0015)	0,004	(0,0009)	0,002
$ZnBr_2$	(290° C)	310° C	(0,008)	0,002	(0,004)	0,008
ZnJ_2	(240° C)	260° C	(0,002)	0,006	(0,001)	0,003

Die Nulldrucke bedeuten die auf 0° C reduzierten Sättigungsdrucke unter Berücksichtigung einer mittleren, zwischen Rohransatz (mit Substanz) und Mitte des Entladungsrohres bestehenden Temperaturdifferenz von 30°.

In dieser Tabelle sind für die untere Grenze der Nachweisbarkeit eines Salzes jeweils 2 Sättigungstemperaturen bzw. Sättigungsdrucke angegeben worden. Beim tieferen (eingeklammerten) Wert tritt das betreffende Spektrum erst andeutungsweise, beim oberen dagegen deutlich in Erscheinung.

Wir ersehen aus diesen Resultaten, dass die minimalen (auf 0° C reduzierten) Sättigungsdrucke, bei denen die untersuchten Salzdämpfe sich spektroskopisch noch sicher nachweisen lassen, zwischen 0,02 und 0,002 mm schwanken und bei den Quecksilbersalzen höher liegen als bei den Cadmium- und Zinksalzen. Hierzu ist allerdings zu bemerken, dass die Dampfdrucke der Cadmium- und Zinkhalogenide, die nur von *Niwa*[1]) mit einer Strömungsmethode ermittelt worden sind, nicht denselben Grad an Zuverlässigkeit besitzen wie die der Quecksilberhalogenide, die mehrfach gemessen worden sind[2]).

Der minimale Sättigungsdruck für die emissionsspektrographische Nachweisbarkeit der hier untersuchten Salzdämpfe beträgt also im Mittel rund 0,01 mm. In einem Entladungsrohr mit eingewogener Salzmenge muss aber der minimale Druck, bei dem das Spektrum des betreffenden Salzdampfes noch deutlich erregt werden kann, merklich grösser, im Falle von $HgCl_2$ z. B. 0,2 mm sein (vgl. früher). Dieser Druck ist offenbar für die absolute (praktische) Nachweisbarkeit eines Salzdampfes massgebend. Da sich das Volumen eines mit Aussenelektroden versehenen Entladungsrohres leicht auf 1 cm^3 herabsetzen

[1]) *K. Niwa*, J. Fac. Sc. Hokkaido Univ. Japan, [III] 3, 17 (1940).

[2]) Eine vollständige Zusammenstellung der Dampfdruckmessungen an den Quecksilberhalogeniden findet sich bei: *K. K. Kelley*, U. S. Dep. Int. Bureau Mines, Bull. 383 (1935).

lässt[1]), so beträgt die für den emissionsspektroskopischen Nachweis benötigte minimale Menge an $HgCl_2$ etwa 3 γ, ein Wert, der der Grössenordnung nach auch für andere der hier untersuchten Salze (HgJ_2, CdJ_2, ZnJ_2) gefunden worden ist.

Vergleichshalber seien hier für einige Atome die minimalen Mengen angegeben, die für den emissionsspektroskopischen Nachweis des betreffenden Elementes erforderlich sind.

In der Flamme[2])	Cd 37γ, Hg 70γ, Na 0,07γ
Im Bogen[3]):	Ag 0,1γ
Im kondensierten Funken[3]):	Cd $10^{-4}\gamma$, Li $10^{-3}\gamma$.

Zusammenfassung.

Es wird der minimale Sättigungsdruck bestimmt, bei dem sich die Salzdämpfe der Halogenide von Quecksilber, Cadmium und Zink auf Grund ihrer charakteristischen Bandenspektren in einem mit Aussenelektroden versehenen Entladungsrohre noch nachweisen lassen. Der mittlere Wert der minimalen Sättigungsdrucke beträgt 0,01 mm. Die untere Grenze für die absolute Nachweisbarkeit liegt im Falle von $HgCl_2$ bei ca. 3 γ.

Es ist mir ein angenehmes Bedürfnis, Herrn Professor Dr. *H. von Halban* für die gastliche Aufnahme, die ich während meines Aufenthaltes in der Schweiz im physikalisch-chemischen Institut der Universität Zürich erfahren durfte, und Herrn P.-D. Dr. *K. Wieland* für Anleitung und freundliche Hilfe bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit bestens zu danken.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Zürich,
Mai 1946.

---

[1]) *K. Wieland*, Helv. **26**, 1940 (1943).

[2]) *H. Lundegårdh*, „Die quantitative Spektralanalyse der Elemente", Verlag G. Fischer (1929).

[3]) Entnommen aus einer Zusammenstellung von: *P. Swings*, „La spectroscopie appliquée", Paris (1935).

107. Untersuchungen über die Gewebsatmung. 2. Beziehungen der Aminosäurekatalyse zur Fumarsäurekatalyse bzw. zum Citronensäurecyclus[1])

von O. Wiss.

(10. V. 46.)

Die grundlegenden Arbeiten von *Szent Györgyi* und Mitarbeitern[2]) haben es wahrscheinlich gemacht, dass C_4-Dicarbonsäuren in entscheidendem Masse als Katalysatoren an der Hauptatmung tierischer Gewebe beteiligt sind. Später haben *Krebs* und Mitarbeiter die Theorie des Citronensäurecyclus entwickelt.

Als Grundlage dazu diente einerseits die Kenntnis des Abbaues der Citronensäure im tierischen Organismus, die vor allem durch Untersuchungen von *F. Knoop* und *Martius*[3]) geklärt worden ist; andererseits konnten *Krebs* und Mitarbeiter[4]) eindeutig nachweisen, dass Citronensäure und andere Komponenten des Citronensäurecyclus als Atmungskatalysatoren wirken können.

Obwohl die katalytische Wirksamkeit aller dieser Stoffe kaum mehr bezweifelt werden kann, herrschen noch grosse Meinungsverschiedenheiten hinsichtlich ihrer speziellen Reaktionsweise[5]).

In der ersten Mitteilung dieser Reihe[6]) wurde in einigen orientierenden Untersuchungen an Leber, Niere, Muskel, Gehirn verschiedener Tierarten nachgewiesen, dass Aminosäuren ganz generell die Atmung überlebender tierischer Gewebe zu steigern vermögen. Mit den vorliegenden Untersuchungen wurde versucht, diese Aminosäurekatalyse mit den einzelnen Komponenten des Citronensäurecyclus in Beziehung zu bringen. *Szent Györgyi* und *Krebs* verwendeten für die Aktivierungsversuche im wesentlichen Organbrei, der jedoch noch weitgehend intakte Struktur aufwies, so dass er überlebenden Gewebsschnitten gleichzusetzen ist[7]). In der letzten Mitteilung[6]) wurde die Bereitung zellfreier Organextrakte beschrieben,

---

[1]) Zum Teil vorgetragen an der 28. Tagung des Schweiz. Vereins der Physiol. u. Pharm. am 26. Januar 1946, Helv. physiol. pharmacol. acta **4**, C 9 (1946).

[2]) Z. physiol. Ch. **224**, 1 (1934); **236**, 1 (1935); **244**, 105 (1936); **252**, 275 (1938).

[3]) Z. physiol. Ch. **242**, I (1936); **246**, I (1937); **247**, 104 (1937); **257**, 29 (1938).

[4]) Enzymol. **4**, 148 (1937); Biochem. J. **32**, 113, 913 (1938); **33**, 1047 (1939); **34**, 442, 775, 1234 (1940); **37**, XV, 334 (1943); **39**, 408 (1945).

[5]) *Breusch*, Z. physiol. Ch. **250**, 262 (1937); Biochem. J. **33**, 1757 (1939); *Thomas*, Enzymol. **7**, 231 (1939); *Banga*, *Achoa* und *Peters*, Biochem. J. **33**, 1980 (1939); *Martius*, Ergebn. Enzymf. **8**, 247 (1939); *Evans* und *Slotin*, J. Biol. Chem. **136**, 301 (1940); *Wood*, *Werkmann*, *Hemingway* und *Nier*, J. Biol. Chem. **139**, 483 (1941); *Evans* und *Slotin*, J. Biol. Chem. **141**, 439 (1941); *Stare*, *Lipton*, *Goldinger*, J. Biol. Chem. **141**, 981 (1941); *Breusch*, Enzymol. **10**, 165 (1942); Sci. **97**, 490 (1943).

[6]) Helv. **29**, 216 (1945). [7]) Z. physiol. Ch. **236**, 1 (1935).

die eine sehr intensive Sauerstoffzehrung aufweisen können. Vergleichende Untersuchungen haben ergeben, dass die Aktivität dieser Extrakte derjenigen von Gewebsschnitten entsprechen oder sie sogar übertreffen kann. Es konnte nun gezeigt werden, dass die am Citronensäurecyclus beteiligten Substanzen die Atmungsgrösse so bereiteter Rattenleberextrakte stark zu aktivieren vermögen. Die katalytische Wirksamkeit dieser Stoffe konnte dadurch sehr deutlich gemacht werden, indem sich die Versuchsbedingungen finden liessen, unter welchen zugesetztes Substrat nur bei Gegenwart eines Aktivators abgebaut wurde. Es liess sich aber auch zeigen, dass unter anderen experimentellen Bedingungen der Substratabbau nur bei gleichzeitigem Zusatz von *l*-Histidin erfolgte, so dass sowohl eine Komponente des Citronensäurecyclus als auch eine Aminosäure als notwendige Bestandteile des Enzymsystems in Erscheinung treten.

Experimenteller Teil.

1. Methoden:

Schon in der ersten Mitteilung (l. c.) wurde auf die Empfindlichkeit des Extraktes hingewiesen und hervorgehoben, dass nur während kurzer Zeit zentrifugiert werden soll. Es hat sich nun weiterhin gezeigt, dass ausser der Dauer des Zentrifugierens vor allem auch die angewandte Tourenzahl für die Aktivität des Extraktes von Bedeutung ist. Die mikroskopische Kontrolle der Präparate hat ergeben, dass die Wirksamkeit des Extraktes an die Zelltrümmer gebunden ist. Um möglichst konstante Vergleichswerte zu erzielen, wurde deshalb die Bereitung des Exktraktes in der folgenden Weise normiert: Die Organe des durch Kopfschlag getöteten Tieres werden möglichst rasch isoliert und im eiskalten Mörser mit der gleichen Gewichtsmenge Seesand während zwei Minuten intensiv verrieben.

Nach Zugabe der eiskalten Phosphatpufferlösung vom $p_H = 8{,}0$ ($1\frac{1}{3}$ des Organgewichts) wird der Brei im Mörser während $1\frac{1}{2}$ Minuten suspendiert und anschliessend sofort zentrifugiert. Die Zentrifuge wird in 2—3 Stufen rasch auf ca. 2000 Touren pro Minute gebracht, so während 10 Sekunden belassen und sofort wieder ausgeschaltet. Der Extrakt, eine relativ stabile Zelltrümmersuspension, wird in einen *Erlenmeyer*-Kolben abgegossen, wobei zu verhindern ist, dass der evtl. vorhandene Schaum mitverwendet wird. Die Verteilung des Extraktes in die einzelnen *Warburg*-Gefässe geschieht mittels Pipette von weiter Ausflussöffnung. Vor dem Pipettieren wird die Suspension jedesmal kräftig umgeschwenkt. Unter Beachtung dieser Kautelen gelingt es bei Verwendung von gleichwertigem Tiermaterial, gut reproduzierbare Vergleichswerte zu erhalten. Es hat sich immer wieder bestätigt (l. c.), dass Substrat und Effektor gleich zu Beginn des Versuches dem Enzym beigegeben werden müssen, weil sonst der Extrakt im Verlauf der Temperaturausgleichsperiode vollständig inaktiviert wird.

Der Sauerstoffverbrauch wurde nach der *Warburg*'schen Methode gemessen. Die Ammoniakbildung wurde nach *Conway* bestimmt. Das Gesamtflüssigkeitsvolumen betrug in allen Ansätzen 3 cm³. Es wurde ausschliesslich Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ verwendet. Als weitere Methode gelangte die Brenztraubensäurebestimmung nach *Straub*[1]) zur Anwendung. Weitere methodische Einzelheiten sind in den früheren Mitteilungen beschrieben.

2. Beziehungen der Aminosäurekatalyse zur Fumarsäurekatalyse.

Aus den in der letzten Mitteilung (l. c.) angeführten Versuchsergebnissen geht hervor, dass Aminosäuren den Sauerstoffverbrauch von Organextrakten auf ca. den

[1]) Z. physiol. Ch. **244**, 117 (1936).

zehnfachen Wert zu aktivieren vermögen. In analogen Versuchen konnte nun der Nachweis erbracht werden, dass Fumarsäure, in geringen Konzentrationen den Extrakten zugesetzt, in ganz ähnlicher Weise wirken kann. Frühere Untersuchungen über die *d*-Aminosäure-oxydase[1]) hatten ergeben, dass die Effektorenwirkung entscheidend von der Enzymkonzentration abhängig ist. Es wurde deshalb die aktivierende Wirkung von Fumarsäure einerseits und Histidin andererseits bei fallenden Enzymkonzentrationen untersucht.

a) Enzymkonzentration I.

Konzentrierter Extrakt zeigt ohne Substratzusatz nur eine relativ geringe Leeratmung. Zugesetzte Brenztraubensäure bewirkt eine starke Zunahme des Sauerstoffverbrauchs. Zusatz von *l*-Histidin oder Fumarsäure hat keine weitere wesentliche Steigerung des Sauerstoffverbrauchs zur Folge.

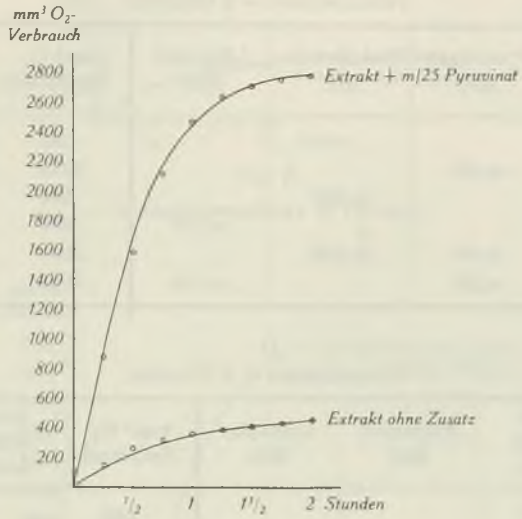


Fig. 1.
Rattenleberextrakt 4; 1,5 cm³.

Tabelle 1.

♀ Ratten, ca. 1 Jahr alt.
Versuchsdauer: = 1 Stunde.

A

Leber-extrakt Nr. 1	Pyruvinat Mol.	*l*-Histidin Mol.	mm³ O_2-Verbrauch	mm³ O_2 abzüglich Leerwert
2 cm³			490	
2 cm³	m/25		1370	880
2 cm³		m/100	616	126
2 cm³	m/25	m/100	1315	825

[1]) Helv. **28**, 797, 1111 (1945); **29**, 162 (1946).

B

Versuchsdauer = 1 Stunde.

Leber-extrakt Nr. 2	Pyruvinat Mol.	*l*-Histidin Mol.	mm³ O_2-Verbrauch	mm³ O_2 abzüglich Leerwert
1,5 cm³			370	
1,5 cm³	m/25		2805	2435
1,5 cm³		m/100	605	235
1,5 cm³	m/25	m/100	2695	2325

C

Versuchsdauer = 2 Stunden.

Leber-extrakt Nr. 3	Pyruvinat Mol.	Fumarsäure Mol.	*l*-Histidin Mol.	mm³ O_2-Verbrauch	mm³ O_2 abzüglich Leerwert
1,5 cm³				593	
1,5 cm³	m/25			3175	2585
1,5 cm³		m/500		638	45
1,5 cm³			m/100	682	98
1,5 cm³	m/25	m/500		3580	2387
1,5 cm³	m/25		m/100	4085	3492

D

Versuchsdauer = 2 Stunden.

Leber-extrakt Nr. 4	Pyruvinat Mol.	*l*-Histidin Mol.	mm³ O_2-Verbrauch	mm³ O_2 abzüglich Leerwert
1,5 cm³			449	
1,5 cm³	m/25		2790	2341
1,5 cm³		m/100	453	4
1,5 cm³	m/25	m/100	2498	2049

b) Enzymkonzentration II.

Bei Verwendung einer kleineren Extraktkonzentration wird die Leeratmung durch den Zusatz der Brenztraubensäure kaum beeinflusst. Wird jedoch dem System eine geringe Menge Fumarsäure zugegeben, so erfolgt ein kräftiger Substratabbau, wie das nach den Untersuchungen von *Szent Györgyi* (l. c.) zu erwarten war. Die Tatsache, dass unter den hier gewählten Versuchsbedingungen ohne Fumarsäure kein oxydativer Abbau der Brenztraubensäure erfolgt, spricht für die grosse Bedeutung dieser Substanz als Atmungskatalysator. Es zeigte sich nun aber auch, dass das *l*-Histidin in ganz analoger Weise wirken kann. Ohne Histidinzusatz bewirkt Brenztraubensäure keine nennenswerte Steigerung des Sauerstoffverbrauchs. Bei Gegenwart der Aminosäure erfolgt ein intensiver Abbau der Brenztraubensäure. Die Fumarsäure lässt sich demnach durch das *l*-Histidin ersetzen. Werden Fumarsäure und *l*-Histidin zusammen zugesetzt, so erfolgt unter diesen Versuchsbedingungen keine weitere Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs.

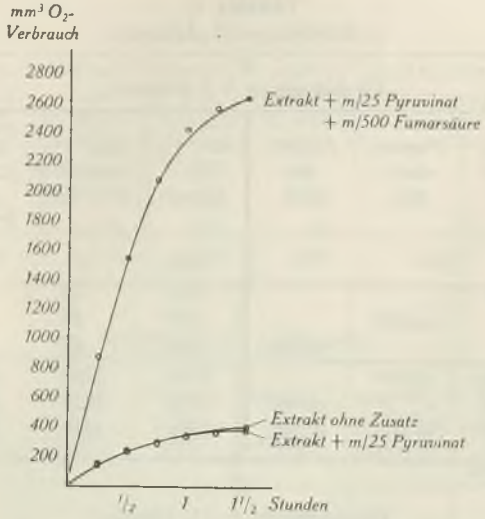


Fig. 2.

Rattenleberextrakt 7; 1,2 cm³.

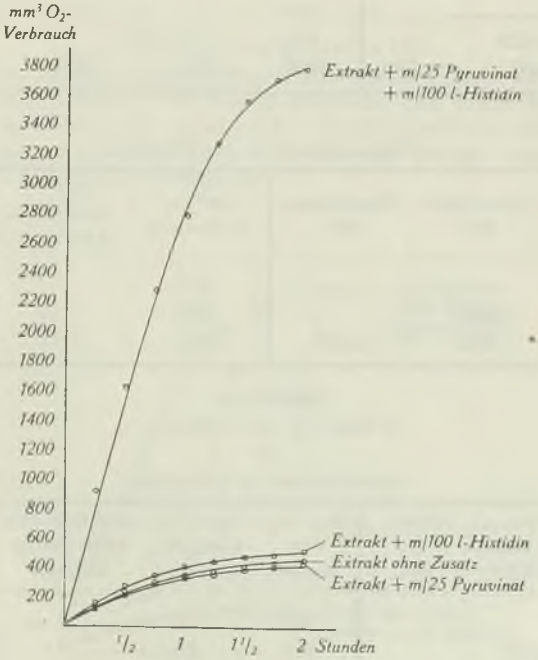


Fig. 3.

Rattenleberextrakt 5; 1,5 cm³.

Tabelle 2.

♀ Ratten, ca. 1 Jahr alt.

A

Versuchsdauer = 2 Stunden.

Leberextrakt Nr. 5	Pyruvinat Mol.	Fumarsäure Mol.	*l*-Histidin Mol.	mm³ O_2-Verbrauch	mm³ O_2 abzüglich Leerwert	mm³ O_2 durch Aktivierung bedingt	Pyruvinat oxydativ abgebaut
1,5 cm³				463			
1,5 cm³	m/25			441	– 22		
1,5 cm³		m/500		490	27		
1,5 cm³			m/100	526	63		
1,5 cm³	m/25	m/500		2755	2292	2287	m/125
1,5 cm³	m/25		m/100	3780	3317	3276	m/52
1,5 cm³	m/25	m/500	m/100	3910	3447	3379	m/50

B

Versuchsdauer = 1 ½ Stunden

Leberextrakt Nr. 6	Pyruvinat Mol.	Fumarsäure Mol.	mm³ O_2-Verbrauch	mm³ O_2 abzüglich Leerwert	mm³ O_2 durch Aktivierung bedingt	Pyruvinat oxydativ abgebaut
1,2 cm³			353			
1,2 cm³	m/25		425	72		
1,2 cm³	m/25	m/500	2505	2152	2080	m/76

C

Versuchsdauer = 1 ½ Stunden.

Leberextrakt Nr. 7	Pyruvinat Mol.	Fumarsäure Mol.	mm³ O_2-Verbrauch	mm³ O_2 abzüglich Leerwert	mm³ O_2 durch Aktivierung bedingt
1,2 cm³			401		
1,2 cm³	m/25		389	– 12	
1,2 cm³	m/25	m/500	2615	2214	2226

Tabelle 3.

♀ Ratten, ca. 1 Jahr alt.

A

Versuchsdauer = 2 Stunden.

Leberextrakt Nr. 8	Pyruvinat Mol.	*l*-Histidin Mol.	mm³ O_2-Verbrauch	mm³ O_2 abzüglich Leerwert	mm³ O_2 durch Aktivierung bedingt	Pyruvinat oxydativ abgebaut
1,0 cm³			333			
1,0 cm³	m/25		355	22		
1,0 cm³		m/100	365	32		
1,0 cm³	m/25	m/100	1095	762	708	m/82

B

Versuchsdauer = 2 Stunden.

Leberextrakt Nr. 9	Pyruvinat Mol.	*l*-Histidin Mol.	mm³ O_2-Verbrauch	mm³ O_2 abzüglich Leerwert	mm³ O_2 durch Aktivierung bedingt	Pyruvinat oxydativ abgebaut
1,0 cm³			303			
1,0 cm³	m/25		364	61		
1,0 cm³		m/100	327	24		
1,0 cm³	m/25	m/100	1870	1567	1482	m/54

C

Versuchsdauer = 2 Stunden.

Leberextrakt Nr. 5	Pyruvinat Mol.	*l*-Histidin Mol.	Fumarsäure Mol.	mm³ O_2-Verbrauch	mm³ O_2 abzüglich Leerwert	mm³ O_2 durch Aktivierung bedingt	Pyruvinat oxydativ abgebaut
1,5 cm³				463			
1,5 cm³	m/25			441	– 22		
1,5 cm³		m/100		526	63		
1,5 cm³	m/25	m/100		3780	3317	3276	m/52
1,5 cm³	m/25	m/100	m/500	3910	3447	3379	m/50

c) Enzymkonzentration III.

Durch weitere Herabsetzung der Extraktkonzentration bleibt die Atmungsgrösse auch bei gleichzeitigem Zusatz von Brenztraubensäure und Fumarsäure oder von *l*-Histidin anstelle der Fumarsäure unverändert. Werden jedoch alle drei Komponenten, d. h. Brenztraubensäure, Fumarsäure und *l*-Histidin dem Extrakt zugesetzt, so erfolgt der intensive Abbau der Brenztraubensäure.

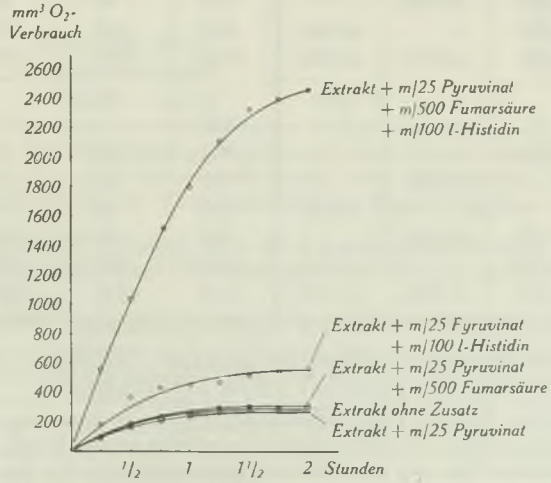


Fig. 4.

Rattenleberextrakt 10; 1 cm³.

Tabelle 4.
Rattenleber.
Versuchsdauer = 2 Stunden.

Leberextrakt	Pyruvinat Mol.	Fumarsäure Mol.	*l*-Histidin Mol.	mm^3 O_2-Verbrauch	mm^3 O_2 abzüglich Leerwert	mm^3 O_2 durch Aktivierung bedingt	Pyruvinat oxydativ abgebaut
Nr. 10							
1,0 cm^3				303			
1,0 cm^3	m/25			292	– 11		
1,0 cm^3		m/500		340	37		
1,0 cm^3			m/100	400	97		
1,0 cm^3	m/25	m/500		315	12	– 14	
1,0 cm^3	m/25		m/100	552	249	163	
1,0 cm^3	m/25	m/500	m/100	2435	2132	2009	m/66
Nr. 11							
1,0 cm^3				274			
1,0 cm^3	m/25			283	9		
1,0 cm^3		m/500		313	39		
1,0 cm^3			m/100	310	36		
1,0 cm^3	m/25	m/500		510	236	188	
1,0 cm^3	m/25		m/100	607	333	288	
1,0 cm^3	m/25	m/500	m/100	1640	1366	1282	m/114
Nr. 12							
1,0 cm^3				384			
1,0 cm^3	m/25			360	– 24		
1,0 cm^3		m/500		400	16		
1,0 cm^3			m/100	425	41		
1,0 cm^3	m/25	m/500		434	50	58	
1,0 cm^3	m/25		m/100	579	195	178	m/147
1,0 cm^3	m/25	m/500	m/100	1984	1600	1567	m/60
Nr. 8							
1,0 cm^3				333			
1,0 cm^3	m/25			355	22		
1,0 cm^3		m/500		361	28		
1,0 cm^3			m/100	365	32		
1,0 cm^3	m/25	m/500		425	92	42	
1,0 cm^3	m/25		m/100	1095	762	708	m/82
1,0 cm^3	m/25	m/500	m/100	1810	1477	1395	m/51

3. Der Abbau von Brenztraubensäure, Milchsäure und α-Glycerophosphat durch Leberextrakt.

Die Ergebnisse früherer Untersuchungen (l. c.) liessen vermuten, dass die Brenztraubensäure durch zellfreie Extrakte oxydativ abgebaut würde. Durch die Bestimmung der Brenztraubensäure liess sich nun eindeutig nachweisen, dass der Sauerstoffverbrauch mit dem Schwund der Brenztraubensäure parallel verläuft. Aus dem Vergleich der verbrauchten Sauerstoffmenge und der verschwundenen Brenztraubensäure ist ersichtlich

(Tabelle 5), dass *l*-Histidin oder Fumarsäure nicht bloss eine einfache Dehydrierung der Brenztraubensäure katalysiert, sondern dass die Brenztraubensäure bis zu den Oxydationsendprodukten, Kohlendioxyd und Wasser, abgebaut werden kann. *Szent Györgyi* und *Annau*[1]) haben aus Aktivierungsversuchen mit Fumarsäure bei Verwendung von Leberbrei vermutet, dass die Brenztraubensäure nur zur Essigsäure dehydriert würde. Aus den mitgeteilten Versuchsergebnissen ist ersichtlich, dass ihre Präparate eine viel geringere Aktivität aufwiesen. Möglicherweise ist die Diskrepanz der Ergebnisse auf diesen Umstand zurückzuführen.

Tabelle 5.

Rattenleber.

Leber-extrakt	Zusatz	mm^3 O_2-Verbrauch abzüglich Leerwert	Pyruvinat oxydativ abgebaut*)	Pyruvinat-konz. äquivalent dem O_2-Verbrauch**)
Nr. 6 1,20 cm^3	Pyruvinat m/25 + Fumarsäure m/500	2152	m/76	m/78
Nr. 8 1,0 cm^3	Pyruvinat m/25 + *l*-Histidin m/100	762	m/82	m/220
Nr. 9 1,0 cm^3	Pyruvinat m/25 + *l*-Histidin m/100	1567	m/54	m/107
Nr. 10 1,0 cm^3	Pyruvinat m/25 + Fumarsäure m/500 + *l*-Histidin m/100	2297	m/66	m/73
Nr. 11 1,0 cm^3	Pyruvinat m/25 + Fumarsäure m/500 + *l*-Histidin m/100	1366	m/114	m/123

*) Durch die Brenztraubensäure-Bestimmung nach *Straub* ermittelt.

**) Berechnung aus dem Sauerstoffverbrauch unter der Annahme, dass Pyruvinat zu den Oxydationsendprodukten (Kohlendioxyd und Wasser) abgebaut wird.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass die Brenztraubensäure unter Umständen bis zu den Oxydationsendprodukten (Kohlendioxyd und Wasser) oxydiert werden kann (Nr. 6 und Nr. 11).

Die Ausdehnung dieser Untersuchungen auf andere Substrate hat ergeben, dass sich der Abbau von Milchsäure und α-Glycerophosphat in ganz analoger Weise durch Fumarsäure und Histidin aktivieren lässt. Die verbrauchten Sauerstoffmengen übersteigen auch in diesen Fällen bei weitem diejenige Menge, die durch einfache Dehydrierung dieser Substanzen benötigt würde. Es muss deshalb angenommen werden, dass nicht nur der Abbau der C_3-Verbindungen, sondern auch derjenige ihrer Oxydationsprodukte durch Fumarsäure und *l*-Histidin katalysiert wird.

[1]) Z. physiol. Ch. **244**, 145 (1936).

Tabelle 6.

Rattenleber.

Versuchsdauer = 2 Stunden.

