115. Ernst Berl (7. VII. 1877 — 16. II. 1946). (13. V. 46.)

Am 16. Februar dieses Jahres ist Prof. Dr. Ernst Berl in Pittsburg, Pa., im Alter von etwas mehr als 68½ Jahren unerwartet an den Folgen einer akuten Halsinfektion gestorben.

Ernst Berl wurde am 7. Juli 1877 als Sohn eines Kaufmanns und Industriellen der Holzbranche in seinem Heimatsort Freudenthal (damals Österreichisch-Schlesien) geboren. Er verlebte seine Jugendjahre in seinem Elternhaus im Kreise seiner Geschwister, die ihm alle im Tode vorangegangen sind. Er hat seinem Elternhaus und seinen Geschwistern eine aufrichtige Anhänglichkeit bewahrt.

Mit 17 Jahren bezog er im Jahre 1894 die Technische Hochschule in Wien und verliess dieselbe 1898 nach Ablegung der erforderlichen Prüfungen als Ingenieur-Chemiker.

Nach Erfüllung seiner militärischen Dienstpflicht bei der schweren Artillerie kam er 1899 zur Fortsetzung seiner Ausbildung an die Universität Zürich, wo er im Laboratorium von Prof. Dr. Alfred Werner arbeitete und im März 1901 promovierte. Er verblieb dann noch weitere drei Semester als Privatassistent bei Prof. Werner.

Im Herbst 1902 wurde er Vorlesungsassistent bei Prof. Dr. Richard Lorenz, dem Vorstand des Laboratoriums für Physikalische Chemie und Elektrochemie am Eidg. Polytechnikum. Bald war er am gleichen Institut auch als Unterrichtsassistent tätig.

Zu Beginn des Sommersemesters 1904 übernahm er die Stelle eines Privatassistenten bei Prof. Dr. Georg Lunge am Technisch-Chemischen Laboratorium des Polytechnikums, wurde später Vorlesungsassistent und 1905 Unterrichtsassistent bis zum Rücktritt von Prof. Lunge im Jahre 1907.

Im Wintersemester 1906 wurde Dr. Berl Privatdozent, im Wintersemester 1907/08 wurde er nach dem Rücktritt Prof. Lunge's mit der Abhaltung der Hauptvorlesung über Anorganisch-chemische Technologie und mit der Leitung des Laboratoriums betraut, die er de facto bis Ende des Sommersemesters 1909 beibehielt. Als Privatdozent las er über: Theorie chemisch-technischer Prozesse, Ausgewählte Kapitel aus der chemischen Technologie, Technologie und analytische Betriebsführung chemischer Spezialindustrien, ferner über Explosivstoffe und Anorganische Farbstoffe. Alle diese Vorlesungen haben bei den Studierenden reges Interesse gefunden und seine Fähigkeiten als ausgezeichneter Dozent erwiesen. Die Arbeiten im Labo-

ratorium wußte er überaus anregend zu gestalten, und es gelang ihm in diesen Jahren, die lebhafte Zuneigung seiner Schüler zu erwerben.

In diese Zeit fällt auch seine Mitarbeit an den von Prof. Lunge herausgegebenen Werken, dem Taschenbuch für die anorganischehemische Grossindustrie und den vierbändigen Chemisch-technischen Untersuchungsmethoden.



Crust Her

Dr. Berl verliess Zürich im Jahre 1910 nach einem Aufenthalt von 11 Jahren, um eine Stelle als Chefchemiker bei der Fabrique de soie artificielle de Tubize (Belgien) anzunehmen. Diese bedeutende Kunstseidefabrik arbeitete damals noch ausschliesslich nach dem Chardonnet-Verfahren; die verschiedenen Arbeiten Dr. Berl's über Cellulosenitrate in den Jahren 1906—1910 werden wohl einen entscheidenden Einfluss auf diese Berufung ausgeübt haben. Einige seiner Zürcher Mitarbeiter sind ihm nach Tubize gefolgt, wo er eine überaus fruchtbare Tätigkeit auf allen das Werk berührenden Gebieten entfaltete, die dann leider durch den Ausbruch des ersten Weltkrieges im Jahre 1914 jäh abgebrochen wurde.

In seiner Eigenschaft als Reserveoffizier der Artillerie mobilisiert, wurde er bald nach Kriegsbeginn dem k. u. k. Kriegsministerium in Wien zur Bearbeitung kriegstechnischer Aufgaben zugeteilt, die ihm Gelegenheit gaben, im Verlaufe des Krieges seine Kenntnisse und technischen Erfahrungen wertvoll zu bereichern. Er hatte sich mit dem Ausbau und der Organisation von Anlagen der anorganisch-chemischen Grossindustrie und der Sprengstoffindustrie zu befassen. Nach dem Kriegsende wurde ihm die Leitung der grossen staatlichen Pulverfabrik Blumau anvertraut, wo es galt, das Werk auf eine stark reduzierte zivile Produktion umzustellen.

Der für die beiden Zentralmächte ungünstige Ausgang des Krieges war für Dr. Berl auch insofern von Bedeutung, dass seine engere Heimat an die neuentstandene Tschechoslowakische Republik fiel. Er empfand dieses Ausscheiden seiner Heimat aus dem österreichischungarischen Staatenverband als unabwendaren Schicksalsschlag, den es wie so manch' andern in seinem Leben zu überwinden galt.

Auf das Frühjahr 1919 wurde er an die Technische Hochschule in Darmstadt als Professor für Chemische Technologie und Elektrochemie berufen und fand dort Gelegenheit, nach den Erkenntnissen aus der neunjährigen Tätigkeit in der Industrie und am Wiener Kriegsministerium eine erfolgreiche Entwicklung als Hochschullehrer und Forscher zu eröffnen. Die Veröffentlichungen aus dem Darmstädter Institut betrafen die verschiedensten Arbeitsgebiete, von denen nur einige hervorgehoben werden können. Er beschäftigte sich weiter mit Problemen aus der anorganisch-chemischen Grossindustrie (Alkalien, Schwefelsäure, Salpetersäure, Mischsäure, nitrose Gase usw.). Weitere Aufmerksamkeit brachte er der Cellulosechemie entgegen (Cellulosenitrate und -acetate, Alkylcellulosen, Probleme der Kunstseidenindustrie). Eine grössere Reihe von Arbeiten betraf Untersuchungen über grossoberflächige Stoffe, wie Aktivkohle, Silicagel u. a. und die damit zusammenhängenden Fragen der Absorption von Lösungsmitteln und Einzelbestandteilen aus Gasgemischen. Sodann wurde das weite Gebiet der Veredelung und Verarbeitung der Kohle in Angriff genommen. Umfangreiche Arbeiten waren dem Problem der Entstehung der Kohle, des Erdöls und des Asphalts gewidmet. Ein weiterer Schritt führte zu der Synthese von Kohlenwasserstoffen durch Hydrierung des Kohlenoxyds. Mit dem Hinweis auf Arbeiten über Flotationsprobleme und hydraulische Bindemittel soll diese lückenhafte Übersicht abgeschlossen werden. Hand in Hand mit der Bearbeitung der erwähnten und anderer Probleme gingen gründliche Untersuchungen in physikalisch-chemischer und analytischer Richtung, die zu neuartigen und oft originellen Untersuchungsmethoden führten.

Die Entwicklung der Verhältnisse in Deutschland seit 1919 hatte die für eine erspriessliche und befriedigende Tätigkeit notwendige Atmosphäre nicht immer in günstigem Sinne zu beeinflussen vermocht. Aus dem vorliegenden Briefwechsel geht hervor, wie schwer die Inflation das Budget des Instituts und des eigenen Hausstandes belastete, wie die Unsicherheit der politischen Verhältnisse das Arbeiten erschwerte und oft düstere Stimmungen schuf, die den Wunsch nach einem Wechsel wachwerden liess. Mit einer seltenen Charakterstärke wurden diese unerfreulichen Einflüsse überwunden und mit einem beispiellosen Eifer die wissenschaftliche Arbeit in den Vordergrund aller Ziele gestellt.

Der Ort seiner Tätigkeit, die kultivierte Stadt Darmstadt und ihre landschaftlich schöne Umgebung, sagten ihm und seiner Familie zu und verhinderten ihn, leichten Herzens Entschlüsse über einen

eventuellen Weggang zu fassen.

Sein weltoffener Sinn wusste es einzurichten, Gelegenheiten zu schaffen zu Reisen nach verschiedenen Ländern, besonders nach England und den Vereinigten Staaten. Auch für unser Land hatte er seit der Zürcher Zeit lebhafte Sympathien. Die Ferien wurden benützt zu kleineren Reisen an berühmte Kunststätten Italiens, Frankreichs und Hollands oder zu Erholungsaufenthalten in der Heimat, am Meer oder im Gebirge. Sonst aber widmete er seine Zeit ausschliesslich seinem Institut und seiner Studierstube. Neben der Arbeit des Alltags fand er noch Zeit, neue, stark umgearbeitete Auflagen der früher mit Prof. Lunge herausgegebenen Chemisch-technischen Untersuchungsmethoden und des Taschenbuches für die anorganischchemische Grossindustrie vorzubereiten und zum guten Abschluss zu bringen. Im Jahre 1935 veröffentlichte er eine dreibändige Chemische Ingenieur-Technik unter Mitwirkung einer Reihe von prominenten Mitarbeitern.

Die Resultate der 14 jährigen Tätigkeit in Darmstadt sind in zahlreichen Publikationen und Patenten niedergelegt, die sich nach den Zitaten im Chemischen Zentralblatt auf über 200 belaufen und Zeugnis ablegen über die Vielseitigkeit der bearbeiteten Probleme.

Als im Jahre 1933 die Nationalsozialistische Partei Deutschlands die Macht an sich riss und ihre totalitären Auffassungen zur Auswirkung brachte, zog Prof. Berl sofort die richtige Konsequenz und reichte seine Demission ein. Im Alter von 56 Jahren sah er sich gezwungen, seine Tätigkeit an der Darmstädter Hochschule aufzugeben und den Wanderstab zu ergreifen, um sich in einer erfreulicheren Umgebung ein neues Arbeitsfeld aufzubauen. Er folgte einem Ruf an das Carnegie Institute of Technology in Pittsburg, Pa., wo es ihm vergönnt war, als "research professor" während 12 Jahren unter sehr erfreulichen Bedingungen unermüdlich tätig zu sein. Am 1. Juli des vergangenen Jahres zog er sich 68 jährig ins Privatleben zurück. In Anbetracht seines ausgezeichneten Gesundheitszustandes war er voller Pläne und dachte weiterhin wissenschaftlich und technisch

tätig zu sein und seine vielseitigen Kenntnisse und Erfahrungen der Industrie seines neuen Heimatlandes (er ist im Jahre 1938 amerikanischer Staatsbürger geworden) zur Verfügung zu stellen. Leider hat ein tragisches Geschick seine Pläne zunichte gemacht, indem er — wie eingangs erwähnt — am 16. Februar d. J. nach kurzer Krankheit dahingerafft wurde, betrauert von seiner Gattin und seinen beiden Söhnen, sowie von allen, die ihm im Leben nähergetreten waren.

Dr. Berl hatte sich im Jahre 1911 mit Margarete Karplus aus Troppau (Österreichisch-Schlesien) verheiratet, die ihm während 35 Jahren eine ausgezeichnete Lebensgefährtin war und Freud und Leid mit ihm teilte. Das Leid fehlte nicht in ihrem gemeinsamen Leben; besonders schwer haben die Jahre des zweiten Weltkrieges auf den beiden gelastet, als sie während langer Zeit ohne Nachrichten von den in der Heimat verbliebenen nächsten Verwandten blieben und nachher Kenntnis erhielten von den zum Teil furchtbaren Schicksalen, die einzelnen durch die Kriegsereignisse widerfahren waren.

Die beiden Ehegatten hatten noch das Glück erlebt, ihre beiden 1913 und 1917 zur Welt gekommenen Söhne zu tüchtigen Männern heranwachsen zu sehen. Der ältere Sohn Herbert hat sich nach juristischen Studien in Deutschland, Österreich und USA. zum Patentanwalt ausgebildet und kurz vor Ausbruch des Krieges ein Patentbureau in Washington eröffnet. Der jüngere Sohn Walter Georg hat den Beruf des Vaters erwählt; er hat während längerer Zeit im Institut seines Vaters an zahlreichen Problemen mitgearbeitet und ist gegenwärtig als "research expert" bei der Marine tätig.

Es ist verständlich, dass das umfangreiche Wissen und die vielseitigen Erfahrungen Prof. Berl's auf dem Sprengstoff- und dem Kohle-Gebiet während der Zeit des Krieges von staatlichen Stellen zu Rate gezogen wurden und seine Mitarbeit von einer Reihe von wichtigen Vereinigungen und Kommissionen gesucht wurde.

Ein überaus reiches Leben ist zum Abschluss gelangt, ein Leben voller Arbeit und Aufopferung. Sein Optimismus liess ihn die schwersten Probleme aufgreifen und zu einem guten Ende bringen. Den aufgetretenen Schwierigkeiten und Enttäuschungen ist er mit wahrhaft männlicher Kraft Meister geworden.

Der Schreibende hatte den Dahingegangenen als Lehrer in Zürich und als Vorgesetzten in Tubize kennen und schätzen gelernt. Aus diesen anfänglichen Beziehungen ist mit den Jahren eine tiefe freundschaftliche Verbundenheit erwachsen, die in einem regen Briefwechsel ihren Niederschlag gefunden hat. Wie in seiner Arbeit war Ernst Berl seinen Familienangehörigen und seinen Freunden gegenüber von einer ungewöhnlichen Hingabe und Treue beseelt. Alle, die ihm im Leben nähergetreten sind, werden seinen Hingang empfinden. Er wird aber in ihrer Erinnerung weiterleben und allen ein Vorbild bleiben.

M. Isler.

Publikationen von E. Berl*).

1904

B.,Beiträge zur Kenntnis der Elektrolyse geschmolzener organischer Salze. B. 37, 325.

1905

- $G.\ Lunge$ und B., Zur Kenntnis der Reaktionen zwischen Stickoxyd und Sauerstoff oder atmosphärischer Luft. Ch. Z. 28, 1243.
 - B., Die Arsensäureanhydridkatalyse des Schwefeltrioxyds. Z. angew. Ch. 18, 252.
 - A. Werner und B., Zur Kenntnis der Hexahydroxylaminkobaltisalze. B. 38, 893.
 - B., Die Arsensäureanhydridkatalyse des Schwefeltrioxyds. Z. anorg. Ch. 44, 267.
- $\it G.\ Lunge\ {\rm und}\ B.,\ {\rm Zur}\ {\rm Untersuchung\ von\ Mischsäuren}$ aus Schwefelsäure und Salpetersäure. Z. angew. Ch. 18, 1681.

1906

G. Lunge und B., Untersuchungen über Stickstoffoxyde und über den Bleikammerprozess. Z. angew. Ch. 19, 807.

1907

- B. und W. Smith jun., Zur Kenntnis der Celluloseester. B. 40, 903.
- B. und G. Austerweil, Zur Kenntnis des Scheeleschen Ätznatronprozesses. Z. El. Ch. 13, 165.
- A. Werner, B., E. Zinggeler, G. Jantsch, Über Dodekaamminhexoltetrakobaltisalze und Hexaäthylendiamminhexoltetrakobaltisalze. B. 40, 2103.
- $\it G.\ Lunge\ {\rm und}\ \it B.$, Zur Frage der Erklärung des Bleikammer
prozesses. Z. angew. Ch. 20, 794.
 - G. Lunge und B., Zur Untersuchung von Misch- und Abfallsäuren. Ch. Z. 31, 485.
- B. und A. Rittener, Über die Einwirkung von Kohlensäure auf Sulfide des Natriums und des Calciums und von Schwefelwasserstoff auf Natriumsulfat. Z. angew. Ch. 20, 1637.

1908

- G. Lunge und B., Taschenbuch für die anorganisch-chemische Grossindustrie.
- G. Lunge und B., Zur Bestimmung der Oxyde des Stickstoffs und zur Theorie des Bleikammerprozesses. Z. angew. Ch. 20, 1713: 2074.
- B. und R. Klaye, Zur Kenntnis der hochnitrierten Cellulose, Hydrocellulose und Oxycellulosen. Z. ges. Schiess-Sprengstoffwesen 2, 381.
- B. und R. Klaye, Über stufenweise Nitrierung von Cellulose und über Denitrierung von Cellulosenitraten mit Mischsäuren. Z. ges. Schiess-Sprengstoffwesen 2, 203.
- B., Verfahren zur Herstellung für die Zwecke der Fabrikation künstlicher Seide, von Schiess-, Sprengmaterialien und dgl. besonders geeigneter Nitrocellulose. D.R.P. 199 885, Kl. 29 b.
 - B. und W. Smith jun., Über Cellulosenitrate und Celluloseacetonitrate. B. 41, 1837.
- B. und W. Smith jun., Über einige einfache und zusammengesetzte Ester der Cellulose. J. Soc. Chem. Ind. 27, 534.

1909

B., Über die Vorbehandlung von Cellulose für technische Zwecke. Z. ges. Schiess-Sprengstoffwesen 4,81.

B. und A. G. Innes, Kohlenstoffbestimmung in aliphatischen hydroxylhaltigen Substanzen auf nassem Wege. B. 42, 1305.

1910

B., Notiz über die Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffbestimmung in rasch abbrennenden Flüssigkeiten. Z. angew. Ch. 23, 249.

^{*)} Zusammenstellung von Hrn. cand. chem. Joachim Jost.

- G. Lunge und B., Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, Bd. 1, 6. Auflage, Berlin 1910.
- B. und A. W. Jurissen, Über gasvolumetrische Analysen mit dem "Zersetzungskolben" und die Stickstoffbestimmung in rauchschwachen Pulvern. Z. ges. Schiess-Sprengstoffwesen 5, 61.
- B. und A. W. Jurissen, Calciumcarbid-, Natriumamalgam- und Zinkstaubanalyse mit dem Zersetzungskolben. Z. angew. Ch. 23, 248.
- B. und R. Bütler, Zur Kenntnis der Stärkenitrate. Z. ges. Schiess-Sprengstoffwesen $\bf 5,$ 82.
 - B. und M. Delpy, Über die alkalische Verseifung von Glycerintrinitrat. B. 43, 1421.
- B. und M. Delpy, Über quantitative colorimetrische Bestimmung kleiner Blausäuremengen. B. 43, 1430.
- B. und A. Fodor, Über stickstoffhaltige Abbauprodukte bei der alkalischen Verseifung von Cellulosenitraten. Z. ges. Schiess-Sprengstoffwesen $5,\,254.$
- B. und A. Fodor, Über stickstoffreie Abbauprodukte bei der alkalischen Verseifung von Cellulosenitraten. Z. ges. Schiess-Sprengstoffwesen 5, 296.

1911

- G. Lunge und B., Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, 6. Auflage, Bd. II, Berlin 1910.
- B., Zur Theorie des Bleikammerprozesses und einige Notizen über Schwefelstickstoffverbindungen. Z. angew. Ch. 23, 2250.
- G. Lunge und B., Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, 6. Auflage, Bd. III, Berlin 1911.

1912

G. Lunge und B., Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, 6. Auflage, Bd. IV, Berlin 1911.

1913

B.und $M.\ Delpy,$ Über instabile Produkte in Cellulosenitraten. Z. ges. Schiess-Sprengstoffwesen ${\bf 8,}$ 129.

B. und A. G. Innes, Füllkörper für Reaktionstürme. D.R.P. 263 200, Kl. 12e.

1914

- B. und M. Isler, Verfahren zum Verspinnen von Nitrocellulosequellungen zum Zwecke der Herstellung von Fäden, künstlichem Rosshaar, künstlichem Stroh, Filmbändern und dgl. D.R.P. 273 936, Kl. 29b.
- G. Lunge und B., Taschenbuch für die anorganisch-chemische Grossindustrie, 5. Auflage, Berlin 1914.

1919

B. und F. Ziffer, Über die Darstellung von Trinitrotoluol aus Benzin. Petroleum 14, 1213.

1920

 ${\it G.\ Lunge}$ und ${\it B.}$, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, 6. Auflage, Berlin 1919, anastatischer Neudruck.

1921

- B. und W. von Boltenstern, Beitrag zur Analyse der Mischsäuren für die Cellulosenitrat-Erzeugung. Z. angew. Ch. $34,\ 19.$
- $\it G.\ Lunge$ und $\it B.$, Taschenbuch für die anorganisch-chemische Grossindustrie, 6. Auflage, Berlin 1919.
- B., K. Andress und W. Müller, Bestimmung des Benzolkohlenwasserstoffgehaltes im Leucht- und Kokereigas. Z. angew. Ch. 34, 125.
- B. vnd K. Andress, Zur Bestimmung des Benzolkohlenwasserstoffgehaltes im Leucht- und Kokereigas. Z. angew. Ch. 34, 278.
 - B., Zur SO₂-Bestimmung in Röstgasen. Ch. Z. 45, 693.

B. und K. Andress, Über die Abscheidung flüchtiger Stoffe aus schwer absorbierbaren Gasen. I. Über die Anwendungsfähigkeit aktiver Kohle. Z. angew. Ch. 34, 369.

1922

- G. Lunge und B., Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, 7. Auflage, Bd. I, Berlin 1921.
- B., Defris und W. von Boltenstern, Über Ätznatron- und Sodagewinnung aus Natriumdisulfat. Z. angew. Ch. 34, 517.
- B. und W. von Boltenstern, Methode zur direkten Wasserbestimmung in Mischsäuren. Z. angew. Ch. 34, 526.
 - B. und H. Vierheller, Über die Aufbereitung von Waschbergen. Z. angew. Ch. 35, 76.
- B. und O. Samtleben, Über die Darstellung von wässriger Salpetersäure und von Salpetersäure-Schwefelsäure-Gemischen. Z. angew. Ch. 35, 201.
- G. Lunge und B., Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, 7. Auflage, Bd. II, Berlin 1922.
- B. und W. Schwebel, Über die Abscheidung flüchtiger Stoffe aus schwer absorbierbaren Gasen. II. Über die Anwendungsfähigkeit von Kresolen. Z. angew. Ch. 35, 189.
- B. und O. Samtleben, Über die Anwendung graphischer Mischungsberechnungen. Graphische Mischsäureeinstellung. Z. angew. Ch. 35, 270.
 - B., Benzolbestimmung in Gasen. Z. angew. Ch. 35, 332.
- B. und W. Schwebel, Über die Bildung von Additionsverbindungen zwischen Kresol einerseits und Äther, Alkohol oder Benzol usw. andererseits. Z. angew. Ch. 35, 398.

1923

- B..., Georg Lunge". Ch. Z. 47, 157.
- B. und $W.\ Urban,$ Über das Verhalten verschiedener Kieselsäuren. Z. angew. Ch. 36, 57.
 - B., Benzolbestimmung im Gase. Ch. Z. 46, 950.
- B. und O. Schmidt, Über die Methanreinigung aus Grubenwettern. Z. angew. Ch. 35, 633.
- B. und K. Andress,Über die technische Prüfung von grossoberflächigen Stoffen. Z. angew. Ch. 35, 722.
- B., Über die technische Umwandlung nitroser Gase in Salpetersäure und das Explosivunglück in Bodio. Z. angew. Ch. 36, 87.
 - B. und H. Vierheller, Zur Kenntnis der Schwimmverfahren. Z. angew. Ch. 36, 161.
 - B. und H. Fischer, Zur partiellen Verbrennung von Methan. Z. angew. Ch. 36, 297.
 - B., Herstellung von Nitrocellulose. D.R.P. 375 362, Kl. 78c.
- B.und $W.\ Urban,$ Beiträge zur Kenntnis der hydraulischen Bindemittel. Z. angew. Ch. 36, 273.
 - B., Adsorbierende Masse. D.R.P. 375 658, Kl. 12i.
- B.und W. Urban,Beiträge zur Kenntnis der hydraulischen Bindemittel. Zement 12, 253—255.

1924

- B. und O. Schmidt, Über die Anreicherung und Reindarstellung von Gasbestandteilen aus Gasgemischen mittels grossoberflächiger Körper. Z. angew. Ch. 36, 247.
- B. und W. Urban, Beiträge zur Kenntnis der hydraulischen Bindemittel. Z. angew. Ch. 36, 568.
- B. und J. Bitter, Über die Bildung von Äthylchlorid aus Äthylen und Salzsäure. B. 57, 95.
- B., Herstellung von aus Cellulose und Alkylcellulose bestehenden Gebilden. D.R.P. 385 962 Kl. 29 b.
- B. und H. Fischer, Untersuchungen an explosiven Gas- und Dampf-Luftgemischen. Z. El. Ch. 30, 29.

B. und W. Schwebel, Über die Austreibung adsorbierter Stoffe aus grossoberflächigen Körpern. Z. angew. Ch. $\bf 36,\ 541.$

B., M. Isler und A. Lange, Bestimmung der Zähflüssigkeit hochviscoser Körper. Z. angew. Ch. 37, 128.

B.und $W.\,Pfannmüller,$ Zur jodometrischen Bestimmung des Schwefelnatriums. Ch. Z. 48, 115.

B., Über die Explosion in Bodio. Z. angew. Ch. 37, 164.

B., Umnitrierung wasserfeuchter Nitrocellulose. D.R.P. 392 130 Kl. 78c.

B. und E. Wachendorff, Die Bestimmung organischer Dämpfe in Gas-Gemischen mittels aktiver Kohle, insbesondere die Benzolbestimmung in Leucht- oder Kokereigas. Brennstoffch. 5, 33.

B. und W. Pfannmüller, Zur Kenntnis der Schwimmverfahren. I. Das Verhalten der Kieselsäure beim Schwimmvorgang. Koll. Z. 34, 336.

B., Herstellung haltbarer Gemische von Öl und Kohle. Ö. P. 96 506.

B. und W. Pjannmüller, Zur Kenntnis des Schwimmverfahrens. II. Das Verhalten der Oxyde, Carbonate und Sulfate bei dem Schwimmvorgang. Koll. Z. 35, 34.

B. und W. Pfannmüller, Zur Kenntnis der Schwimmverfahren. III. Das Verhalten der Tonerden bei dem Schwimmvorgang. IV. Versuch der Anreicherung eines Phosphates mit Hilfe des Schwimmvorganges. Koll. Z. 35, 106—111.

B. und E. Wachendorff, Beiträge zur Natur der Adsorption von grossoberflächigen Stoffen. Z. angew. Ch. 37, 747.

1925

B. und F. Rau, Über eine Molekulargewichtsbestimmungsmethode mit dem Gasinterferometer von Haber-Löwe. B. 57, 1829.

B. und W. Pfannmüller, Über das Verhalten von organischen Farbstoffen zu Kieselsäure. Koll. Z. 35, 166.

B., Abscheidung und Konzentrierung von in Verdünnungsgasen oder in Lösung befindlichen Alkoholen, Aldehyden, Ketonen, Äthern und Säuren. D.R.P. 406 620 Kl. 12e.

B. und A. Braune, Über die Darstellung von Natriumcyanid aus Luftstickstoff, Soda und Kohle. Fortschr. Ch., Phys., phys. Ch. 18, Heft 4, 1.

 $\it B.$ und $\it E.$ $\it Reiche,$ Die wirtschaftliche Verwertung mitteldeutscher Braunkohle. Brennstoffch. 5, 317.

B. und E. Wachendorff, Adsorptionsversuche mit Lösungen. Koll. Z. 36, Erg. Bd., 36.

B., Gewinnung von Extrakten von Ölschiefern, Braun- und Steinkohlen. D.R.P. 411 540 Kl. 23 b.

 $B.,\; \mbox{Behandlung}$ von grossoberflächigen Körpern. D.R.P. 411 953 Kl. 12 i.

B., Kunstseide. E.P. 230 813.

B., Über die Explosionskatastrophe von Bodio. Z. angew. Ch. 38, 679.

1926

B.und W. Pfannmüller, Die Entfernung der Druckerschwärze von Altpapier. Z. angew. Ch. ${\bf 38},\, 887.$

B., Die Entfeuchtung von nassen Brennstoffen. D.R.P. 419 906 Kl. 10b.

B. und W. Schmid, Zur Kenntnis des Karwendelölschiefers. Brennstoffch. 7, 49.

B. und H. Burkhardt, Über die Schnellmethode zur Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff auf trockenem Wege. B. 59, 890.

B. und H. Burkhardt, Über die rasch auszuführende halbmikrochemische Stickstoffbestimmungsmethode. B. 59, 897.

B. und W. Schmid, Extraktion von Ölschiefer und Braunkohlen mit Tetralin. Brennstoffch. 7, 149.

B., Wiedergewinnung von Alkoholen, Äthern, Aldehyden, Ketonen und Säuren, die sich in dampfförmigem Zustande in Verdünnungsgasen befinden. D.R.P. 432 357 Kl. 12e. B., Herstellung aktiver Kohle. D.R.P. 433 524 Kl. 12i.

B. und J. Bitter, Beiträge zur Kenntnis der Viscose. Cellulosech. 7, 137.

B. und A. Lange, Beiträge zur Kenntnis der Viscose. Cellulosech. 7, 145.

1927

B. und H. Burkhardt, Über eine Schnellmethode zur Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff auf trockenem Wege. B. 59, 2682.

B., Wiedergewinnung der bei der Entfeuchtung nasser Brennstoffe von diesen zurückgehaltenen Entfeuchtungsmittel. D.R.P. 435 667 Kl. 10b.

B. und A. Kullmann, Über Schmelzpunktsbestimmungen. B. 60, 811.

B. und Günther Werner, Über Verbrennungsgrenzen brennbarer Gas- und Dampf-Luftgemische bei höheren Drucken. Z. angew. Ch. 40, 245.

B. und A. Immel, Über die Verdrängung der Braunkohlengrubenfeuchte durch Öle. Koll. Beih. 24, 181.

B., Einiges über Kunstseide. Zellstoff und Papier 7, 422.

B. und L. Ranis, Analysenmethode für Methanol-Äthylalkohol-Wassergemische. B. 60, 2225.

1928

B.und $H.\,Staudinger,$ Über die Entkieselung von kieselsäurehaltigen Wässern. Z. angew. Ch. 40, 1313.

B., Entfeuchtung von nassen Brennstoffen. D.R.P. 450 082 Kl. 10b.

B. und L. Ranis, Titrationen auf optischem Wege mit Hilfe des Flüssigkeitsinterferometers von $L\ddot{o}we.$ B. 61, 92.

B., A. Schmidt und K. Winnacker, Über die Schnellmethode zur Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in organischen Körpern. B. 61, 83.

B. und H. Staudinger, Über die Entkieselung von kieselsäurehaltigen Wässern. Z. Ver. Dtsch. Ing. 71, 1654.

B. und E. Berkenfeld, Die Darstellung von Cellulosenitraten. Z. angew. Ch. 41, 130. B., Aktive Kohle. E.P. 283 968.

B. und H. Schildwächter, Über die Druckextraktion von Steinkohle mittels Tetralin. Brennstoffeh. 9, 105.

B. und H. Schildwächter, Über den Einfluss des durch Druckextraktion erhaltenen Bitumens auf die Verkokung der Kohle. Brennstoffch. 9, 121.

B.und $A.\,Schmidt,$ Über das Verhalten der Cellulose bei der Druckerhitzung mit Wasser. A. 461, 192.

B. und H. Schildwächter, Über die Bestimmung des freien Kohlenstoffs in Teeren, Teerpechen u. dgl. Brennstoffch. 9, 137.

B. und H. Schildwächter, Über die Verwendung des Erhitzungsmikroskopes von Endell zur Untersuchung fester Brennstoffe. Brennstoffeh. 9, 159.

B.und H. Burkhardt, Beiträge zur Kenntnis der aktiven Kieselsäuren (Silicagel). ${\bf Z}.$ anorg. Ch. 171, 102.

B. und F. von Taack, Über die Schutzwirkung von Natriumsulfat bei der Einwirkung von Laugen und Salzen auf Flusseisen unter Hochdruck. Arch. Wärmewirtsch. 9, 165.

B. und L. Ranis. Die Anwendung der Interferometrie in Wissenschaft und Technik. Fortschr. Ch., Phys., phys. Ch. 19, No. 7, 1—52.

1929

 $B.,\,K.\,\,Heise$ und $K.\,\,Winnacker,\,$ Beitrag zur Kenntnis der Oxydations-Vorgänge von Motorbetriebsstoffen. Z. physikal. Ch. [A] 139, 453.

B. und P. Schmittner, Die Einwirkung wasserlöslicher Mono- und Diphosphate auf Permutit, ein Beitrag zur Festlegung der Phosphorsäure durch Bodenbestandteile. Z. angew. Ch. 42, 351.

B., Über einige Reaktionen unter erhöhtem Druck. Chim. et Ind. 21, 452.

B. und H. Schupp, Zur Kenntnis der Celluloseäther. Cellulosech. 10, 41.

B., K. Heise und K. Winnacker, Berichtigung zu unserer Arbeit: Beitrag zur Kenntnis der Oxydations-Vorgänge von Motorbetriebsstoffen. Z. physikal. Ch. [A] 141, 223.

B., K. Hofmann und R. Bemmann, Über ein schlauchloses Nitrometer für halbmikrochemische Arbeitsweise. Ch. Fabr. 1929, 359.

B. und F. von Taack, Ursachen des Sulfatschutzes beim Angriff von Salzlösungen auf Kesselblech. Arch. Wärmewirtsch. 10, 337.

B., Herstellung aktiver Kohle. D.R.P. 484 056 Kl. 12i.

B. und R. E. Oesper, Das Liebighaus und das Kckulézimmer zu Darmstadt. J. chem. Educ. ${\bf 6,}$ 1894.

1930

B. und F. Löblein, Über das System Kalk-Tonerde-Kieselsäure. Arch. Wärmewirtsch. 10, 339.

B. und F. Löblein, Die Wirkung von kieselfluorwasserstoffsaurem Magnesium auf Portlandzement. Zement 18, 1302.

B., K. Barth und K. Winnacker, Über die Herstellung von Metallsolen in organischen Dispersionsmitteln durch elektrische Zerstäubung. Z. physikal. Ch. [A] 145, 298.

B., Darstellung von Essigsäureanhydrid. F.P. 670 659.

B. und H. H. Saenger, Über das System N2O.-HNO. M. 53 54, 1036.

B. und O. Hefter, Über die Abänderung der Molekulargewichtsbestimmungsmethode nach Barger. A. 478, 235.

B. und H. Bausch, Über Verbrennungsgrenzen brennbarer Gas-Luftgemische bei höheren Drucken. II. Z. physikal. Ch. [A] 145, 347.

B. und H. Bausch, Über Verbrennungsgrenzen brennbarer Gas-Luftgemische bei höheren Drucken. III. Z. physikal. Ch. [A] 145, 451.

B. und E. Hartmann, Über Verbrennungsgrenzen brennbarer Gas-Luftgemische bei Unterdruck. Z. physikal. Ch. [A] 146, 281.

B., Herstellung aktiver Kohle. E.P. 324 729.

B. und $G.\ Lunge,$ Taschenbuch für die anorganisch-chemische Grossindustrie, 7. Auflage, Berlin 1930.

B. und F. Löblein, Zur Kenntnis der keramischen Eigenschaften von Kalk-Tonerde-Silikaten und anderen feuerfesten und hochfeuerfesten Materialien. Berlin 1930.

B., Herstellung aktiver Kohle. F.P. 36 117.

B. und K. Winnacker, Beiträge zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge von Motorbetriebsstoffen. II. Z. physikal. Ch. [A] 145, 161.

B. und K. Winnacker, Beiträge zu Kenntnis des Oxydationsprozesses von Motorbrennstoffen. Chaleur et Ind. 11, 23.

B., W. Herbert und W. Wahlig, Nomographische Tafeln für die chemische Industrie. Berlin 1930.

B.und H. Burkhardt,Über die Herstellung von aktiven Kohlen. Roczniki Chem. 10, 365.

B. und L. Ranis, Über die Absorption von organischen Lösungsmitteln durch Waschflüssigkeiten. Z. angew. Ch. 43, 600.

B. und K. Jüngling, Über die Synthese höherer Kohlenwasserstoffe aus Wassergas bei Atmosphärendruck. Z. angew. Ch. 43, 435.

B. und F. W. Althoff, Eine Apparatur zur fraktionierten Destillation geringer Substanzmengen. Ch. Fabr. 3, 220.

B. und A. Schmidt, Über einige neue Laboratoriumsschüttelmaschinen. Ch. Fabr. 3, 302.

B. und L. Ranis, Experimentelle und rechnerische Ermittlung der Brechungsindices einiger organischer Dämpfe. Z. El. Ch. 36, 453.

B., Verfahren zum Trockenspinnen von Kunstseide. D.R.P. 506 975 Kl. 29a.

B. und $B.\ Schmitt,$ Über Benetzungsphänomene an Zinkblende und Bleiglanz. Koll. Z. 52. 333.

B., Entchloren von Wasser. F.P. 686 146.

B., Füllkörper für Waschtürme. F.P. 681 728.

B. und W. Herbert, Zur Wertbestimmung aktiver Kohlen. Z. prikl. Chim. 3, 653.

B.und $H.\ Umstütter,$ Über die Temperaturabhängigkeit der Viscosität von Celluloselösungen. Z. physikal. Ch. [A] 148, 471.

1931

B. und R. Lind, Das Cracken von Kohlenwasserstoffen. Petroleum 26, 1027.

B. und H. Staudinger, Die Spaltung des Natriumchlorids durch Wasserdampf bei Gegenwart von Kieselsäure. Z. angew. Ch. 43, 1006.

B. und G. Rueff, Über die Nitrierung von Cellulose mit Phosphorsäure-Salpetersäure-Mischsäuren. B. 63, 3212.

B., W. Herbert und W. Wahlig, Eine neue Apparatur zur elektrometrischen Massanalyse mittels Elektronenröhren. Ch. Fabr. 3, 445.

B., A. Schmidt und H. Koch, Über die Entstehung der Kohlen. Z. angew. Ch. 43, 1018.

B. und K. Winnacker, Beiträge zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge von Motorbetriebsstoffen. III. Z. physikal. Ch. [A] 148, 36.

B. und H. Staudinger, Über die Bestimmung der Siedepunkts- und Destillationskurve von Salzsäure-Wassergemischen. Z. angew. Ch. 43, 1019.

B. und K. Winnacker, Beiträge zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge von Motorbetriebsstoffen. IV. Über die Autoxydation von Benzaldehyd. Z. physikal. Ch. [A] 148, 261.

B. und R. Bemmann, Über katalytische Versuche mit einer Hochdruckumlaufapparatur. Z. angew. Ch. 44, 34.

 $B.,\ E.\ Karrer$ und $H.\ Umstätter,$ Über die Temperaturabhängigkeit der Viscosität von Celluloseesterlösungen. II. Z. physikal. Ch. [A] 152, 150.

B., E. Karrer und H. Umstätter, Über die Temperaturabhängigkeit der Viscosität von Celluloseesterlsöungen. III. Z. physikal. Ch. [A] 152, 284.

B. und F. Bender, Über eine Untersuchung an altem Kunstglas. Ch. Z. 54, 913.

B. und F. v. Taack, Über die Einwirkung von Laugen und Salzen auf Flusseisen unter Hochdruckbedingungen und über Schutzwirkung von Natriumsulfat gegen den Angriff von Ätznatron und Chlormagnesium. Berlin 1930.

B. und G. Lunge, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, Band I. Berlin 1931, 8. Aufl.

B., Der Forscher und der Lehrer in unserer Zeit. Ch. Z. 55, 2.

B. und G. Rueff, Die Herstellung von Cellulosenitraten mittels Gemischen von Phosphorsäure und Salpetersäure. Cellulosech. 12, 53.

B.,Über die Verbrennungsvorgänge an höheren Kohlenwasserstoffen. Oest. Ch. Z. 34, 29.

B.und $H.\,H.\,Saenger,$ Zur Theorie des Bleikammer
prozesses. Die blaue Säure. Z. angew. Ch. 44, 291.

B. und W. Forst, Spaltung und Kondensation von Kohlenwasserstoffen I. Äthylen. Z. angew. Ch. 44, 193.

B., Liebig und die Bittersalz- und Salzsäurefabrik zu Salzhausen. Berlin 1931.

B. und R. W. Hofmann, Spaltung und Kondensation von Kohlenwasserstoffen. II. Acetylen. Z. angew. Ch. 44, 259.

B., Sprengverfahren. D.R.P. 521958 Kl. 78e.

B. und K. Winnacker, Laboratoriumsofen zur Durchführung chemischer Reaktionen. Ch. Fabr. 4, 194.

B., W. Herbert und W. Wahlig, Ein Röhrenvoltmeter. Ch. Fabr. 4, 211.

B., Die Vorgänge bei der Bildung und Verbrennung von Brennstoffen. Chim. et Ind. 25, Sond.Nr. 3 bis, 417.

- B., A. Schmidt und H. Hoch, Zur Frage der Entstehung von Steinkohlen. Z. angew. Ch. 44, 329.
- B., W. Herbert und W. Wahlig, Eine neue Röhrenapparatur für die elektrometrische Titration und $p_{\rm H}$ -Messung. Ch. Z. 55, 323.
- B. und K. Barth, Über Verbrennungsgrenzen brennbarer Gas- und Dampf-Luftgemische bei Unterdruck. II. Z. physikal. Ch. Bodenstein-Festband 211.
 - B., Behandlung hochporöser Körper. A. P. 1744735.
- B. und H. Staudinger, Die mechanischen Eigenschaften von Kunstseide und ihre Prüfung. Ch. Z. 55, 749.
- B. und W. Forst, Spaltung und Kondensation von Kohlenwasserstoffen. IV. Spaltung hochmolekularer Kohlenwasserstoffe. Z. angew. Ch. 44, 833.

1932

- B., Verfahren zur Herstellung von Keten aus Aceton. D.R.P. 536423 Kl. 12 o.
- $B.,\ {\rm F\"{u}llk\"{u}rper}$ für Reaktions- und Wascht\"{u}rme und dergleichen. D.R.P. 522572 Kl. 12e.
- B. und G. Lunge, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, Band 2, I. Teil. Berlin 1932, 8. Aufl.
- B. und H. H. Saenger, Beiträge zur Kenntnis des Bleikammerprozesses. I. Über das System Nitrosylschwefelsäure, Schwefelsäure und Wasser. Z. anorg. Ch. 202, 113.
- B., G. Rueff und W. Wahlig, Quantitative Bestimmung der Essigsäure in Celluloseacetaten. Ch. Z. 55, 861.
- B.und $H.\ Umstätter,$ Zustandsänderungen zäher Systeme. I—IV. Koll. Beih. 34, 1—79.
- B. und H. Dillenius, Beiträge zur Kenntnis der Reifegradbestimmung von Viscose. Cellulosech. 13, 1-25.
- B. und G. Lunge, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, Band 2, II. Teil. Berlin 1932, 8. Aufl.
 - B., Über Bildungs- und Verbrennungsvorgänge von Brennstoffen. Petroleum 27, 399.
- B., K. Andress, L. Reinhardt und W. Herbert, Über die Natur der aktiven Kohlen. Z. physikal. Ch. [A] 158, 273.
- B. und A. Schmidt, Über die Entstehung der Kohlen. II. Die Inkohlung von Cellulose und Lignin in neutralem Medium. A. 493, 97.
- B. und A. Schmidt, Über die Entstehung der Kohlen. III. Die Inkohlung von Harzen und Wachsen in neutralem Medium. A. 493, 124.
- B. und A. Schmidt, Über die Entstehung der Kohlen. IV. Die Verschwelung der künstlichen Kohlen. A. 493, 135.
 - B., Sattelfüllkörper. Ch. Fabr. 5, 188.
- B. und A. Schmidt, Über eine Schnellmethode zur Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in organischen Körpern. B. 65, 978.
- B. und A. Kullmann, Über die Herstellung des Ketens durch katalytische Spaltung von Aceton. B. 65, 1114.
- B. und A. Schmidt, Über die Entstehung der Kohlen. V. Die Inkohlung von Cellulose und Lignin in alkalischem Medium. A. 496, 283.
- B. und L. Will, Über die Absorption von organischen Lösungsmitteln durch aktive Kohlen, Silicagel, sowie durch Waschflüssigkeiten. Z. angew. Ch. 45, 557.
 - B. und A. Schmidt, Über eine neue Siebvorrichtung. Ch. Fabr. 5, 299.
 - B., A. Schmidt und H. Koch, Über die Entstehung der Kohlen. Angew. Ch. 45, 517.
- B. und E. Weingürtner, Über Entzündungspunkte von aktiven Kohlen. Z. physikal. Ch. [A] 161, 315.
- B., Über die Entstehung der Kohle, Erdöl und Asphalt. Petroleum 28, Nr. 33, 1-10.

B., A. Schmidt, H. Biebesheimer und W. Dienst, Die Entstehung von Erdöl, Asphalt und Steinkohle. Naturwiss. 20, 652.

B. und H. H. Saenger, Beiträge zur Kenntnis des Bleikammerverfahrens. II. Die violette Säure A. Z. anorg. Ch. 208, 113.

B. und K. Winnacker, Beiträge zur Kenntnis des Bleikammerverfahrens. Die violette Säure B. Z. anorg. Ch. 208, 124.

B., Herstellung von Essigsäureanhydrid. E.P. 377442.

 $B.\mathtt{,}$ Abtrennung von Essigsäure
anhydrid aus seiner Mischung mit Essigsäure und Wasser. E.P.
 $379\,042.$

1933

B. und R. Bemmann, Über die Einwirkung von Wasserstoff auf Holzkohle und aktive Kohle und über die Methansynthese. Z. physikal. Ch. (A) 162, 71.

B. und B. Schmitt, Über Benetzungsversuche an hydrophilen und hydrophoben Pulvern im System zweier miteinander nicht mischbarer Flüssigkeiten. I. Koll. Z. 61, 80.

B. und H. Hinkel, Der Einfluss von Laugen und Salzlösungen auf Kesselbaustoffe. Arch. Wärmewirtsch. Dampfkesselwesen 13, 298.

B., Abtrennung von Essigsäure
anhydrid aus Mischungen mit Essigsäure und Wasser. E.P. 382503.

B. und W. Kunze, Ein Halbmikroverfahren zur Stabilitäts-Bestimmung von Cellulosenitraten. Angew. Ch. 45, 669.

B. und A. H. Stevens, Verfahren zur Herstellung von hochacetyliertem Celluloseacetat. E.P. 381 991.

B., Die Chardonnet- oder Nitratseide. Chim. et Ind. 28, 1272.

B. und B. Schmitt, Über Adsorptions- und Benetzungsvorgänge in Technik und Biologie. Naturwiss. 20, 943.

B., Elektrode für elektrolytische Prozesse. F.P. 730339.

B. und K. Barth, Untersuchungen über Explosionsgrenzen und über Sicherung vor Weiterleitung von Gasexplosionen. Z. El. Ch. 39, 73.

 $B.,\,{\rm Verfahren}$ zur Herstellung von Gebilden, wie Fäden, Filmen oder Bändern, aus Cellulosederivaten. D.R.P. 568770 Kl. 29 b.

 $B.,\ F.\ Becker$ und $W.\ Begerow,$ Beiträge zur Kenntnis des Bleikammerprozesses. III. Synthese der Nitrosylschwefelsäure aus saurem Silbersulfat und Nitrosylbromid. Z. anorg. Ch. 209, 264.

B. und G. Rueff, Apparatur zur Bestimmung der Verpuffungstemperatur von Explosivstoffen, besonders von rauchschwachen Pulvern und Cellulosenitraten, sowie. zur Bestimmung der Stabilität von Celluloseacetaten und Kunstseide. Cellulosech. 14, 43

 $B.\ \mathrm{und}\ G.\ Lunge,$ Chemisch-technische Untersuchungsmethoden. Bd. 4. Berlin 1933, 8. Aufl.

B. und H. Keller, Petrographische und chemische Untersuchungen zur Frage der Enstehung der Kohlen. A. 501, 84.

B., K. Winnacker und H. H. Saenger, Über die "blaue Säure". Entgegnung auf eine unter diesem Titel von W. Manchot veröffentlichte Arbeit. Z. anorg. Ch. 211, 379.

B., B. Schmitt und H. Schulz, Über Benetzungsversuche an hydrophilen und hydrophoben Pulvern im System zweier miteinander nicht mischbarer Flüssigkeiten. II. Über Adsorptions- und Benetzungsvorgänge an Bleiglanz- und Zinkblendepulvern. Koll. Z. 63, 327.

B. und O. Hefter, Über die Umnitrierung und Fraktionierung von Cellulosenitraten. Cellulosech. 14, 65.

B. und G. Rueff, Über die Aufnahme von Salpetersäure durch Cellulosenitrate und die Einwirkung von Mischsäuren auf Cellulose. Cellulosech. 14, 97.

B. und G. Rueff, Über die bei der Nitrierung von Cellulose mit verschiedenen Mischsäurearten entstehenden Nitrate aus nativer und Hydratcellulose. Cellulosech. 14, 100.

B. und K. Winnacker, Beiträge zur Kenntnis des Bleikammerverfahrens. IV. Spektrographische Messungen. Z. anorg. Ch. 212, 113.

B. und H. Biebesheimer, Zur Frage der Entstehung des Erdöles. A. 504, 38.

B. und W. Dienst, Zur Frage der Entstehung des Erdöles. II. A. 504, 62.

B. und G. Rueff, Die Wirkung von Verunreinigungen von Mischsäuren auf Stabilität und Stickstoffgehalt von Cellulosenitraten und auf die Viscosität von Cellulosenitratlösungen. Einiges über Stabilisierung von Cellulosenitraten, Cellulosech. 14, 109.

B. und G. Rueff, Die Viscosität von Celluloseestern. Cellulosech. 14, 115.

B. und W. Dienst, Beitrag zum Crackprozess. Petroleum 29, Nr. 32, 1-4.

B.und L. Reinhardt,Über die Natur der aktiven Kohlen. II. Z. physikal. Ch. [A] $\bf 166,~81.$

1934

B., H. Hillebrandt und K. Winnacker, Beiträge zur Kenntnis des Bleikammerprozesses. V. Über den Mechanismus der Sauerstoffübertragung durch Nitrosylschwefelsäure auf Schwefeldioxyd. Z. anorg. Ch. 214, 369.

B. und F. W. Althoff, Beiträge zur Kenntnis des Bleikammerprozesses. VI. Untersuchungen über die Druckabhängigkeit der Schwefelsäurebildung mit Stickoxyden als Sauerstoffüberträger. Z. anorg. Ch. 215, 225.

B.und H. Türck, Über eine neue Bestimmungsmethode von Essigsäureanhydrid. Bioch. Z. 267, 69.

B. und B. Schmitt, Spektrographische Adsorptionsmessungen mit Metallionenlösungen an Pulveroberflächen. Koll. Z. 65, 264.

B. und B. Schmitt, Röntgenspektrographische Versuche über die Aufrichtung von Palmitinsäure an Mineraloberflächen. Koll. Z. 65, 261.

B. und $\mathit{G.\,Lunge},$ Chemisch-technische Untersuchungsmethoden. Bd. 5. Berlin 1934, 8. Aufl.

B., Elektrode zur Durchführung elektrochemischer Prozesse. Oc. P. 136366.

B. und B. Schmitt, Über Benetzungsversuche an hydrophilen und hydrophoben Pulvern im System zweier miteinander nicht mischbarer Flüssigkeiten. III. Benetzungsversuche mit künstlichen Gemischen zweier Pulver im System zweier miteinander nicht mischbarer Flüssigkeiten. Koll. Z. 65, 93.

B., Herstellung von hochacetylierter Cellulose. E.P. 402692.

B., Herstellung von Celluloseacetat. E.P. 405825.

B., Ursprung von Asphalten, Öl, Naturgas und bituminösen Kohlen. Sci. 80, 22

1935

B. und B. Schmitt, Benetzungsversuche an hydrophilen und hydrophoben Pulvern im System zweier miteinander nicht mischbarer Flüssigkeiten. IV. Über den benetzungsändernden Einfluss von Säuren auf die Hydrophobierung von Bleiglanzpulver durch verschiedene Säuren. Koll. Z. 68, 350.

B., Herstellung von acetonlöslichem Celluloseacetat. E.P. 403 554.

B., Chemische Ingenieurtechnik. Bd. 1. Berlin 1935.

B., Drucksynthese als Möglichkeit der Schwefelsäurefabrikation. Chem. metallurg. Eng. 41, 571.

B. und W. Forst, Über die Untersuchung von Industriegasen nach dem Tiefkühlverfahren. Z. anal. Ch. 98, 305.

B. und E. Weingaertner, Über den Zustand der sorbierten Phase. I. Sorptionsgeschwindigkeitsmessungen von Methan, Äthan und Propan an aktiver Kohle. Z. physikal. Ch. [A] 173, 35.

B., Chemische Ingenieurtechnik, Bd. 3. Berlin 1935.

B., Behandeln von Cellulosetriacetat mit Alkoholen. F.P. 785452.

1936

- B. und W. C. Kunze, Zur Kenntnis der Stärkenitrate. A. 520, 270.
- B., Trockenspinnverfahren für Kunstseide. E.P. 419527.
- B., Stabilisieren von Celluloseestern. E.P. 415329.
- B., Herstellung von Hohlkörpern aus Cellulosederivatlösungen. E.P. 437817.
- B., Trockenspinnverfahren für Celluloseester- und -ätherfolien. E.P. 442515.
- B., Darstellung von in Aceton völlig löslicher Acetylcellulose. Can. P. 353405.
- B., Herstellung von acetonlöslichem Celluloseacetat. E.P. 423 062.
- B., H. A. Auden und H. P. Staudinger, Fäden, Filme, Lacke, plastische Massen und dergleichen von vermindertem Glanz aus Cellulosetriacetat. A.P. 2040971.

1937

- B., Herstellung von Netz- und Emulgierungsmitteln. E.P. 426785.
- B., Schutzüberzug auf Eisen und Eisenlegierungen. E.P. 455377.
- B., Kolloidale Kieselsäure ("Silicagel") aus Wasserglas. E.P. 459058.
- B., K. Andress und E. Escales, Beiträge zur Kenntnis der Mischsäure. Kunststoffe 27, 23.
 - B., Beitrag zur Nachmattierung künstlicher Textilien. Mh. Seide Kunstseide 42, 126.
 - B., Wasserstoffperoxyd. D.R.P. 648964 Kl. 12i.
 - B., Aliphatische Celluloseester. H.P. 341994.
 - B., Die Entstehung von Kohle, Asphalt und Erdöl. Oest. Ch. Z. 40, 385.
 - B., "Fritz Haber", J. chem. Educ. 14, 203.
- Mathieson Alkali Works, Inc. und E. B., Elektrochemische Gewinnung von Peroxyden. A.P. 2091129 und 2091130.
- $B.,\,{\rm Herstellung}$ hochnitrierter sowie stabilisierter Nitrocellulosen, z. B. für Sprengstoffe. E.P. 470292.

1938

Mathieson Alkali Works, Inc. und E. B., Gewinnung von Wasserstoffsuperoxyd. A.P. 2093 989.

- B., Celluloseester. E. P. 471 181.
- B., Kekule Album. J. chem. Educ. 14, 407.
- B., Entstehung des Erdöls. Petrol. Technol. 1, Nr. 2, Techn. Publ. Nr. 920.
- B., Acetylnitrocellulose. E.P. 483474.
- B., Herstellung von Fäden, Fasern, Bändern und Filmen aus Cellulosederivaten. A.P. $2122\,448$.
 - B., Gemischte Aliphatonitrocellulose und Fabrikate daraus. A.P. 2125880.
- $B.,\ {\rm Druckhydrierung}$ von Kohlen, Teeren, Asphalten und hochsiedenden Mineralölen. E.P. 490 662.

1939

- B.und $W.\,Koerber,$ Vergärung von Cellulose, Cellulosehuminsäure, Lignin und Ligninhuminsäure. Am. Soc. $60,\,1596.$
- $B.,\ G.\ Ruett$ und $Ch.\ Carpenter,$ Stabilisierung und Stabilitätsprüfung von Nitrocellulose. Ind. Eng. Chem. Anal. 10, 219.
 - B., Alkylenoxyde. E.P. 490123.
 - B., ,, Justus Liebig". J. chem. Educ. 15, 553.
 - B., Reinigen von Trinkwasser und Wasser für andere Zwecke. E.P. 493069.
- $\it Distillers$ Co., Ltd., und E. B., Stabilisieren von organischen Celluloseestern. E.P. 495062.
 - B. und W. Koerber, Untersuchungen über Celluloseverbindungen. Am. Soc. 61, 154.
 - B., Bildung und Eigenschaften von Aktivkohle. Trans. Faraday Soc. 34, 1040.
 - B., Graphische Berechnung von Mischsäuren. Chem. metallurg. Eng. 46, 225.

1940

- B., Georg Lunge als Chemieingenieur. Chem. metallurg. Eng. 46, 258.
- B., Ein neuer kathodischer Prozess für die Erzeugung von $\mathbf{H}_2\mathbf{O}_2$. Trans. elektrochem. Soc. **76**, Preprint 23.
 - B., Herstellung von Schwefelsäure. A.P. 2184707.
- B. und W. Koerber, Die Bestimmung von gesättigten aliphatischen, aromatischen, und hydroaromatischen Kohlenwasserstoffen der Cyclohexanreihe. Ind. Eng. Chem., Anal. 12, 175.
- B. und Regis Raab, Die Dehydrierung und Nitrierung von Kohlenwasserstoffen der Cyclopentanreihe. Ind. Eng. Chem., Anal. 12, 177.
- B. und W. Koerber, Teilweise aromatische Konstitution künstlicher Kohlehydratkohlen. Ind. Eng. Chem. 32, 676.
 - B., Schwefeldioxydhaltige Gase. A.P. 2204543.
- B. und W. Koerber, Gasvolumetrische Halbmikrobestimmung des Kohlenstoffs. Ind. Eng. Chem., Anal. 12, 245.
 - B., Bildung von Brennstoffen. Am. Gas Assoc. Monthly 22, 335.

1941

- B., "Georg Lunge". J. chem. Educ. 16, 453.
- B., Die Rolle der Kohlenhydrate bei der Bildung von Öl und bituminösen Kohlen. Bl. Am. Assoc. Petrol Geologists 24, 1865.
 - B., Explosionen, die nicht geplant waren. Chem. metallurg. Eng. 47, 236.
 - B., Entgiften von Tabakrauch. A.P. 2228383.
- B. und G. Lunge, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden. Bd. III, Nr. 2, Leningrad-Moskau.

1942

- B., Viscositätsbestimmung von Cellulose. Ind. Eng. Chem., Anal. 13, 322.
- B., H. Biebesheimer und W. Koerber, Kohlehydrierung. Ind. Eng. Chem. 33, 672.
- B. und W. Koerber, Extraktion von natürlichen und künstlichen Kohlen mit Lösungsmitteln. Ind. Eng. Chem. 32, 1605.
- B., Erzeugung von Toluol und Trinitrotoluol aus Erdöl durch Extraktion. News Edit. Am. Soc. 19, 636.
- B., Die Humussäure und ihre Salze. Herstellung, Eigenschaften und Verwendung. Rev. Prod. chim. Actual. sci. reun. 45, 89.

1943

B., Einige persönliche Erinnerungen an Alfred Werner. J. chem. Educ. 19, 153

116. Über den Gehalt an Triglyceriden im menschlichen Hauttalg von F. Zehender.

(15. V. 46.)

Im Hauttalg des Menschen wird ein verhältnismässig hoher Gehalt an unverseifbaren Anteilen gefunden. Darin besteht ein grundsätzlicher Unterschied zu den Nahrungs- und Dépôtfetten, welche als Triglyceride vorwiegend Fettsäuren (etwa 90%) und wenig Unverseifbares (etwa 10% Glycerin) enthalten. Der Talg gleicht eher gewissen aus tierischen Hautdrüsen stammenden Lipoiden, deren

Zusammensetzung teilweise gut bekannt ist, z. B. dem Walrat des Pottwals, dem Bürzeldrüsenfett der Schwimmvögel und dem Wollfett der Schafe. Diese Stoffe zeichnen sich durch einen hohen Gehalt an Unverseifbarem aus. Meist können höhere aliphatische Alkohole isoliert werden, welche im Ausgangsprodukt mit den Fettsäuren zu Wachsen verestert sind. Im Walrat, dem festen Bestandteil des Walratöls, kann Palmitinsäure-cetylester nachgewiesen werden. Im Bürzeldrüsensekret der Gans findet F. Röhmann¹) 40% Octadecylalkohol und 2,4—5,1% Glycerin, welcher Gehalt nur etwa einen Viertel des im subcutanen Gänsefett enthaltenen Glycerins entspricht. Als saure Komponenten liegen Palmitin-, Stearin- und Ölsäure vor. Im Wollfett der Schafe wird neben vorwiegend Cholesterin und seinen Estern Cerylalkohol $C_{26}H_{54}O$ und Cerotinsäure $C_{26}H_{52}O_2$ gefunden F. Röhmann²), F. Grassow³).

Über die Zusammensetzung des menschlichen Hauttalges selbst existieren weniger bestimmte Angaben. Infolge methodischer Schwierigkeiten gelingt es nicht, den Talg in reiner Form zu erhalten. Auf welche Weise seine Gewinnung vorgenommen werden mag, erhält man stets kleinere oder grössere Mengen an Begleitsubstanzen (Fette der Hornschicht oder des Schweisses) als Verunreinigungen. Eine Reihe von Untersuchungen wurde am leichter zugänglichen Dermoidcystenfett vorgenommen und die Ergebnisse mit einer gewissen Berechtigung auf den Talg übertragen. Es ist aber zu bedenken, dass ein solches Präparat unter andern physiologischen Bedingungen entstanden ist, als der normalerweise von der Drüse an die Hautoberfläche abgegebene Talg. P. Linser⁴) findet im Hautoberflächenfett und im Dermoidenfett 40-45% Unverseifbares und isoliert sog. "Acetonkörper" in krystallisierter Form. F. Ameseder⁵) identifiziert einen solchen aus Dermoidenfett als Eikosylalkohol $\mathrm{C}_{20}\mathrm{H}_{42}\mathrm{O}$. Der Nachweis dieses Alkohols ist von Bedeutung, weil dadurch die Verwandtschaft zu andern Hautfetten, wie Walrat, Bürzeldrüsenfett u. a., in denen ebenfalls höhere aliphatische Alkohole gefunden werden, aufgezeigt wird. Andere Untersuchungen an Hauttalg ergeben gleichfalls einen erhöhten Gehalt an Unverseifbarem; so geben P.G. Unna und L. Golodetz6) 20-40% bzw. M.F. Engman und D. J. Kooyman?) 28-35% neben 54-64% Fettsäuren an. Ausser diesen chemischen Analysen liegen Untersuchungen vor, die den direkten Übergang von Blutfett in den Hauttalg nachzuweisen

¹⁾ F. Röhmann, Hofmeister's Beitr. chem. Physiol. Path. 5, 110 (1904).

F. Röhmann, Bioch. Z. 77, 298 (1916).
 F. Grassow, Bioch. Z. 148, 61 (1924).

⁴⁾ P. Linser, Dtsch. Arch. klin. Med. 80, 201 (1904).

F. Ameseder, Z. physiol. Ch. 52, 121 (1907).
 P. G. Unna und L. Golodetz, Bioch. Z. 20, 469 (1909).

⁷⁾ M. F. Engman und D. J. Kooyman, Arch. Dermatol. N. Y. 29, 12 (1934).

suchen, $M.B.Schmidt^1$). Daraus müsste man schliessen, dass im Talg auch Triglyceride vorliegen. Dies geht aber aus keiner der Untersuchungen eindeutig hervor. Die mit Hilfe von Farbreaktionen erzielten Befunde, wonach bei Fütterungsversuchen Neutralfette (Sesamöl) mit dem Talg wieder ausgeschieden werden, sind nicht beweisend.

An der Dermatologischen Klinik Zürich sind seit einiger Zeit Untersuchungen über die Physiologie der Talgdrüsen im Gange, welche die Sammlung von Hauttalg erlaubten. Es war daher möglich und von Interesse, seine Zusammensetzung näher zu studieren, insbesondere die Frage zu prüfen, in welchem Masse Triglyceride am Aufbau des menschlichen Hauttalgs teilnehmen. Die zur Verfügung stehenden Präparate wurden auf folgende Weise untersucht: 1. Präparative Aufarbeitung in freie Fettsäuren, gebundene Fettsäuren und Unverseifbares; 2. qualitativer Nachweis des Glycerins; 3. Identifizierung des Glycerins (nach Überführung in Acrolein bzw. dessen 2,4-Dinitro-phenylhydrazon); 4. Bestimmung einiger Äquivalentgewichte der Fettsäuren. Obwohl die Ergebnisse vorläufig nur orientierenden Charakter haben, scheinen sie doch wertvoll als Anregung für die weitere Forschung und sollen hier kurz mitgeteilt werden.

Bei der Aufarbeitung des Talgs wurden in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Literatur verhältnismässig grosse Mengen an unverseifbaren Substanzen erhalten; vgl. Tab. 1. Ausserdem ist bemerkenswert, dass die einzelnen Präparate teilweise sehr verschiedene Zusammensetzung aufweisen. Im Verhältnis der isolierten Bestandteile zueinander kommen erhebliche Schwankungen vor. Im allgemeinen scheinen die gebundenen Säuren gegenüber dem Unverseifbaren zu überwiegen, woraus geschlossen werden könnte, die Ester enthalten auch mehrwertige Alkohole. Die Vermutung stützt sich vor allem auf die Tatsache, dass in Wachsen die Säure und der Alkohol meist gleiche Kohlenstoffzahl haben. Die Analysenwerte unserer Präparate wären eher verständlich, wenn das Vorliegen von Wachsen und Triglyceriden angenommen würde. Aus diesem Grunde wurde der Versuch unternommen, das Glycerin in den Verseifungsprodukten nachzuweisen. Dies hat auf verschiedenen Wegen zu einem positiven Ergebnis geführt. In allen untersuchten Präparaten konnte das Glycerin mit der Mikroreaktion von C. Griebel und F. Weiss²) qualitativ nachgewiesen werden. Sie besteht in der Überführung des Glycerins in Acrolein und dessen p-Nitro-phenylhydrazon, welches an der typischen Krystallform erkannt wird. Ausserdem konnten wir in vielen Fällen das gebildete Acrolein mit fuchsinschwefliger Säure, mit Fehling'scher Lösung oder mit Nessler's Reagens nachweisen.

¹⁾ M. B. Schmidt, Virch. Arch. path. Anat. 253, 432 (1924).

²) C. Griebel und F. Weiss, Z. Untersuch. Lebensm. **56**, 158 (1928); Mikroch. **5**, 146 (1927).

Am empfindlichsten erwies sich aber stets die *Griebel-Weiss*'sche Reaktion. Beim Vorliegen grösserer Talgmengen verwendeten wir schliesslich das 2,4-Dinitro-phenylhydrazon des Acroleins, dessen Schmelzpunkt und Stickstoffgehalt den Nachweis des Glycerins eindeutig sicherstellten. — Die Äquivalentgewichtsbestimmung der Säuren ergab Werte zwischen 248 und 308. An anderer Stelle¹) berichteten wir über die Jodzahl des Hauttalgs, woraus hervorgeht, dass ein Teil der Säuren in ungesättigter Form vorliegt.

Durch die vorliegende Untersuchung wird in den Verseifungsprodukten des Talgs Glycerin nachgewiesen, was am ehesten mit dem Vorliegen von Triglyceriden zu deuten ist. Die Anwesenheit von Wachsen erscheint durch den Gehalt an Unverseifbarem und gebundenen Säuren wahrscheinlich. Die Befunde von F. Ameseder²) sind bei dieser Annahme eine wesentliche Stütze. Dass ausserdem auch Cholesterin und seine Ester vorkommen, geht aus den Gehaltsbestimmungen dieser Stoffe von M. F. Engman und D. J. Kooyman³) sowie G. Miescher und A. Schönberg⁴) hervor. Der wechselnde Glyceringehalt unserer Präparate dürfte teils auf individuelle Unterschiede, teils auf Änderungen in den physiologischen Bedingungen zurückzuführen sein. Aus früheren Untersuchungen (F. Zehender und A. Schönberg¹), M. Dünner⁵)) ist uns bekannt, dass die produzierte Talgmenge je nach den herrschenden Aussenbedingungen verschieden sein kann. In welchem Masse sich auch die Zusammensetzung ändert, ist weniger genau untersucht und kann auf Grund unserer Ergebnisse nicht entschieden werden.

Experimenteller Teil.

Das Untersuchungsmaterial.

Die zur Verfügung stehenden Präparate waren möglicherweise infolge der allgemein bestehenden methodischen Schwierigkeiten nicht ganz einheitlich. Es handelte sich nicht um Talg im strengen Sinne, sondern um "Hautoberflächenfette", welche durch die Lipoide aus der Hornschicht und dem Schweiss verunreinigt sein könnten. Die Gewinnung des Talgs wurde nach G. Miescher und A. Schönberg⁴) vorgenommen. Das Fett wurde mit einem trockenen, saugfähigen, fettfreien Filtrierpapier von der Haut abgenommen und hierauf mit Chloroform vom Papier entfernt. Dadurch sollte vermieden werden, dass die Haut mit dem Fettlösungsmittel in Berührung komme und durch dieses ausgelaugt werde.

Trennung des Talgs in freie Säuren, gebundene Säuren und Unverseifbares.

In einer ersten Versuchsreihe wurden 300—600 mg Talg in 100 cm³ Äther gelöst und mit 2-n. NaOH im Scheidetrichter geschüttelt. Aus der mit etwa 100 cm³ 2-n. HCl angesäuerten wässerigen Schicht extrahierten wir die freien Fettsäuren mit Äther.

¹⁾ F. Zehender und A. Schönberg, Helv. physiol. pharmacol. acta (im Druck).

²) F. Ameseder, Z. physiol. Ch. **52**, 121 (1907).

³⁾ M. F. Engman und D. J. Kooyman, Arch. Dermatol. N. Y. 29, 12 (1934).

⁴⁾ G. Miescher und A. Schönberg, Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss. 1, 101 (1944).

⁵⁾ M. Dünner, Diss. Zürich 1946.

Die übrigen Lipoide wurden nach Abdampfen des Äthers und Zugabe von 50 cm³ Alkohol und 5 cm³ 36-proz. NaOH verseift. Nach Abdampfen des Alkohols und Zugabe von 100 cm³ Wasser wurde abermals mit etwa 100 cm³ Äther geschüttelt und dadurch eine Trennung in gebundene Fettsäuren und Unverseifbares vorgenommen. Alle Atherlösungen wurden jeweils mit Wasser gewaschen, eingeengt, in ein Wägeglas übergeführt, zur Trockne gebracht und gewogen. Auf diese Weise sind die Talgpräparate 1—3 (Tab. 1) aufgearbeitet worden.

In einer zweiten Versuchsreihe (Nrn. 4—7) wurden in analoger Art kleinere Talgmengen verarbeitet. An Stelle von Scheidetrichtern verwendeten wir 100-cm³-Erlenmeyer-Kolben mit eingeschliffenem Stopfen, aus denen wir die Ätherschicht abdekantierten. Die Zuverlässigkeit der Methode wurde durch Modellversuche geprüft, in welchen mit je 50—100 mg Stearinsäure bzw. Stearinsäure-cetylester gearbeitet wurde. Wir konnten dabei die eingewogenen Substanzen meist in guter Ausbeute wieder zurückgewinnen (85—110% der Theorie).

Qualitativer Nachweis des Glycerins.

Dieser wurde nach der Mikromethode von $C.\ Griebel$ und $F.\ Weiss^1)$ durchgeführt, welche darin besteht, dass das Glycerin mit KHSO $_4$ in Acrolein übergeführt und dieses mit einer p-Nitro-phenylhydrazinlösung in Reaktion gebracht wird. Ein positiver Ausfall wird durch das Auftreten charakteristischer Krystalle im hängenden Tropfen der Reagenslösung angezeigt. Wir konnten aber nur dann zu einem eindeutigen Ergebnis gelangen, wenn die Fettsäuren nach Verseifung der Präparate durch Ausäthern abgetrennt wurden. Der Arbeitsgang war gleich wie bei der unten beschriebenen Darstellung des 2,4-Dinitro-phenylhydrazons. Auch konnten wir feststellen, dass besser ausgebildete Krystallnadeln erhalten werden, sofern man sehr langsam erhitzt und gleichsam eine fraktionierte Destillation der anwesenden Substanzen vornimmt. Das Uhrglas mit dem Tropfen der Reagenslösung ist dabei öfters durch ein neues zu ersetzen und mit Eis zu kühlen. Die Acroleindämpfe entstanden in unserer Anordnung jeweilen bei einer Sandbadtemperatur von $210-240^{\circ}$.

Darstellung vom 2,4-Dinitro-phenylhydrazon des Acroleins.

100 mg Fett wurden in 20 cm3 Alkohol gelöst, 2,5 cm3 36-proz. NaOH zugegeben und verseift. Nach Abdampfen des Alkohols, Zugabe von 10 cm3 Wasser und Ansäuern mit konz. HCl erfolgte eine Extraktion der Lipoide mit Äther. Die wässerige Schicht wurde mit Soda neutralisiert, bis fast zur Trockne gedampft, mit Alkohol ausgezogen und durch ein Filter in ein weites Reagenzglas übergeführt. Nach Abdunsten des Alkohols und Zugabe von KHSO4 schlossen wir das Reagenzglas an eine möglichst klein dimensionierte Apparatur an, die aus einem Einleitungsrohr für Stickstoff und aus einem Vorlagegefäss für etwa 1-2 cm³ einer 1-proz. salzsauren alkoholischen Lösung von 2,4-Dinitro-phenylhydrazin bestand. Durch vorsichtiges Erhitzen des Reagenzglases wurden die Acroleindämpfe entwickelt und durch den Stickstoffstrom in die Vorlage getrieben. Bei positivem Ausfall der Reaktion erfolgte eine Trübung der Reagenslösung, bzw. Ausfallen eines krystallisierten Niederschlags. In einer Reihe von Kontrollversuchen mit Glycerin und Triglyceriden prüften wir die Leistungsfähigkeit der Methode. So erhielten wir beispielsweise aus 10 mg Glycerin 19 mg Hydrazon (roh) vom Zers.-P. 150—152° (unkorr.). 106 mg Kokosfett lieferten 4 mg Hydrazon (roh) vom Zers.-P. 154—1560 (unkorr.). Der Zersetzungspunkt des reinen Hydrazons wird von Ch. F. H. Allen²) mit 165° und von I. S. Neuberg³) mit 168° angegeben. Die Zersetzungspunkte der entsprechenden aus Hauttalg gewonnenen Präparate waren 148-165°; über die Ausbeuten vergleiche man Tab. 1.

C. Griebel und F. Weiss, Z. Untersuch. Lebensm. 56, 158 (1928); Mikroch. 5, 146 (1927).

²) C. F. H. Allen, Am. Soc. **52**, 2955 (1930).

³) I. S. Neuberg, Bioch. Z. 255, 1 (1932).

Tabelle 1.

Trennung des Talgs in freie Fettsäuren, gebundene Fettsäuren und Unverseifbares. Nachweis des Glycerins.

Äquivalentgewichte der Fettsäuren.

	Hauttalg-Praparat	parat	Fetts	Fettsauren	Unverseif-	Total-	Glycerin-	Ausbeute	Äquivalent-
Nr.	Herkunft VP.	Einwage	freie	gebundene	bares	Ausbeute	Griebel-Weiss 1/10*	zon in mg	gewichte der Fettsäuren
-	mehrere	300	63,4	39.5%	65,0	247	nicht geprüft	prüft	frei: 296 geb: 258; 248
01	mehrere	489	45 9%	279	127 26%	451 92%	nicht geprüft	prüft	frei: 266 geb: 265; 268; 250
00	mehrere	809	131	34%	115	454	nicht geprüft	prüft	frei: 307; 308 geb: 276; 284
4	B. G.	117	4 60	56 47%	31%	97	positiv	65	nicht geprüft
10	R. G.	177	2,5	64 36%	70	137,5	stark positiv	4	geb: 272
9	E.Z.	158	25	53%	40 25%	149 94%	Spur	21	geb: 282
1	A. B.	150	11%	60,5	66 44%	142,5	positiv	10,01	geb: 280
00 0	E.K.	232	nicht a	nicht ausgeführt	nicht ausgeführt	sgeführt	positiv	13	nicht geprüft
10	R. G.	10	nicht a	ment ausgeführt	nicht ausgeführt	sgeführt	positiv	o,o in	ment gepruit
11	R. G.	20	nicht a	nicht ausgeführt	nicht ausgeführt	sgeführt	stark positiv		nicht geprüft

*) Wenn beide Reaktionen ausgeführt wurden, verwendeten wir 1/10 bzw. 9/10 der vorhandenen Substanzmenge.

Analyse eines aus Hauttalg gewonnenen 2,4-Dinitro-phenylhydrazons des Acroleins:

3,303 mg Substanz gaben 0,695 cm³ $\rm N_2$ (19°, 739 mm). $\rm C_9H_8O_4N_4$ Ber. N 23,73 Gef. N 23,92%

Äquivalentgewichtsbestimmungen der Fettsäuren.

Es wurde eine modifizierte Ausführung der *F. Pregl*'schen Mikromethode¹) angewendet: 0,02-n. NaOH und HCl in 70-proz. Alkohol; Titration heiss von sauer nach alkalisch; α-Naphtolphtalein als Indikator. Zur Vertreibung des Kohlendioxyds wird zuerst ein kleiner Überschuss an Lauge zugegeben, dann 0,2 cm³ Säure und hernach nach Auskochen genau titriert bis zur Blaufärbung. Einwagen 5—15 mg Fettsäure. Benzoesäure als Urtitersubstanz.

Zürich, Dermatologische Universitätsklinik, Direktor Prof. G. Miescher.

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

10. Über das Verhalten von d- und l-Histidin im Organismus der Ratte von Karl Schmid.

(15. V. 46.)

In der 7. Mitteilung²) dieser Reihe wurde über Belastungsversuche mit *l*- und *d*, *l*-Asparaginsäure am Kaninchen berichtet, die so ausgeführt wurden, dass den gleichen Versuchstieren in bestimmten Zeiträumen wiederholt diese Aminosäure appliziert wurde. Diese Versuche ergaben, dass bei der Verabreichung der natürlichen Form der Asparaginsäure nach jeder Injektion eine konstante Menge ausgeschieden wird, dass hingegen bei wiederholter Injektion der Racemform nach der 3. bis 5. Injektion ein Maximalwert der Ausscheidung erreicht wird, der bei fortgesetzten Injektionen wieder absinkt. Nach der 1. und nach der 6. Injektion des Racemates wird reine *d*-Asparaginsäure ausgeschieden, während bei den dazwischenliegenden Injektionen teilweise racemisierte Aminosäure aus dem Harn isoliert werden kann.

In Fortsetzung dieser Untersuchungen wurde nun das Verhalten der Ratte nach Verabreichung der verschiedenen optischen Formen des Histidins untersucht. S. Edlbacher hat gemeinsam mit O. Wiss in der 6. Mitteilung dieser Reihe³) über das Verhalten der d-Aminosäure-oxydase berichtet und gezeigt, dass speziell das Histidin sich als besonders wirksamer Effektor dieses Enzyms erweist. Es war deshalb von Interesse, durch systematische Belastungsversuche das

F. Pregl und H. Roth, Die quantitative organische Mikroanalyse, Berlin 1935.
 Helv. 28, 1079 (1945).
 Helv. 28, 797 (1945).

Verhalten des Histidins im Gesamtorganismus kennenzulernen. Wie schon in der 7. Mitteilung erwähnt wurde, haben die von Edlbacher, Baur und Staehelin¹) durchgeführten Belastungsversuche am Meerschweinchen ergeben, dass fast die ganze Menge des injizierten d-Histidins bei dieser Tierart im Harn wieder erscheint. In neueren Untersuchungen konnten unabhängig von einander H. Baur²) und Albanese3) zeigen, dass auch der Mensch das verabreichte d-Histidin quantitativ wieder ausscheidet. Im Gegensatz dazu fanden Holtz und Credner4), dass bei der Ratte ein beträchtlicher Teil des verabreichten d-Histidins vom Organismus zurückgehalten wird. Dass ganz allgemein d-Aminosäuren biologisch wirksam sind, konnten schon Abderhalden und Mitarbeiter⁵) und in neueren Untersuchungen auch Howe, Unna, Richards und Seeler6) feststellen. In den hier mitgeteilten Untersuchungen wird nun zuerst über Versuche berichtet, die dieses Ergebnis von Holtz und Credner an der Ratte bestätigen. Tatsächlich scheidet die Ratte auch bei wiederholter Injektion von d-Histidin nur ca. 60% desselben aus. Dass diese ausgeschiedene Aminosäure wirklich Histidin ist, konnte dadurch bewiesen werden, dass die Bestimmung desselben im Harn nicht nur mit der in unserem Institut bisher gehandhabten Diazoreaktion (mit Monochloranilin) durchgeführt wurde, sondern dass die speziell für Histidin typische Reaktion nach R. Kapeller-Adler7) zur Anwendung gelangte. Allerdings musste zuerst die Kapeller-Adler'sche Methode in entsprechender Weise modifiziert werden⁸). Wie S. Edlbacher und H. von Bidder⁹) zeigen konnten, scheiden auch Hund und Kaninchen nach Verabreichung grösserer Mengen von l-Histidin im Harn immer nur Histidin und niemals Urocaninsäure (Imidazol-acrylsäure) aus. Die hier an der Ratte ausgeführten Versuche mit d-Histidin stehen also in Übereinstimmung mit diesen Untersuchungen. Sie stehen aber in dieser Hinsicht im Gegensatz zu Versuchen, über die Kotake und Mitarbeiter¹⁰) berichten, welche angaben, dass nach Verabreichung von Histidin im Harn Urocaninsäure erscheint. Es sei ausdrücklich hervorgehoben, dass es in unserem Institut niemals gelungen ist, diese Verbindung als Zwischenprodukt des Histidin-Stoffwechsels nachzuweisen.

Bei der Verabreichung von l-Histidin an männliche Ratten ergab sich, dass bei Injektion von 50 mg pro 100 g Körpergewicht und 100 mg pro 100 g Körpergewicht auch bei wiederholter Injektion

1) Z. physiol. Ch. 270, 165 (1940).

2) Helv. physiol. pharmacol. acta 3, C 51 (1945).

6) J. Biol. Chem. 162, 395 (1946).

8) Helv. 29, 226 (1946). 9) Z. physiol. Ch. 273, 163 (1942).

J. Biol. Chem. 160, 443 (1945).
 Z. physiol. Ch. 280, 1 (1944).
 Z. physiol. Ch. 232, 81 (1935); Z. Fermentf. 15, 374 (1937).

⁷⁾ Bioch. Z. 264, 131 (1933) und 270, 206 (1934).

¹⁰⁾ Z. physiol. Ch. 270, 38 (1941) und Mitt. med. Ges. Osaka 38, I (1939).

immer nur ca. 4 % der Aminosäure im Harn ausgeschieden werden. Nach Applikation der gleichen Menge d-Histidin lassen sich jedoch ca. 40 % dieser Aminosäure im Harn wieder finden. Bei Applikation von racemischem Histidin wurden ähnliche Verhältnisse beobachtet wie bei der Verabreichung von racemischer Asparaginsäure an Kaninchen, indem die Menge des ausgeschiedenen Histidins nach der 3. bis 4. Injektion ein Maximum zeigt. Da die ausgeschiedene Histidinmenge zu klein war, um die Aminosäure zu isolieren, konnte das Verhältnis zwischen den beiden Antipoden bei diesen Versuchen nicht bestimmt werden. Die allgemeine Form der Kurven zeigt aber, dass hier die Verhältnisse ganz ähnlich liegen müssen, wie das bei der Verabreichung von d. l-Asparaginsäure an Kaninchen in der 7. Mitteilung beschrieben wurde. Bei niedrigen Dosen von 50 und 100 mg wurde auch die Histidase-Aktivität der Leber untersucht. Es liess sich dabei aber noch kein Unterschied gegenüber der Norm finden. Deshalb wird auf die Wiedergabe der entsprechenden Protokolle verzichtet. Gleichzeitig mit diesen Belastungsversuchen wurde der Gehalt des Harnes der Tiere in bezug auf die folgenden Stickstoff-Fraktionen untersucht: Gesamtstickstoff, Harnstoffstickstoff, Ammoniakstickstoff, Aminosäurestickstoff und Histidinstickstoff. Wie im experimentellen Teil gezeigt werden wird, verursacht die Injektion von l-, d- und d, l-Histidin jedesmal zusätzlich zur Histidinausscheidung eine Mehrausscheidung von Stickstoff im Harn. Es ist dieses Resultat nicht anders zu deuten als so. dass durch die parenterale Verabreichung von l-, d- oder d, l-Histidin eine Aktivierung des Eiweißstoffwechsels stattfindet, die zu einer Mehrausscheidung von Stickstoff führt. Da die Injektion von Kochsalzlösung gleicher Konzentration oder äquimolarer Harnstofflösung unter gleichen Bedingungen keine Veränderung der Stickstoffausscheidung erzeugt, ist diese sicher durch eine spezifische Stoffwechselwirkung des Histidins bedingt. Zu einem sehr ähnlichen Resultat gelangt auch Gremels¹). indem er nach Applikation von Histidin eine Erhöhung des Sauerstoffverbrauches und des Blutzuckers beobachtete. Es lässt sich hier nun eine Beziehung zu Versuchen feststellen, die S. Edlbacher gemeinsam mit O. Wiss in der 6. Mitteilung dieser Reihe (l. c.) veröffentlicht hat, die ergaben, dass speziell das Histidin der wirksamste Aktivator der d-Aminosäure-oxydase ist. Die in vitro durchgeführten enzymatischen Aktivierungsversuche finden also durch diese Belastungsversuche ihre Bestätigung in bezug auf den Gesamtorganismus.

Endlich wurde die Verteilung nach Injektion von d- und l-Histidin auf die verschiedenen Organe untersucht. Diese Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, dass Niere, Leber, Muskel, Lunge und Serum nach einer Stunde den höchsten Gehalt an l-Histidin auf-

¹) Arch. exp. Path. Pharmakol. 203, 225 (1944).

weisen, und dass dann ein schnelles Absinken stattfindet, so dass nach 5 Stunden schon fast alle extrahierbare Aminosäure wieder verschwunden ist. Bei der Verabreichung von d-Histidin ist ein etwas langsameres Ansteigen und auch ein langsameres Verschwinden der freien Aminosäure in den Organen festzustellen. Diese Beobachtung führt also zu ähnlichen Resultaten, wie die Untersuchungen von Rattner, Schönheimer und Rittenberg1), welche in Fütterungsversuchen an Ratten, denen d-Leucin mit D in der Kohlenstoffkette und N¹⁵ in der Aminogruppe verabreicht wurde, zeigen konnten, dass nun im Körpereiweiss auch andere Aminosäuren (Glykokoll, Tyrosin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Arginin) mit isotopem Stickstoff enthalten sind. Der eingeführte isotope Stickstoff verteilte sich auf alle untersuchten Organe (Leber, Muskel, Haut, Milz, Plasma, Testes) und sein Anteil war grösser, wenn er in Form des natürlichen Leucins verabreicht wurde. Es zeigt sich demnach eine gewisse Übereinstimmung mit den vorliegenden Untersuchungen, indem natürliches Histidin von den Geweben in intensiverer Weise aufgenommen wird als d-Histidin. Es steht ausserdem in Übereinstimmung mit den oben erwähnten Belastungsversuchen, welche deutlich ergaben, dass die natürliche Modifikation in weit grösserem Masse zum Abbau gelangt als der unnatürliche Antipode.

Experimenteller Teil.

1. Versuchstiere.

Um ein möglichst homogenes Tiermaterial zu benützen, wurden nur Ratten der Zucht unseres Institutes verwendet, und zwar gelangten Tiere zur Anwendung, welche 8 bis 12 Monate alt waren und ein Gewicht von 150 bis 300 g hatten.

2. Applikation der Aminosäure.

Die Tiere erhielten das Histidin in Form einer 10-proz. neutralisierten Lösung subkutan unter die rasierte Rückenhaut injiziert. Alle Angaben über die Menge der Aminosäure beziehen sich auf Histidin-monohydrochlorid (Mol.Gew. 209,5). Als Dosis wird immer die Anzahl von mg Histidin pro 100 g Körpergewicht bezeichnet, wie dies bei

allen früheren Versuchen schon durchgeführt wurde.

Während der Versuchszeit wurden die Tiere in Stoffwechselkäfigen gehalten und der Harn unter Toluol gesammelt. Aus wiederholten Versuchen ergab sich, dass nach 24 Stunden kein Histidin mehr ausgeschieden wurde. Deshalb gelangte immer nur der innerhalb 24 Stunden ausgeschiedene Harn zur Untersuchung. 24 Stunden nach der 1. Injektion kamen die Tiere in andere Käfige und wurden jetzt während einer weiteren 24-Stunden-Periode gefüttert. Das Futter bestand zum grössten Teil aus Kartoffeln, gekocht mit Mehl, Fett, Pferdefleisch, Luzernemehl, Salzen. Daneben erhielten die Tiere stets Wasser. 48 Stunden nach jeder Injektion erfolgte die nächste. In jeder Versuchsserie wurden noch nie belastete Tiere verwendet.

3. Bestimmung des Histidins im Harn.

Sie erfolgte einerseits nach der bekannten Methode der Kuppelung mit diazotiertem p-Chloranilin und Extraktion des gebildeten Farbstoffs mit Butylalkohol²).

¹⁾ J. Biol. Chem. 134, 654 (1940).

²) Z. physiol. Ch. 270, 158 (1941).

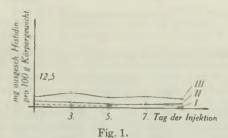
Da diese Diazoreaktion aber nicht für Histidin charakteristisch ist, sondern auch Urocaninsäure und ähnliche Verbindungen mit dem Reagenz rote Farbstoffe geben, wurde auch die für Histidin spezifische, modifizierte Bestimmung nach Kapeller-Adler (l. c.) angewendet.

4. Bestimmung der verschiedenen Stickstoff-Fraktionen im Harn.

Der Gesamtstickstoff wurde im Mikro-Kjeldahl, das präformierte Ammoniak nach der sogenannten Soda-Folin-Methode und der Harnstoff nach der Ureasemethode bestimmt. Der Aminostickstoff wurde nach Folin mittels der Naphthochinonsulfosäure-Methode ermittelt.

5. Ausscheidung des Histidins nach wiederholter Injektion dieser Aminosäure.

In Vorversuchen wurden Ratten in bezug auf eine 10-proz. neutrale Histidinlösung mit isotonischer Kochsalz- oder äquimolarer Harnstofflösung belastet. Es zeigte sich, dass in keinem Fall eine Imidazolurie eintritt.



Belastung mit l-Histidin.

 Kurve
 I
 Dosis
 50
 4 ♂
 Ratten (Nr. 21—24)

 Kurve
 II
 Dosis
 100
 5 ♂
 Ratten (Nr. 25—29)

 Kurve
 III
 Dosis
 100
 5 ♀
 Ratten (Nr. 31—35)

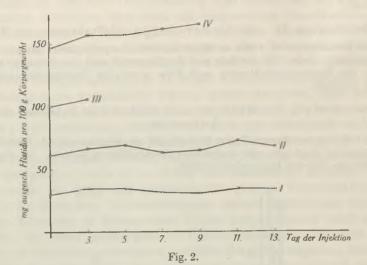
Belastung mit l-Histidin.

Kurve I und II in Fig. 1 zeigen, dass männliche Ratten auch nach mehrmaliger Injektion von l-Histidin stets eine konstante Menge, und zwar 4% der verabreichten Aminosäure, wieder ausscheiden. Weibliche Ratten weisen mit dem Unterschied, dass sie 9% wieder sezernieren, dasselbe Verhalten auf. Unter gleichen Bedingungen verwertet also der männliche Organismus etwas mehr l-Histidin als der weibliche. Es kann aber an Hand dieser Resultate noch nicht entschieden werden, ob der Grund für die ungleichen Mengen der ausgeschiedenen Aminosäure in verschiedenem Abbau durch den Organismus oder in verschiedener Ausscheidung durch die Nieren liegt.

Belastung mit d-Histidin.

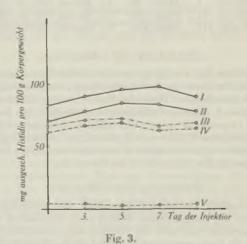
Der hervortretendste Unterschied gegenüber der Versuchsserie, die in Fig. 1 wiedergegeben ist, ist die Tatsache, dass Ratten nach Applikation von d-Histidin unter sonst gleichen Bedingungen viel mehr der verabreichten Aminosäure wieder ausscheiden. Jedoch verhält sich die Ratte grundsätzlich anders als das Meerschweinchen, bei welchem fast das gesamte injizierte d-Histidin sich im Harn wieder finden lässt. Sie vermag immer (in 155 Einzelversuchen bestätigt) eine bestimmte Menge dieser applizierten d-Aminosäure zu verwerten, indem sie durchschnittlich nur noch 60% ausscheidet. Die Menge der ausgeschiedenen Aminosäure nimmt zudem mit steigender Dosis oder mit wachsender Zahl der Injektionen zu. Auch erfährt diese Grösse nach wiederholter Injektion der Dosis 100 deutliche Schwankungen, die schon bei der niederen Dosis 50 zu erkennen sind.

An dieser Stelle sei hervorgehoben, dass sich die mit d-Histidin belasteten Ratten ausserlich gleich verhielten wie diejenigen, welche l-Histidin oder isotonische Kochsalzlösung injiziert erhielten (Fig. 2).



Belastung mit d-Histidin.

Kurve I Dosis 50 4 3 Ratten (Nr. 37-40) 9 3 Ratten (Nr. 41-45, 47-50) Kurve H Dosis 100 IIIDosis 150 5 ♀ Ratten (Nr. 77—81) Kurve IV Dosis 200 5 ♀ Ratten (Nr. 62—66) Kurve



Belastung mit d,l-Histidin.

Kurve I 200 d,l-Histidin $5 \circlearrowleft$ Ratten (Nr. 57—61) Kurve II 200 d,l-Histidin 7 Ratten (Nr. 5—7, 53—56) Kurve III Summe von Kurve IV + V, d. h. 100 l- + 100 d-Histidin Kurve IV 100 d-Histidin 9 \circlearrowleft Ratten (Nr. 41—45, 47—50) Kurve V 100 l-Histidin 5 \circlearrowleft Ratten (Nr. 25—29)

Belastung mit d, l-Histidin.

Werden männliche oder weibliche Ratten mit 200 mg d, l-Histidin pro 100 g Körpergewicht belastet, so lassen sich die Mengen der im Harn wiedergefundenen Imidazolverbindung durch zwei fast parallele Kurven (Kurve I und II in Fig. 3) darstellen. Wie schon bei den Versuchen mit l-Histidin gezeigt wurde, weisen auch hier wieder die weiblichen Tiere eine grössere Ausscheidung auf. Aus dem Verlauf der beiden Kurven (I und II in Fig. 3) kann aber mit grösster Wahrscheinlichkeit angenommen werden, dass dieses verschiedene Verhalten in verschieden aktiven Enzymsystemen der beiden Geschlechter begründet ist. Ein ähnlicher Befund wurde schon von S. Edlbacher1) bei der Spaltung des Arginins durch die Arginase festgestellt; er beobachtete bei diesem Enzym immer dann eine intensivere Aktivität, wenn dieses aus männlichen Tieren präpariert war. Nach Verabreichung des racemischen Histidins erreicht die Menge dieser ausgeschiedenen Aminosäure nach der 3. oder 4. Injektion ein Maximum und nach der 5. Injektion ist sie auf einen Wert gesunken, der noch etwas grösser ist als derjenige nach der ersten Applikation. In bezug auf die Verwertbarkeit dieser Aminosäure wird dieser Befund am einfachsten durch eine vorübergehende Störung und eine nachfolgende Angewöhnung im Abbau dieses Stoffes erklärt werden.

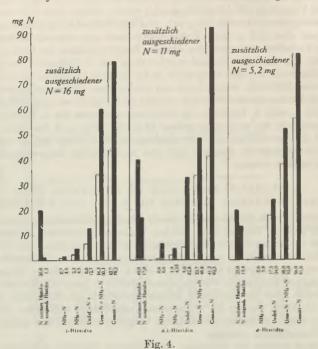
6. Stickstoff-Fraktionen im 24-Stunden-Harn nach subkutaner Injektion von l., d.l. und d-Histidin.

Die Ratten Nr. 31 bis 35 und 57 bis 61 wurden gleichzeitig in einem Vorversuch fünfmal jeden zweiten Tag mit dem gleichen Volumen isotonischer Kochsalzlösung belastet, wie sie im Hauptversuch Histidinlösung injiziert erhielten. Die Durchschnittswerte (jede Zahl ist das Mittel von 25 Einzelbestimmungen) der Stickstoffverbindungen beider Tierserien sind konstant und in Fig. 4 durch die weissen Stäbe dargestellt. Nach einer siebentägigen Karenzzeit wurden diesen Ratten l- resp. d, l-Histidin verabreicht (schwarze Stäbe). Der entsprechende Belastungsversuch mit d-Histidin wurde später ausgeführt. Als Norm wurden die Werte eines Kontrolltieres verwendet. Da jedoch alle Tiere dasselbe Futter erhielten, ist auch ein Vergleich zwischen den ersten beiden und der dritten Versuchsserie zulässig.

Fig. 4 zeigt vorerst das Folgende: Die Differenz zwischen injiziertem und ausgeschiedenem Histidin stellt diejenige Menge dar, die vom Organismus nicht mehr als Imidazolverbindung ausgeschieden wurde. Sie ist nach Verabreichung von 200 mg d, l-Histidin pro 100 g Körpergewicht kleiner als die Summe der beiden Komponenten, wenn diese einzeln appliziert werden. Der starke Anstieg des Aminostickstoffs ist im wesentlichen durch die ausgeschiedene Aminosäure bedingt. Die in Fig. 4 als ..undefinierter Stickstoff" bezeichnete Fraktion wurde als Differenz zwischen Gesamtstickstoff und der Summe der einzeln bestimmten Komponenten gefunden. Er enthält Kreatin, Kreatinin, Harnsäure, Allantoin usw. Die schwarzen Stäbe des "undefinierten Stickstoffs" enthalten zudem noch 2/3 des Stickstoffes des ausgeschiedenen Histidins, da in den Stickstoffraktionen, die zur Berechnung des "undefinierten Stickstoffes" dienten, nur der Aminostickstoff des Histidinstickstoffes eingeschlossen ist. Wie zu erwarten war, steigt nach Applikation von l-Histidin der Harnstoffstickstoff stark an; nach Verabreichung der racemischen Form dieser Aminosäure wird merkwürdigerweise vorwiegend der sogenannte "undefinierte Stickstoff" vermehrt, währenddem sich die Mehrausscheidung nach Injektion von d-Histidin auf alle Fraktionen verteilt. Wird nun der Stickstoff des injizierten Histidins zu dem im Harn ausgeschiedenen Gesamtstickstoff der Vorperiode der Ratten, die später mit l- oder d-Histidin belastet wurden, resp. des erwähnten Kontrolltieres, zugezählt und die so erhaltene Grösse mit dem total ausgeschiedenen Stickstoff der Hauptperiode verglichen, so bleibt als Differenz der als "zusätzlich ausgeschiedene Stickstoff" bezeichnete Stickstoffwert. Einerlei ob Ratten mit der natürlichen oder unnatürlichen Form oder mit dem Racemat des Histidins belastet werden, immer führt die Verabreichung dieser Aminosäure unter den gewählten Bedingungen zu

¹⁾ Z. physiol. Ch. 148, 273 (1925).

einer vermehrten Stickstoffausscheidung. Es sei hier besonders hervorgehoben, dass neben der natürlichen auch die unnatürliche Form des Histidins den Eiweißstoffwechsel der Ratte zu steigern vermag. Diese veränderte Stickstoffbilanz kann sicher als Ausdruck der spezifisch-dynamischen Wirksamkeit dieser Aminosäure gewertet werden.



N-Bilanz im 24-Stunden-Harn nach Histidinbelastung.

]	Oosis	Ratten m	ittleres Gewicht
l-Histidin	100 ♀	Nr. 31—35	181 g
d,l-Histidin	200 ♀	Nr. 57—61	202 g
Weisse Stäbe:	Vorversuch	mit isoton.	NaCl-Lösung

Schwarze Stäbe: Hauptversuch

d-Histidin 100 \eth Nr. 41—45 237 g schwarze Stäbe Kontrolltier \eth Nr. 46 288 g weisse Stäbe

7. Belastung mit variierten Dosen Histidin.

Verhalten der Tiere: Die Ratten, welchen die Dosis 600 oder 700 appliziert wurde, überlebten alle. Ihr 24-Stunden-Harn wies stets auf eine schwache Hämaturie hin. Anders reagierten die Tiere nach Injektion der noch höheren Dosen. Hier traten Störungen des Gleichgewichtssinnes, äusserst heftige Krämpfe, unregelmässige Atmung ein, und die Hinterextremitäten schienen gelähmt zu sein. Da aber auch Ratten, die mit dem gleichen Volumen isotonischer Kochsalzlösung belastet wurden, dieselben Symptome zeigten, werden diese Erscheinungen durch das grosse Volumen der injizierten, unphysiologischen Lösung hervorgerufen. In Fig. 5 wurden daher die entsprechenden Kurventeile weggelassen.

Gehalt des Histidins im 24-Stunden-Harn:

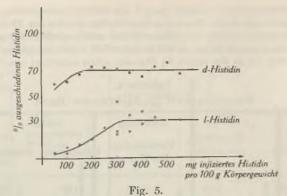
Er wurde nach beiden in unserem Institut gebräuchlichen Methoden ermittelt und in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Werte zeigen, dass Ratten in keinem der untersuchten Fälle Urocaninsäure, sondern immer nur Histidin ausscheiden. Bei diesen erhöhten Dosen wurde auch der Harn, welcher von der 24. bis zur 72. Stunde nach der Injektion ausgeschieden wurde, in gleicher Weise untersucht. Dabei zeigte sich, dass bei Applikation der grössern Dosen als 400 in dieser Zeit 1-5% derjenigen Menge Histidin ausgeschieden wird, die in den ersten 24 Stunden schon sezerniert wurde.

Tabelle 1. Histidingehalt im 24-Stunden-Harn.

		l-Histidin		
Dosis	Kuppelung mit p-Chlor- anilin	Verdünnung des Harns	Bromierung	Verdünnung
300	119	1:2500	126	1:100
	105		105	
450	285	1:5000	285	1:250
	304		294	
500	285	1:5000	264	1:250
	263		245	
		d-Histidin		
350	513	3:20000	566	3:2000
	524		594	
400	740	1:10000	789	1:2000
450	642	1:10000	640	1:10000
	669		700	
500	860	1:10000	832	1:10000
	793		832	
550	616	1:10000	649	1:10000
	718		697	
600	956	1:10000	1009	1:500
	1006		10 3 5	
700	629	1:10000	650	1:500
	728		785	
800	919	1:10000	910	1:1000
222	910	1 10005	910	4 4000
900	1029	1:10000	1066	1:1000
1000	905	1 20,000	1066	1 1000
1000	910 882	1:20000	800 889	1:1000
	004		000	

Ausscheidung des Histidins in Abhängigkeit der injizierten Menge.

Da jeder Kurvenpunkt in Fig. 5 das Resultat nur zweier Ratten darstellt, ist auch die Streuung der einzelnen Punkte verständlich. Die mit "l-Histidin" bezeichnete Kurve zeigt, dass die prozentuale Ausscheidung bis zur Dosis 300 sich vergrössert und dass bei noch höher gewählten Dosen die Ausscheidung bei ca. 30% konstant bleibt.



Belastung mit variierten Dosen Histidin.

Die absolute Menge dieser ausgeschiedenen Aminosäure ist also von der erwähnten Dosis ab so, dass die Differenz zwischen injiziertem und ausgeschiedenem Histidin konstant ansteigt. Demnach ist der Rattenorganismus in der Verwertung dieser Verbindung durchaus nicht beschränkt, sondern er kann sich vielmehr der angebotenen Menge anpassen. Noch deutlicher treten diese Verhältnisse nach Belastung mit d-Histidin hervor. In dieser Versuchsserie wird schon nach der Dosis 150 das charakteristische Gleichgewicht zwischen injiziertem und ausgeschiedenem Histidin erreicht, indem die Ratte unabhängig von der Dosis 70% der verabreichten Säure wieder sezerniert. Auch in bezug auf die Verwertbarkeit der unnatürlichen Form des Histidins ist also der Organismus der Ratte nicht begrenzt. Im weiteren wurden ausführliche Untersuchungen durchgeführt, in denen Ratten diese Aminosäure sowohl in 5- als auch in 10-proz. Lösung injiziert erhielten und welche zeigten, dass die Menge des ausgeschiedenen Histidins bei beiden Antipoden fast unabhängig von der Konzentration resp. Volumen der applizierten Lösung ist.

8. Verteilung des Histidins in verschiedenen Organen und Änderung des Gehaltes daran in Abhängigkeit der Zeit nach der Injektion.

Methode: Es erwies sich als vorteilhaft, stets zwei Ratten miteinander zu untersuchen. Nach Dekapitieren der Tiere wurde sofort Lunge, Leber, Niere und ein Teil der Oberschenkelmuskulatur entnommen. Zur Gewinnung des Serums wurde das Blut zwei Stunden im Eisschrank gekühlt. Die Leber wurde danach mit Quarzsand, Lunge, Niere und Muskulatur mit Seesand während 7—10 Minuten in einem Mörser zu einem homogenen Brei verrieben. Es wurde stets die doppelte Menge des Organgewichtes an Quarz-bzw. Seesand verwendet. Die erhaltenen Suspensionen wurden nun bezogen auf das Organgewicht mit der 5- oder 10 fachen Menge siedenden Wassers versetzt und zentrifugiert. 5 oder 10 cm³ der überstehenden Flüssigkeit wurden bei 100° während 10 Minuten koaguliert, zentrifugiert, und zur vollständigen Extraktion der wasserlöslichen Imidazolverbindung wurde das Koagulat noch 5mal mit heissem Wasser behandelt. In den auf 25 cm³ aufgefüllten, vereinigten Extrakten wurde der Imidazolgehalt kolorimetrisch bestimmt.

Für diese Versuche wurden weibliche Ratten verwendet, welche 12 Stunden vor der Injektion gehungert hatten. Jeder Kurvenpunkt in Fig. 6 ist das Mittel aus den Werten von 2 oder 4 Tieren.

Zu den in Fig. 6 dargestellten Normalwerten sei das Folgende bemerkt: Der hohe Imidazolgehalt der Muskulatur ist im wesentlichen durch das Carnosin bedingt. Dass sich in Lunge und Leber Histidin vorfindet, hat Ackermann¹) gezeigt. Wie aus Fig. 6 ersichtlich ist, steigt in den Zellen aller untersuchten Organe der Imidazolgehalt nach

¹⁾ Z. physiol. Ch. 257, 151 und 153 (1938).

Injektion von d- oder l-Histidin sehr schnell an. Der durch die Applikation erzeugte zusätzliche Imidazolgehalt sinkt auch fast ebenso schnell wieder ab. Die Änderung dieses Gehaltes bezüglich der unnatürlichen Form dieser Aminosäure verläuft träger, denn der für diesen Antipoden geringere Maximalwert wird später erreicht, und die Abnahme dieses Gehaltes erfolgt langsamer als bei der natürlichen Komponente.

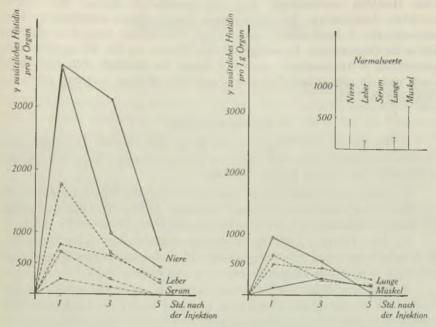


Fig. 6.

Änderung des zusätzlichen Imidazolgehaltes im wässrigen Extrakt verschiedener Organe nach subkutaner Injektion von 100 mg Histidin pro 100 g Körpergewicht.

Kurven mit • beziehen sich auf l-Histidin Kurven mit • beziehen sich auf d-Histidin

Das Resultat dieser Untersuchungen steht in Übereinstimmung mit dem Ergebnis der oben dargelegten Versuche, in welchen gezeigt wurde, dass d-Histidin immer, wenn auch in kleinerem Ausmass als die natürliche Form, von der Ratte verwertet werden kann.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus den hier mitgeteilten Versuchen ergibt sich also, dass unter speziellen Bedingungen, welche experimentell jedesmal festgelegt werden müssen, der tierische Organismus bei parenteraler Verabreichung von Aminosäuren nicht nur deren l-Form, sondern auch deren d-Form teilweise verwerten kann. Dabei ist es charakteristisch, dass speziell das Histidin eine Mehrausscheidung von Stickstoff verursacht, die auf eine Aktivierung des Eiweißstoffwechsels durch diese Aminosäure zurückgeführt werden muss. Dies steht in Übereinstimmung mit den von Edlbacher und Wiss¹) mitgeteilten Unter-

¹⁾ Helv. 28, 797 und 1111 (1945); 29, 216 (1946).

suchungen über die Aktivierung der d-Aminosäure-oxydase durch Histidin; es zeigt sich also, dass die genannten Enzymversuche auch die Verhältnisse des Gesamtorganismus zu erklären vermögen. Als weiteres wichtiges Resultat hat sich ergeben, dass bei Verabreichung von Histidin unabhängig von der absoluten Menge der verabreichten Aminosäure der Organismus immer einen bestimmten Prozentsatz der d-Aminosäure ausscheidet. Es scheint also, dass sich der tierische Organismus in weitgehendem Masse an die Menge der dargebotenen d-Aminosäure anpassen kann. Es handelt sich hier demnach um ein eigentümliches Gleichgewichtssystem, welches noch der Klärung bedarf.

Zusammenfassung.

- 1. Es werden die Versuche von Holtz und Credner bestätigt, und es wird festgestellt, dass die Ratte im Gegensatz zum Meerschweinehen d-Histidin viel besser verwerten kann.
- 2. Nach wiederholter Injektion verwertet die Ratte immer einen bestimmten Prozentsatz des angebotenen l- oder d-Histidins, einerlei, ob eine niedrigere oder höhere Dosis subcutan verabreicht wird.
- 3. Auf Grund der Bestimmung mittels der Kapeller-Adler-Methode kann gesagt werden, dass im Harn höchstwahrscheinlich nur Histidin und keine Urocaninsäure ausgeschieden wird.
- 4. Verabreichtes l-Histidin ist nach ca. einer Stunde in Lunge, Leber, Niere und Muskel maximal in freier Form nachweisbar, während bei d-Histidin der Maximalwert zwischen 1 und 3 Stunden erreicht wird.
- 5. Sowohl l- als auch d-Histidin verursachen bei parenteraler Verabreichung eine zusätzliche Stickstoffausscheidung, woraus geschlossen werden kann, dass der Eiweißstoffwechsel durch die Verabreichung dieser Aminosäure aktiviert wird.
- 6. Die Befunde sind bei der Verabreichung der beiden optischen Antipoden von Histidin prinzipiell gleich; sie unterscheiden sich nur quantitativ.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. S. Edlbacher, der die Anregung zu diesen Versuchen gegeben hat, für seine zahlreichen Ratschläge an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

Basel, Physiologisch-chemisches Institut der Universität.

118. Isomerien und Substitutionen.

I. Mitteilung.

Molekulare Konfigurationen¹)

von Paul Niggli.

(22. V. 46.)

Die geometrische Lehre von den Teilchenkonfigurationen führt zu der Unterscheidung zwischen Punkt- oder Teilchenkonfigurationen, die in einem endlichen Bereich abgeschlossen sind, und zu Teilchenhaufen, die sich dem Baugesetz nach naturnotwendig ein-, zwei- oder dreidimensional ins Unendliche erstrecken sollten, also Phasencharakter annehmen. Endliche Begrenzung bei letzteren ist immer als Abbruchreaktion deutbar. Die Konfigurationen von endlicher Grösse als molekular, die periodisch gebauten, im Endlichen unabgesättigten als krystallin zu bezeichnen, liegt auf der Hand. Dadurch aber ist vom geometrischen Standpunkte aus vorerst der Unterschied zwischen molekularem und krystallinem Verband auf eine Frage nach den Symmetrie- und Koordinationsverhältnissen reduziert. Zugleich ist die von der Symmetrielehre ausgehende Krystallstrukturlehre zu einem Sonderkapitel der Stereochemie geworden.

Symmetriebetrachtungen sind überhaupt für den Stereochemiker von fundamentaler Bedeutung. Sie sollen überall da, wo wir es mit einer diskreten Mannigfaltigkeit zu tun haben. Auskunft geben über geometrisch gleichwertige Konfigurationen oder Zustände, über die Zahl und den Charakter symmetriegemäss verschiedener Anordnungen oder Schwingungstypen, über die Gleich- oder Ungleichwertigkeit, also die Gliederungsmöglichkeiten und Zähligkeiten von Teilchen oder Bindungszuständen, über symmetriezerstörende und symmetrieerhaltende Deformationsmöglichkeiten, Freiheitsgrade der Bewegungen, eindeutige oder vieldeutige Schemata und vieles andere, das sich im chemischen Verhalten auswirkt. Oft wird dieser Betrachtung vorgeworfen, sie müsse, um anschaulich zu sein, Starrheit voraussetzen, wo Bewegung sei, im dreidimensionalen Raum abbilden, was in einem höheren funktionellen Zusammenhange stehe. Diese Vorwürfe sind nicht gerechtfertigt; Starres lässt sich als Momentanbild von Dynamischem verstehen und das Prinzipielle lässt sich vom anschaulichen Bild loslösen, das jedoch sinngemäss konstruiert immer von Bedeutung bleibt.

¹⁾ Vorgetragen an der Winterversammlung der Schweiz. chemischen Gesellschaft, in Neuchätel, am 3. März 1946.

So ist auch ein Teil der Kenntnisse, die der Chemiker über den Aussenbau der Atome benötigt, in der Sprache der Symmetrielehre formulierbar, ganz gleichgültig, ob wir an eine Elektronenverteilung oder an eine Geometrie dreidimensionaler Wellenbewegungen denken. Wenn wir beispielsweise der L-Schale 8 Elektronen zuordnen, die in 2 s- und (2+2+2) p-Elektronen zerfallen, so ist das gleichbedeutend mit der Feststellung, die Symmetrie sei so beschaffen, dass neben einem Zweipunktner drei im weiteren Sinne zu einem Sechspunktner zusammenfassbare Zweipunktner bestehen; von der Symmetrie selbst können wir uns wellenmechanisch ein Bild machen durch den sphärischen Charakter des s-Zustandes mit kugelförmiger Knotenebene und den drei aufeinander senkrecht stehenden Knotenebenen der p-Zustände. Betrachten wir aber im Aufbauprozess die L-Schale einer bestimmten Atomart, so ist gerade die Möglichkeit des Ab- und Aufbaues bei gleicher Kernladungszahl und andersartiger Verteilung und Zähligkeit der Elektronen oder Bahnzustände (und damit der Symmetrieänderungen) für das chemische Verhalten bestimmend, alles Operationen, die, übertragen auf andere Probleme, der Krystallograph bei vergleichenden Untersuchungen täglich auszuführen hat.

Das Pauli-Prinzip, das mit dem Atomaufbau, wie er im periodischen System der Elemente zur Geltung kommt, enge zusammenhängt, stellt an die Wellenfunktionen gewisse Symmetriebedingungen. Für das neutrale Kohlenstoffatom ist beispielsweise in der L-Schale die Zahl von 4 Elektronen vorgegeben, verteilbar auf maximal 4 "Formenzustände", von denen jeder maximal zweizählig sein kann. Denkbare Verteilungsschemata aufzustellen ist dem Vorgehen bei Krystallstrukturbestimmungen analog. Ob alle 3 oder nur 2 der denkbaren Kombinationszustände:

Zustände	2 s	2 p _x	2 p _y	2 p _z	Kombination von:
C	2 2 1	2 1 1	1 1	1	2 Zweipunktnern 1 Zweipunktner+ 2 Einp. 4 Einpunktner

normalerweise in Frage kommen und wie sie sich in ihrer Wirkung voneinander unterscheiden, ist hier wie dort ein Problem der Energieverhältnisse, das sich jedoch oft empirisch oder theoretisch in Stufenoder Auswahlregeln ausdrücken lässt. Auf alle Fälle zeigt auch hier die Verteilungs- und Symmetriebetrachtung sofort, dass für ein und dieselbe Basisgruppe (ein und dasselbe Elementensymbol) unterscheidbare Zustände bestehen, also Vielgestaltigkeit bzw. Polymorphie herrscht. Und diese Mannigfaltigkeit wird erhöht, wenn die Frage gestellt wird, ob nicht bei gleichbleibender Atomart komplettierender

Aufbau oder reduzierender Abbau (Leerstellenbildung) eintreten kann. Das erste führt zu negativ aufgeladenen, das zweite zu positiv aufgeladenen C-Zuständen, z. B.

Elektronenzustände	2 s	2 p _x	2 p _y	2 p _z
C- {	2 2	2	1 1	1
C+ {	2 1	1	1	

usw., die isoster zu anderen neutralen oder aufgeladenen Atomarten sind und dadurch weitere Verwandtschaften offenbaren. Man gewinnt so die Voraussetzungen für die Beurteilung der verschiedenen Bindungszustände mit anderen Teilchen, wobei bestimmte Konstruktionsprinzipien (z. B. Elektronenpaarbindungen) auswählend hinzutreten. Bei Kovalenz können sich die maximal vier Einpunktner zur Elektronenpaarbindung ergänzen. Findet man aber, dass z. B. im $[\mathrm{CO_3}]$ -Ion trigonale Symmetrie herrscht, so muss wieder durch energetische Betrachtungen unterschieden werden, welchen Anteil daran Mesomerien haben.

Es gibt eine von Pólya eingeführte Symbolik zur Charakterisierung einer diskreten Anzahl von Teilchen oder Zuständen, unter denen sich einzelne befinden, die symmetriegemäss zu Gruppen zusammengefasst werden können¹). Nehmen wir an, es handle sich um 6 Individualeinheiten. f.6 würde bedeuten: es treten 6 Einercyclen auf, d. h. in bezug auf ein bestimmtes Verhalten ist Gruppenbildung überhaupt nicht vorhanden, die Einheiten sind individuell verschieden. f.6 ist $f_{1}^{1} + f_{1}^{1} + f_{1}^{1} + f_{1}^{1} + f_{1}^{1} + f_{1}^{1} + f_{1}^{1}$. Zerfällt in bezug auf eine "Symmetrieoperation" 6 in $f_2^1 + f_1^4$, so bedeutet dies: 6 lässt sich in 2+1+1+1+1 gliedern, d. h. 2 Einheiten gehören zueinander, die andern nehmen individuelle, nur in sich selbst überführbare Plätze ein. f_2^3 würde stehen für $f_2^1 + f_2^1 + f_2^1$, d. h. 6 zerfällt in diesem Falle in drei Zweiergruppen usw. Betrachten wir die s., p. und d-Elektronen, so gilt für diese, dass sie in Einer- oder Zweiercyclen auftreten, somit als f₁¹ oder f₂¹. Die Gesamtzahl der Elektronen einer "Schale" ist mit andern Worten in verschiedene f_n^m gegliedert, wobei Σn·m die Gesamtzahl der vorhandenen Aussenelektronen ergibt. Die bekannten Regeln lassen sich für die 1 s-, 2 s-, 2 p-, 3 p-, 3 d-Zustände wie folgt (Tabelle 1) als Symmetriebedingungen charakterisieren.

Kohlenstoffatome verschiedener Zustände würden z.B. nach diesen Prinzipien so formulierbar sein, wie Tabelle 2 zeigt.

¹⁾ Siehe P. Niggli, Grundlagen der Stereochemie. Verlag Birkhäuser, Basel 1945.

unu	n m maximal 2 m normalerweise 1	sphärische Knotenebene
und	$ \begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	drei aufeinander senkrecht stehende Knotenebenen
3 d	n = 1 oder 2 Σ m maximal 5 Σ n·m maximal 10	

Tabelle 2.
Kohlenstoffatome verschiedener Zustände.

	1 s	2 s	2 p _x	2 p _y	2 p _z	
C	f ₂ 1	f_2^1	f ₁ ¹	f_1 1		normal
C- C+	f_{2}^{1} f_{2}^{1} f_{2}^{1}	$f_1^1 \\ f_1^1 \\ f_2^1$	$f_1^1 \\ f_1^1 \\ f_2^1$	$f_1^1 \\ f_1^1 \\ f_1^1$	f ₁ ¹	angeregt
C——— aufgef	f ₂ 1 Füllt	f_2^{-1}	f_2^{-1}	f_2^{-1}	f_2^{-1}	analog Ne, O
abgeb	f ₂ ¹ eaut	_	_	_	_	analog $ m He, Li^+, H^-$

Tabelle 3 zeigt einige weitere (nun in bezug auf p- und d-Elektronen zusammengefasste) Beispiele. In der letzten Kolonne ist die Zahl der f_1 -Zustände vermerkt, weil diese für das Bindungsverhalten wichtig sind. Jeder f_1 -Zustand kann in einen f_2 -Zustand durch Elektronenaufnahme übergehen. Will man diese "Elektronenpaarbindung" innerhalb einer Verbindung zur Darstellung bringen, so ist f_2^m der Elektronen zwischen den zwei verbundenen Atomen als $\frac{f_2^m}{2}$ zu schreiben, um anzudeuten, dass die verbindenden 2 m Elektronen beiden Atomarten gleichzeitig angehören. f_2^{m} -Elektronen, die nur einem Atom zugeordnet sind, stehen für sich da. So würde

$$f_2^2 O \frac{f_2^2}{2} C \frac{f_2^2}{2} O f_2^2$$

bedeuten O=C=O, mit je 2 Elektronenpaaren zwischen C und O und je 2 Elektronenpaaren, die nur zu den O gehören. In den bereits erwähnten "Grundlagen der Stereochemie" wurde hiefür abgekürzt geschrieben:

$$\frac{4}{1} \circ \frac{4}{2} \circ \frac{4}{2} \circ \frac{4}{1}$$

Tabelle 3.
Beispiele atomarer Zustände.

Schale	K]	L		M		Total
Scharc	1 s	2 s	2 p	3 s	3 p	3 d	f ₁
0 1	C 1	0.1			=		
C normal	f_2^{1}	f_2^{1}	f_1^{2}	-	-	-	f_1^{2}
C angeregt	f_2^{-1}	f_1^1	f_1^{3}	_	_	_	f ₁ ⁴
S II.	f_{2}^{1}	f ₂ 1	f ₂ 3	f_2^{1}	f ₂ 1f ₁ 2	_	f ₁ ²
S IV.	f_2^{-1}	f_2^1	f23	f_2^{1}	f_1^{3}	f_1^1	f ₁ ⁴
S VI.	f_2^{1}	f_2^1	f_2^{3}	f_1^{-1}	f ₁ ³	f_1^{2}	f ₁ ⁶
Cl I.	f_2^{1}	f ₂ 1	f_{2}^{3}	f_2^1	$f_2^2 f_1^1$		f ₁ 1
Cl III.	f_2^{-1}	f_2^{1}	f_2^{3}	f ₂ 1	$f_2^{1}f_1^{2}$	f_1^1	f_1^3
Cl V.	f_2^{1}	f ₂ 1	f_{2}^{3}	f_2^{-1}	f_1^{3}	f ₁ ²	f ₁ ⁵
Cl VII.	f ₂ 1	f_2^{1}	f_2^3	f_1^{1}	f ₁ ³	f_1^{3}	f ₁ 7
C+ /	f_2^{-1}	f_1^1	f_1^2		_	-	f ₁ ³
(f_{2}^{1}	f ₂ 1	f_1^{1}	-	-		f_1^1
C- 1	f_2^{-1}	f ₂ 1	$f_2^{1}f_1^{1}$	_	_	_	f ₁ ¹
[f_2^{1}	f_2^1	f_1^3	_	_	_	f ₁ ³
C- {		_			_		

Aber wir wollen uns hier nicht mit der Geometrie der Wellenmechanik und dem Aussenbau der Atome beschäftigen, sondern mit der nun bereits anschaulich darstellbaren Anordnung der Atome in einem Atomverband. Grundsätzlich wird zwischen geometrischer Betrachtung und valenzchemischer Deutung unterschieden. Koordinationszahlen, Koordinationsschemen, Koordinationspolyeder sind nur geometrische Begriffe, die sich auf die sogenannte Graphentheorie¹) rückführen lassen. Überlegungen chemischer Natur spielen lediglich bei der Auswahl der in Betracht zu ziehenden Fälle und bei der Zuordnung zu ein und derselben Pseudosphäre eine Rolle. Die Graphentheorie handelt von Systemen, die Punkte und Strecken enthalten, wobei jede Strecke von 2 Punkten begrenzt ist und die Graphenelemente zusammenhängend sind. Für den Chemiker sind die Punkte Teilchenschwerpunkte und die sie verbindenden Strecken Koordinationsrichtungen. Gehen von einem Punkt k-Verbindungsstrecken aus, so ist er k-kantig oder besitzt (auf die betreffende Sphäre oder Pseudosphäre bezogen) die Koordinationszahl (kz) = k. Das, was in der Geometrie Kantenkranz eines Zentralpunktes genannt wird. ist in der Chemie das Koordinationsschema (k. sch.) um die

¹⁾ D. König, Theorie der endlichen und unendlichen Graphen, Leipzig 1936, Akad. Verlagsgesellschaft.

Zentralstelle. Eine Komplikation tritt gegenüber der mathematischen Behandlung dadurch auf, dass die Punkte bzw. die durch sie ersetzten atomaren Teilchen in erster Linie nicht nach ihrem Verhalten in der Punktkonfiguration, sondern gewissermassen entwicklungsgeschichtlich nach ihrer Zugehörigkeit zu gleichen oder verschiedenen Atomarten gegliedert werden. Geometrisch gleich- oder ungleichwertige Kohlenstoffatome werden z. B. alle mit dem gleichen Symbol C bezeichnet. In der Graphentheorie kann man dem Rechnung tragen, indem man den Punkten vorerst praktisch unabhängig von ihrer geometrischen Position verschiedene Farben verleiht, sofern sie verschiedenen Atomarten angehören, und gleiche Farbe, wenn sie zur gleichen Atomart gehören. Farbverteilung und Schwarz-Weiss-Symmetrie der Konfiguration sind dann auseinanderzuhalten. Ein Beispiel möge dies erläutern.

Gegeben sei das hexaedrische k.sch. mit dem Oktaeder als Koordinationspolyeder. Bezeichnen wir die Koordinationsstellen mit x und, wenn sie durch eine zweite Punktsorte substituiert werden, mit y. Elementare Betrachtungen zeigen, dass es bei diesem k. sch. kein reelles Substitutionsprodukt 5 x, 1 y (wohl aber z. B. 4 x, 2 y) geben kann, denn es ist bei dieser räumlichen Anordnung unmöglich, dass 5 und nur 5 Koordinationsstellen gleichwertig sind. Schreibt man daher chemisch [PtCl₅(OH)]--, so ist auf alle Fälle klar, dass von den 5 Cl vier sich anders verhalten als eines, die Formel also eigentlich lauten müsste: [PtCl.Cl(OH)]-- oder geometrisch 4x 1x' 1y. Diese Einsicht ist von fundamentaler chemischer Bedeutung, da sie sofort abzuleiten gestattet, dass es zweierlei chemische Formeln mit 4 Clund 2(OH)-Teilchen geben muss, je nachdem, ob nun weiterhin eines der vier gleichwertigen oder das singuläre Cl durch (OH) substituiert wird. Nebenbei sei — was für alles folgende gilt — erwähnt, dass in einer chemischen Formel $4 \times 1 y$ $1 z = x_4 y_1 z_1$ identisch ist mit $x^4 y^1 z^1$, d. h. man kann die Anzahl "gleicher" Teilchen als Koeffizienten der Buchstaben voraussetzen bzw. nachfolgen lassen oder als Exponenten hochstellen.