Leber-extrakt	Milch-säure	*l*-Histi-din	Fumar-säure	mm^3 O_2-Ver-brauch	mm^3 O_2 abzüglich Leerwert	mm^3 O_2 durch Aktivierung bedingt
Nr. 14						
1,0 cm^3				316		
1,0 cm^3	m/25			428	112	
1,0 cm^3		m/100		348	32	
1,0 cm^3			m/500	344	28	
1,0 cm^3	m/25	m/100		995	679	535
1,0 cm^3	m/25		m/500	1490	1174	1034
1,0 cm^3	m/25	m/100	m/500	1600	1284	1112
Nr. 15	α-Glycero-phosph.					
1,0 cm^3				303		
1,0 cm^3	m/25			367	64	
1,0 cm^3	m/25	m/100		427	124	60
1,0 cm^3	m/25		m/500	405	102	38
1,0 cm^3	m/25	m/100	m/500	1470	1167	1103

4. Beziehungen der Aminosäurekatalyse zu weiteren Komponenten des Citronensäurecyclus.

Ausgedehnte Untersuchungen haben ergeben, dass alle anderen uns zugänglichen Zwischenprodukte des Citronensäurecyclus, nämlich Apfelsäure, Bernsteinsäure, Oxalessigsäure, Ketoglutarsäure und Citronensäure sich der Fumarsäure analog verhalten. Es hat sich demnach gezeigt, dass sie entweder allein oder im Verein mit *l*-Histidin den Abbau der Brenztraubensäure zu katalysieren vermögen. Die Aktivierungseffekte sind wiederum in typischer Weise von der Konzentration des Organextraktes abhängig: Bei Verwendung von relativ grossen Extraktkonzentrationen sind die einzelnen Komponenten allein schon wirksam, während nach Verringerung der Konzentration die typischen Aktivierungseffekte nur bei gleichzeitigem Zusatz von *l*-Histidin erfolgen.

5. Zur Atmungsgrösse der Leberextrakte.

Aus allen den hier mitgeteilten Beobachtungen ist wohl deutlich ersichtlich, dass die aktivierten Leberextrakte hohe Atmungsgrössen aufweisen. Der Vergleich des Q_{O_2} $\left(= \frac{O_2 \text{ in } mm^3}{h \cdot mg \text{ Trockengewicht}}\right)$ von Rattenleberschnitten mit dem Q_{O_2} der aktivierten Rattenleberextrakte ergibt, dass letztere eine 2—3mal grössere Aktivität aufweisen können. Nach Angaben von *O. Warburg* und *Minami*[1]) beträgt der Q_{O_2} von Rattenleberschnitten im Durchschnitt 10. Der entsprechende Quotient der aktivierten Extrakte kann Werte bis zu 30 erreichen. Im Gegensatz dazu beträgt die Aktivität der nicht aktivierten Extrakte nur einen Bruchteil derjenigen der zellgebundenen Atmung.

6. Hemmungsversuche mit Kaliumcyanid.

In der letzten Mitteilung (l. c.) wurden einige Versuchsergebnisse über die hemmende Wirkung des Cyanions mitgeteilt. In weiteren Untersuchungen liess sich nun feststellen, dass die Atmung des nicht aktivierten Extraktes sich in dieser Hinsicht auch gegenüber dem durch Fumarsäure und Histidin bedingten Atmungsanteil verschieden verhält.

[1]) Biochem. Z. **142**, 317 und 334 (1923).

Der Sauerstoffverbrauch des nichtaktivierten Extraktes lässt sich durch 0,001 Kaliumcyanid auf ca. die Hälfte reduzieren, während die durch Histidin und Fumarsäure bedingte zusätzliche Atmungsgrösse durch 0,001 Kaliumcyanid fast vollständig hemmbar ist. Es ist bekannt, dass die zellgebundene Atmung tierischer Gewebe durch Blausäure stärker gehemmt wird als diejenige der entsprechenden Extrakte. Der aktivierte Anteil der Extraktatmung verhält sich demnach in dieser Hinsicht der zellgebundenen Atmung ähnlich.

Tabelle 7.

Rattenleber.

Versuchsdauer = 2 Stunden.

Leberextrakt	Pyruvinat	Effektor	Konz.	mm^3 O_2-Verbrauch	mm^3 O_2 abzüglich Leerwert	mm^3 O_2 durch Aktivierung bedingt	Pyruvinat oxydativ abgebaut
Nr. 13							
1,0 cm^3				317			
1,0 cm^3	m/25			344	27		
1,0 cm^3		*l*-Histidin	m/100	308	– 9		
1,0 cm^3	m/25	*l*-Histidin	m/100	705	388	370	
1,0 cm^3		Fumarsäure	m/500	328	11		
1,0 cm^3	m/25	Fumarsäure	m/500	404	87	49	
1,0 cm^3	m/25	Fumarsäure+ *l*-Histidin		2120	1803	1774	m/61
1,0 cm^3		α-Ketoglutarsäure	m/500	336	19		
1,0 cm^3	m/25	α-Ketoglutarsäure	m/500	434	117	71	
1,0 cm^3	m/25	α-Ketoglutarsäure+ *l*-Histidin		1980	1663	1626	m/59
1,0 cm^3		Bernsteinsäure	m/500	335	18		
1,0 cm^3	m/25	Bernsteinsäure	m/500	350	33	– 12	
1,0 cm^3	m/25	Bernsteinsäure+ *l*-Histidin		2025	1708	1672	m/59
1,0 cm^3		Citronensäure	m/500	373	56		
1,0 cm^3	m/25	Citronensäure	m/500	456	139	56	
1,0 cm^3	m/25	Citronensäure+ *l*-Histidin		1980	1663	1589	m/62
1,0 cm^3		Apfelsäure	m/500	328	11		
1,0 cm^3	m/25	Apfelsäure	m/500	384	94	56	
1,0 cm^3	m/25	Apfelsäure+ *l*-Histidin		1947	1630	1601	m/61
1,0 cm^3		Oxalessigsäure	m/500	327	10		
1,0 cm^3	m/25	Oxalessigsäure	m/500	1032	715	682	m/147
1,0 cm^3	m/25	Oxalessigsäure+ *l*-Histidin		1737	1480	1452	m/62

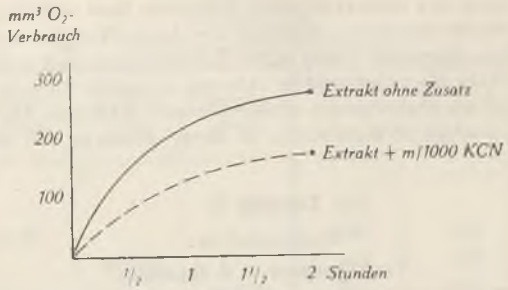


Fig. 5.

Rattenleberextrakt 11; 1 cm³.

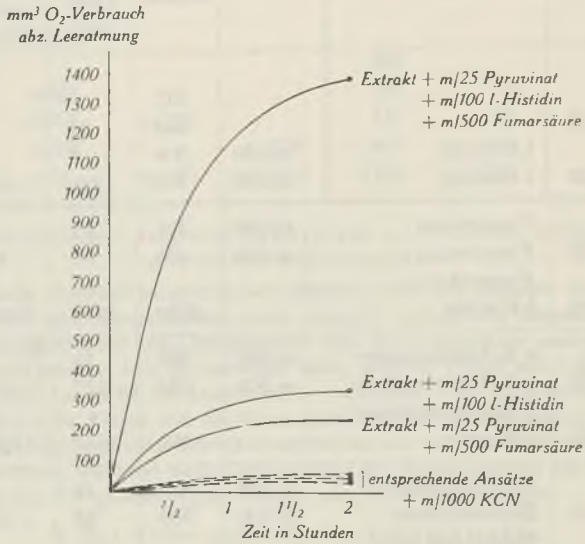


Fig. 6.

Rattenleberextrakt 11; 1 cm³.

7. Die Abhängigkeit der Aktivierungseffekte von der Stoffwechsellage der Tiere.

Auf Grund der Tatsache, dass die Leber als Glykogenspeicher hinsichtlich ihrer stofflichen Zusammensetzung grossen Schwankungen unterliegt, war zu erwarten, dass die Aktivierungseffekte wesentlich von der Stoffwechsellage der Tiere abhängen. Es hat sich auch gezeigt, dass Organe von Hungertieren sich von denjenigen von normal ernährten Tieren sehr verschieden verhalten. Organextrakte von Hungertieren zeigen mit zunehmender Dauer der Karenzzeit ein Absinken der Leeratmung. Im Verlauf der Hungerperiode treten dadurch die Aktivierungseffekte immer deutlicher in Erscheinung. Dieses Verhalten spricht für die Annahme, dass das Absinken der Atmungsgrösse durch die Verminderung von Substrat und katalytisch wirkenden Substanzen bedingt ist, sodass erst nach ihrer Zugabe die Atmung wieder optimal einsetzen kann.

Tabelle 8.

Meerschweinchen.

Versuchsdauer = 2 Stunden.

Leberextrakt	Pyruvinat	Apfelsäure	Fumarsäure	*d*-Histidin	mm³ O_2-Verbrauch	mm³ O_2 abzüglich Leerwert	Aktivierung Prozent
Tiere nicht gehungert							
1,0 cm³					1075		
1,0 cm³	m/25				1725	650	
1,0 cm³		m/500			1170	95	
1,0 cm³			m/500		1365	290	
1,0 cm³				m/100	1440	365	
1,0 cm³	m/25	m/500			1740	665	0
1,0 cm³	m/25		m/500		1685	610	0
1,0 cm³	m/25			m/100	1710	635	0
1,0 cm³	m/25	m/500		m/100	1685	610	0
1,0 cm³	m/25		m/500	m/100	1705	630	0
48 Stunden Hunger							
1,0 cm³					660		
1,0 cm³	m/25				1550	890	
1,0 cm³		m/500			693	33	
1,0 cm³			m/500		805	145	
1,0 cm³				m/100	1235	575	
1,0 cm³	m/25	m/500			2025	1365	31
1,0 cm³	m/25		m/500		1905	1245	23
1,0 cm³	m/25			m/100	2200	1540	42
1,0 cm³	m/25	m/500		m/100	1993	1333	29
1,0 cm³	m/25		m/500	m/100	1950	1290	26
72 Stunden Hunger							
1,0 cm³					410		
1,0 cm³	m/25				775	365	
1,0 cm³		m/500			548	138	
1,0 cm³			m/500		555	145	
1,0 cm³				m/100	526	116	
1,0 cm³	m/25	m/500			1421	1011	83
1,0 cm³	m/25		m/500		1498	1088	93
1,0 cm³	m/25			m/100	1308	898	69
1,0 cm³	m/25	m/500		m/100	1590	1180	105
1,0 cm³	m/25		m/500	m/100	1650	1240	113

Aus den oben mitgeteilten Versuchsergebnissen (Tabelle 1—4, Figur I—IV) geht hervor, dass geringe Änderungen der Extraktkonzentrationen grosse Unterschiede der Aktivierungsgrösse bedingen können, so dass eine Substanz, wie oben dargelegt, einerseits eine kräftige katalytische Wirkung entfalten kann, währenddem sie andererseits bei ganz geringer Herabsetzung der Extraktkonzentration als unwirksam erscheint. Weiterhin hat sich gezeigt, dass ausser der Stoffwechsellage auch Altersunterschiede der Tiere eine Modifikation der Aktivierungseffekte verursachen können. Organextrakte junger Tiere zeigen in kleineren Konzentrationen die typischen Steigerungseffekte als solche alter Tiere. Wenn ausserdem die Empfindlichkeit der wirksamen Extrakte berücksichtigt wird, so ist wohl klar ersichtlich, dass nur unter sehr konstanten Versuchsbedingungen gut reproduzierbare Werte zu erwarten sind, und dass es nicht ohne Vorversuche gelingen kann, einen ganz bestimmten Effekt zu erzielen. Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, jeweils eine grössere Anzahl von Tieren aus der gleichen Zucht längere Zeit unter genau gleichen Lebensbedingungen zu halten, und sie jeweils nach 24-stündiger Hungerperiode zu verwenden. Vergleichende Versuche mit abgestuften Extraktkonzentrationen ermöglichen dann, einen Überblick über die Reaktionsweise der jeweils verwendeten Tiergruppe zu erhalten. So war es in der Folge möglich, jeden typischen Einzelfall sofort zu reproduzieren.

Besprechung der Ergebnisse.

Mit früheren (l. c.) und den hier mitgeteilten Untersuchungen liess sich der Nachweis erbringen, dass Aminosäuren die Atmung tierischer Gewebe zu aktivieren vermögen. Es konnte auch bestätigt werden, dass die Komponenten des Citronensäurecyclus in ähnlicher Weise wirken. Von entscheidender Bedeutung erscheint die Tatsache, dass unter bestimmten experimentellen Bedingungen zellfreie Gewebssuspensionen nur in Gegenwart dieser Aktivatoren imstande sind, zugesetzte Substrate abzubauen. Unter den so gewählten Versuchsbedingungen erscheinen diese Aktivatoren demnach als obligate Bestandteile des Enzymsystems. Die zur Wirkung nötige Konzentration der Aktivatoren liegt durchaus im Bereich der physiologischen Verhältnisse. Dass ausser den Aminosäuren auch die übrigen Aktivatoren in der wirksamen Konzentration vorhanden sind, haben *Annau* und *Erdös*[1]) für den Fall der Bernsteinsäure nachgewiesen. Aus 600 kg Schweinenieren haben sie 3 g Bernsteinsäure isolieren können. Alle diese Tatsachen sprechen für die Annahme, dass die Aminosäuren und die Komponenten des Citronensäurecyclus auch im Leben als Atmungskatalysatoren wirksam sind, und dass sie durch gemeinsames Zusammenwirken die Stoffwechselvorgänge regulieren können.

Warburg[2]) hat in grundlegenden Arbeiten die Bedeutung der Struktur für die enzymatischen Atmungsvorgänge dargelegt. Es ist vor allem den Untersuchungen *Keilin*'s[3]) und *Theorell*'s[4]) zu ver-

---

[1]) Z. physiol. Ch. **257**, 111 (1938).

[2]) *O. Warburg*, Über die katalytischen Wirkungen der lebenden Substanz, Berlin 1928.

[3]) Proc. Roy. Soc. [B] **106**, 418 (1930); **122**, 298 (1932); **129**, 277 (1940); Biochem. J. **39**, 289 (1945).

[4]) Bioch. Z. **279**, 463 (1935); **285**, 207 (1936); **298**, 242 (1939); Sci. **90**, 67 (1939); Am. Soc. **63**, 1804, 1812, 1818, 1820 (1941).

danken, dass einzelne an der Hauptatmung beteiligte Häminfermente als lösliche Stoffe von der Zellstruktur abgetrennt werden konnten. Da es jedoch bisher nicht gelungen ist, alle an der Atmung beteiligten Häminfermente in wirksamer Form von der strukturierten Substanz abzulösen, so bleibt die Frage offen, ob die Struktur essentiell am Atmungsvorgang beteiligt ist, wie es *O. Warburg* ursprünglich angenommen hat, indem er die Zellstrukturen mit der Oberflächenkatalyse in Beziehung brachte (l. c.), oder ob die Strukturgebundenheit nur eine zufällige Erscheinung ist, weil einzelne Komponenten sich nicht isolieren lassen. Andererseits ist jedoch nicht zu übersehen, dass durch die Zerstörung der Zelle die Atmung tierischer Gewebe auf einen Bruchteil der ursprünglichen Intensität herabgesetzt wird, und dass auch spezifische Einzelleistungen verlorengehen können. Leberbrei und Leberextrakt in der üblichen Weise präpariert, zeigen im Vergleich zum intakten Gewebe eine stark herabgesetzte Atmungsgrösse und sind nicht mehr befähigt, diejenigen Substrate zu oxydieren, die das unversehrte Organ mit grosser Intensität abzubauen vermag. Die Tatsache, dass solche zellfreien Organpräparate gegenüber Blausäure weit weniger empfindlich sind als das intakte Gewebe, zeigt auch, dass die Zerstörung der Zellen eine Änderung der Reaktionsweise zur Folge hat.

Es liess sich nun aber zeigen, dass zellfreie Extrakte sich dem intakten Gewebe weitgehend ähnlich verhalten können, wenn sie in ganz nativem Zustand zur Untersuchung gelangen und wenn ihnen sofort Substrat und Effektoren beigegeben werden. Diese aktivierten Extrakte zeigen analog dem zellgebundenen Enzymsystem eine grosse Sauerstoffzehrung. Brenztraubensäure, Milchsäure und α-Glycerophosphat werden intensiv abgebaut. In Übereinstimmung mit dem Verhalten des intakten Gewebes ist diese Extraktatmung stark blausäureempfindlich.

Diese Tatsachen scheinen geeignet, auf die Zellgebundenheit enzymatischer Vorgänge neues Licht zu werfen: Die intermediären Atmungsvorgänge erweisen sich je länger desto mehr als äusserst komplexes System vieler enzymatischer Einzelreaktionen. Während bisher die Zellstruktur mit der Erscheinung der Oberflächenkatalyse in Beziehung gebracht wurde, soll in diesem Zusammenhang diejenige Funktion der Zellstruktur hervorgehoben werden, die ein geordnetes Zusammenwirken der Einzelreaktionen ermöglicht. Die Zerstörung der Zelle hat eine Störung des Systems zur Folge. Durch die Bereitung von Extrakten werden die Zellinhalte so verdünnt, dass unter Umständen die zur Wirkung nötige Konzentration einzelner Komponenten unterschritten wird. Durch Zusatz von Aminosäuren und den übrigen katalytisch wirkenden Substanzen setzen die Abbauvorgänge wieder ein, und die so erreichte Reaktionsweise entspricht

derjenigen des intakten Gewebes. Es scheint demnach, dass das Enzymsystem so zu einer Konstellation komplettiert wird, wie sie sich ähnlich auch in der unversehrten Zelle vorfindet. Die Tatsache, dass durch minimale Änderung der Konzentration die Abbauvorgänge sich experimentell entscheidend modifizieren lassen, lässt vermuten, dass solche Mechanismen auch den Stoffwechsel der Zelle regulieren können.

Wenn auch die Übertragung von Schlussfolgerungen aus in-vitro-Versuchen auf den lebenden Organismus nicht vorbehaltlos zulässig ist, so scheinen doch die mitgeteilten Versuchsergebnisse auf die folgenden allgemeinen Zusammenhänge hinzuweisen: Da alle untersuchten katalytisch wirkenden Stoffe den Charakter von Metaboliten oder Plasmabausteinen besitzen, ist es wohl unmöglich, diese Arten von Substanzen von den Wirkstoffen scharf abzugrenzen. Es erscheint somit sehr wahrscheinlich, dass der Einteilung physiologisch wirkender Substanzen in Plasmabausteine, Metabolite und Wirkstoffe keine allgemeine Bedeutung zukommt, sondern dass sie nur für gewisse Extremfälle Gültigkeit hat. Die Tatsache, dass die katalytischen Effekte in vitro von geringfügigen Konzentrationsunterschieden oder von der Stoffwechsellage der Tiere abhängig sind, deuten darauf hin, dass die Funktion eines Stoffes sich auch in vivo mit der Reaktionslage des Organismus ändern kann. Wenn nun ausserdem die grosse Anzahl der im Organismus wirkenden Stoffe berücksichtigt wird, ergibt sich eine beinahe unendliche Vielgestaltigkeit der Reaktionsweise. Es kann deshalb durchaus nicht überraschen, wenn die Abklärung der speziellen Reaktionsart einzelner Substanzen grosse Schwierigkeiten bereitet, vor allem dann, wenn nicht berücksichtigt wird, dass durch die Wahl verschiedener Versuchsbedingungen immer nur spezielle Einzelfälle festgehalten werden. Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse erscheint es möglich, dass die einleitend erwähnten Kontroversen hinsichtlich der speziellen Reaktionsweise der einzelnen Katalysatoren weitgehend ihrer Grundlage entbehren, und dass die scheinbar widersprechenden Beobachtungen nur auf die Vielgestaltigkeit der Reaktionsart zurückzuführen sind.

Frühere Untersuchungen (l. c. [1] [2])) an Reinenzymen haben ergeben, dass die Reaktionsart der *d*-Aminosäure und des Pepsins durch Aminosäuren und Begleitproteine entscheidend beeinflusst wird. Es wurde daraus geschlossen, dass die gereinigte Form des Enzyms nicht schlechthin dem Enzym als solchem gleichgesetzt werden darf, sondern dass es bloss eine Spielart des Komplexenzyms darstellt. Mit den hier mitgeteilten Beobachtungen wird diese Vorstellung weiter experimentell begründet.

---

[1]) Exper. **2**, 1 (1946).
[2]) Helv. **29**, 237 (1946).

Zusammenfassung.

1. Fumarsäure, Bernsteinsäure, Apfelsäure, Oxalessigsäure, Ketoglutarsäure und Citronensäure können als kräftige Aktivatoren den oxydativen Abbau von Brenztraubensäure, Milchsäure und Glycerophosphorsäure durch zellfreien Rattenleberextrakt katalysieren.

2. Unter bestimmten Versuchsbedingungen findet der oxydative Abbau der Substrate nur bei Gegenwart eines Aktivators statt.

3. Unter anderen Versuchsbedingungen werden die genannten Substrate erst abgebaut, wenn ausser einer Komponente des Citronensäurecyclus *l*-Histidin als Aktivator zugegen ist.

4. Der durch Aminosäure- oder Fumarsäurekatalyse bedingte Abbau von Brenztraubensäure kann sich bis zu den Oxydationsendprodukten, Kohlendioxyd und Wasser, erstrecken.

5. Die Aktivierungseffekte sind in entscheidendem Masse von der Stoffwechsellage des Organs abhängig.

Herrn Prof. *Edlbacher*, der die Anregung zu diesen Untersuchungen gegeben hat, sei auch an dieser Stelle für seine Ratschläge bestens gedankt.

Frl. *Frieda Nebiker* danke ich für die sorgfältige Durchführung der Versuche.

Basel, Physiologisch-chemisches Institut der Universität.

---

108. Versuche zur Reinigung der Histidase

von **Ch. J. Morel.**

(10. V. 46.)

In der Arbeit von *S. Edlbacher* und *G. Viollier*[1]) wurde eine Adsorptionsmethode beschrieben, nach der es gelang, die in der Leber vorkommenden Enzyme Histidase und Urocaninase zu trennen. Das auf diese Weise gewonnene Präparat war nun ohne Wirkung auf die Urocaninsäure, enthielt aber immer noch Arginase. Eine Trennung von letzterer gelang auch durch wiederholte Adsorption mit dem damals verwendeten Bleiphosphat nicht.

In weiteren Untersuchungen haben sich nun fraktionierte Ammoniumsulfatfällungen als ausschliessliches Reinigungsverfahren als ungeeignet erwiesen, weil Ammoniumsalze in hoher Konzentration die Bestimmung der Histidase- und der Arginasespaltprodukte stören, und weil dadurch die Sicherstellung eines arginasefreien Histidasepräparates erschwert ist. Durch Kombination der Adsorptions- und Fällungsmethode gelang es nun aber, diese Schwierigkeit

[1]) Z. physiol. Ch. **276**, 108 (1942).

zu überwinden und so ein arginase- und urocaninasefreies Histidasepräparat zu erhalten. Dieses Präparat war ausserdem noch frei von Amylase und Lipase. Es enthielt aber immer noch Katalase.

Die Bereitung eines wirksamen Histidasetrockenpräparates ist bisher nicht gelungen, da die Aktivität der Histidase bei der Fällung mit Aceton oder Alkohol verloren geht. Wird nun aber die Ammoniumsulfatfraktion, welche die Histidase enthält, über P_2O_5 im Vakuum bei 4° getrocknet, so behält dieses Präparat die Histidaseaktivität, und es kann bei 0–5° monatelang aufbewahrt werden, ohne merklich an Aktivität zu verlieren. Die eigentümliche Erscheinung der antipodischen Hemmung, die von *S. Edlbacher*[1]) das erste Mal am Beispiele des Histidins beschrieben wurde, und die darin besteht, dass die enzymatische Spaltung des natürlichen Antipoden durch einen Überschuss vom gleichzeitig anwesenden unnatürlichen Antipoden stark gehemmt wird, und die *S. Edlbacher* und *O. Wiss* am Beispiel[2]) der *d*-Aminosäure-oxydase nachweisen konnten, lässt sich auch mit gereinigter Histidaselösung reproduzieren. Sie wird also sicher nicht durch unspezifische Begleitstoffe hervorgerufen, sondern ist eine essentielle Eigenschaft der Histidase. Auch durch grosse Enzymkonzentration liess sich *d*-Histidin nicht abbauen, im Gegensatz zur Arginase, bei der unter diesen Bedingungen *d*-Arginin gespalten wird[3]). Es sei in diesem Zusammenhang daran erinnert, dass als erster *O. Riesser*[4]) feststellte, dass unter gewissen Bedingungen Leberextrakte nur natürliches *l*-Arginin in Harnstoff und Ornithin spalten. Andererseits fanden *K. Felix* und *K. Morinaka*[5]), dass bei der Durchströmung der überlebenden Leber racemisches Arginin vollkommen zerlegt wird. In Fortsetzung dieser Untersuchungen haben dann *S. Edlbacher* und *A. Zeller*[3]) gezeigt, dass tierische Leberarginase in hoher Konzentration beide optische Modifikationen des Arginins in Harnstoff und Ornithin zerlegen kann. *A. A. Albanese, V. Irby* und *J. E. Frankston*[6]) berichten nun in einer Untersuchung über die Verwertung von *d*-Aminosäuren beim Menschen. In dieser Abhandlung wird nur auf die Arbeit von *O. Riesser* (l. c.) Bezug genommen. In weiteren Untersuchungen über die Verwertung von *d*- und *l*-Aminosäuren durch den tierischen Organismus von *S. Edlbacher* und *K. Schmid*[7]) wird gezeigt, dass in Fortsetzung früherer Untersuchungen von *J. Wohlgemuth*[8]), *Cox* und *Rose*[9]), *Schönheimer* und *Rittenberg*[10]), *Todder* und *Berg*[11]) der Beweis geführt werden konnte,

---

[1]) Z. physiol. Ch. **265**, 61 (1940).
[2]) Helv. **27**, 1831 (1944) und **28**, 797 (1945).
[3]) Z. physiol. Ch. **242**, 253 (1936).
[4]) Z. physiol. Ch. **49**, 210 (1906).
[5]) Z. physiol. Ch. **132**, 152 (1923).
[6]) J. Biol. Chem. **160**, 25 (1945).
[7]) Helv. **28**, 1079 (1945).
[8]) B. **38**, 2064 (1905).
[9]) J. Biol. Chem. **68**, 78 (1926).
[10]) J. Biol. Chem. **127**, 385 (1939).
[11]) J. Biol. Chem. **117**, 351 (1935) und **127**, 375 (1939).

dass der tierische Organismus in ausgedehntem Masse die Fähigkeit besitzt, *d*-Aminosäuren zu verwerten. Es ist demnach festzustellen, dass vor *Albanese* zahlreiche andere Forscher den Abbau der *d*-Aminosäuren im tierischen Organismus nachgewiesen haben.

Es wurde nun noch das Verhalten der gereinigten Histidaselösung im Dialysierversuch untersucht. Auch da konnte kein Unterschied im Verhalten gegenüber dem Rohextrakt gefunden werden. Die gereinigte Histidase behielt während 48-stündiger Dialyse ihre Aktivität. Wie nun eine Arbeit von *A. C. Walker* und *C. L. A. Schmidt*[1]) zeigt, fanden diese Autoren bei einer gereinigten Histidaselösung, die sie auf einem anderen Wege als dem hier beschriebenen darstellten, dasselbe Verhalten und bestätigten somit diese Befunde.

Das folgende Schema gibt eine Übersicht über die Art der Trennung der drei Enzyme:

Rohextrakt	enthält Urocaninase, Arginase, Histidase
	↓ Fällung Ammoniumsulfat
gelöst	in Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ enthält Urocaninase, Arginase, Histidase
	↓ 1. Adsorption bei $p_H = 5{,}3$
eluiert	mit Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ enthält Arginase, Histidase
	↓ 2. Adsorption bei $p_H = 5{,}3$
eluiert	mit Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ enthält Histidase

Experimenteller Teil.

1. Histidinbestimmung.

Da sich bei den Ammoniumsulfatfällungen keine Ammoniakbestimmungen durchführen liessen, wurde das in den Ansätzen nicht gespaltene Histidin kolorimetrisch nach der von *S. Edlbacher, H. Baur, H. R. Staehelin* und *A. Zeller*[2]) angegebenen Methode mit p-Chloranilin bestimmt. Dazu wurden die Ansätze 5 Minuten in ein siedendes Wasserbad gebracht, filtriert und vom Filtrat ein aliquoter Teil zur Histidinbestimmung verwendet.

2. Fraktionierung durch Ammoniumsulfatfällung.

Die Rattenlebern werden mit ca. dem doppelten Gewicht an Quarzsand im Mörser fein verrieben, im Verhältnis 1:4 mit m/15 Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ versetzt und 10 Minuten zentrifugiert. Die überstehende Suspension ist die zu verwendende Histidaselösung. Die gesättigte Ammoniumsulfatlösung enthält 4,06 Mol $(NH_4)_2SO_4$ im Liter. Die Histidaselösung wird nun mit steigenden Mengen Ammoniumsulfatlösung versetzt und 10 Minuten zentrifugiert (Tabelle 1). Diese Fällung wird nun jedesmal mit Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ auf das ursprüngliche Volumen gelöst. In jedem Ansatz sind 2 cm³ der aus der Ammoniumsulfatfällung durch Lösen derselben erhaltenen Enzymlösung, 3 cm³ 0,1-n. Histidinlösung ($C_6H_9O_2N_3 \cdot HCl + 1\ H_2O$ in Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ gelöst, mit 2-n. NaOH auf $p_H = 8{,}0$ gebracht) und 15 cm³ Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$. Jeder Ansatz wird dann noch mit 1 cm³ Toluol überschichtet. Die Expositionszeit im Thermostaten bei 38° war immer 18 Stunden. In der ersten Kolonne der Tabelle 1 ist angegeben, unter welchen Bedingungen die Fällung mit Ammoniumsulfat erhalten wurde. In der 2. Kolonne ist derjenige Teil des Histidins angegeben, der nicht abgebaut worden war.