Zur Lösung von Fragen, die Substitutionen und Isomerien betreffen, ist die Symmetriebetrachtung unerlässlich. Der Chemiker, der glaubt, derartige Hilfsmittel nur in Sonderfällen heranziehen zu müssen, vergisst, dass er unbewusst tagtäglich damit arbeitet und sich ohne derartige Vorstellungen, die allerdings selten präzisiert werden, gar nicht zurechtfinden würde. Betrachten wir drei einfache Fälle.

Einem Zentralteilchen A seien erstens 4 verschiedene, zweitens 6 verschiedene, drittens 8 verschiedene Teilchen in einer Sphäre räumlich koordiniert. Das Schema sei jeweilen ein für allemal festgelegt, jedoch zunächst völlig asymmetrisch. Dann ergeben sich (x, y, z, u, v, w, h, k stehen an Stelle der verschiedenen Atomarten)

als Isomerenzahlen die Zahlen der ersten Zeile der Tabelle 4, sofern alle Koordinationsstellen verschieden sind und das Koordinationspolyeder asymmetrische Gestalt hat. Bei 4, 6 bzw. 8 verschiedenen Atomarten, jedoch höchstmöglicher Punktsymmetrie des Koordinationspolyeders (Tetraeder, Oktaeder, Würfel) lauten indessen die Zahlen wie diejenigen der Zeile 2 (zueinander enantiomorphe Anordnungen als gleich angesehen) oder wie diejenigen der Zeile 3 (enantiomorphe Anordnungen als verschieden bezeichnet) der Tabelle 4.

Tabelle 4.
Isomerenzahlen (Beispiele).

Zeile	kz 4	kz 6	kz 8
1)	Axyzu 4! = 24	Axyzuvw 6! = 720	Axyzuvwhk 8! = 40320 völlig asymmetrisch
2)	1 2	15 30	höchste Symmetrie: 840 ohne Enantiomorphie 1680 mit Enantiomorphie
4) 5)	$\frac{Axxyy}{\frac{4!}{2!2!}} = 6$	$\frac{\text{Axxxyyy}}{6!} = 20$	Axxxxyyyy 8! 4!4! = 70 völlig asymmetrisch höchste Symmetrie: 6 ohne Enantiomorphie
6)	1	2	7 mit Enantiomorphie

Zerfallen die Koordinationsstellen nur in zwei gleich grosse Gruppen x und y entsprechend den Formeln $2x 2y = x^2 y^2$ oder $3x 3y = x^3 y^3$ oder $4x 4y = x^4 y^4$, so resultieren in entsprechender Weise die Zeilen 4, 5, 6 der Tabelle 4.

Denken wir uns bei kz 6 statt des Oktaeders als Koordinationspolyeder ein Rhomboeder oder ein linkes Trapezoeder, so lauten schliesslich einige Isomerenzahlen, verglichen mit denjenigen des Oktaeders¹) gemäss den Werten von Tabelle 5¹).

Tabelle 5. Hexaedrisches Koordinationsschema. Isomerenzahlen jeweilen höchster Symmetrie.

Koordinations-	Oktaeder	Rhom-	Trapezo-
polyeder:		boeder	eder
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	1(1)	1(1)	(1)
	2(2)	3(4)	(4)
Ax ³ y ³ · · · · · Axyzuvw · · ·	2(2)	3(4)	(4)
	15(30)	60(120)	(120)

¹⁾ Es bedeuten die Zahlen ohne Klammer Isomerie ohne Berücksichtigung der Spiegelbildverschiedenheit, Zahlen in Klammern Totalzahl, inklusive zueinander enantiomorphe Formen.

Daraus ist wohl ohne weiteres die selektive Wirkung des Symmetrieprinzipes in der Chemie ersichtlich. Die Begriffe "Isomerie" und "Substitutionseffekt" können ohne genaue Kenntnis der mathematischen Beziehungen gar nicht richtig verstanden werden.

Wir wollen Isomerien, denen das gleiche (erstarrt gedachte) Koordinationshauptschema zugrunde liegt, homöotype Isomerien nennen. Bei Krystallverbindungen gibt es eine entsprechende homöotype und isostrukturelle Polymorphie. Voraussetzung für eine saubere Begriffsentwicklung ist die Definition dessen, was wir als identisch also als nicht isomerverschieden, bezeichnen wollen. Solange wir chemische Teilchen oder Radikale nur durch ihre Schwerpunkte charakterisieren, können wir nur auf die äussere Form der Graphen oder die Punkt- bzw. Farbverteilung abstellen und zwischen identischen Konfigurationen, die durch Drehungen zur Deckung gebracht werden, und solchen, die zueinander nur enantiomorph deckgleich sind, unterscheiden. Nennt man die letzteren auch identisch, so erhalten wir die Zahl der Isomerien ohne Berücksichtigung der Enantiomorphie; gelten sie als zählbare Antipoden, so bekommt man die Maximalzahl der stereoisomeren Punktkonfigurationen. Allein, da in der Lehre von den chemischen Verbindungen die Punkte in Wirklichkeit Teilchen oder gar Radikale veranschaulichen, ist es durchaus möglich, dass Gestaltliches der Atome oder Radikale mit zu berücksichtigen ist. Zwei Anordnungen müssen dann trotz gleicher Schwerpunktkonfiguration verschieden genannt werden, wenn die Orientierung oder Symmetrie der Teilchen verschieden sind, bzw. wenn die Teilchen der Koordinationsstellen zu ausgezeichneten Richtungen des die Zentralstellen repräsentierenden Atoms oder Radikals unterschiedlich orientiert sind. Ist z. B. bei hexaedrischem k. sch., d. h. oktaedrischem Koordinationspolyeder, die Zentralstelle so beschaffen und fixiert, dass die Trigyren polar sind (schematisch darstellbar durch eine tetraedrische Symmetrie des Zentralkörpers), so wird man bei gewissen Anordnungen zwischen zweierlei "Oktaederflächen" unterscheiden müssen. Das ergibt für Axxxyyy nicht 2, sondern 3 unterscheidbare Isomere, die gar zu 4 werden, wenn enantiomorphe als verschieden betrachtet werden.

Eine Fülle interessanter, kaum je in Angriff genommener statischer Aufgaben lässt sich mit Hilfe der Graphentheorie und der Kombinations- und Symmetrielehre lösen. Zwei Wege stehen uns offen: die mathematische Behandlung unter Benutzung der erweiterten Pólya'schen Symmetrieformeln¹) oder den erweiterten Cyclenzeigern, und die geometrische Ableitung durch fortlaufende Substitution. Sie kontrollieren und ergänzen sich gegenseitig. Ist z. B. die kz

 $^{^{1})}$ Siehe darüber wiederum $P.\ Niggli,$ Grundlagen der Stereochemie. Verlag E. Birkhäuser, Basel 1945.

erster Sphäre um ein Teilchen gegeben und sind die Koordinationsstellen substituierbar, so können wir wie folgt vorgehen:

- 1. Wir suchen für die gegebene kz = k die höchstsymmetritrische Punktverteilung im dreidimensionalen Raum, wobei sowohl Deckoperationen erster Art (Drehungen) als auch Deckoperationen zweiter Art (Spiegelungen, Inversionen, Drehspiegelungen, Inversionsspiegelungen) zur Geltung kommen, also die sogenannte hochsymmetrische Gruppe St. Aufstellung der Symmetrieformeln als Polynom, Einsetzen und Entwickeln nach Potenzen der Variabeln ergibt die Zahl der stereoisomeren Punktverteilungen, soweit die verschiedenen Konfigurationen nicht durch Spiegelungen oder Drehungen oder ihre Kombinationen zur Deckung gebracht werden können. Es ist dies die minimale Zahl der Stereoisomeren, wobei enantiomorphe Formen als identisch angesehen werden. Die Teilchen können Kugelgestalt besitzen, ohne dass sich die Symmetrie erhöhen würde. Anderseits lässt sich für jede Konfiguration die minimal notwendige Symmetriebedingung angeben, die für die Teilchen erfüllt sein muss, damit nicht weitere Isomere entstehen.
- 2. Wir suchen für die gegebene kz=k die höchstsymmetrische reine Drehungsgruppe (alternierende Gruppe \mathfrak{U}_k) im dreidimensionalen Raum; sie wird, wenn an sich Deckoperationen zweiter Art möglich sind, eine Untergruppe von \mathfrak{S}_k sein. Durch Einsetzen erhalten wir für die betreffende Konfiguration alle Stereoisomeren. die sich nicht durch Drehungen zur Deckung bringen lassen, also eingeschlossen die Zahl der enantiomorphen Formen.
- 3. Ausgehend von der räumlichen Grundkonfiguration höchster Symmetrie ist zu untersuchen, ob diese vielleicht vieldeutig ist, d. h. ob es (ohne oder mit Freiheitsgrad in bezug auf die Metrik) analoge Verteilungen gleichwertiger Punkte bei niedrigerer Gesamtsymmetrie gibt. Derartige Symmetrien (Abbausymmetrien, Untergruppen der schon betrachteten) müssen berücksichtigt werden, wenn den Teilchen Symmetriebedingungen zukommen, die niedriger sind als diejenigen, welche \mathfrak{S}_k oder \mathfrak{U}_k verlangen. Es dürfen dann immer nur diejenigen Konfigurationen als identisch betrachtet werden, die sich durch Deckoperationen der Grundkonfigurationen ineinander überführen lassen. Wiederum erhält man durch Einsetzen und Entwickeln in die Symmetrieformeln die Isomerenzahlen bei dieser Voraussetzung.
- 4. Wir können den Abbau weiterführen, das Koordinationsschema prinzipiell gleich belassen, jedoch (mit oder ohne Berücksichtigung möglicher Freiheitsgrade der Lagenänderung) die Zahl einander gleichwertiger Punkte der Grundkonfiguration im Sinne einer Reduktion verändern. Für die verschiedenen stammverwandten Konfigurationen sind wieder die Symmetrie-

formeln aufzustellen und nach Einsatz der f-Werte die Reihen zu entwickeln. In jedem Fall ist das Schlussglied des Abbaues die Permutationsgruppe von der Ordnung 1 mit k! Isomeren (\mathfrak{F}_k) . Jede Ecke des Koordinationspolyeders ist dann grundsätzlich von jeder anderen verschieden, so dass nur die identische Permutation zur deckgleichen Konfiguration führt.

- 5. Sollen in einer Ebene alle k Punkte gleichwertig sein, so bilden sie um die Zentralstelle ein regelmässiges k-Eck. Die Annahme, alle möglichen Deckoperationen erster und zweiter Art seien für die Grundlagenkonfiguration bestimmend, führt zu einer \mathfrak{D}_k -Gruppe (Diedergruppe von der Ordnung 2 k). Sind nur die cyclischen Vertauschungen um die Hauptachse identitätsbestimmend, so wird die cyclische Gruppe \mathfrak{Z}_k massgebend. In beiden Fällen verfährt man zur Ableitung der Isomeren dieser Voraussetzungen im übrigen gleich wie oben.
- 6. Jede auf eine bestimmte Punktsymmetriegruppe rückführende Konfiguration ist auf ihre Deformationsfähigkeit unter Änderung des Koordinationsschemas bei gleichbleibender Koordinationszahlzuuntersuchen. Eskann ja eine dem Komplex der Koordinationsrichtungen entsprechende Form oder Formenkombination in eine Gestalt mit dazugehörigen Grenzformen übergehen, wobei trotz äusserlicher Veränderung des k.sch. die Zahl der Isomeren gleich bleibt.

Während die Beziehungen zwischen homöotyper Isomerie, Invariantenrechnung und Gruppentheorie schon lange bekannt sind und die formale rechnerische Lösung von bestimmten Aufgaben insbesondere auf dem Gebiet der organischen Molekularchemie mehrfach versucht wurde, ist meines Wissens die enge Beziehung der gestellten Aufgaben zur Lehre von der Symmetrie der Konfigurationen erst vor wenigen Jahren durch die Pólya-Formeln völlig erschliessbar geworden. Dabei blieb bis jetzt immer noch die Frage nach der Bedeutung verschiedener Isomerien offen. Ein engerer Konnex mit der Gesamtsymmetrielehre wird durch die nachstehende Untersuchung angestrebt.

Die Fragen, was für Gruppen zu berücksichtigen sind (z. B. in der Darstellung von A. C. Lunn und J. K. $Senior^1$)), wann Isomere als gleich oder ungleich anzusehen sind (Fragestellung von $P\delta lya$), ist nämlich anschaulich lösbar. Wir gehen dabei von den Fragestellungen des Chemikers aus. Diesem dienen die Isomerieverhältnisse vor allem zum stereochemischen Konstitutionsbeweis. Was lässt sich aus der Zahl homöotyper Isomere schliessen, was aus der Zahl der Isomeren bei weiterer Substitution? Wir werden sehen, dass die bis-

A. C. Lunn, J. K. Senior, Isomerism and constitution. J. Phys. Chem. 33 (1929), 1027—1079.

herigen Antworten und Schlussfolgerungen häufig unrichtig oder doch unvollständig waren.

1. Die Isomerieverhältnisse bei gegebenem oder vermutetem Koordinationsschema. Um eine Zentralstelle seien in erster Sphäre oder Pseudosphäre 6 Teilchen gleichartig gruppiert und substitutionsfähig. Inwiefern gestatten uns bei verschiedener Besetzung der Koordinationsstellen die Isomerieerscheinungen eindeutige Aussagen über das Koordinationsschema?

Wir betrachten zunächst das denkbar höchstsymmetrische räumliche Koordinationsschema. Die Punktgruppensymmetrie (von der die Krystallsymmetrielehre ein Teil ist) lässt sofort ableiten, dass dies das hexaedrische Schema mit dem Oktaeder als Koordinationspolyeder ist. In drei aufeinander senkrecht stehenden Richtungen und den zugehörigen Gegenrichtungen sind die Koordinationsstellen in gleichen Abständen von der Zentralstelle entfernt. Die Maximalsymmetrie der Konfiguration ist diejenige der Punktgruppe Oh, d. h. der kubisch holoedrischen Klasse. Allein die Symmetrielehre lehrt uns, dass die kubische Hyposyngonie¹), der dieses Schema angehört, 33 verschiedene Fälle aufweist, von denen 32 aus Ob und dem Hexaederschema durch Abbau der Symmetrie entstehen. Jedem dieser 33 Fälle kommen bestimmte Deckoperationen bzw. Symmetrieelemente zu, die in Fig. 1 in ihrer Lage zum Hexaeder dargestellt sind. Die Zahlen geben die Ordnungen der Symmetrien. Die gleiche Figur ergibt auch die Lage der Symmetrieelemente zum Koordinationsschema, da wir ja nur die Flächenmitte der Würfel durch Punkte zu ersetzen haben. Metrisch kann hiebei das Koordinationsschema, auch wenn es nur noch pseudokubisch ist, unverändert bleiben. Es kommt in diesem Falle die niedrige Symmetrie und damit die erhöhte Zahl der Isomeren, wie bereits S. 998 erwähnt, dadurch zustande, dass die Symmetrie des Zentralteilchens oder des Zentralradikals in Orientierung und Ordnung nur noch diejenige der jeweilen angegebenen Punktsymmetriegruppe ist. Es sind daher theoretisch alle Fälle zu berücksichtigen. Ist aber die Symmetrie nur pseudokubisch, so besitzt das Schema auch ausnützbare Freiheitsgrade, kann also angebbar deformiert werden. Dabei kann es unter Umständen in äusserlich stark verschiedene, z. B. im Grenzfall planare Schemata übergehen, deren Isomerieverhältnisse miterhalten werden.

Es ist mit Hilfe der *Pólya*-Formeln (Symmetrieformeln, Cyclenzeiger) leicht, bei beliebiger Substitution der Koordinationsstellen, für jeden der 33 Fälle die Zahl der Isomeren abzuleiten. Prinzipiell kommen für die sechs im Raume um einen Zentralpunkt verteilten Punkte die in Tabelle 6 dargestellten Gruppenbildungen in bezug auf einzelne Deckoperationen in Frage. Bei einer bestimmten Anordnung

¹⁾ Siehe darüber P. Niggli, Lehrbuch der Mineralogie und Kristallchemie, 3. Aufl., Bd. I, Verlag Gebrüder Borntraeger, Berlin 1941.

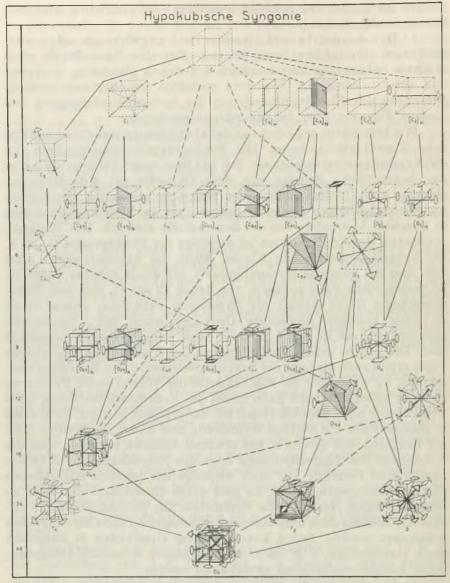


Fig. I.

sind gleichzeitig verschiedene Deckoperationen möglich und es müssen dann zur Gewinnung der gesamten Symmetrieformel die verschiedenen Deckoperationen zusammengezählt und durch die Ordnungszahl dividiert werden. So lautet beispielsweise bei kubisch holoedrischer Symmetrie O_h (Koordinationsoktaeder) die gesamte Formel:

$$1/48 \ (f_1{}^6 + 8\,f_6{}^1 + 6\,f_4{}^1f_1{}^2 + 6\,f_4{}^1f_2{}^1 + 8\,f_3{}^2 + 7\,f_2{}^3 + 9\,f_2{}^2f_1{}^2 + 3\,f_2{}^1f_1{}^4).$$

Tabelle 6.
Formeltypen für Sechspunktner.

f ₆ ¹	Cyclische Vertauschung durch Hexagyre oder Hexagyroide
$f_5^1f_1^1$	Fünf Punkte pentagyrisch vertauscht, einer auf Pentagyre
$f_4^1 f_2^1$	Vier Punkte tetragyroidisch vertauscht, zwei auf Tetragyroide
$f_4^1f_1^2$	Vier Punkte tetragyrisch vertauscht, 1+1 auf Tetragyre
f ₃ ²	Zweimal drei Punkte trigyrisch vertauscht
f ₃ ¹ f ₂ ¹ f ₁ ¹	Drei Punkte trigyrisch vertauscht, 2+1 auf Trigyre = Hexagyroide
f ₃ 1f ₁ 3	Drei Punkte trigyrisch vertauscht, 1+1+1 Punkte auf Trigyre
f.3	Dreimal je zwei Punkte einander zugeordnet
f ₂ ² f ₁ ²	Zweimal je zwei Punkte vertauschbar, 1+1 nur in sich selbst überführbar
f ₂ 1f ₁ 4	Zwei Punkte einander zugeordnet, $1+1+1+1$ nur in sich selbst überführbar
f ₁ ⁶	Alle sechs Punkte nur in sich selbst überführbar

Die Tabelle 7 lässt für alle 33 hypokubischen Fälle der Fig. 1 diese Symmetrieformeln zusammensetzen. Die Zahlen bedeuten die Koeffizienten der Einzelglieder der Summenformel. Die Ordnungszahl, mit der die Summen zu dividieren sind, ist in der Kolonne "Ordnung" zu finden. Wie sich im gesamten die sechs Punkte aufspalten, ist aus den zwei letzten Kolonnen ersichtlich. Bezeichnen wir mit x die in höchster Zahl auftretenden Teilchen der Koordinationsstellen, mit y, z, u, v, w, h, k (in der Reihenfolge ihrer Anzahlen) mögliche andere Teilchen, so sind für die Koordinationsstellen folgende 11 Fälle in Betracht zu ziehen:

Indem wir in die Symmetrieformeln der Tabelle 7 nachstehende Grössen einsetzen:

für
$$f_n = x^n + y^n + z^n + u^n + v^n + w^n + h^n + k^n$$
 und für
$$f_{-}^m = (x^n + y^n + z^n + u^n + v^n + w^n + h^n + k^n)^m$$

und nach den Potenzen von x, y, z ... entwickeln, erhalten wir die zugehörigen Isomerenzahlen. Sie sind nämlich gleich den Koeffizienten, die den Produkten x⁶, x⁵y, x⁴y² ... usw. zukommen.¹)

Die Tabelle 8 enthält diese Zahl der Isomeren, wobei in jedem Einzelfalle Anordnungen als verschieden angesehen werden, die nicht durch Operationen, welche der links stehenden Punktsymmetriegruppe zukommen, ineinander überführbar sind. Zwischen O_n und O liegt z. B. der Unterschied darin, dass (weil O_h Spiegelebenen enthält), die lediglich spiegelbildlich gleichen, also enantiomorphen Formen in O_h als gleich, in O als ungleich angesehen werden. Die

¹⁾ Über eine direkte Ableitung der Zahl der Isomeren gibt eine im Druck befindliche Arbeit: "Neuformulierung der Kristallographie" Auskunft.

der Symmetrieformeln für "Koordinationsoktaeder". Tabelle 7.

Einzelglieder und zugehörige Koeffizienten der Symmetrieformeln für "Noorainationsokvaeuer	Formen			Hexaeder			Bhomboeder bis Prisma		Rhomboeder, Trapezoeder, Prisma bis trigonale Dipyramide		Prisma + Pinal oid	(Incoming Advantagement)		Zwei Pyramiden	Prisma + Pinakoid	Prisma (Disphenoid) + Pinakeid		Zwei Pyramiden
strietormoln tu	Punktner			9			15	9			4+2			3+3	4+2	4+2	4+2	3 + 3
Symmo	Drd.	25	2.1	24	24	12	12	9	9	91	20	oc	oc	9	œ	oc	4	က
der		00	1	0	60	1	1			8		I	-	T.	T	00	1	-
ienten	$f_2^{\alpha} f_1^{\alpha} = f_2^{\alpha} f_1^{\alpha}$	6	60	6	ಣ	ಣ	ಣ	T		10	ಣ	5		ಣ	ಣ	-	-	1
oeffiz	f ₂ 3	7	9	1	-	d	7	-	ಣ	ಲ	22	Ì	-	1	00	03	J	1
rige K	£3	oc	oc	oc	œ	00	2	2	73	1	1	J	1	03	1	-	ľ	01
ugehö	f, 1f, 1	9	161	9	1		1	1		2		23	2	i	i	01	21	1
nnd z	$f_1 \iota f_1^{-2}$	9	9	1			1	1	T	01	01	1	O1	Y	1	1	1	1
lieder	F ₀ 1	00	1	Î	00	1	53	21	1	ı	1		1		i		1	L
inzelg	f.0	-	-	-	-	-	T	I		-	1	Н	1	1	_		-	н
E		0,	0	$T_{\rm d}$	T	T	Dad	Cai	D3	D _{4h}	D	D ₂ d(H)	Cth	C	Dzb(N)	D _{2d (N)}	20.	້ວຶ

Tabelle 7. Fortsetzung.

	Formen	Prisma + Pinakoid	Prisma (Pyramide) + zwei Pedien	Drei Pinakoide	Prisma + zwei Pedien	Drei Pinakoide	Zwei Domen + ein Pinakoid	Drei Pinakoide	Drei Pinakoide bzw. Sphenoide	Drei Pinakoide	Zwei Pinnkoide (Domen) + zwei Pedien	Zwei Pinakoide(Sphenoide) + zwei Pedien	Zwei Domen + zwei Pedien	Ein Pinakoid (Doma) + vier Pedien	Sechs Pedien	
	Punktner	+ 5	4+1+1	2 + 2 + 2	4 + 1 + 1	2 + 2 + 2	2 + 2 + 2		2+2+2		2+2+1+1		Z + Z + 1 + 1	2+1+1+1+1+1	1+1+1+1+1+1+1	
zung.	Ord.	+	∞ 4ı	oc	-		4		01		4		NI .	03	-	
r ortsetzung.	f ₂ 1f ₁ 4		04	00			1		1		04		1	I		
	$f_2^{-2}f_{\chi^2}$	-	8 -	00	0	2	1		1		Н		-			
	f_{2}^{α}		1 1	-		1	-		1					1		
	£3.2	01	1.1	1			1		-		[]	1		
	$f_4^{1}f_2^{1}$		1 1	1		İ	1		1				1	-		
	f,1f,2 f,1f2	i i	04 04	1			1		Ţ						-	
	f_{01}		1.1	1			1		1		l		1		1	
	f. 6	-		П	,		_		П		_	۲	-4	-	Т	
		D _{2(N)} C _{2h(N)}	^†``	D ₂₁₁ (H)	C2v(N)	D _{2(H)}	C2v(M)	C _{2h} (H)	C ₂ (N)	C,	C2v(H)	C _{2(H)}	C _{s(N)}	C _{s(H)}	C ₁	

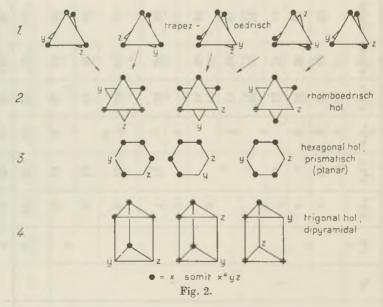
		Is	somere	nzahle	n für	(AB ₆)	hypokı	Isomerenzahlen für (AB6) hypokubisch (E	= mit Er	= mit Enantiomorphie).	hie).	
	x _e	x^5y	x^4y^2	x4yz	x3y3	x^3y^2z	x3yzu	$x^2y^2z^2$	nz, Å, zn	x2yzuv	xyzurw	
10 _n					G	cr	4	5	9	6	15	kubisch ohne E
2.0			01	01	2	0	- N	0	œ	15	30	kubisch mit E
3 T _d					0	4	0	0	6	15	30	
4 Th		-			0	10	00	7	11	18	30	
5 T				65	4		0.0	6	16	30	09	
6 D _{3d}			65		60	0	10	11	16	30	09	rhomboedrisch ohne E zugleich planar D _{6 h}
7 C31						o.	90	16	30	09	120	
8 D ₃					,	3	20	18	30	09	120	rhomboedrisch mit E
9 D _{4 h}				10		00	12	12	17	27	45	tetragonal ohne E
10 D ₄	-		-			6	la T		24	45	90	tetragonal mit E
11 D _{2d(H)}	-		+		2	9.	eT.	15	25	45	90	
12 C _{4h}					#	O.	18		26	48	90	
13 C _{3v}		e		9	9	12	20		32	09	120	
14 D _{2h(N)}		ų.			45	11	18	18	27	48	- 80	rhombisch (N) ohne E
15 D _{2d(N)}			1.0	1-	9	12	21		29	51	06	
16 S ₄				200	.9	16	30	24	46	90	180	

Tabelle 8. Fortsetzung.

$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$						3						
2 6 8 20 40 30 60 120 240 6 8 6 16 30 27 46 90 180 3 6 16 30 24 46 90 180 3 6 16 30 24 46 90 180 3 7 15 24 21 33 54 90 180 4 9 15 10 30 60 48 90 180 180 4 9 15 10 30 60 48 90 180 360 4 9 16 12 32 60 48 92 180 360 5 11 21 42 33 58 102 180 360 6 15 30 60 48 92 180 360 6 15 <	X g	X ₂ X	X X	x4yz	×3	X3VZ	x3yzu	X2y2Z2	x³ ²zu	vayzuv	xyzuvw	
3 6 16 30 27 46 90 180 3 6 16 30 24 46 90 180 3 6 16 30 24 46 90 180 3 6 16 16 30 24 46 90 180 3 7 15 21 21 33 54 90 180 4 9 15 10 30 60 48 90 180 180 4 9 16 12 32 60 48 92 180 360 5 11 21 42 33 58 102 180 5 11 21 42 33 58 102 180 5 11 21 38 72 54 102 192 360 6 15 30 60 120		c	10	10	00	20	40	30	09	120	240	
3 6 13 21 18 30 51 90 180 3 6 16 16 30 24 46 90 180 3 6 18 30 27 48 90 180 4 9 15 11 20 36 48 90 180 8 14 24 42 33 58 102 180 8 14 24 42 33 58 102 180 9 16 12 32 60 48 90 180 360 5 11 24 42 33 58 102 180 4 9 16 12 32 60 48 92 180 360 5 11 21 14 38 72 54 102 192 360 6 15 30 60		٩	9	œ	9	16	30	27	46	06	180	rhombisch (N) mit E
3 6 9 7 15 24 46 90 180 3 6 9 7 15 24 21 33 54 90 180 4 9 15 18 30 27 48 90 180 180 9 15 10 30 60 48 90 180 180 4 9 16 12 32 60 48 92 180 360 5 11 21 14 38 72 54 102 180 360 6 15 30 60 48 92 180 360 6 15 30 60 48 92 180 360			λ	oc	4	13	21	18	30	51	06	
3 6 9 7 15 24 21 33 54 90 1 8 18 30 27 48 90 180 1 11 8 12 36 36 30 52 96 180 1 12 14 24 42 33 58 102 180 1 12 12 32 60 48 92 180 360 1 11 21 14 38 72 54 102 192 360 5 11 21 14 38 72 54 102 192 360 6 15 30 60 120 90 180 360 720			3			16	30	24	46	06	180	
3 6 18 30 27 48 90 180 7 11 8 20 36 30 52 96 180 8 14 24 42 33 58 102 180 360 4 9 16 12 32 60 48 92 180 360 5 11 21 14 38 72 54 102 192 360 6 15 30 20 60 120 90 180 360 720				G	7	15	2.1	21	33	54	90	rhombisch (H) ohne E
4 9 16 12 32 36 30 52 96 180 4 9 15 10 30 60 48 90 180 360 4 9 14 24 42 33 58 102 180 5 11 21 14 38 72 54 102 192 360 6 15 30 20 60 120 90 180 360 720		ಣ	9		(18	30	27	87	06	180	rhombisch (H) mit E
9 15 10 30 60 48 90 180 360 8 14 24 42 33 58 102 180 9 16 12 32 60 48 92 180 360 11 21 14 38 72 54 102 192 360 15 30 20 60 120 90 180 360 720	-		1-	11	20	20	36	30	52	96	180	
8 14 24 42 33 58 102 180 9 16 12 32 60 48 92 180 360 11 21 14 38 72 54 102 192 360 15 30 20 60 120 90 180 360 720			6	15	10	30	09	48	06	180	360	
9 16 12 32 60 48 92 180 360 11 21 14 38 72 54 102 192 360 15 30 20 60 120 90 180 360 720			00	14		24	42	33	53	102	180	
11 21 14 38 72 54 102 192 360 15 30 20 60 120 90 180 360 720		4	G.	16	12	32	09	20,4	92	180	360	
15 30 20 60 120 90 180 360 720		5	11	21	14	38	72	54	102	192	360	
		9	15	30	20	09	120	06	180	360	720	mit allen E

Zahl für O enthält daher die zueinander enantiomorphen Formen als verschiedene. Ist für x^2yzuv in O_h die Isomerenzahl 9, in O_h 15, so bedeutet dies, dass 6 der Konfigurationen von O_h einen derartigen Bau haben, dass zueinander enantiomorphe Typen konstruierbar sind. Daher wird die Gesamtzahl der Isomeren für $x^2yzuv = 9-6+6+6=15$.

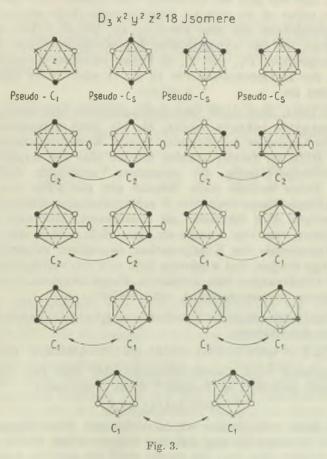
Um niedrige Symmetrieverhältnisse verständlich zu machen, sei beispielhaft die Symmetrie D_{3d} betrachtet. Jetzt ist im Grundschema nur noch eine Trigyre mit ihren Spiegelebenen und den drei darauf senkrechtstehenden Digyren (+ Symmetriezentrum) vorhanden. Das Koordinationspolyeder ist ein Pseudooktaeder, das in Wirklichkeit aus einem Rhomboeder + Basispinakoid besteht. Es kann metrisch dem kubischen Oktaeder entsprechen; an der Zahl der Isomeren ändert sich aber nichts, wenn die Rhomboederflächen andere Winkel miteinander bilden als die Oktaederflächen. Ja, wie aus der Krystallkunde hervorgeht, wird das hexagonale Prisma zur Grenzform des Rhomboeders, so dass bei planarer Anordnung der 6 Koordinationsstellen in einem regelmässigen Sechseck Symmetrieformel und Isomerenzahl gleich bleiben.



Eine nähere Untersuchung zeigt, dass auch bei anderen Symmetrien wie C_{6v} , $D_{6|h}$ für die planare Anordnung nichts neues hinzukommt und dass eine trigonale Dipyramide (Koordinationspolyeder, trigonales Prisma + Basispinakoid) die gleiche pauschale Symmetrieformel aufweist. Deshalb ergibt die Zeile für D_{3d} (rhomboedr. hol.) zugleich die Isomerenzahlen für den Benzolring, und aus der Zahl

der Isomerien lässt sich nicht entscheiden, ob im Benzol die Kohlenstoffatome rhomboedrisch, pseudooktaedrisch, hexagonal prismatisch oder trigonal dipyramidal (Ladenburg'sche Formel) angeordnet sind (Fig. 2, Zeilen 2, 3, 4). Lassen wir die Spiegelungen wegfallen, so resultiert die Symmetrie D_3 (trapezoedrisch), das Rhomboeder kann durch ein Trapezoeder ersetzt sein; bei nicht planarer Anordnung wären entsprechend Fig. 2, Zeile 1, zwei Dreiecke beliebig gegeneinander verschoben, was z. B. die Zahl der Isomeren von x^4yz sofort auf 5 erhöht.

Für D_3 und die Formel $x^2y^2z^2$ sind schliesslich zur Illustration in Fig. 3 die 18 Isomeren gezeichnet. Das Pseudooktaeder, das nach Fig. 2 zu einem Trapezoeder werden kann, ist in diesen Figuren so gezeichnet, dass eine Pseudooktaederfläche von oben gesehen wird.



Jeder Figur ist die ihr noch zukommende Restsymmetrie (C_2, C_1) beigeschrieben. C_i und C_s können nur Pseudosymmetrien sein, da sie

in D_3 nicht enthalten sind. Die zueinander enantiomorphen (spiegelbildlich gleichen) Anordnungen sind durch Pfeile verbunden. Sie würden bei der Symmetrie D_{3d} als nicht voneinander verschieden betrachtet werden, wodurch sich die Isomerenzahl wieder auf 11 erniedrigt und jetzt C_s und C_i gelten. Denkt man sich (analog wie in Fig. 2) in Fig. 3 die Dreiecke (oben und und unten) etwas gegeneinander verschoben, was dem Übergang vom Rhomboeder zum Trapezoeder entspricht, so wird sofort ersichtlich, dass sich die 18 gezeichneten Isomeren von Fig. 3 nicht durch Drehungen ineinander überführen lassen.

So wird der mit der Symmetrielehre Vertraute in jedem Falle angeben können, was für Freiheitsgrade der Grundkonfiguration zukommen und wie sich die Isomeren voneinander unterscheiden. Die Tabelle 8 selbst ist als eine Art Bestimmungstabelle angelegt. Findet man beispielsweise nur eine Form 5x 1y, jedoch 3 Isomere 4x 2y, so kommen für das hypokubische Koordinationsschema 2 Punktsymmetriegruppen D_{3d} und C_{3i} in Frage, zwischen denen bei Untersuchung der Isomerenzahlen für 4x 1y 1z oder 3x 3y eindeutig zu entscheiden ist.

Man sieht, dass diese Bestimmungstabelle mit einer grösseren Mannigfaltigkeit bekannt macht, als bis jetzt normalerweise von Seiten der Chemiker angenommen wurde. Konstitutionsbestimmungen mit Hilfe der Isomerenzahlen müssen also viel sorgfältiger und unter Berücksichtigung der gesamten Variabilität durchgeführt werden. Dabei enthält diese Tabelle nur die Fälle des Sechserkoordinationsschemas (oder der 6 substituierbaren Stellen), die unmittelbar aus dem Oktaeder als Koordinationspolyeder ableitbar sind. Wissen wir von vornherein gar nichts über die denkbare Maximalsymmetrie der Konfiguration, so müssen weitere Fälle berücksichtigt werden, und wiederum lässt sich von vornherein angeben, was für Gliederungen rein formal in Frage kommen, und welcher Anteil davon raumgeometrisch interpretierbar ist.

Formal lässt sich (siehe Tabelle 6) von $\rm f_1{}^6$ zu $\rm f_6{}^1$ folgende Gruppeneinteilung durchführen:

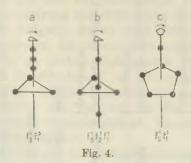
$$f_1^{\ 6},\ f_2^{\ 1}f_1^{\ 4},\ f_2^{\ 2}f_1^{\ 2},\ f_2^{\ 3},\ f_3^{\ 1}f_1^{\ 3},\ f_3^{\ 1}f_2^{\ 1}f_1^{\ 1},\ f_3^{\ 2},\ f_4^{\ 1}f_1^{\ 2},\ f_4^{\ 1}f_2^{\ 1},\ f_5^{\ 1}f_1^{\ 1},\ f_6^{\ 1}\dots$$

Ausgehend vom Koordinationsoktaeder sind (als Symmetrieoperationen gedeutet) in Tabelle 7 nicht erschienen:

$$f_3^1f_1^3$$
, $f_3^1f_2^1f_1^1$, $f_5^1f_1^1$.

Die erste von diesen würde bedeuten: eine Trigyre ordnet 3 Punkte einander zu und auf der Trigyre selbst finden sich drei weitere Punkte (Fig. 4a); die zweite stellt ein gleiches Schema dar; es sind jedoch zwei der drei auf der Trigyre gelegenen Punkte (z. B. Trigyre + Symmetrieebene \(\pm \) dazu) einander gleichwertig (Fig. 4b).

Das dritte Schema bezieht sich auf eine Pentagyre, die 5 Punkte einander zuordnet, während der sechste auf der Pentagyre selbst liegt (Fig. 4c).



Diese Schemata sind somit alle punktgruppentheoretisch deutbar, doch können die Punkte der Figg. 4a und 4b nicht ein und derselben Sphäre angehören. Generell muss jedoch die Tabelle 8 durch Tabelle 9 erweitert werden.

Tabelle 9.
Weitere Konfigurationen von 6 Punkten und ihre Isomeren.

Sym- metrie	z. B. Fig.	X ⁶	x ⁵ y	x4y3	x4yz	x^3y^3	x³y²z	x³yzu	x ² y ² z ²	x²y²zu	x ² yzuv	xyzuvw
C_3	4a	1	4	7	14	8	22	44	30	60	120	240
C ₅	4 c	1	2	3	6	4	12	24	18	36	72	144
C _{3 v}	4a	1	4	7	13	8	19	34	24	42	72	120
D_3	4b	1	3	5	8	6	13	22	18	32	60	120
C _{3 h}	4b	1	3	5	9	6	14	26	18	34	64	120
C _{5 v}	4e	1	2	3	4	4	8	12	12	20	36	72
D _{3 h}	4b	1	3	5	8	6	12	19	15	24	38	60

Vom Standpunkte der Permutationsgruppen aus sind noch andere Aufteilungen möglich, z. B. von der Ordnung 9, 18, 20, 36, 60, 72, 120, 360, 720, die indessen durch eine einzige Punktsymmetriegruppe (als Kombination der darin vorkommenden Punktzähligkeiten) nicht unmittelbar deutbar sind. A. C. Lunn und J. K. Senior¹) haben auch diese Permutationsgruppen betrachtet und ausdrücklich die geometrische Deutung von der Berechnung numerischer Daten getrennt. Hier wird der entgegengesetzte Standpunkt eingenommen, indem entsprechend den lösbaren stereochemischen Aufgaben die Gruppentheorie nicht lediglich formal angewendet wird, sondern ein-

¹⁾ A. C. Lunn und J. K. Senior, loc. cit.: Die Isomerenzahlen für Sechser- und Viererkoordinationsschema sind auch in den von Lunn und Senior gegebenen Tabellen enthalten, jedoch ohne Bezugnahme auf zugehörige Punktsymmetrien und Konfigurationen.

Tabelle 10.

Einzelglieder und zugehörige Koeffizienten der Symmetrieformeln für das hypokubische Tetraederschema mit

seinen Deformationen.		Vierpunktner ohne Freiheitsgrad ohne Enantiomorphie	Tetraeder mit Enantiomorphie	Vierpunktner mit Freiheitsgrad Grenzform tetragonal	fetragonales Disphenoid prismatisch	Vierpunktner mit Freiheitsgraden Grenzform rhombisch rhombisches Disphenoid prismatisch	(3+1)-Punktner, trigonal pyramidal+ pedial	(2+2)-Punktner, Domen bis Pinakoide	(3+1)-Punktner, trigonal pyramidal+pedial mit Enantiomorphie	(2+2)-Punktner, Sphenoide bis Pinakoide	(2+1+1)-Punktner, Doma oder Pinakoid + 2 Pedien	(1+1+1+1)-Punktner, Pedien	
seinen D	Ordnung	24	112	00	÷	4	. 9	4	60	01	01	1	
	$f_2^{-1}f_1^{-2}$	9	1	01	I	1	60	01	1	-1	1	1	
	£.	60	60	60	7	60	1	1	1	-	1	1	
	f,1f,1	oc	00	T	1	1	01	-	01	1	1	1	
	1,1	9	1	01	ON.	1	1			1	1	1	
	£1.4	н		F4	Н	H	r-d	Н	-	П	П	П	
		T	E	Dgd	S	D_2	C3v	C2y	°°	C ₂	o"	C C	

Tabelle 12.

Symmetrieformeln und Koeffizienten der Einzelglieder für das hypokubische Koordinationshexaeder.

Symmetrieformein und Koeffizienten der Einzelglieder für das nypokubische Koordinationsnexaeuer.	Ordnung	48	24 Achtpunktner ohne Freiheitsgrad oktaedrisches Schemn	24	24 Sternmetteer als Detracdor	[2]	16 Achtpunktner, tetragonale Dipyramide	8	8 Actuphunctiet, tetragonale Lapyramide	8 2 Vierpunktner, tetragonale Disphenoide .	8 2 Vierpunktner, tetragonale Pyramide	8 Achtpunktner, tetragonale Dipyramide	4 2 Vierpunktner, tetragonale Pyramide	4 2 Vierpunktner, tetragonale Disphenoide	8 Achtpunktner, rhombische Dipyramide	8 2 Vierpunktner, rhombische Prismen	12	6 Seehs- und Zweipunktner, Rhomboeder und Pinakoid	9
inzelgliede	6.24.4	9	1	1	9	j	01		-	01	63	1	1	1	1	01	65	1.	1
der E	f24	13	6	1-	60	62	6	10	10	02	60	02	-	1	1-	ic.	+	н	00
fizienten	f32f12	GO	GC .	QE.	ac	at	ı	1	1	1	i	T	1	ī	1	1	2	0.1	67
und Koet	L ⁰ JL ⁰ J	00	+	cc	1	-	+	+		1		-1	1	F	ï	-1-	01	Ç4	1
meln	ℓ_4^{-3}	129	6	1	9		+	01	Ç1	01	61	-	21	01	-	1		1	1
rietor	f. 8				-	-	-	-	1	-	П		-	-	-	-	-	Н	-
Symmet		0,	0	\mathbb{T}_{t_0}	T	Ţ	Dith	D_{+}	D _{2d(N)}	D _{2d} (H)	Chr	Cun	5	02	D _{2h(H)}	D _{2h(N)}	Dgd	Can	D

Tabelle 12. Symmetrieformeln und Koeffizienten der Einzelglieder für das hypokubische Koordinationshexaeder.

		Achtpunktner ohne Freiheitsgrad		9 Vionnumbran als Termadon	4 ver purincipal and accounted	Achtpunktner, tetragonale Dipyramide	A STATE OF THE STA	Achtpunkther, terragonale Dipyramide	2 Vierpunktner, tetragonale Disphenoide	2 Vierpunktner, tetragonale Pyranide	Achtpunktner, tetragonale Dipyramide	2 Vierpunktner, tetragonale Pyramide	2 Vierpunktner, tetragonale Disphenoide	Achtpunktner, rhombische Dipyramide	2 Vierpunktner, rhombische Prismen		Sechs- und Zweipunktner, Rhomboeder und Pinakoid	
Ordnung	48	54	24	24	12	16	oc	00	oc	00	00	-	+	00	00	12	9	9
f22f14	9	1	1	9	1	01	1	1	কা	01	1	1	T	1	01	00	1	1
10.4	13	6	1-	00	00	6	10	NO.	60	00	00	H	7	1-	10	+	H	00
£3,5£3	20	œ	œ	00	00	-	1	1	1		1	1	Ī	1	ı	03	01	01
$f_0^{-1}f_2^{-1}$	orc .	1	œ		-	1	-	-	1		1	1	1	-	-	C4	64	1
f. 2	12	9	6	9	I,	7	01	01	01	01	*	29	03	1		T	1	1
f, n	7~4	+=		ᆏ	-	-	Н	-	-	H	-	704	7-4	_	-		Н	-
	0,1	0	$T_{\rm h}$	Td	T	Dah	D _t	D _{2d} (N)	D2d(H)	C ₄ v)	Cth	5	- *s	D _{2h(H)}	D _{2h(N)}	Dad	C ₃₁	Dy

Tabelle 12.

		2 Drei- und 2 Einpunktner trigonale Pyramiden und Pedien	2 Vierpunktner als rhombische Disphenoide oder	Prismen	2 Vierpunktner als rhombische Pyramiden	2 Vierpunktner als monokline Prismen	4 Zweipunktner als Domen	1 Vierpunktner (Prisma)+2 Zweipunktner (Domen)	1 Vierpunktner (Prisma)+2 Zweipunktner (Domen)	2 Dreipunktner (Pyramiden)+2 Einpunktner (Pedien)	4 Zweipunktner (Sphenoide)	4 Zweipunktner (Sphenoide und Pinakoide)	4 Zweipunktner (Domen)	4 Zweipunktner (Pinakoide)	2 Zweipunktner (Domen)+4 Einpunktner (Pedien)	8 Einpunktner (Pedien)	
zung.	Ordnung	9	+	+	4	7	+	4	*	00	01	67	01	61	04	1	
rortsetzung.	f22f14	00	4	T			94	1	1			1	1		-	1	
	Ž.	1	60	07	52	63	н	01	03	T	-	-	-	-	1	1	
	$f_{3}^{2}f_{1}^{2}$	94	J				1			01	ı		-1	1		1	
	f ₆ 1f ₂ 1	1	1		1		P	1	1	1	ľ						
	5.7	1	Ļ	1		1	1			1	1	1	1	1	1	ľ	
	f,s	-	-	-	_	_			-		_	-			П		
		C ₃ v	D _{2(H)}	D2(N)	C2v(H)	Сен(н)	C ₂ v(N)	C2v(M)	C2h(N)	°2°	C2CH)	C2(N)	C _{s(H)}	, o	C _{s(N)}	C ₁	

Tabelle 13.

ī		-					_						
	xy zu vw bk	4032(
	yz wh wh	20160											
reder.	x ² y ² zu vw	280 420 840 1680 560 1120 1680 3360 6720 2520 5040 10080 20160 40320					88						
shex	u z z z u	5040				(5)						
hypokubischen Koordinationshexaeder.	2 2 4 X	2520				24	75						
pordi	7x 2x 4n 8	6720				1	I						
en K	2 2 2 N	3360			1		48						
bisch	x x x x x x x x x x x x x x x x x x x	1680				J	92						
poku	z v z	1120			4	-1	35						
hy	N N N	260			O.F	1	40						01
Symmetricformeln beim	yz uv	1680			-)	1	24						
ncln	y x x x x x x x x x x x x x x x x x x x	840				1	36						
forn	8 % 8 %	420			1	12	32						
etric	N N N	280		1	4	1	824						
ymm	7× 75.	70	91	1	4	9	7						
er S	x x x x x x x x x x x x x x x x x x x	336		T	1	1	24					9	
er de	N A N	168	-	L	1	1	20				F	6.0	
Glieder der	* 5.	26		1	01	1	12				-	-	01
der G	N K	99		1	0.0	1	52			0.8	1	9	0
n d	7 × 0	80	-	-	-	4	90			-	-	00	+
iente	* >	00	1		01	1	4		-	-01	H	00	0
Koeffizienten	×	\vdash	H		\vdash		H	H	-	-	-	-	H
Ko		f,4	£2=	forf21	£,4f,z	£24	£3£3	£,1	1,12,63	£,16,2	f2462463	$f_5 \iota f_1 s$	£3£21

Isomerenzahlen für das hypokubische Koordinationshexaeder der kz 8. Tabelle 14.

	xyz uvw hk	840	1680	1680	1680	3360	2520	5040	5040	5040	10080	3360	6720	6720	6720	13440
	x² yz uvwh	420	840	840	840	1680	1260	2520	2520	2520	5040	1680	3360	3360	3360	6720
	MA nz	216	420	420	432	840	636	1260	1272	1260	2520	852	1680	1704	1680	3360
en)	X y z	114	210	210	228	420	324	630	648	630	1260	438	840	876	840	1680
ntunge	x ² y z	89	114	112	126	216	180	330	342	324	636	236	432	456	424	840
onsric	x3 yz uvw	140	280	280	280	560	420	840	840	840	1680	560	1120	1120	1120	2240
Koordinationsrichtungen)	Anz Zuv	92	140	140	152	280	216	420	432	420	840	292	260	584	260	1120
s Koor	x z²u	42	20	70	20	140	112	210	224	210	420	154	280	308	280	260
Oktaedernormalen als	x ³ y ³ zu	30	48	48	09	96	2.0	140	152	140	280	901	188	212	188	376
norms	X X Z	17	24	24	34	44 00	40	70	80	70	140	22	94	114	94	188
taeder	x ⁴ y zuv	38	70	70	92	140	108	210	216	210	420	146	280	292	280	260
	X4, 2	22	35	35	44	70	57	105	114	105	210	462	140	158	140	280
Koordinationspolyeder,	x y ² z ²	16	22	21	27	38	65	09	65	57	108	47	92	98	72	140
odsuc	y x	10	13	13	20	26	21	35	42	35	70	31	48	62	48	96
inatic	X 4	9	7	9	6	10	10	13	15	12	20	12	16	20	14	26
Coord	x5 yzu	10	14	14	20	28	24	42	48	42	84	34	56	99	56	112
als K	x 5 y -z	9	7	7	12	14	13	21	26	21	42	19	28	30	28	26
(Hexaeder	X eyz X 5 y 3	ಣ	ಣ	ಣ	9	9	55		10	7	7	90	10	16	10	20
Нехв	x eyz	ಣ	ಣ	ಣ	9	9	5	[-0	10	_	14	∞	10	16	10	20
	Xey2	ಞ	က	ಲ	4	4	20	9	7	5	00	9	7	6	9	10
	x ⁷ y	-		-	62	2	-	+	23		2	22	67	4	22	4
	M		-	-		-		-			-	-	\vdash			
		O_{h}	0	$T_{\rm p}$	$T_{\rm d}$	L	$D_{4\mathrm{ft}}$	$D_4D_{2d(N)}$	D2d(H)C4v	Cth	C, S,	D _{3d}	D_3	C _{3 v}	င္ဒ	్ప

Isomerenzahlen für das hypokubische Koordinationshexaeder der kz 8, Tabelle 14.

	xyz uvw hk	5040	10080	20160 20160 40320
	x2 yz uvwh	2520 2520 5040	5040	10080
	x ² y ² Zu Vw	1260 1272 2520	2532	5040
	х ² у ² Z ² шv	630 648 1260	1278	2520 2556 5040
	x ² y ² z ² u ²	336 348 648	660	1272 1296 2520
	x3 yz uvw	840 840	1680	3360 3360 6720
	x ³ y ² zuv	420 432 840	864	1680 1704 3360
	x y ²	210 224 420	434	840
	x ³ y ³ zu	140	304	560 584 1120
20	x y.	70 80 140	150	280 300 560
(Fortsetzung)	x^4y x^3y x^3y^3 z^2	210 216 420	426	840 852 1680
(Fort:	X^4 X^4 X^4 Y^2 Y^2 Y^2	105	219	420 438 840
	X4 y	63	119	216 226 420
H	x x X	35 42 70	77 8	140 154 280
	X5 X5 X4y4	14 16 22	24 26 26	38 20 20
	x5 yzu	24 48 48 44 48	96	168 180 336
H	X 5 X Z Z Z	26 26 42	47	94 84
	X 5 V 5	10 10	17	34 34 56
	x ⁸ yz	7 0 4	17 20	34 28
	x y xey2 x8yz x5 y3	r & 0	12	18 88
	x y	H 62 63	es 4	4 9 %
ı	× 88		-	
		$D_{2h(H)} \\ D_{2h(N)} \\ D_{2(H,N)} \\ C_{2v(H)} \\ C_{2h(H)}$	$\begin{bmatrix} C_{2V(M)} \\ C_{2b(N)} \end{bmatrix}$ $C_{2v(N)}$ $C_{2v(N)}$	$C_{2(N)}$ C_{i} C_{i} C_{1}

Naturgemäss enthält auch Tabelle 14 eine Fülle von Aussagen, die sich nicht mehr lediglich auf das oktaedrische Koordinationsschema beziehen. Die Zahl der Isomeren, die bei Substitution von 8 substitutionsfähigen Stellen entsteht, ist ja einzig und allein von der Symmetrieformel bzw. dem Cyclenzeiger abhängig. Ganz verschiedene Konfigurationen mit gleichartiger genereller Symmetrieformel ergeben die gleiche Zahl von Isomeren. So sind in Tabelle 14 die Zahl der Isomeren für die Symmetrie D_2 , $C_{2v(H)}$, $C_{2h(H)}$ des oktaedrischen Koordinationsschemas gleich der Zahl der Isomeren, die bei der Substitution von H in der Naphthalinoder Anthrachinonformel entstehen.

Umgekehrt enthält die Tabelle 14 nicht alle Symmetrieformeln, die 8 substitutionsfähigen Stellen einer Molekel zukommen können. Weder fünf-, sechs-, acht- oder siebenzählige Symmetrieachsen, noch Anordnungen mit 1, 2 oder 3 Punkten auf einer zwei-, vier-, fünf-, sechs-, sieben- oder achtzähligen Achse sind in Betracht gezogen. Einzelne dieser Deckoperationen sind in Tabelle 13 (unterer Teil) anhangsweise angeführt, andere Permutationsgliederungen haben schon Lunn und Senior gegeben. Wie im Falle des Sechserschemas ist es ohne weiteres möglich, alle raumgeometrisch überhaupt deutbaren Permutationsgruppen aufzustellen.

In der organischen Chemie treten noch relativ häufig Formeln mit acht Substitutionsmöglichkeiten auf, die den Symmetrien

$$\frac{f_1^{8} + f_2^{3}f_1^{2}}{2}$$

oder

$$\frac{f_1^{8} + f_2^{1}f_1^{6}}{2}$$

entsprechen. Für sie lauten die Isomerenzahlen:

$-\frac{\mathbf{f_1}^8\!+\mathbf{f_2}^3\mathbf{f_1}^2}{2}$	x ⁸ x ⁷ 1 5		² x ⁶ yz 29	x ⁵ y ³ 31	x ⁵ y ² z 2	x ⁵ yzu 168	x ⁴ y ⁴ 38	$x^{4}y^{3}z$ 143
$\frac{f_1^{6} + f_2^{1}f_1^{6}}{2}$	1 7	22	43	41	117	228	50	185
$\frac{\mathbf{f_1}^8 + \mathbf{f_2}^3 \mathbf{f_1}^2}{2}$	x ⁴ y ² z ² 216	x ⁴ y ² zu 423	x ⁴ yzuv 840	x ³ y ³ z 286	2 ² x ³ y 56		³ y ² z ² u 846	x ³ y ² zuv 1680
$\frac{f_1^{8}\!+f_2^{1}f_1^{6}}{2}$	270	525	1020	3 50	68	0	990	1920
$\frac{\mathbf{f_1^8} + \mathbf{f_2^3} \mathbf{f_1^2}}{2}$	x³yzuvw 3360	$x^2y^2z^2$		² z ² uv 526	x ² y ² zuv 5040	w x ² yzı 100		xyzuvwhk 20160
$\frac{\mathbf{f_1}^8 + \mathbf{f_2}^1 \mathbf{f_1}^6}{2}$	3720	1440) 2	790	5400	104	140	20160

Absichtlich ist bei den vorangegangenen Betrachtungen von einfachen, in den Molekeln und Krystallen jedoch häufigen Koordinationsschemata ausgegangen worden. Die Grundprinzipien lassen sich an ihnen am einfachsten erläutern. Die relativ grosse Zahl verschiedenartiger Substituenten spielt in der präparativ wenig ausgebauten Molekularchemie anorganischer Verbindungen zwar heute noch keine grosse Rolle, wird jedoch von grosser Bedeutung bei der Beurteilung der Begriffe geregelte und ungeregelte Mischkrystalle, von denen eine zweite Mitteilung handeln wird. Die organische Chemie hat es im übrigen häufig mit Graphen zu tun, die als Bäume oder Setzbäume bezeichnet werden, und deren Isomerieverhältnisse schon vielfach abgeleitet wurden. Man erinnere sich beispielsweise, dass für $C_{20}H_{40}XY$ über 49 Millionen Isomere möglich sind.

Vorläufig wollen wir an den bereits genannten einfachen Beispielen noch die einwandfreie Lösung der zweiten wichtigen Frage der Molekularchemie erläutern.

2. Bestimmung der Konstitution eines Gliedes der Isomerenreihe durch weitere Substitution. Verschiedene homöotype Isomere werden sich durch verschiedene Symmetrie oder verschiedene Lage der Symmetrieelemente zu den stellungsvariabeln Teilchen unterscheiden (siehe z. B. Fig. 3). Wie schon S. 997 erwähnt, wird dadurch die Zahl zugeordneter Isomeren bei weiterer Substitution bedingt und diese Tatsache wird zur Konstitutionsaufklärung benutzt. Gewöhnlich leitet der Chemiker die Zahl der zu erwartenden neuen Isomeren durch Probieren ab. Die Aufgabe ist jedoch symmetriegemäss streng zu lösen. Bei höchstsymmetrischem Koordinationsschema ist z.B. aus x⁵y sofort ableitbar, dass es zwei und nur zwei Isomere x4y2 gibt (Fig. 5). x5y hat die Maximalsymmetrie der Punktsymmetriegruppe C_{4v}, d. h. die 5x zerfallen in 4x' gleichwertige und 1 x". Geht man daher von x5y aus und substituiert ein weiteres x durch y, so muss es zwei Isomere x4y2 ergeben. Welches von den 4 gleichwertigen x' substituiert wird, ist gleichgültig (Begriff der Gleichwertigkeit), gibt also nur einen Fall. Dieser aber ist prinzipiell verschieden von demjenigen, der entsteht, wenn x" durch y ersetzt wird. Es entstehen die Figg. 5a und 5b.

Die Fig. 5a besitzt die Symmetrie C_{2v} , d. h. die 4x zerfallen in 2x' und 2x''. Die Fig. b gehört der Punktsymmetriegruppe D_{4h} an, d. h. es sind alle x einander gleichwertig. Daraus folgt nun zwangsläufig, dass bei weiterer Substitution Fig. 5a zwei Isomere, Fig. 5b aber nur 1 Isomeres x^3y^3 ergibt, denn in Fig. 5a kann ich entweder ein x' oder x'' durch ein weiteres y ersetzen. Man erhält beispielhaft die Figg. 5c, d, e.

Fig. 5c ist gleich Fig. 5e, d. h. es gibt im gesamten nur 2 Isomere x^3y^3 ; das eine wird ausgehend von beiden Isomeren x^4y^2 erhalten, das andere nur von dem einen Isomeriefall x^4y^2 . Natürlich leitet sich daraus weiter ab, dass Fig. 5c (oder e) 2 Isomere x^2y^4 ,

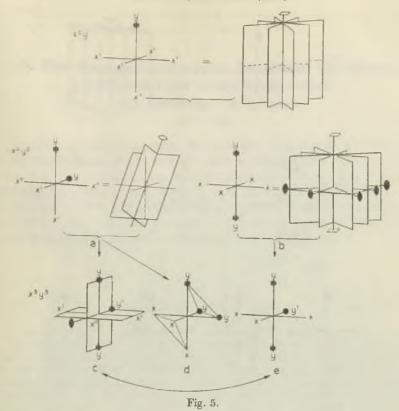


Fig. 5d jedoch nur ein Substitutionsprodukt x²y⁴ ergibt usw. Wird bei fortgesetzter Substitution die Artenzahl der Substituenten (im vorhergehenden immer 2, nämlich x und y) nicht verändert, so kann sich die Symmetrie der neuen Substitutionsprodukte vergrössern. So entstund aus C4v beispielsweise D4h und aus C2v die Punktsymmetriegruppe C_{3v}. Auch ergeben bei fortgesetzter Substitution verschiedene Fälle gleichartige neue Isomere. Das ist nicht der Fall, wenn neue Substituenten hinzugefügt werden, die an neue, noch nicht substituierte Plätze gehen. Auch die Zahl derartiger Substitutionsprodukte lässt sich naturgemäss aus der Symmetriebetrachtung unmittelbar bestimmen. Gehen wir z.B. wieder von x⁵y aus und substituieren ein weiteres x durch z, so dass die Formel x4yz erhalten wird, so ergeben sich wie für x4y2 zwei Isomeriefälle x4yz (Fig. 6a und b). Aber Fig. 6a hat jetzt nur die Symmetrie C, und Fig. 6b hat die Symmetrie C_{4v} beibehalten. Daraus folgt übrigens, dass aus Fig. 6a 3 weitere Substitutionsprodukte x³yzu (bei Beibehaltung der drei x-Stellen), aus Fig. 6b nur 1 Substitutionsprodukt x³yzu resultiert. Die 4 Isomere sind nun alle verschieden, wie die Figg. 6a'b'c'd' zeigen.

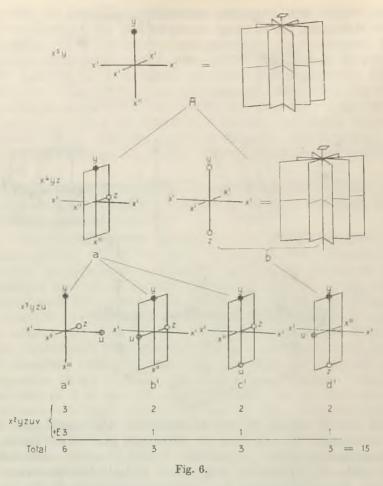


Fig. 6a' ist asymmetrisch, kann also in zwei enantiomorphen Formen auftreten. Weiterhin würde aus der Ungleichwertigkeit der x für x²yzwv folgen:

Fig.
$$6a'$$
 b' c' d' 3 2 2 Isomere.

Von diesen 9 Isomeren sind 6 asymmetrisch, nämlich wenn in Figg. 6b, c, d ein x' und in Fig. a ein x' oder x'' oder x'' ersetzt werden. Also gibt es einschliesslich der enantiomorphen Form 15 Isomere x²yzuv.

Diese Beispiele genügen wohl, um das Prinzip der Ableitungen, aber auch, sofern nur die Isomerenzahl zu bestimmen ist, die dabei auftretende Vieldeutigkeit zu kennzeichnen.

Zürich, Mineralogisch-petrographisches Institut der E.T.H.

119. Über Kondensationsprodukte aus höheren aliphatischen 1,2-Diketonen und aromatischen Aminen

von H. Erlenmeyer und K. Vogler.

(28. V. 46.)

In einer vorangegangenen Mitteilung¹) berichteten wir über eine gemeinsam mit *H. Bloch* und *H. Lehr* durchgeführte Untersuchung, in der von einer Reihe von Kondensationsprodukten aus primären aromatischen Aminen und höheren 1,2-Diketonen²) die Wirkung auf das Wachstum von Tuberkelbazillen ermittelt wurde. Im folgenden beschreiben wir die untersuchten Kondensationsprodukte, deren Struktur nach der folgenden Gleichung abzuleiten ist:

Experimenteller Teil.

Dipropionyl-di- β -naphtil.

3 g Dipropionyl und 7 g β -Naphtylamin wurden in 20 cm³ Äthylalkohol auf dem Wasserbad erhitzt, wobei sich das Fortschreiten der Kondensation beim Abkühlen einer Probe durch die verminderte Abscheidung von β -Naphtylamin erkennen lässt. Nach zirka drei Tagen scheidet sich bei dieser Kontrolle keine freie Base mehr aus. Nach etwa einer Woche erfolgt dann bei Zimmertemperatur die Ausscheidung eines festen Kondensationsproduktes. Aus Benzol umkrystallisiert, erhält man farblose, schuppige Krystalle vom Smp. 237—238°.

3,824 mg Subst. gaben 12,05 mg $\rm CO_2$ und 2,34 mg $\rm H_2O$ 4,919 mg Subst. gaben 0,318 cm³ $\rm N_2$ (17°, 742 mm) $\rm C_{26}H_{24}N_2$ Ber. C 85,67 H 6,64 N 7,69% Gef. ,, 85,96 ,, 6,86 ,, 7,37%

Dipropionyl-di-(3,4)-dimethylanil.

Vereinigt man 1 g Dipropionyl und 2 g Xylidin-(1,3,4), so tritt eine leichte Erwärmung ein, nach einigen Minuten erfolgt eine leichte Trübung und anschliessend eine Ausscheidung von Krystallen. Das Kondensationsprodukt wurde mit wenig Äthylalkohol angerührt und durch Filtration isoliert. Beim Umkrystallisieren aus Äthylalkohol erhält man hellgelbe, schuppige Krystalle vom Smp. 132—133°. Ausbeute 1,3 g.

5,289 mg Subst. gaben 0,406 cm³ $\rm N_2$ (14°, 735 mm) $\rm C_{22}H_{28}N_2$ Ber. N 8,75 Gef. N 8,81%

Dipropionyl-di-p-athoxy-anil.

In einer Mischung von 1 g Dipropionyl und 2,5 g p-Phenetidin erfolgt nach einigen Minuten eine starke Trübung infolge Wasserabscheidung. Nach 2 Tagen lässt sich das mit

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

²⁾ Über die Darstellung der Diketone siehe: H. Erlenmeyer, H. Bloch, H. Lehr und K. Vogler, Helv. 28, 1410 (1945).

kaltem Äthylalkohol angerührte Kondensationsprodukt durch Filtration isolieren. Aus Äthylalkohol umkrystallisiert bildet es gelbe Nadeln vom Smp. 144—145°. Ausbeute 1,4 g.

3,627 mg Subst. gaben 0,249 cm³ N_2 (15,5°, 740 mm) $C_{22}H_{28}O_2N_2$ Ber. N 7,95 Gef. N 7,94%

Di-n-butyryl-di-p-äthoxy-anil.

In ganz entsprechender Arbeitsweise wurde ein Kondensationsprodukt aus Di-nbutyryl und p-Phenetidin erhalten in Form gelber Nadeln vom Smp. 104—105°. Aus der Mutterlauge lassen sich bei weiterem Stehenlassen bei 0° noch weitere Mengen der Verbindung isolieren. Ausbeute zirka 60% der Theorie.

3,624 mg Subst. gaben 0,244 cm³ N_2 (24,5°, 740 mm) $C_{24}H_{32}O_2N_2$ Ber. N 7,37 Gef. N 7,52%

Di-n-valeryl-di-p-athoxy-anil.

Mit Di·n-valeryl und p-Phenetidin entstanden bei gleicher Versuchsanordnung gelbe Prismen, die aus Äthylalkohol umkrystallisiert einen Smp. von 101—102° zeigten.

4,747 mg Subst. gaben 0,278 cm³ $\rm N_2$ (18°, 738 mm) $\rm C_{26}H_{36}O_2N_2~$ Ber. N 6,84 Gef. N 6,67%

Di-n-caproyl-di-p-athoxy-anil.

4,5 g Di-n-caproyl wurden auf 40° erwärmt und mit 6,7 g p-Phenetidin versetzt. Die Wasserabscheidung beginnt nach einer Minute. Lässt man das Gemisch bei 0° während 4 Wochen stehen, so tritt Abscheidung von Krystallen ein. Bei wiederholten Ansätzen kann die Abscheidung durch Impfkrystalle in 2 Tagen erreicht werden. Beim Umkrystallisieren aus Äthylalkohol erhält man gelbe Nadeln vom Smp. 51—52°. Ausbeute 2,8 g.

3,708 mg Subst. gaben 0,196 cm³ N_2 (14°, 744 mm) $C_{29}H_{40}O_2N_2$ Ber. N 6,43 Gef. N 6,15%

Die Mikroanalysen wurden teils in unserm Institut durch Frl. E. Beck ausgeführt, teils verdanken wir sie dem Analytischen Laboratorium der Ciba Aktiengesellschaft (Dr. H. Gysel).

Universität Basel, Anstalt für Anorganische Chemie.

120. Zur Krystallstruktur einiger Diphenyl-trichlor-äthanderivate von H. Wild und E. Brandenberger.

(29. V. 46.)

Im Zusammenhang mit der Krystallstruktur des p,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthans¹) wurden die Strukturen einiger hierzu isomerer oder analoger Verbindungen untersucht. Da die Untersuchung nicht fortgesetzt werden kann, mögen unsere bisherigen Ergebnisse hier zusammengefasst mitgeteilt werden.

Die Krystalle wurden zum Teil durch langsames Abkühlen einer alkoholischen Lösung oder Verdunstenlassen einer methanolischen bzw. aceton-alkoholischen Lösung gewonnen. Für die makroskopi-

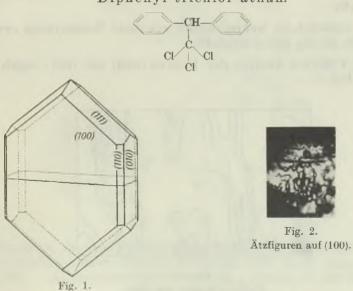
¹⁾ H. Wild und E. Brandenberger, Helv. 28, 1692 (1945).

sche Vermessung der Krystalle stand ein zweikreisiges Goniometer zur Verfügung. Die mikroskopische Untersuchung ergab, dass alle untersuchten Krystallarten sich zweiachsig, und zwar optisch positiv verhalten, überdies alle durch grosse Doppelbrechung ausgezeichnet sind.

In der Regel enthält die Elementarzelle der interessierenden Verbindungen vier Molekel. Bei denjenigen, deren Symmetrie zufolge der Drehbarkeit einzelner Molekelteile eine Änderung erfährt, ist die Zahl der Molekel jedoch grösser (meist gleich 8). Da die allgemeine Punktlage in den Raumgruppen, welche für die meisten der hier untersuchten Krystallarten in Betracht fallen, nämlich in C_{2v}^5 oder C_{2h}^5 , die Zähligkeit vier aufweist, müssen sich dann die Molekelschwerpunkte auf zwei krystallographisch verschiedenwertige Lagen verteilen.

Alle hier untersuchten Verbindungen neigen zu Verwachsungen und Zwillingsbildungen. Bei den orthorhombisch krystallisierenden Substanzen konnte die Zwillingsnatur der gewöhnlichen Krystalle unmittelbar nachgewiesen werden. Bei den übrigen muss diese Frage weitern Versuchen, wie Ätzversuchen, piezoelektrischer Prüfung usw., überlassen werden.

Diphenyl-trichlor-äthan.



Pseudo-hexagonale Blättchen der orthorhombisch hemimorphen Krystallklasse (Fig. 1). Die meisten Krystalle sind Zwillingsbildungen mit (001) als Zwillingsebene. (Vgl. die Ätzfiguren auf dem Pinakoid (100) der Fig. 2 von monosymmetrischem Charakter.)

Formen: Pinakoide $\langle 100 \rangle$, $\langle 110 \rangle$, Prisma $\langle 110 \rangle$ und Pyramide $\langle 111 \rangle$.

Achsenverhältnis: a:b:e = $1,61_6$:1:0,78₁. Optische Orientierung: $n_{\alpha} || e, n_{\beta} || b, n_{\gamma} || a$.

Röntgenographische Untersuchung:

Folgende Diagramme wurden hergestellt:

Drehkrystallaufnahmen um [010], [001] und [011];

Goniometerdiagramme der Reflexe (hk0), (h0l) und (h1l);

eine Laue-Aufnahme senkrecht zum Pinakoid (100), die zwei zueinander senkrechte Symmetrieebenen zeigte.

Gitterkonstanten: $a_0 = 16,56$ Å.E. $b_0 = 10,34$,

 $c_0 = 8.04$, somit $a_0:b_0:c_0 = 1.60:1:0.78$.

Auslöschungen: (h0l) nur mit l = 2n und

(0kl) nur mit k= 2n vorhanden, keine integralen Auslöschungen.

Wahrscheinliche Raumgruppe somit: C_{2v}——Pbe.

Beim Elementarvolumen 1375 Å.E.3 und der

Dichte 1,39 berechnet sich entsprechend dem

Mol.-Gew. 285,5 die

Anzahl der Molekeln pro Elementarzelle zu z=4,05, also gleich vier.

Das zunächst als wahrscheinlich erkannte Raumsystem erweist sich damit als das allein mögliche¹).

Eine Patterson-Analyse der Reflexe (hk0) auf (001) ergab das Bild der Fig. 3.

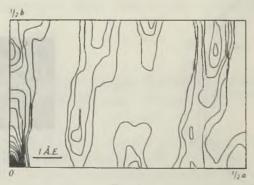


Fig. 3. Patterson-Analyse auf (001).

In Fig. 4 ist eine Projektion der 12 Chloratome der Elementarzelle auf (001) angegeben.

¹⁾ E. Brandenberger, Z. Kr. [A] 76, 1 (1930).

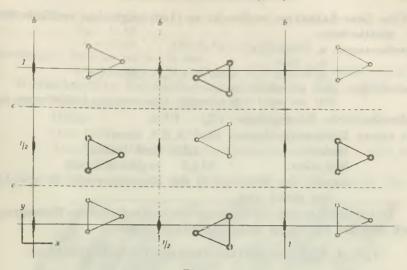


Fig. 4.
Projektion der Cl-Atome auf (001).

p, p'-Ditolyl-trichlor-äthan.

Pseudo-hexagonale Blättchen oder Prismen (Fig. 5 und Bild 1, Tafel I). Monokline Holoedrie. Formen: Pinakoide $\langle 100 \rangle$, $\langle 010 \rangle$, Prismen $\langle 011 \rangle$ und $\langle 110 \rangle$. Achsenverhältnis a: b: c = 1,91 $_9$:1:0,79 $_3$, β = 80°13′, $n_{\beta} \| b$.

Fig. 5.

Röntgenographische Untersuchung:

Drehkrystallaufnahmen um [010] und [001]. Goniometerdiagramme der Reflexe (h0l), (hk0) und (hkk)¹).

¹⁾ Drehachse [011], Äquatorreflektionen.

Eine Laue-Aufnahme senkrecht zu (100) zeigt eine vertikale Symmetrieebene.

Gitterkonstanten: $a_0 = 19,55$ Å.E.

 $b_0 = 10,10$

daher $a_0:b_0:c_0=1,92:1:0,79$. $c_0 = 8.02$,

Auslöschungen: (0k0) nur mit k= 2n und

(h0l) nur mit l = 2n vorhanden, keine integralen Auslöschungen, somit

wahrscheinliche Raumgruppe: C_{2h} -- P²1/c.

Bei einem Elementarvolumen 1544 Å.E.3, einer

1.35 und einem Dichte

313.5 ergibt sich die Mol.-Gew.

Anzahl der Molekeln in der Elementarzelle zu z = 4,03, also gleich vier.

Damit erweist sich die zunächst nur wahrscheinliche Raumgruppe auch hier als das einzig mögliche Raumsystem¹).

3, 3', 4, 4'-Tetramethyldiphenyl-trichlor-äthan.

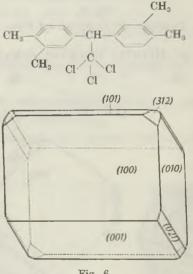


Fig. 6.

Monoklin holoedrische Prismen (Fig. 6). Formen: (001), (100), $\langle 010 \rangle$, $\langle 101 \rangle$, Prismen $\langle 021 \rangle$, $\langle 312 \rangle$.

Achsenverhältnis: a:b:c=1,89₅: 1:1,52₀; $\beta = 55^{\circ}04'$, n_{ν} b.

Röntgenographische Untersuchung:

Drehkrystallaufnahmen um [010] und [001].

Goniometerdiagramme der Reflexe (h0l) und (0kl).

Eine Laue-Aufnahme senkrecht zu (100) zeigte eine vertikale Symmetrieebene.

¹⁾ E. Brandenberger, l. c., speziell S. 79.

Gitterkonstanten: a₀ = 20,93 Å.E.

 $b_0 = 11,55$,

 $c_0 = 17,60$, also $a_0: b_0: c_0 = 1,81:1:1,52$.

Auslöschungen: (0k0) nur mit k= 2n und

(h0l) nur mit l = 2n vorhanden, keine integralen Auslöschungen.

Wahrscheinliche Raumgruppe also wiederum: C_{2h} -- P²1/c.

Aus dem Elementarvolumen 3460 Å.E.3, der

Dichte

1,31 und dem

Mol.-Gew.

341,5 ergibt sich die

Anzahl der Molekeln in der Elementarzelle zu z = 8,06, also gleich acht.

Eine Patterson-Analyse der Reflexe (h0l) auf (010) zeigt Fig. 7.



Fig. 7.

Patterson-Projektion auf (010).

Da in C_{2h}^5 die allgemeine Punktlage vierzählig ist, indessen acht Molekel in der Einheit unterzubringen sind, müssen sich die Molekelschwerpunkte in zwei krystallographisch verschiedenwertigen Lagen befinden. Zudem ist eine vollkommen eindeutige Festlegung der Raumgruppe unter diesen Umständen nicht möglich.

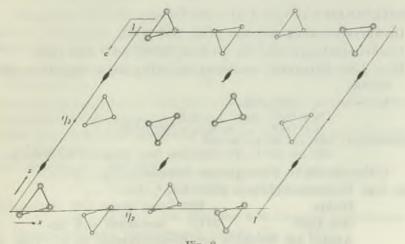
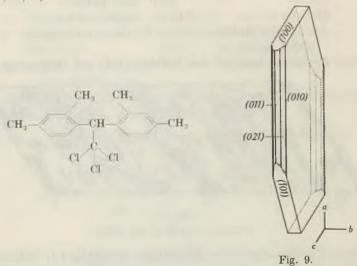


Fig. 8.
Projektion der Cl-Atome auf (010).

Die Verschiedenwertigkeit der Molekeln als Gitterbausteine ist im vorliegenden Fall insofern leicht zu begreifen, als die Drehbarkeit der Molekel um die Achsen der Phenylkerne die Symmetrie der Molekel ändern wird. Fig. 8 zeigt eine mögliche Anordnung der 24 Chloratome in der Elementarzelle, projiziert auf die Ebene (010).

2, 2', 4, 4'-Tetramethyldiphenyl-trichlor-äthan.



Monoklin holoedrische Blättchen (Fig. 9). Formen: Pinakoide $\langle 010 \rangle$, $\langle 101 \rangle$, $\langle 100 \rangle$, Prismen $\langle 011 \rangle$, $\langle 021 \rangle$. Achsenverhältnis: a:b:c= $2,05_2:1:1,19_5$ bei $\beta=112^046'$, n_{α} b.

Röntgenographische Untersuchung:

Drehkrystallaufnahmen um [100] und [010].

Goniometerdiagramme der Reflexe (hk0), (0kl) und (1kl).

Eine Laue-Aufnahme senkrecht zu (010) zeigte digyrische Symmetrie.

Gitterkonstanten: $a_0 = 23,55$ Å.E.

 $b_0 = 11,77$,,

 $\mathbf{c_0} = 14,\!08 \quad \text{,,} \qquad \mathbf{a_0}\!:\!\mathbf{b_0}\!:\!\mathbf{c_0} = 2,\!00\!:\!1\!:\!1,\!20.$

Auslöschungen: (0k0) nur mit k=2n und

(h0l) nur mit l = 2n vorhanden, keine integralen Auslöschungen.

Wahrscheinliche Raumgruppe demnach: $C_{2h}^5 - P^{2_1}/c$.

Aus dem Elementarvolumen 3600 Å.E.3, der

Dichte

1,25 und dem

Mol.-Gew.

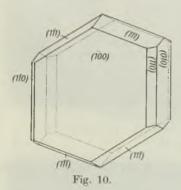
341,5 berechnet sich die

Anzahl der Molekeln pro Elementarzelle zu z = 7,99, also gleich acht.

2, 2', 5, 5'-Tetramethyldiphenyl-trichlor-äthan.

Diese Verbindung krystallisiert in zwei Modifikationen, einer monoklinen und einer triklinen¹).

Trikline Modifikation: Pseudorhombische Blättchen (Fig. 10). Trikline Holoedrie. Formen: Pinakoide $\langle 100 \rangle$, $\langle 010 \rangle$, $\langle 110 \rangle$, $\langle \overline{1}10 \rangle$, $\langle 111 \rangle$, $\langle \overline{1}11 \rangle$, $\langle \overline{1}11 \rangle$, $\langle \overline{1}11 \rangle$, $\langle \overline{1}11 \rangle$.



(301) Fig. 11.

Achsenverhältnis $a:b:c=1,67_5:1:0,47_8$

 $egin{array}{lll} & \alpha = 84^0 \ 10' & eta = 91^0 \ 52' & \gamma = 90^0 \ 11'. & \end{array}$

Monokline Modifikation: Nadeln, monokline Holoedrie (Fig. 11). Formen: Pinakoide $\langle 100 \rangle$, $\langle 001 \rangle$, $\langle \overline{3}01 \rangle$, Prisma $\langle 110 \rangle$. Achsenverhältnis a:b:c = 1,96₆:1:0,83₆ mit $\beta = 115^{\circ}$ 15'.

Röntgenographische Untersuchung der monoklinen Modifikation:

Drehkrystallaufnahmen um [001] (Nadelachse).

Goniometerdiagramme der Reflexe (hk0) und (hk1).

Eine Laue-Aufnahme senkrecht zu (100) zeigte eine vertikale Symmetrieebene.

Gitterkonstanten: $a_0 = 20.87$ Å.E.

 $b_0 = 10.82$,

 $c_0 = 8.67$, somit $a_0: b_0: c_0 = 1.93:1:0.80$.

Auslöschungen: (0k0) nur mit k = 2n und

(h0l) nur mit h=2n vorhanden, keine integralen Auslöschungen.

Wahrscheinliche Raumgruppe somit: C_{2h}---P²1/a.

¹⁾ Vgl. H. Wild, Helv. 29, 497 (1946).

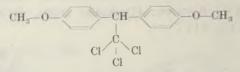
Aus dem Elementarvolumen 1768 A.E.3, der

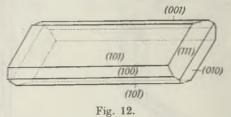
Dichte 1,27 und dem Mol.-Gew. 341,5 folgt als

Anzahl der Molekeln pro Elementarzelle z = 3,98, also gleich vier.

Die Raumgruppe darf in diesem Falle daher wieder als eindeutig bestimmt gelten.

p, p'-Dianisyl-trichlor-äthan.





Nadeln oder Tafeln (Fig. 12). Trikline Holoedrie. Formen: Pinakoide $\langle 100 \rangle$, $\langle 010 \rangle$, $\langle 001 \rangle$, $\langle 101 \rangle$, $\langle \overline{1}01 \rangle$, $\langle \overline{1}11 \rangle$.

 $a:b:c=1,91_6:1:1,78_8.$

 $\alpha = 84^{\circ} 38'$ $\beta = 94^{\circ} 58'$

 $\gamma = 67^{\circ} 29'$.

Röntgenographische Untersuchungen:

Drehkrystallaufnahmen um [010] und um [100].

Goniometerdiagramme der Reflexe (h0l) und (0kl).

Eine Laue-Aufnahme senkrecht zu (100) zeigte eine vertikale Pseudosymmetrieebene.

Gitterkonstanten: $a_0 = 12,20$ Å.E.

 $b_0 = 6,41$

 $\mathbf{c_0} = 11{,}18 \quad \text{,,} \quad \mathbf{a_0}{:}\, \mathbf{b_0}{:}\, \mathbf{c_0} = 1{,}90{:}1{:}1{,}74.$

Auslöschungen: Es wurden keine Auslöschungen gefunden.

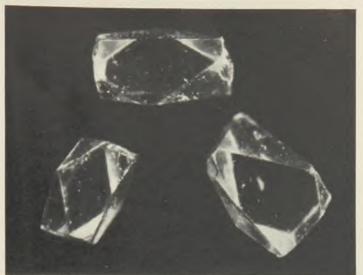
Raumgruppe: $C_i^1 - P1$.

Mit dem Elementarvolumen 800 Å.E.3, der

Dichte 1,39 und dem

Mol.-Gew. 345,5 wird die

Anzahl der Molekeln pro Elementarzelle z = 1,98, also gleich zwei.



 $\begin{tabular}{lll} Bild 1. & Photo: Jecker \\ Mikrophotographie von p, p'-Ditolyl-trichlor-åthan-krystallen. \\ \end{tabular}$



Bild 2. Photo: Jecker Mikrophotographie von o,o'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan-krystallen.

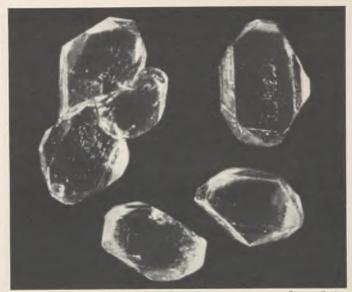
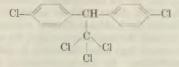


Bild 3. Photo: Jecker Mikrophotographie von o,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan-krystallen.



 ${\bf Bild~4.} \qquad {\bf Photo:~Jecker}$ Mikrophotographie von p,p*-Dibromdiphenyl-trichlor-äthan-krystallen.

p, p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan1).



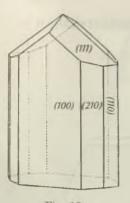
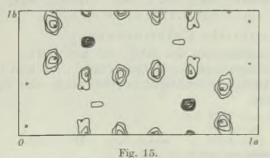


Fig. 13.



Fig. 14. Ätzfiguren auf (100).

Piezoelektrische Versuche 2) nach der Methode von Giebe und Scheibe bestätigten eindeutig das Vorhandensein einer polaren Achse. In Fig. 14 ist eine Mikrophotographie der Ätzfiguren am Pinakoid (100) reproduziert. Damit lässt sich diese Verbindung eindeutig der Krystallklasse C_{2v} zuordnen.



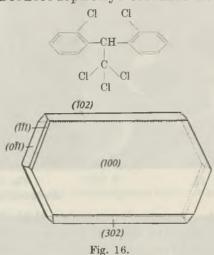
Fourier-Analyse, Projektion auf (001).

¹⁾ H. Wild und E. Brandenberger, Helv. 28, 1692 (1945), Fig. 3. Vgl. auch J. Fankuchen, M. Schneider und J. Singer, Sci. 103, 25 (1946). Die Gitterkonstanten und die Raumgruppe, die diese Autoren finden, stimmen sehr gut mit unseren Werten überein. Ihre Werte sind $a_0=19.14\pm0.08$ Å.E.; $b_0=9.96\pm0.04$ Å.E. und $c_0=7.85\pm0.4$ Å.E.; RG.: Pbc oder Pbc m; Dichte 1.556; z=4.

²) Wir danken Hrn. Dr. *Baldinger* (Univ. Basel) für die Ausführung der piezoelektrischen Versuche.

Im weiteren wurde, gestützt auf die Reflexe (hk0), eine Fourier-Analyse auf die Ebene (001) ausgeführt (Fig. 15). Da als kurzwelligste Strahlung einzig die Cu K.-Strahlung zur Verfügung stand, haften dieser Analyse naturgemäss sehr starke Abbrucheffekte an, welche die Positionen der Kohlenstoffatome vollständig überdecken. Es sind deshalb in Fig. 15 nur die höchsten Maxima eingezeichnet, die unsern Strukturvorschlag1) bestätigen. Das grösste Maximum liegt beim Chloratom 5, indem hier in der Projektion zwei Chloratome aufeinanderfallen. In Übereinstimmung mit der vorgeschlagenen Struktur steht auch die Spaltbarkeit der Krystalle, in der Tat sind (010) und (100) Ebenen guter Spaltbarkeit.

o, o'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan2).



Dünne Blättchen. Monokline Holoedrie (Fig. 16 und Bild 2). Formen: Pinakoide $\langle 100 \rangle$, $\langle \overline{1}02 \rangle$, $\langle 302 \rangle$, Prismen $\langle 011 \rangle$, $\langle \overline{1}11 \rangle$. Achsenverhältnis a:b:c = $3.84_9:1:2.23_6$, $\beta = 78^{\circ}$ 46', n. | b.

Röntgenographische Untersuchung:

Drehkrystallaufnahmen um [010] und um [001].

Goniometerdiagramme der Reflexe (hk0), (h0l) und (h1l).

Eine Laue-Aufnahme senkrecht zu (100) zeigte eine vertikale Symmetrieehene.

Gitterkonstanten: a₀ = 27.74 Å.E.

 $\begin{array}{lll} b_0 = & 7,07 & , \\ c_0 = & 15,78 & , & \text{also } a_0\!:\!b_0\!:\!c_0 = 3,92\!:\!1\!:\!2,\!23. \end{array}$

Auslöschungen: (0k0) nur mit k= 2n und

(h0l) nur mit l = 2n vorhanden, keine integralen Auslöschungen.

Raumgruppe: $C_{2h}^5 - - - P_{1}/c$.

Aus dem Elementarvolumen 3038 A.E.3. der

Dichte 1.54 und dem

Mol.-Gew. 354,5 ergibt sich als Anzahl der Molekeln pro Elementarzelle z = 8.

¹⁾ Helv. 28, 1696 (1945). 2) K. Gätzi, Helv. 29, 1159 (1943).

o, p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan.

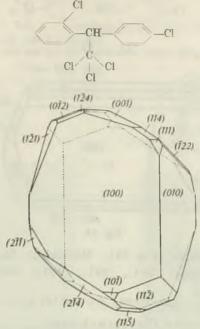


Fig. 17.

Tafelförmige Krystalle. Trikline Holoedrie (Fig. 17 und Bild 3, Tafel II). Formen: Pinakoide $\langle 100 \rangle$, $\langle 010 \rangle$, $\langle 001 \rangle$, $\langle 101 \rangle$, $\langle 012 \rangle$, $\langle 111 \rangle$, $\langle 11$

 $a:b:c=0.88_2:1:1.31_4$

 $\alpha = 104^{\circ} 18'$

 $\beta = 95^{\circ} 48'$

 $\gamma = 99^{\circ} 45'$.

Röntgenographische Untersuchung:

Drehkrystallaufnahmen um [001].

Goniometerdiagramm der Reflexe (hk0).

Gitterkonstanten: $a_0 = 25.8 \text{ A.E.}$

 $b_0 = 15,2$,,

 $c_0 = 19,55$,, somit $a_0: b_0: c_0 = 1,70:1:1,29 = 2a:b:c$.

Es wurden keine systematischen Auslöschungen festgestellt.

Raumgruppe: $C_i^1 - P \overline{1}$.

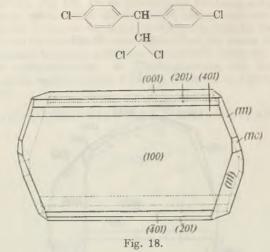
Aus dem Elementarvolumen 7205 Å.E.3, der

Dichte 1,58 und dem

Mol.-Gew. 354,5 wird die

Anzahl der Molekeln in der Elementarzelle z = 19,45, also vermutlich gleich zwanzig.

p, p'-Dichlordiphenyl-dichlor-äthan.



Tafelige Krystalle (Fig. 18). Monokline Holoedrie. Formen: Pinakoide $\langle 100 \rangle$, $\langle 401 \rangle$, $\langle 201 \rangle$, $\overline{\langle 201 \rangle}$, $\overline{\langle 401 \rangle}$, $\langle 001 \rangle$, Prismen $\langle 110 \rangle$, $\langle 111 \rangle$, $\overline{\langle 111 \rangle}$.

a:b:c = 2,59₈:1:1,23₂, β = 105° 13′, n, || b.

Röntgenographische Untersuchung:

Drehkrystallaufnahmen um [010] und um [001].

Goniometerdiagramme der Reflexe (hk0), (h0l) und (h1l).

Eine Laue-Aufnahme senkrecht zu (100) zeigte eine vertikale Symmetrieebene.

Gitterkonstanten: $a_0 = 19,92$ Å.E.

 $b_0 = 7,78$

 $c_0 = 18,86$,, $a_0:b_0:c_0 = 2,56:1:2,43 = a:b:2c.$

Auslöschungen: (0k0) nur mit k= 2n und

(h0l) nur mit l=2n vorhanden, keine integralen Auslöschungen.

Wahrscheinliche Raumgruppe somit: C_{2h} ---- P²1/c.

Aus dem Elementarvolumen 2820 A.E.3, der

Dichte

1,48 und dem

Mol.-Gew.

319,9 wird die

Anzahl der Molekeln pro Elementarzelle z = 8.

p, p'-Dichlordiphenyl-dichlor-äthylen.

Nadeln, monokline Holoedrie (Fig. 19). Formen: Pinakoid $\langle 010 \rangle$, Prismen $\langle 110 \rangle$, $\langle 120 \rangle$, $\langle 021 \rangle$, $\langle 031 \rangle$, $\langle \overline{1}21 \rangle$, $\langle \overline{1}11 \rangle$, $\langle 111 \rangle$, $\langle 131 \rangle$.

a:b:c = 0,26₀:1:0,25₄, $\beta = 114^{\circ}$ 38′, n, || b.

Röntgenographische Untersuchung:

Drehkrystallaufnahmen um [001] und [101].

Goniometerdiagramme der Reflexe (hk0), (hk1) und (hkh).

Eine Laue-Aufnahme senkrecht zu (010) zeigte digyrische Symmetrie.

Gitterkonstanten: a₀ = 9,27 Å.E.

 $b_0 = 37,08$

 $c_0 = 9.32$,, somit $a_0: b_0: c_0 = 0.25: 1:0.25$.

Auslöschungen: (0k0) nur mit k= 2n und

(h0l) nur mit l = 2n vorhanden, keine integralen Auslöschungen.

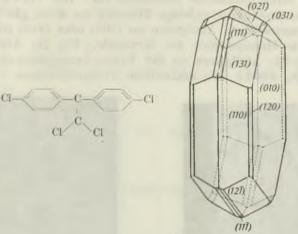


Fig. 19.

Wahrscheinliche Raumgruppe demnach: $C_{2h}^5 - - P^{2_1}/c$. Beim Elementarvolumen 2910 Å.E.³ und der

Dichte 1,45 berechnet sich entsprechend dem

Mol.-Gew. 317,9 die

Anzahl der Molekel pro Elementarzelle z = 8.

p, p'-Dibromdiphenyl-trichlor-äthan.

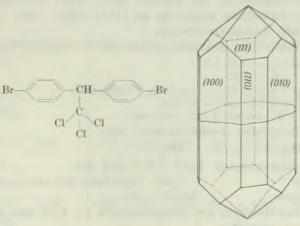


Fig. 20.

Pseudohexagonale Nadeln (Fig. 20 und Bild 4, Taf. II). Orthorhombische Hemimorphie. Formen: Pinakoide (100), (010), Prismen (110) und seltener (210), Pyramide (111).

 $a:b:c=1,95_{36}:1:0,79_{60}.$ n_{y} b, n_{z} c, n_{z} a.

Sämtliche Krystalle sind nach [001] verzwillingt und täuschen samthene Krystalie sind hach [001] verzwiningt und tauschen somit die orthorhombische Holoedrie vor. Die Verwachsungszone ist meistens durch eine milchige Trübung der sonst glasklaren Krystalle gekennzeichnet. Ätzfiguren an (100) oder (010) zeigen jedoch deutlich die Hemimorphie der Krystalle. Fig. 21: Ätzfiguren auf (100). Fig. 22: Ätzfiguren an der Verwachsungszone der Prismenfläche (110), welche eine horizontale Symmetrieebene vortäuschen.



Fig. 21.



Fig. 22.

Röntgenographische Untersuchung:

Drehkrystallaufnahmen um [100], [010], [001]. Goniometerdiagramme der Reflexe (h0l), (hk0) und (hk1).

Eine Laue-Aufnahme senkrecht zu (100) zeigte zwei zueinander senkrechte Symmetrieebenen,

eine Laue-Aufnahme senkrecht zu (110) eine horizontale Spiegelebene.

Gitterkonstanten: $a_0 = 19,60$ Å.E.

 $b_0 = 9.99$,

 $e_0 = 7,92$,, $a_0:b_0:c_0 = 1,96:1:0,79$.

Auslöschungen: (h0l) nur mit 1 = 2n und

(0kl) nur mit k= 2n vorhanden.

Keine integralen Auslöschungen, also

Raumgruppe: C_{2v}----Pbc.

Beim Elementarvolumen 1552 Å.E.3 und der

Dichte 1,89 berechnet sich entsprechend dem

Mol.-Gew. 443,3 die

Zahl der Molekeln pro Elementarzelle z = 4,02, also gleich vier. R.G. also eindeutig.

	a, Å.E.	b _e Å.E.	c, Å.E.	α	β	2	R.G.	z
CCl ₃	16,56	10,34	8,04	900	900	900	Pbe	4
CH ₃ -CH ₃ -CH ₃	19,08	10,10	8,02	900	80°13′	900	P ² 1/e	4
CH ₃ CH ₃ CCl ₃	20,93	11,55	17,60	900	55004	900	P ² 1/c	8
CH ₃ CH ₃ CCH ₃ CCH ₃	23,55	11,77	14,08	900	112"46'	900	P ² 1/e	8
CH ₃ CH ₃ CH ₋ CCl ₂ CH ₋	20,87	10,82	8,67	900	115°15′	900	P ² 1/a	4
CCl ₃	12,20	6,41	11,18	84058′	94058′	67°29′	ΡĪ	2
CI-CH-CCl ₃	19,20	10,00	7,84	900	900	900	Pbc	4
Cl Cl Cl CCl ₃	27,74	7,07	15,78	900	78º46′	900	P ² 1/e	8
CI —CH——CI	25,8	15,2	19,55	104°18′	95°48′	99045′	ΡĪ	20
Cl-CH-Ch-Cl	19,92	7,78	18,86	900	105°47′	900	P ² 1/c	8
Cl- Cl- Cl- Cl	9,27	37,08	9,32	900	114º38′	900	P ² 1/c	8
Br-CH-CBr	19,60	9,99	7,92	900	900	900	Pbc	4

ls

a

Die grosse Ähnlichkeit der Gitterkonstanten und die Übereinstimmung in der Raumgruppe dieser Krystallart mit dem p,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan machen für die Koordinaten der Chlor- und Bromatome ähnliche Werte wahrscheinlich. Eine Patterson-Analyse der Reflexe (hk0) auf (001) bestätigte diese Vermutung (Fig. 23), indem die Koordinaten der Chloratome des p,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthans für die Brom- und Chloratome des p,p'-Dibromdiphenyl-trichlor-äthans übernommen werden können. Letzterer Verbindung lässt sich somit die Anordnung der Fig. 3 aus unserer frühern Arbeit¹) zuordnen, und es würden demnach die Bromatome die Plätze der Atome 1 und 2 erhalten.

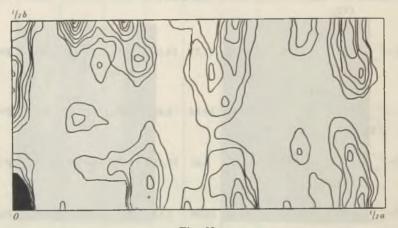


Fig. 23.

Patterson-Analyse auf (001).

Die krystallstrukturellen Kennzeichen der vorstehend untersuchten Verbindungen sind in der Tabelle auf S. 1039 zusammengefasst.

Den HH. E. Leuzinger und A. Keller danken wir für ihre Mitarbeit bei den ausgeführten Versuchen und Berechnungen.

Aus den Wissenschaftlichen Laboratorien der $J.\,R.\,Geigy\,AG.$, Basel, und dem

Laboratorium für Techn. Röntgenographie und Feinstrukturuntersuchung an der E.M.P.A. und am

Mineralog. Institut der E.T.H., Zürich.

¹⁾ Helv. 28, 1696 (1945).

121. L'Electrode à chlorure d'argent et la solubilité du chlorure d'argent dans les solutions d'acide chlorhydrique

par S. Jaques. (31 V 46)

Introduction. On sait comment, à la fin du siècle dernier, les théories classiques des électrolytes se sont rapidement révélées insuffisantes. Différentes théories se sont dès lors appliquées successivement à rendre mieux compte des faits d'expérience, y compris des «anomalies» des électrolytes forts. C'est en 1923 que, sur la base des actions électrostatiques entre ions, Debye et Hückel réussissent à calculer le coefficient d'activité γ_k d'un ion d'espèce K, puis le coefficient d'activité moyen γ d'un électrolyte formé de deux ions¹⁻⁴). Nous avons rappelé⁵) quelles vérifications suggestives cette théorie a trouvées dans les mesures de la solubilité d'un sel peu soluble dans les solutions salines.

Sans recourir à l'hypothèse de complexes, la théorie permet de prévoir, entre autres, que la solubilité d'un sel peu soluble commence par diminuer par addition d'électrolyte homoionique, passe par un minimum pour croître ensuite très rapidement. Tel est bien le cas, en particulier, de la solubilité du chlorure d'argent dans les solutions d'acide chlorhydrique. Les énormes variations de cette solubilité vont avoir, dans cette étude, une importance considérable.

Objet de ce travail. Le but assigné à cette étude a été de prolonger de la molarité 1 à la molarité 10 la série des mesures effectuées par Güntelberg⁶) avec des solutions chlorhydriques faiblement concentrées sur des piles du type: H₂/HCl/AgCl·Ag.

A l'époque où ce travail a été entrepris, Güntelberg avait en effet mesuré, avec les plus grandes précautions, les f.é.m. de la pile en question avec des solutions de molarités comprises entre 0,01 et 1,0. $Scatchard^7$) était allé, à 25°, jusqu'à m=1,5. Randall et $Young^8$), $Hawkins^9$) avaient fait, à 25° également, quelques mesures isolées. D'autre part,

¹) Darmois, Bull. Union Physiciens, 1928, 145; Les Electrolytes Forts, Congrès International d'Electricité, Paris, 1932, 1re Section, Rapport Nº 12; Cours d'Electricité en Sorbonne, «Etude des Electrolytes», fasc. 1; Revue d'Electricité et de Mécanique, Nº 12, 2 (1930), Nº 13, 1; L'Activité des Solutions Electrolytiques, Hermann, Paris, 1943.

²⁾ Falkenhagen, Elektrolyte, Leipzig, 1932.

³⁾ Audubert et Quintin, Electrochimie, Paris, 1942.

⁴⁾ Quintin, Activité et Interaction Ionique, Paris, 1935.

⁵) Jaques, Contribution à l'Etude de la Pile: H₂/HCl/AgCl·Ag (Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles, Nº 55, 1946, vol. 8, Nº 5).

⁶⁾ Güntelberg, Z. physikal. Ch. 123, 199 (1926).

⁷⁾ Scatchard, Am. Soc. 47, 641 (1925).

⁸⁾ Randall et Young, Am. Soc. 50, 989 (1928).

⁹⁾ Hawkins, Am. Soc. 54, 4480 (1932).

Wilke¹) avait publié, pour des mesures de f.é.m. en solutions concentrées, une courbe assez

surprenante et qui suggérait nettement une vérification.

Pour atteindre le but proposé, il fallait réaliser des électrodes susceptibles de donner, jusqu'en solutions concentrées, des résultats constants et reproductibles. Il fallait aussi préparer des solutions de grande pureté et s'assurer de leur titre à quelques dix-millièmes près en valeur relative. En cours de route, la solubilité du chlorure d'argent dans l'acide chlorhydrique a imposé d'importantes précautions supplémentaires pour le bon fonctionnement des électrodes.

En effet, comme Richards et Archibald²), Richards et Francon³) l'ont montré pour le calomel⁴), le chlorure d'argent a dans l'acide chlorhydrique une solubilité très rapidement croissante et qu'il n'est plus possible de négliger. Nous en avons donc fait la mesure méthodique dans le domaine des molarités envisagées.

Cette solubilité s'est révélée d'un ordre de grandeur tel, qu'elle fait surgir un im-

portant problème quant à l'interprétation des résultats des mesures de f.é.m.

Quelques détails de réalisation.

Les cellules construites pour nos mesures rappellent beaucoup le modèle précédemment décrit par Noyes et Ellis⁵). Le vase est en forme de H: l'une des branches verticales est occupée par les électrodes à hydrogène, l'autre, par les électrodes à chlorure d'argent. La partie médiane horizontale demeure ouverte dans notre cellule «A». Elle peut être fermée par un robinet dans notre cellule «B». Toutes les précautions voulues sont prises en vue de tirer de ces cellules des résultats constants et reproductibles.

Electrode à chlorure d'argent. L'argent et son chlorure se présentent sous plusieurs formes nettement différentes suivant leur mode de préparation. A la suite de nombreux prédécesseurs⁶)⁷)⁵)⁸⁻¹⁶), Mazee¹⁷) a fait une étude systématique du sujet. Il a préparé, pour comparer leurs énergies libres, différentes formes de métal et de son chlorure; il a associé enfin deux à deux diverses formes de métal à celles de chlorure.

Résultat essentiel: Si l'on compare entre eux des échantillons différents d'une même forme, soit d'argent, soit de chlorure, on trouve dans tous les cas une différence de potentiel égale à zéro. On peut donc en conclure en toute sécurité que l'argent et son chlorure, préparés d'une manière bien définie, donneront des résultats reproductibles. On pourra donc, dans la préparation de l'électrode, choisir les matériaux uniquement à la lumière de considérations d'ordre pratique.

Préparation de l'électrode. Nous avons primitivement repris la méthode adoptée par Noyes et Ellis⁵) puis par Güntelberg¹⁸), pour alléger ensuite considérablement le mode

- 1) Wilke, Z. physikal. Ch. 121, 401 (1926).
- 2) Richards et Archibald, Am. Soc. 40, 385 (1902).
- 3) Richards et Francon, J. Phys. Chem. 33, 936 (1929).
- 4) Pascal, Traité de Chim. Min., VIII, 921.
- 5) Noyes et Ellis, Am. Soc. 39, 2532 (1917).
- 6) Scatchard, Am. Soc. 47, 641 (1925).
- 7) Randall et Young, Am. Soc. 50, 989 (1928).
- 8) Gerke, Am. Soc. 44, 1684 (1922).
- 9) Broensted, Z. physikal. Ch. 50, 481 (1904).
 - ¹⁰) Jahn, Z. physikal. Ch. **33**, 545 (1900).
 - 11) Harned et Brumbaugh, Am. Soc. 44, 2729 (1922).
 - ¹²) Harned et Fleyscher, Am. Soc. 47, 82 (1925).
 - 13) Harned et Swindells, Am. Soc. 48, 126 (1926).
 - 14) Linhart, Am. Soc. 41, 1175 (1919).
 - ¹⁵) Lewis, Am. Soc. 28, 158 (1906).
 - ¹⁶) Mac-Innes et Parker, Am. Soc. 37, 1445 (1915).
- 17) Mazee, Electromotive Forces of Silver- Silver Chloride-Calomel Cells, Etude présentée au 55e Congrès Amer. Electrochem. Soc., Toronto, 1929.
 - ¹⁸) Güntelberg, Z. physikal. Ch. **123**, 199 (1926).

operatoire. Ce dernier nous a permis alors de préparer en grand nombre des électrodes maniables et peu encombrantes. Leurs potentiels présentent des écarts ne dépassant guère quelques centièmes de mv ou concordant parfois même entièrement à la sensiblité près des appareils ($< 10^{-5} v$).

Electrode à hydrogène. La préparation, considérée comme classique, de ces électrodes soulève encore force controverses, soit sur le traitement préliminaire de la surface à platiner¹⁻⁵), soit sur la densité de courant et de la durée d'électrolyse, soit surtout sur la composition du bain de platinage (avec ou sans plomb⁵⁻¹³)). Après de nombreux essais, nous nous en sommes tenus avec beaucoup de succès à la composition adoptée par Hevesy et Somyia¹⁴). Nos électrodes se comportent toutes de la même manière à la sensibilité près des appareils de mesure. Nous avons d'autre part introduit une méthode leur permettant d'atteindre le potentiel d'équilibre en 15 à 20 minutes.

Forces electromotrices.

Des mesures de f.é.m. ont tout d'abord été effectuées en cellule «A» en présence de solutions chlorhydriques de molarités exactement égales à 1, 4, 7 et 10. Ces solutions n'avaient pas été préalablement saturées de chlorure d'argent. Faute de cette précaution, les électrodes à chlorure d'argent ont été rapidement mises hors d'usage.

La suite des mesures a révélé d'autre part qu'à partir de la molarité 4 environ, les électrodes à hydrogène ne fonctionnent plus du tout en présence de solutions chlorhydriques saturées de chlorure d'argent. Les mesures ont dès lors été faites en cellule «B», les électrodes à chlorure d'argent baignant dans un milieu saturé de ce sel et les électrodes à hydrogène en milieu chlorhydrique pur. Le robinet séparant les compartiments des deux groupes d'électrodes n'était ouvert qu'au dernier moment pour les mesures de f.é.m.

$m \pm$	0,02%	E(1)	E(2)	E(3)	E(4)	$\frac{\mathrm{E}_{\mathrm{moy.}}}{\pm 2 imes 10^{-5} \mathrm{v.}}$	ν ± 1°/ ₀₀
A	0,9976	0,235 88	_	93	83	0,235 88	0,8164
A	1,663	0,206 25	25	25	35	0,206 27	0,8801
A	2,625	0,168 63	63	63	_	0,168 63	1,1746
A	3,930	0,11985	85	85	85	0,11985	2,066
В	5,496	0,085 84	79		74	0,085 79	2,892
В	6,882	0,050 25	22		22	0,050 23	4,670
В	8,188	0,022 30	30	30	30	0,022 30	6,822
В	10,062	- 0,025 08	08	08	08	- 0,025 08	14,182

- 1) Britton, Hydrogen Ions, Londres, 1929, 33.
- 2) Muller, La Pratique Electrochimique (trad.). Paris, 1923.
- 3) Harned, Am. Soc. 48, 326 (1926).
- 4) Clark, The Determination of Hydrogen Ions, Baltimore, 1922.
- 5) Guéron, Bl. [5] 1, 425 (1934).

100

4

70

16

pe

ino

193

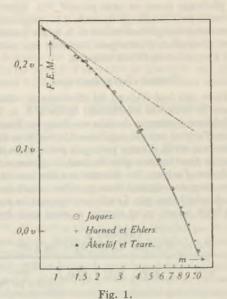
2017

and the same of th

DE F

- 6) Güntelberg, Z. physical. Ch. 123, 199 (1926).
- 7) Scatchard, Am. Soc. 47, 641 (1925).
- 8) Randall et Young, Am. Soc. 50, 989 (1928).
- 9) Beans et Hammet, Am. 47, 1215 (1925).
- 10) Ellis, Am. Soc. 38, 737 (1916).
- 11) Harned, Am. Soc. 51, 416 (1929).
- 12) Harned et Ehlers, Am. Soc. 54, 1350 (1932).
- 13) Akerlöf et Teare, Am. Soc. 55, 2179 (1933).
- 14) Hevesy et Somyia, Z. physikal. Ch. [A] 171, 41 (1934).

Dans le tableau ci-dessus, les quatre premiers résultats ont été obtenus en cellule «A», c'est-à-dire avec des électrodes à chlore et à hydrogène en contact avec le même milieu saturé de chlorure d'argent. Les quatre suivantes ont été obtenues en cellule «B», dans les conditions qui viennent d'être précisées. Nous désignerons comme d'habitude par m la molarité de l'acide; E(1), E(2), E(3) et E(4) représentent les f.é.m. de chacune des électrodes à chlorure d'argent associées à l'une ou à l'autre des électrodes à hydrogène et γ les coefficients d'activité ionique moyens correspondants.



F.é.m. de la pile $H_2/HCl/AgCl \cdot Ag à 20^\circ$

représentée en fonction de la molarité m de l'acide chlorhydrique. Le pointillé est le prolongement de la droite expérimentale obtenue par Guntelberg.

Calcul numérique du coefficient d'activité ionique moyen. Dans le cas des quatre premiers résultats, les calculs ont été faits sans tenir compte d'un effet de sel possible sur l'activité des ions hydrogène.

Pour les quatre derniers, abstraction a été provisoirement faite, soit du potentiel de diffusion de AgCl, soit de l'effet, sur le potentiel des électrodes à chlorure d'argent, du supplément d'ions chlore dû à la présence du chlorure d'argent dissous.

Incertitude sur les valeurs numériques de γ . Le calcul du coefficient d'activité est fait sur la base de la relation:

(10)
$$E = 0.22551 - 0.11632 \log_{10} \gamma m$$

où E est donné par l'expérience à \pm 2×10^{-5} v près; la constante 0,22551¹) doit comporter une incertitude au moins égale; m étant determinable à \pm 0,02% près, nous obtenons:

$$\log_{10}\gamma \ (m \pm 2 \times 10^{-4}) = \frac{(0.22551 \pm 2 \times 10^{-5}) - (\text{E} \pm 2 \times 10^{-5})}{0.11632 \pm 5 \times 10^{-5}}$$

d'où il résulte que, dans le cas le plus favorable, le coefficient d'activité peut être obtenu à $1^{0}/_{00}$ près.

¹⁾ Harned et Wright, Am. Soc. 55, 4849 (1933).

Travaux parallèles. Tandis que ce travail était en cours, Harned et Ehlers¹), puis Åkerlöf et Teare²) ont exécuté, aux molarités élevées de HCl, des mesures de f.é.m. sur des piles du même type que nous-mêmes. Dans l'ensemble, nos mesures offrent une excellente concordance avec celles de Harned et Ehlers. Par contre, les points expérimentaux obtenus par Åkerlöf et Teare se placent de manière systématique au-dessus de la courbe obtenue ici. Rappelons aussi, pour mémoire, les mesures effectuées, à 25°, par Randall et Young³), également par Hawkins⁴).

Solubilité du chlorure d'argent dans l'acide chlorhydrique.

La solubilité du chlorure d'argent a fait ici l'objet de déterminations, à 20°, dans des solutions chlorhydriques de molarités comprises entre 0,6 et 13 environ. Dans ce dessein, nous avons introduit une méthode nouvelle qui permet d'effectuer avec précision ces mesures jusque dans les solutions les plus concentrées. Contrairement à ce qu'ont fait certains prédécesseurs 5-7), le principe de la méthode consiste à introduire dans les solutions chlorhydriques à l'étude la plus grande partie du réactif sous forme solide. Les résultats sont groupés dans le tableau II, où la lettre S désigne la solubilité (exprimée en molarité, soit le nombre de molécules-grammes par 1000 gr. de solvant.) du chlorure d'argent à 20° dans l'acide chlorhydrique et m la molarité de ce dernier.

Tableau II.

Nr.	m	S×10 ³	$\mathrm{S}/m^2 \times 10^4$	$Log (S \times 10)^3$	Log (mS)	\sqrt{m}
1.	$0,607\pm0,5\%$	0,025 ± 2%	0,68	-1,602	-4,819	0,779
2.	$\textbf{1,274} \pm \textbf{0,5\%}$	$0,\!094\pm1\%$	0,58	-1,027	-3,922	1,130
3.	$2,814 \pm 0,5\%$	$0,538 \pm 1\%$	0,68	-0,269	-2,820	1,677
4.	$3,984 \pm 0,5\%$	$1,325\pm1\%$	0,84	0,122	$-2,\!278$	1,997
5.	$5,30 \pm 0,5\%$	$3,07 \pm 0,5\%$	1,09	0,487	-1,789	2,30
6.	$5,83 \pm 0,5\%$	4,10 \pm 0,5%	1,21	0,613	-1,621	2,415
7.	7,79 \pm 0,5%	9,88 \pm 0,3%	1,63	0,995	-1,114	2,79
8.	9,10 \pm 0,5%	15,58 \pm 0,3%	1,88	1,193	-0,848	3,02
9.	$10,52 \pm 0,5\%$	22,39 \pm 0,3%	2,02	1,350	-0,628	3,24
10.	11,03 \pm 0,5%	$25,03 \pm 0,3\%$	2,06	1,398	-0,559	3,32
11.	11,72 \pm 0,5%	28,70 \pm 0,3%	2,09	1,458	-0,473	3,42
12.	$12,97 \pm 0,5\%$	$35,78 \pm 0,3\%$	2,13	1,554	-0,333	3,60

Rappelons ici la série simultanée de mesures publiées par Åkerlöf et Teare²). Ces auteurs ont mesuré la solubilité à 25° du chlorure d'argent dans les solutions d'acide chlorhydrique de molarités comprises entre 3 et 16. Comme il est permis de s'y attendre, la plupart des points expérimentaux obtenus à cette température se placent au dessus de la courbe établie à 20°. Néanmoins, quelques-uns se placent au voisinage immédiat de la courbe, ou même, chose curieuse, au-dessous de celle-ci.

¹⁾ Harned et Ehlers, Am. Soc. 54, 1350 (1932).

²⁾ Åkerlöf et Teare, Am. Soc. 55, 2179 (1933).

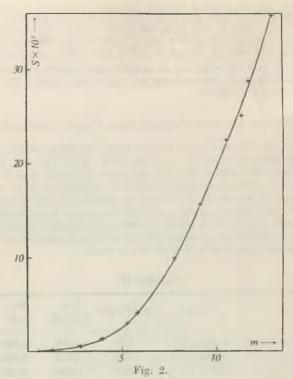
³⁾ Randall et Young, Am. Soc. **50**, 989 (1928).

⁴⁾ Hawkins, Am. Soc. 54, 4480 (1932).

⁵⁾ Forbes, Am. Soc. 33, 1937 (1911).

⁶⁾ Forbes et Cole, Am. Soc. 43, 2942 (1921).

⁷⁾ Forbes et Anderegg, Am. Soc. 37, 1676 (1915).



Courbe de la solubilité S, à 20° , du chlorure d'argent en fonction de la molarité m de l'acide chlorhydrique.

DISCUSSION DES RÉSULTATS.

Traduits graphiquement en fonction de $\log m$, nos f.é.m. se placent sur une courbe très régulière, qui se raccorde insensiblement, au voisinage de la molarité 1, à la droite expérimentale trouvée par Güntelberg entre m=0.01 et m=1.0. Nos résultats sont par ailleurs en nette concordance avec ceux qui ont été publiés simultanément par d'autres auteurs. Est-ce à dire que nous avons, les uns et les autres, mesuré les f.é.m. véritables de nos piles et que l'on peut se baser sans autre sur ces résultats pour le calcul des coefficients d'activité?

En solutions concentrées, nous n'avons plus strictement affaire à des piles à un liquide, mais à deux liquides: un acide chlorhydrique pur au contact des électrodes à hydrogène, un acide saturé de chlorure d'argent au voisinage des électrodes à chlorure d'argent. Entre ces deux liquides existe un potentiel de diffusion. En déterminant les vitesses de déplacement des différents ions en présence dans les conditions de l'expérience, l'on pourrait éventuellement évaluer ce potentiel. Dans la mesure où une évaluation de ce genre est actuellement possible, on arrive à une correction de l'ordre d'un ou deux dixièmes de my à ajouter au potentiel de l'électrode à chlorure d'argent.

L'effet, sur le potentiel des électrodes à chlorure d'argent, du supplément d'ions chlore dû à la présence du sel d'argent dissous, peut être plus considérable encore. Alors que la molarité de l'acide chlorhydrique est déterminable à 2—3 dix-millièmes près en valeur relative, celle du chlorure d'argent représente 2 millièmes de celle de l'acide de molarité 10, 3 millièmes de l'acide de molarité 12. A la molarité 7 déjà, l'écart sur le potentiel de l'électrode à chlorure d'argent doit atteindre de ce fait l'ordre de grandeur d'un dixième de millivolt. Cependant, tous les auteurs se sont efforcés de faire les mesures de f.é.m. à 1 ou 2 centièmes de millivolt près; tous les calculs d'activité — y compris provisoirement les nôtres — ont été exécutés, sans correction préalable, sur la base de ces mesures.

Cette correction est-elle mesurable, autrement dit, existe-t-il un moyen de déterminer l'écart de potentiel dû à ce supplément d'ions chlore? Nous livrons cette question à la réflexion de nos lecteurs. Personnellement, nous envisagerions, par exemple, la méthode suivante:

Sachant qu'à une température donnée, un acide chlorhydrique de molarité m contient à saturation du chlorure d'argent de molarité Δm , l'on pourrait se proposer de mesurer la f.é.m. de la pile:

$$\underbrace{ \begin{array}{ccc} \mathbf{I} & \mathbf{II} \\ (+) & \widehat{\mathbf{Ag}} \cdot \widehat{\mathbf{AgCl}} / \mathbf{HCl}_m / \widehat{\mathbf{HCl}}_{m+\Delta m} / \widehat{\mathbf{AgCl}} \cdot \widehat{\mathbf{Ag}} & (-) \end{array} }_{}$$

La f.é.m. $\triangle E$ de cette pile donnerait la valeur d'une seconde correction à apporter à la f.é.m. mesurée E_{mes} de la pile $H_2/HCl_m/AgCl \cdot Ag$. L'électrode II étant de $\triangle E$ moins positive que l'électrode I, $\triangle E$ devrait s'ajouter avec son signe à E_{mes} tant que l'électrode à chlorure d'argent constitue le pôle positif de la pile $H_2/HCl_m/AgCl \cdot Ag$; une fois que la polarité de la pile est inversée, $\triangle E$ serait naturellement aussi changé de signe.

SOMMAIRE.

Le but assigné à ce travail a été d'étendre aux solutions concentrées d'acide chlorhydrique les mesures de f.é.m. effectuées par $G\ddot{u}ntelberg$ sur la pile $\mathbf{H}_2/\mathbf{HCl}_m/\mathbf{AgCl}\cdot\mathbf{Ag}$ avec des solutions chlorhydriques de molarités comprises entre 0,01 et 1,0.

Comme d'autres auteurs, nous avons été amenés en particulier à isoler le compartiment des électrodes à hydrogène de celui des électrodes à chlorure d'argent: les premières baignent alors dans des solutions d'acide pur, les secondes dans un milieu saturé de chlorure d'argent.

AND THE PARTY OF T

3.00

g 17

οÕ

L'aeffet de sel» sur les électrodes à hydrogène est ainsi supprimé. Le potentiel de diffusion entre les deux liquides peut être de l'ordre de grandeur de un ou deux dixièmes de mv. On pourrait éventuellement le déterminer connaissant les vitesses de déplacement des différents ions en présence dans les conditions de l'expérience.

Reste l'effet \(\Delta \)E, sur le potentiel des électrodes à chlorure d'argent, du sel dissous dans le milieu qui les baigne. Cet effet, qui peut atteindre et dépasser l'ordre de grandeur du dixième de millivolt, ne peut être éliminé d'aucune façon. Il ne peut être négligé non plus à la précision à laquelle sont effectuées les mesures (1 à 2 centièmes de millivolt). Une méthode est suggérée ici pour l'évaluer.

Laboratoire d'Enseignement de Physique, La Sorbonne, Paris. Laboratoire de Chimie-Physique de l'Ecole Polytechnique, Université de Lausanne.

122. Über proteinogene Aminoalkohole und Choline.

(Ein Beitrag zur erschöpfenden Methylierung) von W. Enz und H. Leuenberger.

(1. VI. 46.)

Karrer¹) hat in seiner ersten Mitteilung über proteinogene Aminoalkohole und Choline berichtet, dass es für die Reduktion der Aminosäure-ester zu Aminoalkoholen nach Bouveault-Blane nicht nötig ist, die Aminogruppe zu schützen. Die Ausbeuten an Aminoalkohol sind aber bei ungeschützter Aminogruppe sehr schlecht.

In einer längeren Studie über die Reduktion von Bouveault-Blanc ist es uns gelungen, dieses Verfahren wesentlich zu verbessern, so dass auch bei ungeschützter Aminogruppe der Aminoalkohol in sehr guter Ausbeute erhalten wird. Wir beabsichtigen, über dieses verbesserte Reduktionsverfahren später zusammenhängend zu berichten und möchten uns deshalb in dieser Mitteilung damit begnügen, zu erwähnen, dass wir neben bekannten Aminoalkoholen (Colamin aus Glykokoll) in guter Ausbeute auch das Tyrosinol, das Histidinol und das Tryptophanol aus den entsprechenden Aminosäuren und ohne die Aminogruppe zu schützen gewinnen konnten. Diese unseres Wissens bisher noch unbekannten Aminoalkohole sind damit ebenfalls direkt aus den natürlichen Aminosäuren zugänglich geworden.

Den Gegenstand dieser Mitteilung bilden unsere Versuche zur Darstellung der Choline des Tyrosinols und des Histidinols durch Methylierung der Aminoalkohole sowie die Acetylierung dieser Choline.

 $Trier^2$) hat bereits mit Erfolg das Colamin zum Cholin methyliert, und Karrer (l. c.) hat später auch die Methylierung des l-Leucinols, das er durch Reduktion des Acetyl-leucin-äthylesters dargestellt hatte, durchgeführt, dabei aber nur eine sehr geringe Ausbeute an Cholin erhalten. Er macht deshalb über das so erhaltene l-Leucincholin keine Angaben, beschreibt dann aber ein Leucin-cholin, das er aus stark racemisierter l- α -Brom-isocapronsäure gewinnt. Wir hielten es deshalb für wünschenswert, die Methylierung des l-Leucinols zu wiederholen. Schliesslich haben wir im Hinblick auf die Methode auch das Colamin nochmals der Methylierung unterworfen.

Sowohl *Trier* wie *Karrer* geben zu der methanolischen Lösung des Aminoalkohols abwechselnd und in zeitlichen Abständen Methyljodid und Kaliumhydroxyd. Während *Griess*, der als erster Amino-

¹⁾ Helv. 4, 76 (1921).

²) Z. physiol. Ch. 80, 409 (1912).

säuren mit Methyljodid und Kaliumhydroxyd nach der Methode von Hofmann methyliert hat, noch das gesamte Methyljodid auf einmal zugibt und nur das Kaliumhydroxyd in zeitlichen Abständen portionsweise, findet man in späteren Arbeiten die alternierende oder doch eine ähnliche Arbeitsweise¹). Leider enthalten diese Arbeiten nur selten Angaben über die Ausbeuten. Immerhin erwähnt z. B. Willstätter eine quantitative Ausbeute an diquaternärem Ammoniumsalz bei der Methylierung von 1,4-Diaminobutan nach der alternierenden Arbeitsweise. Dieser Methode ist offenbar der Vorzug zu geben, zumal wenn bei Gegenwart von Wasser gearbeitet wird (Methylierung der Aminosäuren), wegen der Verseifung des Methyljodids.

Wir haben die Methylierung der Aminoalkohole l-Tyrosinol. d,l-Histidinol, l-Leucinol und Colamin durchgeführt und dabei die Methode in einer grossen Zahl von Versuchen einer eingehenden Prüfung unterzogen. Dabei arbeiteten wir zunächst ebenfalls alternierend, meistens in der Wärme und mit ziemlich langen Methylierungszeiten.

Neben der üblichen Arbeitsweise mit Methyljodid und Kaliumhydroxyd (Natriumhydroxyd) haben wir vor allem auch noch Versuche mit Methyljodid und Soda durchgeführt. Dabei erwies sich das Arbeiten mit Soda demjenigen mit Kaliumhydroxyd als bedeutend überlegen. Unseres Wissens sind bis jetzt bei der Methylierung der Aminogruppe die Alkalicarbonate nicht verwendet worden. Beim Histidinol führte praktisch überhaupt nur die Methylierung unter Anwendung von Soda zum Ziel, während beim Leucinol das Arbeiten mit Soda noch eine um 32 % und beim Tyrosinol eine um 20 % bessere Ausbeute an Cholin lieferte als das Arbeiten mit Kaliumhydroxyd. Einzig beim Colamin ergaben beide Methoden praktisch dieselbe Ausbeute von ca. 74 % an Cholin, doch bietet das Arbeiten mit Soda auch hier grössere Vorteile.

Die Ausbeuten sind nach der Soda-Methode die folgenden: Tyrosin-cholin 80%, Leucin-cholin 77%, Cholin 74% und Histidincholin 55%. Bei der erschöpfenden Methylierung des Histidinols ist aber noch zu berücksichtigen, dass hier nebeneinander zwei verschiedene Körper von der Zusammensetzung eines Pentamethylhistidinol-dijodids entstehen. Von diesen beiden Körpern ist in der Ausbeute nur der eine berücksichtigt, weil der andere schwer isolierbar war und nur in kleiner Menge erhalten wurde.

Bei der Methylierung des Tyrosinols, Leucinols und Colamins haben wir endlich feststellen können, dass man mit der Soda-Methode genau dieselben Ausbeuten an Cholin erhält, gleichgültig, ob man alternierend arbeitet oder aber das gesamte Material gleichzeitig zusammenbringt. Beim Histidinol haben wir einen entsprechenden Versuch aus Mangel an Substanz nicht mehr durchgeführt.

¹⁾ Siehe z. B. E. Fischer, B. 40, 5004 (1907), und Willstätter, B. 40, 3980 (1907).

Das Methylieren mit Methyljodid und Soda statt Kaliumhydroxyd bietet also den doppelten Vorteil der besseren Ausbeute und der einfacheren Arbeitsmethode.

Endlich haben wir auch noch mit Natriumhydrogencarbonat wenige Versuche durchgeführt, deren Resultate weiter unten erwähnt werden.

Was das Mengenverhältnis der zur Reaktion gebrachten Substanzen betrifft, so haben wir auf ein Mol freien Aminoalkohol stets vier bis fünf Mol Methyljodid (also einen Überschuss von ein bis zwei Mol) und zwei Mol Kaliumhydroxyd bzw. ein Mol Soda angewendet. Die Verwendung von drei Mol Kaliumhydroxyd auf ein Mol Aminoalkohol (analog wie bei der Methylierung der Aminosäuren) führt zu Komplikationen, wie weiter unten bei der Methylierung des Tyrosinols noch ausgeführt wird. Die geringe Ausbeute, die Karrer bei der Methylierung des Leucinols erhalten hat, dürfte wohl von dem verwendeten Überschuss an Kaliumhydroxyd herrühren.

Wir haben uns durch besondere Versuche überzeugt, dass Soda und Methyljodid unter den von uns bei der Methylierung gewählten Bedingungen nur etwas mehr als halb so rasch miteinander unter Verseifung des Methyljodids reagieren als Kaliumhydroxyd und Methyljodid. Darin ist der eine Grund für die bessere Ausbeute beim Arbeiten mit Soda zu erblicken, und es lässt sich erwarten, dass die von uns erhaltenen Ausbeuten sich nochmals etwas verbessern lassen, wenn man nicht nur mit einem Überschuss an Methyljodid, sondern auch mit einem solchen an Soda arbeitet. Nach einem von uns beim Tyrosin-cholin-jodid durchgeführten Versuch ist aber ein anderer Grund wahrscheinlich noch der, dass das Kaliumhydroxyd aus dem Cholin-jodid die quaternäre Base freimacht, die sich langsam zersetzt.

Über die zur Methylierung verwendeten Aminoalkohole mögen

in diesem Zusammenhang einige kurze Angaben genügen.

Das durch Reduktion von l-Tyrosin-äthylester gewonnene l-Tyrosinol (freie Base) schmilzt bei $91,4-92,1^{0.1}$). Das l-Tyrosinolhydrochlorid schmilzt bei $167,0-167,6^{0}$ und besitzt die spez. Drehung $[\alpha]_{D}^{17}=-18,1^{0}$ (in Wasser). Ein Pikrat des Tyrosinols liess sich nicht gewinnen.

Durch Reduktion des d,l-Histidin-methylesters erhielten wir das d,l-Histidinol-dihydrochlorid, das bei 192,5—195,5° unter Abspaltung von Chlorwasserstoff schmilzt, und das d,l-Histidinol-dipikrat, das bei 207—208° unter Zersetzung schmilzt.

Das *l*-Leucinol²) wurde durch Reduktion von *l*-Leucin-äthylester und das Colamin durch Reduktion von Glykokoll-äthylester hergestellt.

1) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

²) Im Gegensatz zum l-Leucinol von Karrer, welches schwach linksdrehend war, zeigte unser l-Leucinol eine schwache Rechtsdrehung von $[\alpha]_D^{21} = +1,1^0$. Wir haben allerdings Grund, diesem Wert kein besonderes Gewicht zuzulegen.

Die Methylierung des *l*-Tyrosinols in der Wärme lieferte, wie bereits erwähnt, unter Anwendung von Soda 80 % und unter Anwendung von Kaliumhydroxyd 60 % Cholin, wobei sich mit Soda die alternierende Arbeitsweise erübrigt. In Versuchen mit Natriumhydrogencarbonat erhielten wir durchschnittlich 70 % Cholin. Das Cholin wurde in allen diesen Versuchen als Pikrat isoliert.

Bei Raumtemperatur lieferte die Methylierung des Tyrosinols ebenfalls Cholin, und es ist uns nicht gelungen, irgendwelche Zwischenprodukte zu fassen.

Mit dem von Karrer bei der Methylierung des Leucinols verwendeten Verhältnis von drei Mol Kaliumhydroxyd auf ein Mol Aminoalkohol erhielten wir beim Tyrosinol überraschenderweise nicht das Cholin-jodid, sondern eine Molekelverbindung aus einem Mol Tyrosin-cholin mit einem Mol Tyrosin-cholin-jodid, die bei 179,5° unter Aufschäumen schmilzt, basisch reagiert und mit Jodwasserstoff das Cholin-jodid liefert. Ein Überschuss an Alkali kompliziert also die Verhältnisse, indem dann aus dem quaternären Ammoniumsalz die quaternäre Base wenigstens bis zu einem Gleichgewicht in Freiheit gesetzt wird. Mit dem normalen Ansatz von zwei Mol Kaliumhydroxyd auf ein Mol Tyrosinol haben wir dagegen stets nur das Cholin-jodid erhalten.

Das l-Tyrosin-cholin-jodid ist rechtsdrehend und schmilzt bei $154,2-155,2^{\circ}$. Das von $Karrer^{1}$) gewonnene d,l-Tyrosin-cholin-jodid schmilzt bei 176° , also höher als unsere l-Form, und ist deshalb ein Racemat (racemische Verbindung).

Für die Aufarbeitung des Tyrosin-cholins eignet sich besonders das Pikrat, das aus der wässerigen Lösung nach Zugabe der Pikrinsäure sofort praktisch rein erhalten wird. Es schmilzt bei 181,5—182,5°.

Von diesem Pikrat beobachteten wir gelegentlich noch eine niedriger, bei 166—167°, schmelzende Form. In einem Fall erhielten wir diese Form beim Umkrystallisieren der höher schmelzenden aus Wasser, und sie verwandelte sich dann beim nochmaligen Umkrystallisieren wieder in die höher schmelzende. Sie bildete sich gelegentlich auch, wenn die höher schmelzende Form fünf bis zehn Minuten auf Schmelztemperatur gehalten und dann wieder zum Erstarren gebracht wurde. Diese Methoden spielten aber gleichsam nur zufällig und keineswegs regelmässig, so dass wir kein zuverlässiges Verfahren für die Verwandlung der beiden Formen ineinander angeben können. Die beiden Formen dürften polymorph sein.

Aus dem l-Tyrosin-cholin-pikrat wurde auch noch das l-Tyrosin-cholin-chlorid gewonnen, das bei $246,1-246,6^{\circ}$ unter Aufschäumen schmilzt. Karrer (l. c.) gibt von seinem d,l-Tyrosin-cholin-chlorid keinen Schmelzpunkt an.

¹⁾ Helv. 5, 485 (1922).

Beim Histidinol ergab die Methylierung unter Anwendung von Soda 55% praktisch reines Cholin-jodid, während mit Kalium-hydroxyd nur etwa 10% ziemlich unreines und mit Natriumhydrogen-carbonat merkwürdigerweise nur eine Spur besonders unreines Produkt erhalten wurde.

Das durch Methylierung in der Wärme erhaltene Cholin-jodid ist ein erschöpfend methyliertes Histidinol. Es ist, wie zu erwarten war, ein Pentamethyl-histidinol-dijodid. Neben einem Hauptprodukt von dieser Zusammensetzung und vom Smp. 212,5—213,5°, das sich leicht isolieren lässt, erhielten wir nun aber in viel kleinerer Menge noch ein Nebenprodukt von gleicher Zusammensetzung und vom Smp. 190—191°, das sich nur sehr mühsam rein darstellen liess. Berücksichtigt man, dass die Anlagerung von Halogenalkyl an N-Alkylimidazole stets am noch nicht alkylierten Stickstoffatom erfolgt, so dürfte dem Hauptprodukt die Formel I und dem Nebenprodukt die Formel II zukommen:

Möglicherweise entsteht ein entsprechendes Nebenprodukt auch in kleiner Menge bei der erschöpfenden Methylierung des Imidazols¹).

Vom Nebenprodukt wurden auch noch das Pikrat und das Chlorid hergestellt, die sich vom Pikrat und vom Chlorid des Hauptproduktes ebenfalls unterscheiden (siehe experimenteller Teil).

Die bekannte Neigung der Choline zur Komplexbildung erschwert ihre völlige Reinigung für die Analyse erheblich. Durch wiederholtes Umkrystallisieren des Histidin-cholin-jodids (Hauptprodukt) gelang uns die Herstellung eines analysenreinen Produktes nicht. Auch das aus dem Cholin-jodid gewonnene Pikrat hinterliess beim Verbrennen etwas Asche, ergab aber im übrigen ein gutes Analysenresultat, und dasselbe gilt auch für das Cholin-jodid, welches wir aus dem Pikrat mit Jodwasserstoff zurückgewonnen haben. Erst das aus dem Pikrat gewonnene Chlorid erwies sich als völlig rein. Aus dem Chlorid konnte dann endlich auch das Pikrat und aus diesem wiederum das Jodid in völlig reiner Form gewonnen werden.

Die Überführung von Cholin-jodid in Cholin-chlorid wurde auch nach der üblichen Methode durch Schütteln mit frisch gefälltem Silberchlorid durchgeführt und die Überführung des Chlorids in das Jodid durch Umsetzung mit Natriumjodid in abs. äthanolischer Lösung. Besonders die zuletzt erwähnte Methode ist aber natürlich für die Darstellung von analysenreinem Jodid ungeeignet.

¹⁾ Siehe dazu eine Bemerkung von O. Wallach, B. 15, 649 (1882).

Ausser den beiden durch Methylierung in der Wärme erhaltenen Cholinen des Histidins wurde durch Methylierung von Histidinol mit Soda und Methyljodid bei Raumtemperatur ein bei 196,8—197,1° schmelzendes Jodid erhalten, das wir zwar noch nicht ganz rein in Händen hatten, das aber nach der Analyse nur ein Trimethylhistidinol-jodid sein kann. Dieses Jodid konnte dann in das reine Trimethyl-histidinol-chlorid vom Smp. 183,0—183,4° übergeführt werden.

Die Methylierung des Leucinols mit der theoretischen Menge Kaliumhydroxyd und nach der alternierenden Arbeitsweise lieferte eine Ausbeute von 45 % an Leucin-cholin-jodid, während mit Soda, gleichgültig, ob alternierend oder nicht alternierend gearbeitet wurde, eine Ausbeute von 77 % an Cholin-jodid erhalten wurde.

Das l-Leucin-cholin-jodid schmilzt bei 150—150,7° und ist rechtsdrehend. Das von Karrer aus stark racemisierter l- α -Brom-isocapronsäure gewonnene Leucin-cholin-jodid schmilzt bei 138—139° und dürfte die d, l-Form sein.

Aus dem *l*-Leucin-cholin-jodid wurden noch das *l*-Leucin-cholin-chlorid und das *l*-Leucin-cholin-pikrat hergestellt (siehe experimenteller Teil).

Bei der Methylierung des Colamins haben wir ebenfalls direkt das Cholin-jodid aufgearbeitet. Quantitativ bietet bei diesem Amino-alkohol die Methylierung mit Soda mit etwa 74 % Ausbeute gegenüber dem Arbeiten mit Kaliumhydroxyd kaum einen Vorteil; das Cholinjodid ist aber nach der Soda-Methode wesentlich reiner und das Aufarbeiten einfacher. Mit Kaliumhydroxyd und nach der nicht alternierenden Arbeitsmethode war die Ausbeute 20 % geringer.

Der Schmelzpunkt des Cholin-jodids, den wir in der Literatur nicht auffinden konnten, liegt bei 258° unter Zersetzung. Vom Cholin-chlorid findet man je nach Autor Schmelzpunkte, die zwischen 220° und 290° liegen. Wir fanden einen Schmelzpunkt von 307° unter lebhafter Zersetzung. Das mit Substanz beschickte Schmelzpunktsröhrchen wurde während drei Stunden am Hochvakuum im Wasserbad auf 75° erwärmt und dann zugeschmolzen.

Wir haben endlich die Chloride des Tyrosin-cholins und des Histidin-cholins noch der Acetylierung unterworfen. Baeyer¹) und Nothnagel²) haben die Acetylierung des Cholin-chlorids durchgeführt, Baeyer in der Kälte und Nothnagel durch Erwärmen. Karrer³) hat ebenfalls bereits Acetylverbindungen von Cholinen hergestellt, u. a. diejenige des Tyrosin-cholins. Er macht aber über ihre Darstellung und ihre Eigenschaften, mit Ausnahme der pharmakologischen, keine näheren Angaben.

die

HE

elane

h di

ini

310

n dai

ischer

¹⁾ Baeyer, A. 142, 325 (1867).

²⁾ Nothnagel, Arch. pharm. 232, 266 (1894).

³⁾ Karrer, Helv. 5, 474 (1922).

Weder durch Einwirkung von Acetylchlorid auf Tyrosin-cholinchlorid während 40 Std. bei Raumtemperatur, noch durch Einwirkung während mehrerer Tage und darauffolgendes Erwärmen während 24 Std. auf 50° ist es uns gelungen, das reine Acetylderivat herzustellen. Dasselbe gilt für mehrere Versuche, bei denen wir mit Essigsäure-anhydrid unter Erhitzen bis zum Sieden arbeiteten, obgleich diese Methode beim Tyrosinol ohne Schwierigkeiten zum Ziel führt.

Die Acetylierung verläuft dagegen glatt mit Essigsäure-anhydrid und Pyridin unter Zusatz einer dem Pyridin äquivalenten Menge Essigsäure. Man kann auch mit kleineren Zusätzen von Essigsäure arbeiten; aber ohne Essigsäure verläuft die Reaktion sehr schlecht. Es wurde so das Diacetyl-l-tyrosin-cholin-chlorid erhalten, das bei 188,9—189,4° unter langsamer Zersetzung schmilzt.

Beim Histidin-cholin-chlorid (Hauptprod. vom Smp. 204°) hatten wir in mehreren Versuchen mit Acetylchlorid ebenfalls keinen Erfolg, weder bei Raumtemperatur noch in der Wärme. Das Resultat war nur verunreinigtes Ausgangsmaterial. Mit Essigsäure-anhydrid in der Wärme wurde das Acetat zwar erhalten, doch ist nach unserer Erfahrung auch hier die Acetylierung mit Essigsäure-anhydrid und Pyridin am besten geeignet, wobei sich, im Gegensatz zur Acetylierung des Tyrosin-cholins, ein Zusatz von Essigsäure erübrigt. Es wurde so ein Dihydrat des Acetyl-d,l-pentamethyl-histidinol-dichlorids erhalten, welches bei 111—113,5° schmilzt.

Experimenteller Teil.

(alle Schmelzpunkte sind korrigiert)

Methylierung von l-Tyrosinol mit Methyljodid und einem Überschuss von Kaliumhydroxyd — Molekelverbindung: Tyrosin-cholin-tyrosin-cholin-jodid.

1 g Tyrosinol (1 Mol), in 10 cm³ absolutem Methanol gelöst, wurde mit 5 cm³ einer absoluten methanolischen Methyljodidlösung, die 4 g Methyljodid (4,7 Mol) in 15 cm³ Lösung enthielt, versetzt und hierauf 5 Stunden auf dem Wasserbad bei einer Badtemperatur von 50—55° gehalten. Nach dem Abkühlen wurden 7 cm³ einer absoluten methanolischen Kaliumhydroxydlösung, die 1 g Kaliumhydroxyd (3 Mol) in 21 cm³ Lösung enthielt, zugegeben und eine halbe Stunde auf dem Drahtnetz unter Rückfluss gekocht. Das Zugeben der Methyljodid- und Kaliumhydroxydlösungen und das darauffolgende Erwärmen wurde noch zweimal mit den gleichen Mengen und in gleicher Weise wiederholt, wobei aber nach dem Zugeben der Methyljodidlösung jeweils nur noch drei Stunden erwärmt wurde.

Hierauf wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand mit absolutem Äthanol unter Erwärmen ausgezogen. Der äthanolische Auszug wurde dann erneut im Vakuum zur Trockene eingedampft, was einen Rückstand von 2,5 g lieferte. Jetzt wurde aus 15 cm³ absolutem Äthanol umkrystallisiert, wobei sich zunächst Kaliumjodid abschied, von welchem abgenutscht wurde. Beim Kratzen krystallisierte die Molekelverbindung aus. Sie wurde noch dreimal, bis zur Konstanz des Schmelzpunktes, aus absolutem Methanol mit absolutem Äther gefällt.

Die Substanz bildet zu Drusen vereinigte, schiefwinklige Platten und schmilzt bei 180,5° unter Aufschäumen. Ihre wässerige Lösung rötet Phenolphthalein. Die Verbindung lässt sich mit Jodwasserstoff in l-Tyrosin-cholin-jodid überführen.

3,924 mg Subst. gaben 7,318 mg CO₂ und 2,561 mg H₂O 5,502 mg Subst. verbrauchten 2,936 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ $C_{12}H_{20}O_2NOH + C_{12}H_{20}O_2NJ = C_{24}H_{41}O_5N_2J \quad \text{Ber. C 51,06} \quad H 7,32 \quad J 22,48\% \\ \text{Gef. } , 50,89 \quad , 7,30 \quad , 22,59\%$

Methylierung von l-Tyrosinol mit Methyljodid und Soda.

a) Nach der alternierenden Arbeitsmethode.

1,22 g Tyrosinol-hydrochlorid (1 Mol), in 10 cm³ absolutem Methanol gelöst, wurden mit 0,32 g fein pulverisierter Soda (0,5 Mol) versetzt und während einer halben Stunde am Rückfluss zum gelinden Sieden erhitzt, um aus dem Tyrosinol-hydrochlorid das Tyrosinol in Freiheit zu setzen. Nach dem Erkalten wurden 6 cm³ einer absoluten methanolischen Lösung, die 4,2 g Methyljodid (5 Mol) in 18 cm³ Lösung enthielt, zugegeben und während 9 Stunden im Wasserbad bei einer Badtemperatur von 55° erwärmt. Jetzt wurden 0,32 g Soda zugefügt und während einer halben Stunde auf dem Drahtnetz zum gelinden Sieden erhitzt. Das Zugeben der Methyljodidlösung und der Soda sowie das darauffolgende Erwärmen wurde dann mit den gleichen Mengen und in gleicher Weise nochmals wiederholt. Zum Schluss wurden noch die letzten 6 cm³ der Methyljodidlösung zugegeben und 24 Stunden im Wasserbad auf 55° erwärmt.

Hierauf wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand mit 10 cm³ und dann noch ein zweites und drittes Mal mit je 5 cm³ absolutem Äthanol warm ausgezogen. Der äthanolische Auszug wurde wieder im Vakuum zur Trockene eingedampft und ergab einen Rückstand von 4,07 g. Dieser wurde in 30 cm³ Wasser gelöst, mit etwas Kohle entfärbt und mit 130 cm³ einer kalt gesättigten Pikrinsäurelösung versetzt. Das Pikrat, welches sofort ausfällt, wurde abgenutscht und mit wenig Wasser gewaschen, was 1,95 g lieferte. Die Mutterlauge von dieser ersten Pikratfällung ergab nach nochmaligem Zusatz von 30 cm³ gesättigter Pikrinsäurelösung noch 0,15 g Pikrat.

Das erhaltene Pikrat war praktisch rein. Ausbeute 80%.

b) Nicht alternierende Arbeitsmethode.

TE

(je

15

100

alla de de

祖

di è

없다

四四四四

3/2

成日

0,61 g Tyrosinol-hydrochlorid wurden in 5 cm³ absolutem Methanol in einer Druckflasche gelöst, 0,16 g Soda zugefügt und während einer halben Stunde am Rückfluss auf dem Wasserbad zum gelinden Sieden erhitzt, um das Tyrosinol in Freiheit zu setzen. Nach dem Erkalten wurden 0,32 g Soda und eine Lösung von 2,1 g Methyljodid in 9 cm³ absolutem Methanol zugefügt und nun in der versehlossenen Druckflasche während 72 Stunden im Wasserbad auf 55° Badtemperatur erwärmt.

Aufgearbeitet wurde analog a), und es wurde genau dieselbe Ausbeute an Pikrat erhalten.

l-Tyrosin-cholin-pikrat.

Das Pikrat wurde noch zweimal, bis zur Konstanz des Schmelzpunktes, aus Wasser umkrystallisiert. Es bildet gelbe Nädelchen vom Smp. 181,5—182,5° nach vorherigem Sintern. Gelegentlich wurde noch eine niedriger schmelzende Form dieses Pikrates vom Smp. 166—167° beobachtet. Beim Verbrennen hinterliess die Substanz 0,7% Asche, die bei der C,H-Bestimmung in Abzug gebracht wurde.

3,632 mg Subst. gaben 6,557 mg CO₂ und 1,618 mg H_2O 2,199 mg Subst. gaben 0,255 cm³ N_2 (16°, 718 mm) $C_{13}H_{22}O_9N_4$ Ber. C 49,31 H 5,06 N 12,78% Gef. ,, 49,27 ,, 4,98 ,, 12,94%

l-Tyrosin-cholin-jodid.

Das l-Tyrosin-cholin-jodid wurde sowohl aus der oben erwähnten Molekelverbindung als auch aus dem Pikrat durch Behandlung mit Jodwasserstoff gewonnen. Ausserdem haben wir zwei Methylierungsversuche, bei denen mit der theoretischen Menge Kaliumhydroxyd (zwei Mol Kaliumhydroxyd auf ein Mol Tyrosinol) gearbeitet worden war, direkt auf Tyrosin-cholin-jodid aufgearbeitet. Nach der Methylierung wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft, der Rückstand mit absolutem Äthanol warm ausgezogen und die äthanolische Lösung eingeengt. Das so erhaltene Tyrosin-cholin-jodid war nach nochmaligem Umkrystallisieren aus absolutem Äthanol bereits ziemlich rein.

Die Darstellung eines analysenreinen Produktes bereitete zunächst Schwierigkeiten. Wiederholtes weiteres Umkrystallisieren aus absolutem Äthanol und aus absolutem Äthanol durch Fällen mit absolutem Äther lieferte noch kein völlig reines Analysenprodukt. Auch aus dem Pikrat konnte kein völlig reines Jodid gewonnen werden. Schliesslich führte aber wiederholtes Fällen aus Methanol mit Essigester zum Ziel.

Aus Methanol mit Essigester gefällt, bildet der Körper glänzende Blättchen oder Prismen, die bei 154,2—155,2° ohne Zersetzung schmelzen. Er ist rechtsdrehend.

3,741 mg Subst. gaben 5,864 mg CO₂ und 2,011 mg H_2O 6,662 mg Subst. verbrauchten 5,902 cm³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$ $C_{12}H_{20}O_2NJ$ Ber. C 42,74 H 5,98 J 37,64% Gef. ,, 42,78 ,, 6,02 ,, 37,48% $[\alpha]_D^{14} = +17,7^0 \mbox{ (in Alkohol)}$

l-Tyrosin-cholin-chlorid.

2 g Tyrosin-cholin-pikrat wurden in 14 cm³ Wasser suspendiert, mit 14 cm³ konz. Salzsäure versetzt und die Pikrinsäure mit Äther ausgeschüttelt. Die Lösung wurde mit etwas Kohle entfärbt und unter Zusatz von absolutem Äthanol im Vakuum zur Trockene eingedampft. Das Chlorid wurde noch zweimal aus absolutem Methanol mit Essigester und hierauf noch zwei weitere Male aus absolutem Methanol mit absolutem Äther gefällt.

Der Körper bildet dickprismatische bis säulenförmige Krystalle, die nicht hygroskopisch sind und die bei $246,2-246,9^{\circ}$ unter lebhaftem Aufschäumen und unter Bräunung schmelzen.

3,695 mg Subst. gaben 7,925 mg CO $_2$ und 2,708 mg H $_2$ O 7,350 mg Subst. gaben 4,292 mg AgCl $C_{12}H_{20}O_2NCl$ Ber. C 58,65 H 8,20 Cl 14,43% Gef. ,, 58,55 ,, 8,20 ,, 14,45%

Diacetyl-l-tyrosin-cholin-chlorid.

Ein Gemisch von 0,1 g Tyrosin-cholin-chlorid, 4 g getrocknetem und frisch destilliertem Pyridin, 3 g Eisessig und 2 cm³ Essigsäure-anhydrid wurde im verschlossenen Erlenmeyer im Wasserbad bei 80° Badtemperatur während 40 Minuten erwärmt. Nach 15 Minuten hatte sich das Tyrosin-cholin-chlorid gelöst. Nach dem Erkalten wurde mit 40 cm³ absolutem Äther in Portionen gefällt, wobei schon nach Zugabe von 10 cm³ Äther das Diacetat zu krystallisieren begann. Es wurden so 0,1221 g analysenreines Diacetat erhalten, was einer Ausbeute von 91% entspricht. Nochmaliges Fällen aus absolutem Äthanol mit absolutem Äther erhöhte den Schmelzpunkt nur noch unwesentlich.

Der Körper bildet schöne, sechseckige, oft zu Drusen vereinigte, nicht hygroskopische Tafeln, die bei 188,9—189,4° unter langsamer Zersetzung schmelzen.

3,660 mg Subst. gaben 7,807 mg CO₂ und 2,402 mg $\rm H_2O$ 5,604 mg Subst. gaben 2,450 mg AgCl $\rm C_{16}H_{21}O_1NCl$ Ber. C 58,26 H 7,33 Cl 10,75% Gef. ,, 58,21 ,, 7,34 ,, 10,83%

Methylierung von Histidinol mit Methyljodid und Soda in der Wärme.

Es wurde zuerst aus dem Histidinol-dihydrochlorid das freie Histidinol wie folgt hergestellt: 1 g Histidinol-dihydrochlorid (1 Mol) wurde in wenig Wasser gelöst und mit 0,5 g Soda versetzt. Die Lösung wurde nun bei 30° im Vakuum zur Trockene eingedampft unter Zusatz von absolutem Äthanol und der Rückstand zweimal mit je 5 cm³ absolutem Athanol warm ausgezogen. Die äthanolische Lösung wurde schliesslich noch auf ein kleines Volumen eingeengt und mit 10 cm3 absolutem Methanol verdünnt.

Zur Methylierung wurde nun mit 5 cm³ einer absoluten methanolischen Lösung, die 4,7 g Methyljodid (7 Mol, das ist ein Überschuss von 2 Mol) in 15 cm3 Lösung enthielt, versetzt und während 7 Stunden im Wasserbad bei 60° Badtemperatur am Rückfluss erwärmt. Dann wurden 0,37 g fein pulverisierte Soda (0,75 Mol) zugefügt und während einer halben Stunde auf dem Drahtnetz zum gelinden Sieden erhitzt. Das Zugeben der Methyljodidlösung und der Soda sowie das darauffolgende Erwärmen wurde dann mit den gleichen Mengen und in gleicher Weise nochmals wiederholt. Zum Schluss wurden noch die letzten 5 cm³ Methyljodidlösung zugegeben und während 17 Stunden im Wasserbad auf 60° erwärmt. Es war jetzt bis auf eine kleine Menge Substanz alles in Lösung, und nach mehreren Stunden begann die Krystallisation des Histidin-cholin-jodids.

Ohne die abgeschiedenen Krystalle abzunutschen, wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand zuerst zweimal mit je 10 cm³ absolutem Äthanol kalt

ausgezogen, was eine Lösung I und einen Rückstand I lieferte.

Der Rückstand I wurde nun viermal mit je 20 cm³ absolutem siedendem Äthanol am Rückfluss ausgezogen und löste sich dabei bis auf Spuren. Die äthanolische Lösung wurde dann auf 10 cm³ eingeengt und lieferte so 1,25 g Pentamethyl-histidinol-dijodid. Die Substanz wurde dann noch aus 15 cm3 absolutem Methanol mit 60 cm3 Essigester gefällt, was 1,17 g praktisch reines Cholin-jodid lieferte vom Smp. 213,1-213,7°, entsprechend einer Ausbeute von 54%.

Ausser diesem Hauptprodukt wurde in einem besonderen Versuche aus dem äthanolischen Auszug, welcher der oben erwähnten Lösung I entspricht, noch ein Nebenprodukt isoliert, das sich nach mehrmaligem Umkrystallisieren ebenfalls als Pentamethyl-

histidinol-dijodid erwies.

ke

odez

品

bip

力力

ils in li

d,l-Pentamethyl-histidinol-dijodid (Hauptprodukt).

Wie bereits im allgemeinen Teil erwähnt wurde, konnte ein analysenreines Jodid

nur aus dem Chlorid über das Pikrat gewonnen werden.

Die analysenreine, durch Fällen aus absolutem Methanol mit Essigester umkrystallisierte Substanz schmilzt etwas weniger hoch als die noch mit Natriumjodid verunreinigten Produkte, die ohne die Reinigung über das Chlorid erhalten werden, nämlich bei 212,5—213,5° unter langsamer Gasentwicklung, und bildet glänzende, sechseckige Tafeln oder gelegentlich auch weissliche Rosetten.

3,765 mg Subst. gaben 3.909 mg CO_2 und 1,663 mg H_2O 4.582 mg Subst. gaben 4,616 mg AgJ $C_{11}H_{23}ON_3J_2$ Ber. C 28,28 H 4,96 J 54,34% Gef. ,, 28,33 ,, 4,94 ,, 54,46%

d,l-Pentamethyl-histidinol-dijodid (Nebenprodukt).

Das Nebenprodukt wurde wiederholt durch Fällen aus einem Gemisch von gleichen Teilen absolutem Methanol und Aceton mit absolutem Äther umkrystallisiert. Es bildet blattartige oder stengelige Krystalle ohne deutliche Flächenentwicklung, die bei 190-1910 unter massiger Bräunung schmelzen. Der Körper hinterliess beim Verbrennen eine Spur Asche, die von der eingewogenen Substanzmenge der C,H-Bestimmung bereits in Abzug gebracht ist. Die Analysenwerte genügen aber auch ohne diese Korrektur.

3,828 mg Subst. gaben 3,952 mg CO2 und 1,721 mg H2O 4,546 mg Subst. gaben 4,580 mg AgJ C₁₁H₂₃ON₃J₂ Ber. C 28,28 H 4,96 J 54,34% Gef. ,, 28,17 ,, 5,03 ,, 54,46%

d,l-Pentamethyl-histidinol-dipikrat.

Hauptprodukt: Das aus dem d,l-Pentamethyl-histidinol-dijodid durch Umsetzung mit Pikrinsäure in wässeriger Lösung hergestellte Dipikrat ergab nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Wasser zwar gute Analysenwerte, hinterliess aber beim Verbrennen 0,2% Asche. Ein völlig reines Pikrat liess sich nur aus dem Chlorid gewinnen. Es bildet ein zitronengelbes Pulver vom Smp. 183,1—184,1° nach stärkerem Sintern.

3,896 mg Subst. gaben 5,889 mg CO₂ und 1,449 mg H₂O $$\rm C_{23}H_{37}O_{15}N_9$$ Ber. C 41,26 H 4,07% Gef. ,, 41,25 ,, 4,08%

Nebenprodukt: Das Dipikrat des Nebenproduktes, schmilzt bei 171,5—173,0° nach stärkerem Sintern. Vom Nebengrodukt wurde nur das Dijodid analysiert (s. o.)

d,l-Pentamethyl-histidinol-dichlorid.

Hauptprodukt: Aus dem Pikrat wurde in üblicher Weise das d,l-Pentamethylhistidinol-dichlorid hergestellt und dieses noch dreimal aus absolutem Äthanol mit Essigester gefällt. Es bildet stark hygroskopische Nädelchen, die nach fünfstündigem Trocknen im Hochvakuum bei 60—70° im zugeschmolzenen Röhrchen sehr scharf und fast ohne Sintern bei 204° schmolzen. Die Schmelze ist gelbbraun und zeigt langsame Gasentwicklung.

Für die Analyse wurde das Produkt 8 Stunden bei 100° im Vakuum getrocknet.

3,978 mg Subst. gaben 6,762 mg $\rm CO_2$ und 2,912 mg $\rm H_2O$ 4,644 mg Subst. gaben 4,682 mg $\rm AgCl$ $\rm C_{11}H_{23}ON_3Cl_2$ Ber. C 46,48 H 8,16 Cl 24,95% Gef. ,, 46,39 ,, 8,19 ,, 24,94%

Nebenprodukt: Das d,l-Pentamethyl-histidinol-dijodid (Nebenprodukt) wurde durch Schütteln mit frisch gefälltem Silberchlorid in das entsprechende Dichlorid verwandelt und dieses dann noch viermal aus absolutem Äthanol mit Essigester gefällt. Es bildet Nädelchen, die nach dem Trocknen im Hochvakuum bei 70—80° während 1 bis $2^1/_2$ Stunden mässig hygroskopisch sind und bei 177,3—178,0° schmelzen. Eine Analyse wurde nicht durchgeführt.

Acetyl-d, l-pentamethyl-histidinol-dichlorid.

0,06 g Histidin-cholin-chlorid, 0,3 g Pyridin und 3 cm³ Essigsäure-anhydrid wurden im verschlossenen Erlenmeyer während 30 Minuten im Wasserbad bei einer Badtemperatur von 50° erwärmt, wobei das Histidin-cholin-chlorid nach 10 Minuten in Lösung gegangen war. Dann wurden 22 cm³ absoluter Äther in Portionen zugefügt, was eine ölige Fällung ergab. Für die Analyse wurde die Substanz dann noch viermal durch Lösen in 2 cm³ absolutem Äthanol und Fällen mit 20 cm³ Essigester umkrystallisiert, wobei schon beim ersten Fällen Krystallisation eintrat. Es wurde so ein Dihydrat des Histidin-cholin-chlorid-acetates erhalten, welches schöne schiefwinklige Platten oder Prismen bildet, die bei 111—113,5° nach stärkerem Sintern schmelzen.

3,758 mg Subst. gaben 5,935 mg CO₂ und 2,731 mg $\rm H_2O$ 5,410 mg Subst. gaben 4,258 mg AgCl $\rm C_{13}H_{25}O_2N_3Cl_2\cdot 2~H_2O$ Ber. C 43,09 H 8,07 Cl 19,57% Gef. ,, 43,11 ,, 8,13 ,, 19,47%

Bei längerem Aufbewahren dieser Substanz im evakuierten Exsikkator verwitterte sie unter Abgabe von Wasser. Nach achtstündigem Erhitzen bei 80° im Vakuum stimmten die Analysenwerte ziemlich gut auf ein Monohydrat. Nach dreistündigem Erhitzen im Hochvakuum bei 80° fanden wir einen Schmelzpunkt von 94,5—95,5°, vermutlich der Schmelzpunkt des Monohydrates. Der Tropfen bleibt dabei an der Wand hängen, wie das bei Fettsäure-estern von Cholinen bekannt ist.

Methylierung von Histidinol mit Methyljodid und Soda bei Raumtemperatur. Trimethyl-histidinol.

Bis auf die noch zu erwähnenden Unterschiede wurde genau gleich gearbeitet wie in dem bereits oben beschriebenen Versuch über die Methylierung von Histidinol mit Methyljodid und Soda in der Wärme.

Es wurde nicht erwärmt, auch nicht nach Zugabe der Soda. Die Reaktionszeiten betrugen je 24 Stunden nach Zugabe der beiden ersten Portionen Methyljodid und 140 Stunden nach Zugabe der letzten Portion. Ferner wurde nach der Zugabe der beiden Portionen Soda während der Methylierung zunächst einige Zeit häufig und dann noch gelegentlich geschüttelt.

Nach dem Eindampfen im Vakuum zur Trockene wurde der Rückstand wieder zuerst zweimal mit je 10 cm³ absolutem Äthanol kalt ausgezogen und der jetzt noch verbleibende Rückstand noch zweimal mit je 20 cm³ siedend ausgezogen, wobei er bis auf Spuren in Lösung ging. Dieser letzte äthanolische Auszug lieferte beim Einstellen in Eis 0,4 g Substanz, die noch zweimal aus absolutem Methanol mit reichlich Essigester gefällt wurde.

Es wurde so ein Körper vom Smp. 196,8—197,1° erhalten, dessen Analyse angenähert auf ein Trimethyl-histidinol-jodid stimmte.

Zur weiteren Prüfung wurde die Substanz durch Schütteln mit frisch gefälltem Silberchlorid in das Chlorid übergeführt. Dieses wurde zwei Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet und schmolz nun bei 183,0—183,4°. Nach der Analyse ist der Körper von diesem Schmelzpunkt noch ein Monohydrat des Trimethyl-histidinol-chlorids. Durch sechsstündiges Trocknen bei 100° im Vakuum verliert er das Wasser und geht in Trimethyl-histidinol-chlorid über.

3,487 mg Subst. gaben 6,274 mg CO₂ und 2,587 mg $\rm H_2O$ 4,710 mg Subst. gaben 3,100 mg AgCl $\rm C_9H_{18}ON_3Cl$ Ber. C 49,20 H 8,26 Cl 16,14% Gef. ,, 49,10 ... 8,30 ,, 16,28%

Es ist zu erwarten, dass dieses Trimethyl-histidinol auch durch nicht alternierende Methylierung mit Soda erhalten wird.

Methylierung von Leucinol mit Soda in der Wärme (nicht alternierend).

l-Leucin-cholin.

di

中可

e Re

MI P

160

0,5 g Leucinol (1 Mol), 3,0 g Methyljodid (5 Mol) und 0,45 g Soda (1 Mol), fein pulverisiert, wurden in einer Druckflasche zusammen mit 13 cm³ absolutem Methanol während 72 Stunden auf dem Wasserbad bei ca. 55° Badtemperatur erhitzt. Die Lösung wurde dann im Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand mit 10 cm³ und nochmals mit 5 cm³ absolutem Äthanol bei 70° ausgezogen, wobei nur ein geringer Rückstand ungelöst blieb. Der äthanolische Auszug wurde nun im Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand zweimal aus wenig absolutem Äthanol umkrystallisiert. Aus den Mutterlaugen konnten durch Fällen mit absolutem Äther weitere, etwas weniger reine Fraktionen gewonnen werden, die vereinigt und erneut aus wenig absolutem Äthanol unter Zusatz von etwas Äther umkrystallisiert wurden. Es konnten so insgesamt 0,95 g praktisch reine Substanz gewonnen werden, was einer Ausbeute von 77% entspricht.

Das reine, durch Umkrystallisieren aus absolutem Äthanol gewonnene l-Leucincholin-jodid bildet flache, stengelige, etwas gelbliche Krystalle, schmilzt bei 150,0—150,7° und zeigt die spez. Drehung $\left[\alpha\right]_{1}^{14.5}=+17,7°$ (in Wasser).

Aus dem l-Leucin-cholin-jodid wurde durch Schütteln mit frisch gefälltem Silberchlorid das l-Leucin-cholin-chlorid hergestellt. Aus absolutem Äthanol mit absolutem Äther gefällt, bildet es feine, hygroskopische Nadeln vom Smp. 198,3—199,4° unter lebhafter Gasentwicklung. Karrer gibt für das Leucin-cholin-chlorid (aus stark racemisierter l-α-Brom-isocapronsäure hergestellt) den Smp. 173° an.

Endlich haben wir aus dem *l*-Leucin-cholin-jodid auch noch das *l*-Leucin-cholinpikrat gewonnen, welches bei 127,4—128,4° schmilzt, während das von *Karrer* beschriebene Pikrat bei 136° schmilzt und demnach wohl das Racemat darstellt.

Der Haco Gesellschaft AG., Gümligen (Bern), möchten wir für die Unterstützung dieser Arbeit unseren wärmsten Dank aussprechen. Einige der vorstehenden Versuche wurden unter Mitarbeit der HH. M. Feurer, K. Meier, W. Köppel, L. Ruesch, H. Ritter und E. Studer durchgeführt. Die Mikroanalysen sind im Mikrolaboratorium der E.T.H. von den HH. Dr. H. Gubser und W. Manser durchgeführt worden.

St. Gallen, Chemisches Laboratorium der Kantonsschule.

123. A propos de ma communication intitulée: Sur l'évaluation des alcools tertiaires dans les huiles essentielles 1)

par Y .- R. Naves.

(4 VI 46)

En adoptant et en utilisant systématiquement les méthodes par lesquelles j'ai étudié l'action de l'amidure de sodium sur les alcools, *Palfray*, *Sabetay* et *Gordon*²) ont reconnu la valeur des critiques que j'ai élevées contre la prétention affirmée par deux d'entre eux³) de faire de cette action une méthode générale d'évaluation des alcools. Ils ont fini par admettre que «le procédé à l'amidure ne peut être utilisé, comme méthode de dosage, que dans quelques cas particuliers».

Toutefois, loin de souligner cette évolution de leur point de vue, ces auteurs ont présenté leurs travaux récents comme le développement conséquent de leur communication de 1943.

En outre, ils affirment avoir mentionné dans cette communication leur intention de poursuivre leurs travaux et ils m'accusent de n'avoir pas tenu compte de cette annonce en publiant mon travail dans Helv.

Cette attitude discourtoise m'est imputée dans un esprit nettement diffamatoire, car il est inexact que cette annonce ait été faite. Ma publication établissait, selon les règles usuelles de la critique scientifique, la non-valeur des conclusions adoptées par Pal|ray, Sabetay et $Mlle\ Garry$ deux ans auparavant.

Je rappelle qu'à deux reprises déjà j'ai dû m'élever ici même contre des déclarations inexactes de Sabetay et de $Pal|ray^4\rangle$.

Laboratoires Scientifiques de L. Givandan et Cie. S.A., Vernier-Genève.

¹) Helv. 28, 278 (1945).

²) C. r. **222**, 1235 (1946).

³) Bl. [5] 10, 131 (1943).

⁴⁾ Helv. 25, 698 (1942); 27, 626 (1944).

124. 3-Desoxy-d-mannose.

Desoxyzucker. 11. Mitteilung¹) von H. R. Bolliger²) und D. A. Prins. (4. VI. 46)

Im Rahmen der in diesem Laboratorium ausgeführten Arbeiten über Desoxyzucker³⁻⁷) und insbesondere in Zusammenhang mit den Untersuchungen über 2,3-Anhydro-hexoside⁸⁻¹⁰) wurde das Verhalten des 2,3-Anhydro-mannosid-Derivates (VII) sowohl bei der Druckhydrierung über Raney-Nickel als auch, wie bereits kurz angezeigt⁹), bei der Umsetzung mit NaSCH₃ studiert. Im ersteren Falle entstanden, wie im folgenden dargelegt wird, zur Hauptsache Derivate der 3-Desoxy-d-mannose (II), während bei der zweiten Reaktion fast quantitativ das 3-Methylthio-d-altrosid-Derivat (XIV) entstand, das sich leicht in Derivate der 3-Desoxy-d-mannose überführen liess.

Wie Robertson und Mitarb.¹¹) fanden, lässt sich der Oxyd-Ring in (VII) mit NaOCH₃ in der Weise aufspalten, dass das Altrose-Derivat (I) entsteht¹²). Dieses Verhalten deutet auf eine Polarisation des Oxydringes in der durch den gebogenen Pfeil angedeuteten Richtung hin. Auch die Druckhydrierung von (VII) verlief zur Hauptsache im Sinne dieser Polarisation, d. h. als Hauptprodukt wurde aus (VII) unter Aufspaltung des Oxydringes und gleichzeitiger Abspaltung des Benzyliden-Restes das 3-Desoxy- α -methyl-d-mannosid- $\langle 1,5\rangle$ (VIII) gebildet. Der Oxyd-Ring in (VII) wird also sowohl mit NaOCH₃ wie mit H₂ im gleichen Sinne geöffnet. Er unterscheidet sich somit in dieser Hinsicht von demjenigen in 2,3-Anhydro-4,6-benzyliden- α -methyl-d-allosid- $\langle 1,5\rangle^8$). Als Nebenprodukt wurde bei der Hydrierung von (VII) etwas Hexahydro-benzyliden-Derivat (V) erhalten. 3-Desoxy- α -methyl-d-mannosid (VIII) krystallisierte bisher nicht, auch das daraus bereitete Triacetat (IX) blieb amorph.

^{1) 10.} Mitteilung vgl. D. A. Prins, Helv. 29, 378 (1946).

²⁾ Auszug aus der Diss. H. R. Bolliger, die demnächst erscheint.

³⁾ C. W. Shoppee, T. Reichstein, Helv. 25, 1611 (1942).

⁴⁾ B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1146, 1200, 1203 (1944).

E. Vischer, T. Reichstein, Helv. 27, 1332 (1944).
 C. A. Grob, D. A. Prins, Helv. 28, 840 (1945).

⁷⁾ A. S. Meyer, T. Reichstein, Helv. 29, 139 (1946).

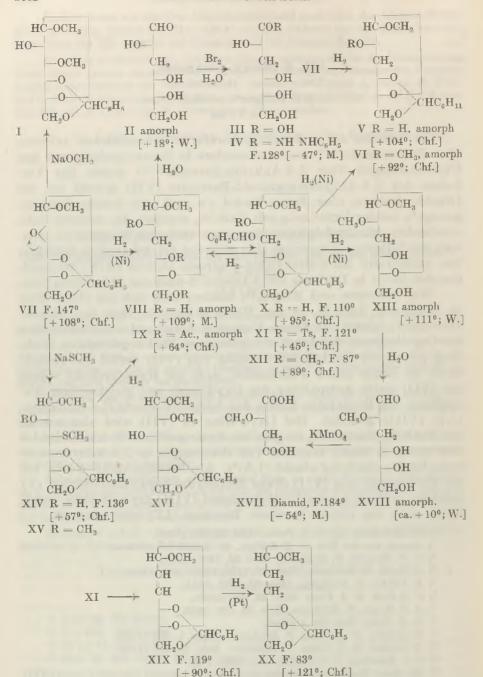
⁸⁾ D. A. Prins, Helv. 29, 1 (1946).

⁹⁾ R. Jeanloz, D. A. Prins, T. Reichstein, Exper. 1, 336 (1945).

¹⁰⁾ R. Jeanloz, D. A. Prins, T. Reichstein, Helv. 29, 371 (1946).

¹¹⁾ G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193.

¹²⁾ Bei dieser Reaktion konnte das ebenfalls zu erwartende Glucosid-Derivat (XVI) nicht isoliert werden, vgl. D. A. Prins, loc. cit. S. 2, Fussnote 2. Dagegen erhielten W. G. H. Lake und S. Peat, Soc. 1938, 1417, aus 2,3-Anhydro-4,6-benzyliden-β-methyld-mannosid-(1,5) ungefähr gleiche Mengen der Glucosid- und Altrosid-Derivate.



Die Zahlen in eckigen Klammern geben $[\alpha]_D$ für folgende Lösungsmittel: Chf. = Chloroform, M = Methanol, W = Wasser. Ac = Acetyl, $Ts = p - CH_3 - C_6H_4 - SO_2 - ...$

Das aus (VIII) hergestellte 4,6-Benzyliden-Derivat (X) ist dagegen krystallin, ebenso sein Tosylester (XI) und sein Methyläther (XII). Der letztere wurde zur Konstitutionsaufklärung verwendet. Zunächst wurde aus (XII) der Benzyliden-Rest reduktiv abgespalten, wobei neben wenig Hexahydro-benzyliden-Derivat (VI) der amorphe 2-Methyläther (XIII) erhalten wurde. Dieser wurde mit verd. H_2SO_4 hydrolysiert und der erhaltene, ebenfalls amorphe, reduzierende Zucker (XVIII) mit KMnO4 oxydiert1). Die aus dem Oxydationsgemisch als Ester abgetrennte l(-)-Methoxy-bernsteinsäure (XVII) wurde als Diamid charakterisiert, das sich nach Smp., Drehung, Mischprobe und Analyse mit authentischem l(-)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid 2)3) als identisch erwies. Dieser Befund beweist das Vorliegen von 4 C-Atomen in gerader Kette und gibt Aufschluss über die Stellung der Methoxyl-Gruppe in (XII), (XIII) und (XVIII). Da die Tosyl-Gruppe in (XI), die am gleichen C-Atom wie die Methoxyl-Gruppe in (XII) haftet, mit NaJ in Aceton auch bei einer Temperatur von 140° nicht reagiert, ist anzunehmen, dass sie sekundär gebunden ist4). Der Benzyliden-Rest in (X), (XI) und (XII) befindet sich somit in 4,6-Stellung. Daraus folgt, dass das in Form der l(-)-Methoxy-bernsteinsäure aufgefundene Spaltstück aus den C-Atomen 1-4 entstanden sein muss, womit die Konstitution sowie die Konfiguration der obgenannten Derivate als gesichert gelten kann⁵).

Bei der Benzalierung von (VIII) wurden neben (X) noch 3 weitere Stoffe erhalten, die anscheinend alle Benzyliden-Derivate darstellen. Die erhaltenen Mengen reichten jedoch für weitere Untersuchungen nicht aus, sodass nicht gesagt werden kann, ob einer dieser 3 Stoffe das an sich zu erwartende 2-Desoxy-4,6-benzyliden-α-

methyl-d-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ darstellt.

Die beiden 3-Desoxy-mannosid-Derivate (VIII) und (X) liessen sich weiter auch aus (VII) über das 3-Methylthio-altrosid-Derivat (XIV) bereiten. (XIV) entsteht aus (VII) beim Erwärmen mit NaSCH₃ in Methanol, ähnlich wie dies kürzlich für einen isomeren Stoff beschrieben wurde⁶). Die räumliche Lage der Methylthio-Gruppe kann auch hier nicht direkt bewiesen werden, sondern stützt sich auf die früher⁶) erwähnten Regeln. In der benützten Formu-

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

3) Unser Vergleichspräparat wurde seinerzeit aus natürlicher Cymarose bereitet,

vgl. C. W. Shoppee, T. Reichstein, loc. cit.

6) R. Jeanloz, D. A. Prins, T. Reichstein, Helv. 29, 371 (1946).

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

⁴⁾ J. W. Oldham, J. K. Rutherford, Am. Soc. 54, 366 (1932), vgl. auch D. J. Bell und Mitarb. Soc. 1934, 1177; 1937, 252; E. Seebeck, E. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 934 (1945). Für das abnormale Verhalten primärer Tosyloxygruppen vgl. P. A. Levene, R. S. Tipson, J. Biol. Chem. 120, 607 (1937); H. Müller, T. Reichstein, Helv. 21, 263 (1938).

⁵⁾ Aus dem bei der Hydrierung von (VII) event. zu erwartenden 2-Desoxy-glucosid-Derivat sollte bei analoger Reaktionsfolge d(+)-Methoxy-bernsteinsäure resultieren. Auch sollte die Hydrolyse dieses Glykosids viel rascher erfolgen als diejenige von (XIII).

lierung wurde also angenommen, dass die Anlagerung von CH_3SH an (VII) sterisch gleich verläuft wie die oben erwähnte Anlagerung von CH_3OH^1). Das Methylthio-Derivat (XIV) war krystallisiert, lieferte aber keine kryst. Tosyl- und Methyl-Derivate. Aus (XIV) entstand bei der Entschwefelung mit Raney-Nickel²) in der kürzlich beschriebenen Ausführungsform³) in guten Ausbeuten das 3-Desoxy- α -methyl-d-mannosid (VIII). Das daraus bereitete 4,6-Benzyliden-Derivat (X) erwies sich als identisch mit dem aus (VII) durch Hydrierung und anschliessende Benzalierung bereiteten.

Die Methylierung von (XIV) nach $Purdie^4$) verlief anormal. Als einziges kryst. Reaktionsprodukt wurde überraschenderweise das 2,3-Anhydro-mannosid-Derivat (VII) in ca. 25-proz. Ausbeute erhalten. Die verbleibende amorphe Mutterlauge, die den Methyläther (XV) enthielt, wurde nach $Mozingo^5$) entschwefelt und der wasserlösliche Teil des Reaktionsproduktes benzaliert. Chromatographische Trennung des so erhaltenen Gemisches lieferte den 2-Methyläther (XII) neben etwas unmethyliertem Benzyliden-Derivat (X) und erheblichen Mengen amorphen Materials.

Die Behandlung von (VII) mit Raney-Nickel nach Mozingo⁵) führte zu einem wasserlöslichen, amorphen Produkt, aus dem bei der Benzalierung vorwiegend 3-Desoxy-benzyliden-mannosid (X) neben einer geringen Menge Bisdesoxy-benzyliden-Derivat (XX) und einer Spur (VII) gewonnen wurde.

Die aus reinem (VIII) (durch Hydrierung aus reinem (X) bereitet) bei der Hydrolyse erhaltene 3-Desoxy-d-mannose (II) konnte bisher nicht in kryst. Form erhalten werden. Sie lieferte aber ein kryst. p-Nitrophenylosazon, und auch die aus (II) durch Oxydation mit Bromwasser gewonnene 3-Desoxy-mannonsäure (III) liess sich in ein kryst. Phenylhydrazid (IV) überführen, das zur Charakterisierung von (II) gut geeignet ist.

Aus dem Tosylester (XI) konnte durch Destillation mit Natronkalk die Tosyloxygruppe abgespalten werden. Das entstehende Produkt (XIX) gab mit Tetranitromethan eine schwache Gelbfärbung und addierte in der Kälte 1 Mol Br₂. Hydrierung mit Platin in Methanol, wobei 1 Mol H₂ aufgenommen wurde, führte zu einem kryst. Körper, dem sehr wahrscheinlich die Konstitution eines 2,3-Bisdesoxy-Derivates (XX) zuzuschreiben ist.

Wir danken Herrn Prof. T. Reichstein für sein dieser Arbeit entgegengebrachtes Interesse. D. A. Prins dankt der CIBA AG., Basel, für ein Stipendium.

¹⁾ G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193.

²) J. Bougault, E. Cattelain, P. Chabrier, Bl. [5] 6, 34 (1939); C. r. 208, 657 (1939); Bl. [5] 7, 781 (1940).

³⁾ R. Mozingo, D. E. Wolf, S. A. Harris, K. Folkers, Am. Soc. 65, 1013 (1943).

⁴⁾ T. Purdie, J. C. Irvine, Soc. 93, 1021 (1903).

⁵) R. Mozingo, D. E. Wolf, S. A. Harris, K. Folkers, Am. Soc. 65, 1013 (1943).

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze \pm 2°. Die spez. Drehungen wurden alle für Na-Licht im 1-dm Rohr bestimmt; als Lösungsmittel diente, wo nichts anderes vermerkt ist, Chloroform.

3-Desoxy-α-methyl-d-mannosid-<1,5> (VIII) und sein Hexahydrobenzyliden-Derivat (V) aus (VII).

8,1 g 2,3-Anhydro-4,6-benzyliden-α-methyl-d-mannosid-(1,5) (VII)¹) vom Smp.147⁰ wurden in absolutem Methanol mit einem aus 3 g Raney-Legierung²) frisch bereiteten Nickel-Katalysator während 24 Stunden bei 90⁰ und 110 Atm. H₂-Druck hydriert. Filtration und Eindampfen des Filtrates im Vakuum lieferte einen Sirup, der in 50 cm³ Wasser aufgenommen und 5 mal mit 25 cm³ CHCl₃ ausgezogen wurde. Die wässrige Phase gab nach Eindampfen im Vakuum bei 40⁰ einen farblosen, dickflüssigen Sirup (VIII) (4,8 g oder 88%), der nicht krystallisierte.

Die vereinigten Chloroform-Auszüge hinterliessen nach Trocknen über $\mathrm{Na_2SO_4}$ und Eindampfen 820 mg (10%) Hexahydrobenzyliden-Derivat (V) als farblosen, ziemlich dünnflüssigen Sirup, der auch nach einem Jahr nicht krystallisierte. Zur Reinigung wurde bei 0,01 mm Druck und 100° Badtemperatur im Molekularkolben destilliert. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{13} = +103,9° \pm 2°$ (c = 1,15). Zur Analyse wurde nochmals destilliert.

net met

st.

Mr.

KÓK

11/2

医型

8 991

から

eist.

100

shor

150

95

945

4,006 mg Subst. gaben 9,062 mg CO₂ und 3,221 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{14}H_{24}O_5$ (272,33) Ber. C 61,75 H 9,00 Gef. ,, 61,74 ,, 8,88

Bei der Verarbeitung weiterer Mengen von (VII) wurden (VIII) und (V) in etwas wechselnden Ausbeuten erhalten. Sie betrugen für (VII): 76—96%, für (V): 2—13%.

3-Desoxy-2,4,6-triacetyl- α -methyl-d-mannosid- $\langle 1,5 \rangle$ (IX) aus (VIII).

 $0.5\,\mathrm{g}$ 3-Desoxy- α -methyl-d-mannosid- $\langle 1.5 \rangle$ (VIII) wurden mit Pyridin-Acetanhydrid über Nacht bei Raumtemperatur acetyliert. Das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene amorphe Acetat (IX) wurde destilliert, Sdp. $_{0.08\,\mathrm{mm}}$ ca. 122°. Die spez. Drehung betrug: [α] $_{0}^{1}=+64.1^{\circ}\pm2^{\circ}$ (c = 1.982). Zur Analyse wurde nochmals im Molekularkolben destilliert.

3,674 mg Subst. gaben 6,915 mg $\rm CO_2$ und 2,168 mg $\rm H_2O$ 24,196 mg Subst. verbrauchten 2,298 cm³ 0,1-n. KOH $\rm C_{13}H_{20}O_8$ (304,29) Ber. C 51,31 H 6,62% Äq.-Gew. 101,43 Gef. ,, 51,36 ,, 6,60% ,, 105,29

3-Desoxy-4,6-benzyliden- α -methyl-d-mannosid- $\langle 1,5 \rangle$ (X) und Nebenprodukte aus (VIII).

4,8 g 3-Desoxy-α-methyl-d-mannosid-〈1,5〉 (VIII) (2 Tage im Vakuumexsikkator über P₂O₅ getrocknet) wurden in 15 cm³ reinstem, frisch destilliertem Benzaldehyd unter schwachem Erwärmen gelöst. Nach Zusatz von 5 g frisch geschmolzenem und fein zerpulvertem ZnCl₂ wurde während 24 Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt. Die nun folgende Aufarbeitung geschah stets möglichst rasch: Das homogene Reaktionsgemisch wurde mit ca. 100 cm³ Methanol verdünnt und mit 2-n. Sodalösung versetzt zur Fällung der Zn⁺⁺. Das p_H soll dann 8—9 betragen. Der Brei wurde bis zur beginnenden Sedimentation kurz auf dem Wasserbad erwärmt und abgenutscht. Der Niederschlag wurde noch 4 mal mit Methanol ausgekocht und die vereinigten Filtrate im Vakuum auf ca. 25 cm³ eingeengt. Dann wurde das gleiche Volumen Wasser zugegeben und wiederum

¹⁾ G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193.

²⁾ Die in dieser Arbeit verwendete Nickel-Legierung wurde uns von der CIBA A.G., Basel, zur Verfügung gestellt, wofür auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.

eingeengt. Diese Prozedur wurde 3 mal wiederholt, wonach aller Benzaldehyd verjagt war. Nunmehr wurde zur Trockne verdampft. Während der Aufarbeitung wurde das p_H der Lösung ständig kontrolliert und evtl. durch Zugabe von Sodalösung auf 8—9 gehalten. Der Rückstand wurde erschöpfend mit CHCl₃ ausgezogen, die vereinigten Auszüge mit $\rm H_2O$ gewaschen, über $\rm Na_2SO_4$ getrocknet und eingedampft. Die Waschwasser wurden ebenfalls eingedampft und lieferten 1,3 g eines nicht krystallisierbaren Sirups, der vorderhand nicht untersucht wurde. Der CHCl₃-Auszug lieferte 5,2 g eines Sirups, aus dem sich durch Krystallisation aus Äther-Petroläther nach Impfen¹) 2,0 g (29%) Benzalprodukt (X) in Form derber Prismen vom Smp. $108-110^{o}$ gewinnen liessen. Die Mutterlauge (3,2 g) lieferte bei der Chromatographie noch 1,25 g reines (X). Totalausbeute 3,25 g oder (45%).

Zur Analyse wurde eine chromatographierte Probe noch aus Äther-Pentan krystallisiert, Smp. 110—111°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_{11}^{12} = +95,0^{\circ} \pm 1^{\circ}$ (c = 2,904).

3,654 mg Subst. gaben 8,445 mg CO₂ und 2,256 mg H₂O 4,175 mg Subst. verbrauchten 4,782 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) C₁₄H₁₈O₅ (266,28) Ber. C 63,14 H 6,81 —OCH₃ 11,65% Gef. ... 63,07 ,... 6,91 ,... 11,84%

Bei der Chromatographie der Mutterlaugen von (X) wurden noch drei weitere Substanzen erhalten: die erste wurde mit Benzol-Petroläther (1:4) eluiert und krystallisierte aus Pentan in Nadeln vom Smp. 137—138°. Die erhaltene Menge betrug nur wenige mg und reichte zur weiteren Untersuchung nicht aus. Die zweite Substanz wurde mit Benzol-Petroläther (1:1) eluiert und krystallisierte aus Äther-Pentan in flachen Nadeln, Smp. 151—152°. Die Menge war ebenfalls sehr gering. Die Mischprobe mit 4,6-Benzyliden- α -methyl-d-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther²) zeigte eine starke Erniedrigung. Beim Erwärmen einer Spur Substanz mit 0,1-n. H_2SO_4 trat deutlicher Geruch nach Benzaldehyd auf, es hatte somit eine Benzyliden-Verbindung vorgelegen. Der dritte Stoff wurde ebenfalls mit Benzol-Petroläther (1:1) eluiert und schmolz nach Umkrystallisieren aus Äther-Pentan bei 173—175°. Nach der qualitativen Prüfung lag wieder ein Benzyliden-Derivat vor. Die Analysenwerte der während 2 Stunden im Hochvakuum bei 70° getrockneten Substanz deuten auf die Formel eines Desoxy-benzyliden-methyl-hexosids hin.

3,738 mg Subst. gaben 8,586 mg CO_2 und 2,349 mg H_2O $C_{11}H_8O_5$ (266,28) Ber. C 63,14 H 6,81% Gef. ,, 62,68 ,, 7,03%

Materialmangel verunmöglichte auch hier eine eingehende Untersuchung.

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

120 mg Benzyliden-Derivat (X) wurden mit 150 mg Tosylchlorid und 1,3 cm³ Pyridin in der üblichen Weise tosyliert. Der Tosylester schmolz nach Umkrystallisieren aus Äther-Pentan bei 121—122° und zeigte die spez. Drehun: $[\alpha]_{\rm D}^{13} = +45,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (c = 0,997).

Zur Analyse wurde eine Stunde im Hochvakuum bei 50° getrocknet.

3,614 mg Subst. gaben 7,907 mg CO $_2$ und 1,912 mg $\rm H_2O$ 4,603 mg Subst. verbrauchten 3,337 cm 3 0,02-n. Na $_2\rm S_2O_3$ (Zeisel-Vieböck) C $_{21}\rm H_{24}\rm O_7S$ (420,40) Ber. C 59,98 H 5,75 —OCH $_3$ 7,38% Gef. ,, 59,70 ,, 5,92 ,, 7,50%

Das Tosylat (XI) eignet sich auch gut zur Abtrennung weiterer Mengen von (X) aus den bei der Krystallisation dieser Substanz anfallenden Mutterlaugen. (XI) lässt sich mit NaHg leicht wieder in (X) zurückverwandeln. und bleibt auch bei längerem Kochen in Pyridin unverändert.

¹⁾ Die ersten Krystalle waren durch Chromatographie erhalten worden.

²) H. R. Bolliger, D. A. Prins, Helv. 28, 465 (1945).

Abspaltung der Tosyloxy-Gruppe aus (XI).

Wird das Tosylat (XI) mit der 10-fachen Menge Natronkalk fein zerrieben und das Gemisch anschliessend im Molekularkolben bei 0,001 mm Druck auf 125—140° erhitzt, so wird ein Sublimat erhalten, das aus Äther-Pentan in feinen Nadeln krystallisiert, S-frei ist und den Smp. 119° aufweist (XIX). Die Mischprobe mit (XI) gibt eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{15} = +89,5^0 \pm 2^\circ$ (c = 1,084). Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 40° getrocknet.

2,400 mg Subst. gaben 5,940 mg CO₂ und 1,414 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{14}H_{16}O_4$ (248,27) Ber. C 67,72 H 6,50% Gef. ,, 67,54 ,, 6,59%

Die Substanz (XIX) gibt mit Tetranitromethan eine schwache Gelbfärbung. Mit einem Mol Br₂ tritt in der Kälte innert 20 Minuten Entfärbung ein, dabei wurde keine HBr-Entwicklung beobachtet. Das entstehende Dibromid war sehr zersetzlich und wurde nicht weiter untersucht.

Hydrierung von 2,3-Bisdesoxy-4,6-benzyliden-α-methyl-d-mannoseen (2,3)-id-(1,5) (XIX).

480 mg 2,3-Bisdesoxy-4,6-benzyliden-α-methyl-d-mannoseen-(2,3)-id- $\langle 1,5 \rangle$ (XIX) vom Smp. 119° wurden in 15 cm³ absolutem Methanol gelöst und bei Gegenwart vom Platin unter Normaldruck hydriert. Dabei wurden innert 6 Minuten 48,8 cm³ Wasserstoff aufgenommen (ber. 46,5 cm³ H₂). Nach Filtrieren und Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand in Äther aufgenommen und die Lösung einige Male mit wenig Wasser durchgeschüttelt. Nach dem Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen trat spontan Krystallisation ein. Durch Umkrystallisieren aus Äther-Pentan wurden 380 mg (79%) feine Nadeln vom Smp. 82—83° (XX) erhalten. Die spez. Drehung betrug: [α] $_{\rm D}^{15} = + 120.5^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (c = 1,012). Zur Analyse wurde 2 Stunden bei 55° im Hochvakuum getrocknet.

3,725 mg Subst. gaben 9,151 mg CO₂ und 2,432 mg $\rm H_2O$ 2,445 mg Subst. verbrauchten 2,939 cm³ 0,02-n. $\rm Na_2S_2O_3$ (Zeisel-Vieböck) $\rm C_{14}H_{18}O_4$ (250,29) Ber. C 67,18 H 7,25 —OCH₃ 12,40% Gef. ,, 67,04 ,, 7,31 ,, 12,43%

 $\textbf{3-Desoxy-4,6-benzy} liden-\alpha-methyl-d-mannosid-\langle 1,5\rangle-2-methyl "ather" (XII).$

1,3 g Benzyliden-Derivat (X) vom Smp. 100—109° wurden im Hochvakuum getrocknet und anschliessend nach $Purdie^1$) methyliert. (20 cm³ CH₃J, 12 g Ag₂O in 4 Portionen, 3 Stunden kochen). Die übliche Aufarbeitung gab 1,08 g (83%) Methyläther (XII), Nadeln vom Smp. 86—87° aus Äther-Pentan. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_{13}^{13}=+88,9°$ \pm 2° (c = 0,911). Zur Analyse wurde eine Stunde im Hochvakuum bei 45° getrocknet.

3,670 mg Subst. gaben 8,636 mg CO₂ und 2,360 mg $\rm H_2O$ 3,803 mg Subst. verbrauchten 8,137 cm³ 0,02-n. $\rm Na_2S_2O_3$ (Zeisel-Vieböck) $\rm C_{15}H_{20}O_5$ (280,31) Ber. C 64,27 H 7,19 —OCH₃ 22,14% Gef. ,, 64,21 ,, 7,20 ,, 22,13%

3-Desoxy-a-methyl-d-mannosid-<1,5>-2-methyläther (XIII) und sein 4,6-Hexahydrobenzyliden-Derivat (VI) aus (XII).

1,08 g des Methyläthers (XII) vom Smp. 87° wurden bei 90° und 110 Atm. $\rm H_2\text{-}Druck$ über Nacht in methanolischer Lösung hydriert (1 g Raney-Legierung). Die übliche Aufarbeitung gab 670 mg (XIII) als wasserlöslichen Sirup und 145 mg (VI) als CHCl₃-Auszug. Der Methyläther (XIII), der nicht krystallisiert werden konnte, zeigte nach Trocknen im Hochvakuum die spez. Drehung: $[\alpha]_D^1 = +110,6^0 \pm 2^0$ (c = 1,067 in $\rm H_2O$). Zur Analyse wurde 4 Tage über $\rm P_2O_5$ getrocknet.

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

4,231 mg Subst. gaben 7,706 mg $\rm CO_2$ und 3,215 mg $\rm H_2O$ 2,316 mg Subst. verbrauchten 7,237 cm³ 0,02-n. $\rm Na_2S_2O_3$ (Zeisel-Vieböck) $\rm C_3H_{16}O_5$ (192,21) Ber. C 49,99 H 8,39 —OCH₃ 32,30% Gef. ,, 49,70 ,, 8,50 ,, 32,31%

Das ziemlich dünnflüssige, sirupöse Hexahydrobenzyliden-Derivat (VI) wurde im Molekularkolben bei 90° Badtemperatur und 0,01 mm Druck destilliert und zeigte die spez. Drehung: $[\alpha]_{1}^{1+} = +92,2^{0} \pm 3^{\circ}$ (c = 0,803). Zur Analyse wurde nochmals destilliert.

3,938 mg Subst. gaben 9,071 mg $\rm CO_2$ und 3,194 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{15}H_{26}O_5$ (286,36) Ber. C 62,91 H 9,15% Gef. ,, 62,86 ,, 9,08%

3-Desoxy-d-mannose-2-methyläther (XVIII) aus (XIII).

600 mg 3-Desoxy-α-methyl-d-mannosid- $\langle 1,5 \rangle$ -2-methyläther (XIII) wurden in 40 cm³ 0,75-n. $\rm H_2SO_4$ gelöst und unter ständiger Kontrolle des Drehungsvermögens auf 100° erhitzt. Die spez. Drehung änderte sich von + 111° (Anfangswert) auf + 9,3° (160 Minuten, konst.). Es wurde nun mit frisch gefälltem BaCO₃ neutralisiert, filtriert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde erschöpfend mit Aceton ausgezogen und, nach Filtrieren über wenig Tierkohle, im Vakuum eingedampft. Ausbeute: 550 mg farbloser Sirup, der Fehling'sche Lösung stark reduzierte.

Diese Probe wurde ohne weitere Reinigung abgebaut.

l(-)-Methoxy-bernsteinsäure (XVII) aus (XVIII)1).

550 mg 3-Desoxy-d-mannose-2-methyläther (XVIII) wurden in wenig Wasser gelöst und in der Kälte tropfenweise mit einer Lösung von 1,95 g KMnO₄ in 75 cm³ Wasser versetzt. Die Mischung wurde 24 Stunden im Dunkeln aufbewahrt und war dann entfärbt. Mit 2-n. $\rm K_2CO_3$ wurde auf Phenolphtalein alkalisch eingestellt und kurz auf 40—50° erwärmt, filtriert und eingedampft, mit methanolischer HCl ausgezogen, filtriert und wiederum eingedampft. Der Rückstand wurde mit ätherischer Diazomethanlösung verestert und das erhaltene Estergemisch im Molekularkolben bei 15 mm Druck und bis 75° Badtemperatur destilliert: 100 mg farbloses Öl. Dieses wurde mit 5 cm³ bei 0° mit NH³ gesättigten Methanols versetzt und 48 Stunden gut verschlossen stehen gelassen. Dann wurde auf ca. 1 cm³ eingeengt und die beginnende Krystallisation durch Zugabe von Äther vervollständigt. Erhalten wurden 45 mg l(-)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid vom Smp. 183—185°, Mischprobe mit einer aus Cymarose bereiteten Probe des Diamids¹) ebenso. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_{1}^{14} = -54,2° \pm 3°$ (c = 0,940 in CH³OH). Zur Analyse wurde 5 Tage über P³O₅ getrocknet.

3,760 mg Subst. gaben 5,649 mg CO $_2$ und 2,308 mg $\rm H_2O$ 2,167 mg Subst. gaben 0,366 cm³ $\rm N_2$ (18°/730 mm) 3,340 mg Subst. verbrauchten 6,867 cm³ 0,02-n. $\rm Na_2S_2O_3$ (Zeisel-Vieböck) $\rm C_5H_{10}O_3N_2$ (146,15) Ber. C 41,09 H 6,90 N 19,17 - OCH $_3$ 21,24% Gef. ,, 41,00 ,, 6,87 ,, 19,03 ,, 21,26%

Aus den Mutterlaugen konnten nach Destillation im Hochvakuum und Krystallisation des Destillates aus Methanol-Äther noch 10 mg Diamid vom Smp. 183—185° gewonnen werden.

3-Desoxy- α -methyl-d-mannosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VIII) aus (X).

980 mg Benzyliden-Derivat (X) vom Smp. 108° wurden, wie weiter oben beschrieben, der Hochdruckhydrierung mit Raney-Nickel unterworfen und lieferten neben 65 mg Hexahydrobenzyliden-Derivat (V) 590 mg sirupöses (VIII). Dieses Glykosid liess sich im Hochvakuum bei 120—130° unzersetzt destillieren. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{15} = +108,9^0 \pm 2^\circ$ (c = 2,18 in CH₃OH). Zur Analyse wurde 3 Tage über P_2O_5 getrocknet.

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

4,310 mg Subst. gaben 7,415 mg CO₂ und 2,996 mg H₂O 2,915 mg Subst. verbrauchten 4,803 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) C₇H₄O₅ (178,18) Ber. C 47,18 H 7,92 - OCH₃ 17,42% Gef. ,, 46,95 ,, 7,78 ,, 16,83%

3-Desoxy-d-mannose (II) aus (VIII).

590 mg 3-Desoxy- α -methyl-d-mannosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VIII) wurden in 40 cm³ 0,75-n. H_2SO_4 gelöst und während 3 Stdn. auf 100^0 erhitzt. Dann wurde neutralisiert und der reduzierende Zucker (II) in üblicher Weise isoliert. Ausbeute 400 mg. Der Zucker krystallisierte auch nach längerer Zeit nicht. Eine Probe zeigte nach Trocknen im Hochvakuum die spez. Drehung: $[\alpha]_D^{14} = +17,7^0 \pm 2^0$ (c = 0,96 in H_2O). Zur Analyse wurde 3 Tage über P_2O_5 getrocknet.

3,846 mg Subst. gaben 6,199 mg CO $_2$ und 2,572 mg $\rm H_2O$ $\rm C_6H_{12}O_5$ (164,16) Ber. C 43,90 H 7,37% Gef. ,, 43,99 ,, 7,48%

p-Nitrophenylosazon. 93 mg (II) wurden in 3 cm³ Wasser gelöst und nach Zugabe von 0,5 cm³ Eisessig mit 268 mg p-Nitrophenylhydrazin versetzt. Nach einstündigem Erhitzen auf dem Wasserbad schied sich das Osazon krystallin ab. Es wurde abfiltriert, mit verd. Essigsäure, Wasser und schliesslich mit wenig Methanol-Äther gewaschen. Nach Umkrystallisieren aus Äthanol wurden 20 mg dunkelrote Prismen vom Smp. 260—262° (Zers.) erhalten. Zur Analyse wurde 2 Stdn. bei 50° im Hochvakuum getrocknet.

3,660 mg Subst. gaben 6,681 mg $\rm CO_2$ und 1,543 mg $\rm H_9O$ 1,938 mg Subst. gaben 0,333 cm³ $\rm N_2$ (16°/720 mm) $\rm C_{18}H_{20}O_7N_6$ (432,39) Ber. C 50,00 H 4,66 N 19,44% Gef. ,, 49,82 ,, 4,72 ,, 19,23%

3-Desoxy-d-mannonsäure-phenylhydrazid (IV) aus (II).

180 mg (II) wurden in 2 cm³ Wasser gelöst, 85 mm³ Brom (1,5 Mol) zugegeben und das Gemisch 40 Stdn. verschlossen im Dunkeln aufbewahrt. Hierauf wurde das überschüssige Brom im Vakuum entfernt, die Lösung mit frisch gefälltem Silbercarbonat gegen Kongo neutralisiert und filtriert. Das Filtrat wurde durch Einleiten von $\rm H_2S$ von den überschüssigen Ag' befreit, über wenig gewaschene Kohle filtriert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit Methanol ausgezogen und lieferte 140 mg eines farblosen Öls (III), das zur Lactonbildung bei 0,01 mm und 120° Badtemperatur im Molekularkolben destilliert wurde. Ausbeute: 84 mg amorphes Lacton. Hievon wurden 45 mg mit 32 mm³ Phenylhydrazin umgesetzt (30 Minuten, 100°). Nach Anreiben der Reaktionsmasse mit 2 Tropfen Methanol trat nach mehreren Tagen Krystallisation ein, die durch Zugabe von Äther vervollständigt wurde. Erhalten wurden 30 mg (aus MethanolÄther umkrystallisiertes) Hydrazid (VI) in Form farbloser Prismen vom Smp. 128—129°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{13} = -46.7° \pm 2°$ (c = 1,220 in CH₃OH). Zur Analyse wurde 3 Tage über $\rm P_2O_5$ getrocknet.

3,864 mg Subst. gaben 7,548 mg $\rm CO_2$ und 2,310 mg $\rm H_2O$ 2,117 mg Subst. gaben 0,195 cm³ $\rm N_2$ (15 $^{\rm 0}$ /728 mm) $\rm C_{12}H_{18}O_5N_2$ (270,29) Ber. C 53,32 H 6,72 N 10,37% Gef. ,, 53,31 ,, 6,69 ,, 10,45%

3-Methylthio-4,6-benzyliden- α -methyl-d-altrosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XIV) aus (VII).

2,5 g 2,3-Anhydro-mannosid-Derivat (VII) wurden in 20 cm³ 5-proz. methanolischer NaSCH₃-Lösung am Rückfluss gekocht, wobei nach 2 Stdn. vollständige Lösung eintrat. Das Gemisch wurde noch über Nacht bei Raumtemperatur belassen, dann die Hauptmenge des Methanols im Vakuum entfernt und der Rückstand mit 100 cm³ Wasser versetzt. Nun wurde mehrmals mit Äther ausgezogen, die Ätherauszüge neutral gewaschen,

über Na $_2$ SO $_4$ getrocknet und eingedampft. Der kryst. Rückstand wurde aus Benzol-Petroläther umkrystallisiert und lieferte 2,98 g (99%) 3-Methylthio-altrosid-Derivat (XIV) in Form von verfilzten Nadeln vom Smp. 136—137°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_{14}^{14} = +56,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (c = 1,126). Zur Analyse wurde 3 Stdn. bei 70° getrocknet.

3,776 mg Subst. gaben 7,963 mg CO₂ und 2,178 mg $\rm H_2O$ 4,100 mg Subst. verbrauchten 1,300 cm³ 0,02-n. KJO₃ (Bürger) $\rm C_{15}H_{20}O_5S$ (312,37) Ber. C 57,67 H 6,45 S 10,26% Gef. ,, 57,55 ,, 6,45 ,, 10,17%

3-Desoxy-α-methyl-d-mannosid-(1,5) (VIII) und sein 4,6-Benzyliden-Derivat (X) aus (XIV).

0,9 g 3-Methylthio-altrosid-Derivat (XIV) wurden in 200 cm³ 80-proz. Äthanol mit einem aus 50 g Raney-Legierung bereiteten Nickelkatalysator¹) 2 Stdn. auf dem Wasserbad am Rückfluss erhitzt. Nach Filtrieren wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand zwischen Wasser und Chloroform verteilt. Der CHCl₃-Auszug wog nur 12 mg. Die wässrige Phase (550 mg) wurde nach dem Eindampfen und Trocknen im Vakuum über P₂O₅ mit 3 cm³ Benzaldehyd und 1 g ZnCl₂ ins Benzalderivat verwandelt. Aufarbeitung wie bei (X) beschrieben. Rohprodukt 450 mg. Aus Äther-Petroläther wurden nach Impfen sofort 285 mg Prismen (X) vom Smp. und Mischsmp. 108—1100 erhalten. Die Mutterlauge (170 mg) wurde chromatographiert und lieferte weitere 70 mg Krystalle vom Smp. 106—1090. Totalausbeute 355 mg (X) oder 47%.

Versuch zur Methylierung von (XIV) nach Purdie.

1 g 3-Methylthio-altrosid-Derivat (XIV) wurde in 10 cm³ CH₃J gelöst und unter Zugabe von 7 g Ag₂O in 3 Portionen während 4 Stdn. am Rückfluss erhitzt. Dann wurde mit CHCl₃ ausgezogen, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde aus Methanol krystallisiert und gab 205 mg 2,3-Anhydro-mannosid-Derivat (VII) vom Smp. 146°, Mischprobe mit authentischem (VII) ebenso. [α]_D = $+103.3^{\circ}\pm3^{\circ}$ (c = 0,746).

Die Mutterlauge wog 780 mg und wurde im Molekularkolben bei 0,01 mm Druck fraktioniert destilliert.

- Badtemperatur bis 85°:270 mg Öl, woraus 30 mg kryst. (VII) vom Smp. 147° erhalten wurden.
- II. Badtemperatur bis 120° : 440 mg Öl.
- III. Rückstand 70 mg, harzig, verworfen.

Die Mutterlauge der Fraktion I und die Fraktion II, zusammen 680 mg, wurden nach Mozingo und Mitarb.¹) entschwefelt (Nickel aus 10 g Raney-Legierung) und das erhaltene Reaktionsgemisch zwischen Chloroform und Wasser verteilt. CHCl₃-Teil:117 mg eines nicht näher untersuchten Sirups. H₂O-Teil: 320 mg eines amorphen Stoffgemisches, das neben anderen Stoffen (VIII) und (XIII) enthielt, wie aus dem Folgenden hervorgeht. Nach scharfem Trocknen wurde ins Benzalderivat verwandelt und der ätherlösliche Anteil der Produkte sodann chromatographiert (300 mg). Dabei wurden im wesentlichen folgende Fraktionen erhalten:

Mit Benzol-Petroläther (1:10) 150 mg eines farblosen, S-freien Sirups, der nach der qualitativen Prüfung zu urteilen ein Benzal-Produkt darstellt. Durch Impfen mit (XX) konnten keine Krystalle erhalten werden. Mit Benzol-Petroläther (1:4) wurde der gesuchte Methyläther (XII) eluiert. Ausbeute: 45 mg Prismen vom Smp. 87°, Mischprobe ebenso. Mit Benzol-Äther (1:1) endlich wurden 30 mg Prismen vom Smp. 110° erhalten, Mischprobe mit der Benzyliden-Verbindung (X) ebenso.

Umsetzung von 2,3-Anhydro-4,6-benzyliden-α-methyl-d-mannosid-(1,5) (VII) mit Raney-Nickel nach Mozingo.

1,0 g 2,3-Anhydro-4,6-benzyliden- α -methyl-d-mannosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VII) wurden in 170 cm³ 80-proz. Äthanol mit Nickel (aus 30 g Raney-Legierung frisch bereitet) während

¹⁾ R. Mozingo, D. E. Wolf, S. A. Harris, K. Folkers, Am. Soc. 65, 1013 (1943).

2 Stdn. am Rückfluss erhitzt. Filtrieren und Eindampfen ergab 690 mg wasserlöslichen, farblosen Sirup. Nach 3-tägigem Trocknen über P_2O_5 wurde mit 3 cm³ Benzaldehyd unter Zusatz von 2 g ZnCl $_2$ über Nacht kondensiert. Übliche Aufarbeitung lieferte 550 mg Chloroform-lösliche Anteile, aus denen durch Krystallisation aus Äther-Petroläther 250 mg 3-Desoxy-benzyliden-mannosid (X) vom Smp. 106— 108° erhalten wurden, Mischprobe ebenso. Die Mutterlauge wurde chromatographiert und ergab weitere 120 mg (X) vom Smp. 108° . Daneben wurden mit Benzol-Petroläther (1:2) 50 mg Bisdesoxy-benzyliden-Derivat (XX) vom Smp. 83° eluiert, Mischprobe ebenso. Mit Benzol wurden schliesslich 14 mg 2,3-Anhydro-benzyliden-mannosid (VII), Smp. 147° erhalten, Mischprobe ebenso.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

125. Über Steroide.

51. Mitteilung¹).

Über weitere Derivate und Abkömmlinge der Bisdehydro-doisynolsäure und einige verwandte Verbindungen. Über oestrogene Carbonsäuren IX

von G. Anner, J. Heer und K. Mieseher.

(5. VI. 46.)

In Fortsetzung unserer Betrachtungen über den Zusammenhang zwischen Konstitution und oestrogener Wirkung am Modell der racemischen n-Bisdehydro-doisynolsäure (I) stellten wir einige weitere Derivate her, über die hier berichtet werden soll.

 Alkylester des 7-Methyläthers der rac. n-Bisdehydrodoisynolsäure (IIa bis d).

Zur Gewinnung der homologen Alkylester benötigten wir das Säurechlorid (VIa) des 7-Methyläthers der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure. Für seine Herstellung bewährte sich die Verwendung von reinem Oxalylchlorid ganz besonders. Das schön krystallisierte Säurechlorid bildete sich so in fast quantitativer Ausbeute. Durch Kochen mit Methanol, Äthanol, n-Propanol und n-Butanol gewannen wir daraus die Ester (IIa—d). Den Methylester (IIa) hatten wir schon früher auf andere Weise erhalten²).

^{1) 50.} Mitteilung und VIII, siehe Helv. 29, 859 (1946).

²⁾ J. Heer, J. R. Billeter und K. Miescher, Helv. 28, 1342 (1945).

2. 7-Alkyläther der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure (IVa bis f) und ihres Methylesters (IIIa bis f).

Die neuen Äther erhielten wir, indem wir die entsprechenden Alkylhalogenide in alkoholischer Lösung mit dem Natriumsalz des rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure-methylesters reagieren liessen. Die erhaltenen Methylester (IIIa—f) wurden darauf durch Verseifung mit Kalilauge bei 130° in die Säuren (IVa—f) überführt. Den Ester IIIa und die Säure IVa haben wir schon früher beschrieben 1)²).

3. Basische Derivate der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure (Va bis c).

Rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure lieferte beim Kochen mit Diäthylamino-äthylchlorid und Kaliumcarbonat in Essigesterlösung den 7-Diäthylamino-äthoxy-2-carbonsäure-diäthylamino-äthylester (Va). In analoger Weise wurde aus dem 7-Methyläther der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure der 7-Methoxy-2-carbonsäure-diäthylamino-äthylester (Vb) und aus dem Methylester der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure der 7-Diäthylamino-äthoxy-2-carbonsäure-methylester (Vc) erhalten. Die Verbindungen (Va—c) bilden in Wasser relativ gut lösliche Hydrochloride, von denen das von Vb krystallin erhalten wurde.

J. Heer, J. R. Billeter und K. Miescher, Helv. 28, 1342 (1945).
 G. Anner und K. Miescher, Helv. 29, 586 (1946).

- 4. Ersatz der Carboxyl- durch andere Gruppen bei der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure.
 - 1-Äthyl-2-methyl-2-acetyl-7-methoxy-1, 2, 3, 4-tetrahydro-phenanthren (VIb).

Nach der Methode von Blaise¹) wurde das Säurechlorid (VIa) des Methyläthers der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure mit Methylzinkjodid in guter Ausbeute in das Methylketon (VIb) verwandelt. Versuche, daraus ein Semicarbazon oder Oxim herzustellen, schlugen, offenbar wegen sterischer Hinderung, fehl. Bei der Reduktion der Ketogruppe nach einem modifizierten Wolff-Kishner-Verfahren²) entstand das 1,2-Diäthyl-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydrophenanthren (VIc).

1-Äthyl-2-methyl-2-acetoxyacetyl-7-methoxy-1, 2, 3, 4tetrahydro-phenanthren (VIe).

Ausgehend vom oben erwähnten Säurechlorid (VIa) erhielten wir mit Diazomethan das gut krystallisierte Diazoketon (VId), welches beim gelinden Kochen mit Eisessig das gewünschte Ketolacetat (VIe) lieferte.

1-Äthyl-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydrophenanthren-2-essigsäure (VIg).

Schliesslich unterwarfen wir das Diazoketon (VId) nach Arndt-Eistert³) der Einwirkung von Silberhydroxyd in methylalkoholischer Lösung. In glatter Reaktion erhielt man dabei den Methylester (VIf), der mit Kalilauge zur freien Essigsäure (VIg) verseift wurde. Sie gibt wie der Methyläther der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure relativ schwer lösliche Alkalisalze.

5. Partiell hydrierte 7-Methoxy-phenanthren-1, 2-dicarbonsäure-anhydride (VIIb, IXb).

Vor einigen Jahren stellten Fieser und $Hershberg^4$) die Phenanthren-1,2-dicarbonsäure-anhydride (VIIa), (VIIIa) und (IXa) dar, denen sie eine gewisse oestrogene Wirksamkeit zuschrieben. Bei Über-

¹⁾ E. E. Blaise, Bl. [4] 9, 1 (1911).

²⁾ M. D. Soffer, M. B. Soffer und K. W. Sherk, Am. Soc. 67, 1435 (1945).

³⁾ F. Arndt und B. Eistert, B. 68, 200 (1935); B. 69, 1074, 1805 (1936).
4) L. F. Fieser und E. B. Hershberg, Am. Soc. 57, 1508, 1857 (1935).

prüfung der Resultate erwiesen sich jedoch die Verbindungen (VIIa bis IXa) als unwirksam1).

VIIb: $R = OCH_3$ VIIIb: $R = OCH_3$ IXb: $R = OCH_3$ Xb: $R = OCH_3$

Etwas später erhielten Cohen und Warren2) das Anhydrid (IXa) mit Hilfe einer Diensynthese, indem sie an 1-Vinyl-naphthalin Maleinsäure-anhydrid anlagerten und das primär gebildete Additionsprodukt (Xa) mit Salzsäure zu IXa isomerisierten. Bei der Dehydrierung von IXa entstand VIIIa. In gleicher Weise stellten sie das Anhydrid (Xb) und daraus durch Dehydrierung VIIIb dar. Die erwähnten Anhydride erwiesen sich als oestrogen unwirksam.

Trotz der negativen Resultate der angelsächsischen Autoren schien es uns zur restlosen Abklärung des Problems Konstitution-Wirkung erwünscht, auch die beiden noch unbekannten 7-Methoxyphenanthren-1,2-dicarbonsäure-anhydride VIIb und IXb herzustellen. Nach dem Verfahren von Auwers und Möller3), das schon von Fieser4) verwendet worden war, erhielten wir nun durch Cyclisation des α-Keto-β-carbäthoxy-δ-(6-methoxynaphthyl-1)-valeriansäure-äthylesters (XI) das 7-Methoxy-3,4-dihydro-phenanthren-1,2dicarbonsäure-anhydrid (VIIb), welches bei der Hydrierung das 7-Methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-1,2-dicarbonsäure-anhydrid (IXb) und bei der Dehydrierung das bekannte²) 7-Methoxyphenanthren - 1,2 - dicarbonsäure - anhydrid (VIIIb) lieferte. Um schliesslich den Einfluss der Methylierung der phenolischen Gruppe in 7-Stellung auf die Wirksamkeit kennen zu lernen, führten wir IX b durch Behandlung mit Pyridinhydrochlorid bei 180° in die 7-Oxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-1,2-dicarbonsäure (XII) über.

6. Die physiologischen Resultate.

Die Wirkung der beschriebenen Derivate und Umwandlungsprodukte der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure im Oestrustest wurde

¹⁾ Am. Soc. 58, 2315 (1936).

²⁾ A. Cohen und F. L. Warren, Soc. 1937, 1315.

³⁾ K. v. Auwers und K. Möller, J. pr. [2] 109, 124 (1925).

⁴⁾ L. F. Fieser und E. B. Hershberg, Am. Soc. 57, 1508, 1857 (1935).

von E. Tschopp¹) in unserem biologischen Laboratorium unter einmaliger oraler bzw. subcutaner Applikation an der Ratte bestimmt. Ferner wurde das Methylketon (VIb) im Corpus-luteum-Hormon-Test am Kaninchen und das Ketolacetat (VIe) im Überlebenstest an der nebennierenlosen Ratte geprüft. Die oestrogenen Werte sind in untenstehender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle.

Derivate und Abkömmlinge der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure.

CH_3 $-COOR_1$ $-C_2H_5$	$ m R_1$	R_2	Oestrus-Schwellenwert an der Ratte in γ	
R ₂ O-			subcutan	stomachal
IIa IIb IIc IId IVa IVb IVc IVd IVe Va	$\begin{array}{c} \mathrm{CH_3} \\ \mathrm{C_2H_5} \\ \mathrm{n\text{-}C_3H_7} \\ \mathrm{n\text{-}C_4H_9} \\ \mathrm{H} \\ \mathrm{H} \\ \mathrm{H} \\ \mathrm{H} \\ \mathrm{CH_2CH_2} \\ \mathrm{(C_2H_5)_2N} \\ \mathrm{CH_2CH_2} \\ \mathrm{(C_2H_5)_2N} \end{array}$	$\begin{array}{c} {\rm CH_3} \\ {\rm C_2H_5} \\ {\rm CH_2-CH-CH_2} \\ {\rm n-C_3H_7} \\ {\rm n-C_4H_9} \\ {\rm CH_2-CH_2} \\ {\rm (C_2H_5)_2N} \\ {\rm CH_3} \end{array}$	1—2 ca. 3 3—5 3—5 3—5 0,1—0,15 0,1—0,2 0,5 0,2 0,5—1 5—10 3—5	0,5 1 1 1 0,1—0,2 0,1—0,2 0,5 0,2 0,5—1 5—10
$-R$ $-C_2H_5$	$ \begin{array}{c c} \text{VIb} & R = \text{CC} \\ \text{VIc} & R = \text{CH} \\ \text{VIg} & R = \text{CH} \\ \end{array} $	H ₂ —CH ₃ O—CH ₂ OAc	1000 ²) 1000 300—500 ²) 300—500 ²)	

Daraus ergibt sich, dass die oestrogene Wirksamkeit der 7-Methyläther der homologen 2-Carbonsäure-ester (II a—d) und der homologen 7-Alkyläther der freien Carbonsäuren (IVa—e) mit wachsender Länge des Ester- bzw. Ätherrestes etwas sinkt. In der Wirkungsstärke kommen die freien Äthersäuren (IVa—e) mit niederem Alkylrest dem bekannten Methyläther der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure (IVa) und damit dieser selbst (I) am nächsten, während

¹) E. Tschopp, Schweiz. med. Wschr. **74**, 1310 (1944); Helv. physiol. pharmacol. acta **4**, 271 (1946).

²⁾ Bei zweimaliger subcutaner Injektion.

sich die Ester (IIa—d) 10—50 mal weniger wirksam erweisen. Auch bei den basischen Derivaten (Va und b) ist die Wirksamkeit stark vermindert. Die Carbonsäure-Abwandlungsprodukte VIb, c, e und g beeinflussen den Oestrus der Ratte nur noch in sehr hohen Dosen.

Das Methylketon (VIb) zeigte bei einer Dosis von 10 mg subcutan am mit Oestron vorbehandelten kastrierten weiblichen Kaninchen keine Progesteron-Wirkung, und das Ketolacetat (VIe) hatte mit täglich 1 mg subcutan an nebennierenlosen Ratten keinen lebensrettenden Einfluss.

Das 7-Methoxy-phenanthren-1, 2-dicarbonsäure-anhydrid(VIIIb), seine neuen, partiell hydrierten Derivate VIIb und IXb, sowie die 7-Oxy-1, 2, 3, 4-tetrahydro-phenanthren-1, 2-dicarbonsäure (XII) waren alle im *Allen-Doisy*-Test bei subcutaner Applikation mit 1 mg noch unwirksam. Der Befund an Verbindung VIIIb steht in Übereinstimmung mit demjenigen von *Cohen* und *Warren*¹).

Experimenteller Teil2).

Alkylester des 7-Methyläthers der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure (Ha bis d). Säurechlorid des 7-Methyläthers der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure (VIa).

Zu 1 g fein pulverisiertem Methyläther der genannten Säure, suspendiert in 20 cm³ Benzol, gab man 2 g reines Oxalylchlorid. Bald trat unter Gasentwicklung Reaktion ein. Nach 2 Tagen Stehen bei Raumtemperatur war die Säure vollständig gelöst, worauf die Lösung im Vakuum zur Trockne gebracht wurde. Den fast farblosen krystallinen Rückstand lösten wir aus Benzol-Petroläther um. Smp. 143—145° (unter Zersetzung).

$$C_{19}H_{21}O_2Cl$$
 Ber. C 72,03 **H** 6,68 Cl 11,19% Gef. ,, 71,88 ,, 6,47 ,, 11,09%

Alkylester (IIa—d).

 $0.2~{
m g}$ des Säurechlorids (VIa) wurde $^{1}/_{2}$ Stunde mit 5 cm 3 Methanol gekocht, dann wurde das Lösungsmittel im Vakuum verdampft und der Rückstand aus Petroläther umkrystallisiert. Das Produkt ist identisch mit dem aus dem Säure-Methyläther mittels Diazomethan hergestellten Methylester (IIa).

Die Äthyl- (IIb), n-Propyl- (IIc) und n-Butylester (IId) stellten wir ebenfalls durch Kochen des Säurechlorids (VIa) mit dem entsprechenden Alkohol her und reinigten die erhaltenen Ester (IIb—d) durch Umlösen aus Petroläther.

	Smp.	Formel	Berec C	hnet H	Gefu C	nden H
IIa	76 —78°	$\begin{array}{c} \mathrm{C_{20}H_{24}O_3} \\ \mathrm{C_{21}H_{26}O_3} \\ \mathrm{C_{22}H_{28}O_3} \\ \mathrm{C_{23}H_{30}O_3} \end{array}$	76,89	7,74	76,91	7,71%
IIb	79,5—80,5°		77,27	8,03	77,29	7,96%
IIc	79 —80°		77,61	8,29	77,59	8,23%
IId	81 —82°		77,93	8,53	78,02	8,67%

¹⁾ Loc. eit

²⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

2. 7-Alkyläther der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure (IV b bis f) und ihres Methylesters (III b bis f).

7-Äthyläther (IIIb und IVb).

0,8 g rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure-methylester wurde in 30 cm³ 2-n. Natronlauge gelöst und unter kräftigem Schütteln mit 3 cm³ Diäthylsulfat behandelt. Nach kurzer Zeit schied sich ein Öl aus, welches in Äther aufgenommen wurde. Zur Entfernung von Ausgangsmaterial wusch man mit 10-n. Natronlauge. Nach dem Verdampfen des getrockneten Lösungsmittels krystallisierten wir den erhaltenen Ester IIIb aus verdünntem Methanol um.

0,3 g Ester III b wurde in einer Mischung von 1 g Kaliumhydroxyd, 1 cm³ Wasser und 5 cm³ Alkohol bei 130° verseift. Die so erhaltene Säure (IV b) wurde ebenfalls aus verdünntem Methanol umkrystallisiert.

7-Alkyläther (IIIc-f und IVc-f).

Zur Darstellung von IIIc—f erwärmten wir rac. n-Bisdehydro-doisynolsäuremethylester (1 Mol) mit dem entsprechenden Alkylbromid (1,5—2 Mol) in einer 1-proz. methanolischen Lösung von 1,5—2 Grammatom Natrium 3 Stunden auf dem Wasserbad. Dann goss man in Wasser, entfernte nicht umgesetztes Ausgangsmaterial durch Schütteln mit 10-n. NaOH und krystallisierte das Reaktionsprodukt aus verdünntem Methanol um.

Zur Verseifung erhitzten wir 1 Teil der Ester (IIIc—f) mit 5—10 Teilen Alkohol, einigen Tropfen Wasser und 5 Teilen Kaliumhydroxyd auf 130°. Die erhaltenen Säuren (IVc—f) wurden aus verdünntem Methanol umgelöst.

Auf diese Weise wurden die 7-Allyläther (III c und IV c), 7-n-Propyläther (III d und IV d), 7-n-Butyläther (III e und IV e) und 7-i-Amyläther (III f und IV f) hergestellt.

	Smp.	Formel	Berechnet		Gefunden	
	Surp.		С	Н	C	Н
IIIb	1070	$C_{21}H_{28}O_3$	77,27	8,03	77,24	7,91%
IIIc	84—850	(C22 H20()3	78,07	7,74	78,25	7,93%
IIId	880	$C_{22}H_{23}O_{3}$	77,61	8,29	77,48	8,29%
IIIe	82-830	$C_{23}H_{30}O_{3}$	77,93	8,53	77,76	8,37%
IIIf	Sdp.160-170° (0,1 mm)	$C_{24}H_{32}O_3$	78,22	8,75	78,16	8,65%
IVb	213—2140	C20H24O3	76,89	7,74	76,90	7,72%
IVc	176—1770	$C_{21}H_{24}O_3$	77,74	7,46	77,67	7,60%
IVd	183-1840	$C_{21}H_{26}O_3$	77,27	8,03	77,14	7,93%
IVe	2140	$C_{22}H_{28}O_3$	77,61	8,29	77,78	8,25%
IVf	218—2190	$\mathrm{C_{23}H_{30}O_{3}}$	77,93	8,53	78,20	8,53%

3. Basische Derivate der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure (V a bis c).

7-Diäthylamino-äthoxy-2-carbonsäure-diäthylamino-äthylester (Va).

Wir lösten je 0,9 g rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure, Diäthylamino-äthylchlorid und Kaliumcarbonat in 10 cm³ Essigester und kochten die Mischung 24 Stunden am Rückfluss. Nach dem Verdünnen mit Äther extrahierte man das basische Reaktionsprodukt mit Salzsäure. Die daraus gewonnene freie Base (Va) stellt ein Öl dar, das unter 0,7 mm bei 270° destillierte.

7-Methoxy-2-carbonsäure-diäthylamino-äthylester (Vb).

Ein Gemisch von 0,9 g Methyläther der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure, 0,45 g Kaliumcarbonat und 0,45 g Diäthylamino-äthylchlorid in 10 cm³ Essigester wurde 24 Stunden am Rückfluss gekocht, wobei nach 18 Stunden weitere 0,45 g der Base zugegeben wurden. Dann nahm man in Äther auf und entfernte mittels verdünnter Natronlauge 0,11 g nicht umgesetztes Ausgangsmaterial. Hierauf schüttelten wir wiederholt mit verdünnter Salzsäure aus. Nach kurzem Stehen krystallisierte aus den vereinigten salzsauren Auszügen das Hydrochlorid von Vb, das nach Umlösen aus Aceton-Petroläther bei 212—214° schmolz.

 $C_{25}H_{36}O_3NCl$ Ber. C 69,18 H 8,36 N 3,23 Cl 8,17% Gef. .. 68,95 ,.. 8,54 ,.. 3,19 ,.. 8,19%

7-Diathylamino-athoxy-2-carbonsaure-methylester (Vc).

Wir erhitzten ein Gemisch von 0,9 g rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure-methylester, 0,45 g Kaliumcarbonat und 0,45 g Diäthylamino-äthylchlorid in 10 cm³ Essigester 24 Stunden zum Sieden. Man verdünnte mit Äther, wusch mit 10-n. NaOH das unveränderte Ausgangsmaterial aus und extrahierte anschliessend das basische Reaktionsprodukt mit verdünnter Salzsäure. Da auch nach längerem Stehen kein krystallisiertes Hydrochlorid erhalten werden konnte, wurde die ölige Rohbase im Hochvakuum destilliert. Sdp. 0,7 mm 230—233°.

4. Ersatz der Carboxyl- durch andere Gruppen bei der rac. n-Bisdehydrodoisvnolsäure.

1-Äthyl-2-methyl-2-acetyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren (VIb.)

Eine Mischung von 6,25 cm³ Methyljodid, 3,2 cm³ Essigester, 6 cm³ Toluol und 13 g Zink-Kupfer-Paar wurde 1 Stunde im Ölbad auf 1000 erhitzt. Nach dem Abkühlen gab man 0,6 g Säurechlorid des Methyläthers der rac. n-Bisdehydro-doisynolsäure (VIa), gelöst in 20 cm³ Toluol zu, liess 18 Stunden bei Raumtemperatur stehen und erwärmte zum Schluss noch 1 Stunde im Wasserbad. Das Reaktionsprodukt gossen wir auf Eis und Salzsäure und ätherten aus. Nach dem Verdampfen des neutral gewaschenen und getrockneten Lösungsmittels erhielt man ein gelb gefärbtes Öl, das bald erstarrte und aus Aceton-Methanol umkrystallisiert wurde. Smp. 133—134°.

 ${\rm C_{20}H_{24}O_2}$ Ber. C 81,04 H 8,16% Gef. ,, 81,02 ,, 8,19%

Eine Mischung von 0,1 g Methylketon (VIb), 0,2 g Hydroxylamin-hydrochlorid und 0,3 g Natriumacetat in 20 cm³ Methanol kochte man 3 Stunden am Rückfluss. Nach 18 Stunden Stehen bei Raumtemperatur goss man in Wasser und zog mit Äther aus. Es wurde nur Ausgangsmaterial isoliert.

1,2-Diäthyl-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren (VIc).

Zu einer Lösung von 2,5 g Natrium in 50 cm³ Äthylenglykol gab man 2 cm³ Hydrazinhydrat und 0,4 g Methylketon (VIb) und erhitzte die Mischung 24 Stunden im Ölbad auf 190°. Nach dem Erkalten wurde in viel Wasser gegossen, das ausgefallene Reaktionsprodukt abgenutscht und aus Methanol umkrystallisiert. Smp. 88—89°.

 ${
m C_{20}H_{26}O}$ Ber. C 85,05 H 9,28% Gef. ,, 85,25 ,, 9,54%

1-Athyl-2-methyl-2-acetoxyacetyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren (VIe).

Diazoketon (VId): Zur Lösung von 1 g Säurechlorid (VIa) in 50 cm³ Benzol gaben wir in der Kälte einen kleinen Überschuss ätherischer Diazomethan-Lösung. Nach Stehen über Nacht bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Vakuum verdampft und der gelbe krystalline Rückstand aus Benzol-Petroläther umgelöst. Smp. 150—152° (Unter Zersetzung).

C₂₀H₂₂O₂N₂ Ber. C 74,51 H 6,88% Gef. ,, 74,50 ,, 6,94%

0,28 g Diazoketon (VId) wurde in 2,8 cm³ Eisessig gelöst und die Lösung zum gelinden Sieden erhitzt. Nach ½ Stunde war die Stickstoffentwicklung beendet, die 15 cm³ statt der berechneten 19,5 cm³ betrug. Das Reaktionsprodukt gossen wir in Wasser, nahmen in Äther auf und wuschen die Ätherlösung mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser. Das ölige Reaktionsprodukt wurde anschliessend chromatographiert. Mit Benzol-Petroläther 1:1 wurde zuerst Ausgangsmaterial und dann das gesuchte Ketolacetat (VIe) eluiert, das nach Umlösen aus Petroläther bei 131—132° schmolz.

C₂₂H₂₆O₄ Ber. C 74,55 H 7,39% Gef. ,, 74,74 ,, 7,40%

1-Äthyl-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-2-essigsäure (VIg).

Zur siedenden Lösung von 0,5 g Diazoketon (VId) in 50 cm³ Methanol gab man portionenweise frisch gefälltes Silberhydroxyd (aus 10 cm³ 10-proz. Silbernitrat-Lösung). Nach ¹/₂ Stunde wurde erkalten gelassen, filtriert, das Lösungsmittel verdampft und der Rückstand aus Petroläther umkrystallisiert. Der so erhaltene Methylester (VIf) schmolz bei 106—107°.

Der Methylester (VIf) wurde in üblicher Weise mit Kaliumhydroxyd verseift und die erhaltene Säure (VIg) aus Methanol umkrystallisiert. Smp. 211—212°.

 $C_{20}H_{24}O_3$ Ber. C 76,89 H 7,74% Gef. ,, 76,93 ,, 7,90%

5. 7-Methoxy-phenanthren-1,2-dicarbonsäure-anhydrid und partiell hydrierte Derivate.

 α -Keto- β -carbāthoxy- δ -(6-methoxy-naphthyl-1)-valeriansāure-äthylester (XI).

Dieser Ester wurde nach den Angaben von Auwers und M"oller, loc. cit., ausgehend von 21 g γ -(6-Methoxy-naphthyl-1)-buttersäure-äthylester, 20 g Oxalsäure-äthylester und Kaliumäthylat (aus 3 g Kalium und 10 cm³ Alkohol) in ätherischer Lösung hergestellt. Er bildet ein hellgelb gefärbtes, leicht bewegliches Öl und kann ohne Reinigung weiterverarbeitet werden. Ausbeute 85%.

7-Methoxy-3,4-dihydro-phenanthren-1,2-dicarbonsäure-anhydrid (VIIb).

Der oben erhaltene rohe Ester (XI) wurde nach Fieser und Hershberg¹) mit 80-proz. Schwefelsäure bei 85° cyclisiert. Nach 15 Minuten goss man auf Eis, wobei das Reaktionsprodukt als orange gefärbtes Krystallisat gewonnen wurde. Das Anhydrid ist in den üblichen organischen Lösungsmitteln sehr schwer löslich. Aus heissem Acetanhydrid krystallisiert es in gelben Nadeln vom Smp. 212—214°.

C₁₇H₁₂O₄ Ber. C 72,85 H 4,32% Gef. ,, 72,97 ,, 4,38%

¹⁾ L. F. Fieser und E. B. Hershberg, Am. Soc. 57, 1851 (1935).

7-Methoxy-phenanthren-1,2-dicarbonsäure-anhydrid (VIIIb)

2 g Anhydrid (VIIb) wurden mit 0,2 g Palladium-Kohle (10-proz.) 10 Minuten auf 310—320° erhitzt. Nach anschliessender Sublimation im Hochvakuum und Krystallisation aus Acetanhydrid erhielt man das Dehydrierungsprodukt (VIIIb) in Form von kanariengelben Nadeln vom Smp. 249—254°. Seine Eigenschaften stimmen mit denjenigen des von Cohen und Warren (loc. cit.) auf anderem Weg erhaltenen Produktes überein.

7-Methoxy-1,2,3.4-tetrahydro-phenanthren-1,2-dicarbonsäure-anhydrid (IXb).

3 g Anhydrid (VIIb) wurden durch kurzes Erwärmen in 200 cm³ 2-proz. Natronlauge gelöst und in Gegenwart von 3 g Rupe-Nickel bei 55° hydriert. Nach Aufnahme der berechneten Menge Wasserstoff kam die Hydrierung zum Stillstand. Die hydrierte Dicarbonsäure schmolz bei 220—225° (unter Zersetzung) und wurde ohne weitere Reinigung durch 1-stündiges Erhitzen mit Acetanhydrid ins Anhydrid übergeführt. Das Produkt bildete, aus Benzol umgelöst, gelbliche Prismen vom Smp. 156—158°.

7-Oxy-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren-1,2-dicarbonsäure (XII).

0,3 g Anhydrid (IXb) erhitzte man mit 3 g Pyridinhydrochlorid 3 Stunden auf 180°. Das Reaktionsprodukt wurde in Wasser gegossen, dann in Äther aufgenommen und mit Salzsäure und Wasser gewaschen. Die Oxy-dicarbonsäure (XII) krystallisierte aus stark verdünntem Methylalkohol. Smp. 202—204° (unter Zersetzung).

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

Forschungslaboratorium der CIBA Aktiengesellschaft, Basel, Pharmazeutische Abteilung.

126. Zur Kenntnis einer makrocyclischen Thiazolverbindung von H. Erlenmeyer und Karl Degen.

(7. VI. 46.)

Durch eine Umsetzung von α , ω -Dithioamiden mit α , ω -Dihalogen-diketonen ist die Möglichkeit zur Bildung von polymeren Thiazolverbindungen gegeben. Wie *H. Erlenmeyer* und *W. Büchler*¹) gefunden haben, bilden sich aus den folgenden Komponenten:

> Oxalsäure-dithioamid Adipinsäure-dithioamid Azelainsäure-dithioamid Terephtalsäure-dithioamid

 $\begin{array}{l} 1, & 4\text{-Dibrom-diacetyl} \\ 1, & 8\text{-Dichlor-oktadion-}(2,7) \\ 1, & 1.11\text{-Dichlor-undecadion-}(2,10)^1) \end{array}$

¹⁾ Siehe Diss. W. Büchler, Basel (1945).

polymere Verbindungen mit zum Teil bemerkenswerten Eigenschaften. So wurde z. B. aus Adipinsäure-dithioamid und aus 1,8-Dichlor-oktadion-(2,7) ein Produkt erhalten, das sich sehr leicht aus der Schmelze mit Hilfe eines eingetauchten Glasstabes in einen Faden ausziehen lässt. Auf Grund dieser Eigenschaften wurde die Verbindung als ein linearpolymeres Kondensationsprodukt aufgefasst. Die Bildungsreaktion für diese Substanz wäre demnach wie folgt zu formulieren:

Neben diesem, ein linearpolymeres Kondensationsprodukt liefernden Reaktionstypus ist aber auch die Möglichkeit für einen zweiten Reaktionstypus, der zur Bildung makrocyclischer Ringe führt, vorhanden:

Wir hatten uns die Aufgabe gestellt, die oben erwähnte Polykondensation mit Komponenten, die 4 CH₂-Gruppen aufweisen, näher zu untersuchen und hierbei in erster Linie auf die Bildung von niedrig molekularen und besonders von makrocyclischen Verbindungen zu achten. Um solche Produkte zu isolieren, wurde das Rohprodukt nach der im folgenden beschriebenen Methode einer Fraktionierung unterworfen.

Zuerst wurde die zu dem Rohprodukt führende Kondensation bewirkt, indem man Adipinsäure-dithioamid¹) mit einem 5-proz. Überschuss von 1,8-Dichlor-oktadion-(2,7) während drei bis vier Stunden in siedendem Eisessig erwärmt. Der Eisessig wird anschliessend unter vermindertem Druck abdestilliert. Das zurückbleibende Öl, nachdem es mit verdünntem Ammoniak gewaschen wurde, erstarrt zu einer zähelastischen Masse. Das mechanisch zerkleinerte Rohprodukt wird nun zur Fraktionierung in Benzol aufgelöst. Zur Aufarbeitung der benzolischen Lösung wird alsdann durch Zusatz von Äther eine erste Fraktion amorpher Produkte ausgefällt und abgetrennt.

Lässt man die auf ein Zwanzigstel des ursprünglichen Volumens eingeengte benzolisch-ätherische Mutterlauge sehr langsam verdunsten, so fällt zuerst wiederum ein amorpher Bodenkörper aus. Später scheidet sich aber an der Lösung-Luftgrenze eine zweite Fraktion ab, die, bei 450-facher Vergrösserung betrachtet, regelmässige krystalline

¹⁾ Diese von H. Erlenmeyer und G. Bischoff, Helv. 27, 412 (1944), beschriebene Verbindung erhält man, wie wir gefunden haben, in einfacher Arbeitsweise aus Adipinsäuredinitril und einem Überschuss an flüssigem Schwefelwasserstoff in Gegenwart von Diäthylamin durch 30-stündiges Erwärmen auf 70° im Autoklaven.

Partikel enthält. Im polarisierten Licht zeigen die Krystalle Auslöschung. Diese zweite Fraktion wurde entfernt, mit der vom Bodenkörper abfiltrierten Lösung vereinigt, und mit Benzol auf das ursprüngliche Volumen gebracht. Zur weiteren Anreicherung dieser Fraktion wird die Lösung in einem Kölbehen mit einem ein Kapillarrohr tragenden Verschluss bei Zimmertemperatur der Verdunstung überlassen. Hierbei scheidet sich wiederum ein amorpher Bodenkörper und eine Krystalle enthaltende Fraktion an der Oberfläche ab. Durch vierzehnmaliges Wiederholen dieser Trennungsoperation können die amorphen höherpolymeren Anteile entfernt werden unter gleichzeitiger Gewinnung einer krystallisierten Endfraktion, die scharf bei 182,5—183,0° C (unkorr.) schmilzt.

Über die Struktur dieser krystallisierten Verbindung verschaffen folgende Beobachtungen und Überlegungen Klarheit:

1. Diskussion der Formel bei Annahme einer linearpolymeren Verbindung:

Aus den gefundenen Analysenwerten ergibt sich ein Atomverhältnis C: N = 7:1.

Die bei den angegebenen Komponenten — Adipinsäure-dithioamid und 1,8-Dichlor-oktadion-(2,7) — möglichen drei Kondensationsreaktionen führen zu drei Verbindungstypen, von denen je ein einfaches Beispiel in der Tabelle angeführt ist. Es bedeute m die Zahl der reagierenden Dithioamidmolekel und n die Zahl der reagierenden Dichlorketonmolekel. Im vorliegenden Falle enthält das Dithioamid 6 C und 2 N, das Dichlorketon dagegen 8 C und keinen N, so dass sich für die drei Verbindungstypen folgende C:N-Werte ergeben (s. Tabelle S. 1083).

Eine Differenzierung zwischen diesen durch das C:N-Verhältnis definierten Verbindungstypen ist unter Berücksichtigung der Genauigkeit der Elementaranalyse im Gebiet niederer Polykondensationsgrade, d. h. kleiner Molekulargewichte, möglich. Aus der oben angegebenen Molekulargewichtsbestimmung ist zu entnehmen, dass diese Voraussetzung für die beschriebene krystallisierte Verbindung erfüllt ist.

Demnach müsste diese ein C:N-Verhältnis von 7:1 aufweisende Verbindung als zum Typ 1 gehörig betrachtet werden. Die linear-polymeren Verbindungen nach diesem Typus müssen aber alle, wie aus dem angegebenen Beispiel zu ersehen ist, eine Thioamid-endgruppe und eine Chlorketon-endgruppe aufweisen. Eine sorgfältige Kontrolle unserer Verbindung auf Halogen ergab jedoch, dass in den vorliegenden Krystallen kein Chlor enthalten ist, und dass somit die die Krystalle aufbauenden Molekeln nicht zum Typus 1 gehören können.

Tabelle.

Typus 1: n = m, z. B. n = 1, m = 1. Beispiel:

Typus 2: n = m + 1, z. B. n = 2, m = 1. Beispiel:

Typus 3: n = m-1, z. B. n = 1, m = 2. Beispiel:

HN NH HO OH HN NH

C—
$$(CH_2)_4$$
— C + C — $(CH_2)_4$ — C + C — $(CH_2)_4$ — C

HS SH CI— CH CH— CI HS SH

HN N NH

C— $(CH_2)_4$ — C C— $(CH_2)_4$ — C C— $(CH_2)_4$ — C

HS S— CH CH— S SH

Typus 1 n = m, C: N = 14 m: 2 m

Beispiel: C: N = 14: 2

1 2 n = m+1, C: N = 14 m+8: 2 m

2 n = m-1, C: N = 14 m-8: 2 m

3 n = m-1, C: N = 14 m-8: 2 m

1 C: N = 22: 2

1 C: N = 20: 4

2. Diskussion der Formel bei Annahme einer makrocyclischen Verbindung:

Für den Fall einer Polykondensation unter Bildung einer makrocyclischen Verbindung nach dem unter II angegebenen Reaktionsverlauf ist immer n=m und entsprechend gilt für die Reaktionsprodukte C:N=7:1. Des weiteren müssen Produkte, die nach diesem Typus entstanden sind, halogenfrei sein.

Da nun einerseits diese beiden Bedingungen den zu makrocyclischen Verbindungen führenden Reaktionstypus hinreichend charakterisieren und anderseits diese Bedingungen durch die angegebenen Analysen der bei der Kondensation von Adipinsäuredithioamid und 1,8-Dichlor-oktadion-(2,7) gefundenen krystallisierten Verbindung vom Smp. 183° erfüllt sind, muss angenommen werden, dass es sich bei unserer Substanz um ein makrocyclisches Kondensationsprodukt handelt. Auf Grund des gefundenen Molekular-

gewichts und der Elementaranalyse lässt sich demnach für die Verbindung die Formel $C_{14}H_{18}N_2S_2$ entsprechend der Struktur (III) ableiten.

Demgemäss ist die obige Molekulargewichtsbestimmung und Elementaranalyse auf die angegebene Formel zu beziehen:

Die Ausführung der Mikroanalysen verdanken wir dem mikroanalytischen Laboratorium der Ciba Aktiengesellschaft (Dr. H. Gysel).

Für die Unterstützung unserer Untersuchungen möchten wir auch an dieser Stelle der Ciba Aktiengesellschaft unseren verbindlichsten Dank sagen.

Universität Basel, Anstalt für Anorganische Chemie.

127. Etudes sur les matières végétales volatiles XL¹). Sur les constituants sesquiterpéniques de l'essence de petit-grain bigaradier

par Yves-René Naves. (13 VI 46)

En outre des alcools et des esters terpéniques qui ont été mentionnés dans une précédente communication²), l'essence de feuille de l'oranger à fruit amer renferme des sesquiterpènes, des alcools et des esters sesquiterpéniques.

En 1939, M. Igolen³) a indiqué que l'essence extraite de l'eau de distillation renfermerait du nérolidol et du farnésol, identifiés par l'oxydation en farnésal de deux fractions distillant consécutivement. Cette indication est d'autant plus hardie que la première de ces fractions possédait des caractères plus proches de ceux du farnésol que de ceux du nérolidol.

On avait auparavant décelé ces deux alcools dans l'essence de néroli (fleur d'oranger bigarade)⁴)⁵); on les avait caractérisés après

⁵) B. Schimmel, Apr. 1914, 71.

¹⁾ XXXIXe communication, Helv. 29, 553 (1946).

²) Helv. **29**, 553 (1946). ³) Parf. France, **1939**, 80.

⁴⁾ Hesse, Zeitschel, J. pr. [2] 66, 504 (1902); B. Schimmel, Apr. 1914, 75.

leur séparation par phtalisation, et je les ai isolés plus tard de l'essence de l'eau de distillation du néroli¹) dans laquelle ils sont accompagnés d'un alcool monocyclique ayant les apparences d'un bisabolol²).

J'ai décelé la présence de nérolidol et de farnésol dans l'essence de petit-grain. Il s'y trouvent en faible proportion $(0,03\,\%$ environ) et ils sont accompagnés de trente fois plus d'alcools sesquiterpéniques $C_{15}H_{26}O$ et $C_{15}H_{24}O$ cycliques dont l'abondance a rendu leur isolement malaisé.

Ceci est encore vrai pour une essence extraite d'eau de distillation dont j'ai pu constater que la fraction d'alcools sesquiterpéniques est étrangement complexe en regard des constatations de M. Igolen.

Hesse et Zeitschel (loc. cit.) ont rencontré 6 % de d-nérolidol dans l'essence de néroli, et j'ai moi-même constaté que cet alcool, le farnésol et le bisabolol constituent la majeure partie de la fraction sesquiterpénique de l'essence de néroli de l'eau de distillation. Les alcools bicycliques de la feuille ou tout au moins les substances qui les libèrent post mortem n'existent pas en proportion notable dans la fleur; dans celle-ci s'accumulent par contre les alcools aliphatiques et le bisabolol ou leurs progéniteurs.

Je n'ai pas décelé de différence notable entre les pouvoirs rotatoires du nérolidol libre et du nérolidol isolé après saponification et, quoique j'aie mis en œuvre des fractions correspondant à environ 1000 kg. d'essence, je n'ai pu isoler substantiellement d'acétate de nérolidyle. L'activité optique du nérolidol approche de la valeur maximum relevée jusqu'à présent. Par conséquent, si le nérolidol libre est inactif, il n'est présent qu'en très faible proportion dans la feuille, et les esters du nérolidol sont hydrolysés au cours de la distillation, sinon le nérolidol libre est actif.

Le farnésol a été extrait avec une fraction des alcools secondaires satellites par le traitement phtalique des alcools isolés par la boratisation d'échange. Son oxydation a conduit à un farnésal dont la semicarbazone a p. de f. = 127,5—128,5° alors qu'on a trouvé, hormis dans le cas du farnésol de l'essence de néroli (127—132°)³), un p. de f. de 133—135° pour la semicarbazone du farnésal d'autres origines. Il est remarquable que *M. Igolen* ait trouvé 135° au cours de l'étude de l'essence de l'eau de distillation de la feuille d'oranger.

Le mélange de la semicarbazone p. de f. $127,5-128,5^{\circ}$ avec la semicarbazone p. de f. $=133^{\circ}$ du farnésal extrait de l'essence de lemongrass⁴) a p. de f. $=126-128^{\circ}$. Les préparations de dinitro-2,4-phénylhydrazone fondent entre 84 et 90° alors que celle obtenue du produit d'oxydation du farnésol synthétique a p. de f. $=84-85^{\circ}$.

¹⁾ Parf. France 12, 67 (1934). 2) Ibid., 68.

³⁾ B. Schimmel, Apr. 1914, 71.

⁴⁾ Naves, Parf. France 8, 64 (1931).

On pourrait admettre que le farnésol de l'oranger diffère stéréochimiquement du farnésol d'autres origines, quoique j'aie obtenu des dérivés fondant isolément ou mélangés à ceux du farnésol synthétique à la même température que ces derniers. Il s'agit du di- β -naphtyluréthane p. de f. = $70-70,5^{0.1}$), du nitro-3-phtalate p. de f. = $93-94^{0.2}$), et, produits jusqu'ici inédits, de l'allophanate p. de f. = $79-80^{0}$ et du diphényluréthane p. de f. = $54,5-55^{0.3}$).

L'étude des alcools extraits par la phtalisation en même temps que le farnésol n'a donné aucun résultat net, il s'agit de mélanges d'alcools $C_{15}H_{24}O$ secondaires. Leur oxydation conduit à des cétones dont on obtient des mélanges de semicarbazones dont l'étude, qui paraît devoir être laborieuse, a été provisoirement délaissée.

Le nérolidol a été séparé approximativement des autres alcools tertiaires et d'un reliquat d'alcools secondaires par distillation et purifié par la rectification de son ester acétique. Il a été identifié par la préparation du phényluréthane p. de f. = 38° 4) et par l'oxydation en farnésal dont la semicarbazone a p. de f. = 132—133°. L'action de l'isocyanate de xényle a conduit à un produit mou fondant entre 75 et 82°.

Le nérolidol est accompagné d'un mélange d'alcools $C_{15}H_{26}O$ et d'un ou plusieurs alcools bicycliques $C_{15}H_{24}O$.

Le mélange des alcools $C_{15}H_{26}O$ n'a pu être résolu par distillation. Hydrogéné au contact du catalyseur $Pt(O_2)$ Adams, il a donné un hydrocarbure ou mélange d'hydrocarbures $C_{15}H_{26}$ en majorité bicycliques et un alcool $C_{15}H_{30}O$ monocyclique.