---

[1]) Arch. Biochem. **5**, 445 (1944).

[2]) Z. physiol. Ch. **270**, 165 (1941).

Tabelle 1.

Fällung durch Ammoniumsulfat		Restliches Histidin	Abgebautes Histidin in Prozent
Rohextrakt + Ammoniumsulfat			
Volumen	Volumen		
2	—	19,7 mg	68
2	1	64 mg	0
2	2	37,1 mg	40
2	3	54 mg	13
2	4	64 mg	0

Wie aus diesen Resultaten hervorgeht, findet sich die Histidase im Niederschlag bei $^1/_2$- und $^3/_5$-Sättigung. Aus dieser Fällung gelingt es auch, ein Trockenpräparat zu erhalten:

Die Rohenzymlösung wird 2:1 mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt, 10 Minuten zentrifugiert, und der Niederschlag verworfen. Die überstehende Flüssigkeit wird nun 2:3 (im Verhältnis zur Ausgangslösung) mit Ammoniumsulfatlösung versetzt und wiederum 10 Minuten zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird verworfen und der Niederschlag im Vakuumexsikkator über P_2O_5 im Eisschrank getrocknet. Zur Ermittlung des Ammoniumsulfatgehaltes des Präparates wurde das Ammoniak nach Enteiweissung mit Trichloressigsäure nach *Folin* bestimmt und ergab einen Gehalt an Ammoniumsulfat von 80%. Für die Ansätze wurde das Trockenpräparat entsprechend dem ursprünglichen Volumen in Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ gelöst.

Tabelle 2.

Ansätze: 2 cm³ Enzymlösung, 3 cm³ 0,1-n. Histidinlösung, 15 cm³ Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$.

	Abbau mg Histidin
Rohenzym	40 mg
Trockenpräparat	29 mg
Dauer der Aufbewahrung 7 Tage .	29 mg
Dauer der Aufbewahrung 11 Tage .	27 mg
Dauer der Aufbewahrung 16 Tage .	34 mg
Dauer der Aufbewahrung 23 Tage .	27 mg

Durch diese Methode werden Trockenpräparate erhalten, die nach $3^1/_2$ Monaten Aufbewahrung bei 0—4° noch wirksam sind.

Es wurde auch versucht, die Ammoniumsulfatfällungen bei verschiedenem p_H durchzuführen. Es zeigte sich aber dabei kein Vorteil, da durch die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration die Histidase geschädigt wird.

3. Adsorption an Bleiphosphat.

Diese durch Ammoniumsulfatfällungen vorgereinigten Histidaselösungen wurden nun der weiteren Reinigung durch Adsorption an Bleiphosphat unterworfen.

Darstellung von Bleiphosphatsuspension[1]).

120 g $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$ werden in einem grossen Stutzen in ca. 3 Liter destilliertem Wasser gelöst. Unter gutem Rühren werden 300 cm³ Bleiacetat-Lösung (Solutio plumbi

[1]) Siehe auch *S. Edlbacher* und *G. Viollier*, l. c.

subacetici dupl. off.) zugefügt und mit destilliertem Wasser auf 10 Liter aufgefüllt. Nachdem sich der Niederschlag gesetzt hat, wird das überstehende Wasser abgehebert und mit destilliertem Wasser wieder auf 10 Liter aufgefüllt. Das Auswaschen wird so lange wiederholt, bis einige Tropfen Bleiacetat im Waschwasser keine Trübung mehr verursachen.

Zur Adsorption wird eine Suspension verwendet, die 2 g Bleiphosphat pro 100 cm^3 Wasser enthält. Um ihre selektive Adsorptionsfähigkeit zu erhalten, muss diese Suspension nun 4—5 Wochen im Eisschrank stehen bleiben. Nur durch Anwendung dieser gealterten Suspension ist es möglich, eine arginasefreie Histidaselösung zu erhalten. Die Durchführung des Versuches gestaltet sich nun folgendermassen: 26 g Rattenleber werden mit Quarzsand im Mörser verrieben und mit 104 cm^3 Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ versetzt. Dann wird 10 Minuten zentrifugiert. Die überstehende Lösung (80 cm^3) wird zur Vorreinigung mit 4 g Kaolin versetzt und wieder zentrifugiert. Der überstehende Extrakt ist die zur Verwendung gelangende Histidaselösung (A).

60 cm^3 dieses Rohextraktes werden mit 30 cm^3 gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt und zentrifugiert. Der Niederschlag wird verworfen und die überstehende Lösung mit 60 cm^3 Ammoniumsulfatlösung versetzt, zentrifugiert und die überstehende Lösung verworfen. Der Niederschlag wird in 60 cm^3 glasdestilliertem Wasser gelöst (B). 45 cm^3 dieser Lösung werden nun, mit 45 cm^3 Phosphatpuffer $p_H = 5{,}3$ versetzt, an 135 cm^3 Bleiphosphatsuspension adsorbiert und zentrifugiert. Der Niederschlag wird mit 45 cm^3 Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ drei Stunden im Eisschrank eluiert (Lösung C). 30 cm^3 dieser Lösung werden nun mit 30 cm^3 m/15 KH_2PO_4-Lösung versetzt und unter stetem Rühren vorsichtig mit 15-proz. Citronensäure auf $p_H = 5{,}3$ gebracht. Dann wird mit 90 cm^3 Bleiphosphatsuspension adsorbiert, zentrifugiert und der Niederschlag drei Stunden im Eisschrank mit 30 cm^3 Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ eluiert. Diese Elution enthält nunmehr nur noch Histidase.

Tabelle 3.

Ansätze:

3 cm^3 0,1-n. Histidinlösung + 2 cm^3 Enzym + 15 cm^3 Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$;
3 cm^3 0,1-n. Argininlösung + 2 cm^3 Enzym + 15 cm^3 Glykokollpuffer $p_H = 9{,}4$;
2 cm^3 0,1-n. Urocaninsäurelösung + 2 cm^3 Enzym + 16 cm^3 Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$.

Exposition:

Histidin und Urocaninsäure 16 Std. bei 38°;
Arginin 2 Std. bei 38°, dann Bestimmung des gebildeten Harnstoffes nach *Folin*.

Lösung	Histidin abgebaut	Verbrauch cm^3 0,02-n. H_2SO_4, Leerwerte abgezogen	
		Urocaninsäure	Arginin
A	42,5 mg	9 cm^3	17,5 cm^3
B	32,5 mg	—	—
C	18 mg	1,1 cm^3	10,5 cm^3
D	17,5 mg	0,3 cm^3	0,15 cm^3

Ausser der p-Chloranilin-Methode wurde noch die für Histidin spezifische Bestimmungsmethode nach *R. Kapeller-Adler* in der von *K. Schmid* angegebenen Modifikation[1]) angewendet. Bei der Durchführung zeigte sich, dass die Enteiweissung der Versuchslösungen durch einfaches Kochen nicht genügt. Es wurde deshalb die Enteiweissung in der folgenden Weise durchgeführt: Die Spaltungsansätze werden 5 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt und filtriert. Vom Filtrat werden 10 cm^3 in ein weites Reagenzglas gegeben und 2 cm^3 der *Schenk*'schen Lösung zur Enteiweissung zugefügt (2-proz. HCl- und 5-proz. $HgCl_2$-Lösung, gleiche Volumina gemischt). Die Ansätze bleiben zwei Stunden

[1]) Helv. **29**, 226 (1946).

stehen. Dann wird in jede Röhre 2 Minuten lang Schwefelwasserstoff eingeleitet und darauf 15 Minuten lang Luft durchgesaugt, abfiltriert und zur Histidinbestimmung ein aliquoter Teil des Filtrates verwendet und zwar so viel, dass ungefähr 0,9—1,5 mg Histidin darin enthalten sind. Die Lösung wird in ein graduiertes 10-cm³-Reagenzglas gebracht und mit folgender Lösung auf 3 cm³ aufgefüllt: 500 cm³ Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ werden mit 100 cm³ der *Schenk*'schen Lösung versetzt und so lange H_2S eingeleitet, bis alles Quecksilber gefällt ist (ca. 10 Minuten). Dann wird zur Verdrängung des Schwefelwasserstoffs eine Stunde Luft durchgesaugt und abfiltriert. Der weitere Gang der Bestimmung wird nach der von *K. Schmid* (l. c.) angegebenen Weise durchgeführt, mit dem einzigen Unterschied, dass die Röhrchen zur Entwicklung der Farbe 10 Minuten im Wasserbad von 80—85° erhitzt werden.

Tabelle 4.

Ansätze:

2 cm³ Enzymlösung (letzte Reinigungsstufe) + 3 cm³ 0,1-n. Histidin + 15 cm³ Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$.

Exposition: 16 Stunden bei 38°.

Menge des abgebauten Histidins in Milligramm:[1])			
Bestimmung mit p-Chloranilin	Bestimmung nach *Kapeller-Adler*	Soda-*Folin* 1 Äquiv. NH_3	Laugen-*Folin* 2 Äquiv. NH_3
13	14	11	11,8

In diesen wie auch in vielen weiteren Versuchen zeigte sich dabei eine Übereinstimmung aller 4 Bestimmungsmethoden. Es wurde nun noch weiter das Verhalten der gereinigten Histidaselösung bei der Dialyse untersucht. Dialysiert wurde im Cellophanschlauch gegen Wasser und Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ bei 4°. Die Aussenflüssigkeit wurde in 24 Stunden zweimal gewechselt. Die Ausgangslösung wurde gleich lang bei 4° aufbewahrt.

Tabelle 5.

Ansätze:

3 cm³ Enzymlösung + 3 cm³ 0,1-n. Histidin + 14 cm³ Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$.

Exposition: 16 Std. bei 38°.

Versuch	Bestimmung mit p-Chloranilin	Laugen-*Folin*
Ausgangslösung	16 mg	13,6 mg
24 Std. bei 4° aufbewahrt	10,4 mg	11,5 mg
24 Std. gegen Puffer $p_H = 8{,}0$ dialysiert .	10,4 mg	10,6 mg
24 Std. gegen Wasser dialysiert	11,4 mg	11,5 mg
48 Std. bei 4° aufbewahrt	10,4 mg	9,9 mg
48 Std. gegen Puffer $p_H = 8{,}0$ dialysiert .	8,8 mg	8,4 mg
48 Std. gegen Wasser dialysiert	10,0 mg	9,9 mg

[1]) Bezüglich des Unterschieds in der Bestimmungsmethode bei Soda-, bzw. Laugen-*Folin* sei daran erinnert, dass beim Histidinspaltungsprodukt der Histidase beim Alkalisieren mit Na_2CO_3 ein Äquivalent und beim Alkalisieren mit NaOH 2 Äquivalente Ammoniak zur Bestimmung gelangen[2]).

In der Tabelle sind alle Werte zum besseren Vergleich auf mg Histidinhydrochlorid + 1 H_2O umgerechnet.

[2]) *S. Edlbacher, H. Baur, H. R. Staehelin*, Z. physiol. Ch. **270**, 158 (1941).

Es zeigte sich dabei, wie aus dem Vergleich mit der Arbeit von *S. Edlbacher* und *J. Kraus*[1]) hervorgeht, kein Unterschied im Verhalten der reinen Histidaselösung gegenüber demjenigen des Rohextraktes. In früheren Arbeiten von *S. Edlbacher* und seinen Mitarbeitern (l. c.) wurde gezeigt, dass der enzymatische Abbau von *l*-Histidin durch Histidase durch *d*-Histidin gehemmt werden kann. Es war nun zu untersuchen, ob die gereinigte Histidase ebenfalls noch die Erscheinung der „antipodischen Hemmung" zeigte. Wie aus dem folgenden Versuch hervorgeht, ist dies auch der Fall.

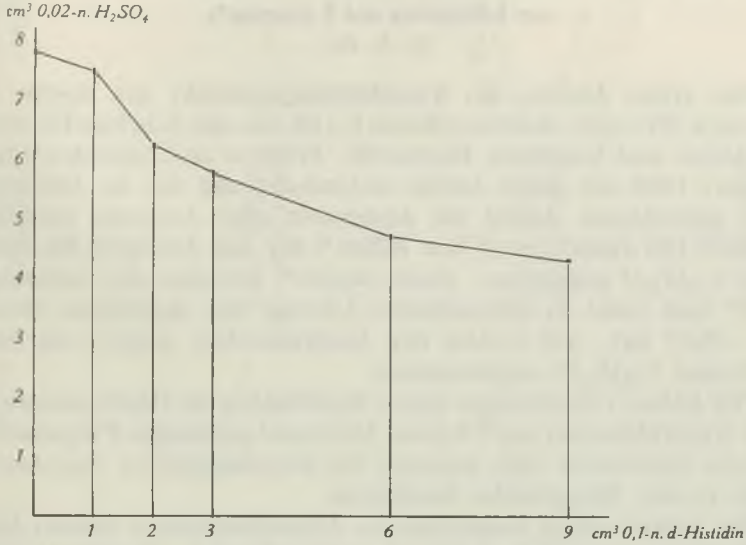


Fig. 1.
Hemmung durch *d*-Histidin.

Ansätze: 3 cm³ Enzym + 3 cm³ 0,1-n. *l*-Histidin + steigende Mengen *d*-Histidin, mit Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ auf ein Volumen von 20 cm³ gebracht. Exposition: 18ʰ bei 38°.

Zusammenfassung.

1. Durch Fällung mit Ammoniumsulfat und zweimalige Adsorption an Bleiphosphat lässt sich ein Histidase-Präparat darstellen, welches Urocaninsäure und Arginin nicht mehr spaltet.

2. Histidase, Urocaninase und Arginase können dementsprechend als verschiedene Enzymindividuen angesprochen werden.

3. Die gereinigte Histidase verhält sich bei der Dialyse und gegenüber der antipodischen Hemmung gleich wie die ungereinigte Histidase.

Die Anregung zu dieser Untersuchung verdanke ich Herrn Prof. Dr. *S. Edlbacher*, dem ich auch an dieser Stelle für seine Unterstützung meinen herzlichsten Dank aussprechen möchte.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

---

[1]) Z. physiol. Ch. **191**, 225 (1930).

109. Zur Kenntnis der Triterpene.

(105. Mitteilung[1])

Über das Ambreïn, einen Bestandteil des grauen Ambra[2])

von **L. Ruzicka** und **F. Lardon**[3]).

(11. V. 46.)

Das graue Ambra, ein Ausscheidungsprodukt des Sperm- oder Pottwales (Physeter macrocephalus L.) ist ein seit Jahrhunderten sehr geschätzter und kostbarer Riechstoff. *Pelletier* und *Caventou*[4]) haben im Jahre 1820 das graue Ambra untersucht und den in Alkohol löslichen geruchlosen Anteil als Ambrafett oder Ambreïn bezeichnet. Ungefähr 100 Jahre später hat *Riban*[5]) für das Ambreïn die Bruttoformel $C_{23}H_{40}O$ angegeben. Nach *Suzuki*[6]) schmilzt das Ambreïn bei 82–83° und weist in alkoholischer Lösung eine spezifische Drehung von +20,5° auf. Auf Grund der Analysenwerte wurde von *Suzuki* die Formel $C_{26}H_{44}O$ angenommen.

Wir haben verschiedene durch Destillation im Hochvakuum oder durch Krystallisation aus 70-proz. Methanol gereinigte Präparate von Ambreïn untersucht und konnten die experimentellen Angaben von *Suzuki* in der Hauptsache bestätigen.

Die weiter unten besprochenen Abbaureaktionen führen jedoch zum Schluss, dass dem Ambreïn wahrscheinlich die Bruttoformel $C_{30}H_{52}O$ zukommt. Die für die homologen Formeln $C_{26}H_{44}O$ bis $C_{30}H_{52}O$ berechneten Kohlenstoff- und Wasserstoffwerte liegen so nahe beieinander, dass man durch Elementaranalyse keine sichere Entscheidung treffen kann.

Wir haben weiter gefunden, dass das Ambreïn (I) mit Tetranitromethan eine starke Gelbfärbung gibt und bei der Titration mit Benzopersäure in Chloroformlösung bei 0° 2 Atome Sauerstoff verbraucht. Die Anwesenheit von zwei Doppelbindungen wurde ferner durch katalytische Hydrierung gesichert. Nach der Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff geht das Ambreïn in das nicht krystalline, gegen Tetranitromethan gesättigte Tetrahydro-ambreïn $C_{30}H_{56}O$ (II) über. Die Doppelbindungen des Ambreïns befinden sich in isolierter Lage, weil die Verbindung im U.V. bis 220 mμ keine Absorption aufweist[7]).

---

[1]) 104. Mitt. Helv. **29**, 442 (1946).

[2]) Die Publikation dieser Arbeit, die erst nach Vervollständigung des experimentellen Materials geplant war, wurde veranlasst durch die Ankündigung eines Vortrages von *E. Lederer*, *F. Marx* und *D. Mercier* an den Journées biochimiques Franco-Suisses in Basel am 26. Mai 1946.

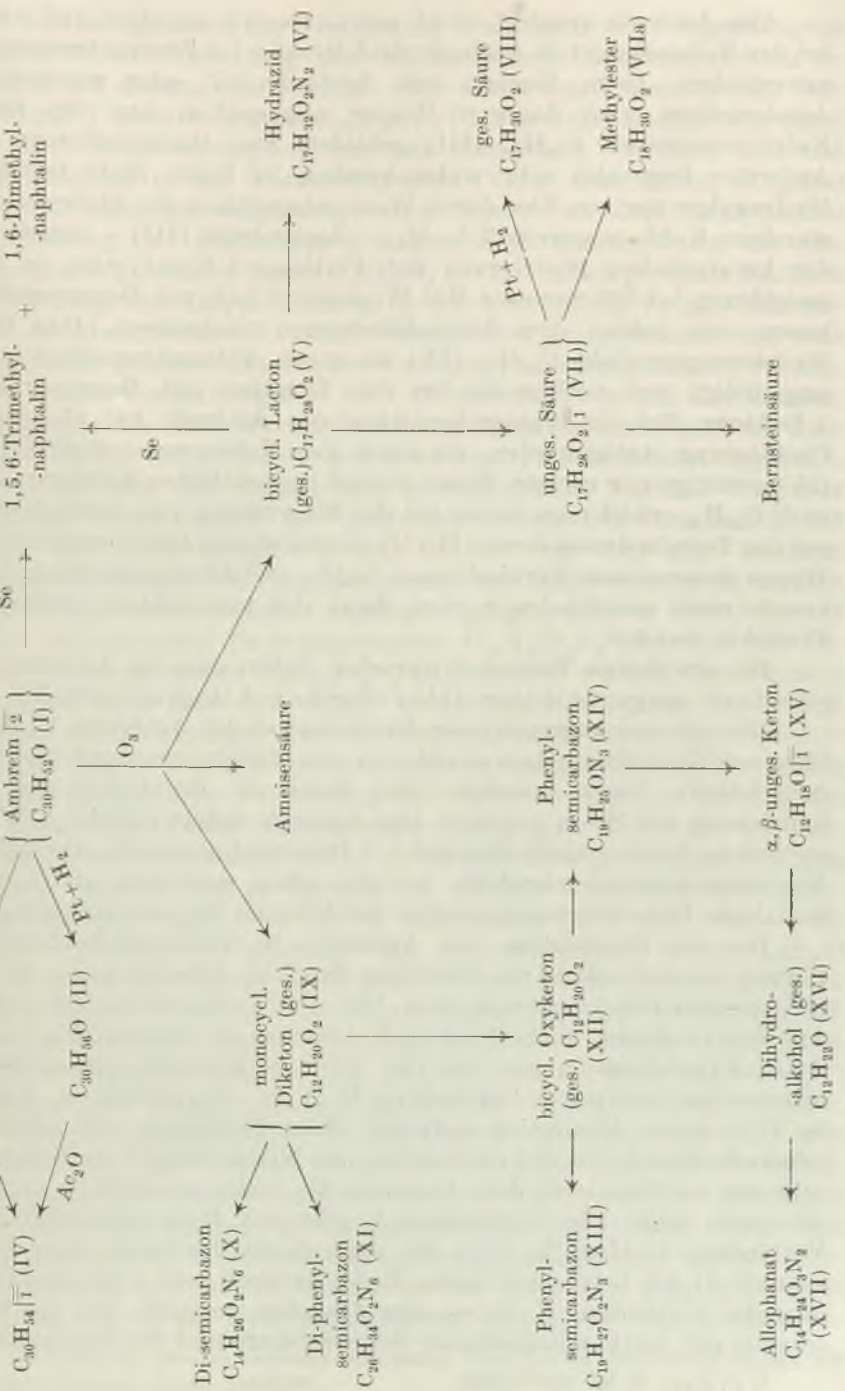
[3]) Diss. E.T.H. 1939.

[4]) J. Pharm. **6**, 49 (1820).

[5]) Bl. [4], **11**, 754 (1912).

[6]) C. **1926**, I. 147.

[7]) Die in dieser Arbeit erwähnten U. V.-Absorptionsspektra wurden in alkoholischer Lösung aufgenommen.


Ambrein
$C_{30}H_{52}O$ (I)
Ac_2O
Pt+H2
$C_{30}H_{50}$ (III)
$C_{30}H_{54}$ (IV)
$C_{30}H_{56}O$ (II)
Ac_2O
Pt+H2
Se
1,5,6-Trimethyl-naphtalin
+
1,6-Dimethyl-naphtalin
Se
O3
Ameisensäure
Di-semicarbazon
$C_{14}H_{26}O_2N_6$ (X)
monocycl. Diketon (ges.)
$C_{12}H_{20}O_2$ (IX)
Di-phenyl-semicarbazon
$C_{26}H_{34}O_2N_6$ (XI)
bicycl. Lacton
(ges.) $C_{17}H_{28}O_2$ (V)
Hydrazid
$C_{17}H_{32}O_2N_2$ (VI)
Phenyl-semicarbazon
$C_{19}H_{27}O_2N_3$ (XIII)
bicycl. Oxyketon
(ges.) $C_{12}H_{20}O_2$
(XII)
Phenyl-semicarbazon
$C_{19}H_{25}ON_3$ (XIV)
unges. Säure
$C_{17}H_{28}O_2$ (VII)
Pt+H2
ges. Säure
$C_{17}H_{30}O_2$ (VIII)
Methylester
$C_{18}H_{30}O_2$ (VIIa)
Allophanat
$C_{14}H_{24}O_3N_2$
(XVII)
Dihydro-alkohol (ges.)
$C_{12}H_{22}O$ (XVI)
α,β-unges. Keton
$C_{12}H_{18}O$ (XV)
Bernsteinsäure

Das Ambreïn reagiert nicht mit Carbonylreagentien und bleibt bei der Behandlung mit Acetanhydrid-Pyridin bei Zimmertemperatur unverändert. Beim Kochen mit Acetanhydrid oder wasserfreier Ameisensäure wird dagegen Wasser abgespalten und ein öliger Kohlenwasserstoff $C_{30}H_{50}$ (III) gebildet. Das Sauerstoffatom des Ambreïns liegt also sehr wahrscheinlich in Form einer tertiären Hydroxylgruppe vor. Der durch Wasserabspaltung aus Ambreïn entstandene Kohlenwasserstoff $C_{30}H_{50}$ – Ambratrien (III) – nimmt bei der katalytischen Hydrierung mit Platinoxyd-Katalysator in Eisessiglösung bei 50° nur zwei Mol Wasserstoff auf; mit Benzopersäure lassen sich jedoch drei Doppelbindungen nachweisen. Das ölige Hydrierungsprodukt $C_{30}H_{54}$ (IV) ist gegen Tetranitromethan noch ungesättigt und verbraucht bei der Titration mit Benzopersäure 1 O-Atom. Bei der Wasserabspaltung aus Ambreïn hat also keine Cyclisierung stattgefunden, da sonst der Kohlenwasserstoff $C_{30}H_{54}$ (IV) gesättigt sein müsste. Einen einfach ungesättigten Kohlenwasserstoff $C_{30}H_{54}$ erhält man ferner bei der Einwirkung von Acetanhydrid auf das Tetrahydro-ambreïn (II). Ob die auf diesen zwei verschiedenen Wegen gewonnenen Verbindungen $C_{30}H_{54}$ vollständig identisch sind, konnte nicht entschieden werden, da es sich um nicht krystallisierte Produkte handelt.

Die erwähnten Tatsachen sprechen dafür, dass im Ambreïn ein zweifach ungesättigter tricyclischer Alkohol vorliegt.

Die von uns angenommene Bruttoformel des Ambreïns $C_{30}H_{52}O$ führt zur Vermutung, dass es sich um eine Triterpenverbindung handeln könnte. Diese Annahme wird durch die Ergebnisse der Dehydrierung mit Selen gestützt. Das Ambreïn liefert dabei 1,2,5-Trimethyl-naphtalin (Agathalin) und 1,6-Dimethyl-naphtalin. Die beiden Naphtalin-Kohlenwasserstoffe wurden schon mehrmals als charakteristische Dehydrierungsprodukte der höheren Terpene aufgefunden.

Bei der Ozonisation des Ambreïns in Tetrachlorkohlenstoff-Lösung entsteht als leicht flüchtiges Produkt Ameisensäure, die als p-Nitro-phenylhydrazid vom Smp. 182–183°[1]) charakterisiert wurde. Aus den neutralen, nicht flüchtigen Anteilen der Ozonisation wurde durch Krystallisation eine bei 140–141° schmelzende, gegen Tetranitromethan gesättigte Verbindung $C_{17}H_{28}O_2$ (V) gewonnen, welche im U.V. keine Absorption aufweist. Beim Erwärmen mit alkoholischem Natriumhydroxyd entsteht aus der Verbindung V ein Natriumsalz, aus welchem nach dem Ansäuern die Ausgangssubstanz zurückgewonnen wird. Die Verbindung V gibt mit Hydrazinhydrat eine Verbindung $C_{17}H_{32}O_2N_2$ (VI), die man als ein Hydrazid einer Oxysäure $C_{17}H_{30}O_3$ betrachten kann. Es ist darnach sehr wahrscheinlich, dass die Verbindung V ein γ- oder δ-Lacton vorstellt. Bei der Umsetzung mit methylalkoholischer Schwefelsäure und Nachbehandlung

[1]) *E. Hyde*, B. **32**, 1810 (1899).

mit Jod entstand aus der Verbindung V ein Ester einer ungesättigten Säure. Durch Verseifung mit alkoholischem Kaliumhydroxyd erhielten wir daraus eine bei 122–123° schmelzende und mit der Verbindung V isomere Säure $C_{17}H_{28}O_2$ (VII), welche ähnlich wie diese im U.V. keine Absorption aufweist. Die Säure VII lässt sich mit Diazomethan in den Monomethylester (VIIa) überführen, ist gegen Tetranitromethan ungesättigt und liefert bei der katalytischen Hydrierung mit Platinoxyd-Katalysator in Eisessiglösung die entsprechende gesättigte Säure $C_{17}H_{30}O_2$ (VIII). Einen gewissen Einblick in die Lage der Doppelbindung in der Verbindung VI gibt der Abbau des Methylesters (VIa) mit Ozon, wobei Bernsteinsäure und eine noch nicht genauer untersuchte Carbonylverbindung isoliert wurden.

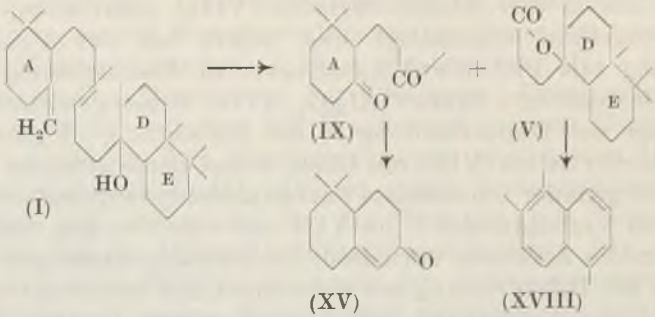
In den Verbindungen V bis VIII sind zwei von den drei Kohlenstoffringen des Ambreïns enthalten. Im Einklang damit gibt das Lacton V bei der Dehydrierung mit Selen das 1,2,5-Trimethyl-naphtalin.

Nach der Abtrennung des krystallisierten Lactons V wurde aus den Mutterlaugen der neutralen Anteile der Ozonisation mit Hilfe des *Girard*-Reagens T eine bei 110–112° (0,4 mm) siedende flüssige ketonische Fraktion gewonnen[1]) und näher untersucht. Daraus konnte ein monocyclisches Diketon $C_{12}H_{20}O_2$ (IX) in Form des bei 213° schmelzenden Di-semicarbazons $C_{14}H_{26}O_2N_6$ (X) oder des Diphenyl-semicarbazons $C_{26}H_{34}O_2N_6$ (XI) isoliert werden. Das Diketon $C_{12}H_{20}O_2$ (IX) lässt sich durch vorsichtige Behandlung mit Alkali cyclisieren. In mässiger Ausbeute entsteht dabei ein bei 162° schmelzendes, gegen Tetranitromethan gesättigtes, bicyclisches Oxy-keton $C_{12}H_{20}O_2$ (XII). Die Verbindung XII liefert in neutraler Lösung das zu erwartende Phenyl-semicarbazon $C_{19}H_{27}O_2N_3$ (XIII). Bei der Umsetzung des Oxy-ketons (XII) in saurer Lösung wird gleichzeitig Wasser abgespalten; es entsteht ein bei 195° schmelzendes Phenyl-semicarbazon $C_{19}H_{25}ON_3$ (XIV). Aus dem Derivat XIV haben wir durch Spaltung mit Oxalsäure das nicht krystalline Keton $C_{12}H_{18}O$ (XV) gewonnen. Dieses weist im U.V. ein Absorptionsmaximum bei 243 mμ, log ε = 4,2 auf, ist also α,β-ungesättigt. Die Verbindung XV lieferte bei der katalytischen Hydrierung den nicht in reiner Form isolierten Dihydro-alkohol $C_{12}H_{22}O$ (XVI), der durch ein bei 230–231° schmelzendes Allophanat $C_{14}H_{24}O_3N_2$ (XVII) charakterisiert wurde.