Le mélange des hydrocarbures $C_{15}H_{26}$ traité par le sélénium a donné des gaïazulènes et la fraction non transformée est apparue comme étant un dihydro-sesquiterpène bicyclique possédant une liaison éthylénique vraisemblablement bitertiaire. D'après les caractères du mélange, la fraction déshydrogénée devait être tricyclique et l'on pourrait rappeler ici les exemples de l'aromadendrène et du lédol tricycliques dont la déshydrogénation conduit au gaïazulène.

L'alcool monocyclique pourrait être un bisabolol, car en hydrogénant le produit de sa déshydratation j'ai obtenu un hydrocarbure $C_{15}H_{30}$ dont les caractères sont ceux de l'hexahydro-bisabolène⁵) (hexahydro-zingibérène)⁶).

¹⁾ Spaeth, Vielhapper, B. 71, 1667 (1938).

²) Lennartz, B. 76, 843 (1943).

³⁾ Il ne s'agit pas de diphénylamine que M. Igolen a décrite comme diphényluréthane du nérolidol (Parf. France 1939, 140): Cf. Naves, Grampoloff, Helv. 26, 1393 (1943).

⁴⁾ B. Schimmel, Apr. 1914, 71; Spoelstra, R. 50, 433 (1931).

⁵) Semmler, Rosenberg, B. **46**, 769 (1913).

⁶⁾ Semmler, Becker, B. 46, 1819 (1913); voy. ég. Ruzicka, Van Veen, A. 468, 153 (1929).

	C ₁₅ H ₃₀ , ce travail	hexa- hydro-zingibérène	hexa- hydro-bisabolène
p. d'éb.	102—103°/3 mm.	128—130°/11 mm.	123—125°/8 mm.
d_4^{20}	0,8249	0,8264	0,8244
n _D ⁽²⁾	1,45444	1,4560	1,45423

Quant à l'alcool C₁₅H₃₀O lui-même, ses caractères sont très voisins de ceux du produit obtenu par *Kimura*¹) par l'hydrogénation de l'alcool monocyclique de l'essence d'*Alpinia chinensis* Roscoe, et que j'ai ramenés à 20° par le calcul.

C ₁₅ H ₃₀ O	ex petit-grain	ex Alpinia chinensis
p. d'éb. d ₁ ²⁰ n ₁₀ ²⁰	116º/3 mm. 0,8650 1,46166	0,8694 $1,4643$
RM_D	71,85	71,84

La déshydratation du mélange d'alcools $C_{15}H_{26}O$ a donné un mélange de sesquiterpènes pour une part monocycliques, dont l'indice de maléinisation est très faible, et dont la chlorhydratation a fourni, avec un rendement de 3 %, du trichlorhydrate de bisabolène²).

A ce mélange d'alcools $C_{15}H_{26}O$ a succédé un autre mélange d'alcools, mais de formule $C_{15}H_{24}O$, bicycliques et apparemment secondaires, qui a été hydrogéné en alcools $C_{15}H_{28}O$. Sa déshydrogénation a donné du cadalène. L'étude n'a pas été poussée plus avant. L'essence étudiée renfermerait approximativement 0,03 % de nérolidol et farnésol; 0,7 % du mélange des alcools $C_{15}H_{26}O$ et 0,3 % du mélange des alcools $C_{15}H_{24}O$.

La fraction principale de l'essence saponifiée non boratisée a pour composition $C_{20}H_{34}O$ et renferme de l'oxyde de géranyle (ou néryle). Ce corps a été trouvé en proportion beaucoup plus faible dans l'essence brute. Dans ce cas il pouvait résulter de l'action de la vapeur d'eau, en milieu faiblement acide ou alcalin, en présence de la matière végétale, sur les esters du géraniol et du nérol³).

Les variations des caractères physiques au cours de la distillation des fractions $C_{20}H_{34}O$ sont vraisemblablement dues à la stéréo-

¹⁾ J. Pharm. Soc. Japan. 60, 51 (1940).

²⁾ J'ai obtenu également du trichlorhydrate de bisabolène, avec un rendement de 4,4% à partir du fokiénène de Glichitch (Parf. France 8, 158 (1930)), ce qui établirait que le fokiénol monocyclique de cet auteur est un bisabolol ou contient un bisabolol.

³⁾ Ce serait aussi le cas de l'oxyde C₂₀H₃₄O entrevu par Barbier et Bouveault (C. r. 119, 283 (1894)) dans l'essence de géranium saponifiée.

isomérie géranique-nérique qui donne la possibilité de 2 oxydes symétriques et d'un oxyde mixte.

Par fixation de 2 molécules H_2 , en présence de nickel de Raney, ces fractions ont conduit à l'oxyde de citronellyle et par celle de 4 molécules H_2 , sur catalyseur $Pt(O_2)$ Adams, à l'oxyde de dihydrocitronellyle. En utilisant dans cette dernière opération de l'ester acétique au lieu de cyclohexane, il s'est fait, presque exclusivement, du diméthyl-octane et du dihydro-citronellol.

Semmler et Jonas¹) ont décrit sous le nom d'oxyde de citronellyle un produit obtenu à partir de citronellal, «der als Oxyd der Diterpenreihe angesprochen werden muss». Or ce n'était pas plus un produit diterpénique que l'oxyde de citronellyle, mais vraisemblablement l'oxyde d'isopulégyle²). A notre connaissance, ni l'oxyde de géranyle, ni l'oxyde de citronellyle, ni l'oxyde de dihydro-citronellyle n'avaient été décrits. Voici leurs caractères, une préparation totale d'oxyde de géranyle (néryle) étant prise pour type de comparaison; les limites des variations observées figurent entre parenthèses:

	oxyde de géranyle (néryle)	oxyde de citronellyle	oxyde de dihydro- citronellyle	
p. d'éb. 2 mm.	163—164°	150—1510	144—1450	
$- d_4^{20}$	0,8696 (0,86350,8707)	0,8436	0,8162	
n_{C}^{20}	1,48137	1,45911	1,43779	
n_{C}^{20} n_{O}^{20}	1,48474 (1,4825—1,4865)	1,46193	1,44003	
$\mathbf{n_F^{20}}$	1,49292	1,46877	1,44547	
$(n_F-n_C)\times 10^4$	115,5	96,6	76,8	
δ	132,8	114,4	94,2	
RM_D	95,62	95,89	96,33	
EM_D	1,29	0,63	0,13	

On remarquera la dispersion de la réfraction, qui est celle du radical C_{10} .

Les alcools sesquiterpéniques accompagnent un mélange complexe de sesquiterpènes, vraisemblablement engendrés, au moins en partie, au cours de l'étude, et renfermant notamment de l'isocadinène³); j'en ai obtenu, par chlorhydratation, un mélange incristallisable $C_{15}H_{26}Cl_2$, et par déshydrogénation, du cadalène.

¹⁾ B. 47, 2079 (1914); cf. Spornitz, ibid. 2478.

²⁾ Voy. Leser, Barbier, C. r. 124, 1310 (1897); Wegscheider, Spath, M. 30, 848 (1909); Ono, Takeda, Bl. Soc. Chim. Japan. 2, 16 (1927); Horiuchi, Mem. Coll. Sci. Kyoto Univ. [A] 11, 171 (1927); Kimura, Bl. Soc. Chim. Japan. 10, 330 (1935).

³⁾ Ruzicka, Capato, Helv. 8, 289 (1925); Henderson, Robertson, Soc. 1926, 2811.

Partie expérimentale.

Les micro-analyses ont été effectuées par Mle D. Hohl et les déterminations physiques par M. Reymond. Les p. de f. sont corrigés.

Essence de petit-grain. L'essence examinée est celle décrite dans la communication relative au linalol et à l'acétate de linalyle. Une partie a été étudiée sans saponification préalable, l'autre après complète saponification. Les fractions étudiées distillaient audessus de 105°/2,5 mm. Elles ont été rectifiées dans un courant de vapeur d'eau surchauffée à 140—145° sous 30 à 35 mm., et représentaient respectivement 1,7 et 2,7% de l'essence.

Les produits rectifiés ont été boratisés par échange au contact de borate de n-butyle. Il a été régénéré des esters boriques 0,85 et 1,1% environ (pourcentages rapportés à l'essence) d'alcools. Ces alcools ont été traités par phtalisation à 80°, de la manière habituelle. Les fractions alcooliques régénérées des esters phtaliques et représentant au total 0,06% de l'essence, possédant à l'état brut des caractères voisins, ont été réunies. Après une tentative infructueuse du classement par distillation, le produit a été transformé en esters nitro-3-phtaliques.

Farnésol. L'action de l'anhydride nitro-3-phtalique¹) en présence de pyridine à la température du laboratoire a conduit à un mélange complexe d'esters. Après un essai plus fructueux d'estérification par l'anhydride seul en présence de benzène à l'ébullition, 94 gr. du produit ont été traités de cette manière. Les esters bruts, lavés au pentane, ont été recristallisés dans le cyclohexane et dans la ligroïne p. d'éb. 100—110°. Le nitro-3-phtalate du farnésol p. de f. 93—94° a été saponifié.

Le produit rectifié possédait les caractères suivants, très proches de ceux du farnésol d'autres sources:

$$\begin{array}{c} \text{p. d'\'eb.} = 131 - 132^{0}/3 \;\; \text{mm.;} \quad d_{4}^{20} = 0,8880; \quad n_{C}^{20} = 1,48562; \quad n_{D}^{20} = 1,48906; \\ n_{F}^{20} = 1,49740; \quad (n_{F} - n_{C}) \times 10^{4} = 117.8; \quad \delta = 132.6; \quad \text{RM}_{D} = 72,23 \;\; \text{(Calcul\'ee} = 71,59). \\ C_{15}H_{26}O \;\; (222,208) \qquad \text{Calcul\'e C} \;\; 81,00 \quad H \;\; 11,80\% \\ & \qquad \qquad \text{Trouv\'e} \;\; , \;\; 81,16 \quad , \;\; 11,73\% \end{array}$$

Afin d'éliminer un classement des isomères du farnésol qui aurait pu résulter de la cristallisation des nitro-3-phtalates ou d'une déshydratation sélective par l'anhydride nitro-3-phtalique, plus actif dans ce sens que l'anhydride phtalique lui-même, les dérivés suivants ont été préparés à partir d'une fraction des produits régénérés des phtalates, isolée par distillation et renfermant une forte proportion de farnésol:

p. d'éb. = 130—132°/3 mm.;
$$d_4^{20} = 0.8996$$
; $n_D^{20} = 1.4936$; $\alpha_D = -2.04$ °.

Di- β -naphtyluréthane. 0,5 gr. d'alcools; 0,8 gr. de chlorure de di- β -naphtylurée²) et 1 gr. de pyridine ont été chauffés 2 h. au bain-marie. Après le traitement habituel pour les diphényluréthanes, le produit recristallisé dans l'éther de pétrole et pesant 0,6 gr. a p. de f. = 70—70,5° comme indiqué par $Sp\bar{a}th$ et Vierhapper.

Allophanate. Le produit résultant de l'action du chlorure d'allophanyle en présence de benzène, recristallisé dans l'éther de pétrole, se présente sous la forme d'une poudre molle, graisseuse, p. de f. = 78—79°.

Diphényluréthane. Le produit préparé à partir de 0,5 gr. d'alcools; 0,5 gr. de chlorure de diphénylurée; 0,5 gr. de pyridine et recristallisé dans l'alcool méthylique est une poudre molle, p. de f. = $54.5-55^{\circ}$.

$$C_{28}H_{35}O_2N$$
 (407,288) Calculé C 80,04 H 8,66 N 3,44% Trouvé ,, 80,02 ,, 8,21 ,, 3,20%

Les mêmes préparations ont été obtenues à partir de farnésol synthétique et les mélanges ne montrent pas de dépression du p. de f.

¹⁾ Prép.: Nicolet, Bender, Organic Syntheses, Coll. Vol. I, 401, New-York, 1932.

²⁾ Réactif préparé selon Stollé, J. pr. [2] 117, 199 (1927).

Oxydation en farnésal. 5 gr. d'alcools ont été oxydés de la manière habituelle par 4,6 gr. de dichromate de potassium; 12,7 gr. d'acide sulfurique, donnant 1,9 gr. de farnésal:

$$\begin{array}{c} \text{p. d'\'eb.} = 136-138^{0}/3,6 \text{ mm.}; \quad d_{4}^{20} = 0,9088; \; n_{C}^{20} = 1,49318; \quad n_{D}^{20} = 1,49724; \\ n_{F}^{20} = 1,50708; \quad (n_{F}-n_{C}) \times 10^{4} = 139,0; \quad \delta = 153,0; \; \text{RM}_{D} = 70,93 \; \text{(Calcul\'ee} = 70,08). \\ C_{15}\text{H}_{24}\text{O} \; \; (220,192) \qquad \text{Calcul\'e} \; C \; 81,75 \quad \text{H} \; \; 10,99\% \\ & \qquad \qquad \text{Trouv\'e} \; \; , \; \; 81,90 \quad \; , \; \; 10,94\% \end{array}$$

Mis au contact d'acétate de semicarbazide, il précipite immédiatement la semicarbazone. Celle-ci, recristallisée dans l'alcool méthylique, se présente sous la forme de cristaux mous, d'apparence graisseuse, p. de f. = 127,5—128,5°.

$$C_{16}H_{27}ON_3$$
 (277,240) Calculé C 69,25 H 9,82 N 15,16% Trouvé ,, 69,38 ,, 9,63 ,, 15,05%

La dinitro-2,4-phénylhydrazone, préparée de la manière habituelle à partir de la semicarbazone et recristallisée dans l'alcool méthylique, se présente sous la forme de cristaux orangé vif, p. de $f.=84-90^{\circ}$.

$$C_{21}H_{28}O_4N_4$$
 (400,276) Calculé C 62,96 H 7,05 N 14,00% Trouvé ,, 63,14 ,, 6,84 ,, 14,07%

Nérolidol. Les premières fractions des alcools tertiaires extraits des fractions d'essence non saponifiée ont été transformées en esters acétiques au moyen de chlorure d'acétyle et de diméthylaniline. Le produit le mieux défini par ses caractéristiques aliphatiques avait pour normes:

Cette fraction, saponifiée, a donné du nérolidol:

$$\begin{array}{c} \text{p. d'\'eb.} = 118 - 119^{0}/2,6 \text{ mm.}; \quad d_{4}^{20} = 0,8786; \quad n_{\mathrm{C}}^{20} = 1,47669; \quad n_{\mathrm{D}}^{20} = 1,47996; \\ n_{\mathrm{F}}^{20} = 1,48787; \quad (n_{\mathrm{F}} - n_{\mathrm{C}}) \times 10^{4} = 111.8; \\ \delta = 127.2; \quad \text{RM}_{\mathrm{D}} = 71,84 \quad \text{(Calcul\'ee } 71,59); \quad \alpha_{\mathrm{D}} = +13,62^{0~1}) \\ C_{15} H_{26} O \quad (222,208) \qquad \text{Calcul\'e C } 81,00 \quad \text{H } 11,80\% \\ & \qquad \qquad \text{Trouv\'e }, \quad 80,89 \quad ,, \quad 11,51\% \end{array}$$

5 gr. ont été émulsionnés dans 12,5 cm³ d'eau bouillante et additionnés en 10 minutes de 4,6 gr. de dichromate de potassium et 12,7 gr. d'acide sulfurique dissous dans 12,5 cm³ d'eau. Il a été obtenu 1,1 gr. de farnésal, donnant la semicarbazone, p. de f. = 132—133° après recristallisations dans l'acétate d'éthyle et dans l'alcool méthylique. 0,5 gr. de semicarbazone ont été transformés en dinitro-2,4-phénylhydrazone qui, recristallisée dans l'alcool méthylique, avait p. de f. = 83—84°.

Le phényluréthane, préparé de la mamère habituelle et recristallisé dans l'éther de pétrole avait p. de f. $=38^{\circ}$.

Le xényluréthane, préparé en chauffant au bain-marie un mélange équimoléculaire de nérolidol et d'isocyanate de xényle n'a pu être recristallisé convenablement. Le produit, gommeux, a p. de f. = 75—82° et ses microanalyses sont peu satisfaisantes.

La suite de l'étude des alcools a été effectuée en réunissant des produits obtenus de l'essence non saponifiée à ceux extraits de l'essence saponifiée.

Alcools $C_{15}H_{26}O$ accompagnant le nérolidol. Après une première distillation, ils avaient pour caractères:

p. d'éb. = 120 à 128°/2,6 mm.;
$$d_4^{20} = 0,943$$
 à 0,939; $n_D^{20} = 1,4938$ à 1,4960; $\alpha_D = +2,68^\circ$ à $-0,65^\circ$.
$$C_{15}H_{26}O~(222,208) \quad \begin{array}{c} \text{Calculé}~C~81,00 & H~11,80\% \\ \text{Trouvé}~,~80,89~,~11,59\% \end{array}$$

 $^{^1)}$ Le nérolidol isolé par un traitement identique à partir des alcools provenant de l'essence saponifiée avait : d $_4^{20}=0.8789;\;n_D^{20}=1.4802;\;\alpha_D=+13.46^0.$

Les essais de séparation par la distillation des alcools ou des esters acétiques n'ont pas abouti.

 $20~\rm gr.$ d'alcools; $30~\rm cm^3$ d'acétate d'éthyle et 5 gr. Pt(O₂) Adams ont été secoués à $60^{\rm o}$ dans l'hydrogène. Il a été absorbé en 405 min. 6110 cm³ H₂ (20°; 728 mm.) dont 50% en 35 min., 75% en 75 min. et 90% en 135 min.

La fraction hydrocarbonée (8,5 gr.) avait pour caractères, après distillation sur sodium;

$$\begin{array}{lll} \text{p. d'\'eb.} = 93 - 94^{\circ}/3 \text{ mm.; } d_4^{20} = 0.8877; \ n_{\text{C}}^{20} = 1.47289; \ n_{\text{D}}^{20} = 1.47542; \ n_{\text{F}}^{20} = 1.48156; \\ (n_{\text{F}} - n_{\text{C}}) \times 10^4 = 86.7; \ \delta = 97.7; \ \text{RM}_{\text{D}} = 65.45 \ \text{(Calcul\'ee} \ | \overline{0} = 64.87); \ \alpha_{\text{D}} = +3.20^{\circ}. \\ & C_{15} \text{H}_{26} \ (206.208) & \text{Calcul\'e C } 87.29 \ \text{H } 12.71\% \end{array}$$

Trouvé " 87,37 " 12,58%

Après une tentative peu satisfaisante de déshydrogénation au soufre, 6 gr. ont été traités par le sélénium à 260—300°, de la manière habituelle. La production d'azulène a été très rapide. Après traitement par l'acide phosphorique et purification par circulation de la solution cyclohexanique dans une colonne d'alumine standardisée selon Brockmann, il a été obtenu 0,12 gr. d'un mélange de S-gaïazulène et Se-gaïazulène dont j'ai préparé le trotylate de S-gaïazulène, p. de f. = 88—89° après recristallisations dans l'alcool absolu, et le trinitrobenzénate, p. de f. = 156—157°, du Se-gaïazulène (essais de mélange)¹).

La fraction des produits traités au sélénium non combinée à l'acide phosphorique, pesant 3,7 gr., a été rectifiée sur sodium. Elle était sensiblement homogène:

$$\begin{array}{c} \text{p. d'\'eb.} = 95^{\circ}/3 \text{ mm.; } d_{4}^{20} = 0.8737; \; \alpha_{\mathrm{D}} = +6.20^{\circ}; \; n_{\mathrm{C}}^{20} = 1.47242; \; n_{\mathrm{D}}^{20} = 1.47502; \\ n_{\mathrm{F}}^{20} = 1.48134; \; (n_{\mathrm{F}} - n_{\mathrm{C}}) \times 10^{4} = 89.2; \; \delta = 102.1; \; \mathrm{RM}_{\mathrm{D}} = 66.46 \\ & (\mathrm{Calcul\acute{e}} \; \mathrm{pour} \; \mathrm{C}_{15} \mathrm{H}_{26} \; | \overline{1} = 66.60) \\ & \mathrm{C}_{15} \mathrm{H}_{26} \; (206.208) \qquad \mathrm{Calcul\acute{e}} \; \mathrm{C} \; 87.29 \quad \mathrm{H} \; 12.71 \, \% \\ & \mathrm{Trouv\acute{e}} \; , \; 87.12 \quad , \; 12.86 \% \end{array}$$

La fraction alcoolique (10,8 gr.) était monocyclique:

$$\begin{array}{c} \text{p. d'\'eb.} = 116^{0}/3 \text{ mm.; } d_{4}^{20} = 0,8650; \ n_{\mathrm{C}}^{20} = 1,45925; \ n_{\mathrm{D}}^{20} = 1,46166; \ n_{\mathrm{F}}^{20} = 1,46750; \\ (n_{\mathrm{F}} - n_{\mathrm{C}}) \times 10^{4} = 82,5; \ \delta = 95,4; \ \mathrm{RM_{D}} = 71,85 \ \text{(Calcul\'ee} = 70,79); \ \alpha_{\mathrm{D}} = +0,16^{\circ} \\ C_{15} H_{30} O \ (226,240) & \text{Calcul\'e C } 79,56 \ \ \mathbf{H} \ 13,37\% \\ & \text{Trouv\'e} \ , \ 79,64 \ \ , \ 13,35\% \end{array}$$

8 gr. de cet alcool ont été déshydratés à $140-160^\circ$ sur de l'hydrogénosulfate de potassium finement pulvérisé, donnant un hydrocarbure ou mélange d'hydrocarbures $C_{15}H_{28}$:

$$C_{15}H_{28}$$
 (208,224) Calculé C 86,45 H 13,55%
Trouvé , 86,39 , 13,69%

Ce produit a été hydrogéné à 60° , en présence de $20~\rm cm^3$ d'acétate d'éthyle et de $3~\rm gr.$ Pt(O₂) Adams. Le produit obtenu avait pour caractères, après rectification sur sodium :

p. d'éb. =
$$102-103^{\circ}/3$$
 mm.; $d_4^{20}=0.8249$; $n_C^{20}=1.45212$; $n_D^{20}=1.45444$; $n_F^{20}=1.46006$; $(n_F-n_C)\times 10^4=79.4$; $\delta=96.2$; $RM_D=69.08$ (Calculée = 69.27)

et ne donnait qu'une coloration jaune paille au contact de la solution chloroformique de tétranitro-méthane:

20 gr. du mélange des alcools $\rm C_{15}H_{26}O$ ont été déshydratés à $140-160^{\circ}$ sur de l'acide métaphosphorique finement pulvérisé. Le mélange de sesquiterpenes obtenu a été rectifié sur sodium et fractionné:

p. d'éb. = 98-106°/3,2 mm.;
$$d_4^{20} = 0.9043$$
 à 0.8982 ; $n_D^{20} = 1.5001$ à 1.5039 .

¹⁾ Cf. Naves, Papazian, Perrottet, Helv. 26, 325 (1943).

La fraction la plus légère avait pour caractères:

$$\begin{array}{c} \text{p. d'\'eb.} = 102,5^{0}/3,2 \ \text{mm.}; \ d_{4}^{20} = 0,8982; \ n_{C}^{20} = 1,49841; \ n_{D}^{20} = 1,50210; \\ n_{F}^{20} = 1,51105; \ (n_{F} - n_{C}) \times 10^{4} = 126,4; \ \delta = 140,7; \ \alpha_{D} = +10,92^{0}; \ \text{RM}_{D} = 67,11; \\ \text{(Calcul\'ee pour $C_{15}H_{24}$ } \overline{|\overline{2}|} = 66,14; \ \text{pour $C_{15}H_{24}$ } \overline{|\overline{3}|} = 67,87) \\ C_{15}H_{24} \ (204,192) \qquad \text{Calcul\'e C} \ 88,16 \quad \text{H $11,85\%} \\ \text{Trouv\'e} \ , \ 88,21 \quad , \ 11,73\% \end{array}$$

2 gr. ont été traités en solution éthérée par l'acide chlorhydrique sec. Après un repos de 2 semaines à la glacière, en présence de silicagel et de chaux sodée, il s'est séparé du produit huileux résultant 0,15 gr. de trichlorhydrate de bisabolène, p. de f. = 79,5—80°, après recristallisations dans l'alcool méthylique et dans l'éther de pétrole et fondant sans dépression, en mélange avec le trichlorhydrate préparé à partir du bisabolène d'essence de citron.

Par déshydrogénation au soufre, il n'a pas été obtenu de fraction naphtalénique, ce qui établit l'absence de zingibérène et d'isocadinène dans la fraction étudiée.

Alcools $C_{15}H_{24}O$. Aux alcools $C_{15}H_{26}O$ a succédé une fraction d'alcools $C_{15}H_{24}O$ phtalisable à froid, en présence de pyridine, pour 34,3%. Une phtalisation permet d'éliminer le farnésol, la fraction non combinée est phtalisable à nouveau pour 28%.

p. d'éb. =
$$130-132^{0}/2.5$$
 mm.; $d_{4}^{20}=0.9635$ à 0.9621 ; $n_{C}^{20}=1.50391$ à 1.50357 ; $n_{D}^{20}=1.50758$ à 1.50724 ; $n_{F}^{20}=1.51517$ à 1.51484 ; $(n_{F}-n_{C})\times 10^{4}=112.6$ à 112.7 ; $\delta=116.9$ à 117.0 ; $\alpha_{D}=-20.48^{0}$ à -21.90^{0} ; $RM_{D}=68.08$ à 68.13 (Calculée pour $C_{15}H_{24}O$ (220.192) Calculé C 81.75 C H 10.99%

12,8 gr. ont été hydrogénés à 60° , en présence de 30 cm^3 d'acétate d'éthyle et de 3 gr. de $\text{Pt}(O_2)$ Adams. Il a été absorbé en 175 min., à 19° et 733 mm., 3825 cm^3 H₂ (calculé: 2880 cm^3) dont 50% en 30 min., 75% en 64 min., et 90% en 85 min. Le produit (8 gr.) distillant après l'hydrocarbure avait pour caractères:

Trouvé ,, 81,90 ,, 11,15%

p. d'éb. = 126—127°/2,4 mm.;
$$d_4^{20}=0.9308$$
; $n_C^{20}=1.48106$; $n_D^{20}=1.48381$; $n_F^{20}=1.49047$; $(n_F-n_C)\times 10^4=87.6$; $\delta=94.1$; $\alpha_D=-13.10^\circ$; $RM_D=68.92$ (Calculée = 68.59)

15 gr. du mélange alcoolique $C_{15}H_{24}O$ ont été déshydratés par chauffage de 1 h. au bain-marie, en présence d'un poids égal d'acide formique à 90%. Le produit obtenu a été déshydrogéné par le soufre à 250—260°. Le dégagement d'hydrogène sulfuré a été très vif dès 210°. Le produit de déshydrogénation, distillé sur sodium, a donné 1,9 gr. de substance p. d'éb. = 113—115°/2,2 mm.; $n_D^{20}=1,5515$, dont j'ai obtenu le picrate de cadalène, p. de f. 117—118° (essai de mélange), et le styphnate de cadalène, poudre cristalline jaune vif, p. de f. = 142,5—143° (essai de mélange) et non 138° comme mentionné dans la littérature.

Le produit de déshydratation formique est polymérisé pour $55\,\%$ et renferme 30% (du mélange initial) d'un sesquiterpène:

$$\begin{array}{c} \text{p. d'\'eb.} = 102-103^{\circ}/2,5 \;\; \text{mm.;} \;\; d_{4}^{20} = 0,9222; \;\; n_{C}^{20} = 1,50024; \;\; n_{D}^{20} = 1,50390; \\ n_{F}^{20} = 1,51279; \;\; (n_{F}-n_{C})\times 10^{4} = 125,5; \;\; \delta = 136,1; \;\; \text{RM}_{D} = 65,55 \\ & \text{(Calcul\'ee pour C}_{15}\text{H}_{24} \;\; |\overline{2} = 66,14). \\ \text{C}_{15}\text{H}_{24} \;\; (204,192) \qquad \text{Calcul\'e C } 88,16 \quad \text{H } 11,85\% \\ & \text{Trouv\'e} \;\; ,, \;\; 88,19 \quad ,, \;\; 11,92\% \end{array}$$

Oxyde de géranyle (néryle). Les fractions brutes p. d'éb. = $156-170^{\circ}/2$ mm., séparées des alcools par boratisation, ont été redistillées sur 5% de leur poids de sodium puis fractionnées. L'ensemble des fractions répond à la formule $C_{20}H_{34}O$.

$$C_{20}H_{34}O$$
 (290,272) Calculé C 82,68 H 11,81%
Trouvé ,, 82,67 ,, 11,82%

 $Hydrog\acute{e}nolyse$. 23 gr. d'oxyde; 5 gr. $Pt(O_2)$ Adams; 30 cm³ d'acétate d'éthyle, agités à 60° dans l'hydrogène, en ont absorbé en 370 min. 11 270 cm³ (20° ; 732 mm.), soit 5,63 mol., dont 50% en 48 min., 75% en 70 min., 90% en 120 min.

Le produit de la réaction consistait en 55% de diméthyl-2,6-octane, 21% de dihydro-

citronellol et 20% d'oxyde de dihydro-citronellyle.

La fraction renfermant le diméthyl-2,6-octane avait pour caractères:

$$\begin{array}{c} \text{p. d'éb.} = 48^{\circ}/12 \text{ mm.}; \ d_4^{20} = 0.7287; \ n_{\text{C}}^{20} = 1.40881; \\ n_{\text{D}}^{20} = 1.41090; \ n_{\text{F}}^{20} = 1.41598; \ (n_{\text{F}} - n_{\text{C}}) \times 10^4 = 71.7; \\ \delta = 98.4; \ \text{RM}_{\text{D}} = 48.43 \ \text{(Calculée} = 48.38). \\ \text{C}_{10}\text{H}_{22} \ (142.176) \qquad \text{Calculé C } 84.40 \quad \text{H } 15.60\% \\ \text{Trouvé} \ , \ 84.78 \quad , \ 15.28\% \end{array}$$

et celle de dihydro-citronellol:

$$\begin{array}{l} \text{p. d'\'eb.} = 81 - 82^{o}/2,4 \text{ mm.; } d_4^{20} = 0,8308; \ n_C^{20} = 1,43368; \\ n_D^{20} = 1,43594; \ n_F^{20} = 1,44143; \ (n_F - n_C) \times 10^4 = 77,5; \\ \delta = 93,3; \ \text{RM}_D = 49,77 \ \text{(Calcul\'ee} = 49,90). \\ C_{10} \text{H}_{22} \text{O} \ (158,176) & \text{Calcul\'e C} \ 75,87 \ \text{H} \ 14,02\% \\ & \text{Trouv\'e} \ ,, \ 75,92 \ ,, \ 14,10\% \end{array}$$

Déshydratation par l'hydrogénosulfate de potassium. 30 gr. d'oxyde de géranyle et 5 gr. de réactif, chauffés 2 h. à 150°, ont donné 1,7 gr. d'eau et un mélange à parties sensiblement égales de terpènes et de diterpènes, qui a été distillé sur sodium.

La fraction terpénique avait pour caractères:

Elle s'est enrichie par distillation répétée en produit à insaturations conjuguées (allo-ocimène?):

$$\begin{array}{c} \text{p. d'\'eb.} = 169 - 171^0/732 \text{ mm.; } d_4^{20} = 0,8125; \text{ } n_C^{20} = 1,48960; \\ n_D^{20} = 1,49521; \text{ } n_F^{20} = 1,50881; \text{ } (n_F - n_C) \times 10^4 = 192,1; \text{ } \delta = 236,4; \text{ } \text{RM} \text{ } D = 48,88. \end{array}$$

La fraction diterpénique paraissait être en majorité monocyclique:

$$\begin{array}{l} \text{p. d'\'eb.} = 140-141^{0}/2 \text{ mm.; } d_{4}^{20} = 0,8642; \ n_{\text{C}}^{20} = 1,48723; \\ n_{\text{D}}^{20} = 1,49091; \ n_{\text{F}}^{20} = 1,49980; \ (n_{\text{F}}-n_{\text{C}})\times 10^{4} = 125,7; \\ \delta = 145,4; \ \text{RM}_{\text{D}} = 91,23 \ \text{(Calcul\'ee pour $C_{20}H_{32}$ } \boxed{4} = 90,49). \\ C_{20}H_{32} \ (272,256) \qquad \text{Calcul\'e C $88,15 $H 11,85\%} \\ \text{Trouv\'e }, \ 88,04 \ ,, \ 11,72\% \end{array}$$

Il en a été obtenu un mélange de tétrachlorhydrate et pentachlorhydrate (Cl % = 34,54: Calculé pour $\rm C_{20}H_{36}Cl_4=33,92\%$, pour $\rm C_{20}H_{37}Cl_5=39,00\%$) qui n'a pu jusqu'à présent être cristallisé, et qui se décompose par distillation, même sous 0,07 mm.

Oxyde de citronellyle. 40 gr. d'oxyde de géranyle (néryle); 3,0 gr. de nickel de Raney et 50 cm³ d'alcool agités dans l'hydrogène à 60° ont absorbé 7210 cm³ H₂ (20°; 730 mm.) en 225 min., dont 50% en 60 min., 75% en 115 min. et 90% en 180 min.

Il a été obtenu 2 gr. d'hydrocarbures à bas p. d'éb., environ 3 gr. d'un mélange de citronellol et de dihydro-citronellol et 35 gr. d'oxyde de citronellyle dont les caractères sont rapportés plus haut.

$$\rm C_{20}H_{38}O$$
 (294,304) Calculé C 81,55 H 13,02% Trouvé " 81,43 " 12,87%

 $Oxyde\ de\ dihydro-citronellyle$. 30 gr. d'oxyde de géranyle (néryle); 5,0 gr. $Pt(O_2)\ Adams$ et $100\ cm^3$ de cyclohexane agités à 20° dans l'hydrogène ont absorbé en $180\ min$. $12\ 200\ cm^3$ $H_2(20^{\circ}; 730\ mm.)$, soit $4.24\ mol.$, dont 50% en $74\ min.$, 75% en $112\ min$. et 90% en $132\ min$.

Le produit de la réaction consistait en 3,0 gr. de diméthyl-2,6-octane, environ 4,5 gr. de dihydro-citronellol et 22,0 gr. d'oxyde de dihydro-citronellyle dont les caractères ont été mentionnés précédemment.

 $C_{20}H_{42}O$ (298,336) Calculé C 80,45 H 14,19% Trouvé ,, 80,62 ,, 14,00%

Sesquiterpènes de l'essence. Les fractions constituées d'oxyde de géranyle (néryle) étaient précédées de faibles fractions sesquiterpéniques, engendrées partiellement au cours de l'étude puisque celle-ci n'intéressait que la partie d'essence distillant au dessus de 105%, mm. Elles distillent entre 95% et 116%, mm.

Les produits les plus volatils (45% des sesquiterpènes) possédaient des caractères

apparentés à ceux de l'isocadinène:

$$\begin{array}{c} \text{p. d'\'eb.} = 99 - 100^{0}/2,6 \;\; \text{mm.}; \;\; d_{4}^{20} = 0.9083 \;\; \grave{\text{a}} \;\; 0.9114; \\ \text{n}_{D}^{20} = 1.5013 \;\; \grave{\text{a}} \;\; 1,5019; \;\; \alpha_{D} = +1,50^{0} \;\; \grave{\text{a}} \;\; +10,14^{0}; \\ \text{RM}_{D} \;\; (\text{fraction moyenne}) = 66,20 \;\; (\text{Calcul\'ee pour C}_{15}\text{H}_{24} \;\; |\overline{2}| = 66,14). \\ \text{C}_{15}\text{H}_{24} \;\; (204,192) \qquad \qquad \text{Calcul\'e C} \;\; 88,16 \;\;\; \text{H} \;\; 11,84\% \\ \text{Trouv\'e} \;\; , \;\; 88,27 \;\;\; , \;\; 12,00\% \end{array}$$

La chlorhydratation de la solution éthérée a conduit à une huile incristallisable renfermant Cl %=25,08 (calculé pour $C_{15}H_{26}Cl_2=25,59$).

A ces produits ont succédé des fractions partiellement monocycliques (28% des

sesquiterpènes):

Il n'a pas été possible d'en obtenir de chlorhydrate ni de bromhydrate défini. Enfin une dernière fraction possédait la composition d'un tétrahydro-sesquiterpène monocyclique et pouvait résulter de l'action du sodium au cours de l'étude.

$$\begin{array}{c} \text{p. d'éb.} = 115-116^{0}/3,3 \ \text{mm.;} \ d_{4}^{20} = 0,8406; \ n_{C}^{20} = 1,46616; \\ n_{D}^{20} = 1,46900; \ n_{F}^{20} = 1,47596; \ (n_{F}-n_{C})\times 10^{4} = 98,0; \ \delta = 116,6; \\ \alpha_{D} = -0,28^{\circ}; \ \text{RM}_{D} = 68,98 \ \text{(Calcul\'ee pour C_{15}H$_{28} $|\overline{1}$= 68,80).} \\ C_{15}\text{H}_{28} \ (208,224) \qquad \text{Calcul\'e C= 86,45 $|H$= 13,55\%} \\ \text{Trouv\'e} \ \ , \ 86,41 \ \ , \ 13,60\% \end{array}$$

RÉSUMÉ.

La fraction sesquiterpénique de l'essence de petit-grain bigaradier renferme en faibles proportions du d-nérolidol et du farnésol accompagnés par des proportions majeures d'autres alcools sesquiterpéniques $\rm C_{15}H_{26}O$ tertiaires (dont un alcool vraisemblablement tricyclique donnant du gaïazulène et un alcool monocyclique pouvant être un bisabolol) et par des alcools $\rm C_{15}H_{24}O$ secondaires bicycliques appartenant au groupe des dérivés du cadalène.

L'essence, et en plus fortes proportions l'essence saponifiée, renferment de l'oxyde de géranyle (néryle) qui pourrait provenir de réactions résultant des traitements auxquels ont été soumis la feuille de l'oranger et l'essence. L'oxyde de géranyle a été hydrogéné en oxyde de citronellyle et en oxyde de dihydro-citronellyle, jusqu'à présent inédits.

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

128. Statistische und energieelastische Rückstellkraft bei stark auf Dehnung beanspruchten Fadenmolekeln

von Werner Kuhn und Hans Kuhn.

(13. VI. 46)

1. Einleitung.

Suspendieren wir eine aus Z monomeren Resten aufgebaute Fadenmolekel in einem Lösungsmittel, so wird sie meistens die Gestalt eines lose gebauten Knäuels annehmen. Dies wird besonders dann der Fall sein, wenn die Molekel des Lösungsmittels den Bausteinen, aus welchen die Fadenmolekel aufgebaut ist, chemisch ähnlich sind. In diesem Falle (fehlende Assoziation des Fadens in sich selbst) können wir bekanntlich die Gestalt, welche die Fadenmolekel in der Lösung annimmt, durch statistische Betrachtungen bestimmen.

Zu diesem Zwecke denken wir uns den aus Z monomeren Resten aufgebauten Gesamtfaden in $\mathbb{Z}/s=\mathbb{N}$ statistische Fadenelemente von der mittleren Länge A eingeteilt. Dabei hängt A von der in gewissen Grenzen willkürlichen Wahl von s ab. Durch passende Wahl von s, d. h. indem wir s gleich einem Vorzugswert s_m setzen, können wir erreichen, dass der zu s_m gehörige Wert von A, den wir als Vorzugswert A_m bezeichnen, so gross wird, dass

$$\frac{Z}{s_{m}} \cdot A_{m} = N_{m} A_{m} = L \tag{1}$$

wird. Hierbei ist L die Länge des ohne Valenzwinkelbeanspruchung und ohne Änderung der normalen Atomabstände gestreckten Fadens.

Wir haben diese Länge L als die hydrodynamische Länge der Fadenmolekel bezeichnet, weil sie für das hydrodynamische Verhalten des durchspülten Fadenknäuels von Wichtigkeit ist.

Es ist für das Folgende günstig, bei der Einteilung des Fadens in statistische Fadenelemente die Einteilung in die

$$N_{m} = \frac{Z}{s_{m}} \tag{2}$$

Vorzugselemente zugrunde zu legen.

Die Parameter s_m und A_m sind in einer polymer-homologen Reihe konstante Grössen, welche sich beispielsweise aus der Viskosität oder der Strömungsdoppelbrechung der Lösungen bestimmen lassen. Auf Grund solcher Beobachtungen ergibt sich beispielsweise für Lösungen von Paraffinkohlenwasserstoffen in Benzol: $s_m=11$, $A_m=14\times 10^{-8}$ em.

Die Wahrscheinlichkeit dafür, dass der Anfangspunkt einer aus N_m statistischen Fadenelementen bestehenden Molekel vom Endpunkt um einen zwischen h und h+dh liegenden Betrag entfernt liegt, ergibt sich durch die statistische Betrachtung¹) in erster Nähetung zu:

W (h) dh = $\left(\frac{3}{2\pi N_{\rm m} A_{\rm m}^2}\right)^{\frac{3}{2}} 4\pi e^{-\frac{3h^2}{2N_{\rm m} A_{\rm m}^2}} \cdot h^2 dh$ (3)

bzw. im Anschluss an eine von W. Kuhn und F. $Gr\ddot{u}n$ durchgeführte statistische Betrachtung²) in höherer Näherung zu³) ⁴)

$$-\frac{1}{A_{m}}\int_{0}^{h} \beta dh$$

$$W(h) dh = Be$$
• h² dh (4)

oder auch

$$W(h) dh = B \left(\frac{\sin \beta}{\beta}\right)^{N_m} e^{-\frac{\beta h}{A_m}} \cdot h^2 dh$$
 (5)

wo B eine Konstante und

$$\beta = \mathfrak{L}^* \left(\frac{\mathbf{h}}{\mathbf{N}_m \mathbf{A}_m} \right) \tag{6}$$

die inverse Langevin'sche Funktion des Argumentes h/NmAm ist.

Unter Benützung der Reihenentwicklung

$$\beta = 3 \; \frac{h}{N_m \, A_m} + \frac{9}{5} \left(\frac{h}{N_m \, A_m}\right)^3 + \frac{297}{175} \left(\frac{h}{N_m \, A_m}\right)^5 + \frac{1539}{875} \left(\frac{h}{N_m \, A_m}\right)^7 + \cdots \tag{7}$$

kann auch geschrieben werden

$$W (h) dh = Be^{-\frac{3}{2} \frac{h^2}{N_m A_m^2} - N_m \left\{ \frac{9}{20} \left(\frac{h}{N_m A_m} \right)^4 + \frac{99}{350} \left(\frac{h}{N_m A_m} \right)^6 - \frac{1539}{7000} \left(\frac{h}{N_m A_m} \right)^8 + \cdots \right\} \frac{(8)}{h^2 dh}}$$

Es sei sogleich erwähnt, dass

$$\beta = \mathfrak{Q}^* \left(\frac{h}{N_m A_m} \right)$$

für

$$\frac{h}{N_m A_m} = 1$$

d. h. gemäss Gleichung (1) für

$$h = L$$

unendlich gross wird. Es hat dies zur Folge, dass W(h) für $h \ge L$ auf Grund der genauen Verteilungsfunktion (4) verschwindet.

2) W. Kuhn und F. Grün, Koll. Z. 101, 248 (1942).

3) W. Kuhn und H. Kuhn, Helv. 26, 1394 (1943); W. Kuhn, Exper. 1, 6 (1945),

vgl. auch J. J. Hermans, Koll. Z. 103, 210 (1943).

¹⁾ W. Kuhn, Koll. Z. 68, 2 (1934).

⁴) Kürzlich ist von L. R.G. Treloar (Trans. Farad. Soc. **42**, 77 (1946)) ein Ausdruck für die Verteilungsfunktion W (h) dh angegeben worden, welcher fast genau denselben Verlauf zeigt wie die von uns zeitlich früher erhaltene Beziehung (4). Der von Treloar angegebene Ausdruck ist jedoch bedeutend komplizierter und daher mühsamer auszuwerten und stellt daher gegenüber Gl. (4) keine besondere Verbesserung dar.

D. h.: Werte des Abstandes h, welche grösser sind als die Länge der ohne Valenzbeanspruchung gestreckten Kette, kommen nach Gl. (4) oder (5) nicht vor.

Es zeigt sich hierin die Überlegenheit der Verteilungsfunktion (4) gegenüber der Näherung (3). [Gemäss (3) ergibt sich nämlich eine endliche Wahrscheinlichkeit für etwas (bei Voraussetzung starrer Fadenelemente) Unmögliches, nämlich dafür, dass der Abstand hzwischen Fadenanfangs- und -endpunkt grösser als die Länge des linear ausgestreckten Fadens wird.]

Auf Grund des Boltzmann'schen Prinzips einerseits, der Wahrscheinlichkeitsfunktion (3) bzw. (4) anderseits können wir einer einzelnen Fadenmolekel, deren Enden in einem Abstand h voneinander festgehalten werden, eine von h abhängige Entropie zuordnen. So wird auf Grund von (3) die Entropie S einer Fadenmolekel, deren Anfangspunkt im Nullpunkt eines x,y,z-Koordinatensystems festgehalten wird, während der Endpunkt in ein Volumenelement fällt, welches vom Anfangspunkt um einen Betrag h entfernt liegt, gleich

$$S = -\frac{3}{2} k \frac{h^2}{N_m A_m^2}$$
 (9)

Dabei ist k die Boltzmann'sche Konstante. Entsprechend wird auf Grund der genaueren Verteilungsfunktion (4)

$$S(h) = -\frac{k}{A_{m}} \int_{0}^{h} \beta \, dh \tag{10}$$

Da gemäss den zugrunde gelegten Voraussetzungen eine Assoziation des Fadens in sich selbst nicht stattfindet und da bei den Konstellationen, deren Wahrscheinlichkeit durch Gleichung (3) oder (4) angegeben wird, keine Deformation von Valenzwinkeln oder Atomabständen vorliegt, besitzen alle miteinander verglichenen Zustände dieselbe Energie, d. h. es ist die Gesamtenergie U vom Parameter h unabhängig.

Auf Grund der allgemeinen Beziehung

$$F = U - TS \tag{11}$$

können wir daher von der Entropie S zur freien Energie F übergehen.

Es wird in erster Näherung (auf Grund von (9)):

$$F = \frac{3}{2} k T \frac{h^2}{N_m A_m}$$
 (12)

und in höherer Näherung auf Grund von (10)

$$F = \frac{kT}{A_m} \int_{\delta}^{h} \beta dh$$
 (13)

Durch die Beziehung

$$\Re = -\frac{\partial \mathbf{F}}{\partial \mathbf{h}}$$
(14)

ist die freie Energie ihrerseits mit der statistischen Rückstellkraft \Re verknüpft, d. h. mit der Kraft, welche wir auf die im Abstande h voneinander festgehaltenen Fadenenden ausüben müssen, damit dem thermischen Bestreben, in eine wahrscheinlichere Konstellation überzugehen, das Gleichgewicht gehalten wird.

Für die statistische Rückstellkraft einer Fadenmolekel, welche aus N_m starren statistischen Fadenelementen von der Länge A_m besteht und deren Enden im Abstande h voneinander festgehalten werden, erhalten wir also in erster Näherung aus (12):

$$\Re = -3 kT \frac{h}{N_m A_m^2}$$
(15)

und in höherer Näherung aus (13)

$$\Re = -\frac{kT}{A_m} \beta \left(\frac{h}{N_m A_m} \right)$$
(16)

Einsetzen der Reihenentwicklung (7) für die Funktion β (h/N_mA_m) in (16) lässt sofort erkennen, dass die Rückstellkraft (15) das erste Glied der in Reihe entwickelten Funktion (16) ist, dass somit (16) für kleine Werte von h/N_mA_m mit der ersten Näherung (15) identisch wird.

a) Qualitatives über das Ansteigen der Wahrscheinlichkeitselastizität bei hohen Dehnungsgraden.

Die vorstehenden Ausdrücke für die Verteilungsfunktion, die Entropie und die Rückstellkraft des Einzelfadens sind, wie aus der angegebenen Literatur ersichtlich ist, seit einiger Zeit bekannt. Der Verlauf der bei erheblichen Werten von $N_m A_m$ zu erwartenden Rückstellkraft ist l. c. auch graphisch dargestellt worden. Siehe auch die nachfolgende Fig. 2a. Es wurde auch (l. c.) hervorgehoben, dass die statistische Rückstellkraft für $h=N_m A_m,\,d.\,h.$ für den vollständig gestreckten, aber nicht auf Energieelastizität beanspruchten Faden unendlich gross wird.

Indem wir hieran anknüpfen, stellen wir fest, dass es dem aus starren Fadenelementen bestehenden Molekelfaden aus statistischen Gründen unmöglich sein wird, eine völlige Strekkung des Fadens zu erzielen, indem, bevor völlige Streckung erreicht ist, die Rückstellkraft sehr gross wird. Die punktierte Kurve in Fig. 2a zeigt den Anstieg im letzten Teil der Kurve zwischen $N_m A_m = 0.94$ bis 1.00. Man sieht, dass der starke Anstieg der Rückstellkraft im allerletzten Teil, ganz kurz vor, aber doch vor Erreichung des völlig gestreckten Zustandes eintritt.

Es ist klar, dass das besonders in der Nähe von h/N_mA_m starke Ansteigen der statistischen Rückstellkraft beim Dehnen von elastisch festem Kautschuk einen grossen Einfluss auf das praktische Verhalten kautschukelastischer Substanzen haben muss. Bei starker Dehnung wird die Rückstellkraft den bei Zugrundelegung der Näherung (15) erwarteten Betrag wesentlich übersteigen.

b) Qualitatives über das Hinzutreten einer Energieelastizität bei hohen Dehnungsgraden.

Wenn wir uns, was in einer nächsten Arbeit geschehen soll, mit der bei starker Dehnung auftretenden Rückstellkraft des Kautschuks befassen wollen, so wird es aber notwendig sein, ausser der Berücksichtigung der höheren Näherung (16) für die statistische Rückstellkraft eine weitere, in den vorigen Betrachtungen gemachte vereinfachende Voraussetzung fallen zu lassen, nämlich die Voraussetzung, dass die statistischen Vorzugselemente starre, nicht deformierbare Gebilde von fest gegebener Länge Am seien. Wenn die Kraft, welche in Richtung des Vektors h auf den Molekelfaden wirkt, für den fast gestreckten Faden unendlich gross wird, so wird es nicht mehr gestattet sein, die Valenzwinkel sowie die Abstände benachbarter Atome als weiterhin unveränderlich anzusehen. Es wird, sobald die den Faden dehnende Kraft erheblich wird, eine Deformation der Valenzwinkel und der Atomabstände zu berücksichtigen sein. Da die Deformation der Valenzwinkel und der Atomabstände mit Energieänderungen verbunden ist, wird sich bei Anwendung starker dehnender Kräfte eine Abhängigkeit der potentiellen Energie der Molekel vom Abstande h einstellen. U in Gleichung (11) wird dann nicht mehr gleich Null sein. Wir haben das Auftreten einer Energieelastizität neben der bisher betrachteten Wahrscheinlichkeitselastizität zu erwarten.

Als weiteres wird die Existenz einer Reissfestigkeit der einzelnen Molekelfäden bei starker Dehnung zu berücksichtigen sein.

2) Energieelastizität einer zu einer geraden Zickzackkette ausgerichteten Fadenmolekel.

Wir betrachten jetzt die Änderung der Gesamtlänge L, die an der einzelnen Fadenmolekel infolge der Deformierbarkeit der Valenzwinkel und Atomabstände bei Anwendung grosser dehnender Kräfte hervorgebracht wird. Eine solche Änderung tritt, wie wir vorwegnehmen, praktisch genommen nur unter Wirkung grosser Kräfte auf, d. h. unter Bedingungen, bei denen die Entknäuelung des Fadens fast vollständig ist. Wir brauchen uns daher nur für die Längenänderungen zu interessieren, welche an einer praktisch gestreckten Zickzackkette infolge Änderungen der Valenzwinkel und der Atomabstände hervorgerufen werden.

Wenn die Kette aus Z monomeren Resten besteht, jeder monomere Rest (in der Kettenrichtung gezählt) aus j Gliedern aufgebaut ist und wenn jedes dieser Glieder die Länge l besitzt und mit dem

nachfolgenden einen Valenzwinkel vom Betrage $180 - \beta$ einschliesst, so ist die hydrodynamische Länge des Fadens gleich

$$L = Z j l \cos \frac{\beta}{2} \tag{17}$$

Halten wir das eine Fadenende fest und lassen auf das andere eine Kraft A in der Richtung der Fadenachse wirken, so erhalten wir Längenänderungen AL erstens infolge Verzerrung der Valenzwinkel, zweitens infolge Änderung der Atomabstände 1.

a) Verzerrung der Valenzwinkel: Auf jede Zacke der

Zickzackkurve wirkt ein Drehmoment von der Grösse

$$\mathfrak{M} = \frac{1}{2} \, \mathbf{1} \, \, \mathfrak{R} \, \sin \frac{\beta}{2} \tag{18}$$

(s. Fig. 1). Messen wir den Widerstand, den das einzelne Kettenglied einer Veränderung des Valenzwinkels entgegensetzt, durch Angabe des Momentes y, welches notwendig wäre, um eine Änderung des Valenzwinkels um einen Betrag $\Delta \beta = 1$ hervorzubringen, in Formeln: (19)

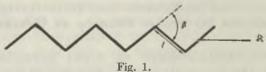
$$\mathfrak{M} = \mathbf{y} \cdot \Delta \boldsymbol{\beta}$$

so haben wir offenbar durch Gleichsetzen von (18) und (19):

$$A\beta = \frac{1\,\Re}{2\,\mathrm{y}}\sin\frac{\beta}{2}$$

Auf Grund von (17) ist mit dieser Änderung des Valenzwinkels β eine Längenänderung des Fadens verknüpft vom Betrage

$$(\Delta \mathbf{L})_{\beta} = \mathbf{Z} \,\mathbf{j} \,\frac{1^2 \,\Re}{4 \,\mathbf{v}} \,\sin^2\frac{\beta}{2} \tag{20}$$



b) Änderung der Atomabstände: Die in Richtung der Atomverbindungslinien wirkende Komponente der dehnenden Kraft ist gleich $\Re \cdot \cos \beta/2$. Messen wir den Widerstand, den das einzelne Kettenglied einer Änderung seiner Länge I entgegensetzt durch Angabe der Kraft u, welche notwendig wäre, um eine Längenänderung Al vom Betrage eins hervorzubringen; in Formeln

$$\mathfrak{R} = \ddot{\mathbf{u}} \Delta \mathbf{l} \tag{21}$$

so wird in unserm Falle

$$\Delta l = \frac{\Re}{\bar{u}} \cos \frac{\beta}{2}$$

Auf Grund von (17) bedeutet dies, dass die Deformierbarkeit der Atomabstände eine Längenänderung

$$(\Delta L)_{ij} = Z j \frac{\Re}{n} \cos^2 \frac{\beta}{2}$$
 (20a)

zur Folge hat.

Die gesamte durch die Kraft & herbeigeführte Längenänderung ist die Summe von (20) und (20a), also:

 $\Delta \mathbf{L} = \mathbf{Z} \, \mathbf{j} \, \Re \left[\frac{1^2}{4 \, \mathbf{y}} \sin^2 \frac{\beta}{2} + \frac{1}{\ddot{\mathbf{u}}} \cos^2 \frac{\beta}{2} \right]$

oder

$$\Re = \frac{\Delta L}{L} \frac{1\cos\frac{\beta}{2}}{\frac{1^2}{4y}\sin^2\frac{\beta}{2} + \frac{1}{\bar{u}}\cos^2\frac{\beta}{2}} = \frac{L' - L}{L} \frac{4y}{1} \frac{\cos\frac{\beta}{2}}{\sin^2\frac{\beta}{2} + \frac{4y}{\bar{u}}\ln^2\cos^2\frac{\beta}{2}}$$
(22)

c) Zahlenwerte der Konstanten l, ü, y und a [Gleichung (25)]: Für Paraffinkohlenwasserstoffe ist l (C—C-Bindungsabstand) gleich $1,45\times 10^{-8}$ cm; $180-\beta=109^{\circ}$; aus optischen Messungen folgt für die Konstante ü von Gleichung (21) der C—C-Bindung ¹): ü = 4×10^{5} g sec⁻².

Eine Bestimmung des Proportionalitätsfaktors y von Gleichung (19) [Mass des Widerstands der Molekel gegen eine Veränderung des Valenzwinkels] erhalten wir durch

die folgende Überlegung:

Die Verbrennungswärme für strukturisomere aliphatische Kohlenwasserstoffe ist praktisch für alle Isomeren dieselbe; sie steigt bei Einfügung einer CH2-Gruppe (Fortschreiten um ein Glied in der polymer-homologen Reihe) stets um nahezu denselben Betrag, nämlich um etwa 156 bis 158 Kcal pro Mol an. Bei den drei-, vier- und fünfgliedrigen Ringkohlenwasserstoffen, bei welchen der Valenzwinkel vom normalen Wert (109°) abweicht, wird indessen eine Erhöhung der Verbrennungswärme beobachtet gegenüber dem Wert, den man auf Grund der Anzahl der in der Molekel enthaltenen CH2-Gruppen erwarten würde. Man überlegt sich, dass der Valenzwinkel bei 3-gliedrigen Ringen 60°, bei 4-gliedrigen 90°, bei 5-gliedrigen 108° (anstatt 109°) beträgt. Anderseits folgt aus den Verbrennungswärmen, dass die Verbrennungswärmen pro CH2-Gruppe bei Cyclopropan 168,5 Kcal, bei Cyclobutan 165,5 und bei Cyclopentan 159 Kcal beträgt²). Gemäss der Spannungstheorie nimmt man an, dass der erhöhte Energieinhalt der Ringe wie Cyclopropan und Cyclobutan nichts anderes als die zur Deformation der Valenzwinkel aufgewendete Energie ist. Im Beispiel des Cyclobutans wäre demnach die Energie, welche notwendig ist, um den Valenzwinkel zwischen zwei benachbarten C-C-Bindungen vom Normalwert 109° auf den Wert 90° zu bringen, gleich 165,5-158=7,5 Kcal pro Mol oder 5,2×10⁻¹³ Erg pro Einzelteilchen. Auf Grund der Definition (19) ist jedoch die Energie, welche notwendig ist, um $\Delta \beta$ vom Betrage Null auf den Wert ω zu bringen, gleich

$$\mathbf{E} = \int_{0}^{\omega} \mathbf{y} \cdot \mathbf{d} \left(\Delta \beta \right) = \frac{\mathbf{y}}{2} \cdot \omega^{2}$$
 (23)

Nach dem Obengesagten wäre bei Butan $\omega=19^{\rm 0}$ [nämlich $109^{\rm 0}-90^{\rm 0}$], im Bogenmass: $\omega=19\cdot 2\pi/360$, zu setzen und $E=5.2\times 10^{-13}$. Wir erhalten dann (für aliphatische Kohlenwasserstoffe auf Grund der Verbrennungswärme von Cyclobutan)

$$y = 0.9 \times 10^{-11} \text{ Erg}$$

Fast derselbe Zahlenwert ergibt sich aus Beobachtungen über den Raman-Effekt von n-Propan³). Auf Grund des Zahlenwertes 0.35×10^5 Dyn/cm für die Deformationskonstante der C—C-Bindung (aus der Frequenz der Deformationsschwingung) ergibt sich nämlich ein Wert $y=0.72 \times 10^{-11}$.

¹) H. A. Stuart, Molekülstruktur, Berlin 1934, S. 345; R. Mecke, Leipziger Vorträge 1931, S. 23; M. Wehrli, Helv. phys. acta 14, 516 (1941).

²) Siehe z. B. W. Hückel, Theoretische Grundlagen der organ. Chem., Bd. I, S. 56, Leipzig 1931.

3) Siehe F. W. Kohlrausch, Der Smekal-Raman-Effekt, Ergänzungsband, Berlin 1938.

Zur Abkürzung schreiben wir noch an Stelle von (22):

$$\Re = a \frac{L' - L}{L} \tag{24}$$

wobei die Konstante a ein Mass für die energieelastische Härte der gestreckten Zickzackkette ist. Wegen (22) ist offenbar

$$a = \frac{4y}{1} \frac{\cos \frac{\beta}{2}}{\sin^2 \frac{\beta}{2} + \frac{4y}{\|1\|^2} \cos^2 \frac{\beta}{2}}$$
(25)

Für aliphatische Kohlenwasserstoffe wäre der Zahlenwert der Konstante a auf Grund des soeben Gesagten gleich

$$a = 2.5 \times 10^{-3} \text{ Dyn}$$
 (26)

Durch (24) und (25) zusammen ist die energieelastische Deformation, welche eine zunächst zu einer geraden Zickzackkette ausgerichtete Fadenmolekel unter Wirkung einer Kraft $\mathcal R$ erfährt, in erster Näherung festgelegt. Selbstverständlich werden bei starker Dehnung Abweichungen des Dehnungsgrades (L'—L)/L von der gemäss (24) erwarteten Proportionalität mit $\mathcal R$ eintreten. Mit diesen Abweichungen wollen wir uns hier nicht befassen; dagegen sei kurz auf die Frage nach der Reissfestigkeit der einzelnen Fadenmolekel eingegangen.

3. Reissfestigkeit der einzelnen Fadenmolekel.

Man wird für das erste den Ansatz machen, dass eine auf Dehnung in der Fadenrichtung beanspruchte Fadenmolekel dann zerreisst, wenn die Kraft einen gewissen kritischen Wert \Re_{\max} überschreitet. Die bei Erreichung der Zerreissgrenze vorliegende Fadenlänge wollen wir mit L_{\max} bezeichnen. Wir werden dafür setzen können:

 $L_{\text{max}} = L (1 + \varepsilon) \tag{27}$

a) Abschätzung einer oberen Grenze für \Re_{max} und L_{max} .

Eine obere Grenze für die Zerreissfestigkeit und die dabei erreichte Dehnung $[L_{max}-L]=L\cdot\varepsilon$ erhalten wir durch folgende Überschlagsrechnung:

Betrachten wir zwei in der Kette benachbarte C-Atome und vergrössern wir den Abstand derselben, ausgehend von der Lage minimaler potentieller Energie, um einen Betrag x, so ist hierfür in erster Näherung die Kraft (21), in höherer Näherung die Kraft

$$\mathfrak{R} = -\ddot{\mathbf{u}}\,\mathbf{x} + \mathbf{b_1}\,\mathbf{x}^2\tag{28}$$

notwendig.

Eine Abschätzung für b_1 können wir erhalten, indem wir bemerken, dass die Kraft (28) für $x=\ddot{u}/b_1$ verschwindet, so dass wir annähernd

$$\int_{0}^{\ddot{u}/b_{1}} \Re \, dx = \int_{0}^{\ddot{u}/b_{1}} (-\ddot{u} x + b_{1} x^{2}) \, dx = U$$
 (28a)

gleich der aus kalorimetrischen Daten zugänglichen Bindungsenergie U der C—C-Bindung setzen können. U ist bekanntlich gleich 71000 cal/Mol oder 4.9×10^{-12} erg/Molekel.

Die Auswertung von (28a) gibt

$$U = \frac{1}{6} \frac{\ddot{u}^3}{b_1^2} \tag{28b}$$

so dass wir durch Einsetzen der Zahlenwerte erhalten

$$b_1 = \sqrt{\frac{\vec{u}^3}{4.9 \cdot 10^{-12} \cdot 6}} = 0.7 \times 10^{14} \tag{28c}$$

(28) geht also für den Fall von aliphatischen C-C-Bindungen über in

$$\Re = -4 \times 10^5 \text{ x} + 0.7 \times 10^{14} \text{ x}^2 \tag{28d}$$

Durch Differenzieren und Nullsetzen erhalten wir als Wert von x, für welchen die elastische Rückstellkraft ein Maximum besitzt, d. h. für den Wert der Abstandsänderung x, der an der Bindung vorliegt, wenn gerade die zum Zerreissen notwendige Kraft R_{max} angewendet wird: $-4 \times 10^5 + 1,4 \times 10^{14} \, x_{\text{max}} = 0$; $x_{\text{max}} = 3 \times 10^{-9} \, \text{cm}$. Der maximale Abstand zweier in der Kette benachbarter C-Atome wird entsprechend gleich $l_{\text{max}} = l + x_{\text{max}} = 1,45 \times 10^{-8} + 0,3 \times 10^{-8} = 1,75 \times 10^{-8} \, \text{cm}$. Für R_{max} selbst erhalten wird durch Einsetzen von x_{max} in (28 d):

$$\Re_{\rm max} = 5.7 \times 10^{-4} \ {\rm Dyn}$$
 (28e)

Soll auf die einzelne C—C-Bindung der deformierten gestreckten Zickzackkette die Kraft (28e) wirken und ist $\beta_{\rm max}$ die am Zerreisspunkte vorliegende Abweichung des Valenzwinkels von 180°, so werden wir zur Bestimmung der Kraft \Re , welche in Richtung der Achse der Zickzackkette wirken muss, haben:

$$\Re\cos\frac{\beta_{\max}}{2} = \Re_{\max} = 5.7 \times 10^{-4} \text{ Dyn}; \quad \Re = \frac{5.7 \times 10^{-4}}{\cos\frac{\beta_{\max}}{2}}$$

und

$${\rm R} \cdot \frac{1}{2} \, {\rm l_{max}} \sin \frac{\beta_{\rm max}}{2} = {\rm y} \, (71 \, - \, \beta_{\rm max}) \, \frac{2 \, \pi}{360} = \frac{1}{2} \, {\rm l_{max}} \frac{\sin \frac{\beta_{\rm max}}{2}}{\cos \frac{\beta_{\rm max}}{2}} \, 5.7 \times 10^{-4} \, {\rm s} \, \frac{1}{2} \, {\rm l_{max}} \, \frac{1}{2} \, {\rm l_{max}} \, \frac{\beta_{\rm max}}{2} \, {\rm l_{max}} \, \frac{1}{2} \, {\rm l_{max}} \, \frac{$$

Auf Grund dieser Zahlenwerte wird

$$\frac{\mathrm{L'-L}}{\mathrm{L}} = 0.3 \tag{28f}$$

oder

$$\varepsilon$$
 [Gleichung (27)] = 0,3 (28g)

Dies heisst:

Unter den beschriebenen Annahmen kann die Fadenmolekel auf den ungefähr 1,3 fachen Betrag der Länge der ohne Valenzbeanspruchung gestreckten Zickzackkette gedehnt werden, bevor ein Zerreissen eintritt.

b) Herabsetzung der Reissfestigkeit durch chemische Reaktion der entstehenden radikalartigen Molekelbruchstücke mit dem Einbettungsmedium.

Es wurde aber schon bemerkt, dass dies einen oberen Grenzwert sowohl für die Zerreissfestigkeit als auch für die Bruchdehnung darstellt. Tatsächlich müssten, wenn diese Zahlen Gültigkeit haben sollten, beim Zerreissen der Kette Radikale entstehen, was in Wirklichkeit kaum, auch nur vorübergehend, der Fall ist. Es tritt sofort, schon in der Phase des Zerreissens, eine Absättigung der nicht beanspruchten Valenzen durch Bildung von neuen, Doppelbindungen enthaltenden Verbindungen usw. ein. Der Zerreissvorgang der in eine Flüssigkeit eingebetteten Fadenmolekel ist also ein gemischter mechanischer und chemischer Vorgang. Die Zerreissfestigkeit und die Zerreissdehnung wird durch die Möglichkeit gleichzeitiger Reaktion mit dem Einbettungsmedium herabgesetzt.

Tatsächlich zeigen verschiedene Beobachtungen, wie die Möglichkeit eines Zerreissens von Fadenmolekeln durch Ultraschall¹) oder durch Einbringen in Flüssigkeiten, in welchen ein starkes Strömungsgefälle aufrecht erhalten wird²), sowie die thermische Spaltung von Paraffinkohlenwasserstoffen³) (Kracken), dass ein Zerfall von Fadenmolekeln schon durch wesentlich geringere als die Kraft (28e) möglich ist.

Wir würden hiernach das Zerreissen einer in eine Flüssigkeit oder in das elastisch feste Medium selber eingebetteten Fadenmolekel am ehesten mit dem Vorgange des Krackens vergleichen, wobei in der elastisch beanspruchten Molekel ein Teil der zum Kracken der Bindung notwendigen Energie durch die energieelastische Verzerrung (anstatt durch thermische Einwirkung) aufgebracht wird.

Um genau zu sein, würden wir der Molekel bei einer gegebenen Temperatur nicht mehr eine bestimmte Bindungsfestigkeit zuerkennen, unterhalb deren die Molekel stabil, oberhalb deren sie unstabil wird; wir würden vielmehr der Molekel bei jedem Strekkungsgrad ε eine gewisse mit ε rasch anwachsende Zerfallswahrscheinlichkeit bzw. eine entsprechende mittlere Lebensdauer zuschreiben.

Trotzdem es hiernach besser wäre, der Fadenmolekel eine vom Spannungszustand abhängige mittlere Lebensdauer zuzuordnen, wird man in vielen Fällen von einer durch Gleichung (27) definierten Maximallänge, auf die der Faden gedehnt werden kann, sprechen.

In Wirklichkeit wäre L_{max} von der Versuchsdauer abhängig. Es wäre L_{max} die Länge, auf die der Faden bei der in Frage stehenden Versuchsdauer gedehnt werden kann, ohne dass eine einige Prozent übersteigende Zerfallswahrscheinlichkeit auftritt.

Diese Dehnbarkeitsgrenze liegt, wie sich bei der späteren Anwendung zeigen wird, praktisch weit unterhalb (28f) oder (g) bei etwa $\varepsilon = 0,1$. Entsprechend liegt dann auch \Re_{\max} weit unterhalb des Betrages (28e). Infolgedessen dürfen wir bei allen Beanspruchungen,

¹⁾ G. Schmidt und E. Beutenmüller, Z. El. Ch. 49, 333 (1943).

²⁾ H. Staudinger und Heuer, B. 67, 1159 (1934).

³) Untersuchungen hierüber für den speziellen Fall des Kautschuks siehe z. B. J. L. Bolland und W. J. C. Orr, I. R. I. Transactions 21, No. 2,133 (1945).

welche vom Faden praktisch genommen ausgehalten werden, die Proportionalität (24) als gültig ansehen. In diesem Falle wird wegen (27) und (24):

$$\Re_{\max} = \frac{\mathbf{L}_{\max} - \mathbf{L}}{\mathbf{L}} \mathbf{a} = \varepsilon \cdot \mathbf{a} \tag{29}$$

Die potentielle Energie $E_{\rm pot,\ max}$, welche auf den Faden übertragen wird, wenn derselbe aus dem dehnungsfreien gestreckten Zustand bis zur Zerreissgrenze gedehnt wird, beträgt unter derselben Annahme auf Grund von (24)

$$E_{\text{pot, max}} = \int_{\Delta L=0}^{eL} \frac{d}{L} d(\Delta L) = \frac{a}{2} L e^{2}$$
(30)

bzw., wenn nur bis 1L gedehnt wird:

$$\mathbf{E}_{\text{pot}} = \frac{\hbar}{2L} (\Delta \mathbf{L})^2 \tag{31}$$

Diese Beziehungen werden für das Folgende insofern von Interesse sein, als sie die Grenze der Kraft & angeben, bis zu der es einen Sinn hat, das Zusammenwirken von elastischer und statistischer Rückstellkraft zu verfolgen.

4. Überlagerung von energieelastischer und statistischer Rückstellkraft am Einzelfaden.

Nachdem wir die tatsächlichen Werte der Stoffkonstanten für das Beispiel der Paraffinkohlenwasserstoffe besprochen haben, bringen wir den Nachweis für einige Feststellungen, die wir zunächst vorweggenommen hatten. Sie beziehen sich auf den Betrag der Dehnungskraft, welche auf den Faden wirken muss, um eine energieelastische Dehnung einerseits, eine praktisch völlige Entknäuelung anderseits hervorzubringen. Daraus, dass a $= 2.5 \times 10^{-3}$ ist [Gleichung (26)], ergibt sich erstens nach (24), dass eine Kraft von 2.5×10^{-5} Dyn notwendig ist, um die gestreckte Zickzackkette um 1% energieelastisch zu dehnen.

Zweitens ist das mittlere Abstandsquadrat h^2 zwischen Anfangs- und Endpunkt der beispielsweise in Chloroformlösung sich selbst überlassenen Molekel gleich

$$\overline{h}^z = N_m A_m^z = \frac{L^z}{N_m} \tag{32}$$

oder

$$\sqrt{\overline{h}^2} = \frac{L}{\sqrt{N_m}}$$

Für $N_m=100$ ist also $\sqrt{h^2}$ 10mal kleiner als die Länge L der gestreckten Zickzackkette. Lassen wir auf die Endpunkte eine Kraft \Re wirken, so erhalten die Fadenenden anstatt (32) einen Abstand, der sich durch Auflösung von (16) nach h bestimmen lässt. Setzen wir

 $\Re = 2.5 \times 10^{-5}$ Dyn, $T = 300^{\circ}$ abs und $A_{\rm m}$ (aus Messungen der Strömungsdoppelbrechung und der Viskosität in Chloroformlösung) gleich 16×10^{-8} cm, so ergibt sich aus (16)

$$\beta \left(\frac{h}{N_{\rm m} A_{\rm m}} \right) = \frac{2.5 \times 10^{-5} \cdot 1.6 \times 10^{-7}}{1.37 \times 10^{-16} \cdot 3 \times 10^{2}} = 0.97 \times 10^{3}$$
 (33)

 β ist dabei nach (6) die inverse *Langevin*'sche Funktion des Argumentes h/N_mA_m . Die Funktion wird unendlich für $h/N_mA_m=1$. Die Reihenentwicklung in der Nähe des Wertes $h/N_mA_m=1$ lautet

$$\beta\left(\frac{h}{N_{\rm m}A_{\rm m}}\right) = \frac{1}{1 - \frac{h}{N_{\rm m}A_{\rm m}}} \tag{33a}$$

Setzen wir dies in (33) ein, so wird

$$1 - \frac{h}{N_{m}A_{m}} = \frac{1}{0.97 \cdot 10^{2}}$$

$$\frac{h}{N_{\rm m}\,A_{\rm m}} = 1 - \frac{1}{0.97 \cdot 10^2} = 0.99$$

Das heisst: Die Kraft, welche notwendig ist, um den gestreckten Faden um 1% energieelastisch zu dehnen, reicht aus, um die starr gedachten statistischen Fadenelemente so auszurichten, dass der Abstand zwischen Anfangs- und Endpunkt des Fadens auf 1% genau mit dem des völlig gestreckten Fadens übereinstimmt.

Machen wir die dehnende Kraft z. B. 10mal kleiner, also gleich 2.5×10^{-6} Dyn, so beträgt die energieelastische Dehnung ein Promille der hydrodynamischen Länge L, während der Abstand h etwa gleich 0.9 L wird. Es heisst dies:

Solange der Abstand h zwischen Fadenanfangs- und -endpunkt weniger als 90 bis 95% der hydrodynamischen Länge L beträgt, dürfen wir den Abstand h zwischen Fadenanfangs- und -endpunkt unter der Annahme völlig starrer statistischer Vorzugselemente berechnen. Die Berücksichtigung der Deformierbarkeit von Valenzwinkeln und Atomabständen lässt nämlich den unter Wirkung dieser (bescheidenen) Kraft \Re zu erwartenden Wert von h praktisch ungeändert.

Auch wenn wir die Dehnungskraft \Re grösser werden lassen, bleibt die auf Grund der Energieelastizität eintretende Vergrösserung von L stets eine kleine Korrektur. Um die Beziehung zwischen dehnender Kraft \Re und tatsächlichem Wert von h zu finden, können wir daher so vorgehen:

Wir berechnen den der Kraft & entsprechenden Wert von h in erster Näherung aus (16):

$$h = N_m A_m \cdot \Omega\left(\frac{\Re A_m}{kT}\right)$$
 (statistischer Anteil von h) (34a)

wobei $\mathfrak{L}(\Re A_m/kT)$ die *Langevin*'sche Funktion des Argumentes $\Re A_m/kT$ bedeutet. Hierzu addieren wir die aus (24) folgende energieelastische Längenänderung

$$L'-L=L\frac{\Re}{a}$$
 (energieelastischer Anteil von h) (34b)

Wir haben also insgesamt für kleine und grosse Werte der Kraft R:

$$h = N_m A_m \Omega \left(\frac{\Re A_m}{kT} \right) + L \frac{\Re}{a} \quad \text{(allgemein)}$$
 (34)

Für grosse Werte von $\Re A_m/kT$ können wir auf Grund von (16) und (33a) an Stelle von (34a) auch setzen:

$$\frac{\Re A_m}{kT} = \frac{1}{1 - \frac{h}{N_m A_m}}$$

oder

$$h = N_m A_m \left(1 - \frac{kT}{\Re A_m} \right) = L - N_m \frac{kT}{\Re} \text{ von h für grosse Werte von } \frac{\Re A_m}{kT} \quad (35a)$$

und entsprechend anstatt (34):

$$\begin{aligned} \mathbf{h} &= \mathbf{L} + \mathbf{L} \frac{\mathcal{R}}{\mathbf{a}} - \mathbf{N}_{\text{in}} \frac{\mathbf{k}T}{\mathcal{R}} \\ &= \mathbf{L} \left[1 + \frac{\mathcal{R}}{\mathbf{a}} - \frac{\mathbf{k}T}{\mathbf{A}_{\text{in}} \cdot \mathcal{R}} \right] \end{aligned} \end{aligned}$$
 Gesamtlänge h für grosse Werte von $\frac{\mathcal{R} \mathbf{A}_{\text{in}}}{\mathbf{k}T}$ (35)

Die für grosse Werte von $\Re A_m/kT$ gültige Gleichung (35) ist in \Re quadratisch. Ihre Auflösung nach \Re lautet:

$$\Re = -\frac{1}{2} \left(1 - \frac{h}{L}\right) a + \sqrt{\frac{1}{4} \left(1 - \frac{h}{L}\right)^2 a^2 + \frac{kT}{A_m} a} \quad \left(\text{für grosse Werte von } \frac{\Re A_m}{kT}\right) \quad (36)$$

Die in den Formeln (34) und (35) zum Ausdruck gebrachten Beziehungen sind in Fig. 2a und b für das Beispiel der Paraffinkohlenwasserstoffe (a = 2.5×10^{-3} ; $A_{\rm m} = 16 \times 10^{-8}$ cm mit T = 300° abs) anschaulich gemacht.

Als Ordinate ist die auf die Fadenendpunkte im Sinne einer Auseinanderziehung wirkende Kraft R aufgetragen, als Abszisse der zugehörige Wert von h/L, also des Abstandes h zwischen Fadenanfangs- und -endpunkt, geteilt durch die hydrodynamische Länge L. Die punktierte Kurve 1 in Fig. 2a gibt den statistischen Anteil der Länge h, d. h. den aus (34a) bzw. (35a) zu berechnenden Wert von h. Es ist der h-Wert, den man erhalten würde, wenn die statistischen Fadenelemente nicht energieelastisch dehnbar wären.

Die gestrichelte Kurve 2 in Fig. 2a gibt die Länge h, welche eine zunächst gestreckte Zickzackkette unter Wirkung der Kraft \Re zufolge der energieelastischen Deformierbarkeit annehmen würde (wiederum geteilt durch die hydrodynamische Länge L der ohne

Valenzdeformation gestreckten Zickzackkette). Für $\Re=0$ wird in diesem Falle h/L=1,0 und für $\Re>0$ wird h/L>1. (h-L)/L=h/L-1,00 ist also die der zunächst gestreckten Zickzackkette infolge der energieelastischen Deformierbarkeit unter Wirkung der Kraft \Re aufgeprägte Längenänderung (h-L), geteilt durch die Länge L der ungedehnten Zickzackkette. Beispiel: Strecke Λ der Fig. 2a.

Die ausgezogenen Kurven in den Figuren 2a und b geben die gemäss (34) bzw. (35) zu erwartende Gesamtlänge h, wiederum geteilt durch die hydrodynamische Länge L. Der zu einem gegebenen \Re gehörende Abszissenwert h/L (Beispiel Punkt c der Fig. 2a) ist die Summe der dem betreffenden \Re entsprechenden Abszisse von Kurve 1 (Beispiel Strecke B der Fig. 2a) und der aus Kurve 2 zu entnehmenden energieelastischen Längenänderung (Strecke A'= Strecke A in Fig. 2a).

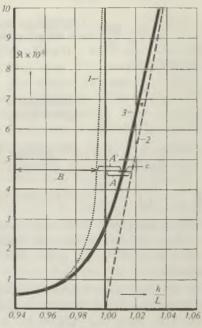
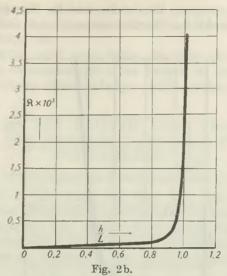


Fig. 2a.

Für Paraffinkohlenwasserstoffe (a = 2.5×10^{-3} , $A_{\rm m} = 16 \times 10^{-8}$ cm) ist für $T = 300^0$ abs die Rückstellkraft Ω eines an den Enden festgehaltenen Fadens als Funktion von h/L dargestellt. [Dabei ist Ω der Abstand zwischen Anfangspunkt und Endpunkt, Ω die hydrodynamische Länge der Fadenmolekel.] Kurve 1 (punktiert): Entknäuelung einer aus starren (energieelastisch nicht dehnbaren) Fadenelementen bestehenden Molekel. Kurve 2 (gestrichelt): Zusammenhang zwischen Ω und Ω und Ω wie er bei einer völlig entknäuelten Zickzackkette zufolge der energieelastischen Deformierbarkeit auftreten würde. Kurve 3 (ausgezogen): Zusammenhang für den Fall, dass die durch die Kraft Ω bewirkte Entknäuelung und die energieelastische Deformation der Molekel gleichzeitig berücksichtigt werden.



Abhängigkeit der Rückstellkraft \Re von Paraffinkohlenwasserstoffen von der Grösse h/L, dargestellt in einem grösseren Bereich als in Fig. 2a.

5. Gesamtenergie der Fadenmolekel in Abhängigkeit vom Abstande h zwischen Fadenanfangs- und -endpunkt.

Die potentielle Energie des Fadens ist bereits in Gleichung (31) angegeben, wenn unter ΔL die Längenänderung verstanden ist, welche der Faden infolge energieelastischer Dehnbarkeit unter Wirkung der Kraft R erfährt. Durch Einsetzen von (34b) in (31) erhalten wir:

$$U = \frac{a}{2L} \left(L \frac{\Re}{a} \right)^2 = \frac{\Re^2}{2a} L \text{ (allgemein)}$$
 (37)

Da der statistische Anteil der Längenänderung ohne Einfluss auf die Gesamtenergie ist, stellt der Ausdruck (37) zugleich die Gesamtenergie dar, welche eine Fadenmolekel besitzt, wenn sie durch die Kraft $\mathfrak R$ statistisch und energieelastisch beansprucht wird. Soll die Gesamtenergie U nicht in Funktion von $\mathfrak R$, sondern in Abhängigkeit von h dargestellt werden, so muss man die Gleichung (34) nach $\mathfrak R$ auflösen und das Ergebnis ($\mathfrak R$ als Funktion von h) in (37) einsetzen. Interessant und verhältnismässig einfach wird die so zu erhaltende Funktion U(h) im Falle einigermassen grosser Werte von $\mathfrak R A_m/kT$. In diesem Falle, d. h. immer dann, wenn U überhaupt erhebliche Beträge annimmt), kann $\mathfrak R$ aus (36) [anstatt aus (34)] in (37) eingesetzt werden.

Die so aus (37) resultierende Grösse der Gesamtenergie U, geteilt durch $N_m \cdot kT$, ist in Fig. 3 Kurve 1 als Ordinate gegen h/L

als Abszisse aufgetragen. Man sieht, wie die Energie erst von etwa h/L=0.97 an merkliche Werte annimmt und sodann für $h/L\!>\!1$ rapid ansteigt.

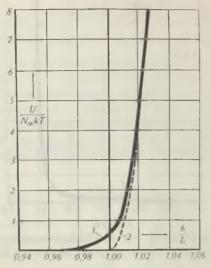


Fig. 3.

Für Paraffinkohlenwasserstoffe (a = 2,5 \times 10⁻³, $A_{\rm m}$ = 16 \times 10⁻⁸ cm) ist als Kurve 1 (ausgezogen) für T = 300° die Gesamtenergie U (geteilt durch kTN_m) gegen h/L als Abszisse aufgetragen. Merkliche Energiebeträge treten schon vor Erreichung des Punktes h L = 1 auf. Kurve 2: Dasselbe für einen von Wahrscheinlichkeitselastizität freien Faden; hier würde eine energieelastische Deformation und damit eine Abhängigkeit U(h) erst bei h = L, also erst nach Ausrichtung der Fadenelemente zu einer geraden Zickzackkette einsetzen.

Die in Fig. 3 mit Nr. 2 versehene, gestrichelt eingetragene Kurve gibt die durch die Gleichung

$$U' = a \frac{(h-L)^2}{2L} = \frac{a}{2} N_m A_m \left(\frac{h}{L} - 1\right)^2 \qquad \text{[für } h \ge L\text{]}$$
 (38)

definierte Grösse U' (ebenfalls geteilt durch N_mkT) an. U' ist die Energie, welche der auf die Länge h>L gedehnte Faden hätte, wenn eine energieelastische Deformation des Fadens erst bei h=L, also erst nach völliger Ausrichtung der Fadenelemente zu einer geraden Zickzackkette einsetzen und von dort an gemäss Gleichung (31) zunehmen würde. Wir können auch sagen, es sei U' die Energie, welche der Faden hätte, wenn wir für ΔL in (31), d. h. für den energieelastischen Anteil der Längenänderung des Vektors h anstatt des genau richtigen Wertes (34b) den Wert $\Delta L = h - L$ (Überschuss der Länge h über die hydrodynamische Länge L) einsetzen.

Man erkennt durch Vergleich der Kurven 1 und 2 in Fig. 3, dass die Gesamtenergie des Fadens U, sobald diese überhaupt beträchtliche Werte annimmt, fast ebenso gut durch die einfache Be-

ziehung (38) dargestellt wird wie durch die genauere Beziehung (37), in welcher ja R eine ziemlich umständlich zu bestimmende Funktion von h ist (Gleichung 36).

In vielen Fällen wird man daher die Beziehung (38) als gute Näherung für die Gesamtenergie eines Fadens in Abhängigkeit vom Abstand h zwischen Fadenanfangs- und -endpunkt verwenden können.

6. Freie Energie und Entropie einer Fadenmolekel in Abhängigkeit vom Abstande h zwischen Fadenanfangsund -endpunkt.

a) Die freie Energie als Funktion von h.

Nachdem wir in Gleichung (34) bzw. (35) den Zusammenhang zwischen der auf den Endpunkt wirkenden Kraft R und dem Abstand h zwischen Fadenanfangs- und -endpunkt bestimmt haben, ist es nicht schwer, die freie Energie F des Fadens in Abhängigkeit von h anzugeben. Wir haben als Definition von F(h) zu setzen

$$\mathbf{F} = -\int_{0}^{h} \Re \, \mathbf{d} \, \mathbf{h} \quad \text{(allgemein)} \tag{39}$$

Dabei kann, solange h kleiner oder gleich 0,96 L ist, die energetische neben der statistischen Rückstellkraft vernachlässigt werden (s. Fig. 2).

Es gilt dann nach Gleichung (16):

$$\mathbf{F} = \frac{\mathbf{k} \mathbf{T}}{\mathbf{A}_{\mathrm{m}}} \int_{0}^{\mathbf{h}} \beta \left(\frac{\mathbf{h}}{\mathbf{N}_{\mathrm{m}} \mathbf{A}_{\mathrm{m}}} \right) d\mathbf{h} = \mathbf{k} \mathbf{T} \cdot \boldsymbol{\Phi} (\mathbf{h})$$
 (40)

wobei Φ(h) zur Abkürzung gesetzt ist für

$$\Phi \left(\mathbf{h} \right) = \frac{1}{A_{m}} \int\limits_{0}^{h} \beta \left(\frac{\mathbf{h}}{N_{m} A_{m}} \right) \mathbf{d} \, \mathbf{h} \tag{41}$$

oder, als Reihenentwicklung geschrieben (siehe Gleichungen (7) und (8)):

$$\begin{split} \varPhi(h) &= \frac{3}{2} \frac{h^2}{N_m A_m^2} + N_m \left\{ \frac{9}{20} \left(\frac{h}{N_m A_m} \right)^4 + \frac{99}{350} \left(\frac{h}{N_m A_m} \right)^8 + \frac{1539}{7000} \left(\frac{h}{N_m A_m} \right)^8 + \cdots \right\} \end{split} \tag{41a}$$

Für grössere Werte von h (d. h. $h/L \ge 0.98$) gilt, wie wir sehen, für $\Re(h)$ die Näherung (36). Wir erhalten daher, wenn wir dies in (39) einsetzen:

$$\mathbf{F} = \text{const} + \int_{0}^{h} \left[\sqrt{\frac{1}{4} \left(1 - \frac{h}{L} \right)^2 a^2 + \frac{kT}{A_m}} \, \mathbf{a} - \frac{1}{2} \left(1 - \frac{h}{L} \right) \mathbf{a} \right] dh \quad \left(\text{für} \frac{h}{L} \ge 0.98 \right) \quad (42)$$

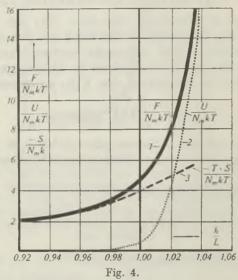
oder integriert:

$$F = const + \frac{L \Re^2}{2 a} + \frac{L k T}{A_m} \ln \Re$$
 (42a)

wobei R die in (36) angegebene Funktion von h bedeutet.

Die in (42), (42a) vorkommende Integrationskonstante ist so zu wählen, dass (42) bzw. (42a) für h < 0.96 L in die durch (40), (41a) bestimmten Werte übergeht.

Die so erhaltene Abhängigkeit der freien Energie F bzw. der Grösse F/kTN_m vom Parameter h ist, wiederum für das Beispiel der Paraffinkohlenwasserstoffe, in Fig. 4 anschaulich gemacht (stark ausgezogene Kurve).



Vergleich der freien Energie F, der Gesamtenergie U und der gebundenen Energie [-TS] für einen Paraffinkohlenwasserstoff in Abhängigkeit von h/L (h ist der Abstand zwischen Anfangs- und Endpunkt, L die hydrodynamische Länge der Molekel). Als Ordinaten sind aufgetragen: 1. (ausgezogene Kurve): F/kTN_m; 2. (punktierte Kurve): U/kTN_m (identisch mit Fig. 3, Kurve 1); 3. (gestrichelte Kurve): -TS/kTN_m.

b) Die Entropie als Funktion von h.

Wegen der allgemeinen Beziehung (11) kann, nachdem U und F in Abhängigkeit von h bestimmt sind, auch die Entropie S einer Fadenmolekel angegeben werden, jetzt für den allgemeinen Fall, dass neben den statistischen auch die energieelastischen Rückstellkräfte berücksichtigt werden. Im Bereiche h≤0,96 L haben wir, da dort die Energie U vernachlässigbar ist, wegen (40) und (11) sofort die Beziehung (10), für die wir wegen (41a) auch schreiben können:

$$S = - k \cdot \Phi (h)$$
 (für $\frac{h}{L} \leqslant 0.96 L$) (43)

oder

$$S = -k N_m \left[\frac{3}{2} \left(\frac{h}{L} \right)^2 + \frac{9}{20} \left(\frac{h}{L} \right)^4 + \frac{99}{350} \left(\frac{h}{L} \right)^6 + \frac{1539}{7000} \left(\frac{h}{L} \right)^8 + \cdots \right] \quad \text{(N\"{a}herung) (43a)}$$

Für grössere Werte von h/L haben wir sofort wegen (11), (42a) und (37)

$$S = \frac{U - F}{T} = -\frac{const + \frac{L\,k\,T}{A_m}\,\ln\Re}{T}$$

und unter Berücksichtigung von (1):

$$S = \frac{Const}{T} - k N_m ln \Re \qquad \qquad [genau \ f\"{u}r \ h > 0.98 \ L] \qquad \textbf{(44)}$$

Die Entropie S der durch eine starke Kraft & gestreckten Fadenmolekel nimmt also bei gegebener Temperatur proportional mit dem Logarithmus der dehnenden Kraft zu.

In Fig. 4 ist neben der freien Energie F (bzw. neben F/kTN_m) und der Gesamtenergie U (bzw. U/kTN_m ; punktierte Kurve) auch die Grösse $-T \cdot S$ (bzw. $-T \cdot S/kTN_m$; gestrichelte Kurve) als Funktion von h aufgetragen.

Man sieht, was auch aus den Formeln zu entnehmen war, dass $T \cdot S$ für h/L < 0.96 oder 0.97 mit der freien Energie F praktisch genommen übereinstimmt; dort ist das Energieglied U zu vernachlässigen. Bei $h/L \simeq 1.02$ (Abstand zwischen Anfangs- und Endpunkt der Fadenmolekel um 2% grösser als die Länge der ohne Valenzdeformation gestreckten Zickzackkette) ist die freie Energie zu etwa gleichen Teilen aus dem Entropieglied (gestrichelt) und dem Energieglied (punktiert) zusammengesetzt, während bei noch stärkeren Dehnungen der Energieanteil der freien Energie den statistischen Anteil (Entropieanteil) immer mehr übertrifft. Dort wächst der Entropieanteil proportional $\ln \Re$ (Gleichung (44)), der Energieanteil aber proportional \Re^2 an (Gleichung (37)).

Fig. 5 gibt eine Übersicht über die Abhängigkeit der Entropie S (bzw. der Grösse $S/k\,N_m$) in Funktion von h/L unter Zugrundelegung der verschiedenen im vorigen betrachteten Annahmen bzw. Näherungen. Zugrunde gelegt ist wiederum das Beispiel der Paraffinkohlenwasserstoffe. Kurve 1 (ausgezogen) ist die Entropie, wie sie sich unter Berücksichtigung der energieelastischen Dehnbarkeit der statistischen Fadenelemente ergibt; Kurve 2 (gestrichelt) ist der Verlauf, welchen man bei Zugrundelegung starrer statistischer Fadenelemente erwarten würde. Für Werte von h/L < 0.94 sind die beiden Kurven nicht unterscheidbar. Kurve 3 (punktiert) stellt schliesslich den Verlauf der Entropie S dar, den wir erhalten, wenn wir die Funktion $\Phi(h)$ in (43) durch die Reihenentwicklung (41a) darstellen und jene Reihenentwicklung mit dem Glied $(h/N_m\,A_m)^8$

abbrechen. Jene Reihenentwicklung kann eigentlich nur bei Werten von h/N_mA_m , welche wesentlich kleiner als 1 sind, praktische Gültigkeit beanspruchen. Wir erkennen aber, dass diese Näherung (Kurve 3) [Näherung unter Zugrundelegung starrer statistischer Fadenelemente, aber Abbruch der Reihenentwicklung (43a) beim vierten Gliede] die Verhältnisse sogar für $h>N_mA_m$ zur Not wiedergibt, jedenfalls besser als die Kurve 2, d. h. besser als die ebenfalls unter Zugrundelegung starrer statistischer Fadenelemente, aber ohne Abbrechung der Reihenentwicklung gewonnene Lösung.

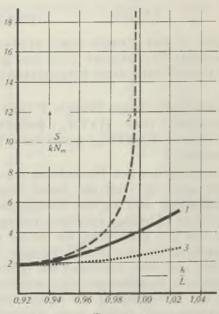


Fig. 5.

Abhängigkeit der Entropie S (bzw. der Grösse - S/kN $_{\rm m}$) von h/L. Kurve 1 (ausgezogen): Entropie unter Berücksichtigung der energieelastischen Dehnbarkeit der statistischen Fadenelemente. Kurve 2 (gestrichelt): Entropie bei Annahme starrer statistischer Fadenelemente nach Gleichung (10). Kurve 3 (punktiert): Verlauf der Entropie, welcher erhalten wird, wenn wir die Funktion Φ (h) in (43) durch die Reihenentwicklung (41a) darstellen und die Reihenentwicklung mit dem Glied (h/N $_{\rm m}$ A $_{\rm m}$) 8 abbrechen.

Die Bemerkung ist deswegen wichtig, weil die Darstellung (43a) eine einfachere Auswertung ermöglicht als die Beziehung (44), in welcher ja R die durch (36) definierte Funktion von h ist. Wir werden hiervon in einer nachfolgenden Arbeit, welche die Entropie des Kautschuks bei hohem Dehnungsgrade behandelt, Gebrauch machen. Es wird sich dort zeigen, dass die auf Werte h>L gedehnten Molekel (bzw. Netzbögen) im Kautschuk bei allen Dehnungsgraden relativ selten sind, so dass die genaue Art, wie ihr Beitrag zur Gesamtentropie berücksichtigt wird, nicht stark ins Gewicht fällt.

Zusammenfassung.

Bei einer aus vielen starren Fadenelementen bestehenden Molekel wird die statistische (wahrscheinlichkeitselastische) Rückstellkraft sehr gross, sobald die Fadenelemente praktisch vollständig gegeneinander ausgerichtet sind. Es ist daher vorauszusehen, dass bei Einwirkung von Kräften, welche zu einer weitgehenden Ausrichtung der Fadenelemente ausreichen, neben den statistischen Eigenschaften der Fadenmolekel auch eine energieelastische Deformierbarkeit, also eine Änderung der Valenzwinkel und Atomabstände, berücksichtigt werden muss.

Unter Beiziehung der an Molekeln kleinen Molekulargewichts erhaltenen Daten über Deformierbarkeit von Valenzwinkeln und Atomabständen wird für das Beispiel der Paraffinkohlenwasserstoffe gezeigt, dass sich diese Deformierbarkeit auf die Entropie der Fadenmolekel sowie die statistische Rückstellkraft tatsächlich auswirkt; praktisch genommen allerdings erst dann, wenn der Abstand hzwischen Fadenanfangs- und -endpunkt Werte erreicht, die grösser sind als etwa 95% der hydrodynamischen Länge L, d. h. grösser als 95% der Länge, die der Faden bei völliger Ausrichtung zu einer geraden Zickzackkette erhalten würde. Solange h kleiner bleibt als 0,95 L, beschränkt sich die Rückstellkraft praktisch genommen auf das Entropieglied.

Bei stärkerer Dehnung ist neben der statistischen eine energetische Rückstellkraft zu berücksichtigen; bei Dehnungen über h = L hinaus wird die energieelastische Rückstellkraft rasch grösser als die statistische.

Die mit der Dehnung verbundene Änderung der Gesamtenergie U nimmt dabei proportional dem Quadrate der dehnenden Kraft \Re , die Grösse T·S (Entropieanteil der freien Energie) nur proportional dem Logarithmus von \Re zu.

Diese Zusammenhänge, d. h. die Abhängigkeit der Gesamtenergie U, der Entropie S, der freien Energie F und der Rückstellkraft R vom Abstande h zwischen Anfangs- und Endpunkt, wie sie sich unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Wahrscheinlichkeitsund der energieelastischen Effekte ergeben, werden im gesamten Existenzgebiet der Molekel (Dehnungsgrad Null bis zur Zerreissgrenze) durch Formeln beschrieben und durch Kurven anschaulich gemacht.

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel.

129. 4,6-Benzyliden- α - und - β -methyl-d-glucosid- $\langle 1,5\rangle$ -3-methyläther von H. R. Bolliger¹) und D. A. Prins.

(18. VI. 46.)

Vor kurzem wurde das im Titel genannte α -Methyl-glucosid-Derivat (II) beschrieben²) und dabei bemerkt, dass die von uns bereitete Substanz von dem von Freudenberg und Mitarb.³) beschriebenen "Benzal-3-methyl- $[\alpha$ -methylglucosid]" verschieden war. Um festzustellen, worauf diese Diskrepanz beruht, haben wir d-Glucose-3-methyläther (I)⁴) unter genauer Einhaltung der von Freudenberg gegebenen Vorschrift mit Methanol glucosidifiziert und anschliessend benzaliert. Dabei erhielten auch wir ein Produkt, das bei ca. 135° schmolz und dessen spez. Drehung

 $[\alpha]_D^{20}=+58.9^{\circ}\pm2^{\circ}$ (c = 1,77 in C₂H₂Cl₄); $[\alpha]_D^{20}=+42.8^{\circ}\pm2^{\circ}$ (c = 1,217 in CHCl₃) betrug. Dieses Produkt ist aber nicht homogen; denn obwohl sich der Schmelzpunkt auch nach häufigem Umkrystallisieren kaum änderte, so konnte doch immer beobachtet werden, dass in der Schmelze ein kleiner krystalliner Rest verblieb, der erst bei höherer Temperatur verschwand.

Wie sich aus dem folgenden ergibt, stellt das Freudenberg'sche Produkt ein Gemisch der beiden α, β -Isomeren (II) und (V) dar.

Zuerst wurde die chromatographische Trennung dieses Gemisches versucht. Sie verlief unbefriedigend; immerhin konnten auf diese Weise ca. 5 % reines (II) daraus abgetrennt werden.

Etwas besser gelang die Trennung, wenn das Gemisch tosyliert und anschliessend chromatographiert wurde. Wir isolierten dabei zur Hauptsache das 2-Tosylat (III)²) neben dem in 2-Stellung nicht tosylierten β -Methyl-glucosid-Derivat (V). Anscheinend wird das Tosylat (VII) nur schwer gebildet. Diese Beobachtung wurde auch bei der Tosylierung von reinem (V) gemacht. (VII) wurde unseres Wissens bisher noch nicht beschrieben.

Der von uns aus dem Freudenberg'schen Gemisch isolierte 4,6-Benzyliden- β -methyl-d-glucosid- $\langle 1,5\rangle$ -3-methyläther (V) zeigte einen etwas höheren Schmelzpunkt und eine etwas stärker negative Drehung als das von Freudenberg und Mitarb.³) beschriebene "Benzal-3-methyl-[β -methylglucosid]", doch ist er zweifellos mit diesem iden-

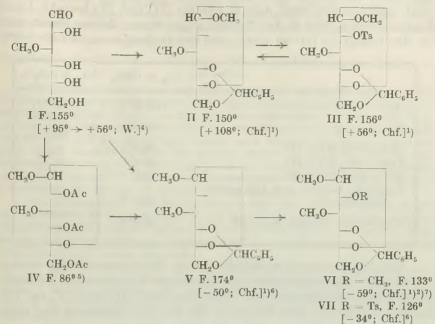
¹⁾ Auszug aus der Diss. H. R. Bolliger, die demnächst erscheint.

²) H. R. Bolliger, D. A. Prins, Helv. 28, 465 (1945).

³⁾ K. Freudenberg, H. Toepffer, C. C. Andersen, B. 61, 1758 (1928).

⁴) J. C. Irvine, J. P. Scott, Soc. 103, 564 (1913); K. Freudenberg, R. M. Hixon, B. 56, 2119 (1923).

tisch. Zur Kontrolle wurde (V) noch in den bekannten 2,3-Dimethylather $(VI)^1)^2)^3$) übergeführt.



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundeten Werte für [α D an. Chf. = Chloroform, W. = Wasser; Ts = p-Toluolsulfonyl; Ac = Acetyl.

(V) liess sich aus d-Glucose-3-methyläther (I) bequem in der folgenden Weise in grösseren Mengen bereiten: (I) wurde über das β -Tetraacetat in die Acetobromverbindung verwandelt und diese mit Methanol und $\mathrm{Ag_2CO_3}^8$) in den bekannten 2,4,6-Triacetyl- β -methyld-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (IV)⁵) übergeführt. Dieser wurde verseift und lieferte bei der nachfolgenden Benzalierung in guter Ausbeute das gesuchte Produkt (V).

In der Tabelle (S. 1118) sind die spez. Drehungen für (II), (V) und für einige künstliche Gemische dieser zwei Stoffe angegeben. Graphisch aufgetragen liegen diese Werte nahezu auf einer Geraden, woraus folgt, dass sich (II) und (V) optisch kaum merklich beeinflussen. Die

¹⁾ K. Freudenberg, H. Toepffer, C. C. Andersen, B. 61, 1758 (1928).

Vgl. auch B. Helferich, H. Appel, B. 64, 1841 (1931).
 D. S. Mathers, G. J. Robertson, Soc. 1933, 696.

⁴) J. C. Irvine, J. P. Scott, Soc. 103, 564 (1913); K. Freudenberg, R. M. Hixon, B. 56, 2119 (1923).

⁵⁾ B. Helferich, O. Lang, J. pr. [2] 132, 321 (1932).

⁶⁾ Vgl. diese Arbeit.

⁷⁾ D. S. Mathers, G. J. Robertson, Soc. 1933, 696.

⁸⁾ W. Koenigs, E. Knorr, Sber. Bayr. Akad. 30, 103 (1900).

prozentuale Zusammensetzung des Freudenberg'schen Gemisches lässt sich daher aus seiner spez. Drehung auf einfache Weise berechnen, wenn angenommen wird, dass es nur aus (II) und (V) besteht. Unter Zugrundelegung der in der Tabelle angegebenen Zahlen findet man für den Gehalt an (II) $60 \pm 3\%$ und für denjenigen an (V) $40 \pm 3\%$.

	$\left[\alpha\right]_{\mathrm{D}}$ in $\mathrm{CHCl_3}$	$[\alpha]_D$ in $C_2H_2Cl_4$
(II)	+108,30 1)	$+119,5^{0}$ 1)
(V)	- 50,0°° 2)	$\begin{array}{cccc} & - & 44,0^{0} & ^{2}) \\ & - & 39,1^{0} & ^{3}) \end{array}$
74.2% (II) + 25.8% (V)	$+69,50^{\circ})$	_
57.9% (II) + $42.1%$ (V)	$+46,50^{\circ}$	
22.7% (II) + $77.3%$ (V)	- 13,5°° 2)	_
Künstliches Gemisch, Smp. 135° aus 60% (II) $+40\%$ (V)	+ 46,50 2)	_
Freudenberg's Gemisch, Smp. 135°	+ 42,80 2)	$\begin{array}{cccc} & + & 58,9^{0} & ^{2}) \\ & + & 49,1^{0} & ^{3}) \end{array}$

Dass das Gemisch tatsächlich diese Zusammensetzung besitzt, wurde durch die Resynthese aus den reinen Komponenten bewiesen. Beim Umkrystallisieren eines Gemisches von (II) und (V) im Verhältnis (3:2) erhält man Krystalle, die bei 135° schmelzen und deren spez. Drehung $[\alpha]_{D}^{10} = +46,5^{\circ}$ (in CHCl₃) beträgt.

Wir danken Herrn Prof. Dr. T. Reichstein für sein dieser Arbeit entgegengebrachtes Interesse.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und auf dem Kofler-Block bestimmt (Fehlergrenze \pm 2°). Alle spez. Drehungen wurden im 1-dm-Rohr für Na-Licht bestimmt. Als Lösungsmittel diente, sofern nichts anderes angegeben, Chloroform.

Freudenberg's Produkt vom Smp. 135° aus (I)3).

2 g d-Glucose-3-methyläther (I) wurden unter genauer Einhaltung der von Freudenberg beschriebenen Bedingungen mit Methanol glucosidifiziert und das rohe Glucosidgemisch benzaliert. Das Benzalierungsgemisch wurde unter Anlehnung an die von Sorkin und Reichstein gemachten Angaben⁴) aufgearbeitet und lieferte 2,3 g rohes Benzalprodukt (70% d. Th., berechnet auf (I)). Durch Krystallisation aus Äther-Petroläther wurde eine reichliche Menge des in Nadeln sich abscheidenden Produktes vom Smp. 135° erhalten. Obwohl der Schmelzpunkt ziemlich scharf war und sich auch nach wiederholtem Umkrystallisieren nicht änderte, konnte doch immer beobachtet werden, dass ein sehr kleiner Teil erst bei ca. 160° schmolz. Die spez. Drehung dieses Produktes betrug:

$$\label{eq:continuous} \text{(a)}_D^{20} = +\,42,8^{\,0}\,\pm\,2^{\,0} \,\,\text{(c} = 1,217); \,\,\text{(a)}_D^{20} = +\,58,9^{\,0}\,\pm\,2^{\,0} \,\,\text{(c} = 1,77 \,\,\text{in}\,\,\,\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_4\text{).}$$

¹⁾ H. R. Bolliger, D. A. Prins, Helv. 28, 465 (1945).

²⁾ Vgl. diese Arbeit.

³⁾ K. Freudenberg, H. Toepffer, C. C. Andersen, B. 61, 1758 (1928).

⁴⁾ E. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 1 (1945).

Versuch zur chromatographischen Trennung des Produktes vom Smp. 135°.

 $450~\rm mg$ des Produktes vom Smp. $135^{\rm o}$ wurden über eine Säule von $15~\rm g~Al_2O_3$ chromatographiert. Die Fraktionen betrugen $50~\rm cm^3$. Die erste, mit Benzol-Petroläther (1:1) erhaltene Fraktion lieferte ca. $20~\rm mg$ feine Nadeln, die bei $149^{\rm o}$ schmolzen und im Gemisch mit authentischem (II) $^{\rm i}$) keine Schmelzpunktserniedrigung zeigten. Alle weiteren Eluate schmolzen unscharf, die meisten bei ca. $135^{\rm o}$.

Tosylierung des Produktes vom Smp. 135° und Auftrennung der Reaktionsprodukte.

500 mg des Produktes vom Smp. 135° wurden in 3 cm³ Pyridin gelöst und nach Zugabe von 800 mg Tosylchlorid während 3 Tagen bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde in der üblichen Weise aufgearbeitet und lieferte einen Sirup, der beim Anfeuchten mit Äther krystallisierte. Die prismatischen Krystalle (A) schmolzen bei 148—154°. Aus den Mutterlaugen wurden nach Einengen und Zugabe von Petroläther weitere Krystalle erhalten (B), diesmal Nadeln vom Smp. 165—175°. Die verbleibenden Mutterlaugen (C) waren amorph. Da eine weitere fraktionierte Krystallisation der Krystalle (A) und (B) nicht zu schmelzpunktsreinen Produkten führte, wurden die 3 Fraktionen (A), (B) und (C) für sich chromatographiert.

Chromatographie (Å). 340 mg Prismen vom Smp. ca. 150° wurden an 10 g Al₂O₃ adsorbiert; die Eluate betrugen jeweils 50 cm³. Mit Benzol-Petroläther (1:2) und Benzol wurden 320 mg reines Tosylat (III) vom Smp. 158° erhalten, Mischprobe ebenso. Die mit Ätherzusatz erhaltenen Fraktionen, total etwa 15 mg, hatten einen unscharfen

Schmelzpunkt und wurden verworfen.

世紀日本

Chromatographie (B). 50 mg Nadeln vom Smp. ca. 170° wurden über 2 g ${\rm Al_2O_3}$ filtriert und mit je 10 cm³ Lösungsmittel nachgewaschen. Mit Benzol-Petroläther (1:1) wurden 7 mg (III) vom Smp. 156° erhalten. Benzol und Benzol-Äther (9:1) brachten etwas Öl. Benzol-Äther (4:1) bis (1:1) lieferten 17 mg (V), aus Äther-Petroläther Nadeln vom Smp. 174°.

Die spez. Drehung betrug [α]_D = $-50,0^0 \pm 2^0$ (c = 1,034);

$$\label{eq:alpha} [\alpha]_{\rm D}^{19} = -\,44,\!0^{0} \pm\,2^{0} \mbox{ (c} = 1,\!036 \mbox{ in } {\rm C}_{2}{\rm H}_{2}{\rm Cl}_{4}).$$

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

3,702 mg Subst. gaben 8,234 mg CO_2 und 2,342 mg $\mathrm{H}_2\mathrm{O}$

3,871 mg Subst. verbrauchten 7,323 em³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$ (Zeisel-Vieböck).

$$\rm C_{15}H_{20}O_6$$
 (296,16)
 Ber. C 60,78
 H 6,81
 —OCH $_3$ 20,95%
 Gef. ,, 60,70
 ,, 7,08
 ,, 19,56%

Chromatographie (C). 250 mg amorphe Mutterlaugen der Fraktionen (A) und (B) wurden über 7,5 g ${\rm Al_2O_3}$ chromatographiert. Benzol-Petroläther (1:1) lieferte 70 mg Monotosylat (III), Smp. und Mischsmp. 156°. Die Zwischenfraktionen von Benzol bis Benzol-Äther (2:1) gaben wiederum nichtkrystallisierende Öle. Mit Benzol-Äther (1:1) wurden schliesslich noch 28 mg (V) vom Smp. 174° erhalten.

2-Tosyl-4,6-benzyliden- β -methyl-d-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (VII) aus (V).

16 mg Benzyliden-Derivat (V) vom Smp. 175° wurden mit 1 cm³ Pyridin und 100 mg Tosylchlorid zuerst 1½ Stunden bei 50° und dann über Nacht bei Raumtemperatur belassen. Übliche Aufarbeitung gab 21 mg rohe Krystalle, Smp. 90—130°. Daraus durch Chromatographie 8,5 mg (35%) Prismen (VII) vom Smp. 124°.

Bei einem weiteren Ansatz aus 33 mg (V) (vorgetrocknet und 4 Stunden bei 60° reagieren gelassen) wurden 39 mg Rohkrystalle erhalten, Smp. 118—150°, und daraus

durch Chromatographie 17 mg (33%) (VII) vom Smp. 125-126°.

Die spez. Drehung dieses Produktes betrug: $[\alpha]_{\rm D}^{20}=-34,1^{\circ}\pm3^{\circ}~({\rm c}=0,762).$

¹⁾ H. R. Bolliger, D. A. Prins, Helv. 28, 465 (1945).

Zur Analyse wurde im Hochvakuum während 2 Stunden bei 60° getrocknet.

3,370 mg Subst. gaben 7,892 mg $\mathrm{CO_2}$ und 1,891 mg $\mathrm{H_2O}$

2,969 mg Subst. verbrauchten 1,427 cm³ 0,01-n. KOH (Pregl)

 $C_{22}H_{26}O_8S$ (450,59) Ber. C 58,65 H 5,82 S 7,12% Gef. ,, 57,74 ., 5,67 ,, 7,68%

2, 3-Dimethyl-4, 6-benzyliden- β -methyl-d-glucosid- $\langle 1, 5 \rangle$ (VI) aus (V).

40 mg (V), Smp. 175°, wurden nach Purdie methyliert. Übliche Aufarbeitung ergab

40 mg Dimethyläther (VI), aus Pentan kleine Nadeln, Smp. 132-133°.

Die Mischprobe mit einem aus 4,6-Benzyliden- β -methyl-d-glucosid- $(1,5)^1)^2)^3$) bereiteten Vergleichspräparat vom Smp. 134°4) gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{20} = +59,0^0 \pm 2^\circ$ (c = 0,899).

2,244 mg Subst. verbrauchten 6,486 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) C₁₆H₂₂O₆ (310,34) Ber. 3 —OCH₃ 30,00; Gef. —OCH₃ 29,89%

- 2, 4, 6-Triacetyl- β -methyl-d-glucosid- $\langle 1, 5 \rangle$ -3-methyläther (IV) aus (I).
- (IV) wurde nach Heljerich und $Lang^5$) aus d-Glucose-3-methyläther (I) bereitet. Wir erhielten es in 45-proz. Ausbeute, Smp. $86-88^{\circ}$.
 - 4, 6-Benzyliden- β -methyl-d-glucosid- $\langle 1, 5 \rangle$ -3-methyläther (V) aus (IV).
- 2,2 g (IV) wurden mit methanolischem Ba(OH)₂ über Nacht bei Raumtemperatur verseift und der nach üblicher Aufarbeitung erhaltene amorphe β -Methyl-glucosid-3-methyläther nach gründlichem Trocknen über P_2O_5 nach der kürzlich beschriebenen Methodik⁶) benzaliert. Es wurden 1,50 g (77%) (V) in Form von Nadeln erhalten, Smp. 172—173°. Eine Probe wurde aus Aceton-Äther umkrystallisiert und zeigte dann den Smp. 175°.

Künstliches Gemisch vom Smp. 1350 aus (II) und (V).

30 mg (II) und 20 mg (V) wurden gemeinsam aus Aceton-Äther krystallisiert. Das erhaltene Produkt (Nadeln) schmolz bei 133—135° (ein kleiner Rest schmolz erst über 140°). Die spez. Drehung der Krystalle betrug: $[\alpha]_D^{19} = +46.5^0 \pm 2^\circ$ (c = 1,096).

Spez. Drehungen verschiedener Gemische aus (II) und (V).

Die angegebenen Mengen der Isomeren (II) und (V) wurden jeweils in ein 2,5112 cm³ fassendes Kölbehen eingewogen, mit CHCl₃ bis zur Marke aufgefüllt und nach erfolgter Durchmischung die spez. Drehung bestimmt.

20,1 mg (II)+ 7,0 mg (V):
$$[\alpha]_D^{18} = +69,5^0 \pm 2^0$$
 (c = 1,08)
14,7 mg (II)+10,7 mg (V): $[\alpha]_D^{18} = +46,5^0 \pm 2^0$ (c = 1,01)
5,9 mg (II)+20,1 mg (V): $[\alpha]_D^{18} = -13,5^0 \pm 2^0$ (c = 1,04)

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

3) H. Ohle, K. Spencker, B. 61, 2387 (1928).

¹⁾ K. Freudenberg, H. Toepffer, C. C. Andersen, B. 61, 1758 (1928).

²) D. S. Mathers, G. J. Robertson, Soc. 1933, 696.

⁴⁾ D. S. Mathers, G. J. Robertson, loc. cit., fanden Smp. 141° und $\left[\alpha\right]_{\mathrm{D}}=+59.6°$ (in CHCl₃).

⁵) B. Helferich, O. Lang, J. pr. [2] 132, 321 (1932).
⁶) H. R. Bolliger, D. A. Prins, Helv. 29, 1061 (1946).

130. Kryst. 2-Desoxy-d-glucose-3-methyläther.

Desoxyzucker 12. Mitteilung¹).

von H. R. Bolliger2) und D. A. Prins.

(18. VI. 46.)

Vor längerer Zeit haben Levene und Raymond³) aus d-Glucose3-methyläther (I)⁴) den amorphen 4,6-Diacetyl-d-glucal-3-methyläther (II) und daraus den kryst. d-Glucal-3-methyläther (III) bereitet. Der aus (III) durch milde saure Hydrolyse⁵) erhältliche 2-Desoxy-d-glucose-3-methyläther (IV) scheint aber noch nicht beschrieben
zu sein. Wir haben ihn bereitet, und es gelang, ihn nach längerem
Stehen in Krystallen zu erhalten. Er schied sich aus Aceton-Äther in
Prismen ab, die den Smp. 110—112⁰ und die spez. Drehung $\alpha [\alpha [\alpha] = +5,1° \longrightarrow +13,9° (\alpha]$ (nach 5 bzw. 30 Minuten, konstant; H₂O) zeigten.
Es liegt somit die β -Form vor. Der Zucker (IV) reduziert Fehling'sche
Lösung kräftig, verhält sich aber bei der Keller-Kiliani-Reaktion⁶)
abnormal. Statt einer blauen wurde eine grünliche Färbung beobachtet, die nur langsam in die obere Schicht eindrang⁶).

Bisher gelang es nicht, aus (IV) ein kryst. Phenylhydrazon zu bereiten. Auch das Lacton des aus (IV) mit Bromwasser bereiteten 2-Desoxy-d-gluconsäure-3-methyläthers sowie sein Amid, Phenylhydrazid, p-Bromphenylhydrazid und S-Benzylthiuroniumsalz krystallisierten bisher nicht.

Das Glucalderivat (II) wurde nach dem Glucalverfahren ⁸) ⁹) aus dem Tetraacetat von (I) in etwa 55-proz. Ausbeute erhalten. Es nimmt 1 Mol Br₂ auf und geht dabei in das amorphe Dibromderivat (V) über. Behandelt man dieses mit Zink in verdünnter Essigsäure unter den bei der Glucalisierung üblichen Bedingungen, so wird (II) in etwa 75-proz. Ausbeute zurückerhalten. Ähnliche Verhältnisse wurden auch für Diacetyl-*l*-fucal (VII)¹⁰) beobachtet: aus dem Tetraacetat von (VI) wird es in ca. 40-proz. Ausbeute erhalten, aus der

^{1) 11.} Mitteilung, vgl. H. R. Bolliger, D. A. Prins, Helv. 29, 1061 (1946).

Auszug aus der Diss. H. R. Bolliger, die demnächst erscheint.
 P. A. Levene, A. L. Raymond, J. Biol. Chem. 88, 513 (1930).

⁴) J. C. Irvine, J. P. Scott, Soc. 103, 564 (1913); K. Freudenberg, R. M. Hixon, B. 56, 2119 (1923).

<sup>M. Bergmann, H. Schotte, W. Lechinsky, B. 55, 158 (1922); 56, 1052 (1923).
C. C. Keller, B. dtsch. pharm. Ges. 5, 277 (1895); H. Kiliani, Arch. Pharm. 234, 273 (1896); 251, 567 (1913).</sup>

⁷⁾ Vgl. R. Jeanloz, D. A. Prins, T. Reichstein, Helv. 29, 371 (1946).

⁸⁾ E. Fischer, K. Zach, Sber. Preuss. Akad. 1913, 311; E. Fischer, B. 47, 1916 (1914).

⁹⁾ Vgl. die Modifikationen bei B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1146 (1944).

¹⁰⁾ B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1200 (1944).

Dibromverbindung (VIII) in einer solchen von 83 %. Auf die Bedeutung dieser Befunde soll eventuell später eingegangen werden, wenn weitere Resultate analoger Untersuchungen vorliegen.

Die Konfiguration der Br-Atome in (V) und (VIII) wurde unbestimmt gelassen. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundeten spez. Drehungen für Na-Licht an. W. = Wasser, Chf. = Chloroform, An. = Aceton, Ac = Acetyl.

Wir danken Herrn Prof. T. Reichstein für sein dieser Arbeit entgegengebrachtes Interesse.

Experimenteller Teil.

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und sind korrigiert; Fehlergrenze $+2^{\circ}$.

2-Desoxy-d-glucose-3-methyläther (IV) aus (III).

790 mg kryst. d-Glucal-3-methyläther (III)²) wurden in 8 cm³ n. H₂SO₄ bei 0° gelöst und bei dieser Temperatur stehen gelassen. Die Lösung trübte sich nach kurzer Zeit und färbte sich nach einigen Stunden grünlich. Nach 14 Stunden wurde mit frisch gefälltem BaCO₃ neutralisiert, am Schlusse unter Erwärmen auf 30°. Dabei schied sich am Rande des Glases eine kleine Menge eines dunkelgrünen Öls ab⁵). Es wurde filtriert und die wässerige Lösung, die Fehling'sche Lösung kräftig reduzierte, im Vakuum bei 30° eingedampft. Der Rückstand wurde in 20 cm³ Aceton-Äther (1:1) unter schwachem Er-

¹⁾ J. C. Irvine, J. P. Scott, Soc. 103, 564 (1913); K. Freudenberg, R. M. Hixon, B. 56, 2119 (1923).

²) P. A. Levene, A. L. Raymond, J. Biol. Chem. 88, 513 (1930).

³⁾ B. Tollens, F. Rorive, B. 42, 2009 (1909); J. Minsaas, R. 50, 424 (1933).

⁴⁾ B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1200 (1944).

⁵) M. Bergmann, H. Schotte, W. Lechinsky, B. 55, 158 (1922); 56, 1052 (1923).

wärmen gelöst und die trübe Lösung über wenig Tierkohle filtriert. Das nunmehr klare Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und der zähflüssige, farblose Sirup mit wenig Aceton angefeuchtet und bei 0° aufbewahrt. Nach 11 Monaten trat Krystallisation ein. Die Krystalle wurden aus Aceton-Äther umkrystallisiert und lieferten 200 mg (IV) in Form derber Prismen vom Smp. 110—112°. Aus den vereinigten Mutterlaugen konnten noch 175 mg weniger reine Krystalle erhalten werden. Reines kryst. (IV) reduzierte Fehling sche Lösung. Die Keller-Kiliani-Reaktion gab an der Berührungsstelle einen braunvioletten Ring, der nach 15 Minuten am oberen Rande in Smaragdgrün überging. Die Farbe drang nur langsam in die obere Schicht ein¹). Die spez. Drehung betrug:

 $[\alpha]_0^{11} = +5.1^0 \pm 2^0 \rightarrow +13.9^0 \pm 2^0$ (5 resp. 30 Minuten, konstant, c = 1.366 in H_2O).

Zur Analyse wurde über P₂O₅ getrocknet.

 $3{,}926~\mathrm{mg}$ Subst. gaben $6{,}790~\mathrm{mg}$ $\mathrm{CO_2}$ und $2{,}761~\mathrm{mg}$ $\mathrm{H_2O}$

2,477 mg Subst. verbrauchten 4,115 em³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$ (Zeisel-Vieböck).

 ${
m C_7H_{14}O_5}$ (178,18) Ber. C 47,18 H 7,92 $-{
m OCH_3}$ 17,42% Gef. ,, 47,20 ,, 7,87 ,, 17,18%

4, 6 Diacetyl-d-glucal-3-methyläther (II) aus dem 1, 2-Dibromid (V).

510 mg amorpher 4,6-Diacetyl-d-glucal-3-methyläther (II) wurden in 5 cm CCl_4 gelöst und eine 30,71-proz. Lösung von Brom in CCl_4 bis zur eben bleibenden Rotfärbung zugetropft. Verbraucht wurden 1,02 cm³ der Bromlösung (314 mg Br $_2$ = 0,93 Mol). Nach Eindampfen im Vakuum wurde das Dibromid als hellgelber, dickflüssiger Sirup erhalten, der nicht krystallisierte. Da das Dibromid zersetzlich ist, wurde es nicht weiter gereinigt, sondern im rohen Zustande mit Zink in 50-proz. Essigsäure bei -3° behandelt (15 cm³ 50-proz. Essigsäure, 4 g Zn-Staub, 0,3 g CuSO $_4$ · 5 H_2 O, 4 g Natriumacetat). Die übliche Aufarbeitung²) lieferte 380 mg (75% bezogen auf (II)) 4,6-Diacetyl-d-glucal-3-methyläther (II), Sdp. $_{0.1 \text{ mm}}$ 105°, der nach Verseifung mit methanolischem Baryt²) den kryst. d-Glucal-3-methyläther (III) ergab, Smp. 64°, Mischschmelzpunkt ebenso.

4,6-Diacetyl-1-fucal (VII) aus dem 1,2-Dibromid (VIII).

530 mg kryst. 4,6-Diacetyl-l-fucal (VII)³) vom Smp. 48° wurden in 1 cm³ $\rm CCl_4$ mit einer Lösung von Br $_2$ in $\rm CCl_4$ (657 mg/cm³) bis zur eben bleibenden Rotfärbung versetzt. Der Verbrauch betrug 0,63 cm³ oder 414 mg Br $_2$ (ber. 396 mg Br $_2$). Das entstandene Dibromid (VIII) krystallisierte nicht. Es wurde in 2 cm³ Eisessig-Essigsäure-anhydrid (1:1) gelöst und bei -10° unter Rühren zu 2 g verkupfertem Zink in 10 cm³ 50-proz. Essigsäure zugetropft. Nach einer halben Stunde wurde die Kühlung unterbrochen und das Gemisch eine weitere halbe Stunde gerührt, wobei die Temperatur auf 3° stieg. Hierauf wurde in üblicher Weise²) aufgearbeitet. Die Destillation lieferte 440 mg farbloses (VII) vom Sdp. $_{0.02~\rm mm}$ 68—70°, das in der Vorlage alsbald vollständig krystallisierte. Der Schmelzpunkt dieses Produktes betrug 46—48°, die Ausbeute 83%.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ Vgl. R. Jeanloz, D. A. Prins, T. Reichstein, Helv. 29, 371 (1946).

²⁾ B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1146 (1944).

³⁾ B. Iselin, T. Reichstein, Helv. 27, 1200 (1944).