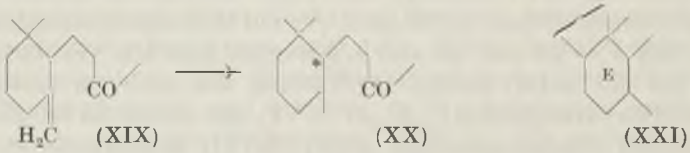
Es ist ausserordentlich wahrscheinlich, dass das Diketon IX den dritten Ring des Ambreïns enthält. Wir haben somit bei der Ozonisation des Ambreïns 29, bzw. bei der Berücksichtigung der gleichfalls isolierten Ameisensäure 30 Kohlenstoffatome der Molekel erfasst. Da das Ambreïn die typischen Dehydrierungsprodukte der höheren Terpenverbindungen liefert, neigen wir zur Annahme, dass in ihm ein Vertreter einer bis jetzt unbekannten Gruppe der tricyclischen Tri-

[1]) Über die anderen neutralen und sauren Produkte der Ozonisation werden wir in einer späteren Arbeit berichten.

terpene vorliegt, dem man zur Erklärung der beschriebenen Umsetzungen die hypothetische Formel I geben könnte. Dem Diketon $C_{12}H_{20}O_2$ käme Formel IX und dem Lacton $C_{17}H_{28}O_2$ Formel V zu. Die Cyclisierung von IX führt zum ungesättigten Keton XV. Das Lacton V muss bei der Dehydrierung 1,2,5-Trimethyl-naphtalin geben.



Zusatz bei der Korrektur am 27. V. 1946[1]). In seinem oben erwähnten Vortrag beschrieb *Lederer* als Oxydationsprodukte des Ambreïns mit Kaliumpermanganat ausser dem Lacton V noch ein ungesättigtes Keton $C_{13}H_{22}O$, das weder mit Dihydro-α-jonon noch mit Dihydro-β-jonon identisch ist. Da in unserem beim Ozonisieren des Ambreïns entstandenen Diketon IX das Abbauprodukt von *Lederer*'s $C_{13}H_{22}O$ vorliegt, so ergibt sich für letzteres Formel XIX. Auch wir hatten dieses Keton in den Händen[2]) und konnten durch Schmelzpunkt und Mischprobe des Semicarbazons 189—190° Identität mit dem Präparat von *Lederer* nachweisen. Aus unserem Keton XIX erhielten wir beim Ozonisieren tatsächlich das Diketon IX und bei der katalytischen Hydrierung optisch aktives Tetrahydro-jonon (XX), welches durch Schmelzpunkt und Mischprobe des Semicarbazons 180° sowie des Phenylhydrazons 110° mit racemischem Tetrahydro-jonon identifiziert werden konnte[3]).



Lederer erhielt bei der Dehydrierung des Ambreïns und des Lactons V mit Palladiumkohle 1,2,5,6-Tetramethyl-naphtalin. Das von uns bei der Dehydrierung mit Selen[4]) isolierte 1,2,5-Trimethyl-naphtalin

[1]) Wir danken Herrn Dr. *Lederer* für seine freundliche Bereitwilligkeit, die korrespondierenden Präparate der beiden Arbeitsgruppen durch Mischproben zu vergleichen und so zu identifizieren.

[2]) Vgl. eine spätere Abhandlung.

[3]) Die Derivate des opt. aktiven und des racem. Ketons zeigen fast genau die gleichen Schmelzpunkte.

[4]) Vielleicht bei zu hoher Temperatur.

dürfte also wohl durch Verlust einer Methylgruppe aus dem Tetramethyl-naphtalin entstanden sein. Darnach müssten die Methylgruppen im Ringe E entsprechend dem Formelschema XXI angeordnet sein.

Wir danken der Firma *Firmenich & Cie.*, Genf, für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[1]).

(Teilweise mitbearbeitet von *H. Weden.*)

Gewinnung des Ambreïns (I).

a) Reinigung durch Destillation.

Der Pentan-Extrakt des Rückstandes der Destillation des grauen Ambra mit Wasserdampf wurde mehrmals im Hochvakuum destilliert. Sdp.$_{0,1\,mm}$ 210°.

3,012 mg Subst. gaben 9,30 mg CO_2 und 3,29 mg H_2O

$C_{30}H_{52}O$ Ber. C 84,01 H 12,25%
Gef. „ 84,21 „ 12,23%

$[\alpha]_D = +13{,}9^0$ (c = 1,2 in Benzol)

b) Der gleiche Pentan-Extrakt wurde aus wässerigem Methylalkohol (70-proz.) bis zum konstanten Schmelzpunkt von 82—83° umkrystallisiert.

2,935; 3,737 mg Subst. gaben 9,035; 11,50 mg CO_2 und 3,21; 4,13 mg H_2O

$C_{30}H_{52}O$ Ber. C 84,01 H 12,25%
Gef. „ 83,96; 83,94 „ 12,24; 12,36%

$[\alpha]_D = +14{,}1$ (c = 1,0 in Benzol)

Hydrierung des Ambreïns.

235 mg reines, krystallisiertes Ambreïn wurden unter Zugabe von 80 mg Platinoxyd in Eisessig hydriert. Wasserstoffverbrauch: 28,1 cm³, ber. für 2 Doppelbindungen: 28,2 cm³. Das Hydrierungsprodukt ist ein farbloses Öl, das nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Das zur Analyse im Hochvakuum destillierte Präparat ist gegen Tetranitromethan gesättigt. Sdp.$_{0,15\,mm}$ 210—215°.

3,761 mg Subst. gaben 11,50 mg CO_2 und 4,40 mg H_2O

$C_{30}H_{56}O$ Ber. C 83,26 H 13,04%
Gef. „ 83,44 „ 13,08%

$[\alpha]_D = -4{,}8^0$ (c = 1,2 in Benzol)

Es liegt Tetrahydro-ambreïn (II) vor.

Ambratrien $C_{30}H_{50}$ (III).

a) 1 g Ambreïn wurde mit 8 g Acetanhydrid 15 Stunden am Rückfluss gekocht. Es wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit Pentan extrahiert und im Hochvakuum fraktioniert. Sdp.$_{0,5\,mm}$ 205—210°.

3,367; 4,157 mg Subst. gaben 10,82; 13,35 mg CO_2 und 3,72; 4,60 mg H_2O

$C_{30}H_{50}$ Ber. C 87,73 H 12,27%
Gef. „ 87,64; 87,58 „ 12,36; 12,39%

b) Das Ambreïn wurde gleich wie oben beschrieben mit wasserfreier Ameisensäure am Rückfluss gekocht. Nach der Aufarbeitung erhielt man ein viskoses, stark gegen Tetranitromethan ungesättigtes Öl vom Sdp.$_{0,4\,mm}$ 200—205°.

2,806 mg Subst. gaben 9,01 mg CO_2 und 3,08 mg H_2O

$C_{30}H_{50}$ Ber. C 87,73 H 12,27%
Gef. „ 87,56 „ 12,28%

---

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert. Die optischen Drehungen wurden in einem Rohr von 1 dm Länge bestimmt.

Kohlenwasserstoff $C_{30}H_{54}$ (IV).

a) Durch Hydrierung des Kohlenwasserstoffs $C_{30}H_{50}$.

346 mg des durch Kochen mit Acetanhydrid gewonnenen Ambratriens wurden in 4 cm³ Essigester und 4 cm³ Eisessig gelöst und nach Zugaben von 80 mg PtO_2 katalytisch hydriert. Aufgenommen wurden 42,0 cm³ Wasserstoff, was einem Verbrauch von 2 Mol H_2 entspricht. Das ölige Reaktionsprodukt ist gegen Tetranitromethan stark ungesättigt. Zur Analyse wurde es im Hochvakuum destilliert. Sdp.$_{0.2\,mm}$ 195—200°.

3,536 mg Subst. gaben 11,28 mg CO_2 und 4,10 mg H_2O

$C_{30}H_{54}$	Ber. C 86,85	H 13,15%	
	Gef. ,, 87,00	,, 12,98%	

b) Durch Wasserabspaltung aus Tetrahydro-ambreïn (II).

Gleich wie beim Ambreïn wurde aus Tetrahydro-ambreïn durch Kochen mit Acetanhydrid Wasser abgespaltet. Das Reaktionsprodukt bildete ein gegen Tetranitromethan stark ungesättigtes Öl vom Sdp.$_{0.1\,mm}$ 190—195°.

3,596 mg Subst. gaben 11,44 mg CO_2 und 4,22 mg H_2O

$C_{30}H_{54}$	Ber. C 86,85	H 13,15%	
	Gef. ,, 86,77	,, 13,13%	

Dehydrierung des Ambreïns mit Selen.

15 g Ambreïn wurden mit 30 g Selen gut vermischt und in einem mit Kühlrohr versehenen Langhalskolben während 40 Stunden auf 350° erhitzt. Die mit Äther extrahierten Reaktionsprodukte wurden im Vakuum fraktioniert.

Frakt. 1	Sdp.$_{12\,mm}$	100—125°	0,3 g
2	,,	125—140°	0,4 g
3	,,	140—150°	0,8 g
4	Sdp.$_{0,4\,mm}$	150—230°	10 g

Die Fraktion 4, die aus nicht dehydrierten Produkten bestand, dehydrierte man nochmals mit Selen bei 390—400°, wobei eine vollständige Dehydrierung stattfand. Die entsprechenden Fraktionen aus den beiden Ansätzen wurden vereinigt.

Fraktion 3 lieferte ein bei 138° schmelzendes Pikrat. Mit 1,2,5-Trimethyl-naphtalin-pikrat gibt das erhaltene Pikrat keine Schmelzpunktserniedrigung.

4,355 mg Subst. gaben 9,13 mg CO_2 und 1,54 mg H_2O
2,376 mg Subst. gaben 0,224 cm³ N_2 (728 mm/21°)

$C_{19}H_{17}O_7N_3$	Ber. C 57,13	H 4,28	N 10,52%
	Gef. ,, 57,30	,, 3,96	,, 10,48%

Das Styphnat (hergestellt aus dem reinen Kohlenwasserstoff, der durch Spaltung des Pikrats gewonnen wurde) schmolz bei 130° und gab mit 1,2,5-Trimethyl-naphtalin-styphnat keine Schmelzpunktserniedrigung.

4,346 mg Subst. gaben 8,79 mg CO_2 und 1,57 mg H_2O
3,841 mg Subst. gaben 0,355 cm³ N_2 (728 mm, 24°)

$C_{19}H_{17}O_8N_3$	Ber. C 54,92	H 4,13	N 10,11%
	Gef. ,, 55,16	,, 4,04	,, 10,18%

Fraktion 1 und 2 wurden vereinigt, über das krystalline Pikrat gereinigt und nach dessen Zersetzung wiederum fraktioniert.

Frakt. 1a	Sdp.$_{0,4\,mm}$	60—65°	0,22 g
2a	,,	65—70°	0,3 g
3a	,,	70—75°	0,14 g

Die Fraktionen 1a und 2a lieferten identische Derivate (Pikrat und Trinitrobenzolat), die mit den entsprechenden Derivaten des 1,6-Dimethyl-naphtalins keine Schmelzpunktserniedrigung gaben.

Pikrat: Smp. 112°.

3,763 mg Subst. gaben 7,765 mg CO_2 und 1,412 mg H_2O
3,294 mg Subst. gaben 0,316 cm³ N_2 (19°, 728 mm)

$C_{18}H_{15}O_7N_3$	Ber. C 56,10	H 3,93	N 10,90%
	Gef. ,, 56,27	,, 4,20	,, 10,75%

Trinitro-benzolat. Smp. 139°.

4,765 mg Subst. gaben 10,25 mg CO_2 und 1,55 mg H_2O
2,208 mg Subst. gaben 0,229 cm³ N_2 (23°, 723 mm)

$C_{18}H_{15}O_6N_3$	Ber. C 58,52	H 4,09	N 11,37%
	Gef. ,, 58,66	,, 3,64	,, 11,38%

In der Fraktion 3a lag das bereits isolierte 1,2,5-Trimethyl-naphtalin vor, welches wiederum durch das Pikrat und Styphnat charakterisiert wurde.

Ozonisation des Ambreïns.

In Ansätzen zu 20 bis 30 g wurden 175 g Ambreïn folgendermassen ozonisiert und aufgearbeitet:

Die Substanz wurde in 100 cm³ Tetrachlorkohlenstoff gelöst und bei 0° mit einem schwachen Ozonstrom bis zur Sättigung (Kontrolle mit Br_2) behandelt. Man dampfte zur Trockne ein und kochte das Ozonid mit wenig Wasser am Rückfluss. Die flüchtigen Bestandteile entfernte man durch Destillation mit Wasserdampf; die nicht-flüchtigen Anteile wurden in neutrale und saure Produkte getrennt.

Aus den leicht flüchtigen Bestandteilen wurde Ameisensäure in Form des p-Nitrophenylhydrazids vom Smp. 182—183° isoliert.

3,808 mg Subst. gaben 6,69 mg CO_2 und 1,36 mg H_2O
2,287 mg Subst. gaben 0,473 cm³ N_2 (19°, 721 mm)

$C_7H_7O_3N_3$	Ber. C 46,39	H 3,89	N 23,20%
	Gef. ,, 46,48	,, 4,00	,, 22,94%

Neutraler Teil: Roh 90 g. Aus dem Gemisch wurden 25 g einheitliche Krystalle abgetrennt, die nach dem Umkrystallisieren aus Essigester bei 141° schmolzen.

3,792 mg Subst. gaben 10,736 mg CO_2 und 3,641 mg H_2O

$C_{17}H_{28}O_2$	Ber. C 77,22	H 10,68%
	Gef. ,, 77,26	,, 10,74%

$[\alpha]_D = +30°$ (c = 2,3 in Chloroform)

Es liegt das Lacton V vor.

Umsetzungen des Lactons $C_{17}H_{28}O_2$ (V).

Hydrazid $C_{17}H_{32}O_2N_2$ (VI). 200 mg Substanz wurden ½ Stunde mit Hydrazinhydrat am Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wurde zur Trockne eingedampft und der Rückstand aus Benzol bis zum konstanten Smp. 155° umkrystallisiert.

4,019 mg Subst. gaben 10,15 mg CO_2 und 3,88 mg H_2O
3,238 mg Subst. gaben 0,279 cm³ N_2 (20°, 722 mm)

$C_{17}H_{32}O_2N_2$	Ber. C 68,87	H 10,88	N 9,45%
	Gef. ,, 68,92	,, 10,80	,, 9,54

Ungesättigte Säure $C_{17}H_{26}O_2$ (VII).

3,5 g Lacton kochte man 4 Tage mit 3 g konz. Schwefelsäure in 60 cm³ Methanol. Das in üblicher Weise isolierte neutrale Reaktionsprodukt wurde mit wenig Jod 1 Stunde auf 120—130° erhitzt und nach der Aufarbeitung (Aufnehmen in Äther und Waschen mit Natriumthiosulfat-Lösung und Wasser) während 4 Stunden mit 5-proz. methanolischer Kalilauge am Rückfluss verseift. Die Säure (2,7 g) wurde aus Methanol bis zum

konstanten Schmelzpunkt von 122—123° umkrystallisiert; mit Tetranitromethan gibt sie eine Gelbfärbung.

3,473 mg Subst. gaben 9,84 mg CO_2 und 3,33 mg H_2O

$C_{17}H_{28}O_2$ Ber. C 77,22 H 10,68%
Gef. „ 77,30 „ 10,73%

Der Methylester (VIIa) wurde mit Diazomethan hergestellt. Sdp.$_{0,3\,mm}$ 130—133°.

3,880 mg Subst. gaben 11,02 mg CO_2 und 3,70 mg H_2O
3,443 mg Subst. verbrauchten 3,767 cm³ 0,1-n. $Na_2S_2O_3$

$C_{18}H_{30}O_2$ Ber. C 77,68 H 10,86 OCH_3 11,15%
Gef. „ 77,45 „ 10,67 „ 11,31%

Gesättigte Säure $C_{17}H_{30}O_2$ (VIII).

57 mg der ungesättigten Säure VI wurden in 3 cm³ Eisessig mit 20 mg PtO_2 katalytisch hydriert. Das gegen Tetranitromethan gesättigte Reaktionsprodukt schmolz nach dem Umkrystallisieren aus Methanol bei 136—137°.

3,732 mg Subst. gaben 10,50 mg CO_2 und 3,82 mg H_2O

$C_{17}H_{30}O_2$ Ber. C 76,64 H 11,35%
Gef. „ 76,78 „ 11,45%

Ozonisation des Methylesters $C_{18}H_{30}O_2$ (VIIa).

Die Ozonisation wurde in der oben beschriebenen Weise durchgeführt. Aus den neutralen Anteilen konnte ein Keton in Form eines Semicarbazons vom Smp. 182—183° isoliert werden, über welches später eingehender berichtet werden soll.

Aus dem sauren Anteil konnten Krystalle vom Smp. 185—186° isoliert werden, die mit Bernsteinsäure keine Schmelzpunktserniedrigung gaben.

4,030 mg Subst. gaben 6,10 mg CO_2 und 1,89 mg H_2O

$C_4H_6O_4$ Ber. C 40,66 H 5,13%
Gef. „ 40,31 „ 5,25%

Dehydrierung des Lactons (V).

1 g Lacton wurden mit 2 g Selen im Einschlussrohr 40 Stunden auf 350—360° erhitzt. Nach der Aufarbeitung konnte das 1,2,5-Trimethyl-naphtalin in Form seines Pikrats und Styphnats isoliert werden.

Untersuchung der neutralen Mutterlaugen der Ozonisation des Ambreïns.

Die öligen Mutterlaugen des Lactons V wurden im Hochvakuum destilliert. Es wurden folgende 3 Fraktionen isoliert:

Frakt. 1	Sdp.$_{0,4\,mm}$	110—130°	26 g
2	Sdp.$_{0,3\,mm}$	150—200°	15 g
3	Rückstand		ca. 25 g

Durch Umkrystallisation aus Petroläther konnten aus der Fraktion 2 ca. 3 g des Lactons $C_{17}H_{28}O_2$ (V) abgetrennt werden. Die Fraktion 1 wurde mit dem *Girard*-Reagens T in ketonische (13 g) und nichtketonische (12 g) Anteile getrennt. Die Ketonfraktion wurde nochmals sorgfältig destilliert und 10 g eines bei 110—112° (0,3 mm) siedenden Anteils abgetrennt. Durch Umsetzung mit Semicarbazid und Phenyl-semicarbazid wurden daraus die Derivate des in reiner Form nicht isolierten Diketons $C_{12}H_{20}O_2$ (IX) erhalten.

Di-semicarbazon (X). Aus Methanol Smp. 213°.

3,257 mg Subst. gaben 6,46 mg CO_2 und 2,43 mg H_2O
1,783 mg Subst. gaben 0,442 cm³ N_2 (20°, 717 mm)

$C_{14}H_{26}O_2N_6$ Ber. C 54,16 H 8,45 N 27,09%
Gef. „ 54,09 „ 8,35 „ 27,25%

Di-phenyl-semicarbazon (XI). Smp. 210° aus Methanol.

3,651 mg Subst. gaben 9,03 mg CO_2 und 2,43 mg H_2O
3,235 mg Subst. gaben 0,521 cm³ N_2 (20°. 730 mm)

$C_{26}H_{34}O_2N_6$ Ber. C 67,50 H 7,41 N 18,16%
Gef. „ 67,45 „ 7,45 „ 18,02%

Cyclisierung des Diketons (IX) zum Oxy-keton (XII).

800 mg des oben gewonnenen Destillats wurden mit 40 cm³ einer 0,4-proz. Natriumäthylat-Lösung bei Zimmertemperatur versetzt. Nach einer Stunde säuerte man die dunkelgelb gefärbte Lösung mit verdünnter Essigsäure an und arbeitete wie üblich auf. Durch Krystallisation aus Essigester erhielt man das gegen Tetranitromethan gesättigte und bei 162° schmelzende Oxy-keton (XII).

3,688 mg Subst. gaben 9,856 mg CO_2 und 3,304 mg H_2O

$C_{12}H_{20}O_2$ Ber. C 73,42 H 10,24%
Gef. „ 72,93 „ 10,02%

Phenyl-semicarbazon (XIII). Aus Methanol Smp. 200°.

3,746 mg Subst. gaben 9,542 mg CO_2 und 2,791 mg H_2O
2,696 mg Subst. gaben 0,307 cm³ N_2 (17°, 721 mm)

$C_{19}H_{27}O_2N_3$ Ber. C 69,28 H 8,26 N 12,76%
Gef. „ 69,46 „ 8,34 „ 12,71%

α,β-ungesättigtes Keton $C_{12}H_{18}O$ (XV).

Das Oxy-keton (XII) wurde mit Phenyl-semicarbazid in mit einigen Tropfen Eisessig angesäuerter methanolischer Lösung umgesetzt. Man erhielt aus Methanol ein bei 195° schmelzendes Phenyl-semicarbazon (XIV).

3,630 mg Subst. gaben 9,766 mg CO_2 und 2,628 mg H_2O

$C_{19}H_{25}ON_3$ Ber. C 73,27 H 8,09%
Gef. „ 73,37 „ 8,10%

Die Spaltung des Präparats XIV mit Oxalsäure lieferte das Keton XV. Analysiert wurde eine bei 130° (11 mm) siedende Mittelfraktion.

3,809 mg Subst. gaben 11,258 mg CO_2 und 3,531 mg H_2O

$C_{12}H_{18}O$ Ber. C 80,85 H 10,18%
Gef. „ 80,66 „ 10,37%

Gesättigter Dihydro-alkohol (XVI).

70 mg des Ketons (XV) wurden in 4 cm³ Eisessig mit 25 mg PtO_2 katalytisch hydriert. Nach der Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff stand die Hydrierung still. Der gegen Tetranitromethan gesättigte Alkohol XVI konnte nicht zur Krystallisation gebracht werden und wurde in das Allophanat (XVII) übergeführt. Smp. 230—232° aus Methanol.

3,703 mg Subst. gaben 8,54 mg CO_2 und 2,978 mg H_2O

$C_{14}H_{24}O_3N_2$ Ber. C 62,66 H 9,02%
Gef. „ 62,94 „ 8,99%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung Priv.-Doz. Dr. *M. Furter*) ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

110. Sur les dérivés de la fluorénone II[1]). La 3,6-diméthyl-fluorénone

par Louis Chardonnens et Albert Würmli.

(11 V 46)

Nous avons fait la synthèse de la 3,6-diméthyl-fluorénone (III), composé qui, à notre connaissance, n'a pas encore été décrit jusqu'ici, à partir de l'acide 4-méthyl-2-amino-benzoïque (I)[2]).

Par diazotation de cet acide et traitement du composé diazoïque par une solution ammoniacale d'oxyde de cuivre(I), c'est-à-dire en utilisant une méthode qui a servi récemment[3]) à préparer l'acide diphénique à partir de l'acide anthranilique, on obtient avec un bon rendement l'acide 5,5'-diméthyl-diphényle-2,2'-dicarbonique (II). Ce dernier, chauffé à 350° avec de l'oxyde de calcium, donne la 3,6-diméthyl-fluorénone (III) cherchée. Le produit de la réaction est toujours accompagné d'une quantité notable d'un composé huileux de couleur rouge dont l'élimination, fort malaisée, ne réussit que par voie chromatographique. Le rendement en produit pur n'est guère que de 23% de la théorie.

La méthode suivante, bien qu'un peu plus longue, conduit à de meilleurs résultats. On fait, à partir de l'acide 4-méthyl-2-amino-benzoïque (I), l'acide 4-méthyl-2-tosylamino-benzoïque (IV), condense le chlorure d'acide de ce dernier avec le toluène en présence de chlorure d'aluminium et soumet le produit brut de la réaction à la saponification au moyen d'acide sulfurique concentré. On obtient ainsi la 4,4'-diméthyl-2-amino-benzophénone (V), qui, diazotée en solution sulfurique, donne, à côté d'un peu de 4,4'-diméthyl-2-oxy-benzophénone (VI), la 3,6-diméthyl-fluorénone (III).

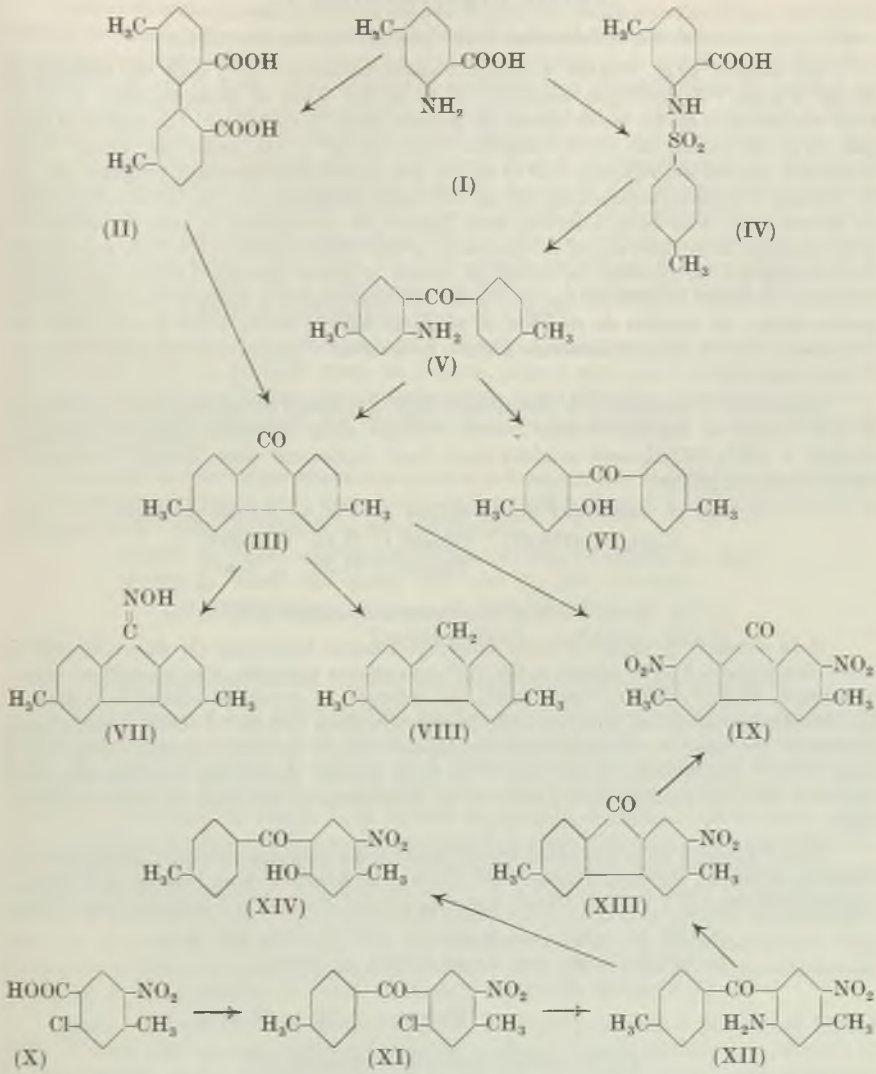
La 3,6-diméthyl-fluorénone a été caractérisée par son oxime (VII) et fournit, par la méthode de *Wolf-Kishner*, le 3,6-diméthyl-fluorène (VIII). La nitration directe conduit à un dérivé dinitré qui est sans doute, étant donné ce que l'on sait de la nitration de la fluorénone et de la 3-méthyl-fluorénone[1]), la 3,6-diméthyl-2,7-dinitro-fluorénone (IX). Il ne nous a pas été possible, ici non plus, d'obtenir par la nitration directe un dérivé mononitré, même en utilisant la quantité exactement nécessaire de nitrate de potassium. Nous avons par contre pu le préparer par une synthèse indépendante. On part

[1]) I: Helv. **28**, 593 (1945).

[2]) *F. Mayer* et *H. Günther*, B. **63**, 1458 (1930); voir aussi: *G. T. Morgan* et *E. A. Coulson*, Soc. **1929**, 2556.

[3]) *E. R. Atkinson, H. J. Lawler, J. C. Heath, E. H. Kimball* et *E. R. Read*, Am. Soc. **63**, 730 (1941); voir aussi *E. R. Atkinson* et collab., Am. Soc. **67**, 1513 (1945).

de l'acide 4-méthyl-5-nitro-2-chloro-benzoïque (X)[1]), condense son chlorure d'acide avec le toluène d'après *Friedel-Crafts*, échange dans la 4,4'-diméthyl-5-nitro-2-chloro-benzophénone (XI) ainsi obtenue



le chlore contre le groupe aminogène et soumet la 4,4'-diméthyl-5-nitro-2-amino-benzophénone (XII) à la diazotation en milieu sulfurique. On obtient, à côté d'une quantité non négligeable de 4,4'-diméthyl-5-nitro-2-oxy-benzophénone (XIV), la 3,6-diméthyl-2-nitro-fluorénone (XIII). Ce produit donne par nitration ultérieure un dérivé

[1]) *A. Claus* et *N. Davidsen*, J. pr. [2] **39**, 494 (1889).

dinitré identique à celui obtenu par la nitration directe de la 3,6-diméthyl-fluorénone.

Partie expérimentale[1]).

Acide 5,5'-diméthyl-diphényle-2,2'-dicarbonique (II).