131. Zur Kenntnis der Triterpene. (106. Mitteilung¹)).

Überführung des Manila-diols in β-Amyrin von O. Jeger. M. Montavon und L. Ruzicka.

(22. VI. 46.)

Bei der Untersuchung der Mutterlaugen, die bei der Gewinnung des α - und β -Amyrins aus dem Manila-Elemi-Harz erhalten werden, haben Morice und $Simpson^2$) ein neues, ungesättigtes Triterpendiol $C_{30}H_{50}O_2$ isoliert, das von ihnen Manila-diol genannt wurde. Die Versuche dieser Autoren, das Manila-diol in eine bereits bekannte Triterpenverbindung überzuführen, blieben erfolglos.

Wir haben nun das Manila-diol durch einfache Umsetzungen in

das β -Amyrin umgewandelt.

Bei der Hydrierung des schon von Morice und Simpson³) beschriebenen Manila-dions $C_{30}H_{46}O_2$ mit Platinoxyd-Katalysator in Eisessiglösung entsteht, wenn man die Reaktion nach Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff unterbricht, ein Ketoalkohol $C_{30}H_{48}O_2$, welcher bei der Acetylierung mit Acetanhydrid-Pyridin ein bei $232-233^{\circ}$ schmelzendes Acetat $C_{32}H_{50}O_3$ liefert. Bei der Reduktion der letztteren Verbindung nach Wolff-Kishner erhält man in sehr guter Ausbeute β -Amyrin, das durch Analyse, Schmelzpunkt, Mischprobe und spez. Drehung charakterisiert wurde. Ebenso liess sich das Acetat und das Benzoat mit den entsprechenden Estern des β -Amyrins identifizieren.

Das Keto-acetat $C_{32}H_{50}O_3$ haben wir noch auf einem anderen Wege erhalten. Durch vorsichtige Acetylierung des Manila-diols entsteht in guter Ausbeute ein Mono-acetat $C_{32}H_{52}O_3$, das bei der Oxydation mit Chromsäure bei Zimmertemperatur in das Keto-acetat $C_{32}H_{50}O_3$ (Smp. 232—233°) übergeht. Diese Entstehungsweise führt zur Schlussfolgerung, dass sich die Hydroxylgruppe am Kohlenstoffatom 2 in derselben sterischen Lage befindet wie bei den anderen 11 Vertretern der β -Amyrin-Oleanolsäure-Gruppe. Erfahrungsgemäss bleibt nämlich die sterische Lage des Hydroxyls in β -Amyrin und epi- β -Amyrin bei den Bedingungen der Reduktion nach Wolff-Kishner unverändert. Das Manila-diol ist darnach ein Oxy- β -amyrin, in dem nur noch die Lage der zweiten Hydroxylgruppe unbekannt ist.

Der Rockefeller Foundation in New York danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

^{1) 105.} Mitt. Helv. 29, 912 (1946).

²) Soc. 1940, 795. ³) Soc. 1942, 198.

Experimenteller Teil1).

Gewinnung des Manila-diols 2).

Durch die eingedampften Mutterlaugen, die bei der Gewinnung der Amyrine erhalten werden, wird während 20 Stunden Wasserdampf durchgeblasen, wobei 20—25% wasserdampfflüchtiger Anteile entfernt werden. Der zurückbleibende Klumpen wird in hochsiedendem Petroläther aufgenommen und die Lösung erschöpfend mit 70-proz. Äthanol extrahiert. Nach Eindampfen des Lösungsmittels erhält man ungefähr 30% Alkoholextrakt (auf den Destillationsrückstand berechnet). Dieser wird in Benzol gelöst und durch Aluminiumoxyd (Aktivität II) chromatographiert. Bei einem Chromatogramm von 29 g Substanz erhielt man folgende Eluate:

Frakt.	Lösungsmittel	Subst.	
$ \begin{array}{ c c c } \hline 1-7 \\ 8-11 \\ 12-26 \\ 27-28 \end{array} $	Benzol 4000 cm³ Benzol-Äther (3:1) 2000 cm³ Benzol-Äther (1:1) 7500 cm³ Methanol 1000 cm³	5,22 g 2,55 g 15,45 g 3,21 g	ölig Schaum Kryst. harzig

Alle chromatographierten Alkoholextrakte lieferten nach dieser Methode ungefähr 60 Gewichtsprozente krystallinen Materials. Durch Umkrystallisieren der Benzol-Äther-(1:1)-Eluate aus Aceton oder Aceton-Wasser erhielt man bei 208—210° schmelzende Nadeln. Es liegt ein Gemisch von Brein und Manila-diol vor, welches durch Krystallisation nicht weiter gereinigt werden kann. Nach der Vorschrift von Morice und Simpson²) wurde es in das Gemisch der Diformiate übergeführt und dieses aus Aceton nach dem Dreieckschema fraktioniert krystallisiert. Das Manila-diol-diformiat krystallisiert in Nadeln, Smp. 186—187°, die mit Brein-diformiat eine Schmelzpunktserniedrigung geben. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 170° Blocktemperatur sublimiert.

3,628 mg Subst. gaben 10,237 mg CO₂ und 3,266 mg
$$\rm H_2O$$
 $\rm C_{32}H_{50}O_4$ Ber. C 77,06 H 10,11% Gef. ,, 77,01 ,, 10,07%
$$\lceil \alpha \rceil_{\rm U} = +90^0 \ (c=0.996)$$

Manila-diol. Aus Aceton Nadeln vom Smp. 220—221°. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum bei 180° sublimiert.

3,684 mg Subst. gaben 10,987 mg CO
$$_2$$
 und 3,733 mg H $_2$ O
$$\begin{array}{cccc} C_{30}H_{50}O_2 & \text{Ber. C 81,39} & \text{H 11,39\%} \\ & \text{Gef. ,, 81,39} & \text{,, 11,34\%} \\ & \left[\alpha\right]_D = +\,68^o \ (c = 1,325) \end{array}$$

Diacetat: Das durch 12-stündiges Stehen bei Zimmertemperatur mit Acetanhydrid-Pyridin hergestellte Diacetat krystallisierte aus Methanol-Wasser in Nadeln vom Smp. 203—204°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 170° sublimiert.

3,711 mg Subst. gaben 10,523 mg CO
$$_2$$
 und 3,407 mg H $_2$ O $C_{34}H_{54}O_4$ Ber. C 77,52 H 10,33% Gef. ,, 77,38 ,, 10,27%
$$\left[\alpha\right]_D = +89^0 \ (c=1,508)$$

¹) Die korrigierten Schmelzpunkte wurden in einer im Hochvakuum evakuierten Kapillare bestimmt. Die optischen Drehungen wurden in Chloroform-Lösung in einem Rohr von 1 dm Länge bestimmt.

 ²) Gearbeitet wurde in Anlehnung an die Vorschrift von Morice und Simpson,
 Soc. 1940, 795.
 ³) Soc. 1940, 795.

Oxydation des Manila-diols mit Chromsäure.

Gearbeitet wurde nach der Vorschrift von Morice und Simpson¹). Das Manila-dion krystallisierte aus Chloroform-Methanol in glänzenden Blättchen vom Smp. 213—214°. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum bei 190° Blocktemperatur sublimiert.

3,790 mg Subst. gaben 11,388 mg CO₂ und 3,620 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{30}H_{46}O_2$ Ber. C 82,14 H 10,57% Gef. ,, 82,00 ,, 10,69% $\left[\alpha\right]_{\rm D} = +53,5^0 \ (c = 1,122)$

Katalytische Reduktion des Manila-dions.

390 mg Manila-dion wurden in 25 cm³ Eisessig gelöst und mit 35 mg Platinoxyd-Katalysator bei Zimmertemperatur hydriert. Nach 65 Minuten (Aufnahme 22,8 cm³ H₂) wurde die Hydrierung abgebrochen, die Lösung vom Platin abfiltriert und zur Trockene eingedampft. Zur Reinigung wurde das Produkt in 30 cm³ Petroläther-Benzol (1:3) gelöst und durch eine Säule aus 11 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) chromatographiert. 100 cm³ Benzol eluierten 30 mg Manila-dion, mit 200 cm³ Benzol-Äther (3:1) erhielt man 360 mg einer aus Chloroform-Methanol in feinen Nadeln krystallisierenden Substanz, die bei 214—215° schmilzt und mit Manila-dion eine starke Schmelzpunktserniedrigung gibt. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 190° sublimiert.

3,684 mg Subst. gaben 11,036 mg CO₂ und 3,556 mg H_2O $C_{30}H_{48}O_2$ Ber. C 81,76 H 10,98% Gef. ,, 81,76 ,, 10,80% $\left[\alpha\right]_D = +43,5^0 \ (c=0,819)$

Es liegt das Manila-onol vor.

Acetylierung. Das mit Acetanhydrid-Pyridin hergestellte Acetat krystallisierte aus Chloroform-Methanol in Nadeln vom Smp. 232—233°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 205° Blocktemperatur sublimiert.

3,576 mg Subst. gaben 10,432 mg CO₂ und 3,298 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{32}H_{50}O_3$ Ber. C 79,61 H 10,44% Gef. ,, 79,61 ,, 10,32% $[\alpha]_{\rm D} = +25^0 \ (c = 1,030)$

Herstellung des Manila-diol-monoacetats.

200 mg Manila-diol werden in 3 cm³ Pyridin gelöst, die Lösung auf 0° abgekühlt und mit 6 cm³ kaltem (0°) Acetanhydrid versetzt. Man lässt 1 Stunde bei 0° und 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen und giesst dann in Eiswasser. Der Niederschlag wird abgenutscht, mit viel Wasser gewaschen, in Äther aufgenommen und die ätherische Lösung wie üblich aufgearbeitet. Das amorphe Acetylierungsprodukt (200 mg) wurde in Petroläther gelöst und die Lösung durch eine Säule aus Aluminiumoxyd (Aktivität II) filtriert. 150 cm³ Petroläther eluierten 45 mg Manila-diol-diacetat. Mit 150 cm³ Petroläthersenzol (3:1) erhielt man 130 mg einer aus Petroläther in feinen Nadeln krystallisierenden Substanz, die mit Manila-diol und Manila-diol-diacetat starke Schmelzpunktserniedrigungen gibt. 100 cm³ Benzol eluierten noch 25 mg Manila-diol. Die Petroläther-Benzol-Fraktion wurde zweimal aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und zur Analyse im Hochvakuum bei 185° Blocktemperatur sublimiert. Smp. 192,5—194°.

3,640 mg Subst. gaben 10,541 mg CO₂ und 3,603 mg H_2O $C_{32}H_{52}O_3$ Ber. C 79,28 H 10,81% Gef. ,, 79,03 ,, 11,08% $\left[\alpha\right]_D = +84^0 \ (c=1,509)$

¹⁾ Soc. 1942, 198.

Oxydation von Manila-diol-monoacetat mit Chromsäure.

100 mg Manila-diol-monoacetat werden in 20 cm³ Eisessig gelöst und bei Zimmertemperatur mit einer Lösung von 20 mg Chromtrioxyd in 1 cm³ Wasser und 2 cm³ Eisessig versetzt. Nach 18 Stunden wurde die überschüssige Chromsäure mit Methanol zerstört, die Lösung zur Trockene eingedampft und wie üblich aufgearbeitet. Das ölige Reaktionsprodukt wurde durch eine Säule aus Aluminiumoxyd (Aktivität I) chromatographiert. 40 cm³ Benzol eluierten 90 mg eines Öls, das beim Bespritzen mit Methanol krystallisiert. Aus Chloroform-Methanol erhält man Nadeln vom Smp. 231—233°.

$$[\alpha]_D = +26^{\circ} (c = 1,150)$$

Es liegt das Keto-acetat vor; es ist nach Schmelzpunkt, Mischprobe und spez. Drehung mit dem oben durch Acetylierung des Keto-alkohols gewonnenen Produkt identisch.

Reduktion des Manila-onols nach Wolff-Kishner.

300 mg Manila-onol wurden mit 2 cm³ Hydrazin und 9 cm³ einer 10-proz. Lösung von Natriummethylat in Methanol während 16 Stunden im Einschlussrohr auf 230° erhitzt. Nach der Aufarbeitung erhielt man 290 mg Krystalle, die durch eine Säule aus 10 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) chromatographiert wurden. Mit 350 cm³ BenzolÄther (3:1) eluierte man 250 mg Nadeln, die nach dreimaligem Umlösen aus Petroläther bei 186—188° schmelzen. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 175° Blocktemperatur sublimiert.

3,747 mg Subst. gaben 11,588 mg CO $_2$ und 3,959 mg $\rm H_2O$ $C_{30}H_{50}O \quad \text{Ber. C 84,44} \quad H \ 11,81\%$ $Gef. \ ,, \ 84,40 \quad ,, \ 11,82\%$ $\left[\alpha\right]_D = +\,87^0 \ (c = 0,929)$

Nach Mischprobe und spez. Drehung liegt das β -Amyrin vor.

Acetat: Aus Chloroform-Methanol, Smp. 239—240°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 205° Blocktemperatur sublimiert.

3,680 mg Subst. gaben 11,024 mg CO₂ und 3,648 mg H₂O $\begin{array}{cccc} C_{32}H_{52}O_2 & \text{Ber. C 81,99} & \text{H 11,18\%} \\ & \text{Gef. },, & 81,75 &,, & 11,09\% \\ & & & & & & & & & \\ [\alpha]_D = +80^0 \text{ (c} = 0,798) \end{array}$

Benzoat: Das mit Benzoylchlorid-Pyridin in Benzol dargestellte Benzoat krystallisiert aus Chloroform-Methanol in Blättchen vom Smp. 232—233°. Nach Mischprobe liegt das β -Amyrin-benzoat vor.

$$\left[\alpha\right]_{\mathrm{D}}=+96^{\circ}$$
 (c = 1,233 in Benzol)

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

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

132. l-Lysyl-glycyl-glycyl-l-glutaminsäure von V. Prelog und P. Wieland.

(22. VI. 46.)

Für Studien, über die wir in einem andern Zusammenhang später berichten wollen, benötigten wir Polypeptide mit einer bestimmten Verteilung der polaren Gruppen. Wir beschreiben in dieser Mitteilung die Synthese eines solchen Polypeptides, der l-Lysyl-glycyl-glycyl-l-glutaminsäure, die wir nach den von M. Bergmann und seinen Mitarbeitern ausgearbeiteten Methoden durchgeführt haben. Sowohl das erwähnte Tetrapeptid als auch die meisten Zwischenprodukte waren bisher unbekannt.

Als Ausgangsprodukt diente der *l*-Glutaminsäure-diäthylester, welcher mit Carbobenzoxy-glycyl-chlorid¹) den Carbobenzoxy-glycyl-*l*-glutaminsäure-diäthylester (Ia)²) gab. Der nach Entfernung des Carbobenzoxy-Restes durch Hydrierung mit Palladium erhaltene Glycyl-*l*-glutaminsäure-diäthylester (Ib) wurde mit Carbobenzoxy-glycyl-chlorid in den Carbobenzoxy-glycyl-glycyl-*l*-glutaminsäure-diäthylester (IIa) übergeführt, aus welchem wieder der Carbobenzoxy-Rest durch Hydrierung mit Palladium entfernt wurde.

Der Glycyl-glycyl-*l*-glutaminsäure-diäthylester (IIb) gab mit Dicarbobenzoxy-*l*-lysyl-azid³) den Dicarbobenzoxy-*l*-lysyl-glycyl-glycyl-*l*-glutaminsäure-diäthylester (IIIa), in welchem zuerst durch Hydrogenolyse die beiden Carbobenzoxy-Reste durch Wasserstoff ersetzt wurden, worauf sich durch Verseifung mit Barium-hydroxyd und Entfernung der Barium-Ionen das freie Tetrapeptid IIIc herstellen liess. Die Verbindung, welche sehr hygroskopisch ist, wurde auch als Di-p-brom-benzoyl-Derivat charakterisiert.

 $\mathbf{I} \ \mathbf{R} \cdot \mathbf{N} \mathbf{H} \cdot \mathbf{C} \mathbf{H}_2 \cdot \mathbf{CO} \cdot \mathbf{N} \mathbf{H} \cdot \mathbf{C} \mathbf{H} (\mathbf{COOR}') \cdot (\mathbf{C} \mathbf{H}_2)_2 \cdot \mathbf{COOR}'$

 $\mathbf{II} \ \mathbf{R} \cdot \mathbf{NH} \cdot \mathbf{CH_2} \cdot \mathbf{CO} \cdot \mathbf{NH} \cdot \mathbf{CH_2} \cdot \mathbf{CO} \cdot \mathbf{NH} \cdot \mathbf{CH} (\mathbf{COOR'}) \cdot (\mathbf{CH_2})_2 \cdot \mathbf{COOR'}$

 $\begin{array}{l} {\rm R\cdot NH\cdot (CH_2)_4\cdot CH(NHR)\cdot CO\cdot NH\cdot CH_2\cdot CO\cdot NH\cdot CH_2\cdot CO\cdot NH\cdot CH(COOR')\cdot (CH_2)_2\cdot COOR'}\\ {\rm III} \end{array}$

a)
$$R = Carbobenzoxy; R' = C_2H_5$$

b) R=H; $R'=C_2H_5$

c) R = H; R' = H

Der Rockefeller Foundation in New York danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

¹⁾ M. Bergmann und L. Zervas, B. 65, 1195 (1932).

²⁾ Die Glycyl-l-glutaminsäure wurde auf einem anderen Wege von E. Fischer, W. Kropp und A. Stahlschmidt, A. 365, 188 (1909) hergestellt.

³⁾ M. Bergmann, L. Zervas und J. P. Greenstein, B. 65, 1694 (1932).

Experimenteller Teil1).

Glycyl-l-glutaminsäure-diäthylester (Ib).

Hydrochlorid. Die Herstellung des Carbobenzoxy-glycyl-l-glutaminsäure-diäthylesters erfolgte durch langsames Eintropfen einer auf 0° abgekühlten Lösung von 4,7 g Carbobenzoxy-glycyl-chlorid²) in 30 cm³ absolutem Äther in eine auf —10° gekühlte Lösung von 9 g l-Glutaminsäure-diäthylester in 40 cm³ trockenem Essigester. Nach halbstündigem Rühren unter Kühlung mit einer Eis-Kochsalz-Mischung wurde noch ³/4 Stunden unter langsamem Erwärmen auf Zimmertemperatur gerührt. Aus der Reaktionslösung krystallisierten über Nacht bei —10° 4,2 g (ber. 4,95 g) l-Glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid vom Smp. 112—113°, welches bisher nicht genauer beschrieben wurde³). Zur Analyse wurde die in farblosen Blättchen krystallisierende, sehr hygroskopische Verbindung aus Essigester umgelöst und bei 85° im Hochvakuum sublimiert.

3,798 mg Subst. gaben 6,272 mg CO₂ und 2,570 mg $\rm H_2O$ $\rm C_9H_{18}O_4NCl$ Ber. C 45,09 H 7,57% Gef. ,, 45,07 ,, 7,57% $\left[\alpha\right]_{\rm D}^{16} = +20,5^{\circ} \ (\pm\ 2^{\circ}) \ (c=1,12\ in\ Wasser)$

Das mit verdünnter Salzsäure, Wasser, Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschene Filtrat hinterliess nach Trocknen und Eindampfen im Vakuum 7,64 g eines farblosen Öles, welches über Nacht in 100 cm³ Feinsprit unter Zusatz von 500 mg Palladium-Schwarz und 1,6 cm³ 12-n. Salzsäure hydriert wurde. Die Aufarbeitung (Abfiltrieren vom Palladium und Eindampfen im Vakuum) führte zu 5,8 g eines farblosen Öles, welches in 30 cm³ Essigester gelöst wurde. Nach einer Stunde Stehenlassen bei —10° wurden die ausgeschiedenen Krystalle abfiltriert, mit Essigester nachgewaschen und 44 Stunden im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet. Ausbeute 5,46 g. Die Verbindung krystallisierte in farblosen Nadeln vom Smp. 116—117°.

 $[\alpha]_D^{17} = -12^0 \ (\pm \ 2^0) \ (c = 0.819 \ in Feinsprit).$

Pikrolonat. 60 mg des Hydrochlorids wurden mit 0,1 cm³ Wasser und 100 mg Kaliumcarbonat versetzt. Nach Ausschütteln mit Essigester, Trocknen und Eindampfen der Lösung der freien Base wurde eine Lösung von 50 mg Pikrolonsäure in Essigester zugegeben, worauf sich das Pikrolonat langsam in moosartigen Krystallen ausschied. Zur Analyse wurde dreimal aus Essigester umgelöst und 48 Stunden bei 40° und 0,01 mm getrocknet, Smp. 172—173°.

3,722 mg Subst. gaben 6,557 mg CO $_2$ und 1,797 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{21}H_{28}O_{10}N_6$ $\rm Ber.~C~48,09~H~5,38\%$ $\rm Gef.~,~48,07~~,~5,40\%$

${\bf Glycyl-} {\it l-glutamins\"{a}ure~(Ic)}.$

80 mg Glycyl-l-glutaminsäure-diäthylester wurden während 3 Stunden mit 2 cm³ 0,375-n. Bariumhydroxyd-Lösung geschüttelt. Nach Entfernung der Barium-Ionen mit der berechneten Menge Schwefelsäure konnte die freie Glycyl-l-glutaminsäure⁴) aus der eingeengten wässerigen Lösung mit Alkohol ausgefällt werden. Das erhaltene gelbliche Pulver wog nach 48-stündigem Trocknen im Hochvakuum bei 95° 40 mg und zeigte ein

$$[\alpha]_{D}^{16} = -5^{\circ} \ (\pm \ 0.6^{\circ}) \ (c = 3.54 \ in \ Wasser)$$

p-Brom-benzoyl-Derivat. Die Herstellung der p-Brom-benzoyl-glycyl-glutaminsäure erfolgte durch $^1/_4$ -stündiges Schütteln einer Lösung von 100 mg Glycyl- 1 -

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

²⁾ M. Bergmann und L. Zervas, B. 65, 1194 (1932).

³) Vgl. B. 44, 1333 (1911); Z. physiol. Ch. 74, 456 (1911).

⁴⁾ Vgl. E. Fischer, W. Kropp und A. Stahlschmidt, A. **365**, 191 (1909): $[\alpha]_D^{20} = -6.1^{\circ}$ ($\pm 0.2^{\circ}$).

glutaminsäure in 1,8 cm³ 1-n. Natronlauge unter Eiskühlung mit 120 mg p-Brom-benzoylchlorid. Nach weiterem 2-stündigem Schütteln bei Zimmertemperatur wurde mit Schwefelsäure versetzt und mit Essigester ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und getrockneten Essigester-Lösungen hinterliessen einen krystallinen Rückstand, welcher zur Entfernung der gebildeten p-Brom-benzoesäure mit Äther behandelt wurde. Das Unlösliche bestand aus 90 mg eines farblosen Pulvers vom Smp. 178—179°. Zur Analyse wurde aus Methanol-Essigester umgelöst und 16 Stunden bei 75° und 0,01 mm getrocknet. Die Verbindung krystallisierte in Nadeln und schmolz bei 183—184°.

 $\label{eq:alpha} \begin{array}{l} [\alpha]_D^{20} = +\,3^0 \ (\pm \, 2^0) \ (c = 0.97 \ \mbox{in Feinsprit}) \\ 3,676 \ \mbox{mg Subst. gaben } 5,860 \ \mbox{mg CO}_2 \ \mbox{und } 1,274 \ \mbox{mg H}_2O \\ C_{14}H_{15}O_6N_2Br \quad \mbox{Ber. C } 43,42 \quad \mbox{H } 3,91\% \\ \mbox{Gef. } , \ 43,50 \quad \mbox{, } 3,88\% \end{array}$

Glycyl-glycyl-l-glutaminsäure-diäthylester (IIb).

Hydrochlorid. Aus 8 g Glycyl-l-glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid wurde die Base mit 4 g Kaliumcarbonat in 3 cm³ Wasser in Freiheit gesetzt und durch wiederholtes Ausschütteln mit Essigester bei 0° isoliert. Die vereinten Essigester-Lösungen hinterliessen nach Eindampfen im Vakuum 7,06 g eines gelblichen Öles, welches in 70 cm³ trockenem Essigester tropfenweise unter Rühren und Kühlen mit einer Eis-Kochsalz-Mischung mit einer Lösung von 6,4 g Carbobenzoxy-glycyl-chlorid in 45 cm³ absolutem Äther versetzt wurde. Gleichzeitig gab man 8 g wasserfreies Kaliumcarbonat in 5 Portionen zu. Nach beendetem Eintropfen wurde noch eine Stunde unter Zusatz von weiteren 8 g Kaliumcarbonat in 5 Portionen bei 0° und anschliessend 2 Stunden unter langsamem Erwärmen auf Zimmertemperatur gerührt. Nach dem Verdampfen der mit Wasser, verdünnter Salzsäure und Wasser gewaschenen und getrockneten Lösung des Reaktionsproduktes blieben 8,88 g eines gelben Öles zurück.

Dieses wurde in 100 cm³ Feinsprit unter Zusatz von 1,64 cm³ 12-n. Salzsäure und 600 mg Palladium-Schwarz über Nacht hydriert. Die übliche Aufarbeitung führte nach Umlösen aus Alkohol-Essigester zu 4,8 g Glycyl-glycyl-l-glutaminsäure-diäthylesterhydrochlorid vom Smp. 174—174,5°. Aus den Mutterlaugen wurden noch 400 mg eines weniger reinen Produktes vom Smp. 160—161° erhalten. Die Verbindung krystallisierte aus Alkohol-Essigester in feinen Nadeln.

$$[\alpha]_{D}^{17} = -16,5^{\circ} (\pm 1,5^{\circ}) (c = 1,28 \text{ in Feinsprit})$$

Das Pikrolonat, welches aus 28 mg der freien Base und 25 mg Pikrolonsäure hergestellt wurde, schmolz bei 158,5—159,5°. Zur Analyse wurde aus Alkohol-Essigester umgelöst und 40 Stunden bei 45° und 0,02 mm getrocknet.

3,750 mg Subst. gaben 6,496 mg CO₂ und 1,787 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{23}H_{31}O_{11}N_7$ Ber. C 47,50 H 5,37% Gef. ,, 47,27 ,, 5,33%

Dicarbobenzoxy-l-lysyl-glycyl-glycyl-l-glutaminsäure-diäthylester (IIIa).

Die Herstellung von Dicarbobenzoxy-l-lysyl-azid¹) erfolgte durch Auflösen von 5,45 g Dicarbobenzoxy-l-lysyl-hydrazid in 20 cm³ Eisessig und Eingiessen in eine Lösung von 6 cm³ konz. Salzsäure in 100 cm³ Wasser, worauf die klare Lösung auf 0° abgekühlt, mit 100 cm³ Äther überschichtet und bei —3° unter starkem Umschwenken mit einer Lösung von 1,2 g Natriumnitrit in 20 cm³ Wasser tropfenweise innert 5 Minuten versetzt wurde. Unmittelbar darauf schieden sich in der ätherischen Schicht gallertige Flocken aus. Nach Wassen der ätherischen Lösungen mit Wasser, bis die wässerigen Auszüge nicht

¹⁾ M. Bergmann, L. Zervas und J. P. Greenstein, B. 65, 1694 (1932).

mehr kongosauer reagierten, wurde kurz mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und mit absolutem Äther nachgewaschen. Die filtrierte ätherische Lösung, welche das Dicarbobenzoxy-l-lysyl-azid enthielt, wurde sofort für die weitere Umsetzung verwendet. Der Filterrückstand enthielt neben dem zugesetzten Natriumsulfat das als Nebenprodukt entstandene Dicarbobenzoxy-l-lysyl-amid (vgl. weiter unten).

Aus 4,5 g Glycyl-glycyl-l-glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid, 2 g Kalium-carbonat und 6 cm³ Wasser wurden durch mehrmaliges Ausschütteln mit Essigester bei 0° nach Trocknen und Eindampfen der Essigester-Lösungen 4,1 g des freien öligen Tripeptid-esters erhalten. In die auf 0° abgekühlte Lösung der Base in 600 cm³ trockenem Essigester wurde die ätherische Dicarbobenzoxy-l-lysyl-azid-Lösung (vgl. oben) unter starkem Rühren innert 20 Minuten eingetropft. Nach 2-stündigem Rühren bei 0° liessen wir die Reaktionslösung über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Der Rückstand, welcher nach Wassehen mit verdünnter Salzsäure, Wasser, 5-proz. Kaliumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser, Trocknen und Eindampfen erhalten wurde, krystallisierte aus Alkohol-Essigester langsam in Form farbloser Flocken vom Smp. 131—132° aus. Ausbeute 3,9 g. Zur Analyse wurde aus Alkohol-Essigester bis zum konstanten Smp. 134—135° umgelöst und 16 Stunden bei 70° und 0,02 mm getrocknet.

$$\begin{array}{c} [\alpha]_D^{17} = -\,9.5^{\circ} \ (\pm\,1.5^{\circ}) \ (c=1.47 \ in \ Feinsprit) \\ 3,864 \ mg \ Subst. \ gaben \ 8,329 \ mg \ CO_2 \ und \ 2,320 \ mg \ H_2O \\ C_{35}H_{47}O_{11}N_5 \qquad & Ber. \ C\ 58,89 \ H\ 6,64\% \\ Gef. \ , \ 58,82 \ \ , \ 6,72\% \end{array}$$

Der durch Waschen mit Wasser vom Natriumsulfat befreite Filterrückstand, der bei der Herstellung des Dicarbobenzoxy-l-lysyl-azids entstanden war, wog 2,88 g und schmolz bei 150—153°. Zur Analyse wurde bis zum konstanten Smp. von 155—155,5° aus Alkohol umgelöst und 14 Stunden im Hochvakuum bei 60° getrocknet. Die Verbindung krystallisierte in verfilzten Nadeln. Mit einem nach Bergmann und Mitarbeitern hergestellten Dicarbobenzoxy-l-lysyl-amid (Smp. 153—154°, $\begin{bmatrix} \alpha \end{bmatrix}_D^{16} = 0° \ (\pm 2°) \ (c = 1,04 \text{ in Pyridin})^1)$ wurde keine Schmelzpunktserniedrigung beobachtet.

Die Umsetzung von Dicarbobenzoxy-l-lysyl-chlorid²) mit Glycyl-glycyl-l-glutaminsäure-diäthylester in Essigester unter Zusatz von Kaliumcarbonat führte zu einem unreineren Produkt in geringerer Ausbeute. Aus 700 mg Dicarbobenzoxy-l-lysin²) und 650 mg Glycyl-glycyl-l-glutaminsäure-diäthylester-hydrochlorid wurden 230 mg Dicarbobenzoxy-l-lysyl-glycyl-glycyl-glutaminsäure-diäthylester vom Smp. 123—124,5° erhalten.

l-Lysyl-glycyl-glycyl-l-glutaminsäure (IIIc).

3,4 g Dicarbobenzoxy-l-lysyl-glycyl-glycyl-l-glutaminsäure-diäthylester wurden unter Zusatz von 800 mg Palladium-Schwarz und 4,8 cm³ 1,98-n. Schwefelsäure in 100 cm³ Feinsprit über Nacht hydriert. Nach üblicher Aufarbeitung (Abfiltrieren vom Katalysator, Nachwaschen mit Feinsprit und Eindampfen im Vakuum) erfolgte die Verseifung des erhaltenen Öles durch 4-stündiges Stehenlassen mit 52 cm³ 0,375-n. Bariumhydroxyd-Lösung. Anschliessend wurde mit 5,05 cm³ 1,98-n. Schwefelsäure versetzt, vom Bariumsulfat

¹⁾ M. Bergmann, L. Zervas und W. F. Ross, J. Biol. Chem. III, 260 (1935), geben Smp. 155° an.

²) M. Bergmann, L. Zervas, H. Rinke und H. Schleich, Z. physiol. Ch. 224, 31 (1934); M. Bergmann, L. Zervas und W. F. Ross, J. Biol. Chem. 111, 249 (1935).

abzentrifugiert, auf 25 cm³ eingeengt und erneut zentrifugiert. Darauf wurde im Vakuum auf ein kleines Volumen eingedampft, mit absolutem Alkohol überschichtet und nach 2 Tagen abfiltriert. Das erhaltene farblose, körnige Pulver wog nach 16-stündigem Trocknen im Hochvakuum bei 80° 1,8 g. Zur Analyse wurde eine kleine Menge des Tetrapeptides in wenig Wasser gelöst, mit Aktivkohle kurz erwärmt, filtriert und mit absolutem Alkohol versetzt. Die sehr hygroskopische Verbindung zeigte nach 120-stündigem Trocknen im Hochvakuum bei 50° und 2-stündigem Trocknen bei 80° den gleichen unscharfen Schmelzpunkt wie das Rohprodukt, welches sich beim Erhitzen langsam zersetzte, um bei 180° vollständig zu schmelzen.

Di-(p-brom-benzoyl-)-l-lysyl-glycyl-glycyl-l-glutaminsäure.

Die Herstellung der Di-(p-brom-benzoyl-)-l-lysyl-glycyl-glycyl-l-glutaminsäure erfolgte durch 2-stündiges Schütteln einer Lösung von 93 mg l-Lysyl-glycyl-glycyl-glutaminsäure in 1 cm³ 1-n. Natronlauge mit 130 mg p-Brom-benzoylchlorid. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 113 mg einer Verbindung vom Smp. 194° erhalten, welche aus Feinsprit in Rosetten krystallisierte. Das analysenreine Präparat schmolz nach 6-stündigem Trocknen bei 75° im Hochvakuum bei 198—200°.

 $\begin{array}{c} [\alpha]_D^{20} = -\,4.5^0 \ (\pm\,3^0) \ (c = 0.657 \ in \ Pyridin) \\ 3,802 \ mg \ Subst. \ gaben \ 6,406 \ mg \ CO_2 \ und \ 1,547 \ mg \ H_2O \\ C_{29}H_{33}O_9N_5Br_2 \qquad Ber. \ C\ 46,11 \quad H\ 4,40\% \\ Gef. \ , \ 45,98 \qquad , \ 4,55\% \end{array}$

Di-(p-brom-benzoyl-)-l-lysyl-glyein.

Aus 99,7 mg l-Lysyl-glycin-sulfat¹), 160 mg p-Brom-benzoylchlorid und 2 cm³ 1-n. Natronlauge wurden, wie bei der Herstellung der p-Brom-benzoyl-glycyl-l-glutaminsäure beschrieben, 80 mg Di-(p-brom-benzoyl)-l-lysyl-glycin erhalten. Die Verbindung schmolz nach viermaligem Umkrystallisieren aus Methanol-Essigester bei 186,5—187,5°. Zur Analyse wurde 16 Stunden bei 80° und 0,01 mm getrocknet.

 $\begin{array}{c} [\alpha]_D^{20} = -\,14^0 \ (\pm \, 2^0) \ (c = 1,\!02 \ in \ Feinsprit) \\ 3,\!864 \ mg \ Subst. \ gaben \ 6,\!558 \ mg \ CO_2 \ und \ 1,\!437 \ mg \ H_2O \\ C_{22}H_{23}O_5N_3Br_2 & Ber. \ C \ 46,\!41 & H \ 4,\!07\% \\ Gef. \ , \ 46,\!32 & , \ 4,\!16\% \end{array}$

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

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

¹⁾ M. Bergmann, L. Zervas, H. Rinke und H. Schleich, Z. physiol. Ch. 224, 32 (1934).

133. Synthese von d, l- β , γ -Dihydro-lavandulol von H. L. Simon¹), Ad. Kaufmann, jr.¹), und H. Schinz. (22. VI. 46)

Lavandulol, ein vor einigen Jahren aus dem Öl von Lavandula vera isolierter Monoterpenalkohol²) der Formel II³) ist dem schon viel länger bekannten und stärker verbreiteten Geraniol (I) in mancher Beziehung sehr ähnlich. Da auch die α, β -Dihydroverbindung des Geraniols, das Citronellol (III), ein wichtiger Bestandteil vieler ätherischer Öle ist, war es von Interesse, auch ein Hydrolavandulol darzustellen, in welchem die der Hydroxylgruppe näherliegende, d. h. in diesem Falle β, γ -ständige Doppelbindung abgesättigt ist. Ein solcher Alkohol würde die Konstitution entsprechend Formel IV besitzen.

Die partielle katalytische Hydrierung schien zur Erreichung dieses Zieles auf Grund von früher ausgeführten Versuchen⁴) nicht geeignet. Deshalb stellten wir die Verbindung in ihrer Racematform synthetisch dar. Zu diesem Zwecke wurden drei verschiedene Wege ausprobiert. Nur der zuerst beschriebene (A) führte zum Ziel, während der zweite (B) eine isomere Dihydroverbindung (V) und der dritte (C) infolge sekundärer Reaktionen einen um zwei Wasserstoffatome ärmeren Alkohol (VI) lieferte, der ein Isomeres des Lavandulols darstellt.

A. 2, 6-Dimethyl-5-oxymethyl-hepten-(2) (IV) $(\beta, \gamma$ -Dihydro-lavandulol).

Isoprenhydrobromid (VII) wurde mit Natrium-isopropyl-malonester in Diäthylcarbonat⁵) zum Isopentenyl-isopropyl-malonester (VIII) kondensiert. Die daraus durch Verseifen gewonnene Säure

¹⁾ Siehe auch die demnächst im Druck erscheinenden Dissertationen von H. L. Simon und Ad. Kaufmann.

²) H. Schinz und C. F. Seidel, Helv. 25, 1572 (1942). Der gleiche Alkohol wurde später von Y. R. Naves, Helv. 28, 1220 (1945) im Öl des sogenannten "Lavandin", einem Bastard von Lavendel und Spik, nachgewiesen.

³⁾ H. Schinz und J.-P. Bourquin, Helv. 25, 1591 (1942).

⁴⁾ H. Schinz und C. F. Seidel, Helv. 25, 1575, 1584 (1942).

⁵) Nach der Methode von V. H. Wallingford, M. A. Thorpe und A. H. Homeyer, Am. Soc. 64, 580 (1942).

lieferte bei der Decarboxylierung Isopentenyl-isopropyl-essigsäure (Dihydro-lavandulylsäure) (IX). Deren Ester (X) ergab bei der Reduktion mit Natrium und Alkohol die gewünschte Verbindung 2,6-Dimethyl-5-oxymethyl-hepten-(2) (IV).

Das so erhaltene racemische β, γ -Dihydro-lavandulol liegt vollständig in der Terpinolenform vor, denn bei der Ozonisation wurde an flüchtigen Spaltprodukten nur Aceton gebildet. Die neue Verbindung zeigt den gleichen Siedepunkt von ca. 95° (12 mm) wie Lavandulol. Sie besitzt praktisch gleiche Dichte und Refraktion wie Citronellol:

$$\begin{array}{lll} \mbox{Dihydro-lavandulol synth.} & d_{4}^{18}=0,8603 & & n_{D}^{18}=1,4572 \\ \mbox{Citronellol nat\"url.}^{1}) & d_{4}^{18}=0,859 & & n_{D}^{18}=1,4576 \end{array}$$

Das Allophanat schmilzt bei 121—122°. Bei der katalytischen Hydrierung liefert der Alkohol unter Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff Tetrahydro-lavandulol, welches durch das bereits bekannte Allophanat²) vom Smp. 99—100° identifiziert wurde.

Das β, γ -Dihydro-lavandulol zeigt Geraniengeruch. Die Duftnuance des Acetats liegt zwischen derjenigen der Essigsäure-ester von Lavandulol und Citronellol.

B. 2, 6-Dimethyl-5-oxymethyl-hepten-(3) (V) (Isomeres des
$$\beta$$
, γ -Dihydro-lavandulols).

1. β -Methyl-crotonaldehyd (XI) und α -Brom-isovaleriansäureester wurden in Gegenwart von Zink zum Oxyester (XII) kondensiert und daraus mit Phosphortribromid und Pyridin (ohne Isolierung des Bromids XIII) der zweifach ungesättigte Ester XIV dargestellt.

²⁾ Racemisches Tetrahydro-lavandulol war früher durch Hydrieren von reinem synth. Iso-lavandulol erhalten worden, vgl. H. Schinz und J.-P. Bourquin l. c.

¹) Doeuvre, Bl. [5] 7, 139 (1940). Die Daten beziehen sich auf ein besonders gereinigtes l-Citronellol von $\alpha^{578} = -2,15^{\circ}$, das zu mindestens 99% aus der Terpinolenform besteht und dessen Allophanat bei $106-107^{\circ}$ schmilzt. Man begegnet in der Literatur oft Daten, welche von den hier angegebenen z. T. erheblich in beiden Richtungen abweichen. Es dürfte sich dabei wohl um ungenügend gereinigte Produkte handeln.

Da bei dieser Verbindung die Estergruppe und die beiden Doppelbindungen ein doppelt konjugiertes System darstellen, war zwar aus Analogiegründen¹) zu erwarten, dass sich bei der Reduktion mit Natrium und Alkohol als Hauptprodukt die trans-Form²) von 2,6-Dimethyl-5-oxymethyl-hepten-(3) (V) und daneben nur wenig β , γ -Dihydro-lavandulol (IV) bilden würde.

2. Das gleiche Resultat lieferte aber auch folgende Variante, bei welcher das nicht bestimmt vorauszusehen war. Das Bromid (XIII) wurde hier isoliert und daraus das Halogen mit Zink und Eisessig reduktiv entfernt. Der so entstandene ungesättigte Ester ergab bei der Reduktion mit Natrium und Alkohol ebenfalls als Hauptprodukt den Alkohol V; der Ester musste also die Konstitution XV besitzen.

Der sowohl nach 1 wie auch nach 2 erhaltene Alkohol V liefert ein Allophanat vom Smp. 143—144°. Die tiefer schmelzenden Anteile aus den Mutterlaugen dürften aus Gemischen der Derivate des Alkohols V und β, γ -Dihydro-lavandulol (IV) bestehen. Bei der Hydrierung erhält man Tetrahydro-lavandulol wie bei A.

C. 2,6-Dimethyl-5-oxymethyl-heptadien-(1,3) (VI) (Isomeres des Lavandulols).

 β, γ -Dihydro-lavandulol müsste sich auch durch Reduktion des Isolavandulylsäure-esters (XVIII)³) mit Natrium und Alkohol ge-

¹⁾ L. Ruzicka und H. Schinz, Helv. 17, 1605 (1934). Sorbinsäure-ester gibt bei der gleichen Behandlung β , γ -Hexenol neben nur wenig des γ , δ -Isomeren.

²) L. Ruzicka, H. Schinz und B. P. Susz, Helv. 27, 1561 (1944). Für β, γ -Hexenol wurde die trans-Form mit Hilfe des Raman-Spektrums bewiesen.

 $^{^3}$) Isolavandulylsäure = die dem Isolavandulol von H. Schinz und J.-P. Bourquin, l. c., entsprechende Säure.

winnen lassen. Wir versuchten die Darstellung dieser Substanz auf zwei Arten, wovon die erste vollständig versagte, die zweite einen abnormalen Verlauf nahm.

1. Aus Isopren-hydrobromid (VII) und Natrium-malonester wurde Isopentenyl-malonester (XVI) dargestellt. Dieser sollte durch partielle Umsetzung mit Methyl-magnesiumjodid in den Oxyester XVII übergeführt werden. Bei der Wasserabspaltung müsste sich daraus der Isolavandulylsäure-ester (XVIII) bilden. Diese Synthese scheiterte daran, dass sich der Isopentenyl-malonester mit dem Grignard'schen Reagens überhaupt nicht umsetzen liess¹).

2. Die aus Isopentenyl-malonester (XVI) durch Verseifen und Decarboxylieren erhältliche Isoheptenylsäure (XIX) wurde über das Säurechlorid in α, γ, δ -Tribrom-isoheptansäure-ester (XX) übergeführt. Durch Kondensation mit Aceton nach Reformatzky in Gegenwart von überschüssigem Zink²) sollte daraus der Oxyester (XVII)

¹⁾ Nach H. Hepworth, Soc. 1919, 1203, lässt sich beim einfachen Malonester sowie beim Diäthyl-malonester eine partielle Grignard'sche Reaktion an der einen Estergruppe mit 2,5 Mol Methyl- oder Äthyl-magnesiumbromid sehr wohl erreichen. Bei Anwesenheit längerkettiger Substituenten, wofür die Autoren keine Beispiele angeben, scheint also nach unseren Erfahrungen der Malonester — auch in siedendem Benzol und Toluol — seine Reaktjonsfähigkeit eingebüsst zu haben.

²⁾ W. Treff und H. Werner, B. **68**, 640 (1935) kondensierten auf diese Weise α, γ, δ -Tribrom-önanthsäure-ester (aus γ, δ -Heptensäure gewonnen) mit Lävulinsäure-ester. Dabei reagierte das α -Bromatom in normaler Weise mit der Carbonylkomponente, während gleichzeitig durch überschüssiges Zink die vicinalen Halogenatome in γ - und δ -Stellung unter Wiederherstellung der Doppelbindung entfernt wurden. Vgl. auch L. Ruzicka, F. Lardon und P. Treadwell, Helv. **26**, 674 (1943).

und aus diesem wie bei 1 der Dihydro-lavandulylsäure-ester (XVIII) erhalten werden. Das δ-ständige, tertiär gebundene Bromatom erwies sich jedoch als so locker gebunden, dass während der Reaktion in siedendem Äther Abspaltung von Halogenwasserstoff eintrat. Da dadurch die Kondensation gestört wurde, neutralisierten wir das Gemisch jeweils mit kleinen Mengen Pyridin. Dadurch wurde aber auch die Abspaltung des durch die neuentstandene Doppelbindung reaktionsfähig gewordenen y-Bromatoms in Form von Halogenwasserstoff bewirkt, und es resultierte ein Oxyester XXI, der nur noch geringe Mengen Brom enthielt. Bei der Wasserabspaltung mit Phosphortribromid und Pyridin wurden gleichzeitig die letzten Reste Brom als Halogenwasserstoff eliminiert und man erhielt den Trienester XXII. Dieser lieferte bei der Reduktion nach Reformatzky einen Alkohol C₁₀H₁₈O, d. h. ein Isomeres des Lavandulols, dem die Konstitution eines 2,6-Dimethyl-5-oxymethyl-heptadiens-(1,3) zukommen muss (VI). Die beiden Doppelbindungen befinden sich bei dem neuen Alkohol in konjugierter Lage.

An der zur Hydroxylgruppe β , γ -ständigen Doppelbindung ist cis, trans-Isomerie möglich. Erfahrungsgemäss erhält man bei Abspaltung von Halogenwasserstoff immer ein Gemisch der beiden möglichen Isomeren. In der Tat lieferte die neue Verbindung ein uneinheitliches Allophanat. Der schwerstlösliche Anteil, der das Derivat der trans-Form darstellen dürfte, schmilzt konstant bei $114-116^{\circ}$. Aus den Mutterlaugen wurden Präparate mit Schmelzpunkten bis auf 80° hinunter erhalten, die aus Gemischen der beiden stereoisomeren Formen bestehen.

Ein Allophanat vom Smp. $110-120^{\circ}$ weist eine zwischen den Wellenlängen 320 und 220 m μ , ein anderes vom Smp. $78-80^{\circ}$ eine von 380-220 m μ ansteigende U.V.-Absorptionskurve auf. Bei 220 m μ beträgt $\log \varepsilon$ im erstern Fall 3,4, im zweiten 3,1. Ein Maximum tritt in diesem Messbereich noch nicht auf.

Wir danken der Firma Firmenich & Cie. in Genf für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil1).

A. 2,6-Dimethyl-5-oxymethyl-hepten-(2) (IV).

Ad. Kaufmann.

Ausgangsmaterialien.

Isopren-hydrobromid. Diese Substanz gewinnt man statt durch Anlagerung von 1 Mol Bromwasserstoff an Isopren vorteilhafter durch Bromierung von Dimethylvinylcarbinol (sog. tertiärer Isoprenalkohol)²). Bei der Bromierung tritt Allylumlagerung ein. Das Dimethyl-vinylcarbinol wurde durch 5-stündiges Kochen mit gebranntem Kalk vollständig entwässert. Es zeigt dann den Sdp. 94—96° (720 mm). Ein Gemisch aus 60 g des so behandelten Carbinols und 60 cm³ tiefsiedendem Petroläther wurde im Laufe von

¹⁾ Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

²⁾ Nach einer Vorschrift von C. F. Seidel (Privatmitteilung).

80 Minuten unter Turbinieren zu einer auf -15° gekühlten Lösung von 69 g Phosphortribromid (entsprechend 10% Überschuss) in $70~\rm cm^3$ Petroläther zufliessen gelassen. Hierauf rührte man zwei weitere Stunden in der Kältemischung weiter und liess über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Dann wurde die Petroläther-Lösung abgegossen und im Widmer-Kolben direkt destilliert. Man erhielt neben $10~\rm g$ Vorlauf vom Sdp. $70-80^{\circ}$ ($150~\rm mm$) $84,5~\rm g$ (entsprechend 80% der Theorie) reines primäres Bromid vom Sdp. $82-83^{\circ}$ ($150~\rm mm$). Das Isopren-hydrobromid wird bei Berührung mit Wasser rasch zersetzt.

Isopropyl-malonester. 23 g Natriumpulver unter 150 cm³ absolutem Äther wurden mit 60 cm³ absolutem Alkohol ins Äthylat verwandelt, der Äther hierauf vollständig verdampft und eine Lösung von 160 g Malonsäure-diäthylester in 200 cm³ absolutem Alkohol im Laufe von 1½ Stunden zugetropft. Auf diese Weise erhält man eine konzentriertere Lösung, als wenn man wie üblich das Natrium direkt in Alkohol auflöst. Dann wurde mit 17 g pulverisiertem und frisch getrocknetem Natriumjodid versetzt, allmählich 160 g Isopropylbromid (= ca. 20 % Überschuss) zugetropft und 70 Stunden zum Sieden erhitzt. Das nunmehr neutral reagierende Reaktionsgemisch wurde vom Natriumbromid abdekantiert, der Alkohol im Vakuum grösstenteils abgesaugt und die verbleibende Lösung mit Wasser und Äther aufgearbeitet. Ausbeute 131 g Isopropyl-malonester vom Sdp. 97—98° (14 mm) und 9 g ebenfalls noch ziemlich reines Produkt vom Sdp. 98—104° (14 mm).

Isopentenyl-isopropyl-malonester (VIII).

6 g Natrium wurden in 100 cm3 absolutem Alkohol gelöst und darauf der Alkohol unter Steigerung der Aussentemperatur bis 170° (40 mm) im Vakuum abgesaugt. Nach dem Abkühlen wurde ein Gemisch, bestehend aus 53 g Isopropyl-malonester und 110 g mit Calciumchlorid getrocknetem Diäthylcarbonat1) vom Sdp. 121-1230 (720 mm) auf einmal zugesetzt und das Ganze kurz von Hand geschüttelt, bis vollständige Lösung eingetreten war. Hierauf wurde das Gemisch unter Verwendung einer einfachen Widmer-Kolonne, zur Entfernung des bei der Kondensation aus dem Äthylat freigesetzten Alkohols, bei 18 mm allmählich bis auf 50° Aussentemperatur erhitzt. Dann begann auch das Diäthylcarbonat zu destillieren, von dem etwa 30 cm3 entfernt wurden. Man goss die Lösung darauf in einen Dreihalskolben um und versetzte sie unter lebhaftem Rühren im Verlaufe einer Stunde mit 44 g Isoprenhydrobromid (entsprechend 15% Überschuss). Nach Stehenlassen über Nacht bei Zimmertemperatur wurde das Gemisch während 4¹/₉ Stunden auf 100—110° Ölbadtemperatur erhitzt (Innentemperatur 95—103°). Diese Temperatur darf nicht überschritten werden. Der Kolbeninhalt wurde nach dem Erkalten in ca. 150 cm3 Wasser eingegossen, Äther zugesetzt, die Schichten hierauf getrennt und die Ätherlösung zweimal mit Wasser gewaschen. Der Rückstand der Ätherlösung ergab nach zweimaligem Fraktionieren im Vigreux-Kolben 53,4 g (entsprechend 73% der Theorie) Isopentenyl-isopropyl-malonester vom Sdp. 80—82° (0,07 mm). Eine Analysenfraktion vom Sdp. 77° (0,04 mm) zeigte

 $\begin{array}{c} d_4^{18} = 0.9810; \; n_D^{18} = 1.4510; \; M_D \; \; \text{ber. für C_{15}H}_{26}O_4 \;\; \stackrel{\scriptscriptstyle [=}{\scriptscriptstyle =} \; 74.31 \;\;\; \text{gef. } 74.16} \\ 3.292 \; \text{mg Subst. gaben } 7.991 \; \text{mg CO_2 und } 2.787 \; \text{mg H_2O} \\ & C_{15}\text{H}_{26}O_4 \;\;\; \text{Ber. C } 66.63 \;\; \text{H } 9.69\% \\ & \text{Gef. } ,, \; 66.24 \;\;\; ,, \; 9.47\% \end{array}$

Isopentenyl-isopropyl-essigsäure (IX).

Verseifung des Malonesters. 52,8 g Isopentenyl-isopropyl-malonester wurden durch 12-stündiges Kochen unter Rückfluss mit einer Lösung von 35 g KOH (entsprechend 50% Überschuss) in 220 cm³ Methanol verseift. Die Lösung wurde hierauf in eine Schale gegossen, der Alkohol verdunstet und der Rückstand in Wasser gelöst. Die alkalische Lösung wurde durch Ausziehen mit Äther von Spuren Neutralsubstanz befreit. Die beim Ansäuern mit überschüssiger Salzsäure in Freiheit gesetzte Malonsäure wurde durch dreimaliges Ausschütteln mit Äther praktisch quantitativ gewonnen.

¹⁾ Nach Wallingford, l. c.

Decarboxylierung der Malonsäure. Die Rohsäure wurde durch Erhitzen bei 12 mm auf 160—170° im Claisen-Kolben decarboxyliert. Die Monocarbonsäure destillierte zwischen 130 und 140° (Hauptmenge 136°) über. Nach nochmaliger Destillation im Vigreux-Kolben im Hochvakuum wurde die Säure rein erhalten. Sdp. 75° (0,02 mm); Ausbeute 20g.

Veresterung der Monocarbonsäure. Die Säure ist infolge sterischer Hinderung zienlich schwer zu verestern. Versuche mit alkoholischer Schwefelsäure sowie mit Dimethylsulfat ergaben unbefriedigende Resultate. Deshalb wurde die Substanz in ätherischer Lösung mit Diazomethan in den Methylester übergeführt. Aus 16,5 g Säure wurden 15,7 g Methylester vom Sdp. 84° (12 mm) erhalten.

2,6-Dimethyl-5-oxymethyl-hepten-(2) (IV).

Reduktion nach Bouveault. 7,9 g Isopentenyl-isopropyl-essigsäure-methylester wurden in 60 cm³ absolutem Alkohol gelöst, das Gemisch zum Sieden des Lösungsmittels erhitzt und in Portionen 7,8 g Natrium eingetragen. Während der Zugabe des Metalls wurden weitere 65 cm³ absoluten Alkohols zufliessen gelassen. Die Zugabe des Natriums und des Alkohols wurde so reguliert, dass das Gemisch immer in heftigem Sieden blieb. Es wurde dafür Sorge getragen, dass die Ölbadtemperatur 95° nicht überstieg, da bei höherer Temperatur unter dem Einfluss des Natriumäthylats Anlagerung von Alkohol an die Doppelbindung eintreten kann¹). Nach ca. 15 Minuten war alles Natrium aufgelöst. Dann wurden 5 cm³ Wasser zugesetzt und 1/2 Stunde zur Verseifung unangegriffenen Esters weiter erhitzt. Dann wurde mit Wasserdampf zuerst der Äthylalkohol und hierauf die Substanz abgeblasen. Aus dem gesondert aufgefangenen Äthylalkohol wurden nach fraktionierter Destillation mit einem doppelten Widmer-Aufsatz noch ca. 0,5 g Substanz gewonnen. Im ganzen erhielt man auf diese Weise 2,9 g β,γ-Dihydro-lavandulol. Zur weiteren Reinigung wurde die Substanz in der doppelten Menge Benzol gelöst und mit 1,5 Mol Phthalsäure-anhydrid 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Die erhaltene Phthalestersäure wurde mit 20-proz. Kalilauge verseift. Der erhaltene Alkohol zeigte:

ø

ú

S,

Sign

in the

ş

lyn

10

Allophanat. 400 mg Alkohol wurden mit 30-proz. absoluter ätherischer Cyansäure-Lösung ins Allophanat verwandelt. Das Derivat schmolz nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol konstant bei 121—122°.

3,753 mg Subst. gaben 8,180 mg CO
$$_2$$
 und 3,089 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{12}H_{22}O_3N_2$ $\rm Ber.$ C 59,48 $\rm H$ 9,15% $\rm Gef.$,, 59,47 $\rm ,,$ 9,21%

Ozonisation. 300 mg des Alkohols wurden in 5 cm³ Tetrachlorkohlenstoff bis zur Brombeständigkeit ozonisiert. Der Gasstrom wurde nach dem Passieren der Substanzlösung durch ein mit Wasser gefülltes Präparatenröhrchen geleitet, um während der Ozonisation bereits in flüchtiger Form entweichende Spaltprodukte festzuhalten. Nach

¹⁾ L. Ruzicka und H. Schinz, Helv. 17, 1603 (1934).

Absaugen des Lösungsmittels wurde das Ozonid durch Erhitzen mit 3 cm3 Wasser zersetzt. Dann wurde das Wasser bei gewöhnlichem Druck abdestilliert. Während dieser Operation sublimierten Krystalle von Aceton-peroxyd in Kolbenhals und Entbindungsrohr. Das abdestillierte Wasser lieferte mit p-Nitrophenylhydrazin-hydrochlorid reichliche Krystalle von Aceton-p-nitrophenylhydrazon, das nach einmal Umkrystallisieren aus Methanol bei 1460 schmolz und durch Mischprobe mit einem um 10 höher schmelzenden Präparat identifiziert wurde. Formaldehyd liess sich in dem Wasser von der Ozonidzersetzung wie auch in dem während der Ozonisation verwendeten Nachschaltrohr nur in Spuren (weniger als 1%) als Dimedon-Verbindung nachweisen.

Hydrierung. 300 mg des Alkohols wurden in 3 cm3 Eisessig in Gegenwart von 10 mg Platinoxyd hydriert. Im Verlauf von 3/4 Stunden wurde 1 Mol Wasserstoff aufgenommen. Das gegen Tetranitromethan gesättigte Produkt wurde destilliert und ins Allophanat verwandelt, welches nach zweimaligem Umkrystallisieren konstant bei 99-100° schmolz. Die Mischprobe mit einem Präparat aus Tetrahydro-lavandulol (letzteres aus reinem, synthetischem Iso-lavandulol¹) gewonnen) ergab keine Schmelzpunktserniedrigung.

> 3,662 mg Subst. gaben 7,916 mg CO. und 3,236 mg H2O $C_{12}H_{24}O_3N_2$ Ber. C 58,99 H 9,90% Gef. ,, 58,99 ,, 9,89%

Acetat. 0,5 g des Alkohols wurden mit 0,4 g Acetylchlorid und 0,4 g Pyridin in 10 cm³ absolutem Äther ½ Stunde am Rückfluss gekocht. Nach Aufarbeiten mit Wasser und Äther, Auswaschen mit verdünnter Salzsäure, Wasser und zuletzt verdünnter Natronlauge wurden 0,5 g Acetat vom Sdp. 97-99° (12 mm) erhalten.

B. 2,6-Dimethyl-5-oxymethyl-hepten-(3) (V).

H. L. Simon.

Kondensation von β-Methyl-crotonaldehyd mit α-Brom-isovaleriansäureester zum Oxyester XII.

Ausgangsmaterialien. Der β-Methyl-crotonaldehyd wurde nach F. G. Fischer²) dargestellt. Isomerenfreie Isovaleriansäure gewann man ausgehend von Isopropyljodid durch Malonester-Synthese.

Reformatzky-Kondensation. Auf 4,2 g mit Jod aktivierte Zinkspäne liess man eine Lösung von 12,5 g α -Brom-isovaleriansäure-ester und 5,1 g β -Methyl-crotonaldehyd (sog. Isoprenaldehyd) in 25 cm³ Benzol zutropfen. Nachdem alles eingetragen war, wurde zur Vervollständigung der Reaktion noch 1 Stunde erhitzt. Man erhielt 9,2 g rohen Oxyester vom Sdp. 120—122° (11 mm). Eine Zwischenfraktion vom Sdp. 121—122° wurde analysiert.

3,750 mg Subst. gaben 9,265 mg CO_2 und 3,462 mg H_2O $\mathbf{d}_{4}^{20}=0.9800;\;\mathbf{n}_{D}^{20}=1.4626;\;\mathbf{M}_{D}\;\;\text{ber. für}\;\;\mathbf{C}_{12}\mathbf{H}_{22}\mathbf{O}_{3}\;\;|_{\overline{1}}^{\overline{1}}\;\;60.32\;\;\;\text{gef.}\;\;60.19$

Wasserabspaltung aus dem Oxyester XII zum doppelt ungesättigten Ester

3,65 g Phosphortribromid in 5 cm³ Petroläther wurden unter Schütteln und Kühlen mit Kältemischung in eine Lösung von 8,5 g Oxyester und 6,3 g Pyridin in 10 cm³ Petroläther eingetropft. Nach kurzem Stehenlassen bei Zimmertemperatur wurde zum Sieden des Lösungsmittels erhitzt. Nach der Aufarbeitung wurde das Produkt der Destillation im Vakuum unterworfen. Hierbei ging zuerst ein Teil bei 102-1120 (12 mm) über. Bei 170—180° Ölbadtemperatur zersetzte sich der Rückstand (komplexe Phosphorigsäureester), wobei eine weitere Menge Substanz vom gleichen Siedepunkt überdestillierte.

¹⁾ H. Schinz und J.-P. Bourquin, Helv. 25, 1591 (1942).

²) B. **64**, 30 (1931).

Das sauer reagierende Destillat wurde in Ätherlösung mit verdünnter Sodalösung gewaschen und nochmals destilliert, wobei 3,65 g vom Sdp. 102—110° (12 mm) erhalten wurden. Die Substanz enthielt noch geringe Mengen Oxyester ($\rm C_{12}H_{20}O_2$ ber. C 73,42 H 10,27%, gef. C 72,11 H 9,94%).

Reduktion des Esters XIV zu 2,6-Dimethyl-5-oxymethyl-hepten-(3) (V).

In eine Lösung von 3,35 g des Esters in 20 cm³ siedendem Alkohol wurden portionsweise 3,2 g Natrium eingetragen. Hierauf liess man nochmals 40 cm³ Alkohol zufliessen. Nach Beendigung der Reduktion wurden 5 cm³ Wasser zugesetzt, $^{1}/_{2}$ Stunde weiter erhitzt und hierauf das Gemisch durch Wasserdampf-Destillation aufgearbeitet. Man erhielt 1,67 g eines bei 92—95° (12 mm) siedenden Alkohols: d $^{18,5}_{4}$ = 0,8513; n $^{18,5}_{1}$ = 1,4594.

Allophanat. Es schmolz nach Umkrystallisieren aus wässerigem Methylalkohol konstant bei 143—144° und erwies sich als identisch mit einem gleichschmelzenden Allophanester aus einem Alkohol, der über den Bromester XIII dargestellt war und weiter unten beschrieben wird¹).

Hydrierung. 300 mg des Alkohols in 3 cm³ Eisessig wurden in Gegenwart von 10 mg Platinoxyd mit Wasserstoff geschüttelt. Der auf diese Weise erhaltene, bei 91—93° (12 mm) siedende gesättigte Alkohol lieferte das bekannte Allophanat des Tetrahydrolavandulols vom Smp. 99—100°, das durch Mischprobe mit einem bekannten Präparat identifiziert wurde.

3,832 mg Subst. gaben 8,262 mg $\rm CO_2$ und 3,324 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{12}H_{24}O_3N_2$ Ber. C 58,99 H 9,90% Gef. ,, 58,84 ,, 9,71%

Überführung des Monobromesters XIII in den einfach ungesättigten Ester XV.

Bromierung des Oxyesters XII. 13,3 g Oxyester wurden mit 0,7 g Pyridin versetzt, das Gemisch mit 15 cm³ Petroläther verdünnt und mit einer Lösung von 6 g Phosphortribromid in 6 cm³ Petroläther bei —15° bromiert. Nach Stehenlassen über Nacht erhielt man bei der Aufarbeitung 12,1 g des bei 108—112° (12 mm) siedenden Bromesters.

Reduktion des Bromesters XIII mit Zink und Eisessig. Nach Ausprobieren einiger Varianten fanden wir die folgende Arbeitsweise am vorteilhaftesten: 1,6 g Zinkstaub wurden mit 2,9 g Eisessig überdeckt und das Zink mit 1 Tropfen Bromwasserstoff-Eisessig angeätzt. Dann fügte man sofort eine Lösung von 6,65 g Bromester in 15 cm³ absolutem Äther zu und erhitzte nur 2 Minuten am Wasserbad. Die Reduktion klang dann allmählich ab und war nach 5 Minuten beendigt. Die Aufarbeitung geschah durch Abfiltrieren des Zinksalzes, Nachwaschen mit Äther, Auswaschen der ätherischen Lösung mit Soda. Man erhielt 4,65 g halogenfreien Ester vom Sdp. 101—104° (12 mm) und 0,7 g Rückstand.

Reduktion des einfach ungesättigten Esters XV mit Natrium und Alkohol.

7,3 g Ester ergaben bei der Reduktion mit 8,5 g Natrium und 120 cm³ absolutem Alkohol 2,9 g eines Produktes vom Sdp. 90—93° (12 mm). Eine Mittelfraktion zeigte:

ph

世

中心の

50

¹⁾ Analyse siehe ebenda.

Allophanat. Es wurde ein Allophanester vom Smp. 143—144° erhalten, der sich als identisch mit demjenigen des Alkohols von der Reduktion des Esters XVI erwies.

1,628 mg Subst. gaben 3,546 mg $\rm CO_2$ und 1,327 mg $\rm H_2O$

Hydrierung. 50 mg des Alkohols wurden in 5 cm³ Eisessig unter Verwendung von Platinoxyd-Katalysator hydriert. Es wurde ein Allophanat des Tetrahydro-lavandulols vom Smp. 99—100° erhalten, das durch Mischprobe identifiziert wurde.

C. 2,6-Dimethyl-5-oxymethyl-heptadien-(1,3) (VI).

H. L. Simon.

Versuche mit Isopentenyl-malonester (XVI).

Die Darstellung dieser Substanz aus Isopren-hydrobromid wurde bereits von Staudinger und Mitarbeitern¹) beschrieben. Der von uns erhaltene Isopentenyl-malonester zeigte:

Sdp. 125—125,5° (11 mm); $d_{+}^{18}=0.9938; n_{D}^{18}=1.4417; M_{D}$ ber. für $C_{12}H_{20}O_{4}$ $\stackrel{\frown}{|1}$ 60,45 gef. 60,74 4,100 mg Subst. gaben 9,472 mg CO_{2} und 3,287 mg $H_{2}O$ $C_{12}H_{20}O_{4}$ Ber. C 63,18 H 8,83% Gef. ,, 63,05 ,, 8,97%

Umsetzungsversuche mit Methyl-magnesiumbromid. Eine Lösung von 5,0 g Isopentenyl-malonester und 7,80 g Methyljodid (entsprechend 2,5 Mol)²) in 30 cm³ absolutem Äther wurden zu 1,32 g aktiviertem Magnesium getropft. Nach mehrstündigem Stehenlassen wurde mit Eis, verdünnter Salzsäure und Äther aufgearbeitet. Die Destilation lieferte den unveränderten Ausgangsester quantitativ zurück. Das gleiche Resultat wurde erhalten, als bei einem weiteren Versuch nach Auflösung des Magnesiums noch mehrere Stunden gekocht wurde. Bei einer dritten Probe wurde nach 2-stündigem Erhitzen in Äther die Hauptmenge des Lösungsmittels abdestilliert und durch Toluol ersetzt und damit 16 Stunden am Rückfluss gekocht. Auch unter diesen Bedingungen trat keine Reaktion ein.

α, γ, δ -Tribrom-isoheptansäure-ester (XX).

Isoheptenylsäure (XIX). Die analog den Angaben von *Staudinger* und Mitarbeitern³) dargestellte Säure zeigte den Sdp. 106—108⁰ (11 mm).

Säurechlorid. 5,0 g Säure gaben beim Kochen mit 6,0 g Thionylchlorid in 15 cm³ absolutem Äther und nachheriger Destillation 5,5 g Chlorid vom Sdp. 81—86°.

Tribromester ⁴). Zur Addition von Brom an die Doppelbindung trug man unter Schütteln und Kühlen mit Eiswasser 8 g Brom in das Säurechlorid ein. Dann wurde die Temperatur auf 75° gebracht und weitere 8 g zugesetzt. Innerhalb von 2 Stunden erhitzte man schliesslich auf 100° und setzte hierauf dem Reaktionsgemisch 2 g absoluten Alkohol zu. Nach Stehenlassen während 2 Stunden wurde durch Eingiessen in Wasser und Aufnehmen in Äther aufgearbeitet. Ein aliquoter Teil (2 g) dieses Rohproduktes ergab bei der Destillation im Claisen-Kolben 1,60 g Destillat vom Sdp. 122—125° (0,07 mm). Eine Mittelfraktion vom Sdp. 120—121° (0,04 mm) wurde analysiert.

²) H. Hepworth, Soc. 1919, 1203. ³) L. c.

¹⁾ Helv. 5, 743 (1922).

⁴⁾ Verfahren analog der Vorschrift von W. Treff und H. Werner, B. 68, 640 (1935).

Da bei der Destillation grösserer Mengen dieser Substanz immer etwas Abspaltung von Bromwasserstoff stattfindet, wurde die Hauptmenge zwecks Schonung im Säbelkolben destilliert und auf diese Weise noch 9,6 g Tribromester erhalten.

Kondensation des Tribromesters (XX) mit Aceton und Wasserabspaltung aus dem Oxyester (XXI) zum Trien-ester (XXII).

Kondensation nach Reformatzky. Vor Gebrauch wurde der lackmussauer reagierende Tribromester in ätherischer Lösung mit eiskalter 2-n. Soda ausgewaschen. Die getrocknete Ätherlösung wurde vom Lösungsmittel befreit und zur Entfernung der letzten Reste Feuchtigkeit in wenig absolutem Benzol gelöst und dieses im Vakuum abgesaugt. Diese Operation wurde noch zweimal wiederholt. 15,2 g mit Jod aktiviertes Zink wurden mit 25 cm³ absolutem Äther überdeckt und zum Sieden erhitzt. Dann wurde langsam ein Gemisch von 30,7 g Tribromester und 9 g absolutem Aceton zugetropft. Durch Zusatz kleiner Mengen absoluten Pyridins in Portionen wurde die Lösung lackmusneutral gehalten. Nachdem alles eingetragen war, erhitzte man noch weitere 18 Stunden zum Sieden. Nach Aufarbeitung mit Eis, verdünnter Salzsäure und Äther erhielt man bei der Destillation ein bei 112—118° (11 mm) siedendes, nur noch schwach halogenhaltiges Öl. Ausserdem wurden Vorläufe sowie stärker halogenhaltige Nachläufe und etwas Rückstand erhalten. Die stark sauer reagierende Hauptfraktion wurde nochmals mit Soda gewaschen und lieferte bei einer zweiten Destillation 6,0 g rohen Oxvester.

Wasserabspaltung aus dem Oxyester. Man versetzte eine mit Kältemischung gekühlte Lösung von 5,3 g Oxyester und 5,0 g absolutem Pyridin in 5 cm³ absolutem Äther mit 2,7 g Phosphortribromid in 3 cm³ absolutem Äther, liess das Gemisch eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen und erhitzte hierauf $^{1}/_{2}$ Stunde am Rückfluss. Die Aufarbeitung geschah durch Eingiessen in Eis, Ausschütteln mit verdünnter Salzsäure, Wasser und zuletzt verdünnter Soda. Dann wurde das Produkt destilliert. Bei einer Ölbadtemperatur von 140° trat spontane Zersetzung komplexer Phosphorigsäurester ein, und es destillierte ein Produkt vom Sdp. ca. 105° (11 mm) rasch über. Nach Wassehen dieses sauer reagierenden Destillates mit Soda erhielt man bei einer zweiten Destillation 3,75 g Ester vom Sdp. 101—104° (11 mm). Nach der Analyse lag noch stark mit unverändertem Oxyester und evtl. anderen Nebenprodukten vermischter, ungesättigter Ester vor ($C_{12}H_{18}O_{2}$ ber. C 74,19 H 9,34%; gef. 69,66 H 9,45%).

Reduktion des Trien-esters (XXII) zum 2,6-Dimethyl-5-oxymethyl-heptadien-(1,3) (VI).

3,2 g Ester ergaben bei der Reduktion nach Bouveault-Blanc mit 4,7 g Natrium und 90 cm³ Alkohol und nach analoger Aufarbeitung wie oben 1,15 g eines bei 94—97° (11 mm) siedenden Produktes.

Allophanat. Die Gesamtmenge des erhaltenen Alkohols wurde ins Allophanat verwandelt. Das stark schmierige Rohprodukt wurde durch Umkrystallisieren aus wässerigem Methylalkohol gereinigt. Nach einmaligem Umkrystallisieren lag der Schmelzpunkt sehr unscharf bei ca. 80°. Nach mehrmaligem systematischen Umkrystallisieren konnten folgende Krystallfraktionen abgetrennt werden:

- A. Smp. 114-1160 konstant kleinste Fraktion
- B. Smp. 110-1120 Hauptmenge
- C. Smp. 99-1020
- D. Smp. 78-80°

A stellt wohl die vollständig, B die annähernd reine trans-Form dar. C und D bestehen wahrscheinlich zur Hauptsache aus dem cis-Isomeren, dem noch gewisse Mengen der trans-Form beigemengt sein dürften.

A. 3,582 mg Subst. gaben 7,867 mg CO_2 und 2,687 mg H_2O B. 3,714 mg Subst. gaben 8,143 mg CO_2 und 2,755 mg H_2O C. 3,803 mg Subst. gaben 8,291 mg CO_2 und 2,874 mg H_2O D. 3,720 mg Subst. gaben 8,127 mg CO_2 und 2,741 mg H_2O $C_{12}H_{20}O_3N_2$ Ber. C 59,98 H 8,39% A. Gef. ,, 59,94 ,, 8,39% B. Gef. ,, 59,84 ,, 8,30% C. Gef. ,, 59,50 ,, 8,46% D. Gef. ,, 59,62 ,, 8,25%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

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

134. Bromierungen mit Brom-succinimid bei Gegenwart von Katalysatoren, II

von H. Schmid. (24. VI. 46.)

In einer kürzlich erschienenen Arbeit¹) konnten wir zeigen, dass geringe Zusätze von Dibenzoylperoxyd die Bromierungsreaktion von Ziegler katalysierten, und zwar derart, dass einerseits die Reaktionsgeschwindigkeit erhöht wird, andererseits aber auch Bromierungen durchführbar werden, bei denen unter Standardbedingungen keine Reaktion eintritt. Toluol liefert unter diesen Bedingungen in glatter Reaktion Benzylbromid. Benzol hingegen ist auch mit Peroxydzusatz selbst beim 8-stündigen Sieden mit Brom-succinimid in Tetrachlorkohlenstoff nicht zur Reaktion zu bringen.

Wir haben nun gefunden, dass sich auch Benzol mit Bromsuccinimid umsetzt, wenn die Reaktion in Gegenwart von wasserfreien anorganischen Salzen wie AlCl₃, ZnCl₂, FeCl₃ oder von konz. Schwefelsäure vorgenommen wird. Zur Bromierung wird ein Überschuss von Benzol (als Lösungsmittel und um die Bildung höher bromierter Produkte einzuschränken) mit Brom-succinimid und dem Katalysator unter mechanischem Rühren bis zum Verschwinden des aktiven Halogens erwärmt. Zum Unterschied von den durch Peroxyd katalysierten Bromierungen, zu denen etwa 5 Molprozent des Peroxyds erforderlich sind, muss in den durch AlCl₃, ZnCl₂, FeCl₃ usw. katalysierten Reaktionen 1 Mol des Katalysators, bezogen auf das

¹⁾ Schmid und Karrer, Helv. 29, 573 (1946).

eingesetzte Brom-succinimid, angewandt werden. Bei einem Versuch mit nur 0,1 Mol AlCl₃ erhielt man Brombenzol nur in schlechter Ausbeute; ein grosser Teil des Brom-succinimids wurde unter Abspaltung von elementarem Brom zersetzt und aus dem Reaktionsgemisch liess sich Dibrom-maleinsäure-imid vom Smp. 225° isolieren. Dieser Stoff wurde schon früher bei der energischen Bromierung von Succinimid aufgefunden¹).

Dass es sich bei diesen Bromierungen um eine echte Katalyse durch das zugesetzte anorganische Salz handelt und dass nicht einfach zunächst eine Zersetzung des Brom-succinimids unter Abspaltung von freiem Brom eintritt, welches dann in üblicher Weise substituieren könnte, geht daraus hervor, dass bei richtig verlaufender Reaktion kein oder nur sehr wenig Brom freigesetzt wird und dass nur sehr wenig Halogenwasserstoff entweicht. Zudem liegen die Ausbeuten an Brombenzol fast stets höher als 50%. Wir haben uns durch einen Blindversuch überzeugt, dass bei der Aufarbeitung unserer relativ kleinen Versuchsansätze, die ohne sonderliche Vorsichtsmaßnahmen ausgeführt worden sind, nur etwa 70–80% des tatsächlich vorhandenen Brombenzols wiedergefunden werden. Die in der nachfolgenden Tabelle 1 angeführten Ausbeuteangaben stellen daher Minimalwerte dar und besitzen nur orientierenden Charakter. Das gleiche gilt auch für die in der Tabelle 2 enthaltenen Zahlen.

Tabelle 1.
Bromierung von Benzol

	Ausbeuten in %, bezogen auf Brom-succinimid			
Katalysator	Brombenzol p-Dibrombenzol		1,2,4,5-Tetra- brombenzol	
AlCl ₃	67,2	_	_	
ZnCl ₂	54,4	9,1	_	
FeCl ₃	51	6,5	-	
H ₂ SO ₄	40,5	6,9	2,8	

Bemerkenswert ist die Katalysatorwirkung der Schwefelsäure, die, wie wir noch an einem andern Beispiel sehen werden, die Bildung von Polybrom-Substitutionsprodukten begünstigt.

Ferner haben wir noch Bortrifluorid und Kobalt(II)-chlorid auf ihre Brauchbarkeit untersucht. Mit dem ersteren trat wegen der erforderlichen tiefen Temperatur keine Reaktion ein, das letztere war als Katalysator nur wenig geeignet.

Interessant war die Frage der Wirkungsweise dieser Zusätze bei der Bromierung des Toluols mit Brom-succinimid. Wie aus der Tabelle 2 zu entnehmen ist, findet dabei überwiegend Kernbromierung statt. Die Bildung des Benzylbromids, des alleinigen Reak-

¹⁾ Ciamician und Silber, B. 17, 556 (1884).

tionsproduktes mit dem Peroxydkatalysator, ist stark eingeschränkt bzw. unterbunden. Wir haben also ähnliche Verhältnisse, wie sie schon seit langem bei der Bromierungsreaktion mit elementarem Brom bekannt sind: werden Toluol und Brom bei etwa 100° oder unter Belichtung zur Reaktion gebracht, so erfolgt die Halogenisierung nahezu quantitativ in der Seitenkette. Völlig anders spielt sich die Reaktion bei der Gegenwart von Katalysatoren ab; bereits geringe Mengen von Aluminiumchlorid oder Eisen(III)-bromid beschleunigen die Kernsubstitution in einem Masse, dass die Seitenkettenbromierung gänzlich in den Hintergrund tritt. Ähnliche Effekte lassen sich mit Brom-succinimid erzielen, wobei Peroxyde die Seitenkettenbromierung, Aluminiumchlorid, Eisen(III)-chlorid usw. die Kernreaktion veranlassen.

Tabelle 2.
Bromierung von Toluol.

Ausbeuten in %, bezogen auf Brom-succinimid						
Kataly- sator	Benzyl-1) bromid	Brom- toluol	Dibrom- toluol	Tribrom- toluol	Tetrabr toluol	Pentabr. toluol
AlCl ₃	0	71	_	_	_	_
$ZnCl_2$	~ 2-4	54	_	_		
FeCl ₃	0	60,6	_		_	Spuren
$\mathrm{H_{2}SO_{4}}$	7,8	20,7	1,7	3,0	6,8	8,3

Die Konstitution des erhaltenen Bromtoluols haben wir in einem Fall (aus dem Versuch mit Eisen(III)-chlorid) durch Oxydation mit Salpetersäure zur p-Brombenzoesäure sichergestellt. Aus den Mutterlaugen dieser Säure konnte in geringer Menge auch die isomere o-Brombenzoesäure isoliert werden. Aus den Mengenverhältnissen der beiden Säuren errechnet sich das Verhältnis von p: o-Verbindung = 27:1.

Bei Anwendung von Schwefelsäure als Katalysator tritt die Tendenz zur Bildung höher bromierter Produkte in Erscheinung. Wir haben hier sämtliche Bromierungsstufen vom Pentabromtoluol bis zum Bromtoluol in reiner Form fassen können. Das erhaltene Dibromtoluol stellte ein Gemisch von mindestens zwei Isomeren dar; die bei der Salpetersäureoxydation anfallenden Dibrombenzoesäuren haben wir aber infolge der geringen Mengen nicht voneinander trennen können. Tri- und Tetrabromtoluol hingegen sind einheitlich; auf Grund des Schmelzpunktes kommt ihnen die Struktur des 2,4,5-Tribromtoluols und des 2,3,4,5-Tetrabromtoluols zu. Experimentelle Einzelheiten sind im Versuchsteil näher ausgeführt.

¹) Der Gehalt an Benzylbromid wurde durch Titration mittels wässerig-alkoholischer Silbernitratlösung ermittelt: van der Laan, R. 26, 18 (1906).

In einem Falle (Aluminiumchlorid) haben wir versucht, die Reaktion in Schwefelkohlenstoff als Lösungsmittel auszuführen. Die Resultate waren aber sehr wenig befriedigend. Andere organische Solvenzien haben wir noch nicht untersucht.

Experimenteller Teil.

- A. Einwirkung von N-Brom-succinimid auf Benzol bei Gegenwart verschiedener Katalysatoren.
- 1. Dibenzoylperoxyd. 20 cm³ trockenes Benzol wurden mit 2,000 g Bromsuccinimid und 25,4 mg (5 Molprozent) Dibenzoylperoxyd 9 Stunden unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die Reaktionsmischung färbte sich durch ausgeschiedenes Brom rotbraun. Nach dieser Zeit wurde der Kolbeninhalt mit Wasser in eine mit verdünnter Schwefelsäure angesäuerte Kaliumjodidlösung gespült, der Kühler nachgewaschen und das ausgeschiedene Jod titrimetrisch bestimmt. Im Vergleich zu einer Vergleichsprobe (2,000 g Brom-succinimid und 25,4 mg Peroxyd) waren dann 0,285 g, das sind 14,2% des eingesetzten Brom-succinimids verbraucht. Dieser Verbrauch dürfte aber grossenteils durch Bromverluste während der Reaktion bedingt gewesen sein, denn bei der Aufarbeitung des Ansatzes konnte kein Brombenzol nachgewiesen werden.
- 2. Aluminiumchlorid. Zu einer Mischung von 30 cm³ reinem Benzol und 15 g Brom-succinimid fügte man unter Umschwenken in kleinen Portionen 11,8 g frisch im Vakuum sublimiertes Aluminiumchlorid (1 Mol bezogen auf das Brom-succinimid). Die Reaktionsmischung erwärmte sich dabei deutlich. Nach der Zugabe von weiteren 30 cm³ Benzol erhitzte man während 4 Stunden zum gelinden Sieden. Das Reaktionsgemisch färbte sich allmählich braun bis schwarz, und es traten in geringem Masse Halogenwasserstoffdämpfe auf. Nach beendeter Reaktion wurde auf Eiswasser gegossen, die Benzolschicht mit 1-proz. wässeriger Kalilauge und Wasser gewaschen und nach dem Trocknen das Benzol über einem kleinen Fraktionieraufsatz entfernt. Den Rückstand haben wir fraktioniert destilliert. Nach einem Vorlauf, der bis 145° (730 mm) überging, destillierte die Hauptmenge bei 145—156°. Rückstand war nur wenig vorhanden. Nach nochmaliger Destillation erhielt man 8,9 g Brombenzol vom Sdp. 730 mm = 150—151,5°, das sind 67,2% der Theorie (bezogen auf eingesetztes Brom-succinimid).

Als dieselbe Reaktion nur mit $^{1}/_{10}$ Mol Aluminiumchlorid (bezogen auf eingesetztes Brom-succinimid) ausgeführt wurde, färbte sich die Reaktionsmischung durch ausgeschiedenes Brom stark rotbraun. Die Aufarbeitung lieferte nur sehr wenig Brombenzol, hingegen entstand in grösserer Menge Dibrom-maleinsäure-imid vom Smp. 225°, welches nach der üblichen Aufarbeitung und Abdestillieren des Lösungsmittels erhalten wurde. Dieser Stoff läßt sich auch durch Einwirkung von Brom auf Succinimid herstellen¹).

3. Zinkchlorid. 30 cm³ Benzol wurden mit 20 g Brom-succinimid und 15,4 g fein gepulvertem, wasserfreiem Zinkchlorid 16 Stunden unter Rückfluss und Wasserausschluss gekocht, wobei sich in geringem Masse Brom bildete. Nach dieser Zeit wurde das Reaktionsgemisch mit Eiswasser versetzt, nach einiger Zeit gelinde im Wasserbad erwärmt und die Benzolschicht abgetrennt. Die wässerige Lösung haben wir mit Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Auszüge hat man mit verdünnter Salzsäure und verdünnter Lauge gewaschen und den nach dem Trocknen und Abdestillieren des Lösungsmittels erhaltenen Rückstand einer fraktionierten Destillation unterworfen:

Vorlauf bis Sdp. 150° (730 mm)

Fr. I Sdp. 150—170° (730 mm), 9,6 g d. h. 54,4% der Theorie | bezogen auf Fr. II Sdp. 170—210° (730 mm), 1,2 g d. h. 9,1% der Theorie | Brom-succinimid

¹⁾ Ciamician und Silber, B. 17, 556 (1884).

Aus Fraktion I erhielt man bei nochmaliger Destillation reines Brombenzol. Fraktion II krystallisierte fast vollständig und stellte p-Dibrombenzol dar. Schmelzpunkt nach dem Umlösen aus Alkohol 91°.

4. Schwefelsäure. Zu einer Mischung von 30 cm³ Benzol und 13,3 g Bromsuccinimid setzte man 4,0 cm³ (= 7,35 g; 1 Mol) konz. Schwefelsäure, wobei Zusammenbacken des Kolbeninhaltes und schwache Erwärmung auftraten. Unter Wasserausschluss wurde 10 Stunden bei etwa 80° gerührt, wobei sich zwei flüssige Phasen ausbildeten. Nach der üblichen Aufarbeitung entfernte man das Lösungsmittel über einem kleinen Fraktionieraufsatz und destillierte den Rückstand aus einem Claisen-Kolben.

Vorlauf bis Sdp. 150° (730 mm)

Fraktion I Sdp. 150 —170° (730 mm)

Fraktion II Sdp. 170 —205° (730 mm), teilweise krystallisierend
Rückstand.

Der Vorlauf wurde nochmals destilliert und die oberhalb 150° übergehenden Anteile mit der Fraktion I vereinigt. Daraus erhielt man schliesslich 4,34 g Brombenzol vom Sdp. 150—155°. Den Nachlauf dieser Destillation vereinigte man mit Fraktion II und dem Rückstand der ersten Destillation und schloss eine Destillation aus dem Kugelröhrchen an. (13 mm Druck.)

Vorlauf
60— 70° (Luftbad) Brombenzol 0,4 g
Fraktion I
70— 80° (Luftbad) Brombenzol + p-Dibrombenzol
Fraktion III 90—105° (Luftbad) p-Dibrombenzol
Fraktion III 120—140° (Luftbad) Öl, später erstarrend (0,206 g)
Fraktion IV 150—160° (Luftbad) —

Fraktion IV 150—160° (Luitbad) —

Rückstand: Harze und vermutlich etwas Succinimid.

Aus den Fraktionen I und II erhielt man 0,604 g p-Dibrombenzol. Fraktion III wurde aus Aceton umkrystallisiert und anschliessend im Kugelrohr bei 135—140° (Luftbad) und 13 mm sublimiert. Die Verbindung erwies sich nach ihrem Schmelzpunkt 176—179° als 1,2,4,5-Tetrabrombenzol.

 $C_6H_2Br_4$ (393,74) Ber. C 18,30 H 0,51 Br 81,19% Gef. ,, 18,59 ,, 0,79 ,, 80,50%

Die Ausbeuten an den 3 Reaktionsprodukten betrugen dem
gemäss, bezogen auf angewandtes Brom-succinimid: $\,$

5. Eisen(III)-chlorid. 30 cm³ Benzol, 11,0 g Brom-succinimid und 10,81 g frisch hergestelltes, wasserfreies Eisen(III)-chlorid wurden 8 Stunden auf 70—80° erwärmt. Nach der üblichen Aufarbeitung haben wir das Rohprodukt destilliert, wobei man 4,35 g Brombenzol vom Sdp. 730 mm 155° erhielt. Aus den höhersiedenden Nachläufen liessen sich noch 0,6 g Brombenzol und 0,47 g p-Dibrombenzol gewinnen. Die Ausbeuten bezogen auf eingesetztes Brom-succinimid, betragen demnach: Brombenzol 51% und p-Dibrombenzol 6,5% der Theorie.

B. Einwirkung von N-Brom-succinimid auf Toluol bei Gegenwart verschiedener Katalysatoren.

1. Aluminium chlorid. 9,7 g Brom-succinimid wurden mit 8,00 g wasserfreiem Aluminium chlorid gut vermischt und dann mit 25 cm 3 trockenem Toluol versetzt. Unter Wasserausschluss wurde zunächst $3^{1}/_{4}$ Stunden bei 55^{0} gerührt. Das Reaktionsgemisch färbte sich dabei dunkel, Bromabspaltung trat jedoch nicht ein. Nun haben wir bei 75^{0} so lange gerührt, bis eine Probe mit Kaliumjodidstärkepapier kein aktives Brom mehr anzeigte. Man goss hierauf auf Eis, ätherte aus und wusch den Ätherauszug mit

kaltem Wasser. Nach dem Trocknen wurde das Lösungsmittel über einem Fraktionieraufsatz entfernt und der Rückstand fraktioniert destilliert. Man erhielt 6,62 g, d.h. 71% der Theorie, p-Bromtoluol vom Sdp. $_{730~\mathrm{mm}}$ 180—184°. Die Bildung von Benzylbromid konnte nicht beoabehtet werden.

 C_7H_7Br (171,04) Ber. C 49,15 H 4,13% Gef. ,, 49,25 ,, 4,36%

Bedeutend schlechter verlief ein Umsatz, bei welchem Schwefelkohlenstoff als Lösungsmittel zur Anwendung kam. Bei der Aufarbeitung eines Versuches mit 5 g Toluol, 25 cm³ trockenem Schwefelkohlenstoff, 8,00 g Aluminiumchlorid und 9,7 g Brom-succinimid erhielt man schliesslich ein Gemisch von Bromtoluol und Benzylbromid, aus welchem beim Erwärmen mit Trimethylamin 0,3 g Benzyl-trimethylammoniumbromid (entsprechend 0,22 g Benzylbromid) erhalten wurde. Aus dem mit Trimethylamin nicht umgesetzten Anteil liessen sich 0,47 g Bromtoluol isolieren. Schwefelkohlenstoff scheint demzen als Lösungswitztel für deser ist Liesten sich 1,47 g Bromtoluol

nach als Lösungsmittel für derartige Umsätze wenig geeignet zu sein.

2. Zinkchlorid. 20 cm³ Toluol, 10,38 g Brom-succinimid und 8,04 g gepulvertes, wasserfreies Zinkchlorid wurden unter Rühren und Feuchtigkeitsausschluss langsam auf 80° (Badtemperatur) erwärmt und dann die Reaktionsmischung 1,5 Stunden bei dieser Temperatur gehalten. Die Kaliumjodidstärkepapierprobe war nun negativ. Nach dem Zersetzen mit Eiswasser wurde ausgeäthert, der Äther getrocknet und vorsichtig abdestilliert. Die bei der Destillation des Rückstandes zwischen 170—200°/730 mm übergehende Fraktion wog 5,6 g (58% der Theorie). Das nach nochmaliger Destillation erhaltene Bromtoluol enthielt noch Spuren Bromwasserstoff und etwa 2—4% Benzylbromid (ermittelt durch eine Titration mit 0,1-n. Silbernitratlösung).

3. Eisen(III)-chlorid. 35 cm³ Toluol, 12,2 g Brom-succinimid und 13,85 g wasserfreies Eisen(III)-chlorid wurden 6,5 Stunden bei 60° gehalten. Man beobachtete geringe Bromausscheidung und Halogenwasserstoffentwicklung. Man goss auf Eiswasser, ätherte aus und wusch den Ätherauszug mit 1-proz. wässeriger Salzsäure und mit Kochsalzlösung. Nach dem Trocknen wurde der vom Äther befreite Rückstand aus einem Claisen-Kolben destilliert. Die zwischen 160—205°/730 mm übergehende Fraktion wog 7,1 g (60,6% der Theorie), woraus bei nochmaliger Destillation reines Bromtoluol vom Sdp. 182—186° erhalten wurde. Den Rückstand der ersten Destillation haben wir bei 0,01 mm im Kugelrohr weiter fraktioniert. Bis 140° sublimierten bzw. destillierten in geringer Menge verschiedene, höher bromierte Toluole, bei 150—160° sublimierten gelbe Nädelchen, die nach Umlösen aus Methanol, Hochvakuumsublimation, Umkrystallisation aus Methanol unter Druck und nochmaliger Hochvakuumsublimation schliesslich bei 275° (unkorr.) schmolzen und reines Pentabromtoluol darstellten.

 $C_7H_3Br_5$ (486,60) Ber. C 17,28 H 0,62% Gef. , 17,80 , 1,26%

Zum Beweis der Konstitution des gebildeten Bromtoluols wurden 3,706 g mit 8 cm³ konz. Salpetersäure und 8 cm³ Wasser 24 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach 8 Stunden hat man nochmals 4 cm³ konz. Salpetersäure zugefügt. Nach dem Abkühlen wurde abgesaugt und mit kaltem Wasser gewaschen. Gewicht der bereits recht reinen p-Brombenzoesäure 3,296 g, d.h. 76 % der Theorie. Schmelzpunkt nach dem Umlösen aus Aceton 245°.

Die wässerige Mutterlauge der Salpetersäureoxydation hat man zur Hälfte eingedampft, mit Natriumnitrat übersättigt und mit Äther ausgeschüttelt. Der Ätherauszug wurde zweimal mit wenig Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen haben wir den Äther im Vakuum entfernt und den Rückstand bei 0,03 mm sublimiert:

Wenig Vorlauf bis 95° (Luftbad) Hauptmenge Sublimationstemperatur 105—110° (Luftbad) 0,124 g Geringer Rückstand.

Die Hauptmenge wurde aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und nochmals im Hochvakuum sublimiert. Schmelzpunkt der o-Brombenzoesäure 149°.

 $C_7H_5O_2Br$ (201,03) Ber. C 41,82 H 2,51% Gef. ., 41,56 ,, 2,74%

Das Verhältnis der Ausbeuten von o-Bromtoluol zu p-Bromtoluol beträgt demnach etwa 1:27.

Schwefelsäure. 33,25 g fein pulverisiertes Brom-succinimid in 35 cm3 absolutem Toluol versetzte man tropfenweise mit 10 cm3 konz. Schwefelsäure (1 Mol), wobei deutliche Erwärmung beobachtet werden konnte. Man erwärmte unter gutem Rühren während 71/4 Stunden auf 75—80° (Badtemperatur). Anfänglich trat etwas Bromwasserstoff, später etwas Schwefeldioxyd auf, und es schieden sich gelbe Krystalle aus. Man zersetzte mit Eiswasser, filtrierte von den ausgeschiedenen Krystallen (A) ab, ätherte aus und entfernte nach der üblichen Aufarbeitung das Lösungsmittel über einem Fraktionieraufsatz (bis 110°). Aus dem Rückstand schieden sich nach längerem Stehen Krystalle aus (B), welche man absaugte. Die Mutterlauge (M) wurde weiter verarbeitet.

Untersuchung von A (1,034 g): Nach zweimaligem Umlösen aus Benzol. Smp. 275° (unkorr.). (Pentabromtoluol)

> C₂H₃Br₅ (486,60) Ber. C 17,28 H 0,62 Br 82,11% Gef. ,, 17,45 ,, 0,98 ,, 80,95%

Untersuchung von B (0,728 g): Man fraktionierte im Hochvakuum 0,01 mm).

Sdp. 85-100° (Luftbad) Öl erstarrend Fraktion I Fraktion II Sdp. 115-125° (Luftbad) Nadeln

Fraktion III Sdp. 135-1450 (Luftbad) Nadeln Sdp. 150-1650 (Luftbad) gelbe Nadeln Fraktion IV

Fraktion IV stellte fast reines Pentabromtoluol dar.

Untersuchung der Mutterlauge M:

Die Mutterlauge M wurde aus einem Claisen-Kölbehen bei 730 mm destilliert. Vorlauf Sdp. bis 150°.

Fraktion AA 150-210°

Fraktion AA, Nachlauf, im Kugelrohr bei 13 mm destilliert:

Fraktion 90—120° (Luftbadtemperatur) (BB_o) Fraktion > 130° (BB_b)

AA und BB, wogen zusammen 11,71 g und wurden bei 730 mm destilliert. Sehr geringer Vorlauf bis 170°.

> Hauptmenge 170—205° (DD) Nachlauf 205° (CC)

DD stellte ein Gemisch von Bromtoluol und Benzylbromid dar. Zur Bestimmung des letzteren wurden nach nochmaliger Destillation zwei Proben von 0,437 g und 0,4527 g mit 25 cm³ 0,1-n. AgNO₃-Lösung versetzt und bis zur Lösung des Öles reiner Alkohol zugefügt. Man liess gut verschlossen 2 Tage bei 200 im Dunkeln stehen und titrierte danach das unverbrauchte Silbernitrat mit 0,1-n. KCNS-Lösung zurück. Die beiden Proben hatten dann 5,44 cm³ bzw. 5,60 cm³ 0,1-n. AgNO3-Lösung verbraucht, was 0,0930 bzw. 0,0957 g Benzylbromid entspricht. Das obige Gemisch bestand daher aus 78,71% bzw. 78,84% Bromtoluol und 21,28% bzw. 21,16% Benzylbromid.

CC und BB_b wurden vereinigt und bei 13 mm in 2 Fraktionen zerlegt:

Fraktion FF bis 230°.

Fraktion GG teilweise krystallinischer Rückstand; dieser wurde weiter im Hochvakuum fraktioniert, wobei er zwischen 85—140° in ein Gemisch sublimierender Substanzen überging. Die Fraktion 150° stellte reines Pentabromtoluol dar. (Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt.)

FF wurde in tiefsiedendem Petroläther gelöst, in eine Eiskochsalzmischung gestellt, die auskrystallisierenden Substanzen abgenutscht und mit vorgekühltem Petroläther gewaschen: FFa (2,271 g).

Die eingeengte Mutterlauge haben wir mit Kohlendioxydschnee-Aceton abgekühlt und dadurch 0,809 g feste Substanz gewonnen: FFb.

Die Mutterlauge von FFb hat man nach dem Eindampfen mit Methanol versetzt und im Eisschrank krystallisieren lassen. Man erhielt so die Fraktion FFc.

Die Mutterlauge fiel als Öl an: FFd.

FFa. Man krystallisierte aus Benzol-Methanol um und unterwarf das sehr unscharf schmelzende Produkt bei 0,05 mm einer Sublimation aus dem Kugelröhrchen.

Fraktion I Sdp. 100° (Luftbad) Smp. 87—89° (0,13 g)

Fraktion II Sdp. 110—115° (Luftbad) Öl, erstarrend, Smp. 107—109° (0.68 g)

Fraktion III Sdp. 120-130° (Luftbad) wenig Substanz

Fraktion IV Sdp. 1500 (Luftbad) Sublimat (Pentrabromtoluol)

Fraktion II wurde aus Benzol-Methanol umkrystallisiert und nochmals bei 115° im Hochvakuum (0,05 mm) destilliert. Smp. des 2,3,4,5-Tetrabromtoluols 110—112°.

 ${\rm C_7H_4Br_4}$ (407,69) Ber. C 20,60 H 0,99 Br 78,41% Gef. ,, 20,72 ,, 1,42 ,, 78,13%

FFb und FFc wurden vereinigt und bei 0,01 mm aus dem Kugelröhrchen destilliert.

Fraktion I Sdp. 65° (Luftbad) Öl und Krystalle, nach Waschen mit Methanol, Smp. 112°. Tribromtoluol

Fraktion II 'Sdp. 70- 75° (Luftbad) Öl, erstarrend

Fraktion III Sdp. 75—80° (Luftbad) Gemisch (I+III = 0,13 g)

Fraktion IV Sdp. 90-100 (Luftbad) Sublimat 0,296 g: Tetrabromtoluol.

Fraktion II wog nach dem Waschen mit wenig Methanol 0,375 g. Man löste aus Äther-Methanol um und unterwarf das Produkt nochmals einer Hochvakuumsublimation. Smp. des 2,4,5-Tribromtoluols 113°.

 $C_7H_5Br_3$ (328,79) Ber. C 25,55 H 1,53 Br 72,92% Gef. ,, 25,74 ,, 1,90 ,, 73,24%

Fraktion FFd wurde bei 13 mm Druck im Kugelrohr destilliert:

Vorlauf Sdp. 90—120° Hauptmenge Sdp. 120—145° teilweise kryst. Nachlauf.

Die Hauptmenge ergab nach nochmaliger Destillation (Kugelrohr, $13 \ \mathrm{mm}$ Druck)

Vorlauf 90—110°

Hauptfraktion Sdp. 115-1200 (0,4 g).

Analyse der Hauptfraktion:

ģ

đ

 $C_7H_6Br_2$ (249,95) Ber. C 33,61 H 2,42% Gef. ,, 33,47 ,, 2,63%

Dieses Dibromtoluol gab bei der Oxydation mit Salpetersäure ein im Hochvakuum sublimierbares Gemisch von Dibrombenzoesäuren, deren Trennung infolge der geringen Mengen aber nicht möglich war.

Bei der Einwirkung von Brom-succinimid und Schwefelsäure auf Toluol haben wir somit folgende Produkte in den angegebenen Mengen erhalten:

56,3% bezogen auf Brom-succinimid.

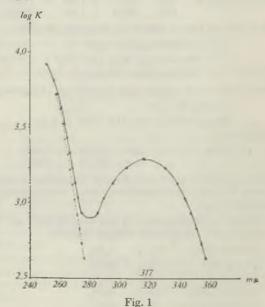
Zürich, Chemisches Institut der Universität.

135. Über neue o-Dihydroderivate von Pyridinverbindungen

von P. Karrer und W. Manz.

(24. VI. 46.)

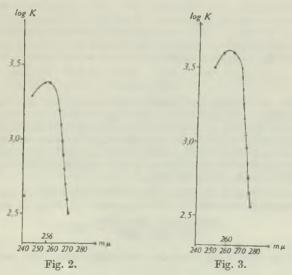
Die Reduktion quartärer Pyridiniumverbindungen zu o-Dihydroderivaten, die im Hinblick auf die analogen Vorgänge bei der Reduktion der Codehydrasen I und II Interesse beansprucht, hängt wesentlich von der Konstitution des quartären Salzes ab und gelingt nur bei bestimmter Struktur desselben¹). Wir haben in der vorliegenden Untersuchung geprüft, ob sich Pyridin- β -sulfonsäure-amidjodmethylat (I) und das entsprechende Jodäthylat (III) in die o-Dihydroverbindungen (N-Methyl- bzw. N-Äthyl-o-dihydro-pyridin β -sulfonsäure-amid (II) bzw. (IV)) überführen lassen, wobei Natriumdithionit als Reduktionsmittel diente. Die beiden o-Dihydroderivate liessen sich in krystallisierter Form isolieren. Sie zeigen das solchen Verbindungen eigene starke Reduktionsvermögen und werden wie andere o-Dihydro-pyridinverbindungen durch Säure irreversibel zerstört.



¹) Vgl. hierzu die Abhandlungen von *P. Karrer* und Mitarb., Helv. 19, 1028 (1936); **20**, 55, 72, 418, 632 (1937); **21**, 223 (1938).

Ein Unterschied besteht in der Lage der Absorptionsmaxima der Verbindungen II und IV einerseits und des N-Methyl-o-dihydronicotinsäure-amids V andererseits. Während letzteres ein Absorptionsmaximum bei 360 m μ besitzt¹), liegt dieses beim N-Methyl-o-dihydropyridin- β -sulfonsäure-amid (II) bei 317 m μ . Dies erklärt sich daraus,

dass in Verbindung (V) eine Carbonylgruppe in Konjugation zu den beiden konjugierten Kohlenstoff-Doppelbindungen steht, während in Verbindung II deren Platz durch die als Chromophor unwirksame SO_2 -Gruppe eingenommen wird. Die Differenz von ca. 40 m μ entspricht dem bekannten chromophoren Effekt eines Carbonyls.



Absorption von

Pyridinsulfonsäure-amidjodmethylat in Wasser in Wasser

Die Absorptionskurven 2 und 3 beziehen sich auf Pyridinsulfonsäure-amid und dessen Jodmethylat. Ersteres besitzt in wässeriger Lösung ein Absorptionsmaximum bei 255,5 m μ , letzteres bei 260 m μ .

¹⁾ Helv. 19, 819 (1936).

Pyridin- β -sulfonsäure-amid ist bekanntlich ein Antagonist des Nicotinsäure-amids¹). Nach den Theorien von $Fildes^2$), $Stamp^3$), $Green^4$), $McIntosh^5$), $Woods^6$), $Sellie^7$) und $Kuhn^8$) sollen Antagonisten die Vitamine aus ihrem Wirkungsverband mechanisch verdrängen, eine Annahme, die allerdings wenig wahrscheinlich ist⁹). Wir bezweifeln, dass die antagonistische Wirkung des Pyridinsulfonsäure-amids gegenüber Nicotinsäure-amid darauf beruht, dass es letzteres aus den Codehydrasen I und II verdrängt und darin seinen Platz einnimmt. Wäre dem aber so, so erschiene eine reversible Reduzierbarkeit einer solchen veränderten Codehydrase mit Pyridin- β -sulfonsäure-amid als Wirkungsgruppe nicht ausgeschlossen, da wir durch die vorerwähnten Modellversuche zeigen konnten, dass sich quartäre Salze des Pyridin- β -sulfonsäure-amids reversibel reduzieren lassen. Dies war der Grund, warum diese Versuche zur Ausführung kamen.

Experimenteller Teil.

Pyridin-\(\beta\)-sulfons\(\text{aure-amid-jod methylat.}\)

2 g fein pulverisiertes Pyridin- β -sulfonsäure-amid¹⁰) wurden mit 6 g Methyljodid im Bombenrohr 7 Stunden auf 100° erhitzt. Nach dem Abdestillieren des überschüssigen Methyljodids nahm man den Rückstand in 2 cm³ heissem Wasser auf, fügte 8 cm³ Alkohol und hierauf 40—60 cm³ Äther hinzu und krystallisierte das ausgefällte rohe Pyridin β -sulfonsäure-amid-jodmethylat mehrmals aus Alkohol um. Ausbeute 1,2 g. Smp. 168—169°. Die Verbindung ist in kaltem Alkohol schwer, in heissem leicht löslich.

Reduktion des Pyridin- β -sulfonsäure-amid-jodmethylats mit Na $_2$ S $_2$ O $_4$ (manometrische Messung) 11): In einer Schüttelapparatur wurden 5 cm 3 einer 5-proz., kurz vor dem Versuch mit CO $_2$ gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung mit 110 mg Na $_2$ S $_2$ O $_4$ ·2 H $_2$ O versetzt und in Kohlendioxydatmosphäre bis zur Volumenkonstanz bewegt. Dann trug man mittels einer Auslösevorrichtung 14,97 mg Pyridin- β -sulfonsäure-amid-jodmethylat, gelöst in 0,5 cm 3 Wasser, das 27,4 mg NaHCO $_3$ enthielt, ein. Temperatur 24,8 6 C. (297,8 6 absol.), Druck 724,5 mm.

Die innert 13 Minuten entwickelte Menge CO_2 betrug 2,50 cm³. Bei Aufnahme von 2 Atomen Wasserstoff berechnet sich die freigesetzte CO_2 -Menge (2 Mol) zu 2,57 cm³.

$$\frac{14,97 \times 44,8 \times 760 \times 297,8}{300 \times 724,5 \times 273} = 2,57.$$

¹) McIlwain, Brit. J. Exp. Path. 21, 136 (1940); Erlenmeyer, Würgler, Helv. 25, 249 (1942).

²) Brit. J. Exp. Pathol. 21, 67 (1940); Lancet 238, 955 (1940).

³⁾ Lancet 237, 10 (1939).

⁴⁾ Brit. J. Exp. Pathol. 21, 38 (1940).

⁵) Lancet 236, 431 (1939).

⁶⁾ Brit. J. Exp. Pathol. 21, 74 (1940).

⁷⁾ Brit. J. Exp. Pathol. 21, 90 (1940).

⁸⁾ Die Chemie **55**, 1 (1942); B. **74**, 1617 (1941).

⁹⁾ Vgl. dazu P. Karrer, H. Ruckstuhl, Bl. Schweiz. Med. Wiss. I, 236 (1945).

¹⁰) G. Machek, M. 72, 77 (1939).

¹¹) Vgl. Warburg und Christian, Bioch. Z. 282, 157 (1935); P. Karrer und Mitarb., Helv. 19, 812, 1028 (1936); 20, 55, 72, 418, 622 (1937); 21, 223 (1938).

Die Reduktion zum N-Methyl-o-dihydro-pyridin- β -sulfonsäure-amid verlief somit praktisch quantitativ.

N-Methyl-o-dihydro-pyridin-β-sulfonsäureamid.

0,80 g Pyridinsulfonsäure-amid-jodmethylat und 2,56 g wasserfreies Natriumhydrogencarbonat wurden in 20 cm³ kaltem Wasser gelöst, wobei sich eine gelbe Lösung bildete. Unter Durchleiten von gereinigtem Stickstoff trug man in diese 2,40 g festes Natriumdithionit ein. Bald nachdem dieses in Lösung gegangen war, begann sich letztere zu trüben und nach kurzer Zeit setzte Krystallisation ein. Nach 2 Stunden haben wir die ausgeschiedenen Krystalle abgenutscht und aus Benzol umkrystallisiert. Ausbeute 26,4 mg. Die Verbindung ist das N-Methyl-o-dihydro-pyridin- β -sulfonsäure-amid; Smp. 115° . Sie reduziert Silbernitrat schon in der Kälte.

 $C_6H_{10}O_2N_2S$ (174,1) Ber. C 41,35 H 5,78% Gef. ,, 41,00 ,, 5,55%

Pyridin-\(\beta\)-sulfons\(\text{aure-amid-jod\(\text{athylat.}}\)

Die Verbindung wurde durch 8-stündiges Erhitzen von 2,0 g Pyridin- β -sulfonsäureamid mit 6,1 g Äthyljodid auf 100° dargestellt. Nach dem Abdestillieren des Überschusses von Äthyljodid nahm man den Rückstand in wenig Wasser auf und fällte das Jodäthylat durch Zugabe von Alkohol und viel Äther aus. Die alkoholisch-ätherische Mutterlauge wurde eingedampft, der Rückstand zwecks Entfernung von Pyridin- β -sulfonsäure-amid mit Benzol dreimal ausgekocht und der ungelöste Anteil mit der Hauptmenge des Pyridin- β -sulfonsäure-amid-jodäthylats vereinigt. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol schmolz dieses bei 165°. Ausbeute 1,24 g.

N-Äthyl-o-dihydro-pyridin-β-sulfonsäure-amid.

Zur Reduktion versetzten wir die Lösung von 0,80 g Pyridin- β -sulfonsäure-amidjodäthylat und 2,8 g Soda in 20 cm³ kaltem Wasser mit 2,40 g Natriumdithionit. Die Lösung wurde unter Stickstoff gehalten. Sie trübte sich bald und ein geringer Niederschlag fiel aus. Nach einer Stunde haben wir diesen abgenutscht und die Mutterlauge 10mal mit je 20 cm³ Äther ausgezogen. Die getrockneten Ätherextrakte hinterliessen nach dem Verdampfen des Lösungsmittels das N-Äthyl-o-dihydro-pyridin- β -sulfonsäure-amid, das nach zweimaliger Krystallisation aus Benzol bei 94—95° schmolz. Ausbeute 16 mg.

 $C_7H_{12}O_2N_2S$ (188,1) Ber. C 44,64 H 6,43% Gef. ,, 44,41 ,, 6,47%

Pyridin-3-aldehyd-jodmethylat.

Pyridin-3-aldehyd¹) reagiert bei gewöhnlicher Temperatur mit Methyljodid unter Erwärmung. Das gelbe Jodmethylat kann aus wenig n-Propylalkohol in Essigester umkrystallisiert werden. Smp. 174°. Die wässerige Lösung ist farblos.

 ${
m C_7H_8ONJ}$ Ber. C 33,73 H 3,21 J 51,00% Gef. ,, 33,98 ,, 3,13 ,, 50,91%

Bei der manometrisch gemessenen Reduktion des Pyridin-3-aldehyd-jodmethylats mit $Na_2S_2O_4$ in Natriumhydrogencarbonatlösung wurde eine CO_2 -Menge freigesetzt, die ca. 10% höher als der theoretische Wert (d.h. 2 Mol CO_2 pro Mol Jodmethylat) lag. Es bildete sich dabei also zweifellos die Dihydroverbindung (N-Methyl-o-dihydro-pyridin-3-aldehyd). Es ist uns aber bisher nicht gelungen, diese Verbindung krystallisiert zu erhalten.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

¹⁾ L. Panizzon, Helv. 24, 26 E (1941).

136. Beitrag zur Kenntnis der Bromstärke von Robert Haller.

(24. VI. 46.)

Über das Verhalten von Stärke zu Halogenen ist in der Literatur, besonders was das Jod anbetrifft, allerhand zu finden. Auch über das Verhalten von Stärke zu Hypochloriten ist schon viel gearbeitet worden¹), wobei diese Untersuchungen auch Veranlassung zur technischen Verwendung der Reaktionsprodukte gegeben haben.

Was das Jod anbelangt, so ist ja die blaue Färbung, welche Stärke mit dem Halogen annimmt, schon lange als diagnostische Reaktion auf Stärke bekannt. Die Jodstärke ist vielfach studiert worden: Lottermoser2) hat festgestellt, dass es sich bei der Jodstärke um die Bildung einer Adsorptionsverbindung handle; Befunde, welche ich seinerzeit auf Grund eigener mikroskopischer Untersuchungen machen konnte, konnten die Ergebnisse Lottermoser's bestätigen, wobei sich aber weiter ergab, dass die blaue Färbung sich auf die äussere Schicht des Stärkekorns beschränkt³). Dass Jod unter gewissen Bedingungen Stärke nicht blau, sondern violett, oft sogar rot färbt, ist verschiedentlich beobachtet worden. Man hat auf Grund dieser Farbenvariationen gewisse Abbauprodukte der nativen Stärke voneinander abgrenzen wollen. Burgstaller4) bewies aber, dass die roten und violetten Färbnuancen, welche die Stärke und besonders die Produkte der Stärkehydrolyse mit Jod annehmen, diagnostisch eine viel geringere Bedeutung besitzen, als früher angenommen wurde, da sie sich schwer gegeneinander abgrenzen lassen. Immerhin deuten violette und rote Farbtöne bei Jodzusatz doch auf gewisse Abbaustadien. Wir wissen weiter, dass die Jodstärke beim Erhitzen bis zur Verkleisterung entfärbt wird, dass aber die indigoblaue Nuance der ursprünglichen Jodstärke beim Erkalten wiedereintritt; längeres Erhitzen des Jodstärkekleisters verhindert, wohl wegen der Verflüchtigung des Jods, das Wiederauftreten der blauen Farbe. Ein Abbau von Stärke beim Verkleistern der Jodstärke wurde bisher nicht beobachtet.

Kaum untersucht ist das Analogon der Jodstärke, die Bromstärke. Versetzt man eine wässrige Dispersion von beispielsweise Kartoffelstärke (diese Sorte liegt den vorliegenden Untersuchungen zugrunde) mit einer gesättigten Lösung von Brom in Wasser, so wird das Brom rasch aufgenommen und die Stärke färbt sich in einem ausgesprochenen Rotorange-Ton. Die mikroskopische Untersuchung der so gebildeten Bromstärke ergibt keine Veränderung der morphologischen Verhältnisse des Korns.

Es gelingt, durch wiederholtes Auswaschen der Bromstärke mit Wasser das Brom vollständig zu entfernen, so dass die weissen Stärkekörner zurückbleiben, die sich nach wie vor mit Kaliumtrijodid blau färben; die Verbindung Brom und Stärke ist also, im Gegensatz zu der von Jod und Stärke, recht labilen Charakters.

¹⁾ Lobenstein, Über die Herstellung einer löslichen Stärke durch Einwirkung von Natriumhypochloritlösung auf Stärke, Diss. Leipzig 1930.

Z. angew. Ch. 34, 427 (1921); 36, 508 (1923); 37, 84 (1924).
 Koll. Z. 12, 89 (1927); Helv. 22, 596 (1940); 28, 450 (1945).

⁴⁾ Ch. Z. 1912, 589.

Auch chemisch bleibt das Stärkekorn nach der Adsorption von Brom, denn um eine solche handelt es sich, scheinbar völlig intakt. Es ist von vorneherein wahrscheinlich, dass durch das Brom ein gewisser Abbau der Stärke provoziert wird; um das festzustellen, habe ich mich einer sehr empfindlichen Reaktion bedient, von der ich in der Folge noch öfters Gebrauch machen werde.

Versetzt man nämlich eine Stärkesuspension in Wasser mit einem Tropfen eines Teiges von Cibanongelb GN (Ciba), einem anthrachinoiden Küpenfarbstoff, dann mit einigen Tropfen Natronlauge und erhitzt die Mischung auf dem Wasserbad unter stetem Durchrühren auf 80—90°C, so tritt erst nach geraumer Zeit eine schwache, grünliche Färbung auf, welche aber beim Durchrühren oder Durchschütteln der viskosen Masse rasch wieder verschwindet und der gelben Farbe des Cibanongelb GN Platz macht.

Im Gegensatz dazu verhält sich eine abgebaute Stärke vollkommen anders. Unter denselben Bedingungen färbt sich die auf 80—90°C erwärmte Mischung sehr rasch zunächst grün, dann rein blau, und diese Färbung ist ausserordentlich stabil.

Untersucht man nun das Verhalten der wässrigen Suspension von Bromsträke beim Erhitzen auf dem Wasserbad bis auf 80—90°C, so wird man zunächst den normalen Vorgang der Verkleisterung beobachten; die Farbe des Kleisters verändert sich von Orange nach Gelb. Diese gelbe Färbung bleibt aber im Gegensatz zur Jodstärke bestehen. Gleichzeitig stellt sich eine deutliche Verflüssigung des Kleisters ein. Hat das Erhitzen auf dem Wasserbad nicht zu lange angehalten, so nimmt die Lösung beim Erkalten wieder an Viskosität zu und färbt sich wieder, unter starker Trübung, orangerot. Hat das Erhitzen aber lange gedauert, so regeneriert sich diese orange Färbung kaum mehr.

Untersucht man diese gelb gefärbte, nur sehr schwach viskose Flüssigkeit, indem man zur Entfernung des Broms dialysiert bis zur Entfärbung, so ergibt eine, wie oben beschrieben, vorgenommene Probe mit Cibanongelb GN einen kräftigen Abbau der Stärke, die auf dem Wasserbad mit dem Farbstoff und wenig Ätzkali erwärmte dialysierte Lösung färbt sich rasch rein blau und behält diese Färbung auch beim Umrühren. Versetzt man etwas von der dialysierten Lösung mit einem Tropfen Kaliumtrijodid, so beobachtet man im ersten Moment die Bildung einer rotvioletten Färbung, die dann in eine blauviolette übergeht. Eine Reduktion von Fehling'scher Lösung findet nicht statt.

Um den Ort der Ablagerung des Broms im Stärkekorn festzustellen, wurde eine Suspension von Bromstärke mit Silbernitratlösung versetzt. Die Stärke wird entfärbt und nimmt beim Belichten eine grauschwarze Farbe von metallischem Silber an, das sich dort bildet, wo das Brom ein- bzw. aufgelagert war. Lässt man solche schwarzbraun gefärbte Körner quellen, wozu sich eine konzentrierte Lösung von Calciumnitrat vorzüglich eignet, so wird man unter dem Mikroskop deutlich die Bildung eines schwarzen Gürtels um das gequollene Korn beobachten, während das Innere des Korns nahezu ungefärbt erscheint. Das Halogen hat sich also, analog der Jodstärke (l. c.), lediglich in der Aussenhülle eingelagert.

Statt das Brom als solches auf die Stärke einwirken zu lassen, wurde eine Suspension von Stärke der Wirkung von Brom "in statu nascendi" unterworfen, in der Meinung, dass auf diese Weise eine energischere Wirkung des Halogens statthaben könnte. Zu diesem Zwecke wurde eine Mischung von Natriumbromid und Natriumbromat verwendet, eine Salzmischung, welche vor langen Jahren von den Farbwerken Meister, Julius und Brüning in Höchst zum Zwecke der Ätzung von Indigofärbungen unter dem Namen "Bromsalz" in den Handel gebracht wurde¹). Man erhält eine solche Mischung leicht, wenn man Brom in konz. Natronlauge bei Zimmertemperatur so lange einlaufen lässt, bis das Halogen nicht mehr aufgenommen wird. Die Lösung erwärmt sich während des Zusatzes von Brom stark und beim Eindampfen erhält man eine Mischung von Natriumbromid und Natriumbromat als weisse Krystallmasse.

¹⁾ Färber-Z. 1905, 337.

Dieses Salzgemisch spaltet in wässriger Lösung mit Säuren, auch organischen, Brom ab. Versetzt man eine Suspension von Kartoffelstärke in einer Lösung des Bromid-Bromat-Gemisches mit Säure, beispielsweise mit Eisessig, so wird schon in der Kälte, rascher in der Wärme, Brom frei. Die Stärke färbt sich nach und nach gelb, dann intensiv orangerot.

Eine in dieser Weise hergestellte Bromstärke zeigt nun ein von der mit freiem Brom besonders beim Erwärmen der Suspension dargestellten abweichendes Verhalten. Im Wasserbad bei 80—90° C erfolgt nach der Verkleisterung nur eine recht langsame Abnahme der Viskosität des Kleisters; die orangerote Farbe weicht nur langsam einer gelben, und man kann bei der mikroskopischen Untersuchung noch recht lange die Stärkekörnerhüllen feststellen, der Abbau erfolgt also viel langsamer als bei der mit freiem Brom angesetzten Probe. Nach längerem Erwärmen verschwindet aber auch hier die orange Farbe und macht einer rein gelben Platz. Beim Erkalten der nicht allzu lange erhitzten Probe beginnt eine kräftige Viskositätszunahme, begleitet von einer raschen und vollständigen Regeneration der orangen Färbung, wobei die Masse eine recht konsistente Beschaffenheit annimmt und sich dabei vollkommen trübt.

Unterwirft man diese gallertige Masse der Dialyse, um das Brom und die Salze zu entfernen, so resultiert zuletzt eine farblose, viskose, opake Flüssigkeit, welche sich mit Kaliumtrijodid sofort rein blau färbt, mit Cibanongelb GN in alkalischer Lösung beim Erwärmen auf dem Wasserbad rasch rein und klar blau wird und Fehling'sche Lösung nicht reduziert.

Die Stärke wurde also auch hier durch das naszierende Brom abgebaut, aber eigentümlicherweise nicht so weitgehend wie mit freiem Brom, was aus der Bildung der rein blauen Färbung mit Kaliumtrijodid geschlossen werden kann. Die entstehenden Abbauprodukte gehören also zu der Kategorie der "löslichen Stärken", den noch wenig definierten Zwischenstadien zwischen Dextrinen und Stärke.

Bemerkenswert ist die grosse Stabilität der Orangefärbung des Bromstärkekleisters; beim Eintrocknen einer dünnen Schicht desselben auf einer Glasplatte bleibt die Orangefärbung noch recht lange völlig ungeschwächt bestehen, während merkwürdigerweise Körner von Bromstärke auf einer Glasplatte zum Trocknen ausgebreitet sehr rasch jede Färbung verlieren und weisse, morphologisch völlig unveränderte Stärkekörner zurücklassen.

Wenn wir nun diese Resultate überblicken, so stellen wir eine gewisse Analogie fest zwischen den Produkten, welche man einerseits mit Jod, andrerseits mit Brom erhält. Während allerdings im Gegensatz zu der Bromstärke die Jodstärke auch durch sehr lange anhaltendes Waschen mit kaltem Wasser in keiner Weise verändert wird, finden wir bei der Bromstärke eine viel geringere Stabilität.

Beim Erhitzen von wässrigen Suspensionen der Jodstärke über den Verkleisterungspunkt wird die blaue Jodstärke vollkommen entfärbt; die blaue Färbung regeneriert sich aber, wenn nicht zu lange erhitzt wurde.

Vollkommen analog verhält sich die Bromstärke; das Erhitzen der wässerigen Suspensionen derselben bei 80—90° C lässt die Farbe von Orangerot, dem eigentlichen Farbton der Bromstärke, nach Hellgelb abblassen. Wenn wiederum nicht allzu lange, nur bis zur vollkommenen Verflüssigung des Kleisters erhitzt wird, regeneriert sich auch hier die lebhaft orangerote Farbe der Bromstärke unter Erhöhung der Viskosität der Lösung.

Ein Unterschied im Verhalten von Jod- bzw. Bromstärke ist aber unter den geschilderten Bedingungen doch festzustellen. Während Jodstärke sich zwar entfärbt, aber keine Einbusse an der Viskosität des Kleisters erleidet, auch keinerlei nachweisbaren Abbau der Stärkesubstanz zeigt, geht bei der Bromstärke vor allem eine Verflüssigung des Kleisters mit einem erheblichen Abbau der Stärke Hand in Hand.

Wir wissen nun, dass das Stärkekorn aus zwei sich chemisch verschieden verhaltenden Substanzen, der Stärke-amylose, der Inhaltssubstanz des Korns und dem Amylopektin, der Substanz der Stärkekornhülle besteht. Wir wissen weiter, dass der Sitz der verschiedenen Färbungen, auch der Jod- und Bromfärbung, wie wir oben gesehen haben, das Amylopektin ist. Bei der Verkleisterung, an welchem Vorgang das Amylopektin, welches wahrscheinlich Cellulose als Gerüstsubstanz enthält1), vorzugsweise beteiligt ist, erfolgt bei der Behandlung mit Brom auf 80-90° C zunächst ein Abbau der Amylose und erst bei längerem Erhitzen wird auch das Amylopektin vom Abbau erfasst. Solange von letzterem intakte Anteile im Kleister vorhanden sind, erfolgt beim Erkalten die Regeneration der orangeroten Bromstärke mehr oder weniger vollständig, während die Abbauprodukte, in die Kategorie der löslichen Stärken gehörend, nur hellgelb gefärbt sind. Ist das Amylopektin ebenfalls vollkommen abgebaut, so bleibt die viskose Masse gelb und regeneriert die orangerote Bromstärkefärbung nicht mehr. Bei Jodstärke wird die blaue Farbe der durch Erhitzen des Kleisters entfärbten Masse deshalb wieder regeneriert, weil ein Abbau der Stärkesubstanz nicht stattgefunden hat.

Der Vollständigkeit halber soll noch darauf hingewiesen sein, dass aus den dialysierten Lösungen des Bromstärkekleisters und des Bromatstärkekleisters die Abbauprodukte durch Fällen mit Alkohol als weisse, amorphe Massen gewonnen werden können.

Riehen bei Basel, Juni 1946.

137. o,o'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan

von K. Gätzi.

(24. VI. 46.)

Von den 6 isomeren x,x'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthanen sind bis jetzt erst drei bekannt, nämlich die p,p'-, die m,p'- und die o,p'-Verbindung²). Ein weiteres Isomeres, das o,o'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan, konnte vor einiger Zeit auf indirektem Wege als Bestandteil des technischen DDT's nachgewiesen werden³). Da aber

¹⁾ Helv. 28, 453-454 (1945).

²⁾ H. L. Haller und Mitarbeiter, Am. Soc. 67, 1591 (1945).

³⁾ K. Gätzi, W. Stammbach, Helv. 29, 563 (1946).

dieses o,o'-Isomere durch eine eindeutige Synthese bis jetzt nicht zugänglich ist, so wurde seine direkte Isolierung als Nebenprodukt der Darstellung eines der bekannten Dichlordiphenyl-trichlor-äthane versucht. Unter den günstigsten Verhältnissen wird das o,o'-Isomere bei der Kondensation von 1-o-Chlorphenyl-2-trichlor-äthanol mit Chlorbenzol gebildet, wobei es neben dem o,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan als praktisch einziges Isomere anfällt.

Als Trennungsmethode führte eine wiederholte Anwendung der chromatographischen Adsorption an sehr aktivem Aluminiumoxyd und fraktionierte Elution mit niedrigsiedendem Petroläther zum Ziel. So gelang es schliesslich, aus den Mutterlaugen der o,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan-Synthese ein Produkt krystallisiert zu erhalten, das nach 2—3 maligem Umlösen aus Alkohol bei 92,5—93° schmolz und sich nach Analyse und Abbaureaktionen als das gesuchte o,o'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan (I) erwies. Es ist in Alkohol etwa doppelt so leicht löslich wie sein p,p'-Isomeres und krystallisiert daraus sehr gut in schön ausgebildeten, flachen Prismen. Alkoholische Natronlauge spaltet in der Kälte bei kurzer Einwirkung keine Salzsäure ab.

Die Konstitution konnte durch folgende Abbaureaktionen sichergestellt werden. Beim Erhitzen mit alkoholischem Alkali wird das o, o'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan fast quantitativ in die entsprechende Äthylenverbindung (II) übergeführt, die bei 148—149° schmilzt. Diese Äthylenverbindung ist, im Gegensatz zu den bis jetzt bekannten Isomeren¹), gegen Chromtrioxyd in kochendem Eisessig praktisch vollkommen beständig; erst bei 200° tritt teilweise eine über die Dichlordiphenylketon-Stufe hinausgehende Oxydation ein.

Die Verseifung von (II) mit Natriumalkoholat bei 145° gibt neben unverändertem Ausgangsmaterial in schlechter Ausbeute o, o'-Di-

¹⁾ H. L. Haller, loc. cit.

chlordiphenyl-essigsäure (III), deren Anilid mit dem synthetischen 0,0'-Dichlordiphenyl-essigsäure-anilid¹) identisch ist. Bei Erhöhung der Verseifungstemperatur auf 180° werden nur noch Neutralprodukte erhalten. Die 0,0'-Dichlordiphenyl-essigsäure als primäres Verseifungsprodukt wird bei dieser Reaktionstemperatur gleichzeitig decarboxyliert zum Diphenylmethan-Derivat (IV), aus welchem nach Oxydation mit Chromtrioxyd 0,0'-Dichlordiphenylketon (V) vom Smp. 45—47° isoliert und als 2,4-Dinitrophenylhydrazon identifiziert werden konnte.

Bei der Darstellung von o,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan wird das o,o'-Isomere etwa zu 1% gebildet. Seine insektizide Wirkung ist gering.

Anschliessend sind noch einige physikalische und chemische Eigenschaften der bis jetzt bekannten 4 isomeren x,x'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthane zusammengestellt.

x, x'- Dichlor- diphenyl- trichlor-	Smp.	Krystallform (aus Alkohol)	Löslichkeit in 96-proz. Alkohol $(\pm~0.5\%)$		Abspal barkeit von 1 Mol HCl mit 0,1-n. alkohol. NaOH ²)	
äthan			00	200	45 Min. bei 22°	10 Min. bei 80°
p, p'- m, p'- o,p'- o,o'-	108—109° Öl 73—74° 92,5—93°	Nadeln dicke Prismen flache Prismen	1,1% 1,8% 2,2%	1,7% 	100% 87% 12% 0%	100% 98% 115%³) 73%

Experimenteller Teil4).

o,o'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan (I).

Die alkoholischen Krystallisationsmutterlaugen aus einem einmolaren Ansatz o,p'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan⁵) wurden im Vakuum eingedampft und möglichst vollständig vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wog ca. 80 g, was etwa 23% der theoretisch möglichen Gesamtmenge entspricht.

Fraktionen	Lösungsmittel	Eluat	
1 2 3 4 5—11 12, 13	100 cm ³ Petroläther 100 cm ³ Petroläther 100 cm ³ Petroläther 100 cm ³ Petroläther je 100 cm ³ Petroläther je 100 cm ³ Äther 100 cm ³ Äther	4,14 g 4,09 g 1,91 g 0,46 g 0,66 g 7,22 g 0,05 g	Smp. 65—72° Smp. 60—71° Öl Öl Öl Smp. 103—107° Smp. 104—107°

¹⁾ K. Gätzi, W. Stammbach, loc. eit.

²⁾ Von Hrn. Dr. R. Meyer, Leiter unseres analytischen Laboratoriums, bestimmt.

 ³) Vgl. S. J. Cristol, H. L. Haller, Am. Soc. 67, 2222 (1945).
 ⁴) Sämtliche Schmelzpunkte wurden nach Kofler unter dem Mikroskop bestimmt

⁴⁾ Sämtliche Schmelzpunkte wurden nach Kojler unter dem Mikroskop bestimmt und sind korrigiert.

⁵⁾ H. L. Haller und Mitarbeiter, Am. Soc. 67, 1591 (1945); hergestellt von Dr. H. Zaeslin.

20 g dieses dickflüssigen, von einigen Krystallen durchsetzten Öles wurden in 100 cm³ Petroläther gelöst und an 200 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) chromatographiert.

Aus den Fraktionen 1 und 2 wurden 2,0 g reines o,p'-Dichlordiphenyl-trichloräthan vom Smp. 73—74° erhalten. Die Fraktionen 12—14 krystallisierten aus Äther in Prismen vom Smp. 107—108° und waren identisch mit dem p-Chlorbenzolsulfoester des 1-o-Chlorphenyl-2-trichlor-äthanols¹), Mischsmp. 106—108°.

Die Fraktionen 1—11 (9,0 g) wurden zusammen nochmals an 200 g Aluminiumoxyd

(Aktivität I) chromatographiert und mit Petroläther eluiert.

Fraktionen	Lösungsmittel	Eluat	
1 2 3 4 5 6, 7 8—11 12—14 15—23 24—26	50 cm³ Petroläther je 50 cm³ Petroläther	0,03 g 1,86 g 1,28 g 1,05 g 0,73 g je ca. 0,5 g je 0,2 -0,3 g je 0,1 -0,2 g je 0,02-0,1 g 0,42 g	Smp. 66—73° Smp. 66—72° Öl Smp. 64—86° Smp. 90—93° Smp. 108°

Aus den Fraktionen 8—23 krystallisierten aus wenig Petroläther flache Prismen vom Smp. zwischen 80 und 93°, die nach 2- bis 3-maligem Umkrystallisieren aus Alkohol bei 92,5—93° scharf schmolzen. Die Ausbeute an 0,0'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan betrug 0,4—0,6 g.

Die Löslichkeit beträgt in 96-proz. Alkohol bei 0° 2,2%, bei 20° 2,5% \pm 0,5%.

0,1 g o,o'-Dichlordiphenyl-trichlor-äthan wurden mit 20 cm³ absolutem Alkohol, in dem 0,1 g Natrium gelöst waren, 4 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Der Alkohol wurde abdestilliert, das Reaktionsprodukt mit Wasser versetzt und ausgeäthert. Die ätherischen Auszüge wurden mit verdünnter Salzsäure und verdünnter Natronlauge neutral gewaschen und eingedampft. Das in Alkohol ziemlich schwer lösliche 1,1-Di-(o-chlorphenyl)-2,2-dichlor-äthylen krystallisierte in Prismen vom Smp. 148—149°, Ausbeute 0,08 g.

0,1 g der Äthylenverbindung (II) wurden mit 0,1 g Chromsäure-anhydrid in 10 cm³ reinem Eisessig 8 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die Aufarbeitung gab 0,07 g Ausgangsprodukt zurück. Aus den Mutterlaugen konnte kein 2,4-Dinitrophenylhydrazon des 0,0'-Dichlordiphenylketons erhalten werden.

Der gleiche Versuch, in einem Einschlussrohr bei 200° durchgeführt, lieferte noch ca. 0,01 g Ausgangsmaterial zurück. 0,0'-Dichlordiphenylketon war nicht nachzuweisen.

Verseifung von o,o'-Dichlordiphenyl-trichlor-athan.

a) bei 145° . 0,05 g 0,0'-Dichlordiphenyl-trichlor-āthan wurden mit einer Lösung von 0,05 g Natrium in 4,0 cm³ absolutem Alkohol in einem Einschlussrohr 20 Stunden auf 145° erhitzt. Der Rohrinhalt wurde im Vakuum vom Alkohol befreit, in wenig Wasser aufgenommen und ausgeäthert.

¹⁾ H. L. Haller, loc. cit.

Aus den gewaschenen und eingedampften Ätherauszügen krystallisierten aus Alkohol Prismen vom Smp. $148-149^{\circ}$, 0.03 g. Mischschmelzpunkt mit 1.1-Di-(o-chlorphenyl)-2.2-dichlor-äthylen (II) ebenso.

Die wässrig-alkalische Lösung wurde angesäuert und ausgeäthert, die Ätherauszüge mit wenig Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Es hinterblieben ca. 5 mg Rückstand, der unmittelbar mit Thionylchlorid in das Säurechlorid übergeführt wurde. Das Thionylchlorid wurde im Vakuum abdestilliert, der Rückstand in 5 cm³ absolutem Äther aufgenommen, mit einem Tropfen Anilin versetzt und 1 Stunde unter Rückfluss erhitzt. Die Aufarbeitung ergab ein Produkt, das aus ca. 2 cm³ Alkohol in Nadeln vom Smp. 270—272° krystallisierte, Ausbeute ca. 1 mg. Mischschmelzpunkt mit synthetischem o,o'-Dichlordiphenyl-essigsäure-anilid¹) 270—273°.

b) bei 175—180°. Ein gleicher Ansatz wie unter a) wurde 20 Stunden auf 175—180° erhitzt und analog aufgearbeitet. Aus der wässrig-alkalischen Lösung wurde nur eine Spur Säure erhalten, die nicht in ein krystallisiertes Anilid übergeführt werden konnte.

Die neutral gewaschene Ätherlösung wurde eingedampft und hinterliess 0,02 g Rückstand, der nicht krystallisierte. Er wurde deshalb mit 0,02 g Chromtrioxyd in 1 cm³ Eisessig 1 Stunde auf 100° erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abgedampft, der Rückstand mit Wasser versetzt und ausgeäthert. Der aus den mit verdünnter Salzsäure und verdünnter Natronlauge gewaschenen Ätherauszügen erhaltene Rückstand wurde in einem kleinen Röhrchen im Vakuum destilliert und krystallisierte nach einigem Stehen. Schmelzpunkt roh 45—47°, Mischschmelzpunkt mit 0,0′-Dichlordiphenylketon 44—47°.

2,4-Dinitrophenylhydrazon: 0,01 g Keton wurden in 0,25 cm³ Alkohol gelöst, mit einer Lösung von 0,01 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin und 0,02 cm³ konz. Schwefelsäure in 0,15 cm³ Alkohol versetzt und einige Tage stehen gelassen. Das Phenylhydrazon krystallisierte langsam und schmolz bei 202—206°. Mischschmelzpunkt mit dem 2,4-Dinitrophenylhydrazon des 0,0'-Dichlordiphenylketons²) 202—207°.

Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Leitung Frl. Dr. M. Schaerer) ausgeführt.

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der J. R. Geigy A.-G., Basel.

138. Strychnos-Alkaloide.

(3. Mitteilung³))

5-Äthyl-cyclopentano-3,4-piperidin und 6-Äthyl-indolizidin von V. Prelog und O. Metzler.

(25. VI. 46.)

Durch Abbau mit Alkali erhielt G. R. Clemo⁴) aus Strychnin eine Base C₁₀H₁₁N, welche bei der Hydrierung mit Platin in Eisessig 4 Mol Wasserstoff aufnahm und in eine gesättigte bicyclische Base C₁₀H₁₉N überging. Die letzterwähnte gesättigte Base ist nicht identisch mit 1-Äthyl-indolizidin, 2-Äthyl-indolizidin sowie 2-Methyl-chinolizidin,

b

¹⁾ K. Gätzi, W. Stammbach, loc. cit.

²⁾ H. L. Haller, loc. cit.

^{3) 2.} Mitt., Helv. 28, 1669 (1945). 4) Soc. 1936, 1695.

wie von $G.\ R.\ Clemo$ und $T.\ P.\ Metcalfe^1)$ durch die Synthese der Vergleichspräparate festgestellt wurde. Wir haben nun zwei weitere bicyclische Basen $C_{10}H_{19}N$ hergestellt, welche nach den in letzter Zeit vorgeschlagenen Formeln I^2) und II^3) aus Strychnin entstehen könnten. Die beiden Verbindungen — ein 5-Äthyl-cyclopentano-3, 4-piperidin (III) und ein 6-Äthyl-indolizidin (IV) — waren jedoch mit der aus Strychnin erhaltenen Base nicht identisch⁴).

Das 5-Äthyl-cyclopentano-3, 4-piperidin (III) wurde durch katalytische Hydrierung von 5-Äthyl-cyclopenteno-3, 4-pyridin (VIII) gewonnen. Wir führten die Hydrierung unter denselben Bedingungen durch, unter welchen die Base $C_{10}H_{11}N$ aus Strychnin zu $C_{10}H_{19}N$ hydriert wurde, so dass man, wenn es sich um strukturidentische Verbindungen gehandelt hätte, die Entstehung der gleichen Stereoisomeren erwarten könnte. Das Pikrat und das Pikrolonat der synthetischen Base gaben jedoch mit den entsprechenden Derivaten der Base aus Strychnin eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Das 5-Äthyl-cyclopentano-3,4-piperidin lieferte weiter mit Methyljodid ein quaternäres Ammoniumsalz der Zusammensetzung $C_{12}H_{24}NJ$, während die Base aus Strychnin ein Jodmethylat der Zusammensetzung $C_{11}H_{22}NJ$ bildet.

Die Synthese des 5-Äthyl-cyclopenteno-3,4-pyridins (VIII) wurde auf folgendem Wege durchgeführt: Der (2-Carbäthoxy- Δ^1 -cyclopentenyl)-cyanessigsäure-äthylester 5) wurde mit Natriumäthylat und

¹) Soc. 1937, 1518. ²) Exper. I, 197 (1945).

³) R. Robinson, Exper. 2, 28 (1946); H. T. Openshaw und R. Robinson, Nature 157, 438 (1946).

⁴) Für die freundliche Überlassung der Vergleichspräparate danken wir Prof. Clemo, der uns mitgeteilt hat, dass ihm die Konstitution der Base $C_{10}H_{19}N$ aus Strychnin bekannt ist. Wir haben darauf weitere Versuche zur Konstitutionsermittlung dieser Verbindung abgebrochen in Erwartung der Veröffentlichung von Prof. Clemo.

⁵) Vgl. Helv. 29, 1170 (1946).

Äthyl-bromid umgesetzt¹) und die entstandene Verbindung V mit methanolischer Kalilauge verseift. Aus dem erhaltenen 5-Äthyl-2,6-dioxy-cyclopenteno-3,4-pyridin (VI) liess sich auf übliche Weise durch Substitution der beiden Hydroxylgruppen mit Chlor (VII) und katalytische Hydrierung mit Raney-Nickel im alkalischen Medium das 5-Äthyl-cyclopenteno-3,4-pyridin (VIII) gewinnen.

Durch Behandlung mit kalter konz. Schwefelsäure bildet sich aus V die Verbindung IX, aus der man durch Kochen mit Salzsäure ebenfalls das 5-Äthyl-2,6-dioxy-cyclopenteno-3,4-pyridin erhalten kann. Die Behandlung der Verbindung V mit Salzsäure führte dagegen zu der ungesättigten Dicarbonsäure X. Das Verhalten der substituierten Derivate ist demnach durchaus analog dem Verhalten der entsprechenden Verbindungen ohne Äthylrest²).

Das 6-Äthyl-indolizidin (IV) liess sich durch intramolekulare Alkylierung aus 5-Äthyl-2-(γ-brom-propyl)-piperidin (XIV) herstellen. Die letztere Verbindung wurde auf einfache Weise aus 2-Methyl-5-äthyl-pyridin (Aldehyd-collidin) erhalten. Dieses gab mit Phenyl-lithium das Lithium-Derivat XI, welches mit Äthylenoxyd

¹⁾ Vgl. die Herstellung des entsprechenden Methyl-Derivates bei G. A. R. Kon und H. R. Nanji, Soc. 1932, 2431.

²⁾ Vgl. Soc. 1932, 2430.

in das 5-Äthyl-2-(γ -oxy-propyl)-pyridin (XII)¹) übergeführt wurde. Durch Hydrierung mit Platinoxyd-Katalysator in Eisessig, also wieder unter denselben Bedingungen, unter welchen die Hydrierung der Base $C_{10}H_{11}N$ aus Strychnin durchgeführt wurde, erhielten wir das entsprechende Piperidin-Derivat XIII. Die Hydrierung führte in der Hauptsache zu einem der beiden theoretisch möglichen Diastereomeren, da bei weiteren Umsetzungen nur eines der Isomeren isoliert werden konnte. Durch Erhitzen mit rauchender Bromwasserstoffsäure im Einschlussrohr wurde aus XIII das krystalline Hydrobromid der Verbindung XIV hergestellt, welches bei der intramolekularen Alkylierung ein einheitliches 6-Äthyl-indolizidin gab.

Experimenteller Teil 2).

Synthese des 5-Äthyl-cyclopentano-3,4-piperidins.

Äthyl-(2-carbathoxy-11-cyclopentenyl)-cyanessigsaure-athylester (V).

27 g (2-Carbäthoxy-∆¹-cyclopentenyl)-cyanessigsäure-äthylester wurden mit einer Lösung von 2,5 g Natrium in 100 cm³ absolutem Alkohol versetzt, wobei sich die Lösung stark erwärmte und eine rote Farbe annahm. Nachdem 24 g Äthyl-bromid zugegeben worden waren, wurde 3 Stunden unter Rückfluss gekocht. Darnach gab man weitere 10 g Äthyl-bromid zu und erhitzte weitere 2 Stunden unter Rückfluss. Das Gemisch, welches neutral reagierte, wurde nun vom abgeschiedenen Natriumbromid abfiltriert und in üblicher Weise aufgearbeitet. Das Reaktionsprodukt destillierte als farbloses Öl vom Sdp. 0.05 mm 112—115°. Ausbeute 27 g (90% der Theorie).

3,220 mg Subst. gaben 7,599 mg CO₂ und 2,168 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{15}H_{21}O_4N$ Ber. C 64,49 H 7,58% Gef. ., 64,40 ,, 7,53%

5-Äthyl-2,6-dioxy-cyclopenteno-3,4-pyridin (VI).

18 g des Esters V wurden mit einer Lösung von 12 g Kaliumhydroxyd in 75 cm³ Methanol und 3 cm³ Wasser 3 Stunden am Rückfluss gekocht. Beim Vermischen des Esters mit Kalilauge fiel unter starker Erwärmung ein weisser, krystalliner Niederschlag aus. Nach Beendigung der Verseifung wurde das Methanol im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde zur Entfernung der neutralen Anteile in wenig Wasser gelöst und mit Äther ausgeschüttelt, wobei nur 0,3 g eines neutralen Öls in Äther überging. Aus der wässerigen Lösung fiel durch Ansäuern ein dunkles Öl aus, welches in Äther aufgenommen wurde. Die nach dem Verdampfen des Äthers zurückgebliebene honigartige Masse wurde in 10 cm³ heissem Eisessig gelöst und mit 10 cm³ Wasser versetzt. Beim Erkalten fielen 5,6 g des bei 200° schmelzenden Reaktionsproduktes aus. Der Rest, 4,4 g, liess sich nicht zur Krystallisation bringen, gab jedoch bei der Umsetzung mit Phosphoroxychlorid dieselbe Verbindung VII, wie das krystalline Präparat. Zur Analyse wurde aus 50-proz. Essigsäure umgelöst und im Hochvakuum sublimiert; Smp. 203—204°. Das 5-Äthyl-2,6-dioxy-cyclopenteno-3,4-pyridin ist löslich in verdünnter Natronlauge.

3,942 mg Subst. gaben 9,669 mg CO₂ und 2,571 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{10}H_{13}O_2N$ Ber. C 67,02 H 7,31% Gef. ,, 66,94 ,, 7,30%

¹⁾ Die Reaktion der α-Picolin-Lithium-Derivate mit Alkylenoxyden eignet sich allgemein zur Herstellung von 2- $(\gamma$ -Oxy-propyl)-pyridinen; vgl. auch V. Prelog, L. Frenkiel und S. Szpilfogel, Helv. 29, 484 (1946).

²⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

5-Äthyl-2,6-dichlor-cyclopenteno-3,4-pyridin (VII).

 $5,0~\rm g$ der krystallinen Verbindung VI wurden im Einschlussrohr mit $25~\rm g$ Phosphoroxychlorid 7 Stunden auf $180^{\rm o}$ erhitzt. Aus dem Reaktionsprodukt liessen sich nach Zersetzen mit Eis, Sättigen mit Kaliumcarbonat und Ausschütteln mit Äther 3,0 g (50% der Theorie) des rohen krystallinen Dichlor-Derivates erhalten. Zur Reinigung wurde im Vakuum destilliert, Sdp. $_{11~\rm mm}$ $167-168^{\rm o}$, und aus Methanol umkrystallisiert, Smp. $68^{\rm o}$.

3,754 mg Subst. gaben 7,644 mg $\rm CO_2$ und 1,711 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{10}H_{11}NCl_2$ Ber. C 55,58 H 5,13% Gef. ., 55,57 ,, 5,10%

5-Äthyl-cyclopenteno-3,4-pyridin (VIII).

5,2 g des Dichlor-Derivates VII wurden mit Raney-Nickel-Katalysator aus 20 g Legierung in einer Lösung von 6,0 g Natrium in 100 cm³ Methanol mit Wasserstoff geschüttelt, bis die berechnete Menge aufgenommen worden war. Die rohe Base, welche aus dem Reaktionsgemisch durch Destillation mit Wasserdampf und Ausschütteln mit Äther gewonnen wurde, versetzte man mit 5,1 g Pikrinsäure in 50 cm³ Methanol, wobei 6,0 g (70% der Theorie) eines in gelben Nadeln krystallisierenden Pikrates vom Smp. 183—186° ausfielen. Nach Umlösen aus Methanol stieg der Smp. auf 190—192°.

4,136 mg Subst. gaben 7,723 mg CO $_2$ und 1,614 mg H $_2$ O C $_16$ H $_{16}$ O $_7$ N $_4$ Ber. C 51,06 H 4,29% Gef. ., 50,96 ,, 4,37%

Die freie Base, welche aus dem reinen Pikrat regeneriert wurde, bildete ein farbloses Öl vom Sdp. 11 mm 120°.

 $\begin{array}{c} d_4^{20}=1{,}0080;\; n_\alpha^{20}=1{,}5295;\; n_D^{20}=1{,}5337;\; n_\beta^{20}=1{,}5444;\; n_\gamma^{20}=1{,}5533.\\ 3{,}830\; mg\; Subst.\; gaben\; 11{,}440\; mg\; CO_2\; und\; 3{,}061\; mg\; H_2O\\ C_{10}H_{13}N & Ber.\; C\; 81{,}58 & H\; 8{,}90\%\\ Gef.\;\; ,\;\; 81{,}51 & ,,\;\; 8{,}95\% \end{array}$

 $\begin{array}{c} {\rm Das\ Styphnat\ bildete\ gelbe\ Nadeln\ aus\ Methanol,\ Smp.\ 176^{\circ}.} \\ 3,960\ {\rm mg\ Subst.\ gaben\ 7,125\ mg\ CO_2\ und\ 1,515\ mg\ H_2O} \\ {\rm C_{16}H_{16}O_8N_4} & {\rm Ber.\ C\ 48,98\ H\ 4,11\ \%} \\ {\rm Gef.\ ,\ 49,10\ \ ,\ 4,28\%} \end{array}$

gyel.

Verbindung IX.

1 g Äthyl-(2-carbāthoxy-∆¹-cyclopentenyl)-cyanessigsäure-āthylester (V) wurden mit 1 cm³ konz. Schwefelsäure versetzt, wobei sich das Gemisch stark erwärmte. Nach 24 Stunden wurde mit Eis zersetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Durch Destillation des ätherischen Auszuges im Hochvakuum erhielten wir 0,8 g eines gelblichen Öls vom Sdp_{'0,01 mm} 140—150°, welches nach Zugabe von Methanol zu einer farblosen krystallinen Masse erstarrte. Zur Analyse wurde dreimal aus wässerigem Alkohol umgelöst und im Hochvakuum sublimiert; Smp. 112°.

α-(2-Carboxy-Δ1-cyclopentenyl)-buttersäure (X).

2,3 g der Verbindung V wurden 12 Stunden am Rückfluss mit 20 cm³ konz. Salzsäure und 20 cm³ Wasser gekocht. Nach beendeter Reaktion wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft und mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgezogen. Aus dem unlöslichen Anteil (0,1 g) liess sich durch Umkrystallisieren aus 50-proz. Essigsäure das 5-Äthyl-2,6-dioxy-pyridin (VI) vom Smp. 203—204° erhalten. Beim Ansäuern des wässe-

rigen Auszuges fiel die ungesättigte Dicarbonsäure X als weisser Niederschlag aus. Nach zweimaligem Umlösen aus wässerigem Alkohol schmolzen die weissen Plättchen bei 176°.

> 3,800 mg Subst. gaben 8,396 mg $\rm CO_2$ und 2,435 mg $\rm H_2O$ C₁₀H₁₄O₄ Ber. C 60,59 H 7,12% Gef. ,, 60,30 ,, 7,17%

> > 5-Äthvl-cyclopentano-3,4-piperidin (III).

250 mg 5-Äthyl-cyclopenteno-3,4-pyridin wurden in 15 cm³ Eisessig mit einem Katalysator aus 150 mg Platinoxyd hydriert. Nachdem in 4 Stunden die theoretisch erwartete Wasserstoffmenge aufgenommen worden war, wurde vom Katalysator abfiltriert, mit Salzsäure versetzt, im Vakuum zur Trockne verdampft und die in Freiheit gesetzte Base mit Äther ausgeschüttelt. Durch Destillation im Kragenkolben erhielten wir 200 mg eines farblosen viskosen Öls, welches bei 10 mm und einer Badtemperatur von 1150 überging.

4,000 mg Subst. gaben 11,461 mg CO2 und 4,409 mg H2O C₁₀H₁₉N Ber. C 78,36 H 12,50% Gef. ,, 78,19 ,, 12,33%

Das Pikrat der Base bildete aus wässerigem Alkohol blassgelbe Nadeln vom Smp. 158-159°.

3,769 mg Subst. gaben 6,962 mg CO_2 und 1,992 mg H_2O C₁₆H₂₂O₇N₄ Ber. C 50,26 H 5,80% Gef. ,, 50,41 ,, 5,91%

Das Pikrolonat schmolz nach Umlösen aus Methanol bei 245-246°.

3,888 mg Subst. gaben 8,194 mg CO_2 und 2,265 mg H_2O C₂₀H₂₇O₅N₅ Ber. C 57,54 H 6,52% Gef. ,, 57,51 ,, 6,52%

Das Jodmethylat des N-Methyl-5-äthyl-cyclopentano-3,4-piperidins wurde durch Umsetzung mit Methyljodid in Aceton oder Benzol erhalten und krystallisierte aus Aceton-Methanol in farblosen Nadeln vom Smp. 311-3130.

3,786 mg Subst. gaben 6,477 mg CO2 und 2,664 mg H2O C₁₂H₂₄NJ Ber. C 46,60 H 7,82% Gef. , 46,69 , 7,87%

Synthese des 6-Äthyl-indolizidins.

5-Äthyl·2-(γ·oxy-propyl)-pyridin (XII).

12.1 g 2-Methyl-5-äthyl-pyridin in 30 cm3 Äther wurden im Laufe einer halben Stunde zu einer Lösung von Phenyl-lithium zugetropft, welche aus 1,4 g Lithium und 15,7 g Brom-benzel in 130 cm³ Äther bereitet worden war. Die Lösung färbte sich tiefrot, ohne sich merkbar zu erwärmen. Unter Eis-Kochsalz-Kühlung liess man dazu langsam eine Lösung von 6,5 g Äthylenoxyd in 20 cm3 Äther zutropfen, wobei ein weisser Niederschlag ausfiel. Die Hälfte des Äthers wurde darauf abdestilliert. Zum Rückstand tropfte man 75 cm³ absolutes Benzol zu und destillierte den Rest des Äthers bei 80° Badtemperatur ab. Das Reaktionsgemisch wurde noch 2 Stunden auf 85° erhitzt, darauf mit Eis zersetzt und mit Ather ausgeschüttelt. Die basischen Reaktionsprodukte wurden dann auf übliche Weise isoliert, Nach der Destillation im Vakuum erhielten wir 6,5 g (40% der Theorie) eines farblosen Öles vom Sdp. 0.1 mm 98—110°, welches zur Analyse zweimal im Kragenkolben rektifiziert wurde.

3,838 mg Subst. gaben 10,198 mg CO_2 und 3,098 mg H_2O C₁₀H₁₅ON Ber. C 72,69 H 9,15% Gef. ,, 72,51 ,, 9,03%

Das Pikrolonat der Base bildete aus Methanol gelbe Nädelchen vom Smp. 158-159°.

3,032 mg Subst. gaben 6,204 mg CO₂ und 1,501 mg H₂O $C_{20}H_{23}O_6N_5$ Ber. C 55,94 H 5,40% Gef. ,, 55,84 ,, 5,54%

5-Äthyl-2-(γ-oxy-propyl)-piperidin (XIII).

 $5,6\,\mathrm{g}$ der Verbindung XI wurden in $75\,\mathrm{cm}^3$ Eisessig mit $400\,\mathrm{mg}$ Platinoxyd-Katalysator hydriert. Die Hydrierung war in $12\,\mathrm{Stunden}$ beendet, worauf das Hydrierungsprodukt auf übliche Weise aufgearbeitet wurde. Die hydrierte Base bildete ein farbloses OI vom $\mathrm{Sdp.}_{0.06\,\mathrm{mm}}$ $88-89^{\circ}$, welches mit Pikrinsäure und Pikrolonsäure keine krystallinen Derivate lieferte. Ausbeute $5,5\,\mathrm{g}$.

Hydrobromid. 5 g 5-Åthyl-2- $(\gamma$ -oxy-propyl)-piperidin wurden mit verdünnter Bromwasserstoffsäure neutralisiert und zur Trockne eingedampft. Das entstandene Hydrobromid wurde im Einschlussrohr mit 20 cm³ 68-proz. Bromwasserstoffsäure 5 Stunden auf 120° erhitzt.

Nach Abdampfen der überschüssigen Bromwasserstoffsäure blieb ein dunkles zähes Öl zurück, aus welchem durch Umkrystallisieren aus Essigester 4,9 g (53 % der Theorie) des farblosen krystallinen Hydrobromids vom Smp. 140—150° erhalten werden konnten. Zur Analyse wurde noch zweimal aus Essigester umgelöst, wobei der Smp. auf 168—169° stieg.

4,004 mg Subst. gaben 5,542 mg CO_2 und 2,456 mg H_2O

6-Äthyl-indolizidin (IV).

1,0 g der Verbindung XIV in 200 cm³ Wasser wurde unter Rühren im Laufe von 2 Stunden zu einer auf 50° erwärmten Lösung von 2,0 g Natriumhydroxyd in 500 cm³ Wasser zugetropft. Die flüchtigen basischen Reaktionsprodukte wurden darauf mit Wasserdampf übergetrieben, in Äther aufgenommen und nach Trocknung mit Kaliumhydroxyd im Kragenkolben bei 12 mm und 100—105° Badtemperatur destilliert. Die Ausbeute an farbloser, öliger Base betrug 300 mg (62% der Theorie).

3,813 mg Subst. gaben 10,959 mg CO_2 und 4,252 mg H_2O

3,300 mg Subst. gaben 0,273 mg N_2 (21°, 725 mm) $C_{10}H_{19}N$ Ber. C 78,36 H 12,50 N 9,14%

Gef. ,, 78,43 ,, 12,48 ,, 9,16% $d_4^{23} = 0.8924; n_D^{23} = 1,4700$

 $d_4^{23} = 0.8924$; $n_D^{23} = 1.4700$ Mol. Refr. Ber. 47,92 Gef. 47,91

Das Pikrat bildete aus Methanol gelbe Nadeln vom Smp. 178°.

2,780 mg Subst. gaben 0,376 cm³ N₂ (20°, 724 mm)

C₁₆H₂₂O₇N₄ Ber. N 14,65 Gef. 15,01%

Das Pikrolonat krystallisierte aus Methanol in kurzen gelben Stäbehen vom Smp. 182—183°.

3,836~mg Subst. gaben 8,068~mg CO $_2$ und 2,279~mg H_2O

Das Jodmethylat wurde aus Aceton-Äther umkrystallisiert; farblose Nadeln vom Smp. 222—223°.

 $3{,}762~\mathrm{mg}$ Subst. gaben $6{,}182~\mathrm{mg}$ $\mathrm{CO_2}$ und $2{,}586~\mathrm{mg}$ $\mathrm{H}_{2}\mathrm{O}$

C₁₁H₃₂NJ Ber. C 44,75 H 7,51% Gef. ,, 44,85 ,, 7,60%

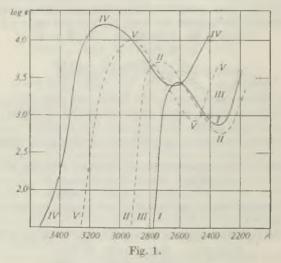
Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

139. Cycloalkeno-pyridine.
(4. Mitteilung¹)).
Cyclopenteno-3, 4-pyridin
von V. Prelog und O. Metzler.
(25. VI. 46.)

Im Zusammenhang mit der in der vorangehenden Mitteilung²) beschriebenen Synthese des 5-Äthyl-cyclopenteno-3,4-pyridins haben wir auch das bisher unbekannte, nicht substituierte Cyclopenteno-3,4-pyridin (IV) hergestellt. Die nicht substituierte bicyclische Base liess sich aus dem schon von G.A.R.Kon und H.R.Nanji³) beschriebenen 2,6-Dioxy-cyclopenteno-3,4-pyridin (II) erhalten. Dieses gab mit Phosphoroxychlorid das 2,6-Dichlor-Derivat (III), in welchem durch Hydrierung mit Raney-Nickel im alkalischen Medium das Chlor durch Wasserstoff ersetzt wurde.

Das 2,6-Dioxy-cyclopenteno-3,4-pyridin (II) konnte auch durch Verseifung des 2,6-Dioxy-4-cyan-cyclopenteno-3,4-pyridins (I) hergestellt werden, welches durch Kondensation von Cyclopentanon-(2)-carbonsäure-äthylester mit Cyan-acetamid⁴) entsteht; doch bietet dieser Weg keine besonderen Vorteile.



In Fig. 1 ist das in Alkohol aufgenommene Absorptionsspektrum des Cyclopenteno-3,4-pyridins (Kurve I) dargestellt. Es fällt auf, dass die Verbindung ein kurzwelligeres Maximum mit kleinerem Extinktionskoeffizienten besitzt als das Cyclopenteno-2,3-

^{1) 3.} Mitt., Helv. 28, 1684 (1945).

²) Helv. **29**, 1163 (1946). ³) Soc. **1932**, 2430.

⁴⁾ Vgl. dazu J. Indian Chem. Soc. 4, 49 (1927).

pyridin (Kurve II)¹). Zum Vergleich wurde noch das Absorptionsspektrum des β -Collidins (4-Methyl-3-äthylpyridin, Kurve III) aufgenommen.

Das 2,6-Dioxy-cyclopenteno-3,4-pyridin (Kurve IV) mit zwei Hydroxylen in α-Stellung zeigt dagegen erwartungsgemäss eine langwelligere Absorption als das isomere 4,6-Dioxy-cyclopenteno-2,3-pyridin (Kurve V)²).

Durch Reduktion des Pyridin-Kernes in Cyclopenteno-3, 4-pyridin kann man je nach den Reaktionsbedingungen zwei verschiedene stereoisomere Cyclopentano-3, 4-piperidine (V) erhalten. Im Einklang mit den bisherigen Erfahrungen über den sterischen Verlauf der Hydrierungen in der Pyridin-Reihe schreiben wir demjenigen Stereoisomeren, welches durch katalytische Hydrierung mit Platinoxyd-Katalysator in Eisessig erhalten wurde, die cis-Konfiguration (Va), der Verbindung, welche durch Reduktion mit Natrium in abs. Alkohol hauptsächlich entsteht, die trans-Konfiguration (Vb) zu.

Experimenteller Teil3).

2,6-Dioxy-5-cyan-cyclopenteno-3,4-pyridin (I).

5,0 g Cyan-acetamid wurden unter Erwärmen in 10 cm³ Wasser gelöst und mit 10 g Cyclopentanon-(2)-carbonsäure-äthylester versetzt. Zu dem Gemisch wurde soviel Alkohol zugegeben, dass eine klare Lösung entstand. Die Lösung erhitzte man nach Zugabe von 3 cm³ Piperidin während 3 Tagen auf etwa 50°. Nach dem Ansäuern des Reaktionsgemisches mit verdünnter Salzsäure (Kongorot) fiel ein käsiger, gelblicher Niederschlag aus; Ausbeute 4,2 g (38% der Theorie). Die Verbindung ist löslich in Alkalien und zeigt eine intensiv violette Reaktion mit Eisen(III)-chlorid. Zur Analyse wurde aus 50-proz. Alkohol umgelöst und im Hochvakuum sublimiert; Smp. 276—278° (im Vak.).

3,945 mg Subst. gaben 8,857 mg CO_2 und 1,612 mg H_2O $C_9H_8O_2N_2$ Ber. C 61,36 H 4,58% Gef. ., 61,27 ., 4,57%

2,6-Dioxy-cyclopenteno-3,4-pyridin (II).

a) aus 2,6-Dioxy-5-cyan-cyclopenteno-3,4-pyridin. 4 g des Cyan-Derivates wurden 7 Stunden mit 30 cm³ 48-proz. Bromwasserstoffsäure am Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten fiel das Hydrobromid des 2,6-Dioxy-cyclopenteno-3,4-pyridins in nadelförmigen Krystallen aus; Ausbeute 4,3 g. Beim Erwärmen mit 20 cm³ Wasser wurde das Hydro-

¹⁾ Vgl. Helv. 28, 1688 (1945).

²) Vgl. Helv. 28, 1686 (1945) sowie H. Specker und H. Gawrosch, B. 75, 1338 (1942).

³⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

bromid hydrolytisch gespalten, wobei 2,6 g (76% der Theorie) der freien Base erhalten werden konnten. Zur Analyse wurde aus 50-proz. Essigsäure umkrystallisiert und im Hochvakuum sublimiert; Smp. 264° (im Vak.).

3,798 mg Subst. gaben 8,832 mg CO_2 und 2,017 mg H_2O $C_0H_0O_0N$ Ber. C 63,56 H 6,00%

Gef. ,, 63,46 ,, 5,93%

b) aus (2-Carbäthoxy- Δ^1 -cyclopentenyl)-cyanessigester¹). Aus 32 g Cyclopentanon-(2)-carbonsäure-äthylester und 24 g Cyanessigester unter Zugabe von 5 cm³ Piperidin erhielten wir 37,2 g (72% der Theorie) des öligen Esters vom Sdp. $_{1~\mathrm{mm}}$ 125—130°.

22 g des Esters wurden 6 Stunden mit einer Lösung von 10 g Natriumhydroxyd in 60 cm³ Methanol und 5 cm³ Wasser unter Rückfluss verseift. Die Aufarbeitung ergab 10,7 g (78% der Theorie) des rohen 2,6-Dioxy-cyclopenteno-3,4-pyridins, aus welchem durch Umkrystallisierung aus 50-proz. Essigsäure 5,2 g eines reinen Produktes erhalten wurden.

2,6-Dichloro-cyclopenteno-3,4-pyridin (III).

6,4 g trockene 2,6-Dioxy-Verbindung wurden mit 25 g Phosphoroxychlorid 6 Stunden im Einschlussrohr auf 180° erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Eis zersetzt, mit Kaliumcarbonat-Lösung alkalisch gemacht und mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Verdampfen des Äthers erstarrte der Rückstand krystallin. Die Destillation im Vakuum ergab 5,1 g (65% der Theorie) eines zu farblosen Krystallen vom Smp. 36° erstarrenden farblosen Öls vom Sdp. 0.02 mm 90—91°. Zur Analyse wurde in einem Kragenkolben rektifiziert.

Cyclopenteno-3,4-pyridin (IV).

5,1 g des 2,6-Dichlor-Derivates wurden in einer Lösung von 6 g Natrium in 100 cm³ Methanol unter Zugabe eines Katalysators aus 10 g Raney-Nickel-Legierung hydriert.

Die auf übliche Weise isolierte Base wurde mit einer alkoholischen Lösung von 6 g Pikrinsäure versetzt, wobei 7,6 g (84% der Theorie) eines kanariengelben Pikrates vom Smp. 126° ausfielen. Nach einmaligem Umlösen aus Alkohol erhielten wir 6,8 g eines Produktes vom richtigen Smp. 144°.

3,867 mg Subst. gaben 6,831 mg CO $_2$ und 1,200 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{14}H_{12}O_7N_4$ $\rm Ber.~C$ 48,28 H 3,47% Gef. ,, 48,21 ,, 3,47%

Die freie Base wurde aus reinem Pikrat durch Zersetzen mit Lauge und Destillation mit Wasserdampf erhalten. Zur Analyse wurde in einem Kragenkolben bei 10 mm und 100° Badtemperatur destilliert.

Das Styphnat bildete aus Methanol gelbe Nadeln vom Smp. 175—176°.

 $3{,}707~\mathrm{mg}$ Subst. gaben $6.281~\mathrm{mg}$ $\mathrm{CO_2}$ und $1{,}138~\mathrm{mg}$ $\mathrm{H_2O}$

¹⁾ Vgl. G. A. R. Kon und H. R. Nanji, Soc. 1932, 2429.

Das Pikrolonat krystallisierte aus Alkohol in fahlgelben Prismen vom Smp. 231°. 3,847 mg Subst. gaben 7,942 mg CO₂ und 1,562 mg H₂O

 $C_{18}H_{17}O_5N_5$ Ber. C 56,39 H 4,47% Gef. ,, 56,34 ,, 4,54%

cis-Cyclopentano-3,4-piperidin (Va).

130 mg Cyclopenteno-3,4-pyridin wurden mit einem Katalysator aus 70 mg Platinoxyd in 10 cm³ Eisessig hydriert. Nach Aufnahme der berechneten Wasserstoffmenge wurde wie üblich aufgearbeitet.

Die freie Base wurde zweimal in einem Kragenkolben fraktioniert, wobei sie bei 11 mm und 80° Badtemperatur überging.

3,800 mg Subst. gaben 10,659 mg CO₂ und 4,032 mg $\rm H_2O$ C₈ $\rm H_{15}N$ Ber. C 76,74 H 12,09% Gef. ,, 76,55 ,, 11,87%

Das Pikrat bildete blassgelbe Nadeln und schmolz nach dreimaligem Umlösen aus Methanol bei 143—144°.

3,816 mg Subst. gaben 6,636 mg CO $_2$ und 1,722 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{14}H_{18}O_7N_4$. Ber. C 47,45 H 5,12% Gef. ,, 47,46 ,, 5,05%

trans-Cyclopentano-3,4-piperidin (Vb).

200 mg Cyclopenteno-3,4-pyridin wurden in 10 cm³ siedendem absolutem Alkohol mit 800 mg Natrium reduziert. Die freie Base destillierte in einem Kragenkolben bei 10 mm und einer Badtemperatur 80—85° und wurde in das Pikrat übergeführt. Nach dreimaligem Umlösen aus wässerigem Methanol schmolzen die blassgelben Nadeln bei 158° und gaben mit dem isomeren cis-Pikrat eine starke Schmelzpunktserniedrigung.

3,786 mg Subst. gaben 6,656 mg CO₂ und 1,776 mg H₂O

 $C_{14}H_{18}O_7N_4$ Ber. C 47,45 H 5,12% Gef. ,, 47,98 ,, 5,25%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

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

140. Über die Absorption von Gasblasen I

von A. Guyer und X. Pfister.

(25. VI. 46.)

Die Absorption von Kohlendioxyd in niederen Flüssigkeitssäulen.

Eine der einfachsten Methoden, ein Gas zu absorbieren, besteht darin, dasselbe in Form von Blasen in der Absorptionsflüssigkeit zu zerteilen. Dabei ist neben den Eigenschaften des Gases und der Flüssigkeit die Blasengrösse entscheidend für die Güte der Absorption. Man nimmt gewöhnlich an, dass ein um so besserer Absorptions-

grad erhalten wird, je kleiner die erzeugten Blasen sind. Diese Annahme ist aber nicht ohne weiteres zutreffend, da Blasen verschiedener Grösse wechselnde Gestalt und verschiedene Steiggeschwindigkeiten haben.

• Viele in der Literatur zitierte, die Absorption von Gasblasen betreffende Arbeiten¹) haben den Nachteil, dass die Dimensionen der erzeugten Blasen nicht gemessen wurden. Aus der Betrachtung der nur auf die Zeit-, nicht auf die Oberflächeneinheit bezogenen Absorptionsgeschwindigkeit kann man zwar Einblicke in den Mechanismus der Absorption gewinnen, aber mit einer höheren Absorptionsgeschwindigkeit braucht im Falle der Blasenabsorption keineswegs auch ein höherer Absorptionsgrad verbunden zu sein, da hiefür ausserdem noch die Blasengrösse und die Steiggeschwindigkeit bestimmend sind. Es wurde daher im folgenden versucht, durch Ermittlung der sowohl auf die Zeit-, als auch auf die Oberflächeneinheit bezogenen Absorptionsgeschwindigkeit einerseits Einblick in die Vorgänge der Absorption von Gasblasen zu erhalten und anderseits Unterlagen für die Beurteilung der Wirksamkeit der Blasenabsorption zu beschaffen.

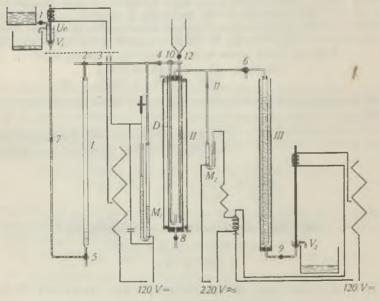


Fig. 1. Absorptionsapparatur.

Die Untersuchung wurde mit Hilfe der in Fig. 1 dargestellten Apparatur vorgenommen.

¹⁾ Eine Zusammenfassung und Besprechung der Literatur findet sich in X. Pfister, Diss. E.T.H. 1946.

Das zu absorbierende, in der Bürette I befindliche Gas wurde unter konstantem Druck über das Drosselventil 4 durch die Düse D in die Absorptionsflüssigkeit perlen gelassen. Der Druck wurde durch das Kontaktmanometer M_1 und das elektromagnetische Ventil V_1 konstant gehalten. Das nicht absorbierte Gas sammelte sich oberhalb der Absorptionsflüssigkeit an und verdrängte ein gleiches Volumen in der als pneumatische Wanne ausgebildeten Bürette III. Auch hier wurde durch ein mit verdünnter Kochsalzlösung beschicktes Manometer M_2 und ein über ein Relais gesteuertes elektromagnetisches Ventil V_2 konstanter Druck und zwar praktisch Atmosphärendruck aufrechterhalten.

Zur Ausführung eines Versuches wurde in das mit Luft ausgespülte Absorptionsrohr II durch den bis auf den Boden reichenden Tropftrichter das Absorptionsmittel von unten her eingefüllt. Nur auf diese Weise konnten an der Oberfläche der Absorptionsflüssigkeit gleiche Bedingungen und damit reproduzierbare Resultate erreicht werden. Nach halbstündigem Stehen zwecks Einstellung des Temperaturgleichgewichtes (Thermostatwasser von 200 C) wurden die elektromagnetischen Ventile in Funktion gesetzt, und sobald das Gas nach Drehen des Dreiweghahnes 10 nicht mehr ins Freie, sondern in das Absorptionsmittel strömte, wurde mit den Messungen begonnen. Es erfolgte immer in Moment eines Schliessungsfunkens am Kontaktmanometer M, nacheinander die Ablesung der Zeit und des Standes der Flüssigkeitssäulen in Bürette I und III. Von Zeit zu Zeit wurde ausserdem die Blasenfrequenz ermittelt, indem die während eines Zeitraumes von 20 bis 30 Sekunden erzeugten Blasen gezählt wurden. Die in Rohr I abgelesenen, unter einem Überdruck stehenden Gasmengen wurden auf Atmosphärendruck umgerechnet. Aus diesen und den in Rohr III abgelesenen Gasmengen ergaben sich durch Subtraktion die absorbierten Gasmengen. Die Messungen wurden in ein Koordinatensystem mit der Zeit als Abszisse eingetragen, und aus den erhaltenen Kurven wurde die Absorptionsgeschwindigkeit und die Strömungsgeschwindigkeit in cm3/Minute bestimmt. Mittels Division dieser Werte durch die pro Minute erzeugte Anzahl Blasen konnte schliesslich die pro Blase total absorbierte Gasmenge W_t bzw. das Blasenvolumen M_o erhalten werden.

Betrachtet man nun eine im Absorptionsgefäss aufsteigende Gasblase, so lassen sich drei Phasen der Absorption unterscheiden, die durch die Art der Berührung zwischen Gasphase und Flüssigkeit gekennzeichnet sind. Die erste Phase umfasst die bei der Bildung der Blase absorbierte Gasmenge. Die zweite Phase stellt die eigentliche Blasenabsorption dar und umfasst die beim Aufsteigen der Blase durch die Flüssigkeit aufgenommene Gasmenge. Die dritte Phase endlich ist durch die beim Übergang der Blase an der Flüssigkeitsoberfläche stattfindende Absorption gegeben. Die Summe der Anteile der drei Absorptionsphasen stellt das primäre Versuchsresultat, nämlich die pro Blase total absorbierte Gasmenge, dar.

Indem nun unter sonst gleichen Bedingungen die Höhe der Flüssigkeitssäule variiert wurde, resultierten Absorptionswerte, die sich voneinander nur durch einen während des Aufsteigens der Blase erfahrenen Absorptionsmehrwert unterschieden unter der Voraussetzung, dass die Absorption bei der Blasenbildung und beim Übergang der Blase an der Flüssigkeitsoberfläche auch bei verschiedener Höhe der Flüssigkeitssäule dieselbe war. Diese Voraussetzung war umso eher erfüllt, je kleiner die Differenz der zu vergleichenden Flüssigkeitssäulen und je geringer die Absorptionsfähigkeit der Flüssigkeit war und je besser eine konstante und in einer Versuchsserie gleiche Blasenfrequenz eingehalten wurde. Es konnte daher bei

Versuchen in einer kleinen Kolonne durch Extrapolation der pro Blase total absorbierten Gasmenge nach der Flüssigkeitshöhe Null auf der einen Seite der auf das Aufsteigen der Blase entfallende Absorptionsanteil und auf der andern Seite der Absorptionsanteil bei der Bildung und beim Übergang der Blase an der Oberfläche der Flüssigkeitssäule erhalten werden.

Wird das Blasenvolumen in der angegebenen Art bestimmt, so ist in ihm neben dem tatsächlich beim Loslösen der Blase vorhandenen Volumen noch die bei ihrer Bildung absorbierte Gasmenge enthalten. Diese kann ermittelt werden, indem das Volumen von unter gleichen Bedingungen erzeugten Luftblasen mit demjenigen von Kohlendioxydblasen verglichen wird. Der Unterschied der beiden Volumina war nun bei Wasser und Alkalicarbonatlösungen so gering, dass er vernachlässigt werden konnte; in stärkeren Absorptionsmitteln wurde er aber beträchtlich.

An der Oberfläche der Flüssigkeitssäule war bei der geschilderten Versuchsanordnung die Absorption viel grösser als bei blossem Überleiten des Gases über eine gleich grosse Oberfläche beobachtet werden konnte. Der Grund dafür war der, dass durch die platzenden Blasen stets neue Wunden in die Oberfläche gerissen wurden.

Die Versuche wurden in einem Absorptionsrohr von 3 cm Innendurchmesser ausgeführt. Diese Rohrweite erwies sich als genügend groß, da bei der eigentlichen Blasenabsorption in einem 16 cm weiten Rohr dieselben Werte erhalten wurden.

Bezeichnet W das während der Zeit Θ aus einer Blase absorbierte Volumen, A die Oberfläche der Blase und K die Absorptionsgeschwindigkeit (= pro Oberflächen- und Zeiteinheit absorbiertes Gasvolumen), so gilt:

$$dW/d\Theta = A \cdot K \tag{1}$$

Bedeutet M das Volumen der Blase zur Zeit Θ und M_0 das Anfangsblasenvolumen zur Zeit $\Theta=0$, so gilt:

$$W = M_0 - M \tag{2}$$

Der Zusammenhang zwischen Oberfläche und Volumen der Blase ist für Kugelund Rotationsellipsoidformen gegeben durch:

$$\mathbf{A} = \mathbf{c} \cdot \mathbf{M}^{2/3} \quad . \tag{3}$$

worin im Falle der Kugel c = 4,836 ist.

Aus (1), (2) und (3) folgt die Differentialgleichung:

$$-d\mathbf{M}/d\Theta = \mathbf{c} \cdot \mathbf{K} \cdot \mathbf{M}^{2/3},\tag{4}$$

deren Lösung unter Berücksichtigung von (2) die Gleichung

$$W = M_0 - (\sqrt[3]{M_0} - \frac{e}{3} \cdot K \cdot \Theta)^3$$
 (5)

ergibt.

Mit Gleichung (5) kann die Absorptionsgeschwindigkeit K (in cm³/sec. cm²) aus der beim Aufsteigen der Blase absorbierten Gasmenge W berechnet werden, sofern man für das betrachtete Wegstück konstante Absorptionsgeschwindigkeit voraussetzt.

Es wurde nun die Absorptionsgeschwindigkeit von Kohlendioxyd in Wasser für verschiedene Anfangsblasenvolumina ermittelt. Die Grösse Mo der Gleichung (5) ergab sieh direkt aus dem

geschilderten Versuchsgang. Die Berührungszeit folgte aus der Höhe der Flüssigkeitssäule und der Steiggeschwindigkeit der Blasen. Letztere wurde photographisch gemessen, indem die Blasenbahn mittels einer Kamera und einer vorgeschalteten, mit einem halbkreisförmigen Ausschnitt versehenen und rotierenden Scheibe aufgenommen wurde. Auf der Platte entstand ein unterbrochener Blasenweg, durch dessen Ausmessung unter Berücksichtigung der Tourenzahl der Scheibe die Blasengeschwindigkeit bestimmt werden konnte. Die ermittelten Steiggeschwindigkeiten sind in Fig. 2 dargestellt.

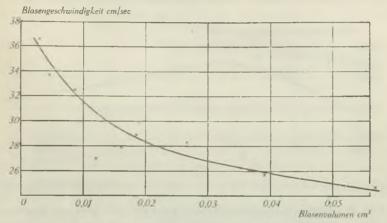


Fig. 2.
Blasengeschwindigkeit als Funktion der Blasengrösse.

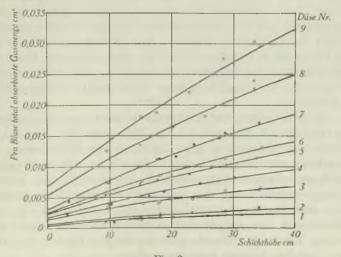
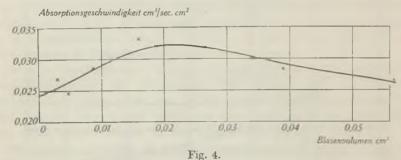


Fig. 3.

Absorption von Kohlendioxyd in Wasser.

Zur Bestimmung der Grösse W der Gleichung (5) wurde für jedes untersuchte Anfangsblasenvolumen M_0 die pro Blase total absorbierte Gasmenge W_t als Funktion der Schichthöhe gemessen und in Fig. 3 dargestellt. Zufolge der Schwankungen der gemessenen Werte waren für eine bestimmte Blasengrösse etwas verschiedene Kurvenlagen und daher auch etwas verschiedene Ordinatenabschnitte W_s möglich. Wurde aber die mit den beobachteten Punkten am besten übereinstimmende Kurve gezogen und die so erhaltenen Ordinatenabschnitte mit dem Blasenvolumen verglichen, so konnte sofort eine Proportionalität dieser Grössen erkannt und daher die richtige Kurvenlage ausgewählt werden. Durch Subtraktion des Ordinatenabschnittes von der Grösse W_t wurde für jede Flüssigkeitshöhe die beim Aufsteigen der Blase absorbierte Gasmenge W und endlich mit Gleichung (5) die Absorptionsgeschwindigkeit ermittelt. Die Mittel der für ein bestimmtes Anfangsblasenvolumen erhaltenen Absorptionsgeschwindigkeiten sind in Fig. 4 dargestellt.



Absorptionsgeschwindigkeit von Kohlendioxyd als Funktion der Blasengrösse.

Die Absorptionsgeschwindigkeit nimmt von kleinen Blasen ausgehend zu. Parallel dazu wurde ein Übergang der Blasenform von der Kugelgestalt zu Rotationsellipsoidformen beobachtet. Da Adenay und Becker¹) am Kopfe von in engen Rohren aufsteigenden grossen Blasen eine 7,5 mal grössere Absorptionsgeschwindigkeit als auf deren Seite festgestellt hatten, erscheint ein kausaler Zusammenhang zwischen dem beobachteten Verlauf der Absorptionsgeschwindigkeit und der Blasenform durchaus möglich. Bei grösseren Blasen nimmt die Absorptionsgeschwindigkeit wieder ab; gleichzeitig wurde aber auch eine starke Schaukelbewegung dieser rotationsellipsoidförmigen Blasen beobachtet.

Für die Beurteilung der Wirksamkeit der Blasenabsorption ist der Absorptionsgrad massgebend. In Fig. 5 ist der Absorptionsgrad von Kohlendioxydblasen in einer 20 cm hohen Wassersäule für verschiedene Fälle mittels Gleichung (5) berechnet und als Funktion des Anfangsblasenvolumens dargestellt. Kurve I stellt den Absorptionsgrad unter Voraussetzung von bei allen Blasengrössen gleicher Absorptions- und Blasengeschwindigkeit und somit als Folge des alleinigen Einflusses der spezifischen Oberfläche dar. Dabei sind der Berechnung Werte zu Grunde gelegt, die für Blasen von 0,05 cm³ und weit darüber hinaus Geltung haben.

¹⁾ Adenay und Becker, Phil. Mag. 38, 317 (1919); 39, 385 (1920).

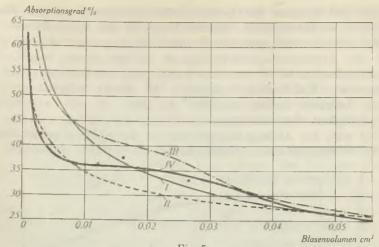


Fig. 5.
Absorptionsgrad von Kohlendioxyd in Wasser.

Wird nun neben der Änderung der spezifischen Oberfläche auch der funktionelle Zusammenhang zwischen Blasengeschwindigkeit und Blasengrösse berücksichtigt, so resultiert gemäss Kurve II ein kleinerer Absorptionsgrad, da die Blasengeschwindigkeit von grossen nach kleinen Blasen hin zunimmt.

Wenn man aber die Blasengeschwindigkeit konstant hält und dafür die Absorptionsgeschwindigkeit verändert, so erhält man Kurve III.

Der tatsächliche Absorptionsgrad (Kurve IV) weist nun bis zu ziemlich kleinen Blasen hinab mit der Vergleichskurve I praktisch übereinstimmende Werte auf. Zwar nimmt die Blasengeschwindigkeit schon früher zu, aber die dadurch bewirkte Verminderung des Absorptionsgrades wird durch die Zunahme der Absorptionsgeschwindigkeit gerade kompensiert. Für noch kleinere Blasen, für die der Absorptionsgrad an und für sich als Folge des Einflusses der spezifischen Oberfläche beträchtlich zunehmen sollte, bleibt der tatsächliche Absorptionsgrad längere Zeit konstant. In diesem Bereich wird die Wirkung der spezifischen Oberfläche sowohl durch die Abnahme der Absorptionsgeschwindigkeit als auch durch die Zunahme der Blasengeschwindigkeit paralysiert. Erst bei sehr kleinen Blasen steigt der Absorptionsgrad auf einmal stark an, der Einfluss der spezifischen Oberfläche hat den übrigen Variablen den Vorrang abgelaufen.

Für kleine Blasen ist demnach bis zu ca. 0,004 cm³ hinab die Änderung des Absorptionsgrades nur geringfügig. Die bekannten Jenaer Glasfritten 33 c G Nrn. 00 und 1 arbeiten praktisch oberhalb dieses Grenzwertes¹). Erst die Nummern 2, 3 und 4 sind daher in bezug auf die Absorptionsfähigkeit wesentlich wirksamer.

¹⁾ Guyer und Peterhans, Helv. 26, 1107 (1943).

Um den Einfluss des Reaktionsvermögens auf die Blasenabsorption zu untersuchen, wurden Versuche mit verschiedenen Absorptionsmitteln bei gleichbleibender Blasengrösse durchgeführt. Statt die Absorptionsgeschwindigkeit zu berechnen, wurden die Ordinatenabschnitte W_s und die durch reine Blasenabsorption aufgenommenen Kohlendioxydvolumina W direkt miteinander verglichen. Letztere stellen nämlich ein Mass für die Absorptionsgeschwindigkeit von aufsteigenden Blasen dar, wenn, wie dies hier der Fall war, das Anfangsblasenvolumen, die Blasengeschwindigkeit und die Flüssigkeitshöhe praktisch denselben Wert aufweisen.

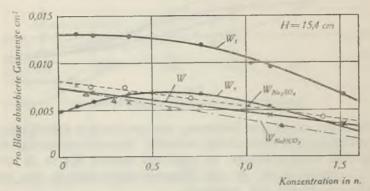


Fig. 6.
Absorption von Kohlendioxyd in Sodalösung.

Fig. 6 gibt die Werte Wt, W und Ws für Natriumcarbonatlösungen bei einer Flüssigkeitshöhe von 15,4 cm als Funktion der Konzentration wieder. Die durch reine Blasenabsorption pro Blase aufgenommenen Gasmengen W nehmen linear mit der Konzentration ab. Ein analoger Kurvenverlauf wurde für die Absorption von Kohlendioxyd in Lösungen des ähnlich gebauten Natriumsulfates festgestellt. Ausserdem wurde beobachtet, dass in Neutralsalzlösungen die Absorptionsgeschwindigkeit gegenüber Wasser nur soweit erniedrigt war als die Kohlendioxyd-Löslichkeit herabgesetzt war. Da eine gewisse Additivität der Ionen bezüglich der Wirkung auf die Gaslöslichkeit feststeht, darf eine ungefähr gleich grosse Kohlendioxyd-Löslichkeit in Natriumsulfat- und Natriumcarbonatlösungen angenommen werden. Dann müssen in äquivalenten Lösungen die durch reine Blasenabsorption aufgenommenen Kohlendioxydvolumina ungefähr gleich sein, wenn unmittelbar bei der Absorption nur Lösungsvorgänge und keine Reaktionsvorgänge beteiligt sind. Zusätzliche Absorption durch Reaktion müsste in Carbonatlösungen höhere Werte ergeben. Dass nun gemäss Fig. 6 die in Sodalösung absorbierten Gasvolumina sogar etwas niedriger waren als in Natriumsulfatlösungen, beweist, dass zusätzliche Absorption durch Reaktion zum mindesten nur sehr gering war.

Hydrogencarbonatlösungen üben einen Kohlendioxydpartialdruck aus, der um so höher ist, je konzentrierter die Lösung ist, und der der Absorption entgegenwirkt. Die Absorptionsgeschwindigkeit nimmt nun in Carbonat- wie in Hydrogencarbonatlösungen mit der Konzentration ab, weil die Gaslöslichkeit abnimmt. In Hydrogencarbonatlösungen tritt aber zusätzlich der Einfluss des Kohlendioxydpartialdruckes der Lösung hinzu und die Absorptionsgeschwin-

digkeit muss nochmals tiefer werden, und zwar um so tiefer, je grösser die Konzentration ist. Mit zunehmender Konzentration divergieren daher die Kurven der absorbierten Gasmengen immer mehr, wie dies durch Fig. 6 gezeigt wird.

Dass in Carbonatlösungen die an und für sich vorhandene Reaktionsfähigkeit nicht zur Geltung kommen kann, hat seinen Grund darin, dass die relative Berührungszeit zwischen Blase und den an ihr vorbeigleitenden Schichten zu kurz ist, anderseits die

Reaktionsgeschwindigkeit nur mässig ist.

An der Oberfläche der Flüssigkeitssäule ist dagegen die Berührungszeit des sich ansammelnden Gases gross. Ein Teil des daselbst gelösten Kohlendioxydes wird durch Reaktion verbraucht und dadurch die Möglichkeit zu neuer Gasaufnahme geschaffen. Der durch Reaktion verbrauchte Anteil ist abhängig von der Menge des vorhandenen Carbonates und des gelösten Kohlendioxydes. In verdünnten Lösungen, wo entsprechend der grösseren Gaslöslichkeit die Menge des gelösten Kohlendioxydes relativ gross ist, nimmt daher der durch Reaktion verbrauchte Anteil und damit die gesamte an der Oberfläche absorbierte Kohlendioxydmenge mit der Konzentration an Carbonat zu, in konzentrierteren Lösungen dagegen wieder ab, weil die Menge des gelösten Kohlendioxydes infolge abnehmender Löslichkeit kleiner wird. Die Kurve der Ordinatenabschnitte Ws., die der Hauptsache nach die auf eine einzelne Blase entfallende Absorption an der Oberfläche der Flüssigkeitssäule wiedergibt, durchläuft also ein Maximum. Der Verlauf der W- und der W.-Kurve ist charakteristisch für den Unterschied zwischen dem Blasenabsorptionsverfahren und irgend einem Absorptionsverfahren, das auf einer grösseren relativen Berührungszeit der beiden Phasen beruht.

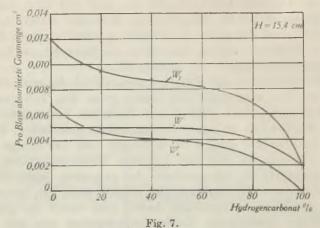
Analoge Verhaltnisse wurden bei der Absorption von Kohlen-

dioxydblasen in Kaliumcarbonatlösungen festgestellt.

Wird nun die Absorption, ausgehend von reinen Alkalicarbonatlösungen, fortgesetzt, so nimmt der Hydrogencarbonatgehalt der Lösung ständig zu. Die reine Blasenabsorption muss dabei nach dem Vorhergehenden so lange konstant sein, als der Kohlendioxydpartialdruck der Lösung noch nicht wirksam ist, d. h. bis etwa 70% des Carbonates in Hydrogencarbonat übergeführt sind. Darauf muss infolge dieses Umstandes die Absorptionsgeschwindigkeit absinken. Tatsächlich wiesen die beim Aufsteigen der Blase in Kaliumcarbonathydrogencarbonatlösungen absorbierten Gasmengen W gemäss Fig. 7 als Funktion des Hydrogencarbonatgehaltes einen derartigen Verlauf auf.

Die Ordinatenabschnitte W_s nehmen im Gegensatz hiezu mit zunehmendem Hydrogencarbonatumwandlungsgrad zuerst ab, um dann einige Zeit konstant zu bleiben und zuletzt wieder stark abzusinken. Das erste Teilstück ist durch die Abnahme der Reaktionsgeschwindig-

keit, das letzte durch die zusätzliche Zunahme des Kohlendioxydpartialdruckes bedingt. Das Mittelstück ist durch die besondere Art des noch nicht völlig geklärten Reaktionsmechanismus zwischen Kohlendioxyd und Kaliumcarbonat verursacht.



Absorption von Kohlendioxyd in 2-n. K,CO,-KHCO3-Mischungen.

In Triäthanolaminlösungen steigen gemäss Fig. 8 die eigentlichen Blasenabsorptionswerte W mit der Konzentration entgegen den Carbonatlösungen an. Dies deutet darauf hin, dass auch bei der eigentlichen Blasenabsorption Reaktionsvorgänge teilhaben, die um so bedeutender sind, je konzentrierter die Lösung ist. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist so gross, dass auch während der kurzen relativen Berührungszeit eine Reaktion zwischen Blase und den vorbeifliessenden Schichten stattfinden kann. Ganz entsprechend sind die Ordinatenabschnitte $W_{\rm s}$ sehr gross.

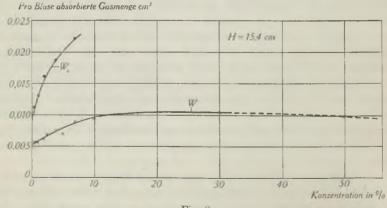


Fig. 8.
Absorption von Kohlendioxyd in Triäthanolaminlösung.

Noch stärker steigt die Absorptionsgeschwindigkeit in Lösungen von Natriumhydroxyd und Natriumglykokollat mit der Konzentration an (Fig. 9), was wiederum auf eine mit der Blasenabsorption verbundene Re

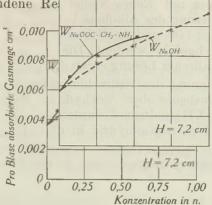


Fig. 9.

Absorption von Kohlendioxyd in Natriumhydroxydund Natriumglykokollatlösungen.

Demnach sind für die Güte der blasenförmigen Absorption von reinen Gasen die Blasengrösse, die Gaslöslichkeit und die Geschwindigkeit einer eventuellen Reaktion ausschlaggebend.

Zürich, Technisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule.

141. Zur Kenntnis der Triterpene.

(107. Mitteilung¹)).

Über die Lage der zweiten Hydroxylgruppe im Manila-diol von O. Jeger, Cl. Nisoli und L. Ruzieka.

(25. V. 46.)

In der vorangehenden Abhandlung haben wir bewiesen, dass dem Manila-diol $\mathrm{C_{30}H_{50}O_2}$ die Struktur eines Oxy- β -amyrins mit unbekannter Lage eines Hydroxyls zukommt¹). Um die Lage dieser Gruppe zu bestimmen, haben wir nun versucht, das Manila-diol mit einer anderen Dioxy-Verbindung der β -Amyrin-Reihe — der Echino-

^{1) 106.} Mitt., Helv. 29, 1124 (1943).

cystsäure (I)¹)²) — experimentell zu verknüpfen³), indem wir die Carboxyl-Gruppe der Diacetyl-echinocystsäure (II) auf zwei Wegen (A und B) in die Methyl-Gruppe übergeführt haben.

- **A.**⁴) Das Diacetyl-echinocystsäure-chlorid (III) lieferte mit Methylmercaptan den Thiol-methylester (IV), welcher bei der reduktiven Entschwefelung mit Raney-Nickel in das Triol-diacetat (V) überging. Die Umsetzung des Alkohols V in das Tosylat IX musste im Einschlussrohr bei 140° und die Umwandlung des letzteren in das Jodid X bei 205° durchgeführt werden 5). Die Hydrierung des Jodids mit Raney-Nickel in alkalischer Lösung ergab das Diacetat $C_{34}H_{54}O_{4}$ (XI).
- B.6) Die Hydrierung des Säurechlorids (III) nach Rosenmund lieferte in guter Ausbeute den Aldehyd (VIII), der nach Wolff-Kishner zum Diol (XII) reduziert wurde. XII ging bei der Acetylierung mit kochendem Acetanhydrid in das Diacetat XI über.

1) J. Bergsteinsson und C. R. Noller, Am. Soc. 56, 1403 (1934).

²) Zur einfacheren Besprechung der in dieser Arbeit durchgeführten Umsetzungen nehmen wir für die Echinocystsäure die Formel I an, ohne dass sich auf Grund der bisher bekannt gewordenen Reaktionen die Formulierung dieser Säure mit einer zweiten Hydroxyl-Gruppe am Kohlenstoff 16 ausschliessen lässt.

³) Der Vergleich der Eigenschaften der Diketo-Verbindungen aus den beiden anderen bekannten Dioxy-säuren der β -Amyrin-Reihe, der Sumaresinolsäure [Helv. 26, 2283 (1943)] und der Siaresinolsäure [Helv. 26, 1218 (1943)], mit Manila-dion liess es von vornherein als unwahrscheinlich erscheinen, dass die Hydroxyl-Gruppe im Manila-diol dieselbe Lage wie in den erwähnten Dioxy-säuren einnimmt.

4) Vgl. V. Prelog, J. Norymberski und O. Jeger, Helv. 29, 360 (1946).

5) Die Umsetzungen der entsprechenden Derivate der Oleanolsäure haben wir bei einer wesentlich tieferen Temperatur durchführen können, vgl. Helv. 29, 360 (1946).

6) Vgl. L. Ruzicka und H. Schellenberg, Helv. 20, 1553 (1937).

Als Nebenprodukt der Reduktion des Aldehyds (VIII) nach Wolff-Kishner entstand ein Triol $C_{30}H_{50}O_3$ (VI), welches mit dem Produkte der alkalischen Verseifung des Trioldiacetats (V) identisch ist. Die Verbindung VI wurde ferner durch Überführung in das Triacetat $C_{36}H_{56}O_8$ (VII) charakterisiert.

Das Diol XII und sein Diacetat XI sind nicht identisch mit Manila-diol bzw. Manila-diol-diacetat. Durch Oxydation mit Chromsäure liess sich aus dem Diol XII ein bei $212-213^{\circ}$ schmelzendes Diketon $C_{30}H_{46}O_{2}$ (XIII) gewinnen, das nach Analyse, Schmelzpunkt, Mischprobe und spez. Drehung mit dem aus Manila-diol gewonnenen Manila-dion¹) identisch ist.

Dadurch wurde bewiesen, dass die Hydroxyl-Gruppen in Manila-diol an denselben Kohlenstoffatomen sitzen, wie in der Echinocystsäure. Für die Lage des zweiten Hydroxyls in Manila-diol kommt demnach das gleiche Kohlenstoffatom 16 oder 22 in Betracht, wie für das zweite Hydroxyl der Echinocystsäure²).

In der vorangehenden Arbeit konnten wir beweisen, dass die Hydroxyl-Gruppe am Kohlenstoff 2 des Manila-diols die gleiche Konfiguration wie in β -Amyrin und den anderen Vertretern der β -Amyrin-Gruppe (also auch in der Echinocystsäure) aufweist. Da bei der Überführung von Echinocystsäure in das Diol XII auf dem Wege A überhaupt keine Konfigurationsänderungen eintreten konnten, unterscheidet sich das Diol XII vom Manila-diol nur durch die verschiedene sterische Lage der Hydroxyl-Gruppe am Kohlenstoff 16 (oder 22).

Der Rockefeller Foundation in New York danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil3).

Diacetyl-echinocystsäure (II).

5,21 g Echinocystsäure werden mit 50 cm³ Eisessig, 15 cm³ Acetanhydrid und 0,4 g frisch geschmolzenem Natriumacetat während 2 Stunden am Rückfluss gekocht, die Lösung am Vakuum auf ca. ½ des Volumens eingeengt, mit 30 cm³ Methanol nochmals am Rückfluss gekocht (zur Zerstörung des inneren Anhydrids), in Wasser gegossen und wie üblich aufgearbeitet. Man erhält 5,91 g Rohprodukt, das nach der Zugabe von Methanol in derben Nadeln krystallisiert. Nach dreimaligem Umlösen aus Chloroform-Methanol liegt der Smp. bei 271,5—272,5°. Zur Analyse wurde während 43 Stunden bei 115—120° im Hochvakuum getrocknet.

3,697 mg Subst. gaben 9,911 mg CO $_2$ und 3,120 mg H_2 O $C_{34}H_{52}O_6$ Ber. C 73,34 H 9,41% Gef. ,, 73,16 ,, 9,44% $\left[\alpha\right]_D = -13^0 \ (c=1,118)$

¹⁾ Soc. 1942, 198; Helv. 29, 1124 (1946).

²) D. Frazier und C. R. Noller, Am. Soc. **66**, 1267 (1944); W. R. White und C. R. Noller, Am. Soc. **61**, 983 (1939).

³) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und wurden in einer im Hochvakuum zugeschmolzenen Kapillare bestimmt. Die spez. Drehungen wurden in Chloroform in einem Rohr von 1 dm Länge bestimmt.

Diacetyl-echinocystsäure-chlorid (III).

 $200~\rm mg$ Diacetyl-echinocystsäure werden mit $10~\rm cm^3$ absolutem Benzol und $1~\rm cm^3$ Thionylchlorid $1^1/_2$ Stunden am Rückfluss gekocht. Die Lösung wird am Vakuum zur Trockne eingedampft und das überschüssige Thionylchlorid über Nacht im Exsikkator über festem Kaliumhydroxyd entfernt. Da das Chlorid feuchtigkeitsempfindlich ist, darf es nur aus absoluten Lösungsmitteln umkrystallisiert werden. Nach dreimaligem Umlösen aus Äther-Petroläther erhält man feine Nadeln vom Smp. 196,5—197°. Zur Analyse wurde 20 Stunden im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

3,650 mg Subst. gaben 9,483 mg CO₂ und 2,944 mg $\rm H_2O$ 8,102 mg Subst. gaben 1,972 mg AgCl $\rm C_{34}H_{51}O_5Cl$ Ber. C 70,99 H 8,94 Cl 6,16% Gef. ,, 70,90 ,, 9,03 ,, 6,02% $\rm [\alpha]_D=-16^{\circ}$ (c = 1,060)

Diacetyl-echinocyst-thiolsäure-methylester (IV).

6,81 g Diacetyl-echinocystsäure-chlorid werden mit 20 cm³ absolutem Benzol, 13 g Methylmercaptan (destilliert über Phosphorpentoxyd) und 10 cm³ absolutem Pyridin in einer zugeschmolzenen Ampulle 8 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung erhält man durch viermaliges Umlösen aus Chloroform-Methanol Nadeln vom Smp. 250,5—251°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 200—210° Blocktemperatur sublimiert.

3,740 mg Subst. gaben 9,804 mg CO₂ und 3,127 mg H_2O 4,705 mg Subst. verbr. bei der S-Bestimmung 0,825 cm³ 0,02-n. KJO₃ $C_{35}H_{54}O_5S$ Ber. C 71,63 H 9,28 S 5,46% Gef. ,, 71,54 ,, 9,36 ,, 5,62% $[\alpha]_D = -12,5^0 \ (c=0,882)$

Reduktive Spaltung des Thiolsäure-esters IV mit Raney-Nickel.

1,84 g Substanz werden mit 22 g Raney-Nickel in 300 cm³ Feinsprit-Äther (1:1) über Nacht bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach dem Abfiltrieren des Metalls dampft man zur Trockne ein, löst den Rückstand (1,68 g) in 50 cm³ Benzol und chromatographiert über eine Säule von 35 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II).

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierter Substanz
$ \begin{array}{c c} 1\\2-3\\4-5\\6\\7-18\\19-22 \end{array} $	50 cm³ Benzol 100 cm³ Benzol 170 cm³ Benzol 30 cm³ Benzol-Äther (1:1) 2740 cm³ Benzol-Äther (1:1) 650 cm³ Äther	5 mg Krystalle Smp. 176—178° 10 mg Krystalle Smp. 154—177° 20 mg Krystalle Smp. 155—157° 20 mg Krystalle Smp. 197—214° 1310 mg Krystalle Smp. 261—263° 270 mg Öl

Die vereinigten Fraktionen 7—18 werden dreimal aus Chloroform-Methanol umkrystallisiert; Blättchen vom Smp. 266—267°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 220—230° sublimiert.

Es liegt Verbindung V vor.

Acetylierung des Triol-diacetats V. 300 mg Substanz werden mit 3 cm³ Pyridin und 5 cm³ Acetanhydrid während 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung wird das Rohprodukt (310 mg) in 20 cm³ Petroläther-Benzol (1:1) gelöst und durch eine Säule aus 8,5 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert.

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierter Substanz
1	5 cm ³ Petroläther-Benzol (3:1)	50 mg Krystalle Smp. 107—110°
2-5	145 cm³ Petroläther-Benzol (3:1)	230 mg Krystalle Smp. 156—157°
6	25 cm³ Petroläther-Benzol (3:1)	20 mg Krystalle Smp. 112—133°

Die Fraktionen 2—5 werden viermal aus Chloroform-Methanol umgelöst; Blättchen vom Smp. 159—160°. Zur Analyse wurde während 37 Stunden im Hochvakuum bei 95—100° getrocknet.

3,608 mg Subst. gaben 9,745 mg CO
$$_2$$
 und 3,098 mg H $_2$ O C $_{36}$ H $_{56}$ O $_6$ Ber. C 73,93 H 9,65% Gef. ,, 73,71 ,, 9,61%
$$\left[\alpha\right]_D = -9,7^0 \ (c=1,149)$$

Es liegt Verbindung VII vor.

Verseifung von Triol-diacetat V. 300 mg Substanz werden mit $10~\rm cm^3$ 3-proz. methanolischer Kalilauge während $1^{1}/_{2}$ Stunden am Rückfluss gekocht, in $100~\rm cm^3$ Wasser gegossen und in Äther aufgenommen. Nach gründlichem Waschen mit Wasser wird das Lösungsmittel verdampft und der Rückstand (230 mg) in $80~\rm cm^3$ Benzol-Äther (1:1) gelöst und über eine Säule von $7~\rm g$ Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert.

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierter Substanz
1-3 4 5-6 7-9 10-13	90 cm³ Benzol-Äther (1:1) 30 cm³ Benzol-Äther (1:1) 80 cm³ Benzol-Äther (1:1) 230 cm³ Benzol-Äther (1:1) 330 cm³ Äther	Spuren amorph 10 mg Krystalle Smp. 144—152° 80 mg Krystalle Smp. 228—233° 110 mg Krystalle Smp. 243—244° 20 mg Öl

Die vereinigten Fraktionen 7—9 ergeben nach dreimaliger Umkrystallisation aus Chloroform-Methanol Blättchen vom Smp. 249,5—250°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 205° Blocktemperatur sublimiert.

3,763 mg Subst. gaben 10,821 mg CO
$$_2$$
 und 3,702 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{30}H_{50}O_3$ $\rm Ber.$ C 78,55 $\rm H$ 10,99% $\rm Gef.$,, 78,48 ,, 11,01%
$$\left[\alpha\right]_D = +58^0 \ (c=0,686)$$

Es liegt Verbindung VI vor.

Tosylierung von Triol-diacetat V. 1,2 g Substanz werden im Einschlussrohr mit 12 cm³ absolutem Benzol, 10 cm³ Pyridin und 1 g p-Toluol-sulfosäure-chlorid über Nacht auf 140° erhitzt. Das dunkelbraune Reaktionsprodukt wird in Wasser gegossen und anschliessend in Äther-Chloroform aufgenommen. Nach gründlichem Waschen mit verdünnter Natronlauge, verdünnter Schwefelsäure und Wasser wird zur Trockne eingedampft, der Rückstand (1,08 g) in 30 cm³ Petroläther-Benzol (3:1) gelöst und über 25 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert.

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierter Substanz
1-7	240 cm³ Petroläther-Benzol (3:1)	50 mg Öl
8	100 cm ³ Petroläther-Benzol (3:1)	690 mg Nadeln Smp. 119—123°
9-15	875 cm ³ Petroläther-Benzol (1:1)	Spuren Öl
16–19	430 cm ³ Benzol-Äther (1:1)	300 mg Öl

Die Fraktion 8 ergibt nach viermaligem Umlösen aus Äther-Petroläther Nadeln, welche bei 129,5—131° schmelzen, wieder vollständig erstarren und bei 194—195,5° ein zweites Mal schmelzen. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 65—70° während 15 Stunden getrocknet.

Es liegt IX vor.

Umsetzung des Tosylats (IX, mit Natriumjodid.

650 mg Substanz werden mit 20 cm³ absolutem Aceton und 600 mg frisch geschmolzenem Natriumjodid über Nacht im Einschlussrohr auf 205° erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird weitgehend vom Aceton befreit und in Wasser gegossen. Nach dem Aufnehmen in Äther wäscht man mit Natriumthiosulfat-Lösung und Wasser. Das dunkelbraune Reaktionsprodukt wird fünfmal aus Chloroform-Feinsprit umkrystallisiert; farblose Nadeln, die bei 229—230° unter Zersetzung schmelzen. Zur Analyse wurde im Hochvakuum während 46 Stunden bei 90—95° getrocknet.

3,688 mg Subst. gaben 8,454 mg
$$\rm CO_2$$
 und 2,690 mg $\rm H_2O$ 4,340 mg Subst. gaben 1,558 mg $\rm AgJ$ $\rm C_{34}H_{53}O_4J$ Ber. C 62,56 H 8,19 J 19,45% Gef. ,, 62,56 ,, 8,16 ,, 19,41%
$$\left[\alpha\right]_D = +\ 1,5^0\ (c=0,939)$$

Es liegt X vor.

Hydrierung des Jodids (X).

300 mg Jodid werden in 30 cm³ Dioxan-Feinsprit (1:1) gelöst und in Gegenwart von Raney-Nickel hydriert. Um die freiwerdende Jodwasserstoffsäure zu neutralisieren, werden vor der Hydrierung 26 mg Kaliumhydroxyd zugegeben. Nach 2 Stunden war die Wasserstoffaufnahme beendet. Der Katalysator wird abfiltriert, die Lösung zur Trockne eingedampft und der Rückstand (260 mg) mit Pyridin-Acetanhydrid nachacetyliert. Danach löst man das Rohprodukt in 20 cm³ Petroläther-Benzol (3:1) und filtriert durch eine Säule von 7 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II). 220 cm³ Petroläther-Benzol (1:1) eluieren 200 mg Blättchen vom Smp. 222—224°. Nach dreimaligem Umlösen aus Chloroform-Methanol steigt der Smp. auf 226—227°. Die Mischprobe mit Manila-diol-diacetat¹) vom Smp. 203—204° schmilzt bei 176—190°. Zur Analyse wurde während 38 Stunden im Hochvakuum bei 115° getrocknet.

3,639 mg Subst. gaben 10,335 mg CO
$$_2$$
 und 3,352 mg H $_2$ O C $_{34}$ H $_{54}$ O $_4$ Ber. C 77,52 H 10,33% Gef. ,, 77,51 ,, 10,31%
$$\left[\alpha\right]_D = +11,3^0 \ (c=0,927)$$

Es liegt XI vor.

¹) Helv. **29**, 1124 (1946).

Diacetyl-echinocyst-aldehyd (VIII).

570 mg Palladium-Bariumsulfat-Katalysator werden in 2 cm³ absolutem Xylol aufgeschwemmt, und man fügt 570 mg Diacetyl-echinocystsäure-chlorid in 13 cm³ absolutem Xylol hinzu. Durch das auf 85° vorgewärmte Reaktionsgefäss (bestehend aus einer Glasfilternutsche) wird ein kräftiger Strom von trockenem Wasserstoff durchgeleitet. Nach 8½ Stunden, während welcher Zeit die Temperatur von 85° beibehalten wurde, waren durch den aus der Reaktion freigewordenen Chlorwasserstoff 8 cm³ der vorgelegten 0,1-n. Kalilauge neutralisiert, was 80% Umsetzung des Säurechlorids entspricht. Es wird vom Katalysator abfiltriert, zur Trockne eingedampft, in einer Äther-Chloroform-Mischung aufgenommen und unter Eiszusatz mit verdünnter Natronlauge durchgewaschen. Keine sauren Anteile können so abgetrennt werden. Nach Wegdampfen des Lösungsmittels beträgt der Rückstand 550 mg. Durch 3 analoge Ansätze konnten total 1,79 g Roh-Aldehyd gewonnen werden. Diese werden in 50 cm³ Petroläther-Benzol (3:1) gelöst und über eine Säule von 45 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert.

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierter Substanz
1	20 cm³ Petroläther-Benzol (3:1)	20 mg Öl
2-6	1850 cm ³ Petroläther-Benzol (3:1)	1220 mg Krystalle Smp. 175—177°
7-10	850 cm ³ Petroläther-Benzol (1:1)	80 mg Krystalle Smp. 172—175°
11	200 cm³ Petroläther-Benzol (1:1)	10 mg Öl
12-15	370 cm ³ Benzol	20 mg Öl
21-24	520 cm ³ Äther-Methanol (1:1)	370 mg Krystalle Smp. 253—261°
25	400 cm ³ Äther-Methanol (1:1)	40 mg Krystalle Smp. 242—249°
26	400 cm ³ Äther-Methanol (1:1)	10 mg Krystalle Smp. 230—237°

Die Fraktionen 2—10 werden vereinigt und zweimal aus Chloroform-Methanol umkrystallisiert. Dabei steigt der Smp. auf 179—179,5°. Zur Analyse wurde während 44 Stunden im Hochvakuum bei 90—95° getrocknet.

3,732 mg Subst. gaben 10,326 mg CO₂ und 3,241 mg
$$\rm H_2O$$
 $\rm C_{34}H_{52}O_5$ Ber. C 75,51 H 9,69% Gef. ,, 75,51 ,, 9,72%
$$[\alpha]_D = -19,0^0 \ (c = 1,048)$$

Es liegt Verbindung VIII vor.

Die vereinigten Eluate 21—25 zeigten nach dreimaligem Umlösen aus Chloroform-Methanol einen Smp. von 271—272°. Die Verbindung gibt mit Diacetyl-echinocystsäure gemischt keine Schmelzpunktserniedrigung.

$$[\alpha]_D = -12^0 \ (c = 0.928)$$

Reduktion von Diacetyl-echinocyst-aldehyd (VIII) nach Wolff-Kishner.

500 mg Diacetyl-echinocyst-aldehyd werden in einem Einschlussrohr mit Natriumäthylat (hergestellt aus 1,5 g Natrium und 15 cm³ Alkohol) und 2,5 cm³ Hydrazinhydrat über Nacht auf 200° erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung erhält man 440 mg Rohprodukt. Dieses wird in 30 cm³ Benzol-Äther (1:1) gelöst und durch eine Säule von 12 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert.

Die Fraktionen 2 und 3 werden vereinigt und aus Aceton-Petroläther viermal umgelöst. Dabei erhält man feine lange Nadeln vom Smp. 221—222°, welcher sich auch bei weiterem Umkrystallisieren nicht mehr ändert. Die Substanz gibt eine positive Tetranitromethan-Probe und eine starke Rotfärbung mit Liebermann-Burckhardt-Reagens; mit Manila-diol gibt sie eine Schmelzpunktserniedrigung von 6°. Zur Analyse wurde während 62 Stunden bei 130—135° im Hochvakuum getrocknet.

3,680 mg Subst. gaben 10,940 mg CO_2 und 3,673 mg H_2O $C_{30}H_{50}O_2$ Ber. C 81,39 H 11,39% Gef. ,, 81,13 ,, 11,17%

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierter Substanz
1 2	20 cm ³ Benzol-Äther (1:1) 50 cm ³ Benzol-Äther (1:1)	70 mg Öl 100 mg Nadeln Smp. 204216°
3	100 cm ³ Benzol-Äther (1:1)	130 mg Nadeln Smp. 215—220°
5	150 cm ³ Benzol-Äther (1:1) 200 cm ³ Benzol-Āther (1:1)	60 mg Krystalle Smp. 238—242° 50 mg körnige Krystalle Smp. 249—251°
6	400 cm³ Benzol-Äther (1:1)	30 mg körnige Krystalle Smp. 249—253°

Der Ansatz wurde mit 600 mg Substanz unter den gleichen Bedingungen wiederholt. Das Rohprodukt (560 mg) wird wieder über eine Säule von 15 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert. 250 cm³ Benzol-Äther (1:1) eluieren dabei 300 mg Nadeln vom Smp. 199—201°. Nach viermaligem Umlösen aus Aceton-Wasser steigt der Smp. auf 202—203°, verändert sich aber bei weiterem Umkrystallisieren nicht mehr. Der Mischschmelzpunkt mit der beim ersten Ansatz gewonnenen Verbindung vom Smp. 221° ergibt keine Erniedrigung; mit Manila-diol dagegen eine Erniedrigung von ca. 20°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 165—170° Blocktemperatur sublimiert. Der Schmelzpunkt sinkt dabei auf 197—198°.

3,660; 3,756 mg Subst. gaben 10,885; 11,200 mg
$$\rm CO_2$$
 und 3,710; 3,818 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{30}H_{50}O_2$ Ber. C 81,39 H 11,39% Gef. ,, 81,15; 81,38 ,, 11,34; 11,37% $\rm [\alpha]_D=+54,5^\circ; +54,7^\circ; +58,8^\circ$ (c = 0,966; 0,877; 1,018)

Es liegt Verbindung XII vor.

Die vereinigten Fraktionen 5 und 6 ergeben nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Petroläther körnige Krystalle vom Smp. 254,5—255°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 230—235° Blocktemperatur sublimiert.

Es liegt Verbindung VI vor.

Acetylierung von XII. a) 50 mg Substanz wurden in 0,6 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 0,6 cm³ Acetanhydrid versetzt, 15 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und die Lösung am Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand (50 mg) wird durch eine Säule von 4 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) filtriert. 450 cm³ Petroläther-Benzol (1:1) eluieren 45 mg Krystalle vom Smp. 254—258°. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Methanol steigt der Smp. auf 266,5—267°. Die Substanz wandelt sich in der Schmelzpunktskapillare zwischen 250—254° in lange Nadeln um. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 210—220° Blocktemperatur sublimiert.

3,744 mg Subst. gaben 10,872 mg CO₂ und 3,587 mg H₂O C₃₂H₅₂O₃ Ber. C 79,28 H 10,81% Gef. ,, 79,25 ,, 10,72%
$$\left[\alpha\right]_D = +47,3^o \ (c=0,779)$$

Es liegt das 2-Monoacetat vor.

b) 80 mg Substanz werden mit 1 cm³ Pyridin und 3 cm³ Acetanhydrid eine Viertelstunde am Rückfluss gekocht, zur Trockne eingedampft und über eine Säule von 6 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert.

Frakt.	Lösungsmittel Menge eluierter Substanz
1 2-3 4	8 cm ³ Petroläther-Benzol (3:1) Spuren amorph 30 cm ³ Petroläther-Benzol (3:1) 60 mg Blättchen Smp. 223–224° 40 cm ³ Petroläther-Benzol (3:1) 10 mg Blättchen Smp. 218–227°
5	100 cm ³ Petroläther-Benzol (3:1) Spuren amorph

Die Fraktionen 2—3 ergeben nach dreimaligem Umlösen aus Chloroform-Methanol Blättchen vom Smp. 226—226,5°, welche mit dem Diacetat XI (via Thioester) keine Erniedrigung des Schmelzpunktes zeigen.

$$[\alpha]_D = +8^0 \ (c = 0.887)$$

Oxydation des Diols (XII) mit Chromsäure.

260 mg Substanz werden in 40 cm³ Eisessig gelöst und unter Umrühren bei Zimmertemperatur 160 mg Chromtrioxyd in 10 cm³ Eisessig innerhalb einer Stunde zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird weitere 4 Stunden stehen gelassen, dann mit einigen Kubikzentimetern Methanol versetzt und in Wasser gegossen. Nach dem Aufnehmen in Äther wäscht man gründlich mit verdünnter Natronlauge und Wasser durch. Der Äther wird abgedampft und der Rückstand (220 mg) über 6 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) filtriert.

Aus Methylenchlorid-Methanol erhält man glänzende Blättchen vom Smp. 212,5—213°. Das Produkt ergibt mit Manila-dion vom Smp. 213—213,5°¹) gemischt keine Erniedrigung des Schmelzpunktes. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 170° Blocktemperatur sublimiert.

3,621 mg Subst. gaben 10,884 mg CO₂ und 3,412 mg
$$\rm H_2O$$
 C₃₀ $\rm H_{46}O_2$ Ber. C 82,14 H 10,57% Gef. ,, 82,03 ,, 10,55%
$$[\alpha]_{\rm D} = +54,5^0 \ (c=1,115)$$

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

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

142. Über einige in ε -Stellung substituierte Derivate der Sorbinsäure von P. Karrer und R. Schwyzer.

In anderem Zusammenhang haben wir kürzlich²) mitgeteilt, dass es gelingt, Sorbinsäure-methylester durch Einwirkung von Bromsuccinimid bei Gegenwart von etwas Benzoylperoxyd in den ε-Bromsorbinsäure-methylester (I) überzuführen. Diese Verbindung ist ein für mancherlei Synthesen brauchbares Ausgangsmaterial. Wir beschreiben nachstehend einige neue Substanzen, die wir aus ihr dargestellt haben.

¹) Helv. **29**, 1124 (1946).

²) Helv. 29, 573 (1945).

Durch Umsatz des ε -Bromsorbinsäure-methylesters mit Phtalimidkalium wurde der ε -Phtalimido-sorbinsäure-methylester (II) und aus letzterem durch Verseifung die ε -Amino-sorbinsäure (III) erhalten. Diese ist eine in heissem Wasser leicht, in kaltem Wasser mässig lösliche, gut krystallisierte Verbindung.

Mittels Silberacetat liess sich aus ε -Bromsorbinsäure-ester der ε -Acetoxy-sorbinsäure-methylester (IV) darstellen, der bei 43° schmilzt. Durch Verseifung mit 5-proz. methanolischer Kalilauge bei Zimmertemperatur erhielten wir ein Gemisch von ε -Oxy-sorbinsäure-methylester (V) vom Smp. 62—63° und ε -Oxy-sorbinsäure. Nach Abtrennung eines Teiles des ε -Oxy-sorbinsäure-methylesters, der in Platten und Tafeln krystallisiert, wurden die übrigen Fraktionen mit wässeriger Natronlauge zur ε -Oxy-sorbinsäure weiterverseift. Deren Schmelzpunkt liegt bei 136°.

 $CH_2OH \cdot CH = CH \cdot CH = CH \cdot COOCH_3$

 $\mathbf{CH_3OOC \cdot CH = CH \cdot CH = CH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH = CH \cdot CH = CH \cdot COOCH_3}}$ \mathbf{VI}

Versuche, den ε -Bromsorbinsäure-methylester mit Ketonen und Zink zu tertiären Oxy-carbonsäure-estern umzusetzen, führten bisher nicht zum Ziel. Bei solchen Reaktionen wurde indessen in kleiner Menge der Dimethylester der Δ -2,4,8,10-Dodecan-di-säure-(1,12) (Formel VI) isoliert (Smp. 95°), die wir noch weiter zu bearbeiten gedenken. Dieselbe Substanz erhält man bei der Einwirkung von molekularem Silber auf eine Lösung von ε -Bromsorbinsäure-methylester in Petroläther.

Experimenteller Teil.

 $\epsilon\text{-}Bromsorbins\"{a}ure\text{-}methylester.$

20 g frisch destillierter Sorbinsäure-methylester, 27 g Brom-succinimid, 7 cm³ trokkener Tetrachlorkohlenstoff und 2 g Dibenzoylperoxyd wurden im Ölbad auf 110° erhitzt (Ölbadtemperatur 120—130°). Die Reaktion trat, erkenntlich an der Gelb- bis Orangefärbung der Flüssigkeit, bald ein und war nach ca. 20 Minuten beendet.

Nach dem Abkühlen des Reaktionsproduktes haben wir das ausgeschiedene Succinimid (13 g) abgenutscht, mit Tetrachlorkohlenstoff und Chloroform ausgewaschen und das Filtrat mit 1 Liter Petroläther versetzt, wobei sich orangerot gefärbte Harze absetzten. Nach etwa 1 Stunde wurde die überstehende Flüssigkeit von den Harzen abgegossen, filtriert und der Petroläther abdestilliert. Der Rückstand war ein hellgelbes Öl und wog 20 g.

Dieses Öl haben wir im Kugelrohr im Hochvakuum destilliert. Unter 0,01 mm Quecksilberdruck gingen bei 35° Luftbadtemperatur 4 g Sorbinsäure-methylester über; dann folgte bei 70° eine gelblich aussehende Fraktion, die 2 g wog. Zwischen 70 und 105° destillierte die Hauptmenge, ein blassgelbes Öl, und als Rückstand blieben 2 g rotes Harz zurück. Bei der zweiten Destillation der Hauptfraktion destillierte diese ziemlich konstant bei einer Luftbadtemperatur von 72—77° (0,01 mm Druck); daneben haben wir einen kleinen Vorlauf und einen kleinen Rückstand abgetrennt. Die nun fast farblose Substanz wog 12 g. Sie wurde in 25—30 cm³ einer Mischung von Äther und Petroläther (1:2) versetzt und die Lösung auf – 80° gekühlt. Beim Reiben der Gefässwände trat reichliche Krystallisation ein. Nach dem Abnutschen und Waschen des Krystallisates mit gut gekühlter Äther-Petroläther-Mischung haben wir die Substanz im Hochvakuum getrocknet. Ausbeute 1,6 g. Durch Destillation der Mutterlauge und wiederholtes Ausfällen liessen sich weitere 0,2 g gewinnen.

Zur Analyse haben wir den so gewonnenen ε -Bromsorbinsäure-methylester zweimal aus Petroläther umkrystallisiert. Smp. 26°.

 $C_7H_9O_2Br$ (205,06) Ber. C 41,00 H 4,40 Br 38,98 OCH₃ 15,13% Gef. ,, 40,98 ,, 4,53 ,, 38,58 ,, 14,87%

ε-Acetoxy-sorbinsäure-methylester.

1,8 g ε -Bromsorbinsäure-methylester wurden mit 4 g gut getrocknetem Silberacetat in 20 cm³ absolutem thiophenfreiem Benzol 3 Stunden geschüttelt. Zur Beendigung der Reaktion haben wir den entstandenen Brei während 2 Stunden auf 50° erwärmt. Das Benzol wurde, nachdem die Silbersalze durch Filtration entfernt worden waren, im Vakuum abdestilliert und der flüssige Rückstand mehrmals mit insgesamt 100 cm³ tiefsiedendem Petroläther ausgekocht. Nach dem Einengen der Extrakte auf 30 cm³ krystallisierten 1,5 g farblose, längliche Blättehen aus, die wir nochmals aus Benzol umkrystallisiert haben. Der so erhaltene ε -Acetoxy-sorbinsäure-methylester schmolz bei 43°. Ausbeute 90% der Theorie.

 $\epsilon\text{-}Oxy\text{-}sorbins \\ \ddot{a}ure\text{-}methylester und } \epsilon\text{-}Oxy\text{-}sorbins \\ \ddot{a}ure.$

1,5 g Acetoxy-sorbinsäure-methylester wurden in $20~\rm cm^3$ 5-proz. methanolischer Kalilauge über Nacht stehen gelassen. Nach dem Ansäuern mit verdünnter Salzsäure bis $\rm p_H=3,5$ hat man das ausgefallene Kochsalz abfiltriert und das Filtrat im Vakuum zur Trockene verdampft. Der braune Rückstand wurde erschöpfend mit Petroläther ausgezogen, wobei etwas braunes Harz ungelöst blieb.

Die Petrolätherauszüge wurden eingeengt, worauf Krystallisation einsetzte. Durch fraktionierte Krystallisation der ausgeschiedenen Krystalle aus Äther und Äther-Petroläther konnte die schwer lösliche Fraktion schliesslich in Platten, die bei 63° schmolzen, erhalten werden. Die wässerige Lösung der Verbindung reagierte neutral. Die Substanz erwies sich nach der Analyse als ε -Oxy-sorbinsäure-methylester.

Alle Krystallfraktionen, die aus den Mutterlaugen des ε-Oxy-sorbinsäure-methylesters gewonnen wurden und die keine scharfen Schmelzpunkte aufwiesen, haben wir 1 Stunde mit 2-n. wässeriger Natronlauge auf 45° erwärmt. Nach dem Ansäuern und Sättigen der Lösung mit Kochsalz wurde das Verseifungsprodukt mit Äther im Extraktionsapparat extrahiert, der Ätherauszug eingedampft und der Rückstand aus einem Gemisch von Äther und Petroläther umkrystallisiert. Die Krystalle, die bei 136° schmolzen,

erwiesen sich als ϵ -Oxy-sorbinsäure. Diese Verbindung löst sich in Wasser mit saurer Reaktion.

 $C_6H_8O_3$ (128,06) Ber. C 56,22 H 6,29% Gef. , 56,39 , 6,60%

ε-Phtalimido-sorbinsäure-methylester.

1 g ε -Bromsorbinsäure-methylester und 1,5 g Phtalimidkalium wurden in 20 cm³ trockenem Methanol 2½ Stunden gekocht. Beim Erkalten der Lösung schieden sich farblose Nadeln aus, deren Menge durch starkes Abkühlen vermehrt werden konnte. Die Krystalle haben wir abgenutscht, mit Wasser und Methanol gewaschen und aus Methanol umkrystallisiert. Nach dem Trocknen im Hochvakuum schmolz der ε -Phtalimido-sorbinsäure-ester bei 159°. Er bildet lange, dünne, farblose Nadeln. Ausbeute 0,7 g.

 $C_{15}H_{13}O_4N$ (271,26) Ber. C 66,41 H 4,83 N 5,16 OCH₃ 11,44% Gef. ,, 66,34 ,, 4,86 ,, 5,13 ,, 11,41%

ε-Amino-sorbinsäure-methylester.

 $1~{\rm g}$ des vorbeschriebenen Phtalimido-sorbinsäure-methylesters wurde mit $40~{\rm cm}^3$ 20-proz. Salzsäure 20 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen haben wir die Phtalsäure zusammen mit unverseifter Phtalimidoverbindung abfiltriert und die Mutterlauge im Vakuum zur Trockne verdampft. Das rohe, stark verunreinigte Hydrochlorid der Aminosäure wog $0.3~{\rm g}.$

Zur Reinigung der Verbindung lösten wir das Hydrochlorid in wenig Wasser und setzten dazu die gesättigte wässerige Lösung von 1,5 g Reineckesalz. Das Reineckat schied sich in Form von kleinen Prismen aus, die nicht krystallwasserhaltig waren. Sie zeigten keinen bestimmten Schmelzpunkt, sondern begannen sich in der Gegend von 200° langsam zu zersetzen.

$$C_{10}H_{16}O_2N_7S_4Cr$$
 (446,0) Ber. N 22,0 Gef. N 21,8%

360 mg dieses Reineckates haben wir in einer Mischung von Aceton und Wasser gelöst und mit der gesättigten Lösung von 140 mg Silbersulfat versetzt. Nach dem Abfiltrieren des Silberreineckates wurden zum Filtrat 93 mg Bariumchlorid, in wenig Wasser gelöst, zugegeben. Nach dem Abzentrifugieren des Bariumsulfates waren in der wasserklaren Lösung weder Barium- noch Sulfat-ionen vorhanden.

Die Lösung wurde im Vakuum verdampft, wobei das Hydrochlorid der Aminosäure in Blättchen auskrystallisierte. Nach dem Lösen in methanolischer Salzsäure und Verdampfen des Lösungsmittels schmolz es bei 214° unter Zersetzung. Das Hydrochlorid wurde in 1 cm³ Wasser gelöst, worauf nach kurzer Zeit infolge hydrolytischer Spaltung Krystallisation der Aminosäure einsetzte. Nach dem Neutralisieren der Lösung mit Ammoniak und Zugabe von 1,5 cm³ siedendem Äthylalkohol krystallisierte die ε -Aminosorbinsäure vollständig aus. Nach dem Umkrystallisieren in Wasser und 2-stündigem Trocknen im Hochvakuum bei 100° war die Substanz analysenrein. Sie stellt dicke, achteckige Platten dar, die bei 207° unter Zersetzung schmolzen.

 $C_6H_9O_2N$ (127,14) Ber. C 56,68 H 7,13 N 11,02% Gef. ., 56,69 ,, 7,21 ,, 10,85%

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

143. Über Steroide und Sexualhormone.

(132. Mitteilung1)).

Herstellung weiterer Modell-Lactone für digitaloide Aglucone von E. Hardegger.

(27. VI. 46.)

Bei der vor kurzem²) beschriebenen Herstellung des β -(cis-p-Oxy-cyclohexyl)- $\Delta^{\alpha\beta}$ -butenolids wurde als Nebenprodukt das zweifach ungesättigte Lacton (I) erhalten. Die Verbindung (I) erwies sich als ein geeignetes Ausgangsmaterial zur Gewinnung der β -substituierten Butenolide (II, III, IV, V), von denen drei in krystallisierter Form isoliert wurden³).

Die Oxydation von (I) mit Osmiumtetroxyd führte in fast quantitativer Ausbeute zu zwei isomeren Verbindungen C10H14O4, deren Diacetate sich chromatographisch leicht trennen liessen. Die getrennten Diacetate besitzen ein gleichartiges U.V.-Absorptionsspektrum (λ_{max} 218 m μ , log $\varepsilon = 4.0$), welches erwartungsgemäss den α , β ungesättigten Lacton-Ring anzeigt. Auf Grund ihrer Entstehungsweise dürften den beiden Diacetaten die Strukturformeln (IIa) und (IIIa) mit cis-Anordnung der Acetoxy-Gruppen zukommen. Es ist bemerkenswert, dass das in überwiegender Menge (ca. 80 % der Oxydationsprodukte) gebildete Diacetat vom Smp. 95° an Aluminiumoxyd schwächer adsorbiert wird, als das bei 116° schmelzende Diacetat (ca. 20% der Oxydationsprodukte) gleicher Bruttozusammensetzung. Das Verhalten der Diacetate (IIa) und (IIIa) bei der Adsorption an Aluminiumoxyd sowie Betrachtungen an Kalottenmodellen von (II, IIa, III, IIIa) lassen es aussichtslos erscheinen, aus dem Vergleich physikalischer Konstanten der Dioxy-bzw. Diacetoxy-lactone, der einen Verbindung die cis-cis-Form (II)4) bzw. trans-trans-Form (III)⁵) zuzuordnen.

Zur Herstellung der cis-trans-Diacetoxy-lactone (IV) und (V) wurde (I) mit Benzopersäure oxydiert. Entgegen den Erfahrungen an (IIa) und (IIIa) trat bei der chromatographischen Fraktionierung der flüssigen Oxido-Verbindungen kein erkennbarer Trennungseffekt ein. Die in verschiedene Fraktionen aufgeteilten Oxydationsprodukte wurden zur Aufspaltung des Oxydringes mit Acetanhydrid be-

^{1) 131.} Mitt., Helv. 29, 949 (1946).

²⁾ E. Hardegger, H. Heusser und F. Blank, Helv. 29, 477 (1946).

³⁾ Die Reindarstellung des vierten Butenolids (IV bzw. V) konnte wegen Mangel an Substanz nicht zu Ende geführt werden.

⁴⁾ Als β -(cis-m,cis-p-Dioxy-cyclohexyl)- $\Delta^{\alpha,\beta}$ -butenolid zu bezeichnen.

⁵⁾ Als β -(trans-m,trans-p-Dioxy-cyclohexyl)- $\Delta^{\alpha,\beta}$ -buteholid zu bezeichnen.

handelt. Aus den getrennt mit Acetanhydrid behandelten Fraktionen konnte nur ein krystallisiertes Diacetoxy-lacton (IV¹) bzw. V²)) isoliert werden. Die nicht krystallisierten Mutterlaugen³), die bei der Verbrennung ebenfalls auf $C_{14}H_{18}O_6$ stimmende C,H-Werte gaben, enthielten voraussichtlich das vierte Diacetoxy-lacton (V bzw. IV).

Die drei Acetoxy-lactone (IIa, IIIa und IV bzw. V) gaben in den Mischproben starke Schmelzpunktserniedrigungen. Durch saure Verseifung wurden aus (IIa) und (IIIa) die krystallisierten, in Wasser leicht löslichen Dioxy-lactone (II) und (III) erhalten, die mit Acetanhydrid-Pyridin bzw. Acetanhydrid-Acetylchlorid wieder in die Diacetate (IIa) und (IIIa) zurückgeführt werden konnten. Hingegen gelang es nicht, beim Abbau von kleinen Mengen (II bzw. III) die Tricarbonsäure (VI) zu fassen, womit die den Lactonen (I, II, III, (IV, V) zugeschriebenen Strukturformeln streng bewiesen wären. Die vor Beginn der Abbauversuche als Vergleichssubstanz synthetisch hergestellte Säure (VI) wurde durch die Derivate (VIa, VIb und VIc) charakterisiert.

Bei allen in dieser Arbeit beschriebenen Lactonen fiel der Legal-

Test positiv aus.

Über die Ergebnisse der pharmakologischen Prüfung der Dioxylactone (II) und (III) soll später berichtet werden.

Der Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie danke ich für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil4).

 β -(m,p-Diacetoxy-cyclohexyl)- $\Delta^{\alpha,\beta}$ -butenolide (IIa) und (IIIa) aus (I).

Zu 1,64 g Cyclohexenyl-butenolid (I) in 90 cm³ absolutem Äther wurden 2,5 g Osmiumtetroxyd gegeben. Die klare Lösung trübte sich nach wenigen Minuten. Der Ansatz wurde 48 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und dann im Vakuum

¹⁾ Als β -(trans-m, cis-p-Diacetoxy-cyclohexyl)- $\Delta^{\alpha,\beta}$ -butenolid zu bezeichnen.

²) Als β -(cis-m, trans-p-Diacetoxy-cyclohexyl)- $\Delta^{\alpha,\beta}$ -butenolid zu bezeichnen.

³⁾ Vgl. Fussnote 3, S. 1195.

⁴⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

vom Äther befreit. Der in 30 cm³ Methanol aufgenommene Rückstand wurde mit einer Lösung von 4 g Na₂SO₃ in 18 cm³ Wasser und 6 cm³ 40-proz. NaHSO₃-Lösung versetzt und umgeschüttelt. Die Zersetzung des Osmiumsäure-esters erfolgte schon nach wenigen Sekunden unter Abscheidung des schwarzen Na₄Os(SO₃)₃. Nach 30 Minuten wurde mit 50 cm³ Methanol versetzt und durch "Hyflo Supercel" filtriert. Das zur Trockne eingedampfte Filtrat wurde mit je 10 cm³ Methanol dreimal ausgekocht. Die mit Methanol extrahierten Anteile wurden mit 2 cm³ Ac₂O und einigen Tropfen Acetylchlorid über Nacht bei 20° gehalten. Dann wurde das Acetylerungsgemisch im Vakuum eingedampft. Der in Äther aufgenommene Rückstand wurde neutral gewaschen. Er wog 2,24 g. Bei der chromatographischen Trennung der neutralen Anteile an 50 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) wurde mit Benzol in mehreren Fraktionen ein Diacetat C₁₄H₁₈O₆ vom Smp. 95° isoliert. Zur Analyse wurde das aus Essigester-Petroläther in langen Nadeln krystallisierende Präparat (1,8 g) im Hochvakuum bei 170° destilliert.

3,742 mg Subst. gaben 8,165 mg CO $_2$ und 2,143 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{14}H_{18}O_6$ $\rm Ber.$ C 59,56 $\rm H$ 6,43% $\rm Gef.$,, 59,55 $\rm _{3}$, 6,41%

Aus den folgenden, mit Benzol und Benzol-Äther eluierten Fraktionen wurden nach mehrfachem Umkrystallisieren aus Essigester-Petroläther 250 mg eines isomeren Diacetats $\mathrm{C_{14}H_{18}O_6}$ vom Smp. 116° erhalten. Das in Körnern krystallisierende Präparat wurde zur Analyse bei 150° im Hochvakuum destilliert.

3,737 mg Subst. gaben 8,138 mg $\rm CO_2$ und 2,137 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{14}H_{18}O_6$ Ber. C 59,56 H 6,43% Gef. ,, 59,43 ,, 6,40%

In der Mischprobe gaben die beiden bei 95° und bei 116° schmelzenden Diacetate $C_{14}H_{18}O_6$ eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Der *Legal*-Test verlief mit beiden Präparaten positiv.

β-(m,p-Dioxy-cyclohexyl)-Δαβ-butenolide (II) und (III) aus (IIa) und (IIIa)

1,8 g Diacetoxy-cyclohexyl-butenolid vom Smp. 95° und 35 cm³ 6-proz. methanolische Salzsäure wurden 24 Stunden bei 20° stehen gelassen und dann im Hochvakuum zur Trockne eingedampft. Das an 40 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) adsorbierte Dioxy-lacton wurde mit Äther-Chloroform aus der Säule herausgewaschen. Das mehrmals aus Methanol-Essigester krystallisierte und 32 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknete Präparat schmolz bei 126—127°. Das Analysenpräparat wurde vor dem Verbrennen geschmolzen.

3,814 mg Subst. gaben 8,425 mg ${\rm CO_2}$ und 2,444 mg ${\rm H_2O}$ ${\rm C_{10}H_{14}O_4}$ Ber. C 60,59 H 7,12% Gef. ,, 60,29 ,, 7,18%

Aus dem bei 116° schmelzenden Diacetat $C_{14}H_{18}O_{6}$ wurde auf gleiche Weise das bei $104-105^{\circ}$ schmelzende Dioxy-butenolid erhalten. Das Präparat wurde wie oben getrocknet und vor dem Verbrennen geschmolzen.

3,692 mg Subst. gaben 8,185 mg $\rm CO_2$ und 2,399 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{10}H_{14}O_4$ Ber. C 60,59 H 7,12% Gef. ,, 60,50 ,, 7,27%

Die beiden Dioxy-butenolide (II und III) gaben in der Mischprobe miteinander und mit jedem der beiden Diacetoxybutenolide (IIa und IIIa) eine starke Schmelzpunktserniedrigung. (II) und (III) sind in Wasser leicht löslich; sie geben einen positiven LegalTest.

Acetylierung: Die beiden Dioxy-butenolide mit dem Smp. 126° bzw. 105° wurden bei Zimmertemperatur mit Ac_2O und einigen Tropfen Acetylchlorid oder besser mit Pyridin und Ac_2O wieder in die zugehörigen bei 95° bzw. 116° schmelzenden Diacetate umgewandelt.

 β -(m,p-Diacetoxy-cyclohexyl)- $\Delta^{\alpha,\beta}$ -butenolid (IV) bzw. (V).

455 mg Cyclohexenyl-butenolid (I) wurden mit 7 cm³ 0,4175-m. Benzopersäure in Chloroform 16 Stunden bei — $10^{\rm o}$ und 8 Stunden bei 20° im Dunkeln stehen gelassen. Nach Zugabe von 1 cm³ 1-n. KJ-Lösung zum Oxydationsgemisch wurde das ausgeschiedene Jod mit 3,0 cm³ 0,1-n. Thiosulfat entfernt. Nach Zugabe von Essigester wurden die Oxydationsprodukte dreimal mit KHCO₃-Lösung und zweimal mit Wasser gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wog 560 mg. Er wurde chromatographisch in mehrere Fraktionen zerlegt. Die einzelnen Fraktionen wurden mit Ac₂O (total 2 cm³) je 3 Stunden gekocht oder nach E. Knoevenagel¹) mit Ac₂O + 1% FeCl₃ 24 Stunden bei 20° stehen gelassen. Nach dem Abdampfen des Ac₂O im Vakuum — bzw. vorangegangenem Abstumpfen des FeCl₃ mit krystallisiertem Natriumacetat — und üblicher Aufarbeitung wogen die Neutralkörper insgesamt 610 mg. Die mit Essigester-Petroläther aus den einzelnen Fraktionen erhaltenen Krystalle schmolzen bei 100—101°. Sie gaben in der Mischprobe untereinander keine und mit den Diacetoxy-butenoliden (IIa) und (IIIa) eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Das Analysenpräparat wurde bei 170° im Hochvakuum destilliert.

3,698 mg Subst. gaben 8,064 mg CO $_2$ und 2,142 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{14}H_{18}O_6$ $\rm Ber.$ C 59,56 $\rm H$ 6,43% $\rm Gef.$,, 59,51 $\rm _{o}$, 6,48%

Die bei der Behandlung mit Essigester-Petroläther nicht krystallisierenden Mutterlaugen³) wurden zur Analyse bei 180° im Hochvakuum destilliert.

3,927 mg Subst. gaben 8,558 mg $\mathrm{CO_2}$ und 2,269 mg $\mathrm{H_2O}$

 $C_{14}H_{18}O_6$ Ber. C 59,56 H 6,43% Gef. ,, 59,47 ,, 6,46%

Beide Präparate gaben einen positiven Legal-Test.

Derivate der Tricarbonsäure (VI)3).

Die aus 1,2,2,4-Butantetracarbonsäure-tetra-äthylester durch alkalische Verseifung und Decarboxylierung bereitete 1,2,4-Butantricarbonsäure wurde über den mit Diazomethan hergestellten Trimethylester (VIa) (Sdp. 110—114°, 0,2 mm) gereinigt.

3,606 mg Subst. gaben 6,823 mg CO2 und 2,250 mg H2O

Die aus dem Trimethylester hergestellte Säure (VI) schmolz nach dem Umkrystallisieren aus Essigester bei 123—123,5°.

Tris-benzylthiuroniumsalz (VIb). Das aus Alkohol-Wasser umkrystallisierte Salz schmolz bei 161°. Das Analysenpräparat wurde 24 Stunden bei 20° und 0,01 mm getrocknet.

Tris-p-bromphenacylester. Das aus Alkohol umkrystallisierte und 20 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknete Analysenpräparat schmolz bei 143—144°.

3,894 mg Subst. gaben 6,786 mg CO_2 und 1,107 mg H_2O $C_{31}H_{25}O_2Br_2$ Ber. C 47,66 H 3,23%

Die Mikroanalysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

Gef. ,, 47,56 ,, 3,18%

¹) A. **402**, 111 (1913).

²) Auch diese Fraktionen krystallisieren nachträglich teilweise; doch war wegen Mangel an Substanz eine Reinigung nicht mehr durchzuführen.

³⁾ Mitbearbeitet von den HH. M. Senti, J. Kopp und H. Hirsbrunner.

144. Über die Herstellung von α - und β -Chinovose-tetraacetat aus Glucose

von E. Hardegger und R. M. Montavon.

(27. VI. 46.)

Die vorliegende Arbeit wurde ausgeführt mit dem Ziel, β -1,2,3,4-Tetraacetyl-d-chinovose¹) (VII) in grösseren Mengen erhältlich zu machen. Die in der Literatur²) verzeichneten Methoden zur Herstellung von VII schienen wenig geeignet, weil sie zu umständlich sind oder für die Durchführung der Reaktionen in grösserem Maßstabe spezielle technische Hilfsmittel erfordern.

In einfacher Weise wurde das β -Tetraacetat (VII) zugänglich, als es uns in Anlehnung an die Arbeiten von B. Helferich, H. Dressler und R. $Griebel^2$) gelang, durch partielle Tosylierung von Glucose und nachfolgende Acetylierung in erträglicher Ausbeute die als Zwischenprodukt benötigte β -Tetraacetyl- δ -tosyl-glucose (II) herzustellen. Die partielle Tosylierung eines Zuckers mit freier reduzierender Gruppe ist bemerkenswert, da bisher nur wenige analoge Reaktionen bekannt geworden sind³).

Das Tosylat (II) wurde mit Natriumjodid in Acetanhydrid⁴) in vorzüglicher Ausbeute in das β -1,2,3,4-Tetraacetyl-glucose-6-jodhydrin (III)⁵) übergeführt. Die nicht krystallisierenden Mutterlaugen aus der Herstellung von II lieferten bei gleicher Behandlung⁵) eine beträchtliche Menge reines α -1,2,3,4-Tetraacetyl-glucose-6-jodhydrin (IIIa).

Bei der Umwandlung des Jodids (III) in das Chinovose-Derivat (VII) bzw. von IIIa in VIIa stiessen wir auf unerwartete Schwierigkeiten. Zahlreiche Versuche zur reduktiven Entfernung des Jods mit naszierendem Wasserstoff (mit Magnesium, Aluminium, Zink und deren Amalgamen in neutraler oder essigsaurer Lösung verschiedener

¹⁾ d-Chinovose wird auch als Isorhodeose, d-Epirhamnose oder d-Glucomethylose bezeichnet.

<sup>Vgl. dazu E. Fischer und K. Zach, B. 45, 3766 (1912); B. Helferich und W. Klein,
A. 450, 226 (1926); F. Micheel, B. 63, 358 (1930); J. Compton, Am. Soc. 60, 395 (1938);
B. Helferich, H. Dressler und R. Griebel, J. pr. [2] 153, 285 (1939).</sup>

³⁾ Z. B. P. A. Levene und J. Compton, Tosylierung von 2,3-Isopropyliden-l-rhamnose zu 2,3-Isopropyliden-5-tosyl-l-rhamnose, J. Biol. Chem. 116, 169 (1936); W. T. J. Morgan und T. Reichstein, Tosylierung von Fructose zu 1,6-Ditosyl-fructose, Helv. 21, 1023 (1938); B. Helferich, H. Dressler und R. Griebel, l. c., Mesylierung von Glucose zu 6-Mesyl-glucose (als β-Tetraacetat isoliert).

⁴⁾ Vgl. z. B. W. T. Haskins, R. M. Hann und C. S. Hudson, Am. Soc. 64, 132 (1942); F. Reber und T. Reichstein, Helv. 29, 343 (1946).

⁵⁾ B. Helferich, H. Dressler und R. Griebel, J. pr. [2] 153, 285 (1939).

Konzentration)¹) führten zu höchstens 50 % der Theorie an krystallisiertem Tetraacetat (VII) bzw. (VIIa). Auch Versuche zur katalytischen Enthalogenierung von III (mit Platin, Palladium und Raney-Nickel in neutraler oder in mit Pyridin oder Dinatriumphosphat gepufferter Lösung oder langsamem Zusatz von verdünnter Natronlauge)¹) verliefen mit unbefriedigenden Ausbeuten.

Wir versuchten deshalb, die Umwandlung von III und IIIa in VII bzw. VIIa durch Behandlung der Thiuroniumsalze (IV) bzw. (IVa) mit Raney-Nickel zu erreichen. Die Jodide (III) und (IIIa) zeigen bei der Umsetzung mit Thioharnstoff eine für primäre Halogenide überraschende Reaktionsträgheit; unter energischen Bedingungen verläuft die Bildung der Thiuroniumsalze (IV und IVa) jedoch mit guten Ausbeuten. Die in Wasser leicht löslichen Thiuroniumjodide (IV und IVa) wurden zur Charakterisierung in die Pikrate (VI und VIa) und in der β -Reihe ins Perchlorat (V) übergeführt. Das Thiuroniumjodid (IVa) der α -Reihe konnte bisher nicht in krystallisierter Form erhalten werden. Für die ebenfalls mit guten Ausbeuten verlaufende Entschwefelung mit Raney-Nickel²) ist die Isolierung der Thiuroniumjodide (IV und IVa) nicht notwendig.