On dissout 10 gr. d'acide 4-méthyl-2-amino-benzoïque (I)[2]) dans un mélange de 20 cm³ d'acide chlorhydrique concentré et de 30 cm³ d'eau et diazote, entre 0° et 5°, avec une solution de 4,5 gr. de nitrite de sodium dans 70 cm³ d'eau. On dissout d'autre part 25 gr. de sulfate de cuivre cristallisé dans 100 cm³ d'eau, traite par 42 cm³ d'ammoniaque concentrée, refroidit à 5° et ajoute une solution fraîchement préparée de 7 gr. de chlorure d'hydroxylamine dans 40 cm³ de soude caustique 3 n. On fait aussitôt couler en minces filets dans cette solution, dans l'espace de 15 minutes et tout en agitant vigoureusement, la solution du sel de diazonium préalablement filtrée. On évite une mousse trop abondante en ajoutant de temps en temps quelques gouttes d'éther. La réaction terminée, on traite le mélange par de l'acide chlorhydrique 2 n jusqu'à réaction acide au papier congo. Le produit de réaction se précipite sous la forme d'une poudre grise que l'on essore, lave à l'eau et dessèche à 110°. Rendement: 7,6 gr., soit 84% de la théorie. P. de f. vers 230°.

On purifie le produit en le cristallisant deux fois dans l'alcool dilué avec adjonction de noir animal et finalement dans l'acide acétique dilué. Paillettes incolores brillantes fondant à 269°, difficilement solubles dans l'eau, facilement dans l'alcool, l'acétone et l'acide acétique glacial.

0,2091 gr. subst. ont donné 0,5464 gr. CO_2 et 0,0988 gr. H_2O

$C_{16}H_{14}O_4$ (270,27)	Calculé	C 71,10	H 5,22%
	Trouvé	„ 71,31	„ 5,29%

Acide 4-méthyl-2-tosylamino-benzoïque (IV).

A la solution de 25 gr. d'acide 4-méthyl-2-amino-benzoïque (I) dans 200 cm³ de soude caustique à 8% on ajoute, à 50—60°, par petites portions, tout en agitant vigoureusement, 32,5 gr., soit un léger excès, de chlorure de p-toluène-sulfonyle technique. La réaction terminée, on filtre et coule la solution dans 200 cm³ d'acide chlorhydrique concentré. On laisse le précipité brunâtre reposer durant quelques heures, l'essore et le sèche à 110°. Rendement: 41 gr., soit 77% de la théorie. Après une cristallisation dans l'alcool à 80%, le produit fond à 201° et est suffisamment pur pour le traitement ultérieur.

Pour l'analyse, on le cristallise encore dans l'acide acétique glacial et dans le xylène. Cristaux incolores, fondant à 208—209°, facilement solubles dans l'alcool et l'acétone, modérément dans le xylène et l'acide acétique glacial chauds, peu solubles dans l'éther.

0,1693 gr. subst. ont donné 7,1 cm³ N_2 (13°, 718 mm)
0,1630 gr. subst. ont donné 0,1235 gr. $BaSO_4$

$C_{15}H_{15}O_4NS$ (305,34)	Calculé	N 4,59	S 10,50%
	Trouvé	„ 4,73	„ 10,41%

4,4'-Diméthyl-2-amino-benzophénone (V).

Dans un ballon surmonté d'un tube à chlorure de calcium, on met en suspension dans 120 cm³ de toluène sec 10 gr. de l'acide précédent de p. de f. 201°, ajoute 8,4 gr. de pentachlorure de phosphore et chauffe le tout au bain-marie jusqu'à ce qu'il ne se dégage plus d'acide chlorhydrique. On refroidit ensuite dans l'eau glacée et traite en une fois

[1]) Tous les points de fusion ont été corrigés.

[2]) *F. Mayer* et *H. Günther*, B. **63**, 1458 (1930); *G. T. Morgan* et *E. A. Coulson*, Soc. **1929**, 2556.

par 12 gr. de chlorure d'aluminium finement pulvérisé. La plupart du temps, le dégagement d'acide chlorhydrique commence aussitôt; on l'entretient en élevant progressivement la température du mélange réactionnel, tout en agitant fréquemment, jusqu'à 90°; finalement on chauffe encore deux heures au bain-marie.

Après refroidissement, on décompose par la glace et l'acide chlorhydrique concentré, entraîne le toluène en excès par la vapeur d'eau et reprend le résidu brunâtre par l'éther. La solution aqueuse contient toujours, en quantité variable, de la 4,4'-diméthyl-2-amino-benzophénone qui se forme sans doute par saponification chlorhydrique du produit de condensation. On l'en tire en alcalinisant la solution par de la soude caustique à 30%; l'amine se précipite en flocons jaunes. L'extrait éthéré, lavé au carbonate de sodium, puis à l'eau et desséché sur l'hydroxyde de potassium, fournit par évaporation du dissolvant un mélange du produit de condensation attendu, c.-à-d. de 4,4'-diméthyl-2-tosylamino-benzophénone, et d'une quantité notable de 4,4'-diméthyl-diphénylsulfone. On dissout le tout, à la température ordinaire, dans 150 cm³ d'acide sulfurique concentré et laisse reposer la solution durant trois jours. On coule ensuite sur 400 gr. de glace pilée, essore le précipité et le traite trois fois à l'ébullition par 200 cm³ d'acide sulfurique à 25%. Le résidu est la 4,4'-diméthyl-diphénylsulfone de p. de f. 158°.

On traite les extraits sulfuriques, tout en refroidissant bien, par un excès d'ammoniaque concentrée. Le précipité jaune de l'amine, joint à celui que l'on a recueilli précédemment, est repris par l'éther. La solution éthérée, après filtration, abandonne par distillation du dissolvant 4,9 gr. de 4,4'-diméthyl-2-amino-benzophénone, ce qui correspond à 65% de la théorie.

On purifie le produit par cristallisation dans le benzène, puis dans la ligroïne. Longues aiguilles jaunes, fondant à 119°, facilement solubles dans la plupart des dissolvants usuels, assez peu dans l'éther de pétrole et dans la ligroïne.

0,1617 gr. subst. ont donné 0,4729 gr. CO_2 et 0,0990 gr. H_2O
0,1928 gr. subst. ont donné 10,7 cm³ N_2 (13°, 719 mm)

$C_{15}H_{15}ON$ (225,28)	Calculé	C 79,97	H 6,71 N 6,22%
	Trouvé	„ 79,81	„ 6,85 „ 6,27%

3,6-Diméthyl-fluorénone (III) *et 4,4'-diméthyl-2-oxy-benzophénone* (VI).

1° On dissout 4,5 gr. (0,02 mol) du produit précédent dans un mélange de 10 cm³ d'acide sulfurique concentré et de 20 cm³ d'eau et diazote, entre —5° et 0°, avec une solution de 1,4 gr. de nitrite de sodium dans 30 cm³ d'eau. La diazotation terminée, on chauffe la solution rapidement jusqu'à 80° et la maintient à cette température pendant une heure. De l'azote se dégage et le produit de réaction se sépare sous la forme d'une huile rougeâtre. Après refroidissement, on reprend le produit devenu solide par l'éther et, afin d'éliminer la 4,4'-diméthyl-2-oxy-benzophénone formée simultanément, agite la solution éthérée en plusieurs fois avec en tout $1^1/_2$ à 2 litres de potasse caustique à 1%. On lave la solution éthérée à l'eau, évapore le dissolvant et soumet le résidu à la distillation dans un courant de vapeur d'eau. La 3,6-diméthyl-fluorénone passe lentement, déjà assez pure, à raison de 1 gr. par 8 litres de distillat; on en obtient 2,9 gr., ce qui correspond à 70% de la théorie.

Après une cristallisation dans la ligroïne, le produit est tout à fait pur et fond à 118°. Prismes plats jaunes, facilement solubles à chaud dans le méthanol, le benzène et l'acide acétique glacial, modérément dans la ligroïne. Sa solution dans l'acide sulfurique concentré est violette.

0,2620 gr. subst. ont donné 0,8335 gr. CO_2 et 0,1360 gr. H_2O

$C_{15}H_{12}O$ (208,25)	Calculé	C 86,51	H 5,81%
	Trouvé	„ 86,82	„ 5,81%

La partie du produit de réaction soluble dans la potasse caustique est reprécipitée par acidulation au moyen d'acide chlorhydrique: 0,4 gr. On purifie le produit par cristallisations répétées dans la ligroïne. La 4,4'-diméthyl-2-oxy-benzophénone se présente en

feuillets jaune clair, de p. de f. 73—74°, facilement solubles dans les dissolvants usuels. Les sels de sodium et de potassium sont difficilement solubles dans l'eau.

3,865 mgr. subst. ont donné 11,255 mgr. CO_2 et 2,225 mgr. H_2O

$C_{15}H_{14}O_2$ (226,26)	Calculé	C 79,62	H 6,24%
	Trouvé	„ 79,47	„ 6,44%

2° La 3,6-diméthyl-fluorénone s'obtient aussi à partir de l'acide 5,5'-diméthyl-diphényle-2,2'-dicarbonique de la manière suivante.

Dans une éprouvette en verre peu fusible de 30 cm de longueur et 2 cm de diamètre, placée horizontalement dans un four électrique tubulaire de 15 cm de longueur, on chauffe à 350° pendant deux heures un mélange intime de 5 gr. de diacide et de 5 gr. d'oxyde de calcium. Le produit de réaction distille lentement sous la forme d'une huile rouge qui se dépose dans la partie froide de l'éprouvette. On élève ensuite la température jusqu'à 450° puis, après une demi-heure, laisse refroidir. On reprend le produit de la réaction par l'éther, sèche la solution éthérée sur le chlorure de calcium et distille le dissolvant. On obtient 3 gr. de résidu, mi-huileux mi-solide, contenant à côté de la 3,6-diméthyl-fluorénone une quantité assez considérable d'un produit rouge dont l'élimination s'est révélée fort difficile. La séparation ne réussit ni par distillation dans la vapeur d'eau ni par cristallisation fractionnée; on n'obtient un résultat à peu près satisfaisant que par voie chromatographique. On dissout à cet effet le produit brut de la réaction dans 500 cm^3 d'éther de pétrole et verse la solution sur une colonne d'oxyde d'aluminium de 15 cm de hauteur et de 2,5 cm de diamètre. Le chromatogramme montre deux zones assez étendues: une zone supérieure rouge et une zone inférieure jaune. On lave à l'éther de pétrole jusqu'à ce que la zone rouge ne soit plus qu'à 2 cm de la base de la colonne. Le filtrat fournit, par évaporation du dissolvant, 0,9 gr. de 3,6-diméthyl-fluorénone: 23% de la théorie. On purifie finalement le produit par une cristallisation dans la ligroïne; p. de f. 118°.

Oxime de la 3,6-diméthyl-fluorénone (VII).

On prépare cette oxime de la manière habituelle; on la purifie ensuite par cristallisation dans le méthanol, puis dans le benzène.

Cristaux jaune pâle, fondant mal, après fort ramollissement, vers 189—191°, facilement solubles à chaud dans le benzène, un peu moins dans le méthanol. L'oxime est difficilement soluble dans la soude caustique.

0,2434 gr. subst. ont donné 0,7208 gr. CO_2 et 0,1308 gr. H_2O
0,1698 gr. subst. ont donné 9,6 cm^3 N_2 (14°, 717 mm)

$C_{15}H_{13}ON$ (223,26)	Calculé	C 80,69	H 5,87	N 6,28%
	Trouvé	„ 80,81	„ 6,01	„ 6,34%

3,6-Diméthyl-fluorène (VIII).

On chauffe en tube scellé pendant 6 heures à 175° le mélange de 1,5 gr. de 3,6-diméthyl-fluorénone, 2,5 cm^3 d'hydrate d'hydrazine et d'une solution de 0,6 gr. de sodium dans 12 cm^3 d'alcool absolu. Après refroidissement, on reprend le précipité à l'éther, lave la solution éthérée plusieurs fois à l'eau, distille le dissolvant et cristallise le résidu dans l'alcool. Rendement: 1,2 gr., soit 85% de la théorie; p. de f. 126°.

Après une nouvelle cristallisation dans l'alcool, le produit est pur et fond à 130—131°. Feuillets incolores brillants, facilement solubles dans l'éther, le benzène et l'acétone, moins dans l'acide acétique et dans l'alcool. Sa solution dans l'acide sulfurique concentré est jaune pâle.

0,2580 gr. subst. ont donné 0,8759 gr. CO_2 et 0,1686 gr. H_2O

$C_{15}H_{14}$ (194,26)	Calculé	C 92,74	H 7,26%
	Trouvé	„ 92,64	„ 7,31%

3,6-Diméthyl-2,7-dinitro-fluorénone (IX).

On dissout 2,08 gr. (0,01 mol) de 3,6-diméthyl-fluorénone dans 20 cm³ d'acide sulfurique concentré, refroidit à 0° et traite goutte à goutte, en maintenant à cette température, par une solution de 2,02 gr. (0,02 mol) de nitrate de potassium dans 20 cm³ d'acide sulfurique concentré. On coule ensuite la solution sur 150 gr. de glace, essore le précipité, le lave à l'eau et le sèche à 100°. On obtient 2,95 gr. d'un produit jaune grisâtre, fondant vers 267°, que l'on purifie par cristallisations successives dans la pyridine, le xylène et le chlorobenzène.

La 3,6-diméthyl-2,7-dinitro-fluorénone se présente en aiguilles jaunes, facilement solubles à chaud dans la pyridine, moins facilement dans l'acide acétique glacial, le xylène et le chlorobenzène. Le produit fond à 281° après brunissement préalable et se décompose presque aussitôt. Il se dissout en jaune orangé dans l'acide sulfurique concentré.

0,2141 gr. subst. ont donné 0,4730 gr. CO_2 et 0,0685 gr. H_2O
0,1469 gr. subst. ont donné 12,5 cm³ N_2 (13°, 715 mm)

$C_{15}H_{10}O_5N_2$ (298,25)	Calculé	C 60,40	H 3,38	N 9,39%
	Trouvé	,, 60,29	,, 3,58	,, 9,56%

4,4'-Diméthyl-5-nitro-2-chloro-benzophénone (XI).

On dissout 4,3 gr. (0,02 mol) d'acide 4-méthyl-5-nitro-2-chloro-benzoïque[1]) dans 60 cm³ de benzène sec, ajoute 4,3 gr. de pentachlorure de phosphore et chauffe le mélange au réfrigérant à reflux à 80° pendant 3 à 4 heures. On distille ensuite l'oxychlorure de phosphore et le benzène dans le vide sur le bain-marie, ajoute 30 cm³ de benzène frais, distille dans le vide derechef et opère de même, pour finir, avec 50 cm³ de toluène.

On reprend le chlorure d'acide par 50 cm³ de toluène, filtre et refroidit la solution à 0°. On traite en une fois par 3 gr. de chlorure d'aluminium finement pulvérisé et laisse le mélange s'échauffer lentement en faisant en sorte, par un refroidissement convenable, que la réaction ne devienne pas trop violente. On laisse le mélange, tout en l'agitant de temps en temps, pendant une semaine à la température ordinaire. On traite ensuite par la glace et l'acide chlorhydrique, entraîne le toluène par la vapeur d'eau, reprend la masse réactionnelle par l'éther, lave la solution éthérée avec une solution diluée de carbonate de sodium et évapore le dissolvant. On cristallise finalement le résidu dans le méthanol avec adjonction de noir animal: 4,0 gr., soit 69% de la théorie; p. de f. 106—107°.

Après une nouvelle cristallisation dans le méthanol, le produit est pur et fond à 108,5°. Beaux cristaux presque incolores, facilement solubles dans les dissolvants usuels, difficilement cependant dans la ligroïne et l'éther de pétrole.

0,2135 gr. subst. ont donné 9,4 cm³ N_2 (14°, 720 mm)
0,1672 gr. subst. ont donné 0,0820 gr. AgCl

$C_{15}H_{12}O_3NCl$ (289,71)	Calculé	N 4,84	Cl 12,24%
	Trouvé	,, 4,96	,, 12,13%

4,4'-Diméthyl-2-amino-5-nitro-benzophénone (XII).

On chauffe en tube scellé pendant 8 heures à 160—170° 2,9 gr. (0,01 mol) du produit précédent avec 7 cm³ d'alcool saturé de gaz ammoniac. On transvase ensuite la masse réactionnelle dans un cristallisoir, évapore l'alcool sur le bain-marie et cristallise le résidu dans le méthanol en présence de noir animal: 2,2 gr., soit 82% de la théorie; p. de f. 158°.

On purifie le produit par cristallisation dans le benzène, puis dans l'alcool. Petites aiguilles jaunes, fondant à 162,5°, facilement solubles dans l'acétone, moins solubles dans l'alcool et l'acide acétique, peu dans l'éther.

0,2135 gr. subst. ont donné 0,5225 gr. CO_2 et 0,1021 gr. H_2O
0,1159 gr. subst. ont donné 10,7 cm³ N_2 (14°, 720 mm)

$C_{15}H_{14}O_3N_2$ (270,28)	Calculé	C 66,65	H 5,22	N 10,37%
	Trouvé	,, 66,78	,, 5,35	,, 10,40%

[1]) *A. Claus* et *N. Davidsen*, J. pr. [2] **39**, 494 (1889).

3,6-Diméthyl-2-nitro-fluorénone (XIII) *et 4,4'-diméthyl-5-nitro-2-oxy-benzophénone* (XIV).

On dissout 2,7 gr. (0,01 mol) du produit précédent dans 25 cm^3 d'acide sulfurique concentré et traite la solution, refroidie à 0^0, goutte à goutte par une solution de sulfate de nitrosyle préparée à partir de 0,75 gr. de nitrite de sodium et de 20 cm^3 d'acide sulfurique concentré. On verse ensuite le mélange sur 150 gr. de glace pilée, filtre et chauffe la solution sur le bain-marie pendant deux heures à 80^0. Après refroidissement, on essore le produit de réaction, le lave à l'eau et le traite par une solution de potasse caustique à 1% chauffée à 70^0; on essore derechef, lave à l'eau chaude et répète le traitement jusqu'à ce que plus rien ne se dissolve. On obtient ainsi 1,5 gr. de 3,6-diméthyl-2-nitro-fluorénone, ce qui correspond à 59% de la théorie; p. de f. 212—213^0.

Le produit est purifié par cristallisation dans l'acide acétique, puis dans le xylène. Il se présente en paillettes jaune d'or, fondant de manière assez peu nette, après ramollissement prononcé, vers 222—224^0. Le composé est assez soluble dans le xylène et l'acide acétique, peu dans l'alcool. Il se dissout dans l'acide sulfurique concentré avec une coloration rouge bordeaux.

0,2098 gr. subst. ont donné 0,5491 gr. CO_2 et 0,0855 gr. H_2O
0,1733 gr. subst. ont donné 9,0 cm^3 N_2 (22^0, 708 mm)

$C_{15}H_{11}O_3N$ (253,25)	Calculé	C 71,13	H 4,38	N 5,53%
	Trouvé	„ 71,42	„ 4,56	„ 5,60%

La fraction du produit brut qui s'est dissoute dans la potasse caustique est reprécipitée de sa solution par acidulation au moyen d'acide chlorhydrique: 0,65 gr. On purifie le composé en le cristallisant dans l'acétone diluée, l'acide acétique dilué et finalement dans l'hexane. La 4,4'-diméthyl-5-nitro-2-oxy-benzophénone se présente en une masse feutrée faite de fines et longues aiguilles incolores; p. de f. 144^0.

19,59 mgr. subst. ont donné 47,90 mgr. CO_2 et 8,32 mgr. H_2O
20,70 mgr. subst. ont donné 0,98 cm^3 N_2 (18^0, 719 mm)

$C_{15}H_{13}O_4N$ (271,26)	Calculé	C 66,41	H 4,83	N 5,16%
	Trouvé	„ 66,73	„ 4,75	„ 5,25%

En nitrant la 3,6-diméthyl-2-nitro-fluorénone en solution sulfurique par la quantité équimoléculaire de nitrate de potassium, on obtient un produit cristallisant en aiguilles jaunes et fondant, une fois purifié, à 281^0. Il est identique au dérivé, de même p. de f., obtenu par nitration directe de la 3,6-diméthyl-fluorénone; le p. de f. du mélange ne manifeste aucune dépression.

Institut de Chimie de l'Université de Fribourg (Suisse).

111. Der Abbau der Behensäure im Tierkörper

von Karl Bernhard und Ernst Vischer.

(11. V. 46.)

Der β-oxydative Abbau unverzweigter Fettsäuren im Tierkörper wurde auf Grund des Verhaltens phenylsubstituierter Monocarbonsäuren bereits 1905 von *Knoop* festgestellt und in der Folge durch verschiedene Autoren für zahlreiche, allerdings gleichfalls körperfremde Verbindungen bestätigt. Nach der ursprünglichen Auffassung bildet sich dabei pro 1 Mol Fettsäure durch sukzessive Abspaltung von C_2-Bruchstücken 1 Mol β-Oxybuttersäure bzw. Acetessigsäure. Untersuchungen über die Oxydation normaler Fettsäuren durch Leberschnitte unter quantitativer Erfassung der entstehenden Ketokörper ergaben indessen weit höhere Mengen an diesen Intermediärprodukten. *Jowett* und *Quastel*[1]), *Deuel* und Mitarbeiter[2]), *Blixenkrone-Møller*[3]), ferner *Stadie* und Mitarbeiter[4]) versuchten diese Tatsache durch multiple alternative Oxydation zu erklären, eine Vorstellung, die auf *Hurtley*[5]) zurückgeht. Darnach würde eine Fettsäure mit gerader C-Zahl nicht in C_2-Bruchstücke, sondern direkt in C_4-Körper zerfallen.

Das β-oxydativ von den Fettsäuren abgespaltene C_2-Bruchstück verhält sich wie eine Essigsäure-Molekel. *Bernhard* und *Steinhauser*[6]) konnten durch Verabreichung von Deuterio-essigsäure den Nachweis erbringen, dass im Tierkörper stattfindende Acetylierungen von Aminen unter Beteiligung der Essigsäure erfolgen. Besonders ausgeprägt war dies der Fall bei Gaben von Deuterio-äthanol, welches über Essigsäure abgebaut wird. *Bloch* und *Rittenberg*[7]) verfütterten an Ratten signierte Butter-, n-Valerian- und Myristinsäure gleichzeitig mit Phenyl-aminobuttersäure und fanden in allen Fällen im Harn der Tiere Acetyl-phenyl-aminobuttersäure mit D-haltiger Acetylgruppe. Es darf nach Versuchen, die *Swendseid* und Mitarbeiter[8]) unter Benützung von isotopem Kohlenstoff durchführten, als ge-

---

[1]) *M. Jowett* and *J. H. Quastel*, Biochem. J. **29**, 2159 (1935).

[2]) *H. J. Deuel* jr., *L. F. Hallman*, *J. S. Butts* and *S. Murray*, J. Biol. Chem. **116**, 621 (1936).

[3]) *N. Blixenkrone-Møller*, Z. physiol. Ch. **252**, 117, 137 (1938); **253**, 261 (1938).

[4]) *W. C. Stadie*, *J. A. Zapp* jr. and *F. D. W. Lukens*, J. Biol. Chem. **137**, 75 (1941)

[5]) *W. H. Hurtley*, Quart. J. Med. **9**, 301 (1915).

[6]) *K. Bernhard*, Z. physiol. Ch. **267**, 91, 99 (1940); *K. Bernhard* und *H. Steinhauser*, Z. physiol. Ch. **273**, 31 (1942).

[7]) *K. Bloch* and *D. Rittenberg*, J. Biol. Chem. **155**, 243 (1944).

[8]) *E. M. Swendseid*, *R. H. Barnes*, *A. Hemingway* and *A. O. Nier*, J. Biol. Chem. **142**, 47 (1942).

sichert gelten, dass Essigsäure im Tierkörper zu Acetessigsäure kondensiert werden kann. *Weinhouse*, *Medes* und *Floyd*[1]) gaben zu Rattenleber-Schnitten eine Lösung des Natriumsalzes einer Octansäure, deren Carboxyl-Kohlenstoff einen bekannten Gehalt an C^{13} aufwies. In der nach Bebrütung erhaltenen Acetessigsäure war das schwere Kohlenstoffisotop gleichmässig auf die C-Atome der Carbonyl- und der Carboxylgruppe verteilt. Der Ketokörper hat sich also durch Kondensation des β-oxydativ abgespaltenen C_2-Bruchstückes gebildet; aus dem vermehrten Auftreten von β-Oxybuttersäure bzw. Acetessigsäure darf nicht auf multiple alternative Oxydation der C-Kette geschlossen werden.

Den β-oxydativen Abbau natürlicher Fettsäuren im Tierkörper bewiesen mit Hilfe der Isotopentechnik erstmalig *Schoenheimer* und *Rittenberg:* aus den Fettdepots von Mäusen nach vorangehender Fütterung von Deuterio-stearinsäure-ester isolierte Palmitinsäure war D-haltig[2]).

Es war wünschenswert, das Verhalten noch längerer C-Ketten zu prüfen. Die Fettsäuren des im Kriege in vermehrtem Ausmasse zu Ernährungszwecken wieder herangezogenen Rapsöls bestehen bekanntlich zu etwa 50% aus der 22 C-Atome aufweisenden, ungesättigten Erucasäure, $CH_3 \cdot (CH_2)_7 \cdot CH{=}CH \cdot (CH_2)_{11} \cdot COOH$. Wir haben diese Komponente abgetrennt und mit schwerem Wasserstoff hydriert. So hergestellte Behensäure, $CH_3 \cdot (CH_2)_{20} \cdot COOH$ enthielt 3,0 Atom-% Deuterium. Sie wurde als Äthylester mit gleichviel Olivenöl in einem Ausmasse von 10% (5% Ester und 5% Öl) einem normalen Futter beigemischt und an 4 Ratten (Nr. 1—4) verfüttert. Zwei der Tiere (Nr. 1 und 2) hungerten drei Tage vor dem Versuch. Obwohl der Schmelzpunkt des Fettgemisches nur 40—43° betrug, wurden im Mittel lediglich 37% oder 2,56 g der angebotenen Säure pro Tier resorbiert. Zwei weitere Ratten (Nr. 5 und 6), von denen wieder die eine (Nr. 5) vor dem Versuche hungerte, erhielten ein Normalfutter, dem 10% Behensäure-äthylester (Smp. 48°), aber kein weiteres Fett beigegeben wurde. Die Resorption betrug im Mittel 40%, d. h. es wurden pro Tier 2,68 g Behensäure aufgenommen.

Nach 8 bzw. 7 Tagen töteten wir die Ratten und gewannen nach Abtrennung der Leber und des Intestinal-Tractus die Fettsäuren. Dieselben trennten wir über die Bleisalze in feste und flüssige Anteile und unterwarfen erstere als Methylester in der von *Schoenheimer* und *Rittenberg*[2]) beschriebenen Kolonne der fraktionierten Destillation. Aus den Fettsäuren eines jeden Tieres gelang die Isolierung reiner Stearin- und Palmitinsäure; Myristinsäure erhielten wir nur aus den vereinigten tiefsiedenden Fettsäure-ester-Fraktionen aller Ratten. Aus

[1]) *S. Weinhouse, G. Medes* and *N. F. Floyd*, J. Biol. Chem. **155**, 143 (1944).
[2]) *R. Schoenheimer* and *D. Rittenberg*, J. Biol. Chem. **120**, 155 (1937).

den flüssigen Säuren gewannen wir die Ölsäure als p-Phenylphenacylester.

Die D-Konzentration des Körperwassers betrug 0,02 (Ratten Nr. 1—4) bzw. 0,03 Atom-% (Ratten Nr. 5 und 6). Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, dass nach Fütterung der signierten Behensäure aus

Tabelle 1.

Ratte Nr.	Atom-% D der						
	Gesamt-Fettsäuren	festen Fettsäuren	flüssigen Fettsäuren	Stearinsäure	Palmitinsäure	Myristinsäure	Ölsäure
1	0,08	0,20	0,06	0,47	0,07	0,06	0,09
2	0,08	0,21	0,03	0,48	0,10		0,08
3	0,05	0,15	0,04	0,30	0,07		0,04
4	0,04	0,11	0,02	0,31	0,07		0,04
5	0,12	0,28	0,07	0,39	0,06	—	0,08
6	0,04	0,10	0,04				0,04

den Körperfetten isolierte Stearin-, Palmitin-, Myristin- und Ölsäure schweren Wasserstoff enthalten. Die höchsten D-Werte wies die Stearinsäure auf, da sich die Verdünnung durch bereits vorhandene oder anderweitig entstehende Stearinsäure viel weniger auswirkt als im Falle der Palmitinsäure, welche ja die Hauptkomponente der gesättigten Fettsäuren des Depotfettes darstellt. Der D-Gehalt der Ölsäure ist naturgemäss niedriger als derjenige der Stearinsäure, aus welcher sie durch Dehydrierung gebildet wurde. Zudem tritt die Verdünnung durch Ölsäure anderer Herkunft stark in Erscheinung.

Arachinsäure war im Fettsäure-Gemisch wohl nur in sehr geringen Mengen enthalten, deren Isolierung nicht gelang. Während nach reichlicher Fütterung von Rapsöl im Depotfett Erucasäure abgelagert wird, fand eine merkliche Speicherung der Behensäure nicht statt. Aus den vereinigten hochsiedenden Fettsäure-estern aller Tiere erhielten wir nur 100 mg einer nicht reinen Behensäure mit 1,9 Atom-% D. Fettsäuren mit weniger als 14 C-Atomen sind bekanntlich nur sehr geringfügig am Aufbau der Körperfette beteiligt.

Die Organe, Leber und Intestinaltractus, wurden gesondert aufgearbeitet. Die erhaltenen Fettsäuremengen, deren D-Werte aus der Tabelle 2 ersichtlich sind, waren bei den Tieren Nr. 5 und 6 nur klein.

Sowohl aus den vereinigten Leberfettsäuren als den vereinigten Darmfettsäuren konnten D-haltige Stearin-, Palmitin- und Ölsäure gewonnen werden.

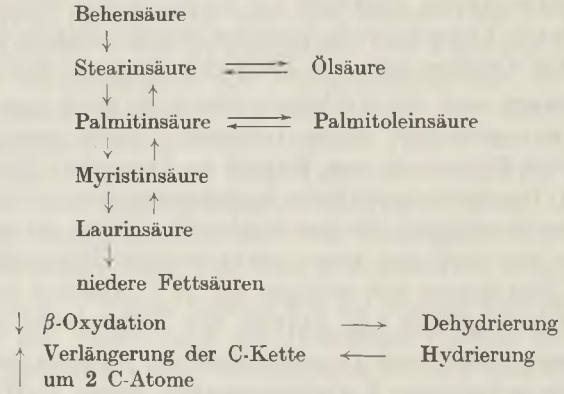
Der β-oxydative Abbau der Behensäure im Tierkörper ist somit unter Anwendung von Deuterium als Indikator bewiesen.

Tabelle 2.

Tier Nr.	Atom-% D in den Gesamt-Fettsäuren aus	
	Leber	Magen-Darm-tractus
1 und 2	0,19	0,15
3 und 4	0,18	0,06
5 und 6	0,25	0,20

Bereits *Stetten* und *Schoenheimer*[1]) fanden nach Fütterung von Deuterio-palmitinsäure an Ratten bei der Aufarbeitung der Fettbestände Deuterio-stearinsäure. Die Verlängerung der Fettsäurekette um je 2 C-Atome bewies weiterhin *Klem*[2]) durch Verabreichung von D-haltiger Laurin- und Myristinsäure als Triglyceride an weibliche Ratten. Aus den Fettsäuren der Versuchstiere gelang im ersten Fall die Isolierung schweren Wasserstoff aufweisender C_{14}-Säure, im zweiten Fall die Gewinnung signierter Palmitinsäure. Männliche Ratten, welche ein Nahrungsfett aus Deuterio-laurinsäure und Caprylsäure aufnahmen, zeigten sich auf Grund der Analysen des Depotfettes zur Synthese von C_{14}-, C_{16}- und C_{18}-Säuren aus der verfütterten C_{12}-Säure befähigt.

Das Stoffwechselverhalten der natürlichen Fettsäuren im Tierkörper lässt sich somit durch das folgende Schema darstellen:



Andere Abbauwege sind mit Ausnahme der ω-Oxydation *Verkade*'s, der wir als speziellen Fall einer Methyloxydation jedenfalls in quantitativer Hinsicht keine wesentliche Bedeutung beimessen können, für die Fettsäuren nicht bewiesen.

[1]) *De Witt Stetten* jr. and *R. Schoenheimer*, *J.* Biol. Chem. **133**, 329 (1940).
[2]) *A. Klem*, Fette und Seifen **51**, 184 (1944).

Experimenteller Teil.

(Mitbearbeitet von cand. med. *Hans Edelmann.*)

Herstellung der Deuterio-behensäure.

Aus Rapsöl isolierte Erucasäure (Smp. 33—34°, Äq.-Gew. 335,6, J. Z. 74,0) hydrierten wir in ätherischer Lösung mit Deuterium unter Verwendung von Platinoxyd. Die Behensäure fiel aus und wurde aus Eisessig umkrystallisiert. Smp. 80,5—81,5°. Äq.-Gew. 341,4 (Ber. $C_{22}H_{24}O_2$: 340,35). D-Gehalt: 3,08, 3,04, 2,98 und 2,96 Atom-%.

Die Hydrierung in Eisessig gelöster Erucasäure führte zu nur 0,83 Atom-% D-haltiger Behensäure.

Der durch Veresterung mit Äthanol erhaltene Äthylester der Behensäure schmolz bei 50—51°.

Tierversuche.

Die Tiere Nr. 1—4 (männliche weisse Ratten in Einzelkäfigen) erhielten in Anlehnung an die Angaben von *Stetten* und *Schoenheimer*[1]) ein Grundfutter aus 65% gemahlenem Weizen, 22,5% extrahiertem Casein, 6,25% Salzen und 6,25% Hefetrockenextrakt und dazu 10% des Behensäure-äthylester-Olivenöl-Gemisches. Ferner wurden pro Tier und Tag 10 mg Cholin zugefügt. Das Futter wurde in Form kleiner Brötchen gegeben. Jedes Tier bekam innerhalb 8 Tagen 15 g Fett bzw. 7,5 g Behensäure-äthylester, d. h. pro Tag und kg Körpergewicht (im Mittel 279, 271, 282, 294 g) 3,36, 3,46, 3,33 und 3,19 g Behensäure-äthylester. Ratten Nr. 1 und 2 hungerten 3 Tage vor Beginn des Versuches; Nr. 3 und 4 haben wir zuvor mit einer Normal-Diät nach *McCollum* ernährt.

Als Futter der Ratten Nr. 5 und 6 benützten wir ein Gemisch aus 67,5% gemahlenem Weizen, 15% Casein, 10% Vollmilchpulver, 0,8% Kochsalz und 1,5% $CaCO_3$. Zu 135 g desselben fügten wir 15,0 g Behensäure-äthylester, 0,22 g Cholsäure (mit Natronlauge neutralisiert) und pro Tier und Tag 10 mg Cholin. Jede Ratte erhielt während 7 Tagen 75 g dieser Nahrung, also 7,5 g oder pro Tag und kg Körpergewicht (im Mittel 202 bzw. 188 g) 5,30 bzw. 5,70 g Behensäure-äthylester.

Das Futter wurde gut gefressen, Störungen konnten nicht beobachtet werden. Die Faeces haben wir quantitativ gesammelt und daraus die Fettsäuren gewonnen. Auf Grund der D-Analyse liess sich ihr Gehalt an Behensäure berechnen. Wir werden auf diese Befunde in einer anderen Arbeit zurückkommen.

Nach Beendigung der Versuche haben wir die Ratten mit Äther getötet und Leber sowie Magen-Darm-Tractus sorgfältig abgetrennt. Die Tierkörper wurden einzeln, die Organe von je zwei Tieren zusammen in methanolische Kalilauge gebracht und wie üblich auf Fettsäuren aufgearbeitet. Aus Tabelle 3 sind die erhaltenen Mengen, ferner die Gewichte der Tiere ersichtlich.

Tabelle 3.

Tier Nr.	Gewicht der Tiere (g)		Tierkörper*)				g Fettsäuren aus	
	vor Versuch	nach Versuch	Gewicht g	Unverseifbares mg	Fettsäuren g	Fettsäuren %	Leber	Intest.-Tractus
1	267	292	254	254	23,03	9,1	1,06	6,66
2	261	280	244	159	27,91	11,4		
3	280	283	248	125	35,29	14,2	1,44	7,31
4	290	298	258	145	33,60	13,0		
5	194	207	173	489	4,14	2,4	0,39	0,38
6	187	189	164	316	7,37	4,5		

*) Exklusive Leber und Intestinal-Tractus.

[1]) *De Witt Stetten* jr. and *R. Schoenheimer*, J. Biol. Chem. **133**, 329 (1940).

Die Fettbestände bei den Ratten Nr. 5 und 6, welche nur Behensäure-äthylester, aber kein Olivenöl erhielten, sind bedeutend geringer. So betrug der Fettsäuregehalt der Lebern nur 2,6 gegenüber 4,3 und 6,0% bei den Tieren Nr. 1 und 2 bzw. 3 und 4, der Gehalt des Magen-Darm-Tractus an Fettsäuren nur 1,6 gegenüber 21,7 bzw. 21,9%.

Aufarbeitung der Fettsäuregemische.

Beabsichtigt war in erster Linie die Gewinnung chemisch reiner Säuren, weniger eine quantitative Abtrennung der Einzelkomponenten.

a) Feste Säuren.

Die schwerlöslichen Bleisalze der Körperfettsäuren haben wir zwei- bis dreimal aus Alkohol umkrystallisiert; sie lieferten nach Zersetzung 4,69, 6,24, 7,85, 8,31, 0,96 und 1,46 g feste Säuren mit Schmelzpunkten von 50—52°.

Die vereinigten Fettsäuren aus den Lebern gaben 0,520 g, diejenigen aus den Magen-Darmtracten aller Tiere 3,00 g feste Säuren.

Eine erste Destillation der Methylester im Vakuum lieferte verschiedene Fraktionen noch unreinen Palmitin- und Stearinsäure-methylesters. Durch nochmalige Fraktionierung konnten im allgemeinen Destillate erhalten werden, die nach Verseifung und Umkrystallisation aus wässerigem Aceton reine Palmitin- bzw. Stearinsäure lieferten (vgl. Tabelle 4).

Tabelle 4.

Tier Nr.	destill. Methylester g	Palmitinsäure				Stearinsäure			
		g	Schmelzpunkt	Mischschmelzpunkt	Äq.-Gew.	g	Schmelzpunkt	Mischschmelzpunkt	Äq.-Gew.
1	4,41	1,740	61—62°	61—62°	255,3	0,380	69—70°	68—69°	285,9
2	6,24	2,510	62—63°	62°	256,0	0,275	69—70°	69—70°	283,1
3	6,40	2,562	62°	61—62°	256,1	0,587	68—70°	69—70°	286,1
4	5,40	1,270	62°	62°	256,2	0,350	70—71°	70—71°	284,8
5 u. 6	2,20	0,525	61–62,5°	61—62°	257,7	0,134	68—69°	68—69°	287,0

Analysen:

$C_{16}H_{32}O_2$ Ber. C 74,94 H 12,58%, Äq.-Gew. 256,4, Smp. 62°
Gef. „ 74,87 „ 12,42%,
$C_{18}H_{36}O_2$ Ber. C 75,98 H 12,76%, Äq.-Gew. 284,5, Smp. 69°
Gef. „ 76,10 „ 12,75%,

Aus den vereinigten niedersiedenden Fraktionen der Körperfettsäuren konnten durch fraktionierte Destillation 695 mg Myristinsäure-methylester erhalten werden. Die durch Verseifung daraus gewonnene Myristinsäure schmolz bei 52—54° und zeigte im Mischschmelzpunkt keine Erniedrigung.

$C_{14}H_{28}O_2$ Ber. C 73,62 H 12,37%, Äq.-Gew. 228,2
Gef. „ 73,64 „ 12,27%, „ „ 227,0

Die vereinigten hochsiedenden Anteile wurden gleichfalls fraktioniert destilliert. Aus 14 erhaltenen Fraktionen gelang die Isolierung von 250 mg reiner Stearinsäure, Smp. 70—71°, Äq.-Gew. 284,7, Atom-% D: 0,32, und von 100 mg unreiner Behensäure, Smp. 82—83°, Mischschmelzpunkt mit Behensäure 80—82°, Äq.-Gew. 347,3 (Ber. 340,4). Im übrigen lagen nur noch untrennbare Gemische vor.

Um eine Beeinflussung des D-Gehaltes der Palmitinsäure durch geringe Beimengungen schwerer Behen- bzw. Stearinsäure völlig auszuschliessen, haben wir die vereinigten reinen Palmitinsäure-Fraktionen im Sinne des Verdünnungsverfahrens („washing out") von *Schoenheimer* und *Rittenberg*[1]) mit der doppelten Menge reiner Behensäure zusammen mit Methanol verestert. Die sich ergebende reine Palmitinsäure (Smp. 62°,

[1]) *R. Schoenheimer* and *D. Rittenberg*, J. Biol. Chem. **120**, 155 (1937).

Äq.-Gew. 254,7) enthielt 0,07 Atom-% D. Wir mischten sie nun mit reiner Stearinsäure, veresterten und destillierten wieder zur Gewinnung reiner Palmitinsäure: Smp. 62°, Atom-% D: 0,07.

b) Flüssige Säuren.

Die flüssigen Säuren haben wir zur Abtrennung eventuell noch vorhandener kleiner Mengen D-haltiger gesättigter Säuren mit der halben Menge reiner Palmitinsäure versetzt, in der fünffachen Menge Äthanol gelöst und mit dem gleichen Volumen äthanolischer Bleiacetatlösung versetzt. Die ausgefallenen Bleisalze wurden nach 24 Stunden abfiltriert, das Filtrat auf einen Drittel des Volumens eingedampft und nach weiteren 24 Stunden die kleinen Mengen noch abgeschiedener Bleisalze abgetrennt. Die so von den festen Säuren befreiten flüssigen Säuren erhielten wir aus den Bleisalzen durch Zersetzung mit Salzsäure und prüften sie auf ihren Gehalt an Deuterium. Im allgemeinen konnte durch diesen „washing out"-Prozess keine Änderung am Deuteriumgehalt festgestellt werden.

Zur Isolierung der Ölsäure haben wir 2,5 g der flüssigen Fettsäuren in 10 cm^3 Methanol gelöst und mit ca. 500 mg Natriumcarbonat neutralisiert. Nach Zugabe von 2,5 g p-Phenyl-phenacylbromid kochten wir $2^1/_2$ Stunden am Rückfluss. Die sich beim zwölfstündigen Stehen bei 0° abscheidenden Krystalle wurden abgenutscht, mit kaltem Äthanol gewaschen und in Äther gelöst. Die ätherische Lösung haben wir dreimal mit Soda und viermal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Den Rückstand krystallisierten wir zuerst aus Äthanol unter Beigabe von etwas Tierkohle um, dann aus Amylalkohol und anschliessend mehrere Male aus einer verdünnten, äthanolischen Lösung. So konnten höher ungesättigte Anteile entfernt werden, und wir erhielten analysenreinen p-Phenyl-phenacylester der Ölsäure.

$C_{32}H_{44}O_3$ (MG 476,66) Ber. C 80,63 H 9,30%, J. Z. 53,26, Smp. 58—59,5° [1])
Gef. „ 80,55 „ 9,15%, „ „ 52,2 „ 58—59,5°

Bei den D-Bestimmungen erfreuten wir uns der Mithilfe von Hrn. *Karl B. Schmid.*

Zusammenfassung.

1. Wir hydrierten aus Rapsöl gewonnene Erucasäure mit schwerem Wasserstoff und fütterten Ratten, einem normalen Futterbeigemischt, Deuteriobehensäure-äthylester. Die Resorption betrug bei Zulagen von 5 und 10% Ester zur Nahrung berechnet auf Behensäure rund 40%.

2. Aus den Körperfetten der Tiere isolierte reine Stearin-, Palmitin-, Myristin- und Ölsäure enthalten Deuterium, womit der β-oxydative Abbau der 22 C-Atome aufweisenden Behensäure über die C_{18}-, C_{16}- und C_{14}-Säure bewiesen ist.

3. Intermediär entstehende Stearinsäure wird zu Ölsäure dehydriert.

4. Auch aus der Leber und dem Magen-Darm-Tractus der Ratten konnten gleichfalls D-haltige Stearin-, Palmitin- und Ölsäure erhalten werden.

5. Die Behensäure verbrennt leicht und gelangt nur in einem sehr geringen Ausmasse zur Ablagerung.

Der Isotopenkommission der Schweizerischen Akademie der medizinischen Wissenschaften verdanken wir bestens eine erhaltene Subvention.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Zürich.

[1]) *C. R. Noller* and *R. A. Bannerot*, Am. Soc. **56**, 1563 (1934); *N. L. Drake* and *J. Bronitsky*, Am. Soc. **52**, 3715 (1930).

112. Über Steroide und Sexualhormone.

(129. Mitteilung[1])).

Synthese von 14,15-Oxido-Verbindungen der Steroid-Reihe; 3β-Acetoxy-14,15-oxido-17-iso-allo-ätiocholansäure-methylester

von L. Ruzicka, Pl. A. Plattner, H. Heusser und J. Pataki.

(11. V. 46.)

Als Ausgangsmaterial für die Herstellung von 14-Oxy-Steroiden besitzen 14,15-Oyde dieser Körperklasse ein besonderes Interesse, sofern ihre reduktive Aufspaltung zu 14-Oxy-Derivaten gelingt[2]).

Vor kurzem[3]) haben wir in diesem Zusammenhang das Oxyd (X) des Δ^{14}-3,12-Diacetoxy-cholensäure-methylesters (IX) der katalytischen Hydrierung unterworfen. Die erzielten Resultate waren jedoch nicht eindeutig und die entsprechenden Versuche wurden hauptsächlich wegen der schweren Zugänglichkeit des Ausgangsmaterials unterbrochen. Die Δ^{14}-3,12-Dioxy-cholensäure (IX) muss nämlich durch Verschiebung der Doppelbindung aus der entsprechenden, ebenfalls nicht sehr leicht zugänglichen 8,14-ungesättigten Säure (Apocholsäure) hergestellt werden, und die auf diesem Wege erzielten Ausbeuten sind recht gering.

Es hat sich nun gezeigt, dass man in 16,17-ungesättigte Verbindungen vom Typus (IV) durch Behandeln mit Brom-succinimid in guter Ausbeute eine zweite Doppelbindung in Stellung 14,15 einführen kann[4]). Diese im Ringe D zweifach ungesättigten Stereoide, deren Kohlenstoffatom 20 in Form einer Carbonyl- oder Carboxyl-Gruppe vorliegt, bilden ein geeignetes Ausgangsmaterial für die Synthese von 14,15-Oxido-Verbindungen.

Wir haben die Verhältnisse am Beispiel des Δ^{16}-3β-Acetoxy-allo-ätiocholensäure-methylesters (IVa) etwas näher untersucht. Als Ausgangsmaterial diente das 3β-Acetoxy-17-keto-androstan (I), welches wir nach der Vorschrift von *Wenner* und *Reichstein*[5]) aus *t*-Dehydro-androsteron-acetat bereiteten. Das Cyanhydrin (II) dieses Ketons wurde in der üblichen Weise hergestellt und als Acetat (IIa)[6])

---

[1]) 128. Mitt. Helv. **29**, 727 (1946).

[2]) Über derartige Umsetzungen mit 11,12-, bzw. 5,6-Oxyden, vgl. *G. H. Ott* und *T. Reichstein*, Helv. **26**, 1799 (1943), bzw. *L. Ruzicka* und *A. C. Muhr*, Helv. **27**, 503 (1944) und *Pl. A. Plattner, Th. Petrzilka* und *W. Lang*, Helv. **27**, 513 (1944).

[3]) *Pl. A. Plattner, L. Ruzicka* und *S. Holtermann*, Helv. **28**, 1660 (1945).

[4]) Vgl. *Pl. A. Plattner* und *H. Heusser*, Helv. **29**, 727 (1946).

[5]) *V. Wenner* und *T. Reichstein*, Helv. **27**, 24 (1944).

[6]) *S. Kuwada* und *M. Miyasaka*, J. Pharm. Soc. Jap. **58**, 115 (1938); nach C. **1939**, I. 1372.

charakterisiert, im übrigen jedoch als Rohprodukt durch Wasserabspaltung mit Pyridin-Phosphoroxychlorid zum ungesättigten Nitril (V) umgesetzt. Die analoge Reaktionsfolge ist von *Butenandt* und *Schmidt-Thomé*[1]) mit den entsprechenden 5,6-ungesättigten Derivaten durchgeführt worden. Die Verseifung des Nitrils (V) mit Natriumhydroxyd in Äthanol-Wasser im Autoklaven bei 180° führte in 52-proz. Ausbeute[2]) zur Δ^{16}-3β-Oxy-allo-ätiocholensäure. Das Acetat (IV) dieser Säure wurde bei 0° mit Diazomethan vorsichtig verestert. Die schon wiederholt beobachtete gesteigerte Reaktionsfähigkeit der 16,17-Doppelbindung gegenüber Diazomethan[2])[3]) offenbarte sich auch hier durch die Bildung geringer Mengen (ca. 2,5%) des Pyrazolin-Derivates (VIII).

Der Δ^{16}-Ester (IVa) lieferte bei der Umsetzung mit Bromsuccinimid und nachträglicher Abspaltung von Bromwasserstoff aus dem nicht isolierten 15-Brom-Derivat den zweifach ungesättigten Ätiosäure-methylester (III)[4]). Mit der Einführung der zweiten Doppelbindung in den Ring D tritt neben der charakteristischen U.V.-Absorptionsbande bei 292 mμ (log ε = 4,2) auch die schon früher beobachtete typische Verschiebung des spezifischen Drehungsvermögens[4]) um mehrere hundert Grade auf.

Der Methylester (III) reagierte nur mit einer Molekel Benzopersäure unter Bildung des Δ^{16}-3β-Acetoxy-14,15-oxido-allo-ätiocholensäure-methylesters (VI). Das U.V.-Absorptionsspektrum dieser Verbindung besitzt ein Maximum bei 233 mμ (log ε = 3,86) und entspricht demnach weitgehend demjenigen der Verbindungen vom Typus (IV)[5]). Doppelbindungen in Stellung 16,17, die sich gleichzeitig in Konjugation zu einer Carboxyl- oder Carbonyl-Gruppe befinden, lassen sich unter sehr milden Bedingungen katalytisch hydrieren[6]). Entsprechend konnte auch aus dem ungesättigten Oxido-ester (VI) durch Behandlung mit Wasserstoff in Gegenwart eines Palladium-Calciumcarbonat-Katalysators der gesättigte Oxido-ester (VII) in einheitlicher Reaktion erhalten werden. Das primäre Ziel dieser Arbeit, die Herstellung von 14,15-Oxido-Verbindungen der Steroid-Reihe auf einem neuen Wege war somit erreicht. Eine eingehendere Untersuchung über die sterischen Zusammenhänge

---

[1]) *A. Butenandt* und *J. Schmidt-Thomé*, B. **72**, 182 (1939); **71**, 1487 (1938).

[2]) Vgl. *L. Ruzicka, E. Hardegger* und *C. Kauter*, Helv. **27**, 1166 (1944).

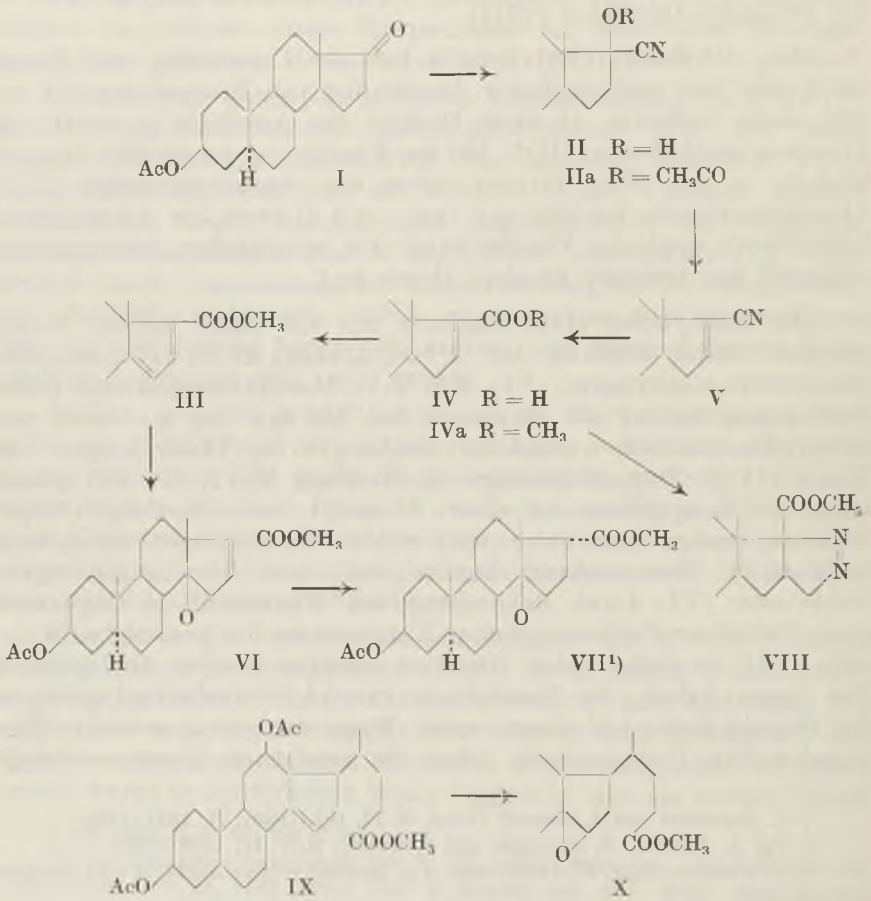
[3]) *A. Wettstein*, Helv. **27**, 1803 (1944). Vgl. daselbst weitere Literatur über ähnliche Anlagerungen.

[4]) Vgl. *Pl. A. Plattner* und *H. Heusser*, Helv. **29**, 727 (1946).

[5]) Die $\Delta^{5,16}$-3β-Oxy-ätiocholadiensäure zeigt ein Maximum bei 230 mμ (log ε = 4,1), *L. Ruzicka, E. Hardegger* und *C. Kauter*, Helv. **27**, 1164 (1944).

[6]) Vgl. z. B. *A. Butenandt* und *J. Schmidt-Thomé*, B. **71**, 1487 (1938); **72**, 182 (1939); *L. Ruzicka, E. Hardegger* und *C. Kauter*, Helv. **27**, 1164 (1944); *R. E. Marker* und Mitarbeiter, Am. Soc. **62**, 518, 898, 3350 (1940); *A. Wettstein*, Helv. **27**, 1803 (1944).

zeigt allerdings, dass im Oxido-ester (VII) nicht ein Derivat der Allo-ätiocholansäure, sondern ein solches der 17-Iso-allo-ätiocholansäure vorliegt, d. h. das Carboxyl am C-Atom 17 besitzt nicht die gleiche Lage, die sonst der Seitenkette der natürlichen Sterine und damit auch den Produkten des oxydativen Abbaus derselben, wie z. B. dem Pregnenolon und der Δ^5-3 β-Oxy-ätiocholensäure zukommt. Auch die Lage der Oxido-Brücke in β-Stellung, wie sie in den Verbindungen (VI) und (VII) formuliert ist, liess sich auf Grund der weiteren Umsetzungen ziemlich sicher beweisen. Darüber wird in der folgenden Abhandlung berichtet.



Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *CIBA Aktiengesellschaft* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

---

[1]) Zur verwendeten Projektionsformel vgl. Helv. **29**, 942 (1946).

Experimenteller Teil[1]).

3β,17-Diacetoxy-allo-ätiocholansäure-nitril (IIa).

5 g 3β-Acetoxy-17-keto-androstan (I) wurden in 125 cm³ Äthanol gelöst und mit 30 g fein pulverisiertem Kaliumcyanid versetzt. Nach Abkühlen auf 0° wurden 32 cm³ Eisessig zugegeben und dann das Gemisch unter öfterem Umschwenken 1 Stunde bei 0° und 2 Stunden bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nun wurde mit 400 cm³ Wasser versetzt, das ausgeflockte Cyanhydrin auf einer grossen Nutsche abgenutscht und mit Wasser gewaschen. Das Rohprodukt wurde in Essigester aufgenommen, die Essigesterlösung dreimal mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und der Essigester abdestilliert. Ausbeute 5,2 g rohes Oxynitril (II); Zersp. 137°.

Zur Charakterisierung des Oxy-nitrils wurde aus einer Probe durch Behandeln mit Essigsäure-anhydrid-Pyridin in der Kälte das stabile Diacetat hergestellt, das zur Analyse dreimal aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 75° während 20 Stunden über Phosphorpentoxyd getrocknet wurde.

$[\alpha]_D^{22} = -36{,}2^0$ (c = 1,382 in Chloroform)

3,760 mg Subst. gaben 9,887 mg CO_2 und 2,926 mg H_2O

$C_{24}H_{35}O_4N$	Ber.	C 71,79	H 8,79%
	Gef.	„ 71,76	„ 8,71%

Δ16-3β-Acetoxy-allo-ätiocholensäure-nitril (V).

10,4 g rohes Cyanhydrin (II) wurden in 50 cm³ absolutem Pyridin gelöst und mit 4 cm³ Phosphoroxychlorid im Einschlussrohr 1½ Stunden auf 150—155° erhitzt. Das dunkelbraune Reaktionsprodukt wurde in ein Gemisch von 200 cm³ konz. Salzsäure und Eis gegossen und mit viel Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wurde mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen und nach Zusatz von Tierkohle mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Filtrieren durch wenig Aluminiumoxyd wurde die schwach gelbe Lösung stark eingeengt, worauf das Nitril auskrystallisierte. Es wurde nochmals aus Äther umkrystallisiert und schmolz dann bei 159—161°. Ausbeute 7,5 g (= 73%, bezogen auf 3β-Acetoxy-17-keto-androstan). Weiteres Umkrystallisieren änderte den Schmelzpunkt nicht mehr; das Produkt wurde 12 Stunden bei 80° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

$[\alpha]_D^{18} = +19{,}0^0$ (c = 1,107 in Chloroform)

3,770 mg Subst. gaben 10,655 mg CO_2 und 3,102 mg H_2O

$C_{22}H_{31}O_2N$	Ber.	C 77,38	H 9,15%
	Gef.	„ 77,13	„ 9,20%

Δ16-3β-Acetoxy-allo-ätiocholensäure-methylester (IVa).

22 g des ungesättigten Nitrils (V) wurden mit 580 cm³ Äthanol, 300 cm³ Wasser und 110 g Natriumhydroxyd im Autoklaven 5 Stunden auf 180—184° erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde dann mit Schwefelsäure angesäuert, die ausgeschiedene rohe Säure abgenutscht, mit Wasser und anschliessend mit wenig Essigester gewaschen. Ungetrocknetes Rohprodukt: 17 g Δ16-3β-Oxy-allo-ätiocholensäure. Das Filtrat wurde mit Essigester extrahiert, aus dem durch Behandlung mit verdünnter Sodalösung weitere 9 g der rohen Säure gewonnen werden konnten.

Der Essigester enthielt noch 1,54 g neutrale Anteile, die nicht weiter untersucht wurden.