Nach dem Abschluss der experimentellen Arbeiten gelangte eine Untersuchung von $W.\ T.\ Haskins,\ R.\ M.\ Hann\ und\ C.\ S.\ Hudson^3)$ zu unserer Kenntnis, worin die katalytische Reduktion von α -Methyldemannopyranosid-6-jodhydrin mit Rancy-Nickel in Methanol unter

¹⁾ Die Versuche sind im experimentellen Teil nicht beschrieben.

²⁾ Literatur-Zusammenstellung bei O. Jeger, J. Norymberski, S. Szpilfogel und V. Prelog, Helv. 29, 684 (1946).

³⁾ Am. Soc. 68, 628 (1946).

Zusatz von Diäthylamin beschrieben wird. Diese, von uns auf das Jodid (III) angewendete Methode gab 50% Ausbeute an VII.

Der Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie und der Lunge-Stiftung danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil 1) 2).

β-1,2,3,4-Tetraacetyl-6-tosyl-d-glucose (II) aus Ia.

 $10\,\mathrm{g}$ wasserfreie α -d-Glucose (Ia) wurden in 150 cm³ reinem, wasserfreiem Pyridin gelöst, auf einmal 10,1 g Tosylchlorid zugegeben und die Mischung 24 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurden 41 g Acetanhydrid portionenweise so zugegeben, dass die Temperatur nicht über 50° anstieg. Die Mischung wurde bei 12 mm im Wasserbad zur Trockne eingedampft. Der in $100\,\mathrm{cm}^3$ warmem Alkohol aufgenommene Rückstand gab nach dem Erkalten 11 g (40% der Theorie) schon recht reine β -1,2,3,4-Tetraacetyl-6-tosyl-d-glucose (II). 1 g dieses Präparats wurde aus $40\,\mathrm{cm}^3$ Alkohol umkrystallisiert und zur Analyse 20 Stunden im Hochvakuum bei 70° getrocknet. Smp. 194° 3).

Bei grösseren Ansätzen wurde 1 kg Glucose in 1 Liter Pyridin suspendiert und unter Rühren im Verlaufe von 6 Tagen 1,1 kg (1,1 Mol) Tosylchlorid in 2 Liter Pyridin zugegeben. Nach dem Acetylieren mit 2,3 kg Acetanhydrid wurde die Mischung in Chloroform aufgenommen und je dreimal mit Wasser, KHCO $_3$ -Lösung und wieder mit Wasser gewaschen. Nach dem Abdampfen des Chloroforms wurde aus Alkohol umkrystallisiert. Die Ausbeute an II war stets geringer (20%) als in den kleinen Ansätzen. Eine wesentliche Verminderung der Ausbeute trat auch ein, wenn an Stelle von Pyridin wasserfreie Pyridinbasen verwendet wurden. Zum Lösen von 10 g Glucose waren ungefähr 450 cm 3 Pyridinbasen erforderlich.

α -1,2,3,4-Tetraacetyl-d-glucose-6-jodhydrin (IIIa)4).

Die nicht krystallisierenden Mutterlaugen aus der Herstellung von II (10-g-Ansatz) wurden im Vakuum bei 100° zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wog 19 g. 2 g des Rückstandes und 1 g NaJ wurden in 30 cm³ Acetanhydrid eine Stunde gekocht. Nach etwa 30 Minuten begann die Ausscheidung von Natriumtosylat. Ohne das ausgeschiedene Natriumtosylat zu filtrieren, wurde die erkaltete Reaktionsmasse in 300 cm³ Wasser gegossen und nach kräftigem Umschütteln filtriert. Das ausgefallene Jodhydrin wurde aus 15 cm³ Alkohol umkrystallisiert. Die Ausbeute an reinem bei 180° schmelzendem Jodid betrug 720 mg (39% der Theorie). Zur Analyse wurde das Präparat 10 Stunden im Hochvakuum bei 70° getrocknet.

$$\begin{split} \left[\alpha\right]_{D} = & + 102^{o} \ (c = 0.6 \ in \ Chloroform) \\ 3,754 \ mg \ Subst. \ gaben \ 5,051 \ mg \ CO_{2} \ und \ 1,398 \ mg \ H_{2}O \\ & C_{14}H_{19}O_{9}J \quad \text{Ber. } C \ 36,69 \quad H \ 4,18\% \\ & \text{Gef. } ,, \ 36,72 \quad ,, \ 4,17\% \end{split}$$

Bei der Aufarbeitung grösserer Ansätze wurde neben IIIa und Gemischen von IIIa + III noch β -1,2,3,4,6-Pentaacetyl-d-glucose gefunden.

2) Mitbearbeitet von den HH. H. Meyer, G. Riccardi und E. Jäggli.

4) Vgl. B. Helferich, H. Dressler und R. Griebel, J. pr. [2] 153, 285 (1939).

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

³) J. Compton, Am. Soc. **60**, 395 (1938); B. Helferich und W. Klein, A. **450**, 226 (1926) geben den Smp. von 203—204° an.

β-1,2,3,4-Tetraacetyl-d-glucose-6-jodhydrin (III) aus II1).

2 g β -1,2,3,4-Tetraacetyl-6-tosyl-d-glucose und 1 g NaJ wurden in 40 cm³ Acetanhydrid eine Stunde im Sieden gehalten. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie bei der α -Verbindung (IIIa). Die Ausbeute an reinem, bei 148° schmelzendem Jodid betrug 1,75 g (95% der Theorie). Zur Analyse wurde das Präparat 10 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

 $\label{eq:continuous} \begin{array}{c} \left[\alpha\right]_{\rm D} = +\,9.5^{\circ}\ ({\rm c} = 1.15\ {\rm in\ Chloroform}) \\ 3,730\ {\rm mg\ Subst.\ gaben\ 5.005\ mg\ CO_2\ und\ 1.400\ mg\ H_2O} \\ {\rm C_{14}H_{19}O_9J} \quad {\rm Ber.\ C\ 36.69\ H\ 4.18\%} \\ {\rm Gef.\ ,,\ 36.62\ \ ,,\ 4.20\%} \end{array}$

In grösseren Ansätzen (300 g Tosylat) konnten, ohne Erniedrigung der Ausbeute an III, die Menge des Acetanhydrids auf $1^1/_2$ Liter und die Menge des NaJ auf 90 g reduziert werden.

Thiuronium jodid (IV) aus III.

458 mg Tetraacetyl-jodhydrin (III) wurden mit 76 mg Thioharnstoff in 5 cm³ Amylalkohol 10 Minuten oder in 5 cm³ n-Butanol 30 Minuten gekocht. Beim Erkalten schied sich das Thiuroniumjodid als amorpher Niederschlag (350 mg) ab. Das Thiuroniumjodid wurde in 20 cm³ Aceton gelöst. Bei vorsichtiger Zugabe der gleichen Menge Petroläther krystallisierte das Präparat in feinen Nadeln vom Smp. 225° (u. Zers.). Das Thiuroniumjodid wurde zur Analyse 10 Stunden im Hochvakuum bei 70° getrocknet.

$$\begin{split} \left[\alpha\right]_D = & + 20^0 \text{ (c} = 0.7 \text{ in Alkohol);} \\ & + 11.3^0 \text{ (c} = 0.34 \text{ in Wasser)} \\ 3,740 \text{ mg Subst. gaben 4,609 mg CO}_2 \text{ und 1,480 mg H}_2\text{O} \\ & \text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_8\text{N}_2\text{SJ} \quad \text{Ber. C 33,72 H 4,34\%} \\ & \text{Gef. ,, 33,63 }, \text{ 4,43\%} \end{split}$$

Das Präparat ist leicht löslich in Methanol und Wasser, etwas weniger in Aceton, wenig löslich in Benzol und Essigester, In einem grösseren Ansatz wurden aus $250\,\mathrm{g}$ Jodhydrin (III) $200\,\mathrm{g}$ reines IV erhalten.

Thiuroniumperchlorat (V) aus IV. 100 mg Thiuroniumjodid (IV) wurden in 1 cm³ Wasser gelöst und mit einer Lösung von 40 mg Natriumperchlorat in 1 cm³ Wasser versetzt. Nach dem Erkalten krystallisierte das Perchlorat in Nadeln vom Smp. 202° (u. Zers.). Zur Analyse wurde das Präparat aus Wasser umkrystallisiert und 30 Stunden bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

3,878 mg Subst. gaben 4,920 mg ${\rm CO_2}$ und 1,649 mg ${\rm H_2O}$ ${\rm C_{15}H_{23}O_{13}N_2SCl\cdot 1~H_2O}$ Ber. C 34,35 H 4,77% Gef. ,, 34,62 ,, 4,76%

Thiuronium pikrat (VI) aus IV. 100 mg Thiuronium jodid (IV) wurden in 1cm³ Wasser gelöst und mit einer Lösung von 50 mg Pikrinsäure in 4,2 cm³ 0,05-n. Natronlauge versetzt. Das Pikrat wurde aus 4 cm³ Butylalkohol umkrystallisiert. Es schmolz bei 214° (u. Zers.). Das Analysenpräparat wurde 20 Stunden bei 100° im Hochvakuum getrocknet.

$$\label{eq:alpha} \begin{split} \left[\alpha\right]_D = & + 18^{\circ} \ (c = 0.2 \ in \ Alkohol) \\ 3,694 \ mg \ Subst. \ gaben \ 5,356 \ mg \ CO_2 \ und \ 1,345 \ mg \ H_2O \\ C_{21}H_{25}O_{16}N_5S & Ber. \ C \ 39,69 \ H \ 3,96\% \\ Gef. \ ,, \ 39,57 \ \ ,, \ 4,07\% \end{split}$$

Das Präparat ist gut löslich in Essigester oder Aceton, weniger in Wasser und Alkohol.

¹⁾ Vgl. B. Helferich, H. Dressler und R. Griebel, J. pr. [2] 153, 285 (1939).

β-1,2,3,4-Tetraacetyl-chinovose (VII) aus III bzw. IV1).

1,2 g β -Tetraacetyl-glucose-6-jodhydrin (III) wurden mit 200 mg Thioharnstoff in 15 cm³ Amylalkohol 10 Minuten gekocht. Die noch warme Lösung wurde mit 3 g Raney-Nickel $^{1}/_{2}$ Stunde geschüttelt und dann filtriert. Das eingedampfte Filtrat wog 800 mg. Nach dem Umkrystallisieren aus 5 cm³ Butylalkohol wurden 610 mg reines VII gewonnen (70% der Theorie).

$$\left[\alpha\right]_{\mathrm{D}}=+\,22^{\,0}$$
 (c = 0,9 in Chloroform)

Das bei 151° schmelzende Präparat wurde zur Analyse im Hochvakuum 10 Stunden bei 70° getrocknet.

3,858 mg Subst. gaben 7,141 mg CO $_2$ und 2,095 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{14}H_{20}O_9$ $\rm Ber.$ C 50,60 $\rm H$ 6,07% $\rm Gef.$,, 50,51 $\rm ,,$ 6,08%

Katalytische Hydrierung des Jodhydrins (IV) mit Raney-Nickel2).

5 g Jodhydrin (III), 100 cm³ Methanol und 2 g Raney-Nickel wurden unmittelbar nach der Zugabe von 800 mg Diäthylamin in Wasserstoffatmosphäre bei 20° geschüttelt. Nach 80 Minuten war die berechnete Menge Wasserstoff (240 cm³) aufgenommen. Die Reduktion wurde unterbrochen, der Katalysator abfiltriert, das Filtrat in 200 cm³ Wasser gegossen und mit 500 cm³ Äther extrahiert. Aus dem Ätherextrakt wurden 1,9 g reines VII vom Smp. 151° gewonnen (52% der Theorie).

Thiuroniumpikrat (VIa) aus IIIa.

458 mg Jodhydrin (IIIa) wurden mit 76 mg Thioharnstoff 10 Minuten in 10 cm³ Amylalkohol im Sieden gehalten. Dann wurde eine warme Lösung von 239 mg Pikrinsäure in 20 cm³ 0,05-n. Natronlauge zugegeben. Nach dem Erkalten krystallisierten aus der wässerigen Lösung 100 mg Thiuroniumpikrat (VIa) aus. Zur Analyse wurde das Präparat aus 5 cm³ Butylalkohol umkrystallisiert und 20 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet. Smp. 180—182°.

$$\label{eq:continuous} \begin{split} [\alpha]_{\rm D} = & +80^{\rm o}~({\rm c}=0.2~{\rm in~Alkohol}) \\ 3,798~{\rm mg~Subst.~gaben~5,536~mg~CO_2~und~1,376~mg~H_2O} \\ C_{21}H_{25}O_{16}N_5S & {\rm Ber.~C~39,69~H~3,96\%} \\ {\rm Gef.~~,~39,78~~,~4.05\%} \end{split}$$

$\alpha\text{--}1,2,3,4\text{--Tetraacetyl-chinovose}$ (VIIa) aus IIIa³).

2,8 g α -Tetraacetyl-glucose-6-jodhydrin (IIIa) wurden wie die Verbindung III der β -Reihe über das nicht isolierte Thiuroniumsalz mit Raney-Nickel reduziert und gaben 1,25 g (55% der Theorie) VIIa. Das bei 117° schmelzende Präparat wurde zur Analyse 30 Stunden im Hochvakuum bei 70° getrocknet.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. $W.\ Manser$ ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

¹⁾ B. Helferich und N. M. Bigelow, Z. physiol. Ch. 200, 263 (1931).

²⁾ Vgl. W. T. Haskins, R. M. Hann und C. S. Hudson, Am. Soc. 68, 628 (1946).

³⁾ Vgl. B. Helferich, H. Dressler und R. Griebel, J. pr. [2] 153, 285 (1939).

145. Versuche zur Herstellung von bicyclischen Aminen mit einem vielgliedrigen Ring.

Das Pyridin-Analogon der Chaulmoograsäure von V. Prelog, M. M. Wirth und B. Schönbaum. (27. VI. 46.)

Ausgehend von α -Picolin stellten wir die beiden α -(ω -Bromalkyl)-piperidine IV und IX her, in der Hoffnung, dass es möglich sein werde, daraus durch intramolekulare Alkylierung die bisher unbekannten bicyclischen Basen I (n = 11 und 13) mit einem vielgliedrigen Ring zu erhalten.

Zur Herstellung des α -(11-Brom-undecyl)-piperidins (IV) wurde das Lithium- α -picolin mit einem Gemisch von Verbindungen umgesetzt, das durch die Einwirkung von 1 Mol Natriumäthylat auf 1,10-Dibrom-decan entsteht. Dieses besteht in der Hauptsache aus 1-Brom-10-äthoxy-decan, 1,10-Diäthoxy-decan und unverändertem Dibromid, welche nur schwierig voneinander getrennt werden können. Die basischen Reaktionsprodukte des erwähnten Gemisches mit Lithium- α -picolin, das α -(11-Äthoxy-undecyl)-pyridin (II) und das 1,12-Di-(α -pyridyl)-dodecan (XI) lassen sich dagegen leicht trennen, da sie weit entfernte Siedepunkte besitzen. Durch Reduktion der erstgenannten Verbindung II mit Natrium und Alkohol erhielten wir das α -(11-Äthoxy-undecyl)-piperidin (III), aus dem mit rauchender Bromwasserstoffsäure bei 120° das Hydrobromid des α -(11-Brom-undecyl)-piperidins (IV) gewonnen wurde.

Das α-(13-Brom-tridecyl)-piperidin (IX) stellten wir aus dem α-(11-Äthoxy-undecyl)-pyridin (II) auf folgendem Wege her. Mit rauchender Bromwasserstoffsäure bei 120° geht es in das Hydrobromid des α-(11-Brom-undecyl)-pyridins (V) über, welches durch Umsetzung mit Natrium-malonester den Diäthvlester der 12-(a-Pyridyl)-dodecan-dicarbonsäure-(1,1) (VIa) gab. Durch Decarboxylierung der freien Dicarbonsäure (VIb) wurde die 12-(α-Pyridyldodecan-carbonsäure-(1) (VIIa) gewonnen, deren Äthylester (VIIb) mit Natrium und Alkohol reduziert wurde. Als Hauptprodukt bildete sich dabei das 13-(α-Piperidyl)-tridecanol-(1) (VIII). Daneben isolierten wir aus dem Reaktionsgemisch die als Nebenprodukt gebildete 12-(α-Piperidyl)-dodecan-carbonsäure-(1)(X), welche auch durch katalytische Hydrierung der 12-(α-Pyridyl)-dodecan-carbonsäure-(1) erhalten werden konnte. Das 13-(α-Piperidyl)-tridecanol-(1) liess sich auf übliche Weise mit rauchender Bromwasserstoffsäure in das Hydrobromid des α-(13-Bromtridecvl)-piperidins (IX) überführen. Die Verbindungen VII, X und VIII sind Pyridin-bzw. Piperidin-Analoga der Chaulmoograsäure bzw. des Chaulmoogrylalkohols und sind vom chemotherapeutischen Standpunkt interessant. Die Pyridin-bzw. Piperidin-Analoga des niedrigeren Homologen der Chaulmoograsäure — der Hydnocarpussäure — wurden bereits von F. Brody und M. T. $Bogert^1$) auf einem anderen Wege hergestellt.

Die Cyclisierungsversuche mit beiden α -(ω -Brom-alkyl)-piperidinen in verdünnter wässerig-alkoholischer Lösung¹) verliefen negativ, indem keine bicyclischen Basen erhalten werden konnten. Aus den niedrigmolekularen Reaktionsprodukten liessen sich nur die durch Hydrolyse entstandenen α -(ω -Oxyalkyl)-piperidine isolieren. Das α -(13-Brom-tridecyl)-piperidin verhält sich demnach anders als das entsprechende 14-Brom-tetradecyl-amin, welches durch Cyclisierung verhältnismässig leicht Tetradecamethylen-imin gibt²).

Der CIBA Aktiengesellschaft in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil3).

1,10-Dibrom-decan und Di-(10-brom-decyl)-äther.

Aus 226 g 1,10-Dioxy-decan⁴) wurden nach der Vorschrift von P. Chuit⁵) 308 g (79% der Theorie) 1,10-Dibrom-decan vom Sdp. $_{11~\rm mm}$ 164—166° erhalten.

¹⁾ Am. Soc. 65, 1075 (1943).

 ²) Vgl. L. Ruzicka, G. Salomon und K. E. Meyer, Helv. 20, 109 (1937) und frühere Abhandlungen.
 ³) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

⁴⁾ R. H. Manske, Organic Syntheses 14, 20 (1934).

⁵) Helv. 9, 266 (1926).

Die höher siedenden Nebenprodukte (51 g) wurden im Hochvakuum fraktioniert. Die Fraktion Sdp. 0,3 mm 205—210° liess sich bei niedriger Temperatur (Trockeneis-Aceton) aus Äther umkrystallisieren. Die farblosen Krystalle vom Smp. 27° wurden zur Analyse im Hochvakuum destilliert.

3,760 mg Subst. gaben 7,247 mg CO $_2$ und 2,952 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{20}H_{40}OBr_2$ $\rm Ber.$ C 52,63 H 8,84% Gef. ,, 52,60 ,, 8,79%

Es liegt demnach der bisher nicht beschriebene Di-(10-brom-decyl)-äther vor. Die Bildung analoger Nebenprodukte bei der Herstellung von ω,ω' -Dibrom-alkane aus den entsprechenden Glykolen wurde schon von A. Müller und W. $Vanc^1$) beobachtet.

α-(11-Äthoxy-undecyl)-pyridin (II).

Zu einer kochenden Lösung von 308 g 1,10-Dibrom-decan in 200 cm³ absolutem Alkohol tropfte man im Laufe von 2 Stunden eine Lösung von 24 g Natrium in 450 cm³ absolutem Alkohol unter Rühren zu und kochte das Gemisch noch 20 Minuten unter Rückfluss.

Nachdem die Hauptmenge des Lösungsmittels abdestilliert worden ist, wurde der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Aus dem ätherischen Auszug liessen sich durch Destillation im Vakuum 246 g einer öligen Fraktion vom Sdp. $_{20~\mathrm{mm}}$ 150—170° gewinnen, welche für die weitere Umsetzung verwendet wurde.

Dieses Produkt wurde langsam im Stickstoffstrom zu einer aus 94 g Picolin bereiteten ätherischen Lösung von Lithium-α-picolin²) zugetropft, wobei eine heftige Reaktion beobachtet werden konnte. Das Reaktionsgemisch wurde zuerst 1 Stunde unter Rückfluss erhitzt und dann mit Eis zersetzt und auf übliche Weise in basische und neutrale Anteile aufgetrennt. Durch fraktionierte Destillation der Basen erhielten wir 50,7 g eines farblosen Öles vom Sdp. 2 mm 143—149°, welches zur Analyse nochmals rektifiziert wurde.

3,658 mg Subst. gaben 10,442 mg CO $_2$ und 3,694 mg H $_2$ O C $_{18}$ H $_{31}$ ON Ber. C 77,92 H 11,26% Gef. ,, 77,90 ,, 11,30%

1,12-Di- $(\alpha$ -pyridyl)-dodecan (XI).

Die bei der Herstellung des α -(11-Äthoxy-undecyl)-pyridins erhaltenen höher siedenden Basen gaben nach zweimaliger Fraktionierung im Hochvakuum eine gelbliche viskose ölige Fraktion, Sdp. $_{0.05~\mathrm{mm}}$ 182—183°, welche teilweise krystallin erstarrte und durch Abpressen auf einen Tonteller von öligen Anteilen befreit wurde. Weitere Reinigung erfolgte durch Auflösen in Benzol, wobei eine kleine Menge einer hochschmelzenden, schwer löslichen Verbindung abgetrennt werden konnte. Der in Benzol leicht lösliche Hauptanteil wurde über Aluminiumoxyd (Aktivität II—III) chromatographiert. Die mit Benzol eluierten Anteile schmolzen nach nochmaliger Destillation im Hochvakuum bei 42°.

3,638 mg Subst. gaben 10,851 mg CO₂ und 3,220 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{22}H_{32}N_2$ Ber. C 81,43 H 9,94% Gef. ,, 81,40 ,, 9,90%

α-(11-Äthoxy-undecyl)-piperidin (III).

50,5 g α -(11-Äthoxy-undecyl)-pyridin reduzierte man auf übliche Weise mit Natrium und absolutem Alkohol. Die Aufarbeitung ergab 43,5 g (84% der Theorie) eines farblosen Öls vom Sdp. $_{0.4$ mm $}147-155^{\circ}$.

¹) B. **77**, 669 (1944).

²⁾ Vgl. V. Prelog, L. Frenkiel und S. Szpilfogel, Helv. 29, 487 (1946).

Das Hydrochlorid der Base wurde zur Analyse mehrmals aus Alkohol umgelöst und bei Zimmertemperatur im Hochvakuum getrocknet; Smp. 135°.

3,688 mg Subst. gaben 9,133 mg $\rm CO_2$ und 3,931 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{18}H_{38}ONCl$ Ber. C 67,57 H 11,97% Gef. ,, 67,58 ,, 11,93%

α-(11-Brom-undecyl)-piperidin (IV).

Hydrobromid. 2,83 g α -(11-Äthoxy-undecyl)-piperidin wurden 3 Stunden im Einschlussrohr mit 25 cm³ 62-proz. Bromwasserstoffsäure erhitzt. Das zur Trockne eingedampfte Reaktionsprodukt ergab nach Umlösen aus Aceton 3,2 g (81% der Theorie) einer in feinen Nadeln krystallisierenden Verbindung vom Smp. 120°, welche zur Analyse bei Zimmertemperatur im Hochvakuum getrocknet wurde.

3,752 mg Subst. gaben 6,583 mg CO $_2$ und 2,790 mg H $_2$ O C $_{16}$ H $_{33}$ NBr $_2$ Ber. C 48,13 H 8,33% Gef. ,, 47,88 ,, 8,32%

α-(11-Brom-undecyl)-pyridin (V).

Hydrobromid. Das Hydrobromid des α -(11-Äthoxy-undecyl)-pyridins, welches durch Eindampfen einer Lösung von 6,0 g Base mit 3,8 g 48-proz. Bromwasserstoffsäure erhalten worden war, wurde mit 5,6 cm³ 66-proz. Bromwasserstoffsäure 3 Stunden im Einschlussrohr auf 120° erhitzt. Die Ausbeute an dem aus Essigester umkrystallisierten Reaktionsprodukt betrug 6,8 g (80% der Theorie). Zur Analyse wurde aus Aceton und Essigester umgelöst und im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet; Smp. 94,5°.

3,804 mg Subst. gaben 6,823 mg CO $_2$ und 2,340 mg H $_2$ O C $_{18}H_{27}NBr_2$ Ber. C 48,87 H 6,92% Gef. ,, 48,95 ,, 6,88%

12-(\alpha-Pyridyl)-dodecan-dicarbons\u00e4ure-(1,1) (VI).

33 g α -(11-Brom-undecyl)-pyridin-hydrobromid wurden 17 Stunden mit Natrium-malonester aus 41,5 g Malonsäure-diäthylester und 5 g Natrium in 100 cm³ absolutem. Alkohol unter Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten zersetzte man mit Eiswasser und extrahierte mit Äther. Der Rückstand nach dem Verdampfen des ätherischen Auszuges wurde 3 Stunden am Rückfluss mit 300 cm³ Methanol und 30 g Kaliumhydroxyd verseift. Die Hälfte des Methanols destillierte man darauf ab und neutralisierte den Destillationsrückstand mit konz. Salzsäure auf Kongorot. Die freie Dicarbonsäure fiel als ein käsiger Niederschlag aus, welcher durch Erwärmen auf 80° wieder gelöst wurde. Nach dem Erkalten schieden sich 28 g der in grossen dünnen, krystallwasserhaltigen Platten krystallisierenden Verbindung aus. Zur Analyse wurde zweimal aus viel Äther umgelöst und im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet; Smp. 100° (Zers.).

3,660 mg Subst. gaben 9,109 mg $\rm CO_2$ und 2,865 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{18}H_{29}O_4N$ Ber. C 68,03 H 8,71% Gef. ,, 67,92 ,, 8,76%

 $12\hbox{-}(\alpha\hbox{-}Pyridyl)\hbox{-}dode can-carbons \"{a}ure\hbox{-}(1)\ (VII).$

Die Decarboxylierung der Dicarbonsäure führten wir durch Erhitzen auf 130—140° unter 12 mm Druck durch, bis die Entwicklung von Kohlendioxyd aufhörte. Aus 28 g der krystallwasserhaltigen Dicarbonsäure wurden 20,2 g Monocarbonsäure erhalten. Die Verbindung krystallisierte aus Äther-Petroläther in weissen Nadeln, welche zur Analyse bei Zimmertemperatur im Hochvakuum getrocknet wurden; Smp. 77°.

3,778 mg Subst. gaben 10,250 mg CO $_2$ und 3,356 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{18}H_{29}O_2N$ $\rm Ber.$ C 74,18 $\rm ~H~10,03\,\%$ $\rm Gef.$,, 74,04 $\rm ~,,~9,94\,\%$

Den Äthylester der Säure erhielt man auf übliche Weise durch Veresterung mit einer Lösung von 6 g Chlorwasserstoff in 190 cm³ absolutem Alkohol. Die Verbindung bildete ein farbloses, unter 15° erstarrendes Öl vom Sdp. $_{0.1\,\mathrm{mm}}$ 185°. Ausbeute 19,0 g (87% der Theorie). Zur Analyse wurde nochmals rektifiziert.

3,732 mg Subst. gaben 10,306 mg CO $_2$ und 3,403 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{20}H_{33}O_2N$ Ber. C 75,19 H 10,41 % Gef. ,, 75,37 ,, 10,20 %

13-(\alpha-Piperidyl)-tridecanol-(1) (VIII).

19~g~12-(α -Pyridyl)-dodecan-carbonsäure-äthylester wurden in $800~cm^3$ absolutem Alkohol mit 70~g~Natrium bei Siedetemperatur reduziert. Nachdem der Äthylalkohol durch Destillation mit Wasserdampf entfernt wurde, liess sich der gebildete Aminoalkohol mit warmem Benzol ausziehen, Ausbeute 10.6~g~ (63~%~ der Theorie). Zur Analyse wurde aus Benzol-Petroläther und Äther-Petroläther umkrystallisiert und dann im Hochvakuum destilliert; Smp. 74~0.

3,744 mg Subst. gaben 10,452 mg CO $_2$ und 4,381 mg H $_2$ O C $_{18}$ H $_{37}$ ON Ber. C 76,26 H 13,16% Gef. ,, 76,18 ,, 13,08%

Das Hydrochlorid des Aminoalkohols krystallisierte aus Alkohol-Aceton; Smp. 146—147°.

α -(13-Brom-tridecyl)-piperidin (IX).

Das Hydrobromid des Brom-amins wurde aus 3 g Aminoalkohol durch 3-stündiges Erhitzen mit 7 cm³ 66-proz. Bromwasserstoffsäure auf 120° erhalten. Nach Umkrystallisation aus Essigester betrug die Ausbeute 3,87 g (86% der Theorie). Zur Analyse wurde dreimal aus Essigester umgelöst und bei Zimmertemperatur im Hochvakuum getrocknet; Smp. 124°.

$12\hbox{-}(\alpha\hbox{-} Piperidyl)\hbox{-}dodecan\hbox{-}carbons \"{a}ure\hbox{-}(1)\ (X).$

a) 110 mg 12-(α -Pyridyl)-dodecan-carbonsäure-(1) wurden in 4 cm³ Eisessig mit einem Katalysator aus 50 mg Platinoxyd hydriert. In 1 Stunde wurden 3 Mol Wasserstoff aufgenommen. Der Rückstand nach dem Eindampfen des Eisessigs im Vakuum wurde aus Dioxan und wässerigem Alkohol umkrystallisiert. Die erhaltenen farblosen Plättchen schmolzen bei 157°.

3,776 mg Subst. gaben 10,045 mg CO $_2$ und 3,988 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{18}H_{35}O_2N$ $\rm Ber.$ C 72,67 $\rm H$ 11,86% $\rm Gef.$,, 72,62 $\rm ,,$ 11,82%

b) Bei der Herstellung von 13-(α -Piperidyl)-tridecanol-(1) hat sich neben dieser Verbindung ein in Benzol und kaltem Wasser unlösliches Natriumsalz gebildet, welches abgesaugt, in heissem Wasser gelöst und mit Essigsäure zersetzt wurde (p_H = 6). Die erhaltene Aminosäure liess sich durch Krystallisation aus Dioxan und siedendem Wasser unter Anwendung von Tierkohle reinigen. Es wurden schliesslich 500 mg einer analysenreinen Verbindung vom Smp. 152° erhalten, welche mit der nach a) hergestellten Säure keine Schmelzpunktserniedrigung gab.

1,12-Di-(\alpha-piperidyl)-dodecan (XII).

4,2 g 1,12-Di-(α-pyridyl)-dodecan wurden in 190 cm³ absolutem Alkohol mit 18 g Natrium reduziert. Das basische Reaktionsprodukt liess sich, nachdem Alkohol mit Wasserdampf übergetrieben worden war, in Äther aufnehmen und wurde durch Destillation im Vakuum gereinigt. Bei 0.02 mm und $175-180^{\circ}$ ging ein farbloses Öl über, welches bald erstarrte und dann bei $57-60^{\circ}$ schmolz.

Das Dihydrochlorid der Base schmolz nach Umkrystallisieren aus Alkohol-Äther

bei 227º (im Vakuum).

3,860 mg Subst. gaben 9,094 mg CO_2 und 3,945 mg H_2O $C_{22}H_{46}N_2Cl_2$ Ber. C 64,52 H 11,32% Gef. ... 64.29 ... 11,44%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. $W.\ Manser$ ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

146. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe. (39. Mitteilung¹)).

 3β -0xy-17-iso-ätio-allo-cholansäure und 3β -0xy-17-iso-ätio-cholansäure

von M. Sorkin und T. Reichstein.

(27. VI. 46.)

Vor kurzem wurde berichtet2), dass bei der Reduktion von 3-Keto-ätio-allo-cholansäure-methylester mit Hydrazinhydrat u. Natriumäthylat neben der normalen Ätio-allo-cholansäure auch etwas 17-iso-Säure entsteht. Die Frage, ob die Isomerisierung in 17-Stellung lediglich durch das Alkoholat bewirkt wird oder über ein intermediäres Hydrazid erfolgt, wurde dort offen gelassen. Wie im folgenden gezeigt wird, ist für die Isomerisierung von Ätio-cholansäuren die Anwesenheit des Hydrazins nicht notwendig. Es genügt z. B., den Ester (III) kurze Zeit mit Natriummethylat oder Natriumäthylat zu erwärmen, um partielle Umlagerung zum Ester (VI) zu bewirken. Die Reaktion verläuft prinzipiell gleich wie bei den Estern der Bisnorcholansäuren3)4), nur ist bei letzteren die Bildung der 20-iso-Bisnorsäuren sehr stark begünstigt, während bei den Ätiosäuren das Gleichgewicht offenbar weitgehend auf der Seite der natürlichen ("normalen") Form liegt. Nach der genannten Methode haben wir die zwei 17-iso-Säuren (V) und (XII) bereitet, von denen wir annehmen, dass sie als Vergleichssubstanzen nützlich sein können, besonders für die Abklärung der umstrittenen Konfiguration der allo-Formen, die aus vielen herzwirksamen Glykosiden bei der Einwirkung gewisser Fermente entstehen.

^{1) 38.} Mitt. vgl. H. Reich, A. Lardon, Helv. 29, 671 (1946).

²⁾ J. von Euw, T. Reichstein, Helv. 27, 1851 (1944).

³⁾ H. Wieland, O. Schlichting, R. Jacobi, Z. physiol. Ch. 161, 80 (1926).

⁴⁾ M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 28, 875 (1945).

Entsprechend neueren Befunden und im Gegensatz zu einem früheren Vorschlag^a) wird die Carboxylgruppe der "normalen" Säuren als β -ständig, diejenige der 17-iso-Säuren als α -ständig formuliert. Die Begründung folgt in der anschliessenden Mitteilung.

 $Ac = CH_3CO$ —; $Bz = C_6H_5CO$ —.

Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: ohne Angabe = Chloroform, An = Aceton.

XVII amorph f)

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

b) M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 20, 1040 (1937).

c) L. Ruzicka, E. Hardegger, C. Kauter, Helv. 27, 1164 (1944).

d) L. Ruzicka, Pl. A. Plattner, G. Balla, Helv. 25, 65 (1942).

e) L. Ruzicka, V. Prelog, P. Wieland, Helv. 26, 2050 (1943).

¹⁾ Vgl. exper. Teil dieser Arbeit.

g) T. Reichstein, H. G. Fuchs, Helv. 23, 658 (1940).

h) F. Hunziker, T. Reichstein, Helv. 28, 1472 (1945).

Zur Bereitung der als Ausgangsmaterial benötigten Ätiosäuren (II) und (VIII) haben wir den Ester (I)b) mit PtO2 in Eisessig hydriert. Wie bereits früherb) beschrieben, entsteht dabei als Hauptprodukt (IV). Analog wie bei der Hydrierung des Androsten-(5)-ol-(3 β)-on-(17)acetats1) entsteht aber auch hier in merklicher Menge der Ester (X). Aus dem Gemisch kann zunächst die Hauptmenge (IV) durch direkte Krystallisation abgetrennt werden. Die verbleibenden an (X) angereicherten Mutterlaugen wurden zur Erleichterung der Trennung mit K₂CO₃ in wässrigem Methanol gekocht, wobei die Acetylgruppe in (IV) verseift wird, während (X) zum grössten Teil unverändert bleibt. Das so erhaltene Gemisch von (III) und (X) lässt sich relativ gut trennen. Die reinen Acetate (IV) und (X) wurden in bekannter Weise in die freien Oxyester (III) und (IX) übergeführt. Kurzes Kochen des Esters (III) mit Natriummethylat oder Natriumäthylat und anschliessende Verseifung gab ein Gemisch von viel (II) und wenig (V). Die Trennung gelingt durch fraktionierte Krystallisation, zweckmässig kombiniert mit der Abscheidung der in wässriger NaOH schwer löslichen Natriumsalze. Da (V) höher schmilzt als (II) und die Mischung von (II) und (V) eine starke Schmelzpunktserniedrigung gibt, ist die Reinigung von (V) leicht möglich2). Zur Charakterisierung dienten der Methylester (VI) und sein Acetat (VII). Durch Dehydrierung von (VI) liess sich der Ketoester (XVI) krystallisiert gewinnen.

Ganz analog wurde aus (IX) ein Gemisch von viel (VIII) und wenig (XII) erhalten. Auch hier gelang eine weitgehende Trennung bereits durch fraktionierte Krystallisation. Aber obgleich die gesuchte 17-iso-Säure (XII) ebenfalls höher schmolz als die normale Form (VIII), war die vollständige Reinigung von (XII) auf diesem Wege zu verlustreich. Am besten bewährte sich die Überführung der angereicherten iso-Säure (XII) in das Methylester-benzoat (XV), das ebenfalls höher schmolz als das bekannte Benzoat (XI). Aus (XV) konnten dann der reine Methylester (XIII) und sein Acetat (XIV) erhalten werden. Dehydrierung von (XIII) gab den Ketoester (XVII), der aber bisher nicht krystallisierte. Auch sein Semicarbazon wurde nur amorph erhalten, dagegen krystallisierte das Benzhydrazon. Zu Vergleichszwecken wurden auch die Semicarbazone und Benzhydrazone des 3-Keto-ätio-cholansäure-methylesters und 3-Keto-ätio-allo-cholansäure-methylesters bereitet.

Wie schon in früheren Fällen³)⁴) gezeigt wurde, besitzen die 17-iso-Säuren eine gegenüber den natürlichen Formen sehr stark nach

¹⁾ T. Reichstein, A. Lardon, Helv. 24, 955 (1941).

²) Relativ einfach ist auch die Trennung der Methylester (III) und (VI) mit Digitonin (siehe unten).

³⁾ C. W. Shoppee, Helv. 23, 925 (1940).

⁴⁾ J. von Euw, T. Reichstein, Helv. 27, 1851 (1944).

links verschobene spezifische Drehung. Ferner wird die Fällbarkeit der Oxyester mit Digitonin durch den räumlichen Bau in 17-Stellung sehr stark beeinflusst. (III) und (IX) geben mit Digitonin in 50-proz. Methanol auch in der Hitze sehr schwer lösliche Fällungen, während (VI) und (XIII) unter denselben Bedingungen leicht lösliche Digitonide liefern. Ähnliche Beobachtungen wurden schon früher gemacht. So gibt 17-iso-Pregnen-(5)-ol-(3 β)-on-(20)¹) mit Digitonin keine Fällung im Gegensatz zur "normalen" Form. Das ganz ähnlich gebaute 17-iso-allo-Pregnanol-(3 β)-on-(20)²) soll allerdings mit Digitonin fällbar sein³). Auch bei den in 17-Stellung isomeren Äthinyl-androstenund Äthinyl-androstan-diolen-(3 β ,17) geben nur die sogenannten 17 β -Oxy-Derivate⁴)⁵) schwer lösliche Digitonide.

Dass die Isomerisierung der Ätiosäuren in 17-Stellung reversibel ist, wurde nur in der allo-Reihe geprüft. Aus dem Methylester (VI) entstand ein Gemisch von (II) und (V). Es wurde zur Trennung ins Gemisch der Methylester (III) und (VI) übergeführt, aus dem sich das Digitonid von (III) leicht abscheiden liess. Dabei konnte festgestellt werden, dass sich dem in verdünntem Methanol leicht löslichen Digitonid von (VI) der Ester nicht einfach mit Äther entziehen lässt, dass vielmehr auch hier eine Spaltung mit Pyridin-Äther⁶) nötig ist. Es folgt daraus, dass auch (VI) einen Komplex mit Digitonin zu bilden vermag, der sich vom entsprechenden Digitonid von (III) lediglich durch seine grössere Löslichkeit in wässrigem Methanol unterscheidet.

Wir danken der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, für die Überlassung von 3β -Oxy-ätiocholen-(5)-säure.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem Kofler-Block bestimmt u. korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^{\circ}$. Trocknung von Substanzproben immer 2 Std. im Hochvakuum; wenn keine andere Temperatur angegeben, zur Analyse bei 80°, zur Drehung bei 60°. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Zusatz von $\rm H_2O$, Ausschütteln mit Äther, Waschen mit verd. HCl (bei $\rm CrO_3$ -Oxydationen verd. $\rm H_2SO_4$), verd. $\rm Na_2CO_3$, $\rm H_2O$, Trocknen über $\rm Na_2SO_4$ und Eindampfen.)

 3β -Acetoxy-ätio-allo-cholansäure-methylester (IV) und 3β -Acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (X) aus (I).

10,67 g 3β -Acetoxy-ätio-cholen-(5)-säure-methylester (I)°), Smp. 153—154°, mit 150 mg ${\rm PtO_2 \cdot H_2O}$ in 27 cm³ reinstem Eisessig bei 40° hydriert. Gasaufnahme nach 1 Std. beendet. Filtration und übliche Aufarbeitung gab 10,7 g Rohprodukt, Smp. 110—142°.

A. Butenandt, G. Fleischer, B. 70, 96 (1937).
 A. Butenandt, L. Mamoli, B. 68, 1847 (1935).

³⁾ Die genannten Autoren²⁾ gaben allerdings an, dass sogar allo-Pregnanol- (3β) -on-(20)-acetat und allo-Pregnan-dion-(3,20) mit Digitonin fällbar sein sollten, wenn auch erst nach 2—4 Std., doch sind das Bedingungen, die zur Differenzierung wenig geeignet sind.

T. Reichstein, K. Gätzi, Helv. 21, 1185 (1938).
 T. Reichstein, C. Meystre, Helv. 22, 728 (1939).

⁶⁾ R. Schönheimer, H. Dam, Z. physiol. Ch. 215, 59 (1933).

Durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther 7,1 g (IV), Smp. 149—151° b). Mutterlaugen (3,6 g) in 120 cm³ Methanol gelöst, mit 1,5 g K $_2$ CO $_3$ in 15 cm³ H $_2$ O versetzt, kurz auf 60° erwärmt, dann 15 Std. bei 18° stehen gelässen. Übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther gab 0,91 g Allo-ester (III), Smp. 172—174° b). Die Mutterlauge lieferte aus Methanol bei 0° 0,4 g Ester (X), Smp. 124—126° g). Methanol-Mutterlaugen im Vakuum getrocknet, mit Pyridin-Acetanhydrid acetyliert und das Acetat-Gemisch nochmals analog mit K $_2$ CO $_3$ verseift. Durch Umkrystallisieren noch 0,1 g Allo-ester (III) und 0,67 g Ester (X), Smp. 123—126°. Die hierauf noch vorhandenen Mutterlaugen (1,08 g) an 30 g Al $_2$ O $_3$ chromatographiert. Benzol-Petroläther (1:4) eluierte 0,35 g unreines Allo-acetat (IV), Smp. 130—150°. Mit Benzol-Petroläther (3:2 und 7:3) wurden noch 0,38 g Ester (X), Smp. 124—126°, erhalten und mit Benzol-Äther (1:1) 0,28 g Oxyester-Gemisch, Smp. 150—175°. Die vereinigten 1,45 g Ester (X) gaben aus Methanol 1,30 g farblose Säulen vom Smp. 125—126°.

3β -Oxy-ätio-allo-cholansäure-methylester (III) b) aus (IV).

6,9 g 3° -Acetoxy-ätio-allo-cholansäure-methylester (IV), Smp. 149—151°, in 70 cm³ Methanol mit 5 g K₂CO₃ in 15 cm³ H₂O 1^{1} /₂ Std. unter Rückfluss gekocht, dann mit 15 cm³ H₂O versetzt. Nach Abkühlen Krystalle abgenutscht, mit 70-proz. Methanol u. H₂O gewaschen u. getrocknet. 5,4 g vom Smp. 171—175°. Aus der Mutterlauge nach üblicher Aufarbeitung noch 0,75 g derselben Reinheit. Aus Chloroform-Äther Nadeln, Smp. 173—175°.

3β-Oxy-17-iso-ätio-allo-cholansäure (V).

1,75 g 3β-Oxy-ätio-allo-cholansäure-methylester (III), Smp. 173—175°, durch Abdampfen mit Toluol im Vakuum getrocknet, unter H2O-Ausschluss mit der Lösung von 8 g Natrium in 60 cm3 abs. Methanol 10 Min. unter Rückfluss gekocht, dann 20 cm3 Wasser zugegeben u. weitere 10 Min. gekocht. In der Hitze 200 cm³ Wasser zugetropft, 3 Min. weiter auf 70° erwärmt, abgekühlt und kryst. Natriumsalz auf Glasfilternutsche scharf abgesaugt. Filtrat gab nach Ansäuern mit HCl, Ausschütteln mit Äther, Waschen der Ätherlösung mit H₂O, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen 95 mg kryst. Rückstand. Aus Methanol 51 mg rohe iso-Säure (V), Smp. 272—277°. Festes Natriumsalz mit verd. HCl gut verrieben, freie Säure abgenutscht, mit H,O gewaschen, in Benzol-Methanol gelöst u. von wenig Flocken abfiltriert. Durch Einengen der Lösung 1,0 g Säure (II), Smp. 252—254°. Mutterlauge eingedampft, Rückstand (1,0 g) in 5 cm³ Methanol und 5 cm³ 2-n. wässriger NaOH bei 80° gelöst. Nach Erkalten das in Nadeln abgeschiedene Natriumsalz abgenutscht und nochmals aus 5 cm3 Methanol + 20 cm3 H2O umkrystallisiert. Diese Krystalle in verd. Methanol gelöst, mit HCl angesäuert, Methanol im Vakuum entfernt. Die ausgefällte freie Säure (210 mg) gab aus Benzol-Methanol 180 mg Säure (II) in 6-eckigen Blättchen, Smp. 251-253°. Vereinigte Filtrate der Natriumsalze gaben mit 5 cm3 2-n. NaOH nochmals kryst. Natriumsalz, daraus 80 mg freie Säure und nach Umkrystallisieren aus Methanol noch 50 mg (II), Smp. 251-253°. Die jetzt noch verbliebenen Natriumsalz-Mutterlaugen lieferten nach Ansäuern mit HCl und Einengen im Vakuum 75 mg freie Säuren und aus Benzol-Methanol 70 mg rohe iso-Säure (V), Smp. 272-277°. Ausbeute 1,23 g (II) u. 0,12 g rohe (V). Ein Versuch mit Natriumäthylat gab ein fast gleiches Resultat; längeres Kochen erhöhte die Ausbeute nicht. Eine Probe der iso-Säure (V), nochmals aus Methanol umkrystallisiert, gab rhombisch begrenzte Blättchen, Smp. 279-280°. Die Mischprobe mit (II) schmolz bei 230-250°.

3β-Oxy-17-iso-ätio-allo-cholansäure-methylester (VI).

100 mg 3β -Oxy-17-iso-ätio-allo-cholansäure (V), Smp. 278—280°, in Methanol gelöst u. bei 0° mit überschüssigem Diazomethan in Äther versetzt. Nach 10 Min. übliche Aufarbeitung. Aus Äther-Petroläther 95 mg lange Nadeln, Smp. 166—167°, $[\alpha]_D^{15} = -36,3^\circ + 1,5^\circ$ (c = 1,571 in CHCl₃).

 $\begin{array}{c} \text{15,936 mg Subst. zu 1,0141 cm}^3; \ l=1 \ \text{dm}; \ \alpha_{\mathrm{D}}^{1\bar{5}}=-0.57^{\circ}\pm0.02^{\circ} \\ \text{3,752 mg Subst. gaben 10,307 mg CO}_2 \ \text{und 3,405 mg H}_2\text{O} \\ \text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_3 \ (334.48) & \text{Ber. C 75,40} \quad \text{H 10,25\%} \\ \text{Gef. }, \ 74.95 & ,, \ 10,15\% \end{array}$

Die Mischprobe mit (III) (Smp. 173—175°) schmolz bei 140—175°. Der Ester (VI) gibt in wenig Methanol heiss gelöst mit 2-proz. Digitoninlösung in 50-proz. Methanol bei 18° eine geringe Fällung, die sich beim Erwärmen leicht löst. Der Ester (III) gibt unter diesen Bedingungen eine starke, auch in der Hitze unlösliche Fällung.

3β-Acetoxy-17-iso-ätio-allo-cholansäure-methylester (VII).

41 mg 3β -Oxy-17-iso-ätio-allo-cholansäure-methylester (VI), Smp. 166—167°, mit 0,2 cm³ abs. Pyridin und 0,2 cm³ Acetanhydrid $1^{1}/_{2}$ Std. auf 65° erwärmt. Übliche Aufarbeitung. Aus Methanol-Wasser 40 mg Prismen, Smp. 114—115°, $[\alpha]_{D}^{13} = -36,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (c = 1,088 in CHCl₃).

10,873 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l=1 dm; $\alpha_{\rm D}^{13}=-0.40^{\rm o}\pm0.02^{\rm o}$ 3,608 mg Subst. gaben 9,677 mg CO₂ und 3,096 mg H₂O C₂₃H₃₆O₄ (376,52) Ber. C 73,36 H 9,64% Gef. ,, 73,20 ,, 9,60%

Spez. Drehung von 3β -Acetoxy-ätio-allo-cholansäure-methylester (IV). $[\alpha]_{11}^{15} = +36.8^{\circ} \pm 1^{\circ}$ (c = 2.090 in CHCl₃).

20,887 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l=1 dm; $\alpha_D^{15}=+0,77^0\pm0,02^0$

3-Keto-17-iso-ätio-allo-cholansäure-methylester (XVI).

56 mg 3β -Oxy-17-iso-ātio-allo-cholansäure-methylester (VI), Smp. 166—167°, mit 1 cm³ 2,5-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung 1 Std. bei 12° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung. Aus Äther-Petroläther 50 mg rechtwinklig begrenzte Nadeln, Smp. 167—168°, $[\alpha]_D^{15} = -12,1^{\circ} + 2^{\circ}$ (c = 1,077 in CHCl₃).

10,926 mg Subst. zu 1,0141 cm³; l=1 dm; $\alpha_{\rm D}^{15}=-0.13^{\rm o}\pm0.02^{\rm o}$ 3,774 mg Subst. gaben 10,481 mg CO₂ und 3,319 mg H₂O C₂₁H₃₂O₃ (332,47) Ber. C 75,86 H 9,70% Gef. ,, 75,79 ,, 9,84%

Die Mischprobe mit (VI) (Smp. 166—167°) schmolz bei 142—162°.

3β-Oxy-17-iso-ätio-cholansäure (XII).

2,54 g 3β -Acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (X), Smp. 125—126°, mit 3 g KOH in 6 cm3 Wasser und 50 cm3 Methanol 2 Std. unter Rückfluss gekocht. In üblicher Weise isolierte rohe Säure (VIII) mit Diazomethan methyliert und roher Ester (IX) durch Abdampfen mit Toluol im Vakuum getrocknet; erhalten 2,25 g, Smp. 130—140°. Dieses Material mit der Lösung von 15 g Natrium in 120 cm³ abs. Methanol unter H₂O-Ausschluss 10 Min. gekocht, nach Zutropfen von 20 cm3 H2O nochmals 10 Min. gekocht. Dann 200 cm³ Wasser zugegeben, Methanol im Vakuum entfernt, Rückstand mit HCl bis zur kongosauren Reaktion versetzt u. mit viel Äther ausgeschüttelt. Mit wenig H2O gewaschen u. über Na₂SO₄ getrocknete Ätherlösung eingeengt. Durch fraktionierte Krystallisation aus Äther, dann aus Methanol 1,7 g normale Säure (VIII), Smp. 225—229°. Die Mutterlaugen (0,355 g) in 5 cm³ Methanol und 25 cm³ 2-n. wässriger NaOH heiss gelöst, abgekühlt und ausgefallenes Natriumsalz scharf abgenutscht (Glasfilter). Das Filtrat lieferte bei der Aufarbeitung 0,12 g freie Säure, aus Äther 75 mg rohe 17-iso-Säure (XII), Smp. 250—267°. Das Natriumsalz gab nach Zerlegung 0,23 g freie Säuren. Aus Methanol zunächst 90 mg normale Säure (VIII), Smp. 221—225°. Die weiteren Methanol-Krystallisate lieferten nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Äther u. Methanol noch 121 mg rohe 17-iso-Säure (XII), Smp. 250—267°, total somit 196 mg (= 9.6%). Eine Probe mehrmals aus Äther u. Methanol umkrystallisiert bildete Nadeln vom Smp. 266—268°, wobei ein nadeliges Sublimat entstand, das bei 311-313° schmolz.

3β-Benzoxy-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XV).

196 mg rohe 3β -Oxy·17·iso-ätio-cholansäure (XII), Smp. 250—267°, in wenig Methanol bei 0° mit überschüssigem Diazomethan in Äther 10 Min. stehen gelassen. Eindampfen gab 202 mg rohen Methylester (XIII), aus Äther-Petroläther 196 mg Nadeln, Smp. 127—134°. Ganze Menge durch Abdampfen mit Benzol im Vakuum getrocknet, in 0,5 cm³ abs. Pyridin gelöst u. bei 0° mit 0,2 cm³ reinstem Benzoylchlorid in 0,5 cm³ abs. Benzol versetzt. Unter H_2O -Ausschluss 6 Std. u. nach Zusatz von 0,5 cm³ Methanol nochmals $\frac{1}{2}$ Std. bei 18° stehen gelassen, dann übliche Aufarbeitung, zuletzt Entfernung von Benzoesäure-methylester im Hochvakuum bei 90°. Aus Petroläther, dann aus Methanol 170 mg hexagonal begrenzte farblose Blättchen, Smp. 180—182°. [α] $_D^{20} = -19,3° \pm 2°$ (c = 1,398 in CHCl₂).

14,173 mg Subst. zu 1,0141 cm³;
$$l=1$$
 dm; $\alpha_{\rm D}^{20}=-0.27^{\circ}\pm0.02^{\circ}$ 3,744 mg Subst. gaben 10,521 mg CO₂ und 2,943 mg H₂O C₂₈H₃₈O₄ (438,58) Ber. C 76,67 H 8,73% Gef. ,, 76,69 ,, 8,80%

Die Mischprobe mit dem normalen Benzoxy-ester (XI)^d), Smp. 161—162°, schmolz bei 145—180°.

3β-Oxy-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XIII).

163 mg 3β -Benzoxy-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XV), Smp. 180—182°, in 7 cm³ Benzol gelöst, mit der Lösung von 0,4 g KOH in 0,4 cm³ H₂O und 16 cm³ Methanol vermischt und 16 Std. bei 20° stehen gelassen. Zusatz von Wasser, Entfernen des Methanols im Vakuum, Ansäuern mit HCl, Ausschütteln mit Äther, Nachmethylieren mit Diazomethan, übliche Aufarbeitung und Trocknen im Hochvakuum bei 90° gab 120 mg Neutralprodukt. Aus Petroläther 98 mg Nadeln, Smp. 127—134°, $[\alpha]_D^{22} = -30,7°$ $\pm 2°$ (c = 0,944 in CHCl₃).

9,567 mg Subst. zu 1,0141 cm³;
$$l=1$$
 dm; $\alpha_D^{22}=-0.29^{\circ}\pm0.02^{\circ}$

Die Mischprobe mit dem normalen Oxyester (IX)^g), Smp. 136—137°, gab keine Schmelzpunktserniedrigung, Mit 2-proz. Digitoninlösung in 50-proz. Methanol entsteht bei 18° eine geringe Fällung, die sich beim Erwärmen leicht löst. Der Ester (IX) gibt unter diesen Bedingungen eine starke Fällung, die auch in der Hitze unlöslich ist.

3β-Acetoxy-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XIV).

40 mg 3β -Oxy-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XIII), Smp. 127—134°, über das Benzoat (XV) gereinigt, mit 0,4 cm³ abs. Pyridin u. 0,2 cm³ Acetanhydrid 16 Std. bei 20° stehen gelassen u. 1 Std. auf 50° erwärmt. Übliche Aufarbeitung gab 42 mg Rohprodukt. Krystallisation trat erst beim Evakuieren des in Äther gelösten Materials ein. Aus Methanol-Wasser (Impfen!) 25 mg rhombisch begrenzte Blättchen, Smp. 109—111°, $[\alpha]_D^{20} = -28,0° \pm 3°$ (c = 0,821 in CHCl³).

8,327 mg Subst. zu 1,0141 cm³;
$$l=1$$
 dm; $\alpha_{\rm D}^{20}=-0.23^{\circ}\pm0.02^{\circ}$.

Zur Analyse wurde eine im Hochvakuum bei 140° sublimierte Probe unmittelbar vor der Verbrennung im Vakuum geschmolzen.

Die Mischprobe mit dem normalen Ester (X), Smp. 125-126°, schmolz bei 85-116°.

3-Keto-17-iso-atio-cholansaure-methylester (XVII).

 $40~{\rm mg}~3\beta$ -Oxy-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XIII), Smp. 127—134°, über das Benzoat (XV) gereinigt, in 2 cm³ Eisessig (gegen CrO₃ beständig) gelöst und bei 18° 10-mal mit je 0,017 cm³ 5-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt. Die ersten 8 Portionen waren 3—5 Min. nach jedem Zusatz verbraucht. $^{1}/_{2}$ Std. nach der letzten Zugabe war die CrO₃-Probe (mit $\rm H_{2}O_{2}$) positiv. Übliche Aufarbeitung gab 37 mg Neutralprodukt, das bisher nicht krystallisierte. Das aus 20 mg Ester wie unten bereitete Semicarbazon wurde nur als amorphes Pulver erhalten, das bei ca. 140—146° schmolz.

Benzhydrazon. 28 mg amorpher 3-Keto-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XVII) und 25 mg Benzhydrazid in 0,5 cm³ Methanol und 10 mg Eisessig 3 Std. bei 20° stehen gelassen. Mit 1,5 cm³ Wasser und 0,1 cm³ Eisessig versetzt u. Methanol im Vakuum abgedampft. Abgeschiedene Krystallnadeln abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. 18 mg vom Smp. 135—138°. Nach chromatographischer Reinigung und Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther Smp. 143—145°, $[\alpha]_D^{15} = +29,2° \pm 2°$ (c = 1,028 in CHCl₃).

10,273 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l=1 dm; $\alpha_{\rm D}^{15}=+0,30^{\circ}\pm0.02^{\circ}$ 3,185 mg Subst. gaben 8,685 mg CO₂ und 2,440 mg H₂O 1,160 mg Subst. gaben 0,066 cm³ N₂ (19°; 728 mm) C₂₈H₃₈O₃N₂ (450,60) Ber. C 74,63 H 8,50 N 6,22% Gef. ,, 74,42 ,, 8,57 ,, 6,37%

3-Keto-ätio-cholansäure-methylester-semicarbazon.

200 mg Semicarbazid-hydrochlorid mit 300 mg Natriumacetat-trihydrat verrieben, mit 2 cm³ Methanol versetzt, nochmals verrieben und filtriert. 0,5 cm³ des Filtrats mit 50 mg 3-Keto-ātio-cholansäure-methylester, Smp. 147—149° b)¹), 0,3 cm³ Wasser, 3 cm³ Methanol und 0,5 cm³ Benzol 15 Minuten auf 60° erwärmt. Mit 2 cm³ Wasser versetzt, im Vakuum auf 2 cm³ eingeengt, Krystalle abgenutscht u. gut mit Wasser und Äther gewaschen. Smp. 228—229°. Aus Chloroform-Methanol Nadeln, Smp. ebenso. $[\alpha]_D^1 = +60.6^0 + 2^0$ (c = 1,040 in CHCl₂).

 $\begin{array}{c} 10{,}390~{\rm mg~Subst.~zu~0,}9994~{\rm cm^3};~l=1~{\rm dm};~\chi_{\rm D}^{14}=+0{,}63^{\circ}\pm0{,}02^{\circ}\\ 3{,}704~{\rm mg~Subst.~gaben~9,}259~{\rm mg~CO_2~und~3,}034~{\rm mg~H_{2}O}\\ 2{,}206~{\rm mg~Subst.~gaben~0,}213~{\rm cm^3~N_2~(19^{\circ};~732~mm)}\\ {\rm C_{22}H_{35}O_3N_3~(389,}53)} & {\rm Ber.~C~67,}83~{\rm H~9,}06~{\rm N~10,}79\%\\ {\rm Gef.~,~67,}56~{\rm ,,~9,}08~{\rm ,,~10,}74\%\\ \end{array}$

3-Keto-ätio-cholansäure-methylester-benzhydrazon.

50 mg 3-Keto-ätio-cholansäure-methylester, Smp. 147—149°, und 45 mg Benzhydrazid in 1,5 cm³ Methanol und 30 mg Eisessig heiss gelöst und 3 Std. bei 18° stehen gelassen, wobei sich Krystalldrusen abschieden. Mit 0,7 cm³ Wasser versetzt, abgenutscht, mit Wasser gewaschen, Smp. 227—229°. Aus Methanol-Äther zu Drusen vereinigte Prismen, Smp. ebenso, $[\alpha]_{1}^{10} = +92,0° \pm 2°$ (c = 1,046 in CHCl₃).

 $\begin{array}{c} 10{,}453~\mathrm{mg~Subst.~zu~0,9994~cm^3;~}l = 1~\mathrm{dm;~}\alpha_\mathrm{D}^{14} = +0{,}99^0 \pm 0{,}02^0 \\ 3{,}800~\mathrm{mg~Subst.~gaben~10,358~mg~CO_2~und~2,850~mg~H_2O} \\ 2{,}397~\mathrm{mg~Subst.~gaben~0,130~cm^3~N_2~(19^0;~722~mm)} \\ \mathrm{C_{28}H_{38}O_3N_2~(450{,}60)} \\ \mathrm{Ber.~C~74,63~H~8,50~N~6,22\%} \\ \mathrm{Gef.~,~74,39~,~8,39~,~6,03\%} \end{array}$

¹⁾ A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 26, 607 (1943).

3-Keto-ätio-allo-cholansäure-methylester-semicarbazon.

Aus 50 mg 3-Keto-ätio-allo-cholansäure-methylester, Smp. 182—184° b)¹), wie oben bereitet. Feines Pulver, schwer löslich in Chloroform, Alkohol und Dioxan. Aus viel Chloroform-Alkohol Smp. 246—248° (Zers.). Wegen ungenügender Löslichkeit wurde keine Drehung bestimmt.

3-Keto-ätio-allo-cholansäure-methylester-benzhydrazon.

50 mg 3-Keto-ätio-allo-cholansäure-methylester, Smp. 182—184°, in 1,5 cm³ Methanol heiss gelöst u. mit 45 mg Benzhydrazid und 20 mg Eisessig versetzt. Fast sofortige Abscheidung von Nadeln. Nach 3 Std. bei 16° mit 1 cm³ Wasser versetzt, abgenutscht, mit Wasser gewaschen u. getrocknet. 63 mg Nadeln, Smp. 235—238°. Aus Benzol-Methanol 46 mg Nadeln, Smp. 238—239° (Zers.), $[\alpha]_{\rm D}^{14}=+55.7^{\circ}\pm2^{\circ}$ (c = 1,042 in CHCl₃).

3β -Oxy-ätio-allo-cholansäure (II) aus (VI).

106 mg 3β -Oxy-17-iso-ätio-allo-eholansäure-methylester (VI), Smp. 165—166°, durch Abdampfen mit Benzol im Vakuum getrocknet und 16 Minuten mit der Lösung von 1 g Natrium in 10 cm³ Methanol unter Rückfluss gekocht. Nach Zutropfen von 1 cm³ Wasser noch 10 Minuten gekocht. Aufarbeitung wie bei (XII) lieferte 98 mg rohes Säuregemisch. Fraktionierte Krystallisation aus Methanol-Benzol gab 24 mg reine 17-iso-Säure (V), Smp. 276—278°, und 6 mg reine ,,normale" Säure (II), Smp. 252—253°.

Die Mutterlaugen wurden mit Diazomethan methyliert und der rohe Methylester (70 mg) im Vakuum getrocknet, in 1 cm³ Methanol gelöst, mit der heissen Lösung von 0,3 g Digitonin in 10 cm³ Methanol vermischt und 2 cm³ Wasser eingespritzt. Entstandene Fällung warm abgenutscht und mit 70-proz. Methanol gewaschen (= schwer lösl. Digitonid). Mutterlauge im Vakuum eingedampft und völlig getrocknet (= leicht lösliches Digitonid).

Schwer lösl. Digitonid im Vakuum gut getrocknet, in abs. Pyridin heiss gelöst und mit viel abs. Äther versetzt. Fällung nochmals aus Pyridin-Äther umgefällt. Vereinigte Filtrate mit verd. HCl, Na₂CO₃ und H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, eingedampft. Rückstand (44 mg roher Ester III) mit 0,2 cm³ abs. Pyridin und 0,2 cm³ Acetanhydrid acetyliert. Aus Methanol und aus Petroläther 32 mg reines Acetat (IV), Smp. 147—149°; Mischprobe ebenso.

Das lösliche Digitonid gab beim direkten Auskochen mit abs. Äther nur Spuren von Substanz an diesen ab. Es wurde daher ebenfalls durch Umfällen aus Pyridin-Äther gespalten und gab 18 mg rohen Methylester (VI), Smp. 164—167°. Das Acetat (VII) schmolz bei 110—113°; Mischprobe ebenso. Total wurden somit ca. 50 mg (II) und ca. 42 mg (V) erhalten.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ J. von Euw, T. Reichstein, Helv. 27, 1851 (1944).

147. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

(40. Mitteilung¹)).

Derivate der 17-iso-Ätio-desoxycholsäure. Berichtigung zur Stereochemie von Sterinen und Steroiden bezüglich der Substituenten an den Ringen C und D²)

von M. Sorkin und T. Reichstein.

(28. VI. 46.)

Die verschiedenen natürlichen Sterine und Steroide besitzen, soweit bekannt, an C 17 jeweils dieselbe Konfiguration, d. h. die Seitenkette ist in allen auf derselben Seite des Ringsystems angeordnet. Bei Substanzen mit charakteristischen physiologischen Wirkungen, wie Progesteron, Desoxy-corticosteron und wahrscheinlich auch bei den herzaktiven Glykosiden, ist die richtige räumliche Lage dieser Seitenkette für die biologische Wirkung von grosser Bedeutung. In denjenigen Fällen³)⁴)⁵), wo es gelang, die Isomeren mit umgekehrter Konfiguration an C 17 zu bereiten, erwiesen sie sich als biologisch unwirksam. Desoxycholsäure (IV) und einige ihrer Abbau- und Umwandlungsprodukte sind besonders geeignete Objekte, um die wahre räumliche Lage ihrer Seitenkette sowie anderer Substituenten an den Ringen C und D auf rein chemischem Wege festzulegen.

Giacomello⁶) schloss aus röntgenologischen Messungen, dass bei der Desoxycholsäure die Substituenten in 12-, 13- und 17-Stellung alle auf derselben Seite des Ringsystems, und zwar β -ständig, angeordnet sind, entsprechend Formel (I). Wir haben vor kurzem gezeigt⁷), dass 12-epi-Bisnor-desoxycholsäure, wenn auch nur schwer, ein Lacton zu bilden vermag, während normale Bisnor-desoxycholsäure unter denselben Bedingungen kein Lacton liefert⁸). Daraus geht

^{1) 39.} Mitteilung vgl. M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 29, 1209 (1946).

²) Die hier vorgeschlagene Nomenklatur bezüglich der räumlichen Lage von Substituenten an den Ringen C und D weicht von der bisher von uns benützten ab. Sie dürfte voraussichtlich in Zukunft allgemein verwendet werden. Vgl. auch Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, J. Pataki, Kd. Meier, Helv. 29, 942 (1946). Um Verwechslungen zu vermeiden, werden wir den Gebrauch dieser neuen Nomenklatur jeweils durch eine Bemerkung hervorheben.

^{3) 17-}iso-Progesteron vgl. A. Butenandt, J. Schmidt-Thome, H. Paul, B. 72, 1112 (1939).

 ¹⁷⁻iso-Desoxy-corticosteron-acetat vgl. C. W. Shoppee, Helv. 23, 925 (1940).
 Die biologisch unwirksamen allo-Glykoside unterscheiden sich nach R. Tschesche, K. Bohle, B. 71, 654 (1938) von den natürlichen aktiven Isomeren durch Raumisomerie an C 17, während E. Bloch, R. C. Elderfield, J. Org. Chem. 4, 289 (1939) Isomerie an C 14 annehmen.

⁶⁾ G. Giacomello, G. 69, 790 (1939).

⁷⁾ M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 27, 1631 (1944).

⁸⁾ B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942).

hervor, dass die 12-ständige HO-Gruppe und die Seitenkette sich in der normalen Säure auf verschiedenen Seiten des Ringsystems befinden müssen. Nimmt man an, dass die Methylgruppe an C 13

Desoxycholsäure, neuer Vorschlag

 β -ständig angeordnet ist¹), so besitzt die 12-epi-Säure somit Formel (V) oder (VI), die normale Säure daher Formel (II) oder (III). Auf chemischem Wege war damals eine Entscheidung nicht möglich. Da es uns schien, dass die von Giacomello für die β -Stellung der 12-ständigen HO-Gruppe angeführten Gründe beweiskräftiger sind als diejenigen bezüglich der räumlichen Anordnung der Seitenkette, haben wir für Desoxycholsäure Formel (II) als die wahrscheinlichere betrachtet, obgleich einige chemische Beobachtungen eher zugunsten von (III) sprachen. Für die Seitenkette der Desoxycholsäure und aller anderen natürlichen Sterine und Steroide folgte daraus α -Stellung.

Inzwischen hat sich ergeben, dass diese Formulierung nicht richtig ist. Carlisle und $Crowfoot^2$) haben mit Hilfe sehr sorgfältiger Auswertungen von Röntgenspektren den räumlichen Bau des Cholesteryl-jodids studiert und festgestellt, dass die Seitenkette sehr wahrscheinlich β -ständig angeordnet ist. Gallagher und $Long^3$) haben ferner gezeigt, dass eine Reihe chemischer Reaktionen nur mit der Annahme verträglich ist, dass die 12-ständige HO-Gruppe in Desoxycholsäure α -ständig angeordnet ist. Sie erteilen der Desoxycholsäure

¹⁾ Als Bezugssystem wird im allgemeinen das C-Atom Nr. 10 gewählt und die daran haftende Methylgruppe willkürlich als β-ständig, d. h. vor der Fläche des Ringsystems liegend definiert. Es ist sehr wahrscheinlich, dass auch die Methylgruppe an C 13 dieselbe räumliche Lage einnimmt. Vgl. z. B. L. Ruzicka, M. Furter, M. W. Goldberg, Helv. 21, 498 (1938); C. H. Carlisle, D. Crowfoot, Proc. Roy. Soc. [A] 184, 64 (1945), sowie weitere Literatur daselbst.

²) C. H. Carlisle, D. Crowfoot, Proc. Roy. Soc. [A] 184, 64 (1945).

³⁾ T. F. Gallagher, W. P. Long, J. Biol. Chem. 162, 495 (1946).

demnach Formel (IV). Durch das Studium der Ätio-desoxycholsäure und ihrer Isomeren sind wir auf unabhängigem Wege zu demselben

Resultat gelangt, worüber im folgenden berichtet wird.

Wie oben erwähnt, ergibt sich aus Betrachtungen an Raummodellen, dass bei den 4 verschiedenen Bisnor-desoxycholsäuren (II), (III), (V) und (VI) eine Lactonbildung sowohl bei (V) wie bei (VI) prinzipiell möglich sein sollte, in letzterem Fall allerdings unter erheblicher Spannung. Anders liegen die Verhältnisse bei den entsprechenden isomeren Ätiosäuren (VII), (VIII), (IX) und (X).

Hier ist eine Lactonbildung nur dann möglich, wenn sich sowohl HO- wie HOOC-Gruppe auf der entgegengesetzten Seite des Ringsystems befinden wie die Methylgruppe. Das ist nur bei (IX) der Fall. In der unteren Formelreihe, die schematisch in Richtung der C-13-C-14-Bindung projiziert ist, wird dies sehr deutlich. Es stellte sich somit die Aufgabe, diese vier isomeren Säuren zu bereiten und festzustellen, welche zur Lactonbildung befähigt ist. Dieser muss Formel (IX) zukommen. Von den 4 Säuren waren zwei bereits bekannt, nämlich die Ätio-desoxycholsäure²)^b)¹) und die 12-epi-Ätio-desoxycholsäure 1)b)c)d)2). Beide geben auch unter sehr energischen Bedingungen kein Lacton³). Unterwirft man die Methylester dieser zwei Säuren der kürzlich beschriebenen Umlagerung mit NaOCH34), so lassen sich die zwei bisher unbekannten 17-iso-Säuren gewinnen. Von diesen geht nun in der Tat eine, und zwar die aus der "natürlichen" Ätio-desoxycholsäure gewonnene 17-iso-Säure äusserst leicht in ein Lacton (XIII) über, während sich die andere nicht lactonisieren lässt. Damit ist bewiesen, dass der 17-iso-Ätio-desoxycholsäure die Formel (IX) und der Ätio-desoxycholsäure³)^b) Formel (VIII) zukommt. 12-epi-Ätio-desoxycholsäure!)b)c)d) besitzt Formel (X) und die neue 12-epi-17-iso-Ätio-desoxycholsäure Formel (VII). Desoxycholsäure ist analog wie (VIII) gebaut und hat die von Gallagher und Long⁵) vorgeschlagene Formel (IV). Jetzt wird auch die schwere

¹⁾ Diese Säure besitzt Formel (VIII).

²) Dieser Säure wurde früher^d) fälschlicherweise Formel (IX) zuerteilt; sie besitzt Formel (X).

M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 27, 1631 (1944).
 M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 29, 1209 (1946).

⁵) T. F. Gallagher, W. P. Long, J. Biol. Chem. 162, 495 (1946).

Bildung und leichte Spaltbarkeit des Lactons der 12-epi-Bisnordesoxycholsäure verständlich, denn diese Säure besitzt Formel (VI) und nicht, wie früher angenommen, Formel (V). Ein Lacton kann sich somit nur unter erheblicher Spannung bilden. Die Säure (V) sollte sich viel leichter lactonisieren als (VI), doch sind die Säuren (II) und (V) bisher noch nicht bekannt.

Beim erwähnten Erhitzen von Ätio-desoxycholsäure-methylester (XI) mit NaOCH3 entsteht die 17-iso-Säure (IX) in ca. 15 % Ausbeute. Für die präparative Trennung des Gemisches von (VIII) und (IX) wird zweckmässig die leichte Lactonisierbarkeit von (IX) benützt. Das Lacton (XIII) wurde zur Charakterisierung noch ins Acetat (XIV), Benzoat (XV) und ins Ketolacton (XVIII) übergeführt, die alle krystallisierten. Zur Gewinnung der unbeständigen reinen Säure (IX) verseift man zweckmässig das reine Lacton (XIII), was bereits durch Kochen mit K₂CO₃ in wässerigem Methanol gelingt. Aus der von Methanol befreiten Lösung des Kaliumsalzes lässt sich die freie Säure (IX) mit HCl in der Kälte ausfällen. Mit Diazomethan liefert sie einen Methylester (XII), der beim Erhitzen oder Sublimieren unter CH₃OH-Abspaltung wieder quantitativ ins Lacton (XIII) übergeht. Das Lacton (XIII) lässt sich durch Kochen mit NaOCH, nicht mehr in (VIII) zurückverwandeln. Dies ist verständlich, da die räumliche Lage der CO-Gruppe fixiert ist. Auch der Methylester (XII) gibt beim Erhitzen mit NaOCH, nur Spuren von (VIII). Offenbar wird hier aus dem Ester (XII) unter CH3OH-Abspaltung das Lacton (XIII) so rasch gebildet, dass nur geringfügige Isomerisierung eintreten kann. Dehydrierung des Methylesters (XII) mit CrO, gibt den 3.12-Diketo-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XVII), der erheblich höher schmilzt als der normale Ester ()b) und eine um ca. 100° niedrigere spez. Drehung besitzt.

Der zur Bereitung von (X) benötigte 3α -Oxy-12-keto-ätiocholansäure-methylester (XVI)^d wurde auf vereinfachtem Wege wie folgt gewonnen: Erhitzen von Ätio-desoxycholsäure-methylester (XI) mit Bernsteinsäure-anhydrid und Pyridin nach Schwenk u. Mitarb.¹) gab den 3α -Succinyloxy- 12α -oxy-ätio-cholansäure-methylester, dessen freie Carboxylgruppe (im Succinylrest) mit Diazomethan methyliert wurde. Dieser schlecht krystallisierende Dimethylester gab bei der Dehydrierung mit CrO_3 den gut krystallisierenden 3α -Succinyloxy-12-keto-ätio-cholansäure-dimethylester. Verseifung und Remethylierung lieferten in guter Ausbeute (XVI), der wie früher beschrieben^d) durch Hydrierung mit Raney-Nickel in alkalischer Lösung in (XIX) übergeführt wurde. Erhitzen von (XIX) mit NaOCH $_3$ in Methanol gab ein Gemisch von (X) und (VII), das durch fraktionierte Krystallisation getrennt werden musste. Die Ausbeute an (VII) war dem-

¹⁾ E. Schwenk, B. Riegel, R. B. Moffett, E. Stahl, Am. Soc. 65, 549 (1943).

 $Ac = CH_3CO$ —; $Bz = C_6H_5CO$ —. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Chf = Chloroform; Me = Methanol.

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

b) H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc. 60, 2824 (1938).

c) H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc. 61, 1614 (1939).

d) V. Wenner, T. Reichstein, Helv. 27, 965 (1944).

e) Vgl. exper. Teil dieser Arbeit.

¹) M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 21, 828 (1938).

entsprechend schlecht. Die Säure (VII) blieb nach zweistündigem Kochen in Toluol völlig unverändert. Bei längerem Erhitzen oder beim Sublimieren trat eine nicht aufgeklärte Reaktion ein (Rückwandlung in (X)?), doch bildete sich auch unter diesen Bedingungen kein Lacton. Zur Charakterisierung wurden der Methylester (XX) und sein Diacetat (XXI) bereitet. (XX) gab bei der Dehydrierung mit CrO3 erwartungsgemäss denselben Diketo-ester (XVII), der auch aus (XII) erhalten wurde. Die Hydrierung des Diketo-esters (XVII) mit PtO2 in Eisessig lieferte neben wenig sauren Bestandteilen ein Lactongemisch, das zur Hauptsache aus (XIII) und 12α-Oxy-17-isoätio-cholansäure-lacton-(20 o 12) (durch reduktive Eliminierung des Sauerstoffs in 3-Stellung entstanden) und aus wenig 3β -Lacton (XXII) bestand. Bei der Hydrierung von (XVII) mit Raney-Nickel in alkalischer Lösung entstand wenig einer kryst. Säure, vermutlich 3β,12β-Dioxy-17-iso-ätio-cholansäure. Zur Hauptsache wurde hier aber das 3β , 12α -Dioxy - 17-iso-atio - cholansaure - lacton - (20 \rightarrow 12) (XXII) gebildet. Es liefert bei der Dehydrierung mit CrO3 dasselbe Ketolacton (XVIII), das auch analog aus (XIII) entsteht.

Es sei nochmals hervorgehoben, dass die durch diese Untersuchung erfolgte Fixierung der räumlichen Lage der Substituenten an den Ringen C und D lediglich in bezug auf das C-Atom Nr. 13 erfolgt ist, während sonst meistens das C-Atom Nr. 10 als Bezugssystem dient. Die Konfiguration von C 13 in bezug auf C 10 ist zwar nicht über alle Zweifel erhaben, jedoch durch sorgfältige röntgenographische Daten weitgehend gesichert¹). Ausserdem haben Gallagher und Long²) die räumliche Lage der 12-ständigen HO-Gruppe in Desoxycholsäure vom Asymmetriezentrum C 9 aus abgeleitet. Der Bau des Asymmetriezentrums C 9 in bezug auf C 10 ist wieder durch röntgenographische Daten weitgehend bewiesen¹)³). Unter Berücksichtigung dieses Vorbehalts, also unter der Voraussetzung, dass die an C 13 haftende Methylgruppe β -ständig angeordnet ist, hat das Ergebnis dieser Untersuchung für die Formulierung bekannter Naturstoffe die folgenden Konsequenzen: Desoxycholsäure besitzt Formel (IV), in Übereinstimmung mit Gallagher und Long⁴); entsprechend gebaut sind auch Cholsäure sowie die anderen bekannten Gallensäuren. Beim Cholesterin ist die Seitenkette β -ständig angeordnet, in Übereinstimmung mit Carlisle und Crowfoot⁵). Dasselbe gilt für die Herzgifte der Digitalisgruppe, für Progesteron und für Corticosteron. Die 11-ständige HO-Gruppe im Corticosteron besitzt

¹⁾ C. H. Carlisle, D. Crowfoot, Proc. Roy. Soc. [A] 184, 64 (1945), siehe weitere Literatur daselbst.

²⁾ T. F. Gallagher, W. P. Long, J. Biol. Chem. 162, 495 (1946).

³⁾ Vgl. L. Ruzicka, H. Brüngger, E. Eichenberger, J. Meyer, Helv. 17, 1407 (1934).

T. F. Gallagher, W. P. Long, J. Biol. Chem. 162, 495 (1946).
 C. H. Carlisle, D. Crowjoot, Proc. Roy. Soc. [A] 184, 64 (1945).

 β -Stellung, in Übereinstimmung mit den Befunden von Gallagher und $Long^1)^2$). Es ist äusserst wahrscheinlich, wenn auch nicht eindeutig bewiesen, dass die sogenannten 17β -Oxy-Steroide in Wirklichkeit

17α-Oxy-Konfiguration besitzen und umgekehrt³).

Nicht ganz leicht ist es, den D-Ring bei den Herzgiften der Digitalisgruppe zu formulieren. Entweder muss man annehmen, dass die HO-Gruppe an C 14 β -ständig angeordnet ist, dass also die Ringe C und D in diesen Stoffen im Gegensatz zu anderen natürlichen Steroiden cis-ständig verknüpft sind, oder aber die bisherige Erklärung der Bildung der iso-Glykoside und iso-Aglykone ist unrichtig, denn ohne Isomerisierung in 17-Stellung kann sich ein "iso-Lacton" bei β -ständiger Seitenkette nur mit einer $14\,\beta$ -Oxy-Gruppe bilden. Bei den Herzgiften besitzen aber zumindest Digoxigenin und Digitoxin in 17-Stellung "normale" Konfiguration")⁴), da sie beim Abbau die normalen Ätiosäuren liefern.

Wir danken der Ciba AG. Basel für die Überlassung von Ätio-desoxycholsäure.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm\,2^{\circ}$. Wenn nichts anderes vermerkt, wurden die Substanzproben für die Analyse im Hochvakuum bei 80°, für die spez. Drehung bei 60° getrocknet. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfung im Vakuum, Aufnehmen in Äther (oder CHCl₃, falls vermerkt), Waschen mit verd. HCl (bei CrO₃-Oxydationen mit verd. H₂SO₄), Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen.

17-iso-Ätio-desoxycholsäure-lacton-(20 > 12) (XIII).

7,6 g Ätio-desoxycholsäure (VIII)³), Smp. 290—297°, in Methanol gelöst, bei 0° mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert und eingedampft. Roher Methylester durch zweimaliges Abdampfen mit abs. Benzol getrocknet, in 20 cm³ abs. Benzol gelöst und mit der Lösung von 30 g Natrium in 250 cm³ trockenem Methanol 18 Minuten unter $\rm H_2O$ -Ausschluss unter Rückfluss gekocht. Dann in der Siedehitze 100 cm³ Wasser zugetropft und noch 10 Minuten weitergekocht. 200 cm³ Wasser zugegeben, Methanol im Vakuum entfernt, Rückstand tropfenweise mit konz. HCl bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt und Suspension 2 Std. auf 100° erwärmt. Mit 500 cm³ Chloroform energisch durchgeschüttelt, unlösliche Krystalle abgenutscht und mehrmals mit wenig Wasser und Chloroform gewaschen. Diese Krystalle stellen fast reines Ausgangsmaterial (VIII) dar. Filtrate im Scheidetrichter getrennt, wässrige Schicht nochmals mit CHCl₃ ausgeschüttelt,

¹⁾ T. F. Gallagher, W. P. Long, J. Biol. Chem. 162, 495 (1946).

²) Selbstverständlich ist auch die frühere Bezeichnung der zwei raumisomeren 11, 12-Oxido-Verbindungen $^{5)6}(^{9})^{9})^{9})^{10})$ umzukehren, wie dies bereits Gallagher und Long 1) für das mit Benzopersäure erhaltene Isomere der zwei 3α -Oxy-11,12-oxido-cholansäuren vorgeschlagen haben.

³⁾ Vgl. spätere Mitteilung.

⁴⁾ F. Hunziker, T. Reichstein, Helv. 28, 1472 (1945).

⁵⁾ H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. 25, 805 (1942).

⁶⁾ J. Press, T. Reichstein, Helv. 25, 878 (1942).

H. Reich, T. Reichstein, Helv. 26, 562 (1943).
 A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 26, 586 (1943).

⁹⁾ G. H. Ott, T. Reichstein, Helv. 26, 1799 (1943).

¹⁰⁾ B. F. McKenzie, W. F. McGuckin, E. C. Kendall, J. Biol. Chem. 162, 555 (1946).

Chloroformauszüge mehrmals mit kleinen Portionen Na_2CO_3 -Lösung, dann mit wenig Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. (Die Sodaauszüge gaben nach Ansäuern und Ausschütteln mit Essigester noch etwas "normale" Säure (VIII). Insgesamt wurden 5,8 g (VIII) zurückerhalten). Der neutrale CHCl₃-Abdampfrückstand (1,32 g = 17,3%) gab aus CHCl₃-Äther 1,06 g farblose Prismen, Smp. 172—173°; $[\alpha]_D^{18} = +6,3^0 \pm 2^0$ (c = 1,437 in Chloroform).

14,35 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l=1 dm; $\alpha_D^{18}=+0.09^0\pm0.02^0$ 3,778 mg Subst. gaben 10,384 mg CO₂ und 3,189 mg H₂O C₂₀H₃₀O₃ (318,44) Ber. C 75,43 H 9,50% Gef. ,, 75,01 ,, 9,45%

Das Lacton lässt sich im Hochvakuum bei ca. 180° leicht sublimieren.

 3α -Acetoxy-12 α -oxy-17-iso-atio-cholansaure-lacton-(20 \rightarrow 12) (XIV).

56 mg Oxy-lacton (XIII) vom Smp. 172—173° mit 0,2 cm³ abs. Pyridin und 0,2 cm³ Acetanhydrid 2 Std. auf 60° erwärmt. Übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther gab 39 mg lange Nadeln vom Smp. 169—170°; $[\alpha]_{\rm D}^{18} = +27,2° \pm 2°$ (c = 1,012 in Chloroform).

Die Mischprobe mit dem Oxy-lacton (XIII) schmolz bei 130-155°.

 3α -Benzoxy- 12α -oxy-17-iso-ätio-cholansäure-lacton- $(20 \rightarrow 12)$ (XV).

300 mg Oxy-lacton (XIII) vom Smp. 172—173° in 1 cm³ abs. Pyridin mit 0,3 cm³ Benzoylchlorid 16 Stunden bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther gab 320 mg farblose Säulen, Smp. 208—209°; $[\alpha]_D^{19} = +17.1° \pm 3°$ (c = 0,815 in CHCl₃).

8,147 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l=1 dm; $\alpha_{\rm D}^{10}=+0.14^{\circ}\pm0.02^{\circ}$ 3,656 mg Subst. gaben 10,323 mg CO₂ und 2,751 mg H₂O C₂₇H₃₄O₄ (422,54) Ber. C 76,74 H 8,11% Gef. ,, 76,99 ,, 8,41%

 $\label{eq:constraint} \textbf{3-Keto-12} \alpha \text{-oxy-17-} \textit{iso-$atio-$cholansaure-lacton-(20$$ \rightarrow12$) (XVIII).}$

50 mg Oxy-lacton (XIII), Smp. 172—173°, mit 25 mg CrO₃ in 1,5 cm³ Eisessig 16 Std. bei 16° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 43 mg Neutralprodukt, aus Äther-Petroläther 35 mg feine Nadeln vom Smp. 154—155°; $[\alpha]_D^{18} = +6.9 \pm 3^\circ$ (c = 0.871 in Chloroform).

8,698 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l=1 dm; $\mathbf{z_D^{18}}=+0.06^0\pm0.02^0$ 3,766 mg Subst. gaben 10,447 mg CO₂ und 3,040 mg H₂O C₂₀H₂₈O₃ (316,43) Ber. C 75,91 H 8,93% Gef. ,, 75,70 ,, 9,03%

17-iso-Ätio-desoxycholsäure-methylester (XII).

a) mit KOH. 252 mg Oxy-lacton (XIII), Smp. 172—173°, mit der Lösung von 0,7 g KOH in 6 cm³ Methanol kurz aufgekocht, worauf sich bald das Kaliumsalz in Nadeln abschied. 30 cm³ Wasser zugegeben, Methanol im Vakuum entfernt, bei 0° mit HCl bis zur kongosauren Reaktion versetzt, Krystalle (Säure (IX), roher Smp. 126—136°/210—280°) abgenutscht, mit Eiswasser gewaschen und sofort in ätherische Diazomethanlösung eingetragen. Die Gasentwicklung war nach 10 Min. beendet, und ein Teil des Methylesters hatte sich in Nadeln abgeschieden. Übliche Aufarbeitung und Umkrystalli-

sieren aus Äther-Petroläther gab 210 mg lange Nadeln vom Smp. 180—182° (Zers.); $[\alpha]_D^{18} = +10.3^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (c = 1.549 in Chloroform).

15, 707 mg Subst. (1 Std. im Hochvakuum bei 20° getrocknet) zu 1,0141 cm³; l=1 dm; $\alpha_D^{18}=+0.16^{\circ}\pm0.02^{\circ}$.

Zur Analyse 3 Tage über $\mathrm{P_2O_5}$ bei Zimmertemperatur getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,750 mg Subst. gaben 9,960 mg CO₂ und 3,324 mg $\rm H_2O$, $\rm C_{21}H_{34}O_4$ (350,49) Ber. C 71,96 H 9,78% Gef. ,, 72,48 ,, 9,93%

Die Mischprobe mit dem Oxy-lacton (XIII) schmolz bei 128-180°. Sublimation

im Hochvakuum liefert das Oxy-lacton (XIII) zurück.

b) mit $\rm K_2CO_3$. 40 mg Oxy-lacton (XIII), Smp. 171—173°, mit 30 mg $\rm K_2CO_3$ in 2 cm³ Mcthanol und 0,3 cm³ Wasser 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Methanol im Vakuum entfernt, Wasser zugegeben und ausgeäthert. (Ätherlösung gab beim Eindampfen keinen Rückstand). Wässrige Lösung bei 0° mit HCl bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt und Krystalle wie oben gewaschen und methyliert. 30 mg Ester (XII) vom Smp. 181—183° (Zers.).

Der Ester (XII) geht beim Erhitzen oder bei der Sublimation im Hochvakuum

unter CH2OH-Abspaltung quantitativ ins Oxy-lacton (XIII) über.

Versuch zur Umlagerung des Oxy-lactons (XIII).

100 mg Oxy-lacton (XIII), Smp. 172—173°, durch Abdampfen mit abs. Benzol im Vakuum getrocknet und mit der Lösung von 1,2 g Natrium in 10 cm³ Methanol 15 Min. auf 100° erhitzt. Aufarbeitung wie bei (XIII) aus (XI) gab nur 3 mg saure Anteile sowie 92 mg Neutralprodukt. Aus letzterem 85 mg kryst. Lacton (XIII) vom Smp. 171—173°.

Versuch zur Isomerisierung des Methylesters (XII).

340 mg roher 17-iso-Ätio-desoxycholsäure-methylester (XII) durch Abdampfen mit abs. Benzol im Vakuum getrocknet und mit der Lösung von 2 g Natrium in 30 cm³ abs. Methanol 17 Minuten auf 100° erwärmt. Aufarbeitung wie oben gab 300 mg rohes Neutralprodukt, daraus 220 mg reines Oxy-lacton (XIII) vom Smp. 172—173°. Die sodalöslichen Anteile wogen 5 mg und gaben 3 mg Krystalle vom Smp. 293—296°. Die Mischprobe mit Ätio-desoxycholsäure (VIII) zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung.

 $3\alpha\text{-}Succinoxy\text{-}12\alpha\text{-}oxy\text{-}atio\text{-}cholans \"{a}ure\text{-}dimethylester.$

4,5 g Ätio-desoxycholsäure-methylester (XI), Smp. $141-143^{\circ}$, mit 6,3 g Bernsteinsäure-anhydrid und 50 cm³ abs. Pyridin 2 Std. auf 100° erhitzt¹). Eindampfen im Vakuum und Aufnehmen in Äther. Der mehrmals mit verd. HCl gewaschenen Ätherlösung wurden die sauren Anteile durch mehrmaliges Ausschütteln mit verd. Na_2CO_3 -Lösung bei 0° völlig entzogen. Sodaauszüge sofort mit HCl bis zur kongosauren Reaktion versetzt, amorphe Säure mit Äther ausgeschüttelt. Die mit wenig H_2O gewaschene Ätherlösung gab beim Eindampfen ca. 6 g rohe Säure. Diese sofort mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung 10 Minuten stehen gelassen. Durch Eindampfen 5,99 g roher Dimethylester. Aus Äther-Petroläther nach 2 Tagen Nädelchen, Smp. $96-99^{\circ}$. Auf Reinigung wurde verzichtet.

3α-Succinoxy-12-keto-ätio-cholansäure-dimethylester.

5,99 g roher 3α -Succinoxy- 12α -oxy-ätio-cholansäure-dimethylester mit 35 cm³ 5-prox. CrO₃-Eisessiglösung 1 Std. bei 19° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung. Aus CHCl₃-Petroläther 5,13 g farblose Blättchen, Smp. 151—152°.

3,708 mg Subst. gaben 9,164 mg CO $_2$ und 2,72 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{26}H_{38}O_7$ (462,56) $$\rm Ber.~C$ 67,51 $\rm H$ 8,28% $\rm Gef.~,$ 67,44 $\rm ,,$ 8,21%

¹⁾ Vgl. E. Schwenk, B. Riegel, R. B. Moffett, E. Stahl, Am. Soc. 65, 549, (1943).

3α-Oxy-12-keto-ätio-cholansäure-methylester (XVI)d) aus dem Succinat.

5,0 g 3α -Succinoxy-12-keto-ätio-cholansäure-methylester, Smp. $151-152^{\circ}$, in 90 cm³ Methanol mit 4,5 g K_2CO_3 in 30 cm³ Wasser 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Abkühlen und Zusatz von Wasser gab Nadeln, die abgenutscht wurden. Aus Aceton 2,6 g Ester (XVI), Blättehen vom Smp. $168-170^{\circ}$. Vereinigte Filtrate im Vakuum von Methanol und Aceton befreit, mit HCl angesäuert und mit viel Äther ausgeschüttelt. Rohe Säure (aus Äther Nadeln, Smp. $208-211^{\circ})^1$) mit Diazomethan methyliert gab noch 1,87 g reinen Ester (XVI), total 4,47 g.

 3α , 12β -Dioxy-17-iso-ätio-cholansäure (12-epi-17-iso-Ätio-desoxycholsäure) (VII).

2,94 g des aus (XVI) durch Hydrierung mit Raney-Nickel in alkalischer Lösung erhaltenen 12-epi-Ätio-desoxycholsäure-methylesters (XIX), Smp. $182\text{--}183^\circ$, wurden durch Abdampfen mit abs. Benzol getrocknet und unter H_2O -Ausschluss mit der Lösung von 15 g Natrium in 130 cm³ abs. Methanol 30 Min. auf 100° erhitzt. Nach Zusatz von 25 cm³ Wasser noch 1 Std. auf 100° erwärmt. Nach Zusatz von 250 cm³ Wasser Methanol im Vakuum entfernt, Lösung ausgeäthert (10 mg Rückstand), dann HCl bis zur kongosauren Reaktion zugegeben. Kryst. Säuren abgenutscht, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Filtrat mehrmals mit Äther ausgeschüttelt, Ätherlösungen mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Äther-Rückstand zusammen mit obigen Krystallen aus Benzol-Methanol umkrystallisiert gab 2,44 g unveränderte Säure (X), Smp. $284\text{--}287^\circ$. Mutterlaugen wiederholt aus Benzol-Methanol und aus Aceton-Äther umkrystallisiert. Neben wenig (X) ca. 55 mg der gesuchten 12-epi--17-iso-Ätio-desoxycholsäure (VII). Prismen, die teilweise bei $136\text{--}141^\circ$ und nach Wiedererstarren bei $210\text{---}211^\circ$ schmelzen; $[\alpha]_{18}^{18} = -9,2^\circ \pm 3^\circ$ (c = 0,873 in CHCl₃).

8,72 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l=1 dm; $\alpha_{\rm D}^{19}=-0.08^{\circ}\pm0.02^{\circ}$.

Bei längerem Erwärmen einer Probe auf 200° sublimierten allmählich Nadeln vom Smp. 287—295°. 5 mg reine Säure, Smp. 136—141°/210—211°, wurden im Hochvakuum bei 0,02 mm und 215° Badtemperatur sublimiert. Das Sublimat schmolz bei 287—295°, die Mischprobe mit 12-ept-Ätio-desoxycholsäure (X) vom Smp. 284—287° bei 283—286°. Das gesamte Sublimat erwies sich bei der Trennung mit Soda und Äther als Säure.

3α, 12β-Dioxy-17-iso-atio-cholansaure-methylester (XX).

15,5 mg Säure (VII) in wenig Methanol gelöst, mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung 10 Min. stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 15 mg Ester (XX). Aus Äther-Petroläther Nadeln (Hydrat?), die unter Gasentwicklung bei 96—122° zu zäher Flüssigkeit schmolzen; $[\alpha]_0^{18} = -9.0^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (c = 0,778 in CHCl₃).

7,779 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l=1 dm; $\alpha_{\rm D}^{18}=-0.07^{\circ}\pm0.02^{\circ}$.

Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung im Vakuum geschmolzen.

3,468 mg Subst. gaben 9,140 mg CO $_2$ und 2,985 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{21}H_{34}O_4$ (350,49) $\rm Ber.$ C 71,96 $\rm H$ 9,78%

 $H_{34}O_4$ (350,49) Ber. C 71,96 H 9,78% Gef. ,, 71,92 ,, 9,62%

 $3\alpha, 12\beta$ -Diacetoxy-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XXI).

32 mg Dioxy-ester (XX), Smp. 96—122°, mit 0,2 cm³ abs. Pyridin und 0,2 cm³ Acetanhydrid 1 Std. auf 100° erhitzt. Übliche Aufarbeitung gab 35 mg neutrales Rohprodukt. An 1 g $\rm Al_2O_3$ chromatographisch gereinigt. Die mit Benzol-Petroläther (1:1) eluierbaren Anteile (28 mg) gaben aus Petroläther 14 mg Nadeln, Smp. 154—156°; [α] $^{19}_{\rm D}=0^{\circ}\pm3^{\circ}$ (c = 0,887 in CHCl $_3$).

¹⁾ Vgl. E. Schwenk, B. Riegel, R. B. Moffett, E. Stahl, Am. Soc. 65, 549 (1943).

8,86 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l=1 dm; $\alpha_0^{19}=0.00^{\circ}\pm0.02^{\circ}$ 3,711 mg Subst. gaben 9,369 mg CO₂ und 2,985 mg H₂O C₂₅H₃₈O₆ (434,55) Ber. C 69,09 H 8,81% Gef. ,, 68,90 ,, 9,00%

Versuch zur Lactonisierung von 3α , 12β -Dioxy-17-iso-ätio-cholansäure (VII).

22 mg Säure (VII), Smp. 136—141°/210—211°, wurden mit 1,4° cm³ Toluol 2 Std. unter Rückfluss erhitzt. Toluol im Vakuum entfernt, Rückstand in wenig Methanol und Äther aufgenommen, Lösung mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Nur Spuren Neutralprodukt. Aus der wässrig-alkalischen Lösung nach Ansäuern und Ausäthern 19 mg unveränderte Säure (VII), nach Umkrystallisieren aus Aceton-Petroläther 15 mg Klötzchen vom Smp. 136—140°/210—211°.

3,12-Diketo-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XVII).

a) Aus (XII).

30 mg 17-iso-Ätio-desoxycholsäure-methylester (XII), Smp. 181—183° (Zers.), mit 25 mg CrO₃ in 1 cm³ Eisessig 2 Std. bei 18° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung und zweimaliges Umkrystallisieren aus Chloroform-Petroläther gab 20 mg Platten, Smp. 204—206°; $[\alpha]_D^{19} = +35,5° \pm 3°$ (c = 0,816 in CHCl₃).

8,156 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l=1\,\mathrm{dm}$; $\alpha_D^{19}=+0,29^0\pm0,02^0$ 3,704 mg Subst. gaben 9,975 mg CO₂ und 2,902 mg H₂O C₂₁H₃₀O₄ (346,45) Ber. C 72,80 H 8,73% Gef. ,, 72,79 ,, 8,68%

b) Aus (XX).

8 mg Ester (XX), Smp. 96—122°, mit 0,1 cm³ 5-proz. $\rm CrO_3$ -Eisessiglösung 2 Std. bei 18° stehen gelassen. Aus Äther-Petroläther 6,6 mg Säulen vom Smp. 204—206°. Mischprobe mit dem aus (XII) erhaltenen Präparat ebenso. Die Mischprobe mit dem 3,12-Diketo-ätiocholansäure-methylester vom Smp. 172—173° b) schmolz bei 158—178°.

 3β , 12α -Dioxy-17-iso-ätio-cholansäure-lacton-(20 \rightarrow 12) (XXII) und Nebenprodukte aus (XVII).

a) Mit Raney-Nickel in alkalischer Lösung.

185 mg 3,12-Diketo-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XVII), Smp. 204—206°, mit dem aus 0,5 g gepulverter Nickel-Aluminium-Legierung bereiteten Raney-Nickel¹) und 0,2 g NaOH in 2 cm³ Methanol 18 Std. hydriert. $\rm H_2$ -Aufnahme 24,7 cm³ (ber. 22,6 cm³). Filtration, Zusatz von Wasser, Eindampfen und Ausschütteln mit Äther gab nur 1 mg Neutralprodukt. Alkalische Lösung mit HCl angesäuert, mit viel Äther ausgeschüttelt. Mit wenig Wasser gewaschene und über Na₂SO₄ getrocknete Ätherlösung eingedampft. Rückstand in wenig CHCl₂ gelöst 20 Std. stehen gelassen. Trennung mit Soda gab 155 mg Neutrales sowie 25 mg rohe Säure, vermutlich 3β ,12 β -Dioxy-17-iso-ätio-cholansäure; aus Methanol-Äther 16 mg Prismen, Smp. 220—222°. Die Mischprobe mit der bei 136°/211° schmelzenden 3α ,12 β -Dioxy-17-iso-ätio-cholansäure (VII) schmolz bei 204—218°. Die 155 mg Neutralprodukt gaben aus Äther-Petroläther 67 mg reines 3β -Oxy-lacton (XXII), Smp. 220—222°; [α] $_{18}^{18} = +5$,7° \pm 3° (c = 0,882 in CHCl₃).

8,948 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l=1~{\rm dm};~\alpha_{\rm D}^{18}=+0.05^{\circ}\pm0.02^{\circ}.$

Die Mischprobe des Lactons mit der gleich schmelzenden 3β , 12β -Dioxy-17-iso-säure schmolz bei 180—205°.

¹) Am. Pat. 1628190; C. 1927, II, 653; L. W. Covert, H. Adkins, Am. Soc. 54, 4116 (1932).

 $20 \text{ mg } 3\beta$ -Oxy-lacton (XXII), Smp. 220— 222° , wurden mit CrO $_3$ oxydiert, wie bei (XVIII) beschrieben. Aus Äther-Petroläther 18 mg Nadeln, Smp. 153— 155° . Mischprobe mit (XVIII) aus (XIII) ebenso.

b) Mit Platinoxyd in Eisessig.

190 mg 3,12-Diketo-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XVII), Smp. 204—206°, in 1 cm³ reinstem Eisessig mit 100 mg PtO₂·H₂O bei 18° bis zur völligen Sättigung hydriert. Aufnahme nach 4 Std. 46,2 cm³, berechnet 42,6 cm³. Filtration, Eindampfen und Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther gab 37 mg 3α-Oxy-lacton (XIII), Smp. 172°–173° (Mischprobe). Mutterlauge durch halbstündiges Erhitzen mit 0,1 g KOH in 0,1 cm³ Wasser und 0,5 cm³ Methanol verseift. Nach Zusatz von Wasser im Vakuum von Methanol befreit, mit HCl angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt. Roher Ätherrückstand 6 Std. in 2 cm³ Benzol unter Rückfluss gekocht. Trennung mit Soda gab 23 mg amorphe Säure sowie 92 mg Neutrales. Letzteres an 4 g Al₂O₃ chromatographisch getrennt. Die mit abs. Benzol eluierbaren Anteile gaben aus Petroläther 34 mg Nadeln, Smp. 128—130°.

Es dürfte sich um 12α -Oxy-17-iso-ätio-cholansäure-lacton- $(20 \rightarrow 12)$ handeln. Die mit CHCl₃ eluierbaren Anteile gaben aus Äther noch 38 mg reines 3α -Oxy-lacton (XIII), Smp. 172—173° (Mischprobe), total somit 75 mg. Aus der letzten Fraktion liessen sich noch ca. 2 mg 3β -Oxy-lacton (XXII), Smp. 218—221° (Mischprobe), isolieren.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

148. Über Derivate des 4-Aminothiazols von H. Erlenmeyer und Dieter Markees.

(28. VI. 46.)

An Verbindungen des Thiazols, die in 4-Stellung eine Aminogruppe aufweisen, ist bisher nur das 2,4-Diaminothiazol bekannt geworden. Dieses Derivat des 4-Aminothiazols wurde sowohl aus Thioharnstoff und Chloracetonitril¹) gewonnen als auch durch Abbau²) der 2-Aminothiazol-4-carbonsäure nach Curtius in Form des 2,4-Diacetylamino-thiazols erhalten. K. Ganapathi und A. Venkataraman³) berichten in ihren interessanten Beiträgen zur Chemie des Thiazols auch über nichtgelungene Versuche, die unternommen wurden, um aus 2-Methylthiazol-4-carbonsäure nach Curtius zum 2-Methyl-4-acetyl-aminothiazol zu gelangen.

¹⁾ D.R.P. 729 853, C. 1943, I, 2035.

K. Ganapathi und A. Venkataraman, Proc. Indian Acad. Sciences 22, 361 (1945).
 L. c. S. 359.

Wir hatten im Anschluss an die Darstellung der Thiazol-4-carbonsäure¹) uns für die Möglichkeit, diese Säure zum 4-Aminothiazol abzubauen, interessiert und wollen im folgenden über Versuche berichten, die, ausgehend von den Säurehydraziden, über die Säureazide zur Gewinnung des 2-Chlor-4-acetaminothiazols (I) und des 4-Acetaminothiazols (II) geführt haben:

Experimenteller Teil.

2-Chlor-thiazol-4-carbonsäure-hydrazid.

9,6 g 2 Chlor-thiazol-4-carbonsäure-äthylester 2) werden mit 2,5 g Hydrazinhydrat versetzt und auf dem Wasserbad bis zur Verflüssigung des Reaktionsgemisches erwärmt. Das sich bildende Hydrazid lässt sich nach der Isolierung aus Benzol, Tetrachlorkohlenstoff oder aus einem Gemisch von Alkohol und Petroläther umkrystallisieren. Smp. 147^0 — 150° .

1,110 mg Subst. gaben 0,228 cm³ N_2 (17,5°, 742 mm) $C_4H_4ON_3ClS$ Ber. N 23,66 Gef. N 23,57%

2-Chlor-thiazol-4-carbonsäure-azid.

 $3~\rm g$ des aus Benzol umkrystallisierten 2-Chlorthiazol-4-carbonsäure-hydrazids werden in Salzsäure (6 cm³ konz. HCl und 25 cm³ $\rm H_2O)$ suspendiert. Unter Kühlung mit einer Eis-Kochsalz-Kältemischung und unter starkem Rühren wird diese Lösung langsam mit 1,5 g Natriumnitrit, gelöst in 5 cm³ Wasser, versetzt. Das gebildete Azid scheidet sich als pulveriger Niederschlag ab. Die Ausbeute konnte durch Ausäthern der sauren Lösung verbessert werden. Durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus viel Petroläther wurde das 2-Chlor-thiazol-4-carbonsäure-azid in farblosen Krystallen vom Smp. 112° gewonnen.

1,880 mg Subst. gaben 0,501 cm³ N_2 (22°, 738 mm) C_4HON_4ClS Ber. N 29,71 Gef. N 29,94%

2-Chlor-4-acetylamino-thiazol.

5 g 2-Chlor-thiazol-4-carbonsäure-azid werden in einer Mischung von 30 cm³ Essigsäure-anhydrid und 10 cm³ Eisessig ca. 1 Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Die Reaktion³) erfolgt unter Stickstoffentwicklung. Anschliessend werden Eisessig und Essigsäure-anhydrid im Vakuum entfernt und der Rückstand — in Alkohol aufgenommen — wird in eine Sublimationsapparatur übergeführt. Nach dem Entfernen des Alkohols unterwirft man das verbleibende Produkt durch Erwärmen mit Hilfe eines Paraffinbades einer vorsichtigen Sublimation bei ca. 14 mm Druck. An der wassergekühlten Glasfläche scheiden sich hierbei Krystalle des 2-Chlor-4-acetylamino-thiazols ab, die aus Ligroin umkrystallisiert einen Schmelzpunkt von 151° aufweisen.

4,533 mg Subst. gaben 5,63 mg CO₂ und 1,21 mg $\rm H_2O$ 1,58 mg Subst. gaben 0,222 cm³ $\rm N_2$ (19°, 733 mm) 4,010 mg Subst. verbrauchten 2,26 cm³ 0,01-n. $\rm AgNO_3$

¹⁾ H. Erlenmeyer und Ch. J. Morel, Helv. 25, 1073 (1942); 28, 362 (1945).

H. Erlenmeyer, P. Buchmann und H. Schenkel, Helv. 27, 1432 (1944).
 siehe auch C. Naegeli und A. Tyabji, Helv. 16, 349 (1933).

Thiazol-4-carbonsaure-azid.

5 g Thiazol-4-carbonsäure-ester¹) werden mit einem geringen Überschuss von Hydrazinhydrat auf dem Wasserbad erwärmt, bis eine homogene Lösung entstanden ist. Unter Aufschäumen bildet sich das Säurehydrazid. Das isolierte Produkt wurde mit Salzsäure aufgenommen (10 cm³ konz. HCl und 20 cm³ H₂O) und in einem Dreihalskolben bei einer Temperatur von −5 bis 0° unter starkem Rühren mit der Lösung von 2,5 g Natriumnitrit in 10 cm³ Wasser umgesetzt. Hierbei scheidet sich 1,8 g Säure-azid in pulvriger Form ab. Durch Ausäthern konnte noch ein weiteres Gramm Substanz gewonnen werden. Das isolierte Azid wurde mehrere Male aus Petroläther unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert. Thiazol-4-carbonsäure-azid bildet farblose Nadeln und zeigt einen Schmelzpunkt von 82°.

4-Acetylamino-thiazol.

1 g Thiazol-4-carbonsäure-azid wird auf dem Wasserbad in einer Mischung von 2 cm³ Eisessig und 8 cm³ Essigsäure-anhydrid erwärmt, wobei die Reaktion unter lebhafter Stickstoffentwicklung sich vollzicht. Die flüssigen Anteile des resultierenden Reaktionsgemisches werden im Luftstrom entfernt. Der verfärbte Rückstand wird alsdann einer sorgfältigen Sublimation bei 12 mm und 140—150° unterworfen, wobei man Krystalle des 4-Acetylamino-thiazols erhält. Aus Tetrachlorkohlenstoff umkrystallisiert, zeigt die Verbindung einen Smp. von 175—176°.

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

Universität Basel, Anstalt für anorganische Chemie.

149. Über Steroide.

52. Mitteilung 2).

Die Spaltung des Racemates der n-Bisdehydro-doisynolsäure. Über östrogene Carbonsäuren X

von R. Rometsch und K. Miescher.

(28. VI. 46.)

Nach Heer, Billeter und Miescher³) erhält man durch Kalischmelze von natürlichem rechtsdrehendem Equilenin eine linksdrehende "normale" Bisdehydro-doisynolsäure von hoher östrogener Wirksamkeit. An der Ratte zeigt sie einen oralen Schwellenwert von

¹⁾ H. Erlenmeyer und Ch. J. Morel, l. c., S. 1076. Über eine verbesserte Methode zur Darstellung dieses Esters werden wir später berichten.

^{2) 51.} Mitteilung "Über Steroide" sowie IX. Arbeit "Über östrogene Carbonsäuren" siehe Helv. 29, 1071 (1946).

³⁾ J. Heer, J. R. Billeter und K. Miescher, Helv. 28, 991 (1945).

nur $0,05 \gamma$. Durch Synthese konnte die Säure als Racemat gewonnen werden¹), dessen Schwellenwert etwa doppelt so hoch liegt. Man ist darum versucht, die ganze Wirksamkeit des Racemates der darin enthaltenen (—)Säure zuzuschreiben; doch lassen die üblichen Streuungen des biologischen Testverfahrens einen solchen Schluss nur bedingt zu.

Zur Feststellung der vorliegenden Verhältnisse sind die beiden Antipoden nun aus der synthetischen n-Bisdehydro-doisynolsäure rein dargestellt worden. Dabei gingen wir vom Methyläther des Race-

mates aus.

Die diastereoisomeren Salze der 7-Methyl-n-bisdehydro-doisynolsäure mit optisch aktiven Alkaloiden wie Strychnin, Bruein usw. unterscheiden sich ungenügend in ihrer Löslichkeit, was die Racematspaltung erschwert. Dagegen eignen sich die Menthylester dieser Säure zur Trennung der Antipoden vorzüglich. Mit *l*-Menthol erhielten wir zwei diastereomere Ester, von denen derjenige der (+)Säure in Aceton etwa 20 mal schwerer löslich ist als der (-)Säure-ester. In Methanol ist der Löslichkeitsunterschied bedeutend geringer, so dass durch Variation des Lösungsmittels beide Diastereomeren in wenigen Krystallisationen rein dargestellt werden konnten.

Die Umsetzung der racemischen 7-Methyl-n-bisdehydro-doisynolsäure mit *l*-Menthol geschah über das Säurechlorid²). Die Verseifung der Menthylester mit schmelzendem Kali verläuft um so besser und bei um so niedrigerer Temperatur, je rascher und vollständiger der Ester im Verseifungsmedium gelöst wird. Wir wandten darum propylalkoholische Kalischmelzen mit sehr geringem Wassergehalt und nur etwa 10fachem KOH-Überschuss an. Entsprechend der verschiedenen Löslichkeit wurde der (—)Säure-ester bei 155°, der (+)-Säure-ester bei 170° unter sonst gleichen Bedingungen in der gleichen

Zeit verseift. Dabei trat keine Racemisierung ein.

Die so synthetisch erhaltene (-)7-Methyl-n-bisdehydro-doisynolsäure erwies sich nach Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und Drehung als identisch mit dem früher gewonnenen Methyläther der aus natürlichem

Equilenin hergestellten "normalen" Säure.

Zu weiterem Vergleich bereiteten wir die Methylester der beiden Methyläther-Antipoden. Auch hier bestand Übereinstimmung zwischen dem linksdrehenden Ester und demjenigen der "natürlichen" Säure³). Bei der Verseifung des (—)Methylesters mit Hilfe einer Propylalkohol-KOH-Schmelze bei 180° blieb die Drehung der 7-Methyl-n-bisdehydro-doisynolsäure unverändert.

¹⁾ K. Miescher, Helv. 27, 1727 (1944); J. Heer, J. R. Billeter und K. Miescher, Helv. 28, 1342 (1945).

²) G. Anner, J. Heer und K. Miescher, Helv. 29, 1071 (1946). ³) K. Miescher, Exper. 2, 237 (1946).

Vergleich der optisch aktiven synthetischen n-Bisdehydro-doisynolsäuren und ihrer Derivate mit aus natürlichem d-Equilenin erhaltenen Verbindungen. Tabelle I.

Salatre $[\alpha]_0$ Cal ₂₈₀ Ross- Losungs Konz. Cintern Subscription Crad Crad Crad ratur Crad Crad Crad ratur Crad Crad Crad ratur Crad Crad Crad ratur Crad Crad	1		spezifische Drehung	Drehung	chung		Schmelzpunkt ¹)	Misch-	Östrus-Schwellen-
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	"normale" ehydro-doisynolsaure	[a] _D Grad	[\alpha]_{5280} Grad		Lösungs- mittel	Konz. (%)	(Sintern)	schmelz- punkte	wert an der Katte in γ (subkutan, einmalige Gabe ³))
. +100,5±1,5 +138±1,5 22 Alkohol 1,13 220-221 (219)99,5±1,5 -135±2 22 Alkohol 0,92 219-221 (218)103 ±4	ure (synthetisch) ure (synthetisch) ure (aus d -Equilenin)(α)	++++	+155 ± 2 -155 ± 2	222	Alkohol Alkohol Alkohol	0,61	159—161 159—160 161—162	111	10 0,05—0,07 0,05—0,1
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$		+100,5 ± 1,5 - 99,5 ± 1,5	1	81 81	Alkohol	1,13	220—221 (219) 219—221 (218)	1	16 0,05 0,1
yl100,5±1,5 -135±1,5 20, Alkohol 1,0 220-221 + 88 ±1 +122±2 22 Alkohol 0,78 107-108 84 ±2 -114±2 20 Alkohol 0,75 106-108 84 ±3 -117±5 22 Alkohol 0,52 108-109 yl 5 ±1 - 2±1 21 Essigester 1,18 164-165 64 ±1,5 - 85±2 21 Essigester 1,05 113	Methylather as d-Equilenin)		1	20	Alkohol	0,855	219-221	219 221	0,05-0,1
. + 88 ± 1 +122 ± 2 Allcohol 0,78 107-108 84 ± 2 -114 ± 2 20 Allcohol 0,75 106-108 84 ± 3 -117 ± 5 22 Allcohol 0,52 108-109 yl 5 ± 1 - 2 ± 1 21 Essigestor 1,18 164-165 64 ± 1,5 - 85 ± 2 21 Essigestor 1,05 113	00	-100,5 ± 1,5	-135 ± 1,5			1,0	220 - 221		
- 84 ±2 -114 ±2 20 Alkohol 0,75 106-108 - 84 ±3 -117 ±5 22 Alkohol 0,52 108-109 - 5 ±1 - 2 ±1 21 Essigester 1,18 164-165 - 64 ±1,5 - 85 ±2 21 Essigester 1,05 113	Methylather-methyl- (synth.)	00 00	+122 +	61	Alkohol	0,78	107 108		
- 84 ±3 -117 +5 22 Alkohol 0,52 108-109 - 5 ±1 - 2 ±1 21 Essigester 1,18 164-165 - 64 ±1,5 - 85 ±2 21 Essigester 1,05 113	her-	+ 48	-114 ± 2	20	Alkohol	0,75	106-108		
- 5 ±1 - 2±1 21 Essigester 1,18 - 64 ±1,5 - 85±2 21 Essigester 1,05		- 84 +	-117 ± 5	222	Alkohol	0,52	108—109	107-109	
Methylather- ℓ -menthyl- $= 64 \pm 1.5 = 85 \pm 2$ 21 Essigester 1,05	Methylather-L-menthyl-		1		Essigester	1,18	164—165	- 1	1
	men	64	1		Essigester	1,05	113	1	1

In der oben zitierten Arbeit von Heer, Billeter und Miescher wurde irrtümlicherweise die Drehung dieser Verbindung [a] 20 = -1160 3) Die oralen Vergleichswerte sind praktisch gleich. statt -84° angegeben.

Schliesslich spalteten wir die beiden Methyläther-säuren durch Kochen mit Bromwasserstoff-Eisessig und erhielten auf diese Weise auch die (-) und die (+)n-Bisdehydro-doisynolsäure selbst, wobei sich wiederum die erstere mit der aus Equilenin gewonnenen "normalen" Säure als völlig identisch erwies.

Um den Vergleich zu erleichtern, haben wir unsere Refunde

tabellarisch zusammengestellt.

Die beiden optischen Antipoden der n-Bisdehydro-doisynolsäure und des 7-Methyläthers wurden von *E. Tschopp* an kastrierten weiblichen Ratten im Östrustest geprüft. Die subcutanen Schwellenwerte der Rechtssäuren erwiesen sich als rund 150—300 mal grösser als diejenigen der Linkssäuren. Ob die geringe Wirksamkeit der (+)Säuren wirklich diesen Verbindungen oder eventuell noch vorhandenen Spuren von (—)Säuren zukommt, konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden, da der Fehler der Drehungsmessung grösser als 0,5% ist (s. Tab. I).

Experimentelles.

1. Umsetzung von rac. 7. Methyl-n-bisdehydro-doisynolsäure mit l-Menthol.

8 g rac. 7-Methyl-n-bisdehydro-doisynolsäurechlorid wurden mit der gleichen Menge l-Menthol so lange im Stickstoffstrom auf 100—110° erhitzt, bis keine merklichen Mengen HCl mehr entwichen. Die erhaltene Schmelze krystallisierte beim Anreiben mit Methanol sofort. Sie wurde fein pulverisiert und zur Entfernung der Hauptmenge überschüssigen Menthols mit wenig Methanol gewaschen.

2. (+)7-Methyl-n-bisdehydro-doisynolsaure-l-menthylester.

Das rohe Gemisch der diastereomeren Ester, das noch etwas überschüssiges Menthol enthielt, wurde in möglichst wenig Aceton heiss gelöst und bei Zimmertemperatur krystallisiert. Man erhielt 5 g Ester vom Smp. 162—164°, die nochmals aus Aceton umgelöst wurden. Der Schmelzpunkt stieg auf 164—165°, die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{21}=-5^\circ$. Nach weiteren Krystallisationen aus Aceton blieben Drehung und Schmelzpunkt des so erhaltenen Esters unverändert.

C₂₉H₄₀O₃ Ber. C 79,77 H 9,23% Gef. ,, 79,66 ,, 9,48%

Löslichkeit bei 20° pro cm³: 0,0104 g in Aceton und 0,0007 g in Methanol.

3. (+)7. Methyl-n-bisdehydro-doisynolsaure.

2 g l-Menthylester vom Smp. $164-165^\circ$ wurden mit 5 g KOH und 20 cm³ Propylalkohol im Ölbad 30 Minuten auf $160-170^\circ$ erwärmt, die erhaltene Schmelze in Wasser aufgenommen, mit Äther gewaschen, dann die (+)7-Methyl-n-bisdehydro-doisynolsäure mit HCl ausgefällt und aus verdünntem Methanol umkrystallisiert. Smp. $220-221^\circ$ (219°). Drehung s. Tabelle I.

C₁₉H₂₂O₃ Ber. C 76,48 H 7,43% Gef. ,, 76,38 ,, 7,66%

${\bf 4.} \ (-) \\ {\bf 7-Methyl-n-bisdehydro-doisynols\"{a}ure-\it{l-menthylester}}.$

Die Mutterlauge der 1. Krystallisation des (+)Säure-l-menthylesters aus Aceton wurde auf 30 cm³ eingeengt und bei 20° aufbewahrt. Es krystallisierten nochmals 0,5 g weitgehend angereicherten (+)Säure-esters. Dessen Mutterlauge wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft. Die Drehung des Rückstandes (3,2 g) betrug $[\alpha]_D^{20} = -60^\circ$. Nach

Krystallisation aus 230 cm 3 Methanol war sie auf -64° gestiegen; der Schmelzpunkt lag sehr scharf bei 113° .

$$C_{29}H_{40}O_3$$
 Ber. C 79,77 H 9,23% Gef. ,, 79,56 ,, 9,43%

Löslichkeit bei 200 pro cm3: 0,206 g in Aceton und 0,0053 g in Methanol.

5. (-)7-Methyl-n-bisdehydro-doisynolsäure.

2 g l-Menthylester vom Smp. 113° wurden, wie unter 3. angegeben, bei 150—160° verseift. Man erhielt (–)7-Methyl-n-bisdehydro-doisynolsäure vom Smp. 219—221 (218°). Drehung s. Tab. I.

6. (+)n-Bisdehydro-doisynolsäure.

100 mg (+)7-Methylsäure wurden mit 2 cm³ 48-proz. HBr und 2 cm³ Eisessig 2 Stunden zum Sieden erhitzt, die erkaltete Lösung mit Wasser versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und mit Tierkohle aus verdünntem Methanol umkrystallisiert. Man erhielt 30 mg (+)n-Bisdehydro-doisynolsäure vom Smp. 159—161°. Drehung s. Tab. I.

7. (-)n-Bisdehydro-doisynolsäure.

Diese Säure wurde ganz analog wie die rechtsdrehende Verbindung aus der (-)7-Methylsäure erhalten. Smp. 159—160°. Drehung s. Tab. I.

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

Forschungslaboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel. Pharmazeutische Abteilung.

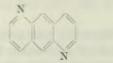
150. Zwischenprodukte des 1,8-Anthrazolins.

(57. Mitteilung über Stickstoff-Heterocyclen¹))

von Paul Ruggli † und Maurice Mathez

(28. VI. 46.)

Die Ringsysteme 1,5-Anthrazolin (I) und 1,8-Anthrazolin (II) (auch Benzodipyridine oder Di-aza-anthracene genannt²)) sind von Paul Ruggli und Mitarbeitern mehrfach bearbeitet worden³)⁴), ebenso die Synthese des 1,8-Anthrazolin⁵), die eine allerdings nur mässige Ausbeute ergab.





TT

- 1) 56. Mitteilung, Helv. 28, 674 (1945).
- 2) Über Nomenklaturfragen siehe Helv. 22, 478 (1939).
- 3) 1.8-Anthrazoline: Helv. 19, 439 (1936); 20, 272, 905, 918 (1937); 21, 1066 (1938).
- 4) 1,5-Anthrazoline: Helv. 22, 478 (1939); 27, 274, 1464 (1944).
- 5) P. Ruggli, P. Hindermann und H. Frey, Helv. 21, 1069 (1938).

Im Bestreben, das Gebiet des 1,8-Anthrazolins leichter zugänglich zu machen, versuchten wir, auf einem ähnlichen Weg zu dieser Verbindung zu gelangen, wie ihn Paul Ruggli und Emil Girod¹) für Synthesen in der 1,5-Anthrazolin-Reihe beschritten hatten.

Ausgangsmaterial für eine solche Synthese war das 4,6-Dinitro-m-xylylendiaceton (X), das mit m-Xylol (III) einerseits und dem gewünschten 1,8-Anthrazolin (II) anderseits wie folgt verknüpft ist:

Im folgenden berichten wir über die Erfahrungen, die wir bei der Synthese dieses Dinitro-Produktes gewonnen haben.

Zunächst wurde Isophtalaldehyd (VI) aus m-Xylol (III) durch Tetrabromierung und Verseifung erhalten, und dieser in Gegenwart von Alkali mit Aceton kondensiert. Mit Terephtalaldehyd

¹⁾ P. Ruggli und E. Girod, Helv. 27, 1464 (1944).

waren ähnliche Kondensationen schon von W. $L\ddot{o}w^1$) durchgeführt worden, wobei aber nur schlechte Ausbeuten erzielt werden konnten. Bessere Ergebnisse sind nach P. Ruggli und E. Girod nur bei Reaktionen in stark verdünnter Lösung zu erhalten²).

Die in der m-Reihe bisher unbekannte Kondensation verläuft aber, wie unsere Versuche zeigen, erheblich schlechter als in der p-Reihe. Die Methode von W. Löw ergibt hier überhaupt keine krystallisierten Produkte, während diejenige von P. Ruggli und E. Girod, die in der p-Reihe eine Ausbeute von 70% lieferte, in unserem Fall nur zu einer solchen von 32% an krystallisiertem einheitlichem Isophtalal-diaceton (VII) vom Smp. 103,5° führt.