---

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

Die rohe Oxy-säure (26 g) wurde bei Zimmertemperatur mit Acetanhydrid-Pyridin acetyliert; die übliche Aufarbeitung lieferte 26,5 g rohe Δ^{16}-3β-Acetoxy-allo-ätiocholensäure (IV). Diese wurde in Methanol gelöst und bei 0° vorsichtig tropfenweise bis zur bleibenden Gelbfärbung mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Nach Verdampfen der Lösungsmittel wurde der Rückstand chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol eluierten Fraktionen ergaben nach einmaligem Umkrystallisieren aus Methanol 12,6 g (= 52%) Methylester (IVa) vom Smp. 192—194°. Zur Analyse wurde noch dreimal aus Methanol umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 90° 20 Stunden über Phosphorpentoxyd getrocknet. Smp. 194—196°.

$[\alpha]_D^{22} = +15{,}6°$ (c = 1,005 in Chloroform)

3,766 mg Subst. gaben 10,176 mg CO_2 und 3,091 mg H_2O

$C_{23}H_{34}O_4$ Ber. C 73,76 H 9,15%
Gef. „ 73,74 „ 9,18%

Pyrazolin-Derivat (VIII). Die Äther- und Essigester-Eluate (2,1 g) des oben beschriebenen Chromatogramms ergaben neben öligen Produkten 500 mg feine Blättchen. Sie wurden dreimal aus Methanol umkrystallisiert; ihre Analysenwerte lassen auf ein Anlagerungsprodukt von Diazomethan an den 16,17-ungesättigten Ester (IVa) schliessen. Smp. 198—200°.

$[\alpha]_D^{18} = +176{,}7°$ (c = 0,967 in Chloroform)

3,694 mg Subst. gaben 9,371 mg CO_2 und 2,948 mg H_2O

$C_{24}H_{36}O_4N_2$ Ber. C 69,20 H 8,71%
Gef. „ 69,23 „ 8,93%

$\Delta^{14;16}$-3β-Acetoxy-allo-ätiocholadiensäure-methylester (III).

3,7 g Δ^{16}-3β-Acetoxy-allo-ätiocholensäure-methylester (IVa) wurden in 80 cm³ Tetrachlorkohlenstoff mit 2 g Brom-succinimid (ber. 1,77 g) unter Belichtung[1]) 10 Minuten am Rückfluss gekocht. Es trat Entwicklung von Bromwasserstoff auf, und die Lösung färbte sich schwach gelb. Nach dem Erkalten wurde das Succinimid abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der ölige Rückstand in 20 cm³ Pyridin 30 Minuten gekocht, wobei nach 20 Minuten 5 cm³ Essigsäure-anhydrid zugesetzt wurden. Die dunkelbraune Lösung wurde in Wasser gegossen, das Gemisch mit Äther extrahiert, die ätherische Lösung mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und mit Kohle entfärbt. Nach dem Verdampfen des Äthers wurde das erstarrte Rohprodukt der fraktionierten Krystallisation aus Methanol unterworfen, wobei neben 750 mg Ausgangsmaterial (IVa) vom Smp. 187—191° 2,33 g $\Delta^{14;16}$-3β-Acetoxy-allo-ätiocholadiensäure-methylester (III) vom Smp. 147—149,5° erhalten wurden (Ausbeute 77%). Zur Analyse wurde das Präparat noch zweimal aus Methanol umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 140° sublimiert. Smp. 148,5—150,5°.

$[\alpha]_D^{22} = +302{,}1°$ (c = 1,175 in Chloroform)

$\lambda_{max} = 292$ mμ; log $\varepsilon = 4{,}2$

3,741 mg Subst. gaben 10,127 mg CO_2 und 2,915 mg H_2O

$C_{23}H_{32}O_4$ Ber. C 74,16 H 8,66%
Gef. „ 73,87 „ 8,72%

---

[1]) Vgl. *Ch. Meystre, L. Ehmann, R. Neher* und *K. Miescher*, Helv. **28**, 1252 (1945). Versuche, bei denen ohne Belichtung bromiert wurde, lieferten im besten Falle eine Ausbeute von 50%.

Δ^{16}-3β-Acetoxy-14,15-oxido-allo-ätiocholensäure-methylester (VI).

2 g (5,36 Millimol) $\Delta^{14;16}$-3β-Acetoxy-allo-ätiocholadiensäure-methylester (III), gelöst in 15 cm³ Chloroform, wurden mit einer Lösung von 9 Millimol Benzopersäure in 20 cm³ Chloroform versetzt und 2 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln sich selbst überlassen. Die Lösung wurde hierauf unter Eiszusatz mit 300 cm³ Äther verdünnt, zweimal mit verdünnter Sodalösung und zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der schwach gelbe, ölige Rückstand wurde in Äther gelöst und über 20 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) filtriert. Das so erhaltene farblose Öl (2,03 g) lieferte aus Methanol umkrystallisiert 1,73 g Prismen vom Smp. 114—116°. Aus der Mutterlauge liessen sich noch 120 mg des gleichen Produktes vom Smp. 113—115° gewinnen. Zweimal aus Methanol umkrystallisiert schmolz die Substanz bei 115—117°; sie wurde 80 Stunden bei 55° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

$$[\alpha]_D^{23} = +47{,}8^0 \text{ (c = 1,039 in Chloroform)}$$

$$\lambda_{max} = 233 \text{ m}\mu;\ \log \varepsilon = 3{,}86$$

3,700 mg Subst. gaben 9,611 mg CO_2 und 2,765 mg H_2O

$C_{23}H_{32}O_5$	Ber. C 71,10	H 8,30%
	Gef. „ 70,89	„ 8,36%

3β-Acetoxy-14,15-oxido-17-iso-allo-ätiocholansäure-methylester (VII) durch Hydrierung von Δ^{16}-3β-Acetoxy-14,15-oxido-allo-ätiocholensäure-methylester (VI) mit Palladium-Calciumcarbonat.

115 mg Δ^{16}-3β-Acetoxy-14,15-oxido-allo-ätiocholensäure-methylester (VI) wurden in 20 cm³ Feinsprit mit 140 mg vorhydriertem Palladium-Calciumcarbonat-Katalysator unter Wasserstoff geschüttelt. Nach 15 Minuten war 1 Mol Wasserstoff verbraucht; die Aufnahme ging in stark verlangsamtem Tempo weiter und die Hydrierung wurde deshalb nach Verbrauch von 8,6 cm³ Wasserstoff (1,1 Mol) unterbrochen. Der Katalysator wurde über wenig Celite abfiltriert und das Filtrat zur Trockne verdampft. Der Rückstand (115 mg) wurde 8-mal aus Äther-Petroläther umkrystallisiert, und es wurden dabei schöne, flache Prismen vom Smp. 183—184° erhalten. Sie wurden 15 Stunden bei 70—80° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

$$[\alpha]_D^{14} = +14{,}4^0 \text{ (c = 0,738 in Chloroform)}$$

3,700 mg Subst. gaben 9,607 mg CO_2 und 2,884 mg H_2O

$C_{23}H_{34}O_5$	Ber. C 70,74	H 8,78%
	Gef. „ 70,89	„ 8,72%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

113. Über Steroide und Sexualhormone.

(130. Mitteilung[1])).

Über die Synthese von 14-Oxy-Steroiden

von Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, J. Pataki und Kd. Meier.

(11. V. 46.)

Hydriert man den Δ^{16}-3β-Acetoxy-14,15-oxido-allo-ätiocholensäure-methylester (I), dessen Synthese wir in der vorangehenden Mitteilung[1]) beschrieben haben, mit Platin in Alkohol, so wird ein Gemisch von 4 Verbindungen erhalten, das aus zwei isomeren 3β-Acetoxy-allo-ätiocholansäure-methylestern (III und V) und zwei isomeren 3β-Acetoxy-14-oxy-allo-ätiocholansäure-methylestern (IV und VI) besteht.

Das erste Isomeren-Paar konnten wir in den „normalen" 3β-Acetoxy-allo-ätiocholansäure-methylester (III)[2]) und ein Isomeres (V) auftrennen, das sich, wie wir später zeigen werden[3]), von der normalen Verbindung durch die sterische Anordnung an den C-Atomen 17 und 14 unterscheidet[4]).

Das zweite Paar von Isomeren, das sich vom ersten durch eine zusätzliche Hydroxyl-Gruppe unterscheidet, wurde weder von Chromtrioxyd in Eisessig noch von Acetanhydrid-Pyridin verändert. Die zusätzliche Oxy-Gruppe in diesen beiden Estern ist somit tertiärer Natur. Auf Grund der Entstehungsweise dieser beiden Körper aus dem Oxyd (I) kommt als Haftstelle für dieses tertiäre Hydroxyl nur das Kohlenstoffatom 14 in Frage. Damit ist erstmals in einer präparativ genügend ergiebigen und eindeutigen Reaktion die künstliche Einführung einer Hydroxyl-Gruppe in die Stellung 14 eines Steroids gelungen.

Grundsätzlich sind vier isomere 14-Oxy-17-carbonsäuren der untersuchten Reihe möglich. Um vorerst die sterischen Verhältnisse der neuen Oxy-Verbindungen am C-Atom 17 abzuklären, haben wir aus den beiden 14-Oxy-ätiosäure-methylestern (IV) und (VI) durch Wasserabspaltung[5]) das Asymmetriezentrum 14 eliminiert. Es entstanden dabei zwei isomere ungesättigte Ätiosäure-methylester (VII und IX), deren Doppelbindungen sich als leicht hydrierbar erwiesen.

---

[1]) 129. Mitt. Helv. **29**, 936 (1946).

[2]) Vgl. z. B. *L. Ruzicka, E. Hardegger* und *C. Kauter*, Helv. **27**, 1164 (1944).

[3]) Vgl. dazu Helv. **29**, 949 (1946).

[4]) Die verwendete Schreibweise der Formeln in bezug auf Stellung 17 wird weiter unten begründet.

[5]) Für diesen Zweck hat sich die von *F. Hunziker* und *T. Reichstein*, Helv. **28**, 1472 (1945) am Digitoxigenin-acetat angewandte Methode bewährt.

Aus Analogiegründen[1]) muss demnach angenommen werden, dass die Doppelbindung in beiden Isomeren zwischen den Kohlenstoff-Atomen 14 und 15 liegt. Die beiden Ester unterscheiden sich somit voneinander nur durch die verschiedene sterische Lage der Carboxyl-Gruppe am Kohlenstoff-Atom 17. Die Richtigkeit dieser Annahme wurde durch Elimination des Asymmetriezentrums 17, d. h. durch Einführung einer zweiten Doppelbindung in 16,17-Stellung bewiesen. Beide Ester lieferten bei der Reaktion mit N-Brom-succinimid das gleiche Reaktionsprodukt, den $\Delta^{14;16}$-3β-Acetoxy-allo-ätiocholadiensäure-methylester (VIII)[2]).

Die Hydrierung des einen (VII) der beiden isomeren Δ^{14}-Ester lieferte den bekannten 3β-Acetoxy-allo-ätiocholansäure-methylester (III). Der Verbindung (VII) und dem entsprechenden Oxy-ester (IV) kommt demnach in Bezug auf das C-Atom 17 die normale Konfiguration zu. Erwartungsgemäss entstand aus dem zweiten Δ^{14}-Ester (IX) eine andere gesättigte Verbindung. Sie erwies sich als identisch mit dem Methylester des bis jetzt unbekannten Isomeren der 3β-Acetoxy-allo-ätio-cholansäure (V), der bereits oben als Produkt der Hydrierung von (I) erwähnt ist. Da für (IX) die Konfiguration am C-Atom 17 (als 17-Iso-Stellung) durch den Vergleich mit (VII) bewiesen ist, so müssen auch (VI) und (V) diese Lage des Carboxyls besitzen. Dass (V) sich von (III) noch zusätzlich durch eine verschiedene Verknüpfung der Ringe C und D (Isomerie am C-Atom 14) unterscheidet, ist bereits erwähnt worden und wird in der folgenden Arbeit dieser Reihe[3]) belegt.

Wir bezeichnen im weiteren die Verbindung (V) als 3β-Acetoxy-17-iso-5,14-dialloätiocholansäure-methylester. Die Verwendung des Präfixes „allo" zur Bezeichnung einer vom „Normalen" abweichenden Ringverknüpfung ist für die Ringe A und B (C-Atom 5) schon lange gebräuchlich. Einer Ausdehnung dieser Nomenklatur auf andere Ringverknüpfungsstellen unter Beifügung der Nummer des massgebenden C-Atoms stehen unserer Meinung nach keine Bedenken entgegen. Diese Verallgemeinerung verlangt lediglich, dass in Zweifelsfällen auch die bisher üblichen Bezeichnungen wie Allo-cholan und Allo-pregnan zu 5-Allo-cholan bzw. -pregnan ergänzt werden, wie es oben geschehen ist.

Die Beeinflussung des sterischen Verlaufs der Hydrierung der Δ^{14}-Doppelbindung beim Übergang von (IX) in (V) durch die Lage des Carboxyls ist bemerkenswert. Bis jetzt ist bei Hydrierungen solcher Doppelbindungen stets die vorzugsweise Bildung der normalen Konfiguration (entsprechend der Hydrierung VII $\rightarrow$ III) beobachtet worden. Auffallend ist auch, dass bei der partiellen Hydrierung von (I)[4]) ausschliesslich die 17-Iso-Konfiguration des

[1]) Aus 14-Oxy-Steroiden, die in der Natur durch die herzwirksamen Glykoside und Krötengifte vertreten sind, kann Wasser je nach den Reaktionsbedingungen in zwei Richtungen unter Bildung einer 14,15- oder 8,14-Doppelbindung abgespalten werden. Die 8,14-Doppelbindung, die auch in α-Ergosterin, in α-Cholestenol sowie in der Apocholsäure anzutreffen ist, erweist sich unter gebräuchlichen Bedingungen als nicht hydrierbar. Die 14,15-Doppelbindung lagert jedoch leicht Wasserstoff an.

[2]) Helv. **29**, 936 (1946). [3]) Helv. **29**, 949 (1946). [4]) Helv. **29**, 936 (1946).

Carboxyls ausgebildet wird. Dies lässt sich dadurch nachweisen, dass aus (II) bei weiterer Hydrierung nur 14-Oxy-17-iso-ester (VI) entsteht, der in dieser Weise aus (I) leicht in einheitlicher Form erhalten werden kann. Offenbar liegt hier ein ausschlaggebender Einfluss des Oxyd-Sauerstoffs bzw. der Ringverknüpfung vor, während sonst bei Hydrierungen von 16,17-Doppelbindung stets die Bildung von Hydrierungsprodukten mit normaler Konfiguration an C 17 beobachtet wurde.

In den Formeln (III) und (IV) bzw. (V) und (VI) ist die Stellung des Carboxyls an C 17 in einer Weise markiert, die von der von *Reichstein*[1]) vorgeschlagenen und auch von uns gelegentlich benutzten abweicht. Die neue Schreibweise beruht auf der Annahme, dass sich in den normalen, natürlichen Verbindungen die Seitenkette in β-Stellung (in der Projektion oberhalb der Tafelebene) befinde, während für die 17-Iso-Verbindungen das Umgekehrte gelten muss[2]). Wir möchten diese Annahme folgendermassen stützen. Experimentell haben wir festgestellt, dass die doppelt ungesättigte Säure (VIII) bei der Hydrierung ein Gemisch der Verbindungen (III) und (V) gibt. Nimmt man an, dass in beiden Fällen cis-Addition des Wasserstoffs stattfindet, so ergibt sich für (III), da die Stellung des Wasserstoffs an C 14 in trans zur Methyl-Gruppe (C 19) feststeht[3]), auch für den Wasserstoff an C 17 trans-Stellung zum Methyl, für die Carboxyl-Gruppe also cis-Stellung zum Methyl bzw. β-Stellung in Bezug auf die Projektionsebene. Für (V) gelangt man entsprechend zur Annahme der 17α-Stellung des Carboxyls. Diese Deutung wird auch durch andere Beobachtungen gestützt, über die später berichtet werden soll.

Nachdem demgemäss die Konfiguration der Verbindungen (III) und (V) vollständig und diejenige von (IV) und (VI) wenigstens in Bezug auf die Carboxyl-Gruppe festgelegt ist, ist bei (IV) und (VI) noch die Lage der Oxy-Gruppen an C 14 zu diskutieren. Auf Grund der Entstehungsweise aus dem gleichen Oxyd (I) darf man annehmen, dass die Oxy-Gruppen von (IV) und (VI) identische sterische Lage besitzen. Bei den beiden Verbindungen zeigt sich aber ein deutlicher Unterschied in der Reaktionsfähigkeit der 14-Oxy-Gruppe, z. B. bei der Wasserabspaltung, der wohl nur auf Grund der sterischen Beeinflussung durch die Carboxyl-Gruppe verständlich wird. Das

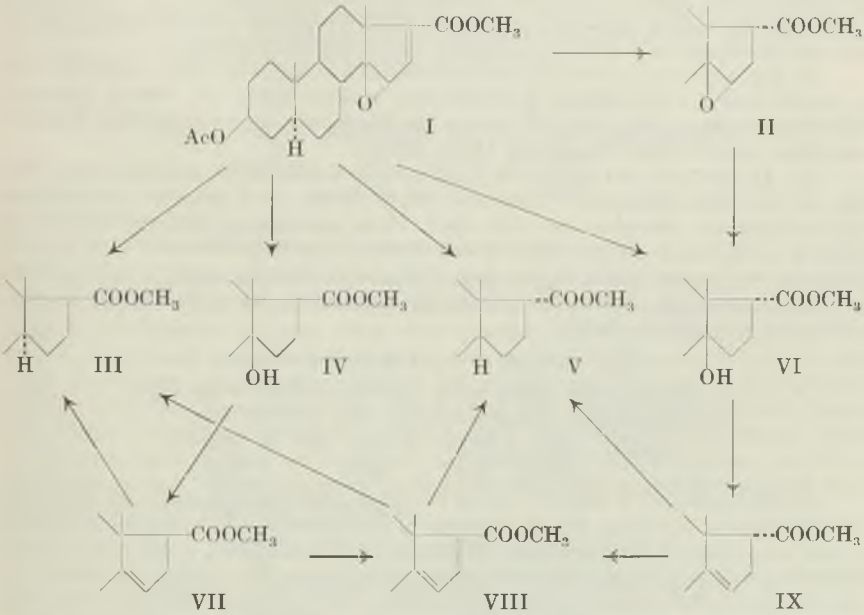
---

[1]) Vgl. *M. Sorkin* und *T. Reichstein*, Helv. **27**, 1631 (1944).

[2]) Diese Konfiguration lässt sich mit unseren Befunden besser vereinbaren, als die früher übliche. Sie wird, wie aus einer eben erschienenen Arbeit hervorgeht, auch von *T. F. Galagher* und *W. P. Long* (J. Biol. Chem. **162**, 507 (1946)) bevorzugt und ist von diesen Autoren gut begründet worden. Nach einer mündlichen Mitteilung ist auch *T. Reichstein* zu der Schlussfolgerung gelangt, dass die früher für die 17-Carbonsäuren vorgeschlagenen Konfigurationen umzukehren sind.

[3]) *H. Wieland* und *E. Dane*, Z. physiol. Ch. **216**, 91 (1933).

reaktionsfähigere Hydroxyl besitzt diejenige Oxy-Verbindung (VI), für welche die Iso-Stellung (α) des Carboxyls feststeht. Für deren Oxy-Gruppe nehmen wir deshalb auf Grund von Modellbetrachtungen trans-Stellung zum Carboxyl an. Für (I), (II), (IV) und (VI) ergibt sich dann die durch die Schreibweise angedeutete Lage der Oxy- bzw. Oxido-Gruppen über der Projektionsebene. Die natürlichen Aglykone, für welche normale Lage der Butenolid-Gruppe und cis-Stellung des Hydroxyls zur letzteren auf Grund ihrer Umsetzungen abgeleitet werden kann, entsprechen demnach dem Typus der Verbindung (IV).



Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *CIBA Aktiengesellschaft* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[1]).

Hydrierung des Δ^{16}-3β-14,15β-oxido-5,14-diallo-ätiocholensäure-methylesters (I).

a) 3β-Acetoxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (V)[2]). 6,05 g Δ^{16}-3β-Acetoxy-14,15β-oxido-5,14-diallo-ätiocholensäure-methylester (I) wurden in 350 cm³ Feinsprit gelöst und mit 180 mg vorhydriertem Platinoxyd bis zum Stillstand der Wasserstoffaufnahme hydriert. Verbraucht wurden 900 cm³ Wasserstoff (ber. für 2 Mol 700 cm³). Nach dem Abfiltrieren des Platins und Verdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand über 150 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) chromatographiert.

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.
[2]) Zur Nomenklatur vgl. den theoretischen Teil.

Frakt. Nr.	Lösungsmittel	cm³	Eluat in mg	Smp. Hauptprodukt
1—3	Petroläther-Benzol 2:1	900	2100	100—110° (III + V)
4—8	do. 1:1	1400	1540	165—188° (IV)
9—16	Benzol 1	2650	2035	143—146° (VI)
17—18	Äther 1	1300	345	143—146° (VI)

Die mit Petroläther-Benzol (2:1) eluierten Anteile (2100 mg, Frakt. 1—3) schmolzen nach einmaligem Umkrystallisieren aus Methanol bei 120—135°. Durch weiteres fraktioniertes Umkrystallisieren wurden 320 mg feine Nadeln vom Smp. 130,5—132° erhalten. Es liegt der reine Ester (V) vor. Die Mischprobe mit einem weiter unten beschriebenen, auf einem andern Weg hergestellten Produkt zeigte den gleichen Schmelzpunkt, dagegen gab eine Mischprobe mit (III) eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung.

b) 3β-Acetoxy-5-allo-ätiocholansäure-methylester (III). Aus der unter a) beschriebenen fraktionierten Krystallisation wurden neben (V) 330 mg glänzende Blättchen vom Smp. 151—152° (III) isoliert. Die Mischprobe mit authentischem Material[1]) vom Smp. 148,5—150,5° schmolz bei 150,5—151,5°.

c) 3β-Acetoxy-14-oxy-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (IV). Die mit Petroläther-Benzol (1:1) eluierten Anteile (Frakt. 4—8) des oben beschriebenen Chromatogramms schmolzen bei 165—188°. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus wässerigem Methanol wurden 1,25 g feinste Nadeln vom Smp. 201—204° erhalten. Behandlung mit Acetanhydrid-Pyridin bzw. Chromsäure-Eisessig ergab in beiden Fällen nur Ausgangsmaterial. Zur Analyse wurde das Präparat im Hochvakuum bei 170—180° sublimiert. Smp. 204,5—205,5°.

$[\alpha]_D^{23} = +17{,}6°$ (c = 1,173 in Chloroform)

3,720 mg Subst. gaben 9,579 mg CO_2 und 3,076 mg H_2O
8,608 mg Subst. gaben 0,523 cm³ CH_4 (0°, 760 mm)

$C_{23}H_{36}O_5$ Ber. C 70,37 H 9,25 akt. H. 0,26%
Gef. „ 70,27 „ 9,25 „ „ 0,27%

d) 3β-Acetoxy-14-oxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (VI). Die Benzol- und Äther-Eluate des unter a) beschriebenen Chromatogramms (Frakt. 9—18) wurden aus Äther-Petroläther fraktioniert umkrystallisiert, wobei neben 125 mg 3β-Acetoxy-14-oxy-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (IV) 2,05 g 3β-Acetoxy-14-oxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (VI) in feinen Blättchen vom Smp. 148—149,5° isoliert werden konnten. Zur Analyse wurde eine Probe nochmals aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und 16 Stunden bei 85° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Smp. 148,5—150°.

$[\alpha]_D^{22;23} = -27{,}6°;\ -26{,}3°$ (c = 1,269; 1,181 in Chloroform)

3,754 mg Subst. gaben 9,657 mg CO_2 und 3,076 mg H_2O

$C_{23}H_{36}O_5$ Ber. C 70,37 H 9,25%
Gef. „ 70,20 „ 9,17%

Das Produkt verändert sich nicht bei Behandlung mit Pyridin-Acetanhydrid bzw. Chromsäure in Eisessig.

3β-Acetoxy-14-oxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (VI) aus 3β-Acetoxy-14,15β-oxido-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (II)[2]).

80 mg des Oxido-esters (II) wurden in 8 cm³ Feinsprit mit 4 mg Platinoxyd bis zum Stillstand der Wasserstoffaufnahme hydriert. Nach üblichem Aufarbeiten und Umkry-

[1]) Vgl. *L. Ruzicka, E. Hardegger* und *C. Kauter*. Helv. **27**, 1164 (1944).
[2]) Vgl. Helv. **29**, 936 (1946).

stallisieren des Rohproduktes aus Äther-Petroläther wurden 70 mg der Verbindung (VI) isoliert. Die Substanz ist mit dem eben beschriebenen Ester (VI) identisch.

3β,14-Dioxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure durch Verseifung des Methylesters (VI).

300 mg 3β-Acetoxy-14-oxy-17-iso-ester (VI) vom Smp. 149—150° wurden mit 6 cm³ 5-proz. äthanolischer Kalilauge 5 Stunden am Rückfluss gekocht. Dann wurde die mit Wasser stark verdünnte Lösung zur Entfernung neutraler Anteile mit Äther extrahiert und die wässerig-alkoholische Schicht mit Salzsäure angesäuert. Die ausgeschiedenen feinen Nadeln wurden abfiltriert, mit Wasser und wenig Essigester gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 240 mg vom Smp. 299—302° (u. Zers.). Mit Tetranitromethan gab die Substanz keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde das Produkt zweimal aus Methanol umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 245° sublimiert. Smp. 300—303° (u. Zers.). Die Säure ist in Essigester und Aceton sehr schwer löslich.

$$[\alpha]_D^{20} = -21{,}1^0 \text{ (c = 0,615 in Pyridin)}$$

3,758 mg Subst. gaben 9,821 mg CO_2 und 3,222 mg H_2O

$C_{20}H_{32}O_4$	Ber.	C 71,39	H 9,59%
	Gef.	„ 71,31	„ 9,59%

Δ¹⁴-3β-Oxy-17-iso-5-allo-ätiocholensäure.

500 mg 3β,14-Dioxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure vom Smp. 303° wurden in 50 cm³ reinem Dioxan gelöst und nach Zusatz von 50 cm³ 10-proz. Schwefelsäure 90 Minuten am Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten wurde die Lösung mit 100 cm³ Wasser versetzt und im Vakuum auf ca. 50 cm³ eingedampft. Das ausgeflockte Produkt wurde abgenutscht, mit Wasser gewaschen und zweimal aus Essigester umkrystallisiert. Ausbeute: 210 mg vom Smp. 195,5—196,5°. Aus den Mutterlaugen wurden weitere 40 mg etwas weniger reines Produkt vom Smp. 192,5—194,5° isoliert. Zur Analyse wurde das Präparat noch zweimal aus Essigester umkrystallisiert und 24 Stunden bei 85° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Mit Tetranitromethan gab die Oxysäure (vgl. IX) eine deutliche Gelbfärbung.

$$[\alpha]_D^{18} = +119{,}2^0 \text{ (c = 0,960 in Chloroform)}$$

3,640 mg Subst. gaben 10,034 mg CO_2 und 3,032 mg H_2O

$C_{20}H_{30}O_3$	Ber.	C 75,43	H 9,50%
	Gef.	„ 75,23	„ 9,32%

Δ¹⁴-3β-Acetoxy-17-iso-5-allo-ätiocholensäure-methylester (IX).

225 mg der eben beschriebenen Δ¹⁴-3β-Oxy-17-iso-5-allo-ätiocholensäure vom Smp. 195,5—196,5° wurden in wenig Methanol gelöst, mit ätherischer Diazomethan-Lösung verestert und anschliessend mit Essigsäure-anhydrid-Pyridin acetyliert. Die im Vakuum eingedampfte Lösung hinterliess ein schwach gelbes Öl, das beim Bespritzen mit Methanol krystallisierte. Das Produkt ergab nach Umkrystallisieren aus Methanol 220 mg glänzende Blättchen vom Smp. 115—117°. Mit Tetranitromethan färbt sich die Substanz stark gelb. 60 mg wurden noch zweimal aus Methanol umkrystallisiert und zur Analyse 72 Stunden im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Smp. 115,5—117°.

$$[\alpha]_D^{18} = +74{,}7^0 \text{ (c = 0,8303 in Chloroform)}$$

$$[\alpha]_D^{18} = +84{,}6^0 \text{ (c = 0,631 in Feinsprit)}$$

3,638 mg Subst. gaben 9,809 mg CO_2 und 2,997 mg H_2O

$C_{23}H_{34}O_4$	Ber.	C 73,76	H 9,15%
	Gef.	„ 73,58	„ 9,22%

3β-Acetoxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (V) durch Hydrierung von Δ^{14}-3β-Acetoxy-17-iso-5-allo-ätiocholensäure-methylester (IX).

170 mg des ungesättigten Esters (IX) vom Smp. 115—117° wurden in 4 cm³ Eisessig mit 70 mg vorhydriertem Platinoxyd unter Wasserstoff geschüttelt. Aufnahme: 10,9 cm³ Wasserstoff (ber. 10,2 cm³). Nach üblichem Aufarbeiten wurde das Rohprodukt (170 mg) aus Methanol umkrystallisiert. Smp. 128—130,5°. Zur Analyse wurde das Präparat noch zweimal aus Methanol umkrystallisiert und 48 Stunden bei 75° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Smp. 130,5—132°.

$[\alpha]_D^{14} = +24{,}1^0$ (c = 1,049 in Chloroform)

3,597 mg Subst. gaben 9,658 mg CO_2 und 3,097 mg H_2O

$C_{23}H_{36}O_4$ Ber. C 73,36 H 9,64%
Gef. „ 73,27 „ 9,63%

Das Produkt ist identisch mit dem auf S. 945 unter a) beschriebenen Präparat (V).

Δ^{14}-3β-Acetoxy-5-allo-ätiocholensäure-methylester (VII).

335 mg 14-Oxy-ester (IV) vom Smp. 203—204° wurden in 3,5 cm³ absolutem Pyridin gelöst und mit 0,9 cm³ Phosphoroxychlorid 24 Stunden bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Dann wurde die Lösung in ein Gemisch von Eis und 10 cm³ konz. Salzsäure gegossen, mit Äther extrahiert, die ätherische Lösung mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel abgedampft. Der Rückstand krystallisierte aus verdünntem Methanol. Es wurden 265 mg glänzende Nadeln vom Smp. 104—105,5° erhalten, welche sich mit Tetranitromethan deutlich gelb färbten. Zur Analyse wurde das Produkt noch zweimal aus verdünntem Methanol umkrystallisiert und die feinen Nadeln vom konstanten Smp. 114,5—115,5° 30 Stunden bei 75° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Ausbeute: 170 mg; aus den Mutterlaugen konnten noch 45 mg eines weniger reinen Präparats vom Smp. 113,5—115,5° gewonnen werden.

$[\alpha]_D^{14} = +29{,}6^0;\ +30{,}0^0$ (c = 1,028; 1,143 in Chloroform)

3,795 mg Subst. gaben 10,246 mg CO_2 und 3,075 mg H_2O

$C_{23}H_{34}O_4$ Ber. C 73,76 H 9,15%
Gef. „ 73,68 „ 9,07%

3β-Acetoxy-5-allo-ätiocholansäure-methylester (III) durch Hydrierung von Δ^{14}-3β-Acetoxy-5-allo-ätiocholensäure-methylester (VII).

130 mg Δ^{14}-3β-Acetoxy-5-allo-ätiocholensäure-methylester (VII), gelöst in 6 cm³ Eisessig, wurden mit 50 mg vorhydriertem Platinoxyd während 20 Minuten unter Wasserstoff geschüttelt. Aufnahme: 7,8 cm³ Wasserstoff (ber. 8,1 cm³). Nach der üblichen Aufarbeitung wurden 130 mg krystallisiertes Produkt erhalten, das aus Methanol umkrystallisiert 105 mg schöne Blättchen vom Smp. 148,5—149° lieferte. Die Mischprobe mit 3β-Acetoxy-allo-ätiocholansäure-methylester (III) vom Smp. 147—149°, erhalten durch Hydrierung von Δ^5-3β-Acetoxy-ätiocholensäure-methylester, schmolz bei 148,5—149°.

$\Delta^{14;16}$-3β-Acetoxy-5-allo-ätiocholadiensäure-methylester (VIII).

a) aus Δ^{14}-3β-Acetoxy-17-iso-5-allo-ätiocholensäure-methylester (IX). 100 mg Δ^{14}-3β-Acetoxy-17-iso-5-allo-ätiocholensäure-methylester (IX), erhalten in 85-proz. Ausbeute aus dem Oxy-ester (VI) durch Wasserabspaltung mit Phosphoroxychlorid-Pyridin, wurden mit 60 mg N-Brom-succinimid in der üblichen Weise unter Belichtung[1]) umgesetzt und aus dem Bromid, nach dem Entfernen des Succinimids, Bromwasserstoff durch Kochen mit Pyridin abgespalten. Nach der üblichen Aufarbeitung wurden 100 mg eines gelben Öls erhalten, welches über 3 g Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Die mit Petroläther-Benzol (4:1) eluierten Anteile (75 mg) ergaben,

[1]) Vgl. *Ch. Meystre, L. Ehmann, R. Neher* und *K. Miescher*, Helv. **28**, 1252 (1945).

aus Methanol umkrystallisiert, 65 mg doppelt ungesättigten Ester (VIII) vom Smp. 150—151°. Die Mischprobe mit authentischem Material[1]) vom Smp. 147—149,5° schmolz bei 147—151°.

b) aus Δ^{14}-3β-Acetoxy-5-allo-ätiocholensäure-methylester (VII). 65 mg Δ^{14}-3β-Acetoxy-5-allo-ätiocholensäure-methylester (VII), erhalten aus dem Oxy-ester (IV) durch Wasserabspaltung mit Phosphoroxychlorid-Pyridin in 58-proz. Ausbeute[2]) wurden mit 40 mg N-Brom-succinimid unter Belichtung bromiert und dann wie oben aufgearbeitet. Das ölige Rohprodukt wurde über 2,5 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol eluierten, krystallisierten Anteile (55 mg) ergaben aus Methanol umkrystallisiert 45 mg doppelt ungesättigten Ester (VIII) vom Smp. 144—146°. Die Mischprobe mit authentischem Material zeigte den gleichen Schmelzpunkt.

Hydrierung von $\Delta^{14,16}$-3β-Acetoxy-5-allo-ätiocholadiensäure-methylester (VIII).
3β-Acetoxy-5-allo-ätiocholansäure-methylester (III) und 3β-Acetoxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (V).

300 mg des doppelt ungesättigten Esters (VIII) vom Smp. 146—147,5° wurden in 50 cm³ Feinsprit mit 30 mg vorhydriertem Platinoxyd in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Aufnahme: 41,7 cm³, ber. 40,4 cm³. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde das rohe Hydrierungsprodukt chromatographiert, wobei aber keine einheitlichen Fraktionen erhalten wurden. Durch fraktioniertes Umkrystallisieren konnten jedoch aus dem Isomerengemisch isoliert werden:

a) Nadeln vom Smp. 129,5—130°, welche nach Schmelz- und Mischschmelzpunkt als 3β-Acetoxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (V) identifiziert wurden und

b) grobe Platten vom Smp. 151—151,5°, die sich nach Schmelz- und Mischschmelzpunkt als 3β-Acetoxy-5-allo-ätiocholansäure-methylester (III) erwiesen.

Das Gemisch dieser beiden Ester schmolz bei 105—120°.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

---

114. Über Steroide und Sexualhormone.

(131. Mitteilung[3]))

Über 14-Allo-Steroide; 5,14-Diallo-17-iso-ätiocholansäure

von Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, J. Pataki und Kd. Meier.

(11. V. 46.)

Im Laufe von Untersuchungen, die in der vorangehenden Abhandlung[3]) dieser Reihe beschrieben sind, wurde ein neues Isomeres der 3β-Oxy-5-allo-ätiocholansäure (I) (Smp. 252°) erhalten, welches sich von der schon lange bekannten 3β-Oxy-5-allo-ätiocholansäure

[1]) Helv. **29**, 936 (1946).

[2]) Beim Ester (VI) genügt 1-stündiges Erwärmen auf dem Wasserbad zur quantitativen Wasserabspaltung, während beim Ester (IV) mehrere Stunden erwärmt werden musste und die Ausbeute wesentlich geringer war.

[3]) 130. Mitt. Helv. **29**, 942 (1946).

deutlich unterschied, indem beispielsweise die Acetyl-methyl-ester der beiden Säuren verschiedene Schmelzpunkte und verschiedene spez. Drehungen aufwiesen und auch im Gemisch eine klare Schmelzpunktserniedrigung ergaben. Die physikalischen Konstanten der neuen Säure, für welche wir im folgenden die Konstitution einer 3 β-Oxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure[1]) ableiten, sind in der Tabelle A mit denjenigen der bekannten 3 β-Oxy-5-allo-ätiocholansäure verglichen.

Tabelle A.

Derivat	5-Allo-ätiocholansäure		17-Iso-5,14-diallo-ätiocholansäure	
	Smp.	$[\alpha]_D$	Smp.	$[\alpha]_D$
3 β-Oxy-säure	249°		251–252,5	+ 41,2° (Dioxan)
3 β-Acetoxy-methylester.	148,5–150°	+ 36° ($CHCl_3$)	130,5–132,5°	+ 24,1° ($CHCl_3$)

Dass die neue Säure (I)[2]) sich in bezug auf die Konfiguration des an C 17 stehenden Carboxyls von den normalen, d. h. den durch Abbau der Seitenkette der natürlichen Sterine erhältlichen Ätiosäuren unterscheidet, ist auf Grund ihrer Entstehung bei der Hydrierung einer Δ^{14}-17-Iso-ätiosäure bereits in der vorangehenden Mitteilung dieser Reihe bewiesen worden. Unentschieden blieb dagegen die Frage, ob sie nicht noch zusätzlich eine verschiedene Konfiguration am C-Atom 14 besitzt.

Die 17-Iso-ätiosäuren sind infolge ihrer schweren Zugänglichkeit bis jetzt nur wenig untersucht worden. Insbesondere ist die 3 β-Oxy-17-iso-5-allo-ätiocholansäure, mit der unser Präparat möglicherweise hätte identisch sein können, noch unbekannt[3]). Dagegen ist die hydroxyl-freie Verbindung, die 17-Iso-5-allo-ätiocholansäure bzw. deren Methylester (VIa) von *von Euw* und *Reichstein*[4]) beschrieben worden. Diese Autoren weisen darauf hin, dass zwischen den Methylestern der normalen Säuren und denjenigen der 17-Iso-säuren ein grosser Drehungsunterschied besteht. Die Iso-säuren zeigen in Dioxan eine um rund 100° kleinere spez. Drehung (D-Linie). Wie aus Tabelle A ersichtlich, beträgt der Drehungsunterschied bei den Methylestern des von uns verglichenen Säure-Paars nur etwa 12°, so dass anzunehmen war, dass zusätzlich noch an einem zweiten Asymmetriezentrum (C 14) ein Unterschied bestehe.

[1]) Zur Bezeichnung „5-allo", bzw. „5,14-diallo", vgl. Helv. **29**, 942 (1946).

[2]) Zur verwendeten Projektionsformel, vgl. Helv. **29**, 942 (1946.

[3]) Anm. bei der Korrektur: Der Acetoxy-methylester dieser Verbindung ist inzwischen von *Reichstein* hergestellt worden. Wir danken Herrn Prof. *T. Reichstein* für die Überlassung seines Präparates (Smp. 114—115°; $[\alpha]_D$ = – 36,8°, $CHCl_3$). Im Gemisch mit der Verbindung (Ib) tritt eine starke Erniedrigung des Schmelzpunktes ein.

[4]) *J. von Euw* und *T. Reichstein*, Helv. **27**, 1851 (1944).

Um diese Schlussfolgerung sicherzustellen, haben wir die neue Oxy-säure (I) in die hydroxylfreie Verbindung (V) übergeführt. Diese Umwandlung liess sich auf 3 verschiedenen Wegen erzielen. a) Durch thermische Zersetzung des Anthrachinon-β-carbonsäure-Derivates (I c) wurde unter Abspaltung der Oxy-Gruppe aus Stellung 3 der Δ^2-ungesättigte Methylester (II) erhalten, dessen Hydrierung den gesättigten Methylester (V) lieferte. Dieses Verfahren ergab die besten Ausbeuten und die saubersten Produkte. b) Ein zweites Präparat von (V) wurde durch Oxydation der Oxy-säure (I) mit Chromtrioxyd zur Ketosäure (III), Reduktion nach *Clemmensen* und Veresterung mit Diazomethan hergestellt. c) In geringer Ausbeute liess sich (V) auch, nach Ersatz des Hydroxyls in (Ia) durch Brom, durch katalytische Entbromung mit *Raney*-Nickel und Alkali erhalten.

Die Endprodukte aller 3 Umsetzungen waren unter sich identisch, unterscheiden sich aber von dem von *von Euw* und *Reichstein* beschriebenen Methylester (VIa) insbesondere in der spez. Drehung sehr stark (vgl. Tabelle B, b_2 und b_4)[1]. Dieser Unterschied kann nur auf einer Verschiedenheit des Asymmetriezentrums C 14 beruhen, so dass der neuen Säure die Konstitution einer 14-Allo-Verbindung mit cis-Verknüpfung der Ringe C und D zukommen muss.

Derartig gebaute Verbindungen sind verschiedentlich bei Totalsynthesen in der Reihe der weiblichen Sexualhormone erhalten worden, z. B. *d*-Iso-equilenin[2][3], *l*-Iso-equilenin[4] und das Oestron-Isomere von *Dane* und *Schmitt*[4].

Kuno Meyer[5]) beschreibt in einer eben erschienenen Veröffentlichung verschiedene Abbauprodukte des Gitoxigenins. Unter diesen befindet sich auch der $\Delta^{14,16}$-3β-Acetoxy-ätiocholadiensäure-methylester, für dessen Hydrierungsprodukt die vermutliche Konstitution eines 3β-Acetoxy-14-allo-ätiocholansäure-methylesters angegeben wird[6]. Nach unseren Versuchen[7]) muss es sich hier um den 3β-Acetoxy-17-iso-14-allo-ätiocholansäure-methylester handeln. Somit sind auch in dieser Reihe drei der vier möglichen, in 14 und 17 isomeren 3β-Acetoxy-ätiocholansäure-methylester bekannt. In der Tabelle B sind die spez. Drehungen dieser Isomeren (a_1; a_2; a_4) zusammengestellt. Die Drehungsverschiebungen stehen in bester Übereinstimmung mit den in der 5-Allo-ätiocholansäure-Reihe (b_1; b_2; b_4) gefundenen Werten.

---

[1]) Anm. bei der Korrektur: Inzwischen konnte auch eine Mischprobe mit dem *Reichstein*'schen Produkt durchgeführt werden, die eine starke Schmelzpunktserniedrigung gab. Wir danken Herrn Prof. *T. Reichstein* für die Durchführung derselben.

[2]) *H. Hirschmann* und *O. Wintersteiner*, J. Biol. Chem. **126**, 737 (1938).

[3]) *W. E. Bachmann*, *W. Cole* und *A. L. Wilds*, Am. Soc. **62**, 824 (1940).

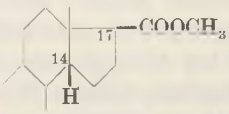
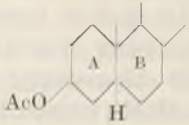
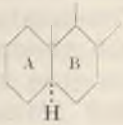
[4]) *E. Dane* und *J. Schmitt*, A. **537**, 246 (1939).

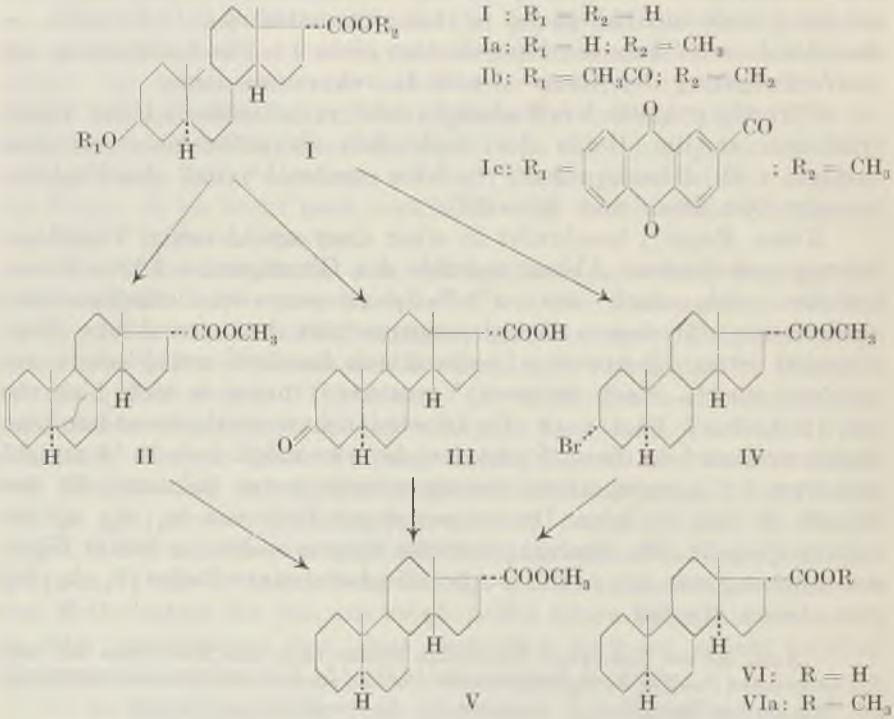
[5]) *Kuno Meyer*, Helv. **29**, 718 (1946).

[6]) *Kuno Meyer* verwendet die Bezeichnung 14-epi an Stelle von 14-allo-. Vgl. S. 950, Anm. 1.

[7]) Vgl. dazu Helv. **29**, 942 (1946).

Tabelle B.

Konfiguration in 17 bzw. 14 		
17 (normal) 14 (normal)	a_1 Smp. 125—126° [1]) +54° (Aceton)[1])	b_1 Smp. 144—145° [3]) +53,3° ($CHCl_3$)[4]) +48,7° (Dioxan)[3])
17 (iso) 14 (normal)	a_2 Smp. 110—112° [2]) −28° ($CHCl_3$)[2])	b_2 Smp. 134—135° [3]) −40,8° (Dioxan)[3])
17 (normal) 14 (allo)	a_3 unbekannt	b_3 unbekannt
17 (iso) 14 (allo)	a_4 Smp. 158,5—159,5° [2]) +31,6° ($CHCl_3$)[2])	b_4 Smp. 130—130,5° [5]) +36,9° ($CHCl_3$)[5]) +25,9° (Dioxan)[5])



Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *CIBA Aktiengesellschaft* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

[1]) *T. Reichstein* und *H. G. Fuchs*, Helv. **23**, 658 (1940).
[2]) *Kuno Meyer*, Helv. **29**, 718 (1946).
[3]) *J. von Euw* und *T. Reichstein*, Helv. **27**, 1851 (1944).
[4]) *Pl. A. Plattner* und *A. Fürst*, Helv. **26**, 2266 (1943).
[5]) Experimenteller Teil dieser Arbeit.

Experimenteller Teil[1]).

Anthrachinon-β-carbonsäure-Derivat (Ic) des 3β-Oxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylesters (Ia).

450 mg des 3β-Acetoxy-esters (Ib)[2]) wurden in 50 cm³ 5-proz. methanolischer Salzsäure gelöst und 17 Stunden bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nach dem Absaugen des Methanols im Vakuum wurde der rohe, schlecht krystallisierte Oxyester (Ia) in 8 cm³ Pyridin gelöst, mit einer heissen Lösung von 450 mg Anthrachinon-β-carbonsäure-chlorid in 10 cm³ Benzol versetzt und 4 Stunden auf dem Dampfbad am Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde dann filtriert, mit Äther verdünnt, die ätherische Lösung mit verdünnter Salzsäure und Sodalösung ausgeschüttelt und von ausgefallenem, schwerlöslichem Natriumsalz der Anthrachinon-β-carbonsäure abfiltriert. Nach dem Waschen der klaren Lösung mit Wasser und Trocknen mit Natriumsulfat wurde der Äther verdampft und der krystallisierte, gelbe Rückstand (740 mg) aus Chloroform-Methanol umkrystallisiert. Es wurden 610 mg eines gelben Produktes vom Smp. 249—252° erhalten. Nach viermaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Methanol schmolz der Ester bei 258,5—259°. Zur Analyse wurde er 20 Stunden im Hochvakuum bei 115° getrocknet.

3,790 mg Subst. gaben 10,485 mg CO_2 und 2,382 mg H_2O

$C_{36}H_{40}O_6$ Ber. C 76,03 H 7,09%
Gef. „ 75,50 „ 7,03%

Δ¹²-17-Iso-5,14-diallo-ätiocholensäure-methylester (II).

590 mg Anthrachinon-β-carbonsäure-ester (Ic) wurden in einem kleinen *Claisen*-Kolben mit Wurstansatz im Wasserstrahlvakuum (12 mm Hg) im CO_2-Strom im Metallbad langsam auf 300° erhitzt und innerhalb 45 Minuten bis auf einen kleinen Rest destilliert. Das Destillat wurde mit wenig Chloroform in einen Scheidetrichter gespült, mit viel Äther versetzt und die Lösung von der fast unlöslichen Anthrachinon-β-carbonsäure abfiltriert. Die Lösung wurde hierauf mit verdünnter Sodalösung durchgeschüttelt, von wenig ausfallendem Natriumsalz der Anthrachinon-β-carbonsäure abfiltriert, mit Wasser gewaschen und nach dem Trocknen eingedampft. Es wurden 370 mg gelbliches, krystallisiertes Rohprodukt erhalten, das über 12 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) chromatographiert wurde.

Die ersten, mit Petroläther-Benzol 4:1 eluierten Fraktionen ergaben 310 mg eines krystallisierten, farblosen Produkts, welches mit Tetranitromethan deutliche Gelbfärbung zeigte. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Methanol wurden 225 mg Blättchen vom Smp. 144—145° erhalten. Zur Analyse wurde das Präparat noch dreimal aus Chloroform-Methanol umkrystallisiert und im Hochvakuum 180 Stunden bei Zimmertemperatur über Phosphorpentoxyd getrocknet. Smp. 144—145°.

$[\alpha]_D = +106°$ (c = 0,352 in Chloroform)

3,653 mg Subst. gaben 10,645 mg CO_2 und 3,343 mg H_2O

$C_{21}H_{32}O_2$ Ber. C 79,70 H 10,19%
Gef. „ 79,52 „ 10,24%

17-Iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (V) durch Hydrierung des ungesättigten Esters (II).

150 mg des ungesättigten Esters (II) wurden in 15 cm³ Eisessig mit 15 mg Platinoxyd bei Zimmertemperatur in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Aufnahme 19 cm³, ber. 16 cm³. Nach üblicher Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Aceton-Methanol ergaben sich 130 mg schöne Blättchen vom Smp. 128,5—129°, die zur Analyse noch einmal

[1]) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.
[2]) Helv. **29**, 942 (1946).

aus Aceton-Methanol und einmal aus Aceton umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 80° 17 Stunden über Phosphorpentoxyd getrocknet wurden. Smp. 130—130,5°.

$[\alpha]_D^{15} = +36{,}9^0$ (c = 0,867 in Chloroform)

$[\alpha]_D^{15} = +25{,}9^0$ (c = 1,449 in Dioxan)

3,707 mg Subst. gaben 10,740 mg CO_2 und 3,527 mg H_2O

$C_{21}H_{34}O_2$ Ber. C 79,19 H 10,76%
Gef. „ 79,07 „ 10,65%

3-Oxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure (I).

450 mg 3β-Acetoxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (Ib) wurden in 10 cm³ 5-proz. äthanolischer Kalilauge 5 Stunden am Rückfluss gekocht. Die Lösung wurde hierauf mit Wasser verdünnt, der Alkohol im Vakuum entfernt, die wässerige Lösung mit Äther extrahiert (Spur Neutralteile) und dann mit Salzsäure angesäuert. Die ausgefallene Säure wurde in Essigester aufgenommen, die Lösung dreimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt (360 mg) wurde aus Methanol umkrystallisiert; die erhaltene Oxysäure (I) (300 mg) schmolz bei 251—252,5°. Zur Analyse wurde sie nochmals aus Methanol umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 200° sublimiert.

$[\alpha]_D = +41{,}2^0$ (c = 1,447 in Dioxan)

3,758 mg Subst. gaben 10,284 mg CO_2 und 3,409 mg H_2O

$C_{20}H_{32}O_3$ Ber. C 74,95 H 10,07%
Gef. „ 74,68 „ 10,15%

3-Keto-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure (III).

330 mg der Oxysäure (I) wurden in 30 cm³ 90-proz. Essigsäure gelöst, mit einer Lösung von 75,6 mg Chromtrioxyd (10% Überschuss) in Eisessig versetzt und 1 Stunde bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Das überschüssige Chromtrioxyd wurde hierauf mit wenig Methanol zerstört, die Lösung in Wasser gegossen, die ausgefallene Säure abgenutscht und mit Wasser gewaschen. Das Rohprodukt (330 mg) wurde aus Aceton-Petroläther umkrystallisiert. Smp. 235—237°. Eine Probe wurde zur Analyse bei 185° im Hochvakuum sublimiert. Smp. 237,5—238,5°.

$[\alpha]_D = +58{,}5$ (c = 0,940 in Dioxan)

3,800 mg Subst. gaben 10,480 mg CO_2 und 3,281 mg H_2O

$C_{20}H_{30}O_3$ Ber. C 75,43 H 9,50%
Gef. „ 75,26 „ 9,66%

17-Iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (V) durch Reduktion der 3-Ketosäure (III) nach *Clemmensen*.

270 mg der Ketosäure (III) (Rohprodukt) wurden mit 2 g amalgamierter Zinkwolle, 3 cm³ konz. Salzsäure, 10 cm³ Toluol und 1 cm³ Eisessig 30 Stunden bei 130—140° am Rückfluss gekocht unter Zugabe von je ½ cm³ konz. Salzsäure nach 3, 14, 17, 21 und 24 Stunden. Die Lösung wurde dann filtriert, in Wasser gegossen, das ausfallende Produkt in Essigester aufgenommen, und die Essigesterlösung dreimal mit verdünnter Sodalösung durchgeschüttelt. Die vereinigten Auszüge ergaben beim Ansäuern keine sauren Bestandteile. Die Essigesterlösung hinterliess nach dem Eindampfen 240 mg Rückstand. Dieser wurde zur Verseifung 6 Stunden in Dioxan-Wasser gekocht, worauf nach der üblichen Aufarbeitung 80 mg saure Bestandteile isoliert werden konnten. Der Rest lieferte auch nach zweistündigem Kochen mit 2-proz., methanolischer Kalilauge keine weiteren sauren Bestandteile. Er wurde deshalb nicht weiter untersucht.

Die 80 mg saure Anteile wurden mit Diazomethan verestert und über 2,5 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) chromatographiert.

Die ersten mit Petroläther-Benzol 4:1 eluierten Fraktionen ergaben 50 mg eines Öles, welches mit Methanol krystallisierte. Smp. 112—117°. Das Produkt wurde bei 80° im Hochvakuum sublimiert. Das Sublimationsprodukt krystallisierte aus Aceton-Methanol-Wasser in rechteckigen Blättchen vom Smp. 127—128°. Die Mischproben mit den über den Anthrachinon-β-carbonsäure-ester (Ic) und über das Bromid (IV) erhaltenen Produkten ergab Identität.

17-Iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (V) hergestellt über das Bromid (IV).

320 mg 3β-Acetoxy-17-iso-5,14-diallo-ätiocholansäure-methylester (Ib) wurden in 20 cm³ 1-proz. methanolischer Kalilauge 24 Stunden bei Zimmertemperatur partiell verseift. Nach Verdünnen mit Wasser wurde das Methanol im Vakuum entfernt, die alkalische Lösung mit Äther extrahiert, die Lösung mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das erhaltene farblose Öl (275 mg) krystallisierte mit Methanol. Es wurde in 10 cm³ absolutem Benzol mit 0.2 cm³ Phosphortribromid 3 Stunden am Rückfluss gekocht, die Lösung im Vakuum zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit Wasser versetzt und in Äther aufgenommen. Die gewaschene und getrocknete Lösung ergab nach dem Eindampfen 310 mg eines öligen Produktes, welches eine stark positive *Beilstein*-Probe zeigte.

Das rohe Bromierungsprodukt (IV) wurde in 30 cm³ Alkohol gelöst und mit *Raney*-Nickel aus 1 g Legierung in Gegenwart von 300 mg Natriumhydroxyd und 2 cm³ Wasser bis zum Stillstand der Wasserstoffaufnahme hydriert. Die Lösung wurde hierauf vom Katalysator abfiltriert, der Alkohol verdampft, die Lösung mit Wasser versetzt, mit verdünnter Salzsäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Nach dem Waschen und Trocknen der Ätherlösung wurde sie eingeengt und mit einigen Tropfen Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Nach dem Eindampfen der Lösung blieben 195 mg öliger Rückstand, der über 6 g Aluminiumoxyd chromatographiert wurde.

Die Petroläther-Fraktionen ergaben zusammen 111 mg farbloses Öl, welches aus Methanol krystallisierte. Das Produkt ergab, zweimal aus Aceton-Methanol umkrystallisiert, 45 mg Blättchen vom Smp. 129—130.5°.

$$[\alpha]_D = +33.3^0 \quad (c = 0.996 \text{ in Chloroform})$$

Die Mischproben mit den Präparaten aus der thermischen Spaltung des Anthrachinon-β-carbonsäure-esters (Ic) und der Reduktion der Ketosäure (III) nach *Clemmensen* ergab Identität.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

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.)

The Chemistry of Cellulose, by *Emil Heuser*, The Institute of Paper Chemistry, New York, *Jon Wiley & Sons*, Inc., *Chapman & Hall*, Ltd., London, IV & 660 pages, second printing, January 1946.

Une théorie simple et rationelle de la valence chimique non électronique, par *P.-H. André Rœthlisberger*, Dr. ès. Sc. Phys., 1946, *Ophrys*, Gap. 36 pages.

Boletim da Escola de Farmácia da Universidade de Coimbra, Vol. 4°, 390 pag., Coimbra 1944, Publicação subsidiada pelo Instituto para a Alta Cultura.

Einfache Experimente zur Einführung in die organische Chemie, von Dr. *Hans Kappeler*, Verlag H. Sauerländer, Aarau, 1946, 117 S., Fr. 5.—.

Errata.

Helv. **29**, 704 (1946), Abhandlung 89 von *P. Karrer*, *E. Jucker* und *E. Schick*, „Synthese der Vitamin-A-Säure und der entsprechenden, den alpha-Jonon-Kohlenstoffring enthaltenden Verbindung“:

Die Namen der Verbindungen VI, VII, XIII und XIV sind in folgender Weise richtigzustellen:

Verbindung VI: 3,7-Dimethyl-3-oxy-9-[1′,1′,3′-trimethyl-c.-hexen-3′-yl-2′]-nonatrien-(4,6,8)-säure-methylester (statt: ....carbonsäure-methylester).

Verbindung VII: 3,7-Dimethyl-9-[1′,1′,3′-trimethyl-c.-hexen-3′-yl-2′]-nonatetraen-(2,4,6,8)-säure-methylester (statt: ....carbonsäure-methylester).

Verbindung XIII: 3,7-Dimethyl-3-oxy-9-[1′,1′,3′-trimethyl-c.-hexen-2′-yl-2′]-nonatrien-(4,6,8)-säure methylester (statt: ...carbonsäure-methylester).

Verbindung XIV: 3,7-Dimethyl-9-[1′,1′,3′-trimethyl-c.-hexen-2′-yl-2′]-nonatetraen-(2,4,6,8)-säure-methylester (statt: ....carbonsäure-methylester.)