Bei den Versuchen zeigte sich, dass der nach Abtrennung des krystallisierten Isophtalal-diacetons verbleibende Rückstand ein in Ligroin, Benzol, Äther und Alkohol nur sehr schwer löslicher, gelber amorpher Körper ist, der beim Verreiben mit Chloroform oder Aceton zu einem dickflüssigen Sirup aufgelöst wird. Der entsprechende Rückstand der p-Reihe ist von E. Girod³) eingehend untersucht worden; wir stellten fest, dass seine Ergebnisse auch für die m-Reihe gültig sind.

Die katalytische Hydrierung des Isophtalal-diacetons (VII) in Gegenwart von Raney-Nickel führt nach Aufnahme von zwei Mol Wasserstoff in fast quantitativer Ausbeute zum gesättigten m-Xylylendiaceton (IX), einer farblosen Flüssigkeit vom Siedepunkt 200°/12 mm, die aber nicht analysenrein erhalten wurde. Die Charakterisierung erfolgte durch Überführung in das von Ssolonina beschriebene Semicarbazon.

Da die Darstellung dieses Körpers auf dem beschriebenen Weg nur mit schlechten Ausbeuten durchzuführen ist, versuchten wir eine andere Darstellungsweise.

Ssolonina⁴) war es schon im Jahre 1904 gelungen, m-Xylylendiaceton durch Spaltung des Kondensationsproduktes aus ω , ω' -Dibromxylol und Natriumacetessigester zu erhalten. In dem uns allein zugänglichen Referat ist nur die Bildung des Kondensationsproduktes erwähnt, ohne Angabe der Ausbeute. Bei Wiederholung dieser Versuche gelang es uns nicht, das Kondensationsprodukt unzersetzt zu destillieren⁵). Wir führten daher die ganze Operation durch, ohne die Zwischenprodukte zu isolieren und erhielten das m-Xylylendiaceton (IX) in einer Ausbeute von 38,5 %, bezogen auf die angewendete Menge Dibrom-m-xylol. Das Semicarbazon aus diesem Öl schmilzt bei 191° und ist mit dem weiter oben erwähnten identisch.

Zur Einführung der beiden Stickstoffatome wurde das Dinitrom-xylylendiaceton dargestellt. Nach zahlreichen Versuchen gelang es, eine Vorschrift auszuarbeiten, die ein Dinitroprodukt vom

¹⁾ A. 231, 379 (1885). 3) E. Girod, Diss. Basel 1944.

²) P. Ruggli und E. Girod, l. c. ⁴) ж. **36**, 1234 (1904); C. 1905, I. 343.

⁵⁾ Diese Beobachtung wurde ebenfalls von *Ephraim*, B. **34**, 2790 (1901) gemacht, der das Öl auch im Vakuum nicht unzersetzt destillieren konnte.

Smp. 117—118° in einer Ausbeute von 45% liefert. In Analogie zu den Ergebnissen der Nitrierung des m-Xylols¹) ist eine Dinitrierung des m-Phenylengerüstes in 4,6-Stellung vor derjenigen in 2,4-Stellung zu erwarten, so dass wir vorerst annehmen, dass das isolierte Produkt 4,6-Dinitro-m-xylylendiaceton (X) ist.

Experimenteller Teil.

(Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert.)

Isophtalaldehyd (VI).

Die Tetrabromierung des m-XyloIs erfolgt im wesentlichen nach der Vorschrift von R. Deluchat²). Zum Umkrystallisieren kann auch Alkohol verwendet werden.

Die Verseifung des Tetrabrom-m-xylols führen wir, in Anlehnung an die für Tercphtalaldehyd angegebene Vorschrift von Weissberger und Bach³), mit konz. Schwefelsäure aus. Der aus Ligroin umkrystallisierte Isophtalaldehyd schmilzt bei 86,5—88^o (Lit. 89,5^o).

Isophtalal-diaceton (VII).5)

Die Kondensation erfolgt ganz analog derjenigen von Terephtalaldehyd mit Aceton, wie sie $P.\ Ruggli$ und $E.\ Girod^8\rangle$ beschreiben.

Eine Lösung von 10 g Isophtalaldehyd in 200 cm³ Aceton wird in dünnem Strahl zu einem mechanisch gerührten Gemisch von 2,5 kg Wasser, 1,5 kg Eis und 20 cm³ 10-proz. Natronlauge gegossen. Der Aldehyd scheidet sich zuerst in Form von feinen Nädelchen aus, löst sich aber in 15 Minuten wieder auf. Nun erfolgt eine sorgfältige Filtration zur Entfernung aller aus dem Eis stammenden Fremdkörper?). Man lässt 3—5 Tage bei Zimmertemperatur stehen, wobei sich ein gelblicher Niederschlag ausscheidet, bestehend aus amorphen Klumpen und wenigen deutlich erkennbaren Kryställchen. Das Rohprodukt wird auf einem Stoffilter abgenutscht und nach gründlichem Waschen mit viel Wasser im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Ausbeute: 13,6 g (85%)8).

Reinigung⁹): Das staubtrockene Produkt wird mit 20 g Seesand vermischt und im Soxhlet-Extraktionsapparat mit 130 cm³ Ligroin behandelt. Nach 10 Stunden hat sich im Kolben ein beinahe farbloses Öl angesammelt, das beim Abkühlen zu gelben Krystallen erstarrt. Ein dunkelgelber harter Bodenbelag wird mechanisch abgetrennt und mit dem Extraktionsrückstand vereinigt.

Ausbeute nach der Extraktion: 5,2 g (32%); Smp. 100—102°.

- ¹⁾ E. Grevingk, B. 17, 2422 (1884) erhielt die isomeren 2,4- und 4,6-Dinitro-m-xylole im Verhältnis 1:3. Vgl. auch A. 144, 275 (1867); 148, 4 (1868); G. 33, II, 277 (1903).
 - ²) Ann. chim. [11] 1, 207 (1934).
 - 3) Org. Synth. 20, 92 (1940).
 - 4) A. 347, 109 (1906).
- ⁵⁾ Die ersten Versuche zur Gewinnung von Isophtalal-diaceton wurden im hiesigen Institut von Hrn. *Martin Suter †* unternommen.
 - 6) Helv. 27, 1468 (1944).
- 7) Diese Filtration ist unbedingt erforderlich, da sonst das Reaktionsprodukt fast ausschliesslich amorphes, nicht brauchbares Material liefert.
- 8) Die Ausbeute konnte durch Arbeiten in noch grösserer Verdünnung etwas erhöht werden, doch wird das Handhaben der grossen Mengen Lösungsmittel sehr umständlich.
- ⁹) Das Rohprodukt kann auch durch Umkrystallisieren aus verdünntem Äthanol (Ruggli und Girod, l. c.) gereinigt werden. Die Ausbeute ist nahezu die gleiche wie beim hier angegebenen Verfahren, das Produkt ist aber unreiner und gelb gefärbt.

Zur völligen Reinigung werden die Krystalle im Schwertkolben einer Destillation unter einem Druck von 0,001 mm unterworfen. Bei 145—147° geht ein beinahe farbloses Öl über, das sofort erstarrt. Der Schmelzpunkt erhöht sich auf 103,5° (scharf).

4,090 mg Subst. gaben 11,765 mg CO₂ und 2,410 mg H₂O C₁₄H₁₄O₂ Ber. C 78,46 H 6,59% Gef. ,, 78,45 ,, 6,59%

m-Xylylendiaceton (IX).

1,07 g (5 Mol) Isophtalal-diaceton werden in 35 cm³ Benzol gelöst und nach Zusatz einer kleinen Spatelspitze Raney-Nickel mit Wasserstoff geschüttelt. In 10 Minuten werden 250 cm³ Wasserstoff aufgenommen (d. i. etwas mehr als 2 Mol H, pro Mol Substanz.) Die Hydrierung wird abgebrochen und die Lösung vom Nickel abfiltriert; sie ist nun vollkommen farblos. Auf dem Wasserbad wird das Lösungsmittel abdestilliert, zuletzt im Vakuum. Dann wird der Rückstand einer Vakuumdestillation unterworfen. Bei 200° 12 mm geht ein farbloses Öl über, das aber nicht analysenrein erhalten wurde.

Semicarbazon: 800 mg m-Xylylendiaceton und 600 mg Kaliumacetat werden in 2 cm³ Äthanol gelöst und eine Lösung von 600 mg Semicarbazid-hydrochlorid in 2,5 cm³ Wasser zugefügt. Nach einigen Minuten fällt das Semicarbazon in Form farbloser, prismatischer Kryställchen aus, die nach einmaligem Umkrystallisieren aus Äthanol bei 191° schmelzen.

1,295 mg Subst. gaben 0,285 cm³ N₂ (15,6°, 746 mm) $\rm C_{16}H_{24}O_2N_6$ Ber. N 25,30 Gef. N 25,55%

ω, ω'-Dibrom-m-xylol (IV).

Dargestellt nach der Vorschrift von Titley1).

m-Xylylendiaceton (IX).

Dieser Körper und sein Semicarbazon sind sehon von $Ssolonina^2$) durch Kondensation von m-Xylylendibromid mit Natriumacetessigester und nachfolgende Ketonspaltung dargestellt worden.

Da die Vorschrift uns im Original nicht zugänglich war, haben wir folgende Arbeitsbedingungen benützt:

Kondensation und Ketonspaltung erfolgen nacheinander ohne Isolierung der Zwischenstufen. 10 g Natrium werden in einem mit Rührer und Rückflusskühler versehenen Dreihalskolben in 200 cm³ absolutem Äthanol gelöst und nach Abkühlung mit 60 g Acetessigester versetzt. Die hellgelb und sehr warm gewordene Lösung wird wiederum auf Zimmertemperatur abgekühlt und langsam in einer Stunde mit kleinen Portionen ω, ω' -Dibrom-m-xylol (insgesamt 56 g) unter ständigem intensivem Rühren versetzt. Die ersten Portionen lösen sich leicht, sehr bald trübt sich aber die Lösung unter Erwärmen, und es fällt ein feiner pulvriger Niederschlag von NaBr aus. Nach 5 Stunden Rühren wird der Niederschlag abgesaugt und mit wenig absolutem Äthanol nachgewaschen. Nach dem Trocknen erhält man 32 g NaBr.

Das Filtrat mit dem Waschalkohol wird in den Kolben zurückgegeben, mit 30 g festem Kaliumhydroxyd versetzt (zur Verseifung) und weitere 5 Stunden bei 70° gerührt. Die Lösung scheidet nach kurzer Zeit einen pulvrigen Niederschlag von Alkalicarbonat aus und wird nach und nach, wohl infolge unerwünschter Nebenreaktionen, dunkelgelb³). Die Lösung wird nach Abkühlung auf 0° wiederum abfiltriert. Nach Waschen und Trocknen des Niederschlags werden 39,5 g Alkalicarbonat gewonnen. Nun wird das Filtrat mit wässriger Schwefelsäure angesäuert und der Alkohol unter zeitweiligem Zusatz von Wasser möglichst vollständig abdestilliert. Die zurückbleibende Emulsion wird mit

¹⁾ Soc. 1926, 513; vgl. auch Atkinson und Thorpe, Soc. 91, 1696 (1907).

²⁾ L. c.

³⁾ Man darf nicht zu lange verseifen, da sonst die Ausbeute wieder sinkt, bei zu kurzer Verseifung hingegen ist die Reaktion unvollständig.

Äther extrahiert und aus dem Ätherauszug werden die sauren Bestandteile mit 10-proz. Natronlauge abgetrennt. Nach sorgfältigem Waschen mit stark verdünnter Schwefelsäure und mit Wasser wird die ätherische Lösung mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Äthers wird der Rückstand einer Destillation im Hochvakuum unterworfen. Bei 130°,0,05 mm gehen 17,7 g eines hellgelben Öles über; die Ausbeute beträgt demnach 38,5%. Der nicht destillierbare Rückstand wiegt 16 g.

Das erhaltene Öl gibt leicht ein Semicarbazon, das in allen seinen Eigenschaften mit dem oben dargestellten übereinstimmt. Der Mischschmelzpunkt gibt keine Erniedrigung.

Nitrierung des m-Xylylendiacetons.

Nach Versuchen mit konz. Salpetersäure, mit rauchender Salpetersäure, mit Salpetersäure/Essigsäure-anhydrid, mit Nitriersäuren verschiedener Konzentration, die alle entweder Schmieren oder Öle und nur geringe Mengen an krystallisierten Produkten gaben, offenbar wegen Bildung verschiedener mehr oder weniger nitrierter und stellungsisomerer Körper, haben wir schliesslich ein Verfahren ausgearbeitet, das uns das gewünschte Dinitro-m-xylylendiaceton in einer Ausbeute von 46,5% lieferte. Die Bedingungen müssen aber genau eingehalten werden, da sonst die Ausbeute stark leidet.

Ein Gemisch von 100 cm³ reiner Schwefelsäure (d = 1,81) und $26\,\mathrm{cm}^3$ Salpetersäure (d = 1,39) wird auf -10^0 abgekühlt und unter intensivem Rühren mit 9,6 g m-Xylylendiaceton sehr vorsichtig versetzt. Nach den ersten Tropfen muss eine Pause eingeschaltet werden, während der das Nitriergemisch langsam unter Ausscheidung von Schwefelsäuremonohydrat-Krystallen und Erwärmen auf -5^0 dickflüssiger wird. Weitere Zugaben dürfen erst erfolgen, nachdem die Temperatur wieder auf -10^0 gesunken ist. Da das anwesende Monohydrat die Temperatur reguliert, kann man nun schneller arbeiten. Das Gemisch darf nicht dunkelgelb werden, sondern muss hell bleiben. Nach Beendigung des Zutropfens wird noch eine Stunde bei -10^0 stehen gelassen, dann auf 500 g Eis gegossen. Das ausgeschiedene braungelbe Öl erstarrt sehr bald zu schmierigen, harten Klumpen, die nach dem Stehen über Nacht im Eisschrank leicht von den Wandungen gelöst werden können. Sie werden abgenutscht, mehrmals mit viel Wasser gewaschen, zerkleinert und im Exsikkator über festem Kaliumhydroxyd getrocknet. Dieses 13,4 g wiegende Rohprodukt zeigt keinen Schmelzpunkt, sondern eine breite Schmelzzone von $30-80^\circ$.

Zur Reinigung löst man in 100 cm³ Methanol. Aus der filtrierten Lösung fallen beim Abkühlen schöne gelblichweisse feine Nadeln vom Smp. 110—113° aus. Nach mehrmals wiederholter Umkrystallisation steigt der Schmelzpunkt auf 117—118°. Ausbeute: 6,25 g (46,5%).

4,189 mg Subst. gaben 8,358 mg CO $_2$ und 1,966 mg H $_2$ O 3,740 mg Subst. gaben 0,305 cm 3 N $_2$ (25 0 , 741 mm) $C_{14}H_{16}O_6N_2$ Ber. C 54,50 H 5,18 N 9,09%
Gef. ,, 54,41 ,, 5,25 ,, 9,11%

Aus der Mutterlauge konnten bisher keine weiteren einheitlichen Körper abgetrennt werden.

Universität Basel, Anstalt für organische Chemie.

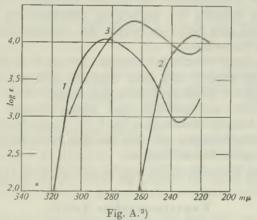
151. Zur Kenntnis der Triterpene.

(108. Mitteilung1).)

Über die U.V.-Bestrahlungsprodukte der α -Amyradienol-Derivate von O. Jeger, J. Redel und R. Nowak.

(29. VI. 46.)

Das aus α -Amyrin leicht zugängliche α -Amyradienol²) weist im U.V. ein Absorptionsspektrum mit einem Maximum bei 283 m μ , log $\varepsilon=4,03$ auf (Fig. A, Kurve 1), besitzt also zwei in einem Ring konjugierte Doppelbindungen. Es ist seit längerer Zeit bekannt, dass das Ergosterin und andere Sterine, die ein ähnliches System konjugierter Doppelbindungen wie das α -Amyradienol besitzen, durch Bestrahlung mit kurzwelligem Licht isomerisiert werden, indem der Ring B des Steroid-Gerüstes unter Bildung eines Triens geöffnet wird. Wir haben deshalb das α -Amyradienol-acetat mit ultraviolettem Licht behandelt, in der Annahme, dass eine ähnliche Reaktion wie bei Ergosterin eintreten werde. Das erwartete Trien wäre ein einfach zugängliches Ausgangsmaterial für weitere Abbaureaktionen.



Kurve 1. α-Amyradienol-acetat.

Kurve 2. Lumi-α-amyradienol-acetat.

Kurve 3. Pyro-lumi-α-amyradienol-acetat.

Bei der Belichtung mit einer Quecksilberlampe haben wir aus dem α -Amyradienol-acetat (Smp. 166–167°) in ca. 20-proz. Ausbeute ein noch unbekanntes, bei 131–132° schmelzendes Isomeres

¹) 107. Mitt. Helv. **29**, 1183 (1946).

²) Vgl. Helv. **26**, 12**3**5 (1943).

³⁾ Die Spektren wurden in alkoholischer Lösung aufgenommen.

erhalten, welches von uns als Lumi- α -amyradienol-acetat bezeichnet wird. Das U.V. Absorptionsspektrum der neuen Verbindung ist um ungefähr 60 m μ gegen den kurzwelligen Teil des Spektrums verschoben (Fig. A, Kurve 2). Im Gegensatz zum α -Amyradienol-acetat reagiert das Lumi- α -amyradienol-acetat mit Phthal-monopersäure. Es entstehen dabei zwei Reaktionsprodukte, eine gegen Tetranitromethan ungesättigte Verbindung $C_{32}H_{50}O_3$ und eine gesättigte Verbindung $C_{32}H_{50}O_4$, die beide im U.V. oberhalb 220 m μ keine Absorption aufweisen. Bei der Hydrierung des Lumi- α -amyradienolacetats mit Platinoxyd-Katalysator in Eisessiglösung wurde ein Tetrahydro-Derivat erhalten und als Allophanat charakterisiert.

Beim Erhitzen im Vakuum auf 200° geht das Lumi- α -amyradienolacetat in ein drittes, bei 161–162° schmelzendes Isomeres, das Pyrolumi- α -amyradienol-acetat über. Dieses besitzt ein Absorptionsspektrum mit einem Maximum bei 263 m μ log $\varepsilon=4,2$ (Fig. A, Kurve 3). Durch Bestrahlung wird das Pyro-lumi- α -amyradienolacetat in das Lumi- α -amyradienolacetat zurückverwandelt.

Da die Isolierung eines krystallinen Belichtungsproduktes mit geöffnetem Ring (vom Typus des Tachysterins bzw. Vitamins D) nicht gelungen ist, haben wir die alkoholischen Lösungen des α -Amyradienol-acetats und des "Pyro-lumi"-Derivates verschieden lang bestrahlt und die Absorptionsspektren der Lösungen direkt bestimmt, ähnlich wie es früher¹) bei Ergosterin durchgeführt wurde. Es ist uns jedoch auch hier nicht gelungen, die Anwesenheit eines Triens in Lösung nachzuweisen.

Analoge "Lumi"-Derivate erhielten wir aus dem Acetyl-dehydroursolsäure-methylester²) und dem Acetyl-dehydro- β -boswellinsäure-methylester³). Beim Erhitzen lieferte das "Lumi"-Derivat des Acetyldehydro-ursolsäure-methylesters das entsprechende "Pyro-lumi"-Produkt. Die Absorptionsmaxima im U.V. dieser Verbindungen sind in guter Übereinstimmung mit den bei den Derivaten des α -Amyradienol-acetats gefundenen Werten.

Der Rockefeller Foundation in New York danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil 4).

Bestrahlung von α -Amyradienol-acetat mit dem Licht der Quecksilberlampe.

 $5~g~\alpha\text{-Amyradienol-acetat}$, gewonnen durch Einwirkung von N-Brom-succinimid auf $\alpha\text{-Amyrin-acetat}^5)$, wurden in Portionen zu 500~mg in $20~\text{cm}^3$ abs. Benzol gelöst, die Lösung in ein flaches Quarzgefäss (Fassung ca. $150~\text{cm}^3)$ gefüllt, die Luft mit Stickstoff

²) Helv. **26**, 1235 (1943). ³) Helv. **27**, 1859 (1944).

⁵) Helv. **26**, 1235 (1943).

¹⁾ K. Dimroth, B. 70, 1631 (1937).

⁴) Die Schmelzpunkte sind korrigiert. Die optischen Drehungen wurden in Chloroformlösung in einem Rohr von 1 dm Länge bestimmt.

verdrängt und das Gefäss dicht verschlossen. Unter Wasserkühlung wurde das Gefäss wähernd 8 Stunden mit dem Lichte einer Quarzlampe (Marke Hanau) in 30 cm Entfernung bestrahlt. Darauf wurde das Lösungsmittel im Vakuum eingedampft und der harzige Rückstand in heissem Methanol gelöst. Nach einigem Stehen setzte die Krystallisation ein. Der gelbe Krystallbrei wurde abfiltriert und mit kaltem Methanol nachgewaschen. Die so gewonnenen krystallinen Produkte (1,63 g) wurden in Petroläther gelöst und durch eine Säule von 50 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) chromatographiert.

	Menge eluierter Substanz				
17	Spuren 850 mg, Smp. 129,5—131,5° 360 mg, Smp. 129,5—131° 20 mg, Smp. 130—131° 20 mg, Smp. 128—129,5° 20 mg, Smp. 126,5—129,5° 40 mg, ölig 40 mg, ölig 20 mg 10 mg, kryst. geimpft mit Fr. 30 50 mg, kryst. geimpft mit Fr. 30 130 mg, Smp. 140–142° 25 mg				

Fraktionen 3—16 wurden vereinigt. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Methanol erhielt man Nadeln vom Smp. 131,5—132,5° (1,04 g), die mit Tetranitromethan eine gelb-orange Färbung geben. Mit konz. Schwefelsäure gibt die Substanz eine orange Färbung, die auf Zusatz von Acetanhydrid ins Dunkel-braunviolette umschlägt. Mit Antimon(III)-chlorid in Chloroform (Carr-Price-Test) gibt sie eine helle rötlichbraune Färbung. Zur Analyse wurde im Hochvakuum 48 Stunden bei 90° getrocknet.

3,631 mg Subst. gaben 10,963 mg CO
$$_2$$
 und 3,539 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{32}H_{50}O_2$ Ber. C 82,34 H 10,80% Mol.-Gew. 466,7 Gef. ,, 82,40 ,, 10,91% ,, 442
$$[\alpha]_{\rm D} = +72,6^0 \ (c=1,10)$$

Es liegt das Lumi-a-amyradienol-acetat vor.

Die Fraktionen 27—30 wurden vereinigt. Die bei ca. 140° schmelzenden Krystalle sind mit dem Produkte der alkalischen Verseifung des Acetats identisch.

Verseifung. 450 mg Substanz wurden 3 Stunden mit 5-proz. methanolischer Kalilauge (20 cm³) gekocht und wie üblich aufgearbeitet. Aus Aceton-Methanol erhält man Nadeln vom Smp. 141,5—142°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum 36 Stunden bei 90° getrocknet.

Reacetylierung. 50 mg des Alkohols wurden kalt mit Acetanhydrid-Pyridin acetyliert. Aus Aceton-Methanol erhielt man flache, bei 131—132° schmelzende Prismen. die mit dem bei gleicher Temperatur schmelzenden Acetat identisch sind.

Oxydation des Lumi-a-amyradienol-acetats mit Phthal-monopersäure.

 $150~\rm mg$ Substanz wurden in $15~\rm cm^3$ Chloroform gelöst und mit $15~\rm cm^3$ Phthalmonopersäure (1 cm³ entspricht 3,14 cm³ 0,1-n. Na $_2\rm S_2\rm O_3$) versetzt. Nach 2 Wochen bei 0^0

wurde der Verbrauch von 1,2 Sauerstoffatomen festgestellt. Nach der Aufarbeitung wurde die Substanz in Petroläther gelöst und durch eine Säule aus 2 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) filtriert. 60 cm³ Petroläther eluierten 110 mg Substanz, die nach mehrmaliger Krystallisation aus Aceton bei 156—158° schmilzt. Das bei 110° während 48 Stunden im Hochvakuum getrocknete Analysenpräparat gibt mit Tetranitromethan eine gelbe, mit konz. Schwefelsäure eine dunkelrote Farbreaktion.

3,705 mg Subst. gaben 10,822 mg CO $_2$ und 3,477 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{32}H_{50}O_3$ $\rm Ber.$ C 79,61 $\rm H$ 10,44% $\rm Gef.$,, 79,71 $\rm ,,$ 10,50%

Es liegt ein Mono-oxyd vor.

50 cm³ Petroläther-Benzol-Mischung (5:1) eluierten 40 mg Substanz, die nach dreimaliger Umkrystallisation aus Aceton bei 159—160° schmilzt und gegen Tetranitromethan gesättigt ist. Die Mischprobe mit dem Mono-oxyd vom Smp. 156—158° schmilzt bei 140°. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum bei 110° getrocknet.

3,732 mg Subst. gaben 10,538 mg CO₂ und 3,369 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{32}H_{50}O_4$ Ber. C 77,06 H 10,11% Gef. ,, 77,06 ,, 10,10%

Bei einer analogen Oxydation mit Benzopersäure wurde in kleiner Ausbeute nur das bei 159—160° schmelzende Dioxyd isoliert.

 $C_{32}H_{50}O_4$ Ber. C 77,06 H 10,11% Gef. ,, 77,08 ,, 10,16%

Katalytische Hydrierung.

a) Mikrohydrierung: 4,428 mg Substanz, gelöst in 3 cm³ Eisessig, mit 14 mg vorreduziertem Platinoxyd-Katalysator verbrauchten 0,454 cm³ Wasserstoff (23°, 720 mm), d. h. 0.397 cm³ bei 0° und 760 mm.

Für $C_{32}H_{50}O_2$ Gef. Doppelbindungszahl 1,99.

b) Präparativer Ansatz: Im Vorversuch konnte das Acetat des Hydrierungsproduktes nicht krystallisiert werden. Es wurden deswegen 130 mg des entsprechenden Alkohols in Eisessig-Lösung hydriert und dann mit ätherischer Allophansäure-Lösung das Allophanat dargestellt. Aus Aceton-Methanol erhält man 30 mg Substanz, die bei 180—182° schmilzt und mit Tetranitromethan keine Farbreaktion gibt. Das Analysen-präparat wurde im Hochvakuum bei 110° getrocknet.

3,730 mg Subst. gaben 10,215 mg CO $_2$ und 3,491 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{32}H_{54}O_3N_2$ Ber. C 74,66 H 10,57% Gef. ,, 74,74 ,, 10,47%

Verseifung. 10 mg des Allophanates wurden mit 5 cm³ 5-proz. methanolischer Kalilauge während 2 Stunden am Rückfluss verseift. Der Alkohol konnte aber nicht krystallisiert werden.

Versuch einer Isomerisierung mit Platin-Katalysator. 20 mg Substanz wurden in 20 cm³ Eisessig gelöst und mit 20 mg vorhydriertem Platinoxyd-Katalysator unter Luftabschluss während 4 Stunden geschüttelt. Nach der Aufarbeitung wurde quantitativ das Ausgangsmaterial isoliert.

Erhitzen des Bestrahlungsproduktes im Hochvakuum auf 200°.

1. Acetat. 440 mg Substanz vom Smp. 131,5—132,5° wurden in 4 Ansätzen in kleinen Einschlussrohren im Hochvakuum eingeschmolzen und über Nacht auf 200° erhitzt. Hierauf wurde der glasige Inhalt des Rohres mit Äther herausgelöst und die Lösung abgedampft. Krystalle vom Smp. 131—133°. Diese wurden in Petroläther gelöst und durch eine Säule von 12 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) chromatographiert.

Frakt.	Lösungsmittel	Menge eluierter Substanz					
1 2-3 4 5-7 8 9-10 11 12 13	50 cm³ Petroläther 100 cm³ Petroläther 50 cm³ Petroläther 200 cm³ Petroläther 50 cm³ Petroläther 50 cm³ Petroläther-Benzol 9:1 100 cm³ Petroläther-Benzol 9:1 75 cm³ Petroläther-Benzol 9:1 75 cm³ Benzol 75 cm³ Benzol	Spuren 70 mg, Smp. 132,5—134,5° 1) 130 mg, Smp. 131,5—134,5° 80 mg, Smp. 129,5—132,5° 45 mg, Smp. 127,5—128,5° 40 mg, Smp. 125,5—127,5° 30 mg, Smp. 127,5—131,5° 30 mg, Smp. 125,5—129,5° 10 mg					

Fraktionen 2—11 wurden aus Aceton-Methanol umkrystallisiert. Nach der 3. Krystallisation stieg der Schmelzpunkt (evakuierte Kapillare) auf 161,5—162°. Grobe Prismen, die mit Tetranitromethan eine braune, mit konz. Schwefelsäure eine rotorange Färbung geben, die auf Zusatz von Acetanhydrid in dunkelrotviolett umschlägt; mit Antimon(III)-chlorid in Chloroform gibt die Substanz eine gelbe Färbung. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 150° Blocktemperatur sublimiert.

3,670 mg Subst. gaben 11,060 mg CO
$$_2$$
 und 3,521 mg $\rm H_2O$ C $_{32}\rm H_{50}\rm O_2$ Ber. C 82,34 H 10,80% Mol.-Gew. 466,7 Gef. ,, 82,24 ,, 10,73% ,, 479
$$[\alpha]_D=+94^0~(c=0,52)$$

2. Alkohol. 50 mg Substanz wurden gleich wie das Acetat erhitzt. Das amorphe Reaktionsprodukt wurde mit Acetanhydrid-Pyridin kalt acetyliert und dann aus Methanol umkrystallisiert. Das Acetat ist identisch mit der unter 1. gewonnenen Substanz.

Bestrahlung des "Pyro-lumi"-Produktes.

100 mg Substanz wurden in 40 cm³ Feinsprit gelöst und, wie oben angegeben, im Quarzgefäss unter Stickstoff während 2 Stunden mit der Quarzlampe bestrahlt. Danach wurde der Feinsprit im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit Methanol angespritzt. Es wurde zuerst aus Aceton-Methanol umkrystallisiert; man erhielt dabei 40 mg Nadeln, die unscharf bei 125° schmolzen. Nach weiterer Krystallisation aus gleichem Lösungsmittel stieg der Schmelzpunkt auf 130—131° (10 mg). Die Substanz zeigte mit dem Produkte der Bestrahlung des α -Amyradienol-acetats keine Erniedrigung des Schmelzpunktes, und auch die Farbreaktionen waren die gleichen. Dagegen mit dem ,,Pyro"-Produkt wurde eine starke Erniedrigung des Schmelzpunktes beobachtet. Zur Analyse wurde 40 Stunden bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

3,732 mg Subst. gaben 11,234 mg CO $_2$ und 3,569 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{32}H_{50}O_2$ $\rm Ber.~C~82,34~H~10,80\%$ $\rm Gef.~,~82,15~,~10,74\%$

Versuch der Hydrierung des "Pyro-lumi"- Produktes. 35 mg Substanz wurde in 30 cm³ Feinsprit (+1 Tropfen Eisessig) gelöst und nach Zusatz von 15 mg vorhydriertem Platinoxyd-Katalysator hydriert. Darauf wurde vom Platin abfiltriert und der Feinsprit im Vakuum eingedampft. Das Präparat wurde dreimal aus Aceton-Methanol krystallisiert und schmolz dann bei 131—133°). Es ist mit dem Ausgangsmaterial in allen Eigenschaften identisch.

Versuche der Anlagerung von Maleinsäure-anhydrid.

A. Mit dem "Lumi"-produkt.

In Benzollösung bei 80° . 100 mg Substanz und 50 mg Maleinsäure-anhydrid wurden in 15 cm³ abs. Benzol 4 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach Krystallisation aus Aceton

¹⁾ Die Schmelzpunkte sind in offener Kapillare bestimmt worden.

erhielt man 80 mg Krystalle, die bei 128° schmolzen und mit dem Ausgangsmaterial identisch sind.

Bei 100°. Gleicher Ansatz wie oben wurde im Einschlussrohr über Nacht auf 100° erhitzt, worauf das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft wurde. Der Rückstand wurde zweimal aus Aceton-Methanol krystallisiert (Smp. 128—129°) und erwies sich mit dem Ausgangsmaterial als identisch.

B. Mit dem "Pyro-lumi"-produkt.

 $50~{
m mg}$ wurden im Einschlussrohr mit $35~{
m mg}$ Maleinsäure-anhydrid in $3~{
m cm}^3$ abs. Benzol über Nacht auf 200° erhitzt. Es wurde nur das Ausgangsmaterial isoliert.

Bestrahlung des Acetyl-dehydro-ursolsäure-methylesters.

1 g Acetyl-dehydro-ursolsäure-methylester¹) wurde in 160 cm³ Feinsprit gelöst und während 16 Stunden wie oben angegeben bestrahlt. Das Lösungsmittel wurde dann auf etwa 10 cm³ im Vakuum eingeengt, worauf spontan Krystallisation eintrat. Es wurde zur Trockne eingedampft und der Rückstand in 80 cm³ Petroläther-Benzol (3:1) gelöst und durch eine Säule aus 30 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) filtriert. 1200 cm³ Petroläther-Benzol (3:1) eluierten rund 600 mg Substanz. 180 cm³ Petroläther-Benzol (2:1) eluierten 20 mg Substanz, Rest war amorph. Das Petroläther-Benzol (3:1)-Eluat wurde aus Aceton-Methanol umkrystallisiert. Nach drei Krystallisationen erhielt man Nadeln (300 mg), die bei 162—163° schmolzen. Mit Tetranitromethan gab die Substanz eine orange-, mit konz. Schwefelsäure eine dunkel-rote Färbung. Zur Analyse wurde über Nacht bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

3,734 mg Subst. gaben 10,640 mg CO₂ und 3,366 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{33}H_{50}O_4$ Ber. C 77,60 H 9,87% Gef. ., 77,76 ,, 10,09%

Absorptions maximum im U.V.: Endabsorption bei 220 m μ ; log $\varepsilon = 4.5$

"Pyro-lumi"-Derivat. Aus Aceton-Methanol erhielt man Nadeln vom Smp. 138—139°. Die Substanz gab mit Tetranitromethan eine Braunfärbung; in konz. Schwefelsäure löste sie sich mit dunkelroter Farbe, die auf Zusatz von Acetanhydrid ins Violette umschlug. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 120° Blocktemperatur sublimiert, wobei der Schmelzpunkt auf 139—141° stieg.

Lumi-acetyl-dehydro-\(\beta\)-boswellins\(\text{aure-methylester.}\)

Der Lumi-acetyl-dehydro- β -boswellinsäure-methylester wurde gleich wie die anderen "Lumi"-Derivate dargestellt. Aus Aceton-Methanol Nadeln vom Smp. 198—199°. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum bei 105° getrocknet.

3,781 mg Subst. gaben 10,759 mg CO $_2$ und 3,325 mg H $_2$ O C $_{33}$ H $_{50}$ O $_4$ Ber. C 77,60 H 9,87% Gef. ,, 77,65 ,, 9,84% Absorptionsmaximum im U.V.: $\lambda_{\rm max}=225$ m μ , log $\varepsilon=4$,5.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von den HH. $Hs.\ Gubser$ und $W.\ Manser$ ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule. Zürich.

¹⁾ Helv. 26, 1235 (1943).

152. Über den Einfluss von Nachbarsubstituenten auf die Additionsfähigkeit von Carbonylgruppen

(Carbonylgruppen und arom. Kohlenwasserstoffe, 5. Mitteilung 1)) von Jacques Wegmann und Hans Dahn.

(29. VI. 46.)

In früheren Mitteilungen¹) konnten wir zeigen, dass α-Dicarbonylverbindungen, wie Diketone und Ketosäuren, unter dem Einfluss saurer Katalysatoren (Aluminiumchlorid, Schwefelsäure usw.) aromatische Kohlenwasserstoffe addieren, wobei sie in erster Stufe in α-Oxy-carbonylverbindungen übergehen, die dann eventuell weitere Veränderungen erfahren. Dabei hat man es in der Hand, reaktionsträgere Carbonylverbindungen durch Anwendung der stärkeren Katalysatoren sowie solcher aromatischer Komponenten, in denen elektronenliefernde Hydroxyl- oder Aminogruppen die Umsetzung erleichtern, ebenfalls zur Reaktion zu bringen²).

Monoketone lassen sich im allgemeinen nur mit den aktivsten aromatischen Komponenten umsetzen3); dagegen addieren die reaktionsfähigeren Aldehyde, wie z. B. Chloral, auch schon Kohlenwasserstoffe4). Entsprechend reagiert Phenylglyoxal an der Aldehyd- und nicht an der Ketogruppe und liefert Benzoine⁵). Gewöhnlich bedürfen Ketogruppen des aktivierenden Einflusses einer benachbarten Carbonyl- oder Carboxylgruppe. Eine Oxygruppe kann diese Aktivierung nicht leisten; daher bleibt bei der Umsetzung von Diketonen die zweite Ketogruppe intakt. Ebenso fanden wir, dass Acetoin mit Benzol und Aluminiumchlorid oder Schwefelsäure nicht verändert wird, im Gegensatz zu Diacetyl⁶). — Eine Nitrilgruppe dagegen kann die benachbarte Ketogruppe aktivieren: D. Vorländer?) erhielt aus Benzoyl-cyanid Triphenyl-acetonitril. Allerdings können die Nitrilgruppen unter den gleichen Reaktionsbedingungen (arom. Kohlenwasserstoffe oder Phenole und saure Katalysatoren) auch selbst reagieren (Reaktion nach Houben und Hösch). — Eine benachbarte Doppelbindung schliesslich bewirkt keine Addition an die Carbonylgruppe, sondern wird ihrerseits zur Reaktion aktiviert8).

^{1) 4.} Mitt. J. Wegmann, H. Dahn, Helv. 29, 415 (1946).

²) Helv. 29, 423 (1946).

³⁾ Vgl. die Synthese des Krystallvioletts.

⁴⁾ A. Dinesmann, C. r. 141, 201 (1905); vgl. die Synthese von DDT.

⁵) R. C. Fuson u. M., Am. Soc. **57**, 1803 (1935); **58**, 1295 (1936); **61**, 412 (1939).

⁶⁾ J. Wegmann, H. Dahn, Helv. 29, 101 (1946).

⁷⁾ B. 44, 2466 (1911).

s) Z. B. liefert Benzal-acetophenon mit Benzol und Aluminium chlorid β, β-Diphenylpropiophenon. D. Vorländer, A. Friedberg, B. 56, 1144 (1923).

Wir versuchten noch, die Reaktion auf vic. Polyketone zu übertragen; wir fanden jedoch, dass Diphenyl-triketon (I) auch unter relativ milden Bedingungen (Benzol-Aluminiumchlorid bei 60°; Benzol-Schwefelsäure bei 0°) nur eine Kettenverkürzung erleidet und Benzil ergibt¹). Dimethyl-triketon liefert unter den Bedingungen der Reaktion keine definierten Produkte.

Während aliphatische Diketone meist bereitwillig mit Kohlen-wasserstoffen reagieren²), konnten wir Benzil nicht zur Umsetzung bringen³). Möglicherweise übt ein Phenylkern, ähnlich wie eine Tribrom-methyl-Gruppe⁴), einen hindernden Einfluss aus. Um dies zu prüfen, setzten wir aliphatisch-aromatische Diketone, und zwar Methyl-phenyl-diketon und Brommethyl-phenyl-diketon (II) mit Benzol und Aluminiumchlorid um. Während die bromfreie Verbindung, wie schon gelegentlich beobachtet²), nur undefinierte Produkte lieferte, konnte aus ihrem Bromderivat ein Oxyketon gewonnen werden. Dass es sich um Brommethyl-benzoin (III) handelt, wurde durch oxydative Spaltung zu Phenacylbromid und Benzoesäure nachgewiesen. Auch hier war also die Reaktion nur an der vom Phenylkern entfernteren Carbonylgruppe eingetreten.

Experimenteller Teil.

Methyl-phenyl-diketon5).

17 g Selendioxyd werden in 100 cm³ Dioxan unter gelindem Erwärmen gelöst, mit 20 g Phenylaceton versetzt und 4 Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wird das Dioxan über eine *Widmer*-Kolonne möglichst vollständig abdestilliert. Der Rückstand wird vom abgeschiedenen Selen abgegossen und dieses mit wenig Äther gewaschen. Beim Rektifizieren im Vakuum erhält man 13 g (60% d. Th.) vom Sdp. 15 mm 110—115°.

Umsetzung mit Benzol und Aluminiumchlorid. 2 g Methyl-phenyl-diketon wurden in der unten beschriebenen Weise mit Benzol und Aluminiumchlorid umgesetzt. Nach der üblichen Aufarbeitung hinterblieb ein Öl, aus dem nur Benzoesäure isoliert werden konnte.

¹⁾ Ähnliche Kettenverkürzungen sind bisher unter dem Einfluss von Oxydationsmitteln oder unter sehr viel stärkeren Bedingungen, wie in siedender Schwefelsäure, beobachtet worden: A. H. Blatt, W. L. Hawkins, Am. Soc. 58, 82 (1936); A. Schönberg, R. C. Azzam, Soc. 1939, 1428.

²) J. Wegmann, H. Dahn, Helv. 29, 101 (1946).

³) Unter sehr viel stärkeren Bedingungen geht es in Phenanthren-chinon über. R. Scholl, G. Schwarzer, B. 55, 324 (1922).

⁴⁾ Helv. 29, 104, 417 (1946).

⁵⁾ Oxydation von Propiophenon mit Selendioxyd zu Methyl-phenyl-diketon (Ausbeute 50%): H. L. Riley, Soc. 1932, 1878.

Brommethyl-phenyl-diketon1) (II).

2 g Methyl-phenyl-diketon werden in 15 cm³ abs. Chloroform gelöst und bei Siedehitze tropfenweise mit 3,5 g trockenem Brom in 5 cm³ Chloroform versetzt. Das Brom wird sofort entfärbt. Nach beendetem Zutropfen wird die braunorange Lösung noch eine halbe Stunde im Sieden erhalten. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels wird das Produkt im Vakuum destilliert. Sdp. 10 mm 145°. Es gehen 2,8 g (90% d.Th.) über; gelbes Öl.

2-Phenyl-3-brommethyl-chinoxalin.

Beim Verreiben von Brommethyl-phenyl-diketon (II) mit einer kalt gesättigten alkoholischen Lösung von o-Phenylendiamin färbt sich die Mischung sofort rot, und ein farbloser Niederschlag fällt aus. Aus wenig Methanol umkrystallisiert, erhält man das Chinoxalin in langen farblosen Nadeln vom Smp. 121—122°.

Brommethyl-benzoin (III).

2,5 g Brommethyl-phenyl-diketon (II) werden in 50 cm³ abs. Benzol gelöst, mit 3 g Aluminiumchlorid versetzt und eine Stunde unter Rühren bei 70° gehalten. Nach Erkalten wird die Lösung durch Einrühren in Eiswasser und Salzsäure zersetzt. Die Benzolschicht wird mit Hydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das zurückbleibende schwarzbraune Öl beginnt nach 2 Tagen zu krystallisieren. Durch Verreiben mit Petroläther wird die Krystallisation vervollständigt und harzige Nebenprodukte entfernt. Da der Schmelzpunkt auch nach Umkrystallisieren noch sehr unscharf ist, wird das Produkt durch Adsorption an Aluminiumoxyd und Eluieren mit Benzol-Petroläther (1:1) gereinigt. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Benzol-Petroläther liegt der Smp. bei 93—94°.

3,892 mg Subst. gaben 8,521 mg CO $_2$ und 1,583 mg $\rm H_2O$ $\rm C_{15}H_{13}O_2Br$ $\rm Ber.$ C 59,03 $\rm ~H~4,30\%$ $\rm Gef.$,, 59,75 $\rm ~,~4,55\%$

Oxydativer Abbau. 80 mg Brommethyl-benzoin (0,26 mMol) werden in 2 cm³ stabilisiertem Eisessig gelöst und mit 0,35 cm³ einer 0,76-n. Lösung von Chromtrioxyd in Eisessig (0,26 mMol) versetzt. Nach 10 Minuten Erwärmen auf 60° ist die Farbe der Lösung rein grün. Sie wird in Wasser gegossen, ausgeäthert, der Äther mit Natriumcarbonat-Lösung und Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das nach Abdestillieren des Lösungsmittels zurückbleibende Phenacylbromid wird mit Natriumjodid in Aceton umgesetzt²) und das dabei abgeschiedene Jod mit Thiosulfatlösung bestimmt. Daraus wurden etwa 0,1 mMol = 40% d. Th. an Phenacylbromid gefunden.

Aus dem Sodaextrakt werden durch Ansäuern und Ausäthern die sauren Oxydationsprodukte gewonnen. Aus ihnen liessen sich 20 mg Benzoesäure (0,17 mMol = 65% d. Th.) isolieren.

Di-phenyl-triketon (I).

Die Verbindung wurde nach Org. Synth.3) aus Dibenzoyl-methan dargestellt.

Umsetzung mit Benzol und Aluminiumchlorid. 2 g Triketon-monohydrat werden in 70 cm³ abs. Benzol gelöst und unter Rühren mit 2 g Aluminiumchlorid versetzt. Die tiefblaue Lösung wird eine Stunde auf 60° erwärmt und dann in üblicher Weise aufgearbeitet. Nach Entfernen des Lösungsmittels hinterbleibt ein blauschwarzer Rück-

ĺū

¹⁾ Einwirkung von Brom auf Methyl-phenyl-diketon: H. Erlenmeyer, H. Überwasser, Helv. 23, 205 (1940).

²) H. Finkelstein, B. **43**, 1528 (1910); vgl. C. Paal, H. Stern, B. **32**, 532 (1899).

³⁾ Org. Synth. Coll. Vol. II, 244.

stand, aus dem nach Umkrystallisieren aus Alkohol unter Zusatz von Tierkohle 1 g gelbliche Krystalle isoliert werden können. Der Schmelzpunkt liegt nach mehrmaligem Umkrystallisieren bei 97°. Eine Mischprobe mit Benzil zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung.

Die Umsetzung des Triketons mit Benzol und Schwefelsäure ergab auch bei 0^{0} nur Benzil¹).

Universität Basel, Anstalt für organische Chemie.

153. Über Steroide und Sexualhormone.

(133. Mitteilung²)).

Verseifungsgeschwindigkeiten in Stellung 14 und 17 isomerer Ätiosäure-methylester

von H. Heusser, Kd. Meier und L. Ruzicka. (29. VI. 46.)

M.~Sorkin und $T.~Reichstein^3$) haben gezeigt, dass in der Desoxy-cholsäure die Hydroxyl-Gruppe an C 12 und die Seitenkette an C 17 in trans-Stellung zueinander liegen. Die Annahme, dass die erwähnte Oxy-Gruppe die β -Stellung (Lage oberhalb der Projektionsebene) einnehme, welche sich auf Röntgenaufnahmen von $G.~Giacomello^4$) stützt, führte zur Zuweisung einer $17-\alpha$ -Seitenkette an die genannte Säure und somit auch an die übrigen natürlichen Steroide.

In den vorangehenden Mitteilungen dieser Reihe⁵)⁶)⁷) haben wir die Carboxyl-Gruppe der "normalen" 3β -Acetoxy-5-allo-ätiocholansäure (natürliche Konfiguration an C 17) in 17- β -Stellung angenommen⁸) und einige neue Gründe für diese Annahme bekannt gegeben. Obwohl wir uns bewusst sind, dass der Vergleich der Verseifungsgeschwindigkeiten epimerer Carbonsäure-ester kein sehr sicheres Mittel zur Bestimmung der Konfigurationen ist, haben wir die Verseifungsgeschwindigkeiten der drei bekannten in Stellung 14 bzw. 17

Diphenyl-triketon und siedende konz. Schwefelsäure: A. Schönberg, R. C. Azzam, Soc. 1939, 1428.

²) 132. Mitt., Helv. 29, 1195 (1946).

³⁾ M. Sorkin und T. Reichstein, Helv. 27, 1631 (1944).

⁴⁾ G. Giacomello, G. 69, 790 (1939).

⁵⁾ L. Ruzicka, Pl. A. Plattner, H. Heusser und J. Pataki, Helv. 29, 936 (1946).

⁶) Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, J. Pataki und Kd. Meier, Helv. 29, 942 (1946).

⁷⁾ Dieselben, Helv. 29, 949 (1946).

⁸⁾ Vgl. dazu T. F. Gallagher und W. P. Long, J. Biol. Chem. 162, 507 (1946), die die gleiche Formulierung begründen, sowie die röntgenographischen Untersuchungen an Cholesteryl-jodid von C. H. Carlisle und D. Crowfoot, Proc. Royal Soc. [A] 184, 64 (1945).

isomeren 5-Allo-ätiocholansäure-methylester gemessen, um weitere Anhaltspunkte für die Stellung der Seitenkette zu erhalten.

Am Raummodell betrachtet, erschienen uns die Carbomethoxy-Gruppen der Verbindungen (I), (III) und (IV) etwa in gleichem Masse sterisch gehindert, während die Ester-Gruppe in (II) durch ihre Nachbarschaft zu den Wasserstoff-Atomen in 12α und 14α in ihrer Reaktionsfähigkeit ziemlich stark gehemmt erscheint. In Übereinstimmung mit diesen Modellbetrachtungen wurden unter den angewandten Bedingungen der 5-Allo-ätiocholansäure-methylester (IV)²) etwa in gleichem Masse verseift, während der 5-Allo-17-iso-ätiocholansäuremethylester (II)³) sich als bedeutend schwerer verseifbar erwies. Die Ergebnisse sind in der Tabelle A zusammengefasst.

Tabelle A.

Sterische Lage der Substi- tuenten an C 14 und C 17	Relative Verseif- barkeit der Ester nach Betrachtungen am Raummodell	Experimentell gefundene Werte; % verseifter Ester		
14 α (normal); 17 β (normal) (I)	gut	48,33; 44,11		
14 α (normal); 17 α (iso) (II)	schlecht	17,83		
14 β (allo); 17 β (normal) (III)	gut	unbekannt		
14 β (allo); 17 α (iso) (IV)	gut	48,64		

Der Rockefeller Foundation in New York und der Ciba Aktiengesellschaft in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil4).

17-Iso-5-allo-ätiocholansäure-methylester (II)⁵) durch Isomerisierung von Allo-ätiocholansäure-methylester (I) mit Natrium-äthylat.

740 mg Allo-ätiocholansäure-methylester wurden mit Natrium-äthylat, bereitet aus 1 g Natrium und 15 cm³ 96-proz. Äthanol, im Einschlussrohr 22 Stunden auf 200—210° erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde mit Salzsäure angesäuert und mit Essigester extrahiert. Nach dem Trocknen und Eindampfen der Essigesterlösung ergaben sich 700 mg

¹⁾ J. von Euw und T. Reichstein, Helv. 27, 1851 (1944); Pl. A. Plattner und A. Fürst, Helv. 26, 2266 (1943).

²) Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, J. Pataki und Kd. Meier, Helv. 29, 949 (1946).

³) Die Verbindung wurde von *J. von Euw* und *T. Reichstein* [Helv. **27**, 1851 (1944)] bereits beschrieben und ist in unserem Institut durch Isomerisierung von (I) hergestellt worden.

⁴⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

⁵⁾ Vgl. J. von Euw und T. Reichstein, Helv. 27, 1851 (1944).

krystallisiertes Produkt, aus welchem durch zweimaliges Umkrystallisieren aus Aceton-Methanol 380 mg reine Allo-ätiocholansäure vom Smp. 233—234° 1) abgetrennt werden konnten.

Die Mutterlaugen wurden vereinigt, in Äther gelöst und mit Diazomethan verestert. Es wurden 320 mg rohes Estergemisch erhalten, welches an der 60-fachen Menge (18 g) Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) sorgfältig chromatographiert wurde. Die ersten zehn mit reinem Petroläther eluierten Fraktionen ergaben zusammen 110 mg 17-Iso-5-allo-ätiocholansäure-methylester vom Smp. 129—131,5°. Dreimal aus Aceton-Methanol umkrystallisiert, schmolz der in langen, dicken Prismen erhaltene Ester bei 134—135°. Zur Analyse wurde er bei 90° im Hochvakuum sublimiert.

Verseifungsversuche:

a) 5-Allo-ätiocholansäure-methylester (I).

22,440; 24,782 mg Subst. wurden in je 5 cm³ 0,1-n. alkohol. Kalilauge 1 Stunde am Rückfluss gekocht und anschliessend die unverbrauchte Kalilauge mit 0,1-n. Schwefelsäure zurück titriert.

Theoretischer Verbrauch
Gefundener Verbrauch
Verseift wurden

0,705; 0,778 cm³ 0,1-n. KOH
0,311; 0,376 cm³ 0,1-n. KOH
44,11; 48,33%

Durch Ansäuern der Reaktionslösung mit Salzsäure, Extraktion mit Äther und Methylierung der freien Säure mit Diazomethan konnte der Ester (I) quantitativ regeneriert werden.

b) 5-Allo-17-iso-ätiocholansäure-methylester (II).

24,444 mg Subst. wurden wie unter a) beschrieben verseift:
Theoretischer Verbrauch
Gefundener Verbrauch
Verseift wurden

0,768 cm³ 0,1-n. KOH
0,137 cm³ 0,1-n. KOH
17,83%

Aus der Reaktionslösung konnten durch Ansäuern mit Salzsäure, Extraktion mit Äther und Nachmethylierung mit Diazomethan 20 mg von (II) regeneriert werden.

c) 5,14-Diallo-17-iso-ätiocholansäure-methylester (IV).

22,195 mg Substanz wurden analog a) verseift: Theoretischer Verbrauch 0,697 cm 3 0,1-n. KOH Gefundener Verbrauch 0,339 cm 3 0,1-n. KOH Verseift wurden 48,64 $^{\circ}$

Aus der Reaktionslösung konnte der Ester (IV) nach Behandlung wie oben quantitativ regeneriert werden.

Die Analyse und die Verseifungsversuche wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

¹⁾ Vgl. J. von Euw und T. Reichstein, Helv. 27, 1851 (1944).

154. Sur la biochimie générale des phosphatases1)

par Jean Roche.

(17 VI 46)

Un grand intérêt s'attache à l'étude des phosphatases, tant en raison de la multiplicité des combinaisons phosphorées naturelles qu'elles synthétisent et dégradent dans les cellules, que de leur participation aux processus physiologiques les plus divers, depuis le métabolisme intermédiaire des glucides jusqu'à la régulation rénale de l'équilibre acide-base et à l'ossification. On connaît depuis près de quarante ans l'existence d'enzymes hydrolysant les esters orthophosphoriques (Suzuki, Yoshimura et Takaishi, 1907), mais leur étude n'a pris un développement important qu'après la démonstration en 1923, par Robison²), du rôle joué par une phosphatase dans la calcification des os et, ultérieurement, avec l'identification de nombreuses réactions spécifiques de phosphorylation et de déphosphorylation dans le métabolisme cellulaire. L'ensemble de la biochimie des phosphatases ne saurait plus être présenté utilement que dans des mises au point assez étendues; celles que lui ont consacré Folley et Kay³). Albers 4), Roche et Courtois 5), répondent à ce but. Je me propose seulement de situer dans son cadre un certain nombre de données d'acquisition récente, permettant de saisir la position des biochimistes devant les principaux problèmes de ce domaine et de montrer l'évolution de ceux-ci au cours des dernières années.

A. — L'individualisation et la classification des phosphatases.

Les phosphatases sont des enzymes dont l'activité donne naissance à de l'acide orthophosphorique ou opère à partir de celui-ci la synthèse de produits divers. Cette définition, très large, englobe la catalyse de réactions multiples: l'hydrolyse et la synthèse des monoet des diesters orthophosphoriques, des pyrophosphates, des phosphoamides, des anhydrides de l'acide orthophosphorique et d'acides organiques, l'hydratation des métaphosphates. Par ailleurs, certaines réactions cellulaires de phosphorylation ou de transphosphorylation

¹⁾ Le comité de rédaction des Helv. chim. acta a décidé de publier (en partie sous forme de résumés) les conférences et communications présentées aux «Journées biochimiques franco-suisses», organisées à Bâle, du 24 au 27 mai 1946, sous les auspices de la Société de Chimie biologique de France, de la Société suisse de Chimie et de la Société suisse de Physiologie et de Pharmacologie; se référer aux numéros 154—178 de ce fascicule.

²⁾ R. Robison, Biochem. J. 17, 286 (1923).

³⁾ S. J. Folley et H. D. Kay, Ergebn. Enzymforsch. 5, 159 (1936).

⁴⁾ H. Albers, Handb. d. Enzymolog. 1, 408 (1940).

⁵⁾ J. Roche et J. Courtois, Exposés ann. de Biochim. méd. 4, 219 (1943).

n'évoluent pas de manière autonome; elles sont couplées avec d'autres processus et leur étude dépasse le cadre de cet exposé. Aussi a-t-on décrit un nombre considérable d'actions phosphatasiques, en apparence spécifiques, entre lesquelles il a été difficile d'établir un lien, ce qui a longtemps maintenu les recherches consacrées aux phosphatases sur un plan descriptif.

Il convenait tout d'abord d'individualiser et de classer ces enzymes pour les étudier, et le premier critère auquel les biochimistes ont
fait appel pour y parvenir est la spécificité du substrat. Il a été possible de distinguer ainsi des phosphatases actives sur un type de
liaison, quelle que soit la constitution du substrat dans lequel celle-ci
est présente, et d'autres de spécificité plus étroite, actives sur un seul
substrat ou sur un petit nombre de corps de structure voisine. On
trouvera dans le tableau I l'énumération des principales phosphatases
ainsi caractérisées.

Tableau I. Spécificité et principales localisations des divers types de phosphatases

оресилено странция						
Type d'enzyme	Principales sources					
A. Phosphatases spécifiques d'un type de liaison						
Phospho-monoestérases	Os, rein, intestin, graines, levures, cham- pignons supérieurs					
Phospho-diestérases	Foie, rein, levures, venins					
Pyrophosphatases	Foie, rein, intestin, levures, champignons supérieurs					
Phospho-amidases	Rein, sons des céréales					
Phospho-acylases	Muscles, bactéries					
B. Phosphatases spécifiques d'un seul ou d'un petit nombre de substrats						
Adényl-pyrophosphatase .	Muscle, foie, intestin					
Phytase	Sons, rein					
Polyphosphatase	Intestin, levures, moisissures					
Cholinephosph atase	Intestin, venins					
5-Nucléotidase	Testicules, venins					
Métaphosphatase	Levures, moisissures, rein					

Les actions enzymatiques correspondantes ont, en général, pu être séparées les unes des autres. Toutefois, ce n'est pas là une preuve absolue de leur individualité, car il peut suffire de détruire un groupement de l'apoenzyme auquel se fixe préférentiellement un substrat pour faire disparaître toute action sur celui-ci sans avoir éliminé un enzyme spécifique. Cette réserve ne s'applique sans doute pas à l'individualité des phosphatases du groupe A (tableau I), dont les apoenzymes paraissent différents. Elle est, par contre, importante dans le cas des enzymes du groupe B, dont je n'ai mentionné que ceux dont l'existence est bien étable, sans faire état d'autres, en parti-

culier d'une amylo-phosphatase et d'une hexose-diphosphatase, insuffisamment caractérisées. Il convient dans ce domaine de ne retenir que les résultats établis sur des enzymes purifiés, car des effecteurs naturels peuvent inhiber l'hydrolyse d'un substrat plus fortement que celle d'un autre et, par là, modifier la spécificité apparente d'une phosphatase brute. Des faits de cet ordre sont probablement à l'origine des discussions sur l'existence présumée des α - et β -glycérophosphatases spécifiques¹).

La notion d'isodynamie des phosphatases, dégagée par Bamann et Diederichs²) de leurs propres observations et de celles faites par Munemura³), par Belfanti, Contardi et Ercoli⁴) sert de base à une différenciation plus précise de ces enzymes. Les tissus animaux et végétaux renferment en effet presque toujours un mélange de phosphatases actives sur les mêmes substrats et dites pour cette raison isodynames, mais se distinguant les unes des autres par leur p_H optimum d'action. Ainsi a-t-on pu différencier quatre phospho-monoestérases, trois pyrophosphatases et, avec moins de précision, trois phospho-diestérases isodynames.

Il convient de montrer par quelques exemples les difficultés auxquelles se sont heurtés les biochimistes dans ce domaine, car la présence d'enzymes isodynames est souvent masquée par des inhibiteurs naturels ou par l'inégale stabilité de certaines phosphatases à des p_H particuliers. Ainsi, comme en rend compte l'examen des figures 1 et 2 empruntées à Nguyen-van $Thoai^5$), l'extrait aqueux de divers Basidiomycètes hydrolyse les pyrophosphates au p_H optimum = 3,8—4,0, tandis que le même milieu présente, après agitation au contact de kaolin à p_H = 6,0, deux p_H optima d'action, dont celui à p_H voisin de 6,0 est en général le plus marqué. L'adsorption au kaolin d'un inhibiteur de la pyrophosphatase active au p_H optimum 6,0, en même temps que celle d'une partie de l'enzyme paraissant seul présent dans l'extrait initial, permet donc de mettre en évidence une seconde pyrophosphatase.

De même, la phospho-monoestérase des hématies de p_H optimum = 3,5 se différencie des autres enzymes isodynames par son instabilité en milieu neutre, sa destruction entraînant un décalage du p_H optimum apparent (5,2) d'une phosphatase coexistante, car la cessation de l'activité de la première à ce p_H permet alors à la seconde

¹⁾ E. Bamann et W. Salzer, Bjoch. Z. 286, 187 (1936); 288, 299 (1936); J. Courtois, Thèse Doct. Sc. phys., Paris, 1938, 1 vol., 205 p.; Nguyen-van Thoai, Bl. Soc. Chim. biol. (Trav.) 24, 1077 (1942); J. Roche et M. Latreille, Enzymol. 3, 75 (1937); A. Schäffner et E. Bauer, Z. physiol. Ch. 232, 66 (1935).

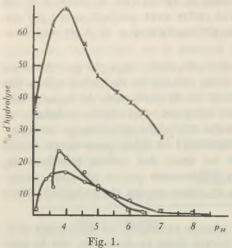
²⁾ E. Bamann et K. Diederichs, B. 67, 2019 (1934); 68, 6 (1935).

³⁾ S. Munemura, J. Biochem. 17, 343 (1933).

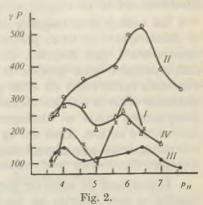
⁴⁾ S. Belfanti, A. Contardi et A. Ercoli, Biochem. J. 29, 517, 842 et 1491 (1935).

⁵⁾ Nguyen-van Thoai, Bl. Soc. Chim. biol. (Trav.) 23, 1277 (1941).

d'assurer seule l'hydrolyse du substrat à son p_H optimum réel de 6,0—6,4¹). Ces exemples montrent que la caractérisation d'une phosphatase par un p_H optimum d'action ne peut être réalisée que sur des enzymes purifiés.



Activité pyrophosphatasique d'extraits aqueux de divers Basidiomycètes en fonction du p_H du milieu (Abscisses: p_H. Ordonnées: % de substrat hydrolysé) (d'après Nguyen-van Thoai).



Activité pyrophosphatasique d'extraits aqueux de divers Basidiomycètes après traitement par le kaolin à $p_H = 6.0$, en fonction du p_H du milieu (Abscisses: p_H . Ordonnées: gamma P minéral libérés) (d'après Nguyen-van Thoai).

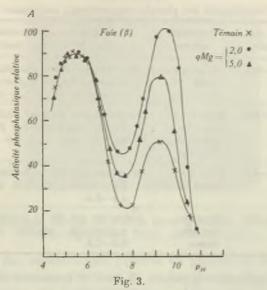
Il en est de même des autres caractères mis à profit pour classer les phosphatases, dont le plus important est la sensibilité aux effecteurs, élément primordial de la régulation physiologique de l'activité de ces enzymes. La figure 3, empruntée à Roche et Bullinger²), illustre le parti que l'on peut tirer à cet égard de l'étude d'un effecteur, en l'espèce l'ion Mg⁺⁺, actif sur une seule de deux phospho-monoestérases isodynames simultanément présentes.

De nombreux exemples montrent l'absolue nécessité de purifier les phosphatases pour étudier leur sensibilité aux effecteurs, dont l'action peut être affaiblie, ou même ne pas se manifester, en présence d'inhibiteurs naturels. Ainsi, l'ion Mg^{++} active très énergiquement la pyrophosphatase de p_H optimum = 7,6 purifiée par Bailey et $Webb^3$) à partir des levures, tandis que son effet sur le même enzyme dans les extraits de tissus bruts est si irrégulière qu'elle est niée par de nombreux auteurs. Les multiples contradictions que l'on relève

¹⁾ J. Roche, Nguyen-van Thoai et J. Baudouin, Bl. Soc. Chim. biol. (Trav.) 24, 1247 (1942).

J. Roche et E. Bullinger, Enzymol. 7, 278 (1939).
 K. Bailey et E. C. Webb, Biochem. J. 38, 394 (1944).

dans les travaux consacrés aux effecteurs des phosphatases sont souvent dues à l'inégalité dans le degré de purification des enzymes étudiés et à l'existence, pour de nombreux produits actifs, de concentrations optima auxquelles certains auteurs ont négligé d'opérer; je reviendrai plus bas sur ce point.



Activité phospho-monoestérasique vis-à-vis du β -glycerophosphate de sodium d'extraits de foie de Porc en la présence ou en l'absence d'ions Mg^{++} ($qMg = -\log [Mg]$) après 24 heures de dialyse contre eau distillée (Abscisses: p_H . Ordonnées: activité phosphatasique relative) (d'après Roche et Bullinger).

Tenant compte de ces faits généraux et de quelques autres, il a été possible de proposer une classification provisoire des phosphomonoestérases et des pyrophosphatases isodynames (Munemura, Folley et Kay, Roche et Courtois) que le tableau II reproduit en partie. Bien que constituant seulement une première ébauche, car elle n'a pu être établie que sur des produits d'inégale pureté, cette classification est très utile; elle permet en effet l'étude descriptive des systèmes phosphatasiques naturels. Ceux-ci sont en général complexes, en dehors des cas particuliers de la prostate, riche seulement en phospho-monoestérase II, et des os, renfermant presque exclusivement l'enzyme isodyname I.

Les cellules végétales sont la plupart du temps riches en enzymes (phospho-estérases et pyrophosphatases) actifs en milieu acide et les cellules animales en phosphatases de p_H optimum alcalin. Aussi, étant donnée la multiplicité des phosphatases présentes, la caractérisation précise des constituants des mélanges naturels doit-elle toujours précéder la purification de chacun. L'étude sur ce plan des

systèmes phosphatasiques était il y a dix ans le principal objet des recherches. Elle a constitué une étape de la biochimie de ces enzymes aujourd'hui presque achevée et préparé l'étude des phosphatases purifiées.

Tableau II.
Classification des phospho-monoestérases isodynames

Type Nº	p _H opt. d'act.	Principale source	Principaux caractères dans les extraits tissulaires
I	8,69,4	Os, rein, Intestin, Gl.	Activation par Mg $^{++}$; Inhibition par -SH; Action préfér. sur β -glycéroph.; stabilité maxima p _H = 7,5 -8 ,5.
II	5,0—5,5	Foie, Graines, Champignonssup., Prostate	Aucune action de Mg ⁺⁺ ; Inhibition par F ⁻ ; Action préfér. sur β -glycéroph.; stabilité max. $p_H = 5.0 - 6.0$.
III	3,4—4,2	Foie, Le- vures hautes	Inhihition par Mg ⁺⁺ ; Action préfér. sur β -glygéroph.; stabilité max. p _H = 4,5-5,5.
IV	5,0—6,0	Hématies, Levures basses	Activation par Mg $^{++}$; Action préfér. sur α -glycéroph.; stabilité max. $p_H = 6.5-7.5$.

B. — Les phosphatases purifiées. Nature et propriétés de la phosphomonoestérase alcaline.

La préparation et l'étude des enzymes purifiés relève de la chimie des protéines; aussi les méthodes propres à celle-ci ont-elles été mises en œuvre pour isoler et caractériser des phosphatases. Elles n'ont jusqu'ici donné des résultats satisfaisants que dans trois cas: ceux de la phospho-monoestérase acide (type II) de la prostate, de la phospho-monoestérase alcaline (type I) du rein et de l'intestin, et de la pyrophosphatase alcaline des levures, le second enzyme seul ayant été préparé à l'état cristallisé. L'activité des produits les plus purs, exprimée en millimolécules de substrat (β-glycerophosphate de sodium et pyrophosphate de sodium) hydrolysées par gramme d'enzyme et par minute, au p_H optimum et à 37°, est égale au dédoublement de 170 millimolécules pour la phospho-monoestérase acide de la prostate obtenue par Kutscher et Wörner¹), à 140 millimolécules pour la phospho-monoestérase alcaline du rein ou de l'intestin cristallisée activée au maximum (Nguyen-van Thoai, Roche et Sartori2) et à 70 millimolécules pour la pyrophosphatase alcaline des levures isolée par Bailey et Webb3). Ces données ne sauraient être tenues pour absolues.

W. Kutscher et A. Worner, Z. physiol. Ch. 238, 275 (1936); 239, 109 (1936).
 Nguyen-van Thoai, J. Roche et L. Sartori, C. r. Soc. Biol. 138, 47 (1944).

³⁾ K. Bailey et E. C. Webb, Biochem. J. 38, 394 (1944).

car l'activité d'un enzyme est fonction des conditions dans lesquelles elle s'exerce; elles indiquent un ordre de grandeur. Il est remarquable que celui-ci soit très voisin de l'activité d'autres enzymes considérés comme purs et participant au métabolisme des esters phosphoriques, à savoir: l'énolase et les zymohexases¹).



Fig. 4.

Phospho-monoestérase alcaline du rein de Bœuf cristallisée (grossissement ×200)

(d'après Nguyen-van Thoai, Roche et Sartori.)

Il n'est pas actuellement possible de préciser le degré de pureté des trois préparations retenues ici et les récents travaux de l'école anglo-américaine sur l'adsorption de l'adényl-pyrophosphatase à la myosine B cristallisée ont apporté une preuve nouvelle du fait que la cristallisation d'un produit doué d'une activité enzymatique élevée ne constitue pas à cet égard un critère absolu. Il est néanmoins probable que ces produits sont en majeure partie constitués par des phosphatases.

La phospho-monoestérase alcaline hautement purifiée ayant seule fait l'objet de travaux étendus, je me bornerai à son étude. Les préparations cristallisées douées d'une activité phospho-estérasique spécifique renferment une protéine contenant en moyenne 0,30 pour 100 de magnésium et 0,05 pour 100 de zinc. Leurs solutions présentent un spectre ultraviolet atypique, analogue à celui de nombreuses protéines; elles sont actives sur de très nombreux esters phosphoriques, mais non sur les pyrophosphates, et hydrolysent l'acide β -glycérophosphorique plus rapidement que son isomère α . Il nous est rapidement apparu que l'activité de l'enzyme diminue à la suite de cristal-

¹⁾ Selon O. Warburg et W. Christian (Bioch. Z. 310, 384 (1941); 311, 208 (1942); 314, 148 (1943), l'énolase pure des levures transforme par gramme et par minute à 370 180 millimolécules d'acide 2-phosphoglycérique en acide phosphopyruvique et la zymohexase pure du muscle, dont l'apoenzyme a été cristallisé, dédouble 70 millimolécules d'acide fructose-diphosphorique en acides dioxyacétone-phosphorique et glycérine-aldéhyde-phosphorique.

lisations successives et que l'étude de sa constitution ne pourrait être abordée qu'après celle de son activation et de sa réactivation, à laquelle nous nous sommes attachés.

Les recherches d'Erdtmann1), de Jenner et Kay2) ont établi que la phospho-monoestérase alcaline de divers organes est activée par l'ion Mg^{++} , à concentration optima $5 \times 10^{-2} - 1 \times 10^{-2} M$, et il en serait de même, à des concentrations en sels métalliques diverses, pour d'autres ions divalents, entre autres Mn++ et Zn++. Toutefois cette notion a fait l'objet de multiples controverses, particulièrement en ce qui concerne Mn++3). En fait, comme l'ont montré Nguyenvan Thoai et Raymond 4), la sensibilité des phosphatases à divers effecteurs est liée à leur degré de purification; de même leur comportement vis-à-vis des formateurs de complexes (cyanures, α, α'-dipyridyl, diéthyldithiocarbamate de sodium, o-phénanthroline). Il était important de préciser si divers métaux sont ou non activateurs de l'enzyme et dans quelle mesure un rôle coenzymatique leur est dévolu. Je ne puis ici que résumer très brièvement certaines des expériences que nous avons poursuivies dans ce but sur l'activation de la phosphatase par les cations divalents et sur l'effet coactivateur des acides aminés.

Après une dialyse de 15 à 20 jours à 37° contre de l'eau bidistillée, l'enzyme a perdu la plus grande partie de son pouvoir hydrolysant. Celui-ci peut alors être restauré par addition de Mg⁺⁺, Mn⁺⁺, Ca⁺⁺, Zn⁺⁺ ou Fe⁺⁺, chacun de ces ions présentant une activité maxima pour une concentration optima particulière à chacun, au delà de laquelle il se comporte comme un inhibiteur. En l'absence de cations, l'addition d'acides aminés, dont Bodansky avait signalé le faible pouvoir activateur dans les extraits bruts de tissus divers, provoque une très forte activation, variable selon la concentration en acide aminé, mais non spécifique de l'un de ces corps et dévolue également aux peptides. L'examen de la figure 5, empruntée à Roche, Nguyen-van Thoai et Roger⁵), permet de se rendre compte de ces faits.

Nous avons cherché à inactiver totalement l'enzyme et à le réactiver afin de nous placer dans des conditions où le caractère indispensable d'une substance réactivatrice pourrait être mis en évidence et, par là, apporter d'utiles renseignements sur la nature du groupement actif de la phosphatase. Le couplage des cations divalents et d'un acide aminé, dont *Hove*, *Elvehjem* et *Hart*⁶) avaient signalé

¹⁾ H. Erdtmann, Z. physiol. Ch. 172, 182 (1927); 177, 211 et 231 (1928).

²) H. D. Jenner et H. D. Kay, J. Biol. Chem. 93, 733 (1931).

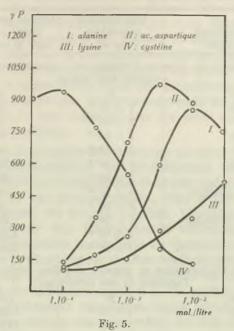
³⁾ D. Albers, Z. physiol. Ch. 266, 1 (1940); E. Bamann, E. Heumüller, H. Werner et A. Carl, in Method. d. Enzymforsch. 2, 1669 (1941); G. Schmidt et S. J. Tannhauser, J. Biol. Chem. 149, 369 (1943).

⁴⁾ Nguyen-van Thoai et J. Raymond, C. r. Soc. Biol. 139, 814 (1945).

⁵⁾ J. Roche, Nguyen-van Thoai et M. Roger, Bl. Soc. Chim. biol. (Trav.), 26, 1047 (1944).

⁶⁾ E. Hove, C. A. Elvehjem et E. B. Hart, J. Biol. Chem. 134, 425 (1940).

l'effet favorable dans le cas du zinc, a permis d'obtenir des résultats très significatifs, à condition de faire précéder l'addition des sels métalliques, à concentration optima, d'une incubation de 2 heures à $p_H=8,8$ en présence d'un acide aminé. On trouvera un exemple des résultats que nous avons obtenus présenté dans le tableau III¹).



Activation de la phospho-monoestérase alcaline purifiée de l'intestin de Chien par divers acides aminés (préparation enzymatique dialysée 15 jours à 37° contre de l'eau bidistillée; substrat: β-glycérophosphate de sodium). (Abscisses: concentration moléculaire en acide aminé. Ordonnées: gamma de P minéral libérés) (d'après Roche, Nguyen-van Thoai et Roger).

La nécessité d'une incubation en présence d'alanine pour que celle-ci exerce son effet maximum de coactivation vis-à-vis du métal relève sans doute de causes multiples, dont les deux plus importantes nous paraissent être la lenteur de la formation des complexes de l'acide aminé et du métal encore fixé à l'apoenzyme malgré la dialyse prolongée (30 à 40 p. 100 environ) et l'action du même corps sur la réversion de la dénaturation de l'apoenzyme. De toute manière, pareil fait n'est pas exceptionnel dans les réactivations enzymatiques, à telle enseigne que les auteurs anglo-saxons désignent des processus de cette nature sous le nom de «time reaction »²).

¹⁾ Nguyen-van Thoai, J. Roche et M. Roger, C. r. 222, 246 (1946).

²⁾ La réactivation de la leucylpeptidase intestinale par l'ion Mn⁺⁺ exige 24 heures d'incubation en présence de celui-ci (E. L. Smith et M. Bergmann, J. Biol. Chem. 153, 627 (1944).

Tableau III.

Réactivation de la phosphatase alcaline (intestin de Chien) après inactivation totale par dialyse (21 jours à 37°) contre de l'eau bidistillée (Action à $p_H=8.8$ et à 37° sur le β -glycérophosphate de sodium). Effecteurs ajoutés: d,l-alanine 1×10^{-2} M (avec ou sans incubation à $p_H=8.8$ et à 37° pendant 2 heures) et cations divers.

Résultats exprimés en gamma P libéré/min./mgr. N protéique.

Sel	Concentration	Activité (gamma P)					
métallique	moléculaire	aire libéré/minute/					
ajouté	en sel	mgr. N protéique					
Série I: en présence d'alanine, mais sans incubation préalable avec celle-ci							
Néant	0	0					
SO₄Fe	1×10^{-7}	0					
,	1×10^{-6}	0					
SO ₄ Zn	$1 imes 10^{-7}$	0					
	1×10^{-6}	0					
SO ₄ Mn	1×10^{-3}	721					
	1×10^{-2}	981					
(CH₃·COO)₂Ca .	1×10^{-3}	0					
, , , ,	1×10^{-2}	0					
(CH ₃ ·COO)₂Mg .	$1 imes 10^{-2}$	288					
72 0	$5 imes 10^{-2}$	1.154					
	1×10^{-1}	1.685					
	on en présence d'ala lition de sels métalli						
Néant	0	5.461					
SO ₄ Fe	$1 imes 10^{-7}$	14.231					
	1×10^{-6}	13.261					
SO ₄ Zn	$1 imes 10^{-7}$	14.231					
	$1 imes 10^{-6}$	13.261					
SO ₄ Mn	$1 imes 10^{-3}$	15.385					
	$1 imes 10^{-2}$	13.846					
(CH ₃ ·COO) ₂ Ca .	$1 imes 10^{-3}$	14.231					
1-12/1-	$1 imes 10^{-2}$	16.364					
(CH ₃ ·COO) ₂ Mg .	$1 imes 10^{-2}$	18.654					
	5×10^{-2}	21.154					
	1×10^{-1}	21.154					
Activité de la préparation initiale, sans incubation ni effec- teur: 3.326.							
Activité de la préparation dialysée et incubée 2 heures à $p_{\rm H}=8.8$ et à $37^{\rm o}$ sans effecteur: 426.							

On peut, en se basant sur ces observations, essayer de se représenter la constitution du groupement actif de la phosphatase alcaline, ou tout au moins discuter certaines hypothèses faites à son sujet. *Albers* et ses collaborateurs¹) pensent avoir dissocié les phospho-mono-

¹⁾ H. Albers, E. Beyer, A. Bohnenkamp et G. Müller, B. 71, 1913 (1938).

estérases I et II en un coenzyme organique diffusible et un apoenzyme protéique. L'exactitude de leurs observations est incontestable; nous les avons reproduites et étendues à l'enzyme isodyname du type III. De même les expériences que ces auteurs considèrent comme démontrant le « transport » d'une cophosphatase sur les diverses apophosphatases. Néanmoins, aucune preuve formelle n'a été apportée de la nature coenzymatique des produits actifs, lesquels peuvent n'être que des effecteurs. Ici encore, la nécéssité de reprendre les expériences d'Albers et de ses collaborateurs sur des produits purifiés s'impose. En l'état actuel des choses, c'est avant tout sur le rôle d'un métal dans la constitution de la phospho-monoestérase alcaline que peut porter la discussion. L'interchangeabilité des cations réactivateurs et l'efficacité de leur couplage avec un acide aminé sont à cet égard des faits importants.

L'opinion que la phospho-monoestérase alcaline des organes animaux est une métalloprotéine est généralement admise; mais la nature de son constituant inorganique demeure mal définie, l'enzyme renfermant pour les uns du magnésium, pour d'autres du zinc, du cobalt, du manganèse, du fer, du calcium. Une théorie (Cloetens1)) paraissant reposer sur une interprétation incertaine de résultats expérimentaux (élimination incomplète de formateurs de complexe) prévoit même que la phosphatase alcaline renferme deux constituants métalliques associés. La diversité des caractères de cet enzyme dans les extraits bruts de différents organes a été parfois rattachée à la diversité de son constituant métallique, lequel serait l'un ou l'autre métal divalent dans chaque cas particulier. En fait, il ne paraît pas y avoir de spécificité de l'élément minéral présent; celui-ci est très probablement le magnésium et, accessoirement, le zinc dans la nature²). L'interchangeabilité expérimentale du métal est peu favorable à l'hypothèse lui attribuant un rôle de coferment catalytiquement actif et, par ailleurs, les acides aminés participent aux processus activateurs à l'état de complexes métalliques. Ils paraissent ne pas jouer seulement le rôle de «régulateurs de concentration» du métal actif que leur attribuent Warburg et Christian dans le cas de la reconstitution de la zymohexase de levure, mais permettre celle du groupement actif de la phospho-monoestérase, soit en orientant le métal vers les radicaux de l'apoenzyme auxquels il s'unit (rôle de «transport»), soit en participant à la formation d'un complexe mixte: apoenzyme-métal-acide aminé.

Malgré l'imprécision dans laquelle il convient encore de demeurer sur bien des points, la phospho-monoestérase alcaline des organes animaux doit dès maintenant être considérée comme un enzyme à

¹⁾ R. Cloetens, Bioch. Z. 307, 352 (1941); 308, 37 (1941); 310, 42 (1941).

²⁾ L. Massart et L. Vandendriessche, Enzymol. 11, 261 (1945).

métal dissociable, la plupart du temps magnésien et parfois zincique, dont l'activité n'est liée à la présence d'un métal que dans la mesure où celui-ci est un élément de structure du complexe organique porteur du groupement actif. On ne peut donc pas, en l'état actuel de nos connaissances, admettre qu'un métal est le coferment de la phosphatase alcaline. Il en est à cet égard de la phospho-monoestérase alcaline comme d'autres enzymes à métal dissociable, tels que la carboxylase (Kubowitz et Lüttgens; Green, Herbert et Subrahmanyan), la leucylpeptidase (Berger et Johnson) dans lesquels le constituant minéral «serait un pont chimique entre l'apoenzyme et le coenzyme» la cas particulier, il est possible que la phosphatase ne renferme pas de coenzyme dissociable et que l'activité enzymatique soit liée à la coordination en un complexe métallique de divers radicaux de l'apoenzyme.

C. — Quelques aspects biologiques de l'activité des phosphatases.

Le rôle biologique des phosphatases est nécessairement fonction de la régulation cellulaire de leur activité et des conditions dans lesquelles celle-ci s'exerce. Je terminerai cet exposé en résumant quelques résultats obtenus dans l'étude de deux problèmes s'y rattachant, à savoir: la synthèse enzymatique des esters phosphoriques et des pyrophosphates en dehors de réactions couplées et le mécanisme du rôle de la phosphatase des os dans la calcification du squelette.

La réversibilité de l'action des phospho-monoestérases in vitro a été depuis longtemps établie par Kay^2) et par $Courtois^3$). Or, l'étude de la synthèse enzymatique des esters phosphoriques par diverses préparations intestinales ou rénales montre que, dans l'ensemble, la purification des phosphatases diminue leur pouvoir synthétisant, en sorte que l'on devait se demander si cèlui-ci n'est pas en partie fonction de la présence d'effecteurs. Avec Nguyen-van Thoai et $Danzas^4$), j'ai pu séparer des «activateurs de synthèse», très labiles et constitués probablement par des peptides, susceptibles d'accélérer la vitesse de la formation des esters beaucoup plus que leur hydrolyse. De tels activateurs sont très rapidement décomposés au cours de l'autolyse des tissus. Leur addition aux préparations enzymatiques qui en sont dépourvues fait réapparaître une intense activité synthétisante, sans modifier l'équilibre final des constituants du système. Nous avons pu séparer celui favorisant la synthèse des monoesters phosphoriques de

¹) G. Berger et J. M. Johnson, J. Biol. Chem. **130**, 641 et 645 (1939); **133**, 157 (1940); D. E. Green, D. Herbert et V. Subrahmanyan, J. Biol. Chem. **135**, 195 (1940); **138**, 327 (1941).

²) H. D. Kay, Physiol. Rev. 12, 384 (1932).

³⁾ J. Courtois, Thèse Doct. Sc. phys., Paris, 1938, 1 vol., 205 p.

⁴⁾ Nguyen-van Thoai, J. Roche et E. Danzas, Bl. Soc. Chim. biol. 26, 1139 (1944); 27, 599 (1945).

celui actif sur la formation des pyrophosphates et l'on trouvera dans la figure 6 les résultats d'une expérience illustrant les effets du dernier. Comme le montre l'examen de cette figure, la préparation intestinale non dialysée (extraction aqueuse de 15 minutes de muqueuse de chien) renfermant la pyrophosphatase et son activateur naturel, mise en présence d'une solution saturée de phosphate disodique catalyse la formation de pyrophosphates (isolés à l'état pur dans nos essais) jusqu'à atteinte d'un équilibre. Après dialyse, elle devient pratiquement inapte à cette synthèse et l'addition de l'activateur séparé du dialysat par précipitation à l'acétone ou à l'acétate neutre de plomb fait réapparaître l'activité initiale en ce qui concerne la formation des pyrophosphates.

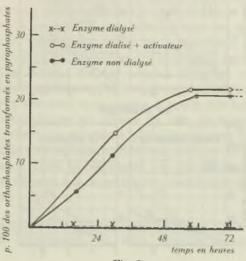


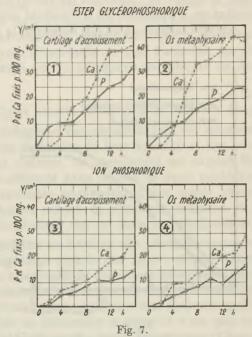
Fig. 6.

Synthèse de pyrophosphates à partir d'orthophosphate disodique par la pyrophosphatase alcaline de l'intestin de Chien brute (•), dialysée 3 jours à 37° (×), ou dialysée et additionnée de l'activateur naturel (○). (Abscisses: temps en heures. Ordonnées: p. 100 des orthophosphates transformés en pyrophosphates) (d'après Nguyen-van Thoai, Roche et Danzas).

è

La préparation d'activateurs de ce type a été mise à profit pour réaliser la phosphorylation de divers corps, en particulier celle de l'amidon et du glycogène, par la phospho-monoestérase alcaline (obtention d'amidons phosphorylés à 1,5 p. 100 P et de glycogène phosphorylé à 2,5 p. 100 P). Ces effecteurs d'un type nouveau sont à coup sûr importants du point de vue physiologique. Leur existence n'est d'ailleurs pas particulière aux phosphatases, car nous avons pu en caractériser un autre propre à la β -glucosidase.

Les incidences biologiques de l'étude des phosphatases s'étendent aussi à d'autres domaines, dans lesquels la mesure précise de leur activité apporte des données permettant d'expliquer le mécanisme de processus physiologiques divers. Les recherches poursuivies sur l'action d'une phosphatase dans l'ossification sont à cet égard significatives. Un très important ensemble d'observations, faites par *Robison* et ses élèves, indiquait la participation de cet enzyme à la formation du phosphate tricalcique au niveau des os¹), mais seule l'étude quantitative de celle-ci sur des coupes d'os en croissance, réalisée par *Roche* et *Deltour*²), a donné une représentation précise de son mode d'action.



Fixation par des coupes de cartilage d'accroissement ou d'os métaphysaire (veau) de Ca et de P apportés par du chlorure de calcium et soit du phosphate disodique, soit du glycérophosphate de sodium (β) à $p_H=7,3$ et à 37°. Quantités d'éléments minéralisateurs présents par 100 cm³ de liquide nutritif: 10 mgr. Ca et 5 mgr. P minéral ou organique. (Abscisses: temps en heures. Ordonnées: gamma P et Ca fixés par cm³ et par 100 mgr. de tissu) (d'après Roche et Deltour).

Comme le montre l'examen de la figure 7, la fixation de phosphore par le tissu osseux en voie de formation est notablement plus élevée, à concentrations initiales égales du liquide nutritif en phosphore total, si cet élément est apporté par un ester plutôt que par des phosphates minéraux, donc libéré à l'état d'ions phosphoriques au niveau des ostéoblastes sécrétant la phosphatase. Parallèlement, la fixation du

¹⁾ R. Robison, The signifiance of phosphoric esters in metabolism, 1 vol., 104 p., New-York, Univ. Press éd. (1933).

²) J. Roche et G. H. Deltour, Bl. Soc. Chim. biol. (Trav.) 25, 1260 (1943).

calcium est beaucoup plus forte en présence de glycérophosphates que de phosphates. Il en découle que la mise en liberté d'ions phosphoriques au niveau des territoires où évolue la calcification provoque vers ceux-ci un véritable drainage des ions calcium présents dans les humeurs. Dès lors le rôle physiologique de l'enzyme apparaît comme celui d'un agent de concentration locale en ions phosphoriques dans les os, concentration grâce à laquelle s'opère un appel des ions calcium des humeurs et, secondairement, la précipitation d'un phosphate de calcium insoluble, régie par le produit de solubilité de ces ions.

Ce rapide exposé montre la diversité des domaines auxquels s'étend la biochimie des phosphatases et les nombreux problèmes que pose son étude. La description des systèmes phosphatasiques naturels est aujourd'hui très avancée, mais la connaissance des phosphatases en tant que molécules chimiquement définies est à peine ébauchée. C'est dire quelle importance revêt la préparation de phosphatases pures, qui doit être le plus immédiat des buts qu'il convient de chercher à atteindre. Mais l'étude du mécanisme d'action des phosphatases dans de nombreux processus physiologiques conserve aussi un grand intérêt, car elle permettra sans doute d'expliquer les modalités de la formation des phosphates au niveau du rein, de la glande mammaire, et celles de nombreuses réactions phosphorylantes indépendantes de processus couplés (transphosphorylation, actions de la phosphorylase, de la myokinase). Aussi la biochimie des phosphatases se développet-elle sans cesse, offrant à la sagacité des chercheurs un champ d'action vaste et fécond.

Laboratoire de Chimie biologique, Faculté de Médecine et de Pharmacie, 92, Rue Auguste Blanqui, Marseille.

155. Etude sur le potentiel d'oxydo-réduction. Limite de croissance des bactéries anaérobies par E. Aubel, A. J. Rosenberg et M. Grünberg. (25 V 46)

Il a été montré dans une série de travaux¹) sur Clostridium Saccharobutyricum et Clostridium Sporogenes, qui sont des anaérobies stricts, que l'oxygène n'entrave pas la dégradation des métabolites, donc que la libération de l'énergie nécessaire à l'entretien de la

hori

de

¹⁾ E. Aubel et J. Houget, C. r. 209, 259 (1939), et Rev. Canadienne de Biol. 4, 488 (1945); E. Aubel et E. Perdigon, C. r. 211, 439 (1940), et Rev. Canadienne de Biol. 4, 498 (1945); E. Aubel, A. Rosenberg et N. de Chezelles, Bl. Soc. Chim. biol. (trav.) 25, 1152 (1943), et Rev. Canadienne de Biol. 4, 502 (1945).

vie du microbe et à sa croissance se produit normalement, même à l'air, et que, par contre, ce même oxygène, en se fixant sur l'hydrogène et d'autres métabolites nécessaires aux synthèses, interdit celles-ci. Par suite, l'oxygène s'oppose à la croissance. Dans les mêmes travaux il avait été dit, à titre d'hypothèse, que, comme les bactéries étudiées sont mal tamponnées au point de vue oxydo-réduction, dès que la vitesse de production de l'hydrogène est inférieure à la vitesse d'arrivée de l'oxygène, d'une part certaines diastases sont partiellement détruites, d'autre part les tampons d'oxydo-réduction sont forcés et les conditions du milieu cellulaire deviennent incompatibles avec les synthèses.

Nous avons donc été amenés à reconsidérer la question du potentiel d'oxydo-réduction limite le plus élevé, compatible avec la croissance des anaérobies. L'idée généralement admise est que, pour leur développement, les anaérobies exigent un potentiel d'oxydoréduction bas et que l'oxygène s'oppose à un abaissement convenable du potentiel d'oxydo-réduction du milieu. Ce point de vue, qui a été exposé par Quastel et Stephenson1) puis par Aubel et Aubertin2), trouvait un appui dans les recherches de Clark3) et ses collaborateurs, qui avaient montré que les cellules vivant en anaérobiose développent un potentiel d'oxydo-réduction plus négatif qu'en aérobiose.

Ceci a conduit à de nombreuses études sur l'importance du potentiel d'oxydo-réduction du milieu dans la croissance des anaérobies (Coulter 4), Dubos 5), Aubel, Aubertin et Genevois 6), Plotz et Geloso 7), Fildes 8), Knight et Fildes 9), Prevost 10), Kliger et Guggenheim 11), Vennesland et Hanke¹²), Kanel¹³), Hanke et Katz¹⁴)), mais la signification réelle et l'importance de la valeur mesurée restent obscures. C'est d'ailleurs la conclusion qui ressort des travaux de Broh-Kahn et Mirsky¹⁵) et de Knaysi et Dutky¹⁶).

Ceci nous a incité à faire les expériences dont nous allons donner les résultats.

- 1) Quastel et Stephenson, Biochem. J. 20, 1125 (1926). 2) Aubel et Aubertin, C. r. Soc. Biol. 97, 1729 (1927).
- 3) Clark, J. Wash. Ac. Sc. 14, 123 (1924).
- 4) Coulter, J. Gén. Phys. 12, 139 (1928).
- ⁵) Dubos, J. Exp. Med. 49, 559 (1929).
- 6) Aubel, Aubertin et Genevois, Ann. Phys. et Phys.-Chim. Biol. 5, 1 (1929).
- 7) Plotz et Geloso, Ann. Inst. Pasteur 45, 613 (1930).
- 8) Fildes, Brit. J. Path. Bact. 10, 151 (1929).
- 9) Knight et Fildes, Biochem. J. 24, 1496 (1930).
- 10) Prevost, Bl. Soc. Phil. 121, 80 (1938).
- 11) Kliger et Guggenheim, J. Bact. 35, 141 (1938).
- 12) Vennesland et Hanke, J. Bact. 39, 139 (1940).
- 13) Kanel, Microb. 6, 254 (1937). Tirage 2.
- 14) Hanke et Katz, Arch. Bioch. 2, 185 (1943).
- ¹⁵) Broh-Kahn et Mirsky, J. Bact. 35, 455 (1938).
- ¹⁶) Knaysi et Dutky, J. Bact. 31, 137 (1936).

Partie technique et résultats.

Le milieu de culture employé était celui de Weinberg-Prevost. On mélange 3 kg ½ de viande hachée et 1 kg ½ de foie haché, que l'on verse dans 16 litres d'eau à 53°. Le milieu prend alors une température de 48° environ. On ajoute 150 cm³ d'HCl concentré et 10 g de pepsine 500 V.P. On laisse le mélange 20 heures à l'étuve à 48°. Après ce séjour, on chauffe 20 minutes à 90° le mélange et l'on filtre. On répartit dans les ballons ou les tubes et l'on stérilise. Ne pas dépasser 110° lors de la stérilisation. Pour les cultures de Clostridium Saccharobutyricum, on ajoute au milieu précédent 5 / $_{60}$ d'extrait de pomme de terre obtenu en faisant bouillir 20 minutes 400 g de pommes de terre coupées en morceaux avec un litre d'eau. Centrifuger, puis filtrer le liquide auquel on a ajouté du talc. Les cultures de Cl. Sporogenes se font à $p_{\rm H}$ 7,4, celles de Cl. Saccharobutyricum à $p_{\rm H}$ 6,8°).

Dans les expériences faites en tubes de gélose, on répartit 9 cm³ de milieu solidifié avec 2% de gélose dans des tubes de 18 cm de long et 1 cm. de diamètre.

I. EXPÉRIENCES FAITES AVEC DES COLORANTS.

1º Expériences failes sur milieu solidifié par la gélose.

Avant stérilisation, on ajoute 1 cm³ de colorant 0,0005 M. L'ensemencement est fait de façon à avoir des colonies nombreuses, mais séparées. On conserve deux tubes témoins, non ensemencés, pour chaque colorant. Les colorants utilisés sont:

 $\begin{array}{lll} \mbox{Bleu de méthylène} & . & E'_0 \ p_H \ 7 = + \ 0.011 \ v. \\ \mbox{Indigo tétrasulfonate} & . & E'_0 \ p_H \ 7 = - \ 0.046 \ v. \\ \mbox{Indigo trisulfonate} & . & E'_0 \ p_H \ 7 = - \ 0.081 \ v. \end{array}$

L'évolution de la coloration des tubes témoins se fait de la façon suivante: aussitôt après la stérilisation, alors que le milieu est totalement désaéré, les tubes sont entièrement décolorés, puis, lorsque l'on abandonne les tubes refroidis à l'air, on observe, après 24 heures, à la partie supérieure des tubes, une zone fortement colorée. En dessous de cette zone, le bleu de méthylène est complètement décoloré, les indigos recolorés, le tétrasulfonate partiellement, le trisulfonate presque complètement. Ainsi donc, après la stérilisation, lorsque le milieu s'est trouvé ainsi désaéré, le potentiel du milieu est inférieur à $E_0'=-0.081$ v à p_H 7, puis, lorsque la recoloration s'est produite, donc après la diffusion de l'oxygène, environ 24 heures après le refroidissement, le potentiel du milieu est compris entre $E_0'=-0.046$ v et $E_0'=-0.081$ v à p_H 7.

Dans les tubes ensemencés voici ce que l'on observe:

a) avec Cl. Sporogenes — 24 heures après l'ensemencement, l'aspect des tubes ensemencés, comparés aux tubes témoins, est semblable: un anneau coloré fortement à la surface, de même hauteur, puis une zone complètement décolorée en ce qui concerne le bleu, partiellement recolorée en ce qui concerne les indigos. Si l'on a eu soin d'ensemencer comme il a été dit, on observe à la limite inférieure des anneaux fortement colorés, des colonies, petites, dans les trois colorants. Si l'ensemencement a été fait de façon à avoir des colonies confluentes, les anneaux superficiels sont plus ou moins décolorés et des colonies se voient près de la surface.

48 heures après l'ensemencement, l'anneau coloré se décolore partiellement ou totalement, et dans la partie décolorée se développent alors de nouvelles colonies.

Exceptionnellement il arrive que l'on observe de très rares colonies dans la partie colorée du bleu de méthylène et des indigos. Ces colonies, très rares, demeurent petites, et ne grossissent que lorsque la décoloration envahit la zone colorée.

La décoloration de la zone supérieure est due certainement à des substances réductrices sécrétées par les bactéries, car les témoins présentent, au contraire, une recoloration importante due à la diffusion de l'oxygène, et, en outre, dans les tubes ensemencés, alors

¹⁾ Les souches provenaient de la collection de Monsieur *Prevost* que nous tenons à remercier ici.

que la zone supérieure n'est pas encore décolorée, on voit apparaître dans cette zone de petites bulles gazeuses.

b) avec Cl. Saccharobutyricum — les résultats observés sont comparables à ceux obtenus avec Cl. Sporogenes. Là encore, il a été possible d'observer une décoloration des zones superficielles précédant l'apparition des colonies, et aussi la présence exceptionnelle de très rares colonies dans la zone superficielle colorée. Ceci nous a incité à expérimenter avec un colorant supplémentaire, le 1-naphtol-2-Na-sulfonate-indo-2,6-dichlorophénol de $\mathbf{E_0}'=+0,123$ v à $\mathbf{p_H}$ 7. Même dans ce colorant, à 4 mm de la surface, on a vu une petite colonie. Repiquée, cette colonie s'est parfaitement développée en anaérobiose. Il s'agissait bien, ainsi que nous nous en sommes assurés, de Cl. Saccharobutyricum, poussant à un potentiel de l'ordre de $\mathbf{E_0}'=+0,123$ v $\mathbf{p_H}$ 7.

De l'ensemble de ces résultats, on peut conclure que les anaérobies produisent dans le milieu de culture des substances réductrices en quantité telle qu'elles s'opposent non seulement à la recoloration du leucodérivé par l'oxygène, mais encore décolorent les colorants en présence d'oxygène, et ceci de telle manière que les bactéries peuvent ensuite pousser abondamment. En outre, il y a parmi les bactéries ensemencées un certain nombre de bactéries mieux adaptées à lutter contre l'oxygène, ce qui leur permet de se développer dans un milieu de potentiel $\mathbf{E_0}'=+0.123$ v $\mathbf{p_H}$ 7. Mais il s'agit là de cas exceptionnels, et il ne faut pas, en outre, oublier qu'au moment de l'ensemencement, le potentiel du milieu est tel que les colorants réduits lors de la stérilisation ne sont pas encore recolorés.

2º Influence de la concentration en bactéries sur la vitesse de décoloration des divers colorants à potentiel d'oxydo-réduction défini.

On partait pour ces expériences de cultures de 16 heures. Les bactéries, après séparation du milieu de culture par centrifugation à l'abri de l'air, sont lavées deux fois avec une solution de NaCl à $9^0/_{00}$ stérile et privée d'air. Après le deuxième lavage, elles sont diluées dans un tampon de phosphate stérile à p_H 7, de façon à avoir des concentrations 1, $1/_4$, $1/_6$, 0n prélève ensuite stérilement 00 cm³ de chaque suspension que l'on met dans des tubes à essais stériles, on ajoute dans chaque tube 00 cm³, 00 de colorant 00,000 M et 01 cm³ de substrat, de façon à avoir une concentration en substrat (alanine pour Cl. Sporogenes, glucose pour Cl. Saccharobutyricum) de 02%. On agite le mélange et l'on note la vitesse de décoloration à l'air, à 03 Alors que, pratiquement, les témoins sans substrat restent colorés, voici les temps de décoloration que l'on observe dans des expériences faites avec Cl. Sporogenes:

Colorant E' n	Dilutions					
Colorant E' ₀ p _H	1	1/4	1/8	1/16		
Indigo tétrasulfonate - Indigo trisulfonate - Indigo disulfonate - Violet de crésyle -	+ 0,011 v - 0,046 v - 0,081 v - 0,125 v - 0,167 v - 0,252 v	Décolo- ration immé- diate	20 min. 40 min. 50 min. 50 min. Pas décoloré	Pas de décolo- ration	Pas de décolo- ration	

Les bactéries, on le voit, sont donc, en présence d'air, capables de se défendre contre l'oxygène en dégageant des substances réductrices, celles-ci étant en quantité d'autant plus grande que les bactéries sont plus nombreuses.

Avec le Cl. Saccharobutyricum on obtient des résultats comparables.

II. EXPÉRIENCES FAITES AVEC LA MÉTHODE ÉLECTROMÉTRIQUE.

Les expériences ont été faites uniquement avec Cl. Saccharobutyrieum cultivé dans le milieu Weinberg-Prévost + extrait de pomme de terre, comme il a déjà été dit. La technique adoptée était celle de Hewitt¹) qui consiste à envoyer dans le milieu de culture un courant d'un mélange azote + air dont la vitesse est réglée de façon à obtenir un potentiel déterminé. La valeur de ce potentiel est donnée par la méthode électrométrique classique. La croissance des bactéries est suivie par la mesure de l'opacité du milieu au moyen de l'électrophotomètre de Meunier. Le volume du liquide de culture était de 35 cm³.

Pour chaque expérience, les lectures étaient faites en double; deux électrodes plongeant dans le milieu de culture. Il n'est, en général, pas possible d'obtenir les mêmes chiffres, les différences dans les résultats donnés par les deux électrodes s'écartant l'un de l'autre d'une dizaine de millivolts. Nous avons pris la moyenne des chiffres donnés par les deux électrodes. Il arrive aussi parfois, avec le milieu employé, que les électrodes de platine, bien qu'elles ne présentent pas de fissure, donnent, soit toutes les deux, soit une seule, des indications manifestement fausses. Elles sont alors empisonnées. Ceci se passe dans les milieux préparés depuis assez longtemps. Dans ce cas, il suffit d'ajouter au milieu de la poudre de zinc et de faire passer pendant 45 minutes un courant d'air. Après séparation du zinc, on stérilise une première fois; il se forme un précipité que l'on filtre, et on stérilise une seconde fois le milieu qui demeure clair. Les électrodes donnent alors des indications exactes.

L'ensemencement se fait avec des bactéries provenant de cultures de 18 heures. La quantité de semence est de 1 à 3 cm³, ceci afin de diminuer la phase d'induction et avoir une croissance qui dure 7 à 8 heures.

1º Evolution du potentiel dans l'azote pur.

Les expériences ont été faites, soit dans le milieu tel quel, soit dans le milieu renfermant 0,001% de colorant universel de $Kluyver^2$) constitué par un mélange de bleu de Nil, bleu d'alizarine, Phénosafranine, Vert Janus et Rouge neutre (bio-catalyseur).

a) Expériences sans bio-catalyseur. — Le milieu non ensemencé, désaéré par ébullition et par passage d'azote pur pendant $\frac{1}{4}$ d'heure, possède un potentiel mal défini, variant de +0.236 à 0 volt, suivant le temps écoulé après la sortie de l'autoclave et le passage d'azote. Dans nos expériences il était le plus souvent de l'odre de +0.145 v p_H 6,6.

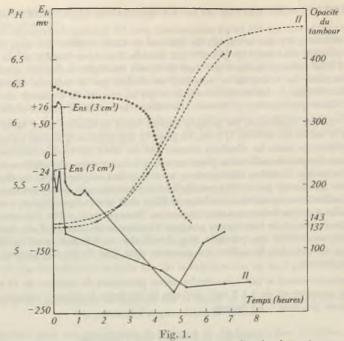
Ensemencé avec 2 cm³ de bactéries prises pendant la phase logarithmique de croissance, on observe immédiatement une baisse brusque de potentiel qui descend jusqu'à +0.016 et même -0.034 v $p_{\rm H}$ 6,6, puis au bout d'une dizaine de minutes le potentiel remonte, pour redescendre brusquement, 2 ou 3 heures après, pendant la phase d'induction avant que la phase logarithmique de la croissance commence, et 4 à 5 heures après, on obtient la valeur minimum qui peut atteindre $E_{\rm h}=-0.274$ v $p_{\rm H}$ 5. Il faut noter que le $p_{\rm H}$ évolue au cours de la croissance. Le bouillon est à $p_{\rm H}$ 6,8, au moment de l'ensemencement le $p_{\rm H}$ tombe à 6,5, puis descend et se stabilise à la fin à $p_{\rm H}$ 5. On constate, au cours de la baisse de potentiel, un point d'inflexion vers $E_{\rm h}=-0.050$ v. Malheureusement, nous n'avons pas la valeur du $p_{\rm H}$ à ce point, mais il doit être de l'ordre de 6,2.

La figure 1 donne deux exemples de l'évolution du potentiel dans l'azote pur en fonction du temps et du développement des bactéries.

b) Expériences avec bio-catalyseur. — Le potentiel obtenu est plus stable, il atteint une valeur plus basse que ci-dessus, mais du même ordre de grandeur. En outre, si l'on ajoute le biocatalyseur au moment où le potentiel est de l'ordre de -0,100 v, on observe une remontée du potentiel à une valeur voisine de -0,050 v.

¹⁾ Hewitt, Biochem. J. 24, 512 (1930).

²⁾ Kluyver, Enzymol. 1, 1 (1936).



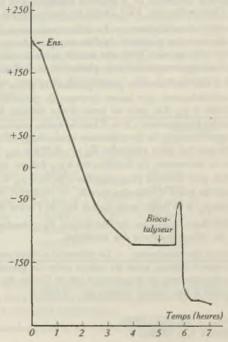
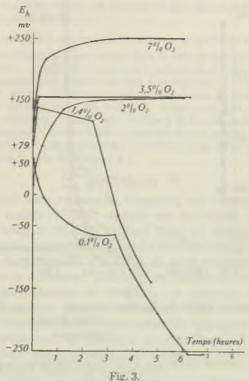


Fig. 2. Evolution du Eh dans un milieu + Biocatalyseur en fonction du temps-

2º Essais de stabilisation du potentiel à des niveaux différents.

Les expériences ont été faites en envoyant, aussitôt après l'ensemencement (2 cm³ dans 35 cm³ de milieu), un mélange en proportions variables d'azote et d'oxygène. Un mélange à 7% d'oxygène donne un potentiel se stabilisant à $E_h=+0.219\ v\ p_H$ 6,8. Il n'y a pas de croissance. Avec 3,5% d'oxygène, on a une stabilisation à $E_h=+0.156\ v\ p_H$ 6,8. Il n'y a pas de croissance. Avec 1,4% d'oxygène, on a une stabilisation à $E_h=+0.116\ v\ p_H$ 6.8, et on observe la croissance des bactéries. Dès que cette croissance est commencée, le potentiel s'abaisse et atteint rapidement $E_h=-0.224\ v\ p_H$ 5,2. A ce moment, les bactéries supportent un taux d'oxygène plus élevé (Figure 3).

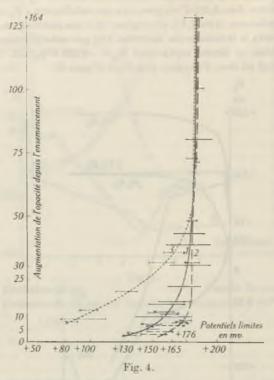


Evolution du E_h après ensemencement avec différentes quantités d'O₂ dans N₂ pur.

3º Potentiel d'arrêt en fonction de la quantité de bactéries.

Les expériences ont été conduites de la façon suivante: on ensemence 35 cm³ du milieu avec 2 cm³ de culture, puis on fait passer l'azote pur. On suit alors la croissance à l'électrophotomètre, puis, à différents stades de la croissance, durant la phase logarithmique, on envoie un mélange air + azote, dont on règle l'arrivée de façon à bloquer le développement. On mesure alors le potentiel correspondant à cet arrêt de la croissance. La détermination de ce potentiel est assez délicate. Il est en effet impossible de saisir de façon précise le moment exact où cesse la croissance. Le mieux est de déterminer la valeur du potentiel pour lequel la croissance est très ralentie, et la valeur du potentiel pour lequel il n'y a nettement plus de croissance, et de prendre la moyenne entre ces deux valeurs (ce sont ces deux valeurs qui sont réunies par une droite horizontale dans la courbe de la figure 4), les déterminations se faisant à 5 minutes d'intervalle. Il est possible ainsi

de déterminer la courbe représentant le potentiel d'arrêt en fonction de la quantité de bactéries. On voit qu'il est d'autant plus élevé que la quantité de bactéries est plus grande (figure 4, courbe $\rm N^0$ 1), les variations étant de $\rm E_h=+0.130~v$ à $\rm p_H$ 6.3 à $\rm E_h=+0.180$ à $\rm p_H$ 6.2.



 1)	Potentiels	limites	des	Bactéries	normales	en	fonction	du	nombre.
 2))>	>>	>>)>	$+5~\mathrm{cm^3}$ d'extrait	>>	>>))	>>
 3)	3)	1)	>>	W	centrifugées	15	>>	3>	>>

4º Influence des produits secrétés par les bactéries sur la valeur du potentiel d'arrêt.

Nous avions remarqué qu'au moment de l'ensemencement, il y avait une baisse de potentiel d'autant plus grande que les bactéries étaient plus jeunes. La question se posait de savoir si les substances réductrices apportées avec la semence ne seraient pas responsables de cette baisse brusque, et d'ailleurs temporaire. Dans les premières expériences destinées à résoudre cette question, nous centrifugions les cultures, ou les filtrions sur bougie Chamberlan, sans autre précaution. Dans ces conditions, le liquide privé de cellules n'avait aucun effet sur le potentiel. Nous avons alors centrifugé les bactéries dans un milieu privé d'oxygène, c'est-à-dire simplement dans le tube où elles ont poussé, puis ouvert avec précaution ce tube et prélevé le liquide immédiatement. 5 cm³ d'extrait faisaient alors passer brusquement le potentiel de $E_{\rm h}=+0,100~{\rm v}_{\rm H}$ 6,4 à $E_{\rm h}=-0,074~{\rm v}_{\rm H}$ 6,4. Cet extrait est très sensible à l'action de l'oxygène: le simple fait de l'agiter à l'air, avant de l'ajouter au milieu, l'oxyde, et on ne constate plus aucune baisse de potentiel. On ne peut l'obtenir que dans des cultures jeunes, de 4 ou 5 heures, et le plus actif se rencontre dans les cultures arrivées à la dernière partie de la phase logarithmique, juste avant la phase d'accélération négative.

L'influence de l'extrait sur le potentiel est nette. Si l'on ajoute, au moment où dans les expériences du paragraphe 3 on envoie le mélange gazeux destiné à arrêter la croissance, 5 cm³ d'extrait, on s'aperçoit que les bactéries peuvent se développer pour un même nombre de bactéries et un même p_H à un potentiel plus élevé que dans les expériences où l'on n'ajoute pas d'extrait. La courbe N° 2 de la figure 4, qui traduit les résultats expérimentaux, montre que cette influence de l'extrait est d'autant plus considérable que la quantité de bactéries est moins élevée, et qu'il n'a plus d'action si le nombre de bactéries est suffisant, vraisemblablement parce que ces bactéries, en poussant, ont elles-mêmes formé dans le milieu de culture une quantité suffisante de la ou des substances actives.

Cet extrait active la croissance des bactéries et peut diminuer la durée de la phase stationnaire et de la phase d'induction.

5º Potentiel d'arrêt obtenu avec les bactéries séparées du milieu ou elles ont poussé.

Le culot de centrifugation d'une culture dans le vide est mis en suspension dans un milieu de culture stérile, désaéré, en volume égal à celui de la culture primitive. 2 cm³ de la suspension de bactéries ainsi obtenue servent à ensemencer 35 cm³ du milieu d'expérience. On n'observe jamais, au moment de l'ensemencement, la baisse de potentiel décrite précédemment qui doit donc être attribuée, uniquement, aux substances formées par les bactéries en croissance. D'autre part, le départ de la croissance dans le milieu est retardé. En outre, lorsque l'on détermine le potentiel d'arrêt comme précédemment, on constate qu'il est, pour une même quantité de bactéries et un même p_H, décalé vers des potentiels moins élevés (courbe N° 3, figure 4).

DISCUSSION

Tout d'abord une remarque s'impose, sur laquelle Broh-Kahn et Mirsky¹ ont insisté: le fait, signalé par Michaelis, que l'introduction d'une électrode de platine brillant dans un milieu de culture, en présence d'oxygène, introduit des conditions nouvelles qui aboutissent à une élévation du potentiel. Par suite, on peut se poser la question de savoir quelle est la valeur du potentiel en l'absence d'électrode.

Quant à l'introduction de colorants, en présence d'oxygène, elle peut également amener des perturbations. Ces colorants, en effet. constituent des transporteurs d'hydrogène, ils catalysent les déshydrogénations et favorisent la fixation de l'hydrogène sur l'oxygène. On détermine alors, par le procédé des colorants, un potentiel d'arrêt différent de celui qui existe sans colorant.

D'autre part, il faut aussi considérer que ce que l'on mesure est un potentiel extérieur à la cellule bactérienne, et jusqu'ici nous n'avons aucune indication en ce qui concerne le potentiel à l'intérieur même de ces cellules.

Dans plusieurs travaux, des essais ont été tentés pour tamponner, en milieu anaérobie, à un potentiel déterminé, des milieux. En particulier dans le travail de Plotz et $G\acute{e}loso^2$) sur le bacille tétanique, on employait le bleu de crésyle $E_0'=+0,032$ v à p_H 7, et l'on observait une croissance, d'où la conclusion que le bacille poussait à $E_0'=+0,032$ v p_H 7, le colorant ayant été mis en quantité telle qu'il n'était pas décoloré. Dans les expériences de Knaysi et $Dulky^3$) on ajoutait de l'hexacyanoferrate(III) de potassium

¹⁾ Broh-Kahn et Mirsky, J. Baet. 35, 455 (1938).

Plotz et Géloso. Ann. Inst. Pasteur 45, 613 (1930).

³⁾ Knaysi et Dutky, J. Bact. 31, 137 (1936).

aux concentrations de 0,0025 M, 0,001 M et 0,005 M, on ensemençait avec 0 cm3, 1 de culture 20 cm³ de milieu, et l'on faisait le vide. On avait donc un potentiel de +0,380 v p_H 7 et la croissance avait lieu. Mais dans ce cas, l'hexacvanoferrate(III) était réduit dès le début de la croissance, et le potentiel descendait rapidement à des valeurs négatives. Mais ce que les auteurs ont observé, et qui concerne le milieu extérieur, est-il valable pour la bactérie elle-même, et peut-il être comparé avec ce que l'on observe pour l'oxygène? L'oxygène, en effet, doit avoir la possibilité de pénétrer à l'intérieur des bactéries, le bleu de crésyle et l'hexacyanoferrate(III) ont-ils la même propriété? On sait déjà, d'après (fuillermond¹), que pour la levure le bleu de crésyle se comporte ainsi: pour les pH supérieurs à 5,4-5,6, le colorant s'accumule dans les vacuoles, pour les pH inférieurs à 5,4-5,6, il n'y a presque pas de colorant absorbé. Or, nous avons constaté, dans nos expériences avec une culture de 24 heures de Cl. Saccharobutyricum, que lors de l'ensemencement en masse (5 cm³ pour 30 cm³), le p_H du milieu prenait une valeur de 5,5 environ, pour s'abaisser, dès la croissance, à 5,2. Il est donc peu probable qu'une quantité importante de bleu de crésyle ait pénétré dans les bactéries. Nous avons essayé de pousser plus loin nos recherches dans ce sens. On ensemençait des tubes contenant 1%, 1,6%, 2% de bleu de crésyle, ces concentrations fortes étant nécessaires pour que les tubes ne soient pas décolorés, et l'on ensemençait 5 cm³ du milieu coloré avec 0 cm³, 5 de Cl. Saccharobutyricum très actif. 24 heures après, les bactéries ayant poussé, les tubes à 1,6% et 2% ne sont pas décolorés. On centrifuge alors, et on lave les bactéries avec une solution neutre de NaCl à 9º/00. Malheureusement, pendant la croissance, le colorant précipite et agglutine les microbes. Il faut donc ensuite filtrer à travers un papier filtre pour séparer les bactéries non fixées sur les parcelles de colorant. Elles sont peu nombreuses, mais incolores après lavage. Il semblerait donc que tout au plus le colorant se fixe à l'extérieur des clostridies et ne pénètre pas à l'intérieur de celles-ci. Les mêmes expériences ont été faites avec l'hexacyanoferrate(III). Ici, l'hexacyanoferrate(III) a été, dans les tubes où les cultures furent positives, réduit en hexacyanoferrate(II). Les bactéries, centrifugées et lavées, n'ont pas donné la réaction du bleu de prusse, alors que les substances organiques inertes du bouillon étaient nettement colorées en bleu. L'hexacyanoferrate(II) n'a donc pas pénétré dans les cellules. Il est donc raisonnable de penser que l'on ne peut tirer aucune conclusion des mesures effectuées soit à l'aide d'électrodes, soit à l'aide des colorants, en ce qui concerne le potentiel d'oxydo-réduction à l'intérieur des cellules et des variations qu'il peut subir.

Ces réserves faites, il reste, d'une part, que si on envoie, immédiatement après l'ensemencement, un courant d'oxygène, le potentiel limite supérieur permettant la croissance des bactéries est de $E_h \!=\! +0,\!116$ v à p_H 6,8 environ, valeur analogue à celle trouvée déjà par d'autres auteurs (Fildes²), Knight et Fildes³), Kliger et Guggenheim⁴), Vennesland et Hankc⁵), Hanke et Katz⁶). Cette valeur se retrouve dans nos expériences en milieu solide renfermant le 1-naphtol-2-sulfonate-indo-2,6-dichlorophénol, où nous avons eu une colonie à $E_0' \!=\! +0,\!123$ v à p_H 7; d'autre part, qu'un point d'inflexion se rencontre à $-0,\!050$ v, et qui est de l'ordre du potentiel d'arrêt signalé autrefois par Aubel et Aubertin²) $-0,\!060$ v p_H 7. Il s'agissait alors d'expériences faites en milieu solide, en présence de colorants, dans des tubes ne renfermant que 4 ou 5 colonies, alors que les expériences faites dans le présent mémoire et qui donnent une valeur limite de $+0,\!123$ v p_H 7 renfermaient un très grand nombre de colonies, non confluentes pourtant. Cette différence dans la quantité de colonies explique la contradiction apparente des valeurs du potentiel d'arrêt, nous

¹⁾ Guillermond, Ann. Ferm. 5, 449 (1939).

²⁾ Fildes, Brit. J. Path. Bact. 10, 151 (1929).

³⁾ Knight et Fildes, Biochem. J. 24, 1496 (1930).

⁴⁾ Kliger et Guggenheim, J. Bact. 35, 141 (1938).

⁵) Vennesland et Hanke, J. Bact. 39, 139 (1940).

⁶⁾ Hanke et Katz, Arch. Bioch. 2, 185 (1943).

⁷⁾ Aubel et Aubertin, C. r. Soc. Biol. 97, 1729 (1927).

le verrons plus loin, et nous retiendrons que, aussi bien par la méthode électrométrique que par la méthode des colorants, on met, dans le milieu où croissent les bactéries, en évidence l'existence d'un système à $E_h=-0.050$ v à -0.060 v. Ce système, si le p_H , comme cela est possible, est de l'ordre de 6—6,5, serait à rapprocher de celui que Wurmser et Filitti¹) ont signalé dans le suc de Lebedew et qui, dans ce dernier cas, est la protéoflavine.

Revenons maintenant à la valeur $E_h = +0,116$ v à +0,123 v p_H 7 environ. Elle a été établie, nous l'avons vu, en envoyant l'oxygène dans le milieu, dès l'ensemencement (ou, ce qui revient au même, en ensemençant en milieu solide, en présence d'un colorant et d'oxygène diffusant dans la gélose). C'est une valeur obtenue avec des bactéries qui, aussi bien dans nos expériences que dans celles des autres auteurs, sont dans la phase non proliférante, apportant avec elles des substances réductrices sécrétées dans le milieu où elles ont poussé. Il faut vraisemblablement d'ailleurs une quantité minimum de cellules qui n'a pas été déterminée pour avoir, dans les conditions expérimentales, une culture positive. A ce sujet, nous avons quelques expériences indicatives dans ce sens. Nous avons essayé. dans une série d'expériences, de garder un potentiel fixe en faisant varier la quantité d'oxygène envoyé dans le milieu dès l'ensemencement. Si l'on ensemence avec 1 cm3 de culture dans 35 cm³ de milieu, il n'y a aucune croissance à $E_h = +0.136$ v p_H 6.4, si l'on ensemence avec 2 cm3, on a, au contraire, une bonne croissance. Mais il faudrait, pour avoir une certitude absolue, faire des expériences d'une durée de plus de 24 heures en surveillant constamment le potentiel, ce que nous n'avons pas fait. Nous nous sommes arrêtés à une durée de 12 heures. En tous cas, le phénomène observé est bien dans le sens voulu, et l'on peut penser que le potentiel d'arrêt est fonction du volume de culture inoculé; nous disons volume de culture car, outre les bactéries, nous introduisons les substances réductrices sécrétées par celles-ci.

Déjà donc nous apparaît le fait que les valeurs trouvées sont contingentes, qu'elles dépendent de la vitesse d'arrivée de l'oxygène et de la quantité du complexe bactéries + substances sécrétées.

Ceci se confirme dans les expériences exposées en 3°, 4° et 5° du chapitre II, et que les courbes 1, 2, 3, figure 4, résument. On y constate que le potentiel d'arrêt est d'autant plus élevé que la quantité de bactéries est plus grande, que les bactéries auxquelles on a ajouté du liquide de culture privé de bactéries et renfermant les produits de sécrétion de ces bactéries supportent un potentiel plus élevé que les bactéries sans extrait, et que, réciproquement, les bactéries privées des substances sécrétées ont un potentiel d'arrêt décalé vers les potentiels plus bas. En outre, les expériences sur les milieux solides en présence des colorants nous ont montré qu'une décoloration de la zone proche de l'air précède le développement des bactéries qui arrivent ainsi à pousser très près de la surface.

Il reste que, quelle que soit la quantité de bactéries et d'extrait ajoutés, il est impossible d'obtenir des cultures quand le potentiel dépasse $\mathbf{E}_{\mathrm{h}}=+0.180~\mathrm{v}~\mathrm{p}_{\mathrm{H}}$ 6,2. Ce chiffre est à rapprocher de celui de $Kanel^2$), qui a trouvé que dans un milieu anaérobie la croissance ne commence précisément qu'à partir de $\mathbf{E}_{\mathrm{h}}=+0.180~\mathrm{v}$. C'est précisément celui pour lequel, dans les expériences d'Engelhardt sur l'effet Pasteur, la fermentation est

bloquée 100%.

L'ensemble de tous ces résultats nous semble s'expliquer ainsi: quand on envoie de l'oxygène dans un milieu où se trouvent des bactéries anaérobies, celles-ci créent autour d'elles une zone de défense formée par l'H₂ et les substances réductrices qu'elles libèrent. Si la quantité d'oxygène est relativement faible, d'une part l'oxygène est neutralisé, d'autre part il reste suffisamment d'hydrogène et de métabolites nécessaires aux synthèses, et la croissance se produit. Si la quantité d'oxygène est trop forte, la zone de défense est forcée,

¹⁾ Wurmser et S. Filitti-Wurmser, Enzymol. 4, 137 (1937).

²⁾ Kanel, Microb. 6, 254 (1937). Tirage 2.

tout l'hydrogène et les métabolites nécessaires aux synthèses sont oxydés, et les synthèses ne se produisant plus, la croissance devient impossible. En outre, cet oxygène pénétrant à l'intérieur des cellules inhibe certaines réactions du type de celle étudiée par Engelhard et $Sakov^1$), détruit partiellement ou totalement certains enzymes, entre autres les déshydrogénases, et crée un potentiel incompatible avec les synthèses. Cette dernière considération: l'impossibilité où sont les anaérobies de lutter contre l'élévation du potentiel, lorsque l'oxygène a pénétré à l'intérieur de la cellule, a déjà d'ailleurs été admise par $Wurmser^2$), à la suite de considérations théoriques dans un travail sur l'électroactivité dans la chimie des cellules.

En dernière analyse, le niveau d'oxydo-réduction au moment de l'arrêt est donc déterminé par la compétition entre l'oxygène et les produits du métabolisme bactérien.

RÉSUMÉ.

 $1^{\rm o}$ Cl. Saccharobutyricum et Cl. Sporogenes cultivés en présence de colorants indicateurs de potentiel d'oxydo-réduction, en milieu solide où l'oxygène diffuse, peuvent croître à un potentiel de l'ordre de $E_0{}'=+0{,}123$ v à $p_{\rm H}$ 7.

2º Aussi bien dans les milieux solides que dans les milieux liquides, ils se défendent contre l'oxygène en dégageant des substances réductrices, en quantité d'autant plus grande que les bactéries sont plus

nombreuses.

 $3^{\rm o}$ L'étude de l'évolution du potentiel par la méthode électrométrique, dans l'azote pur, montre que l'on peut obtenir une valeur minimum de $E_{\rm h}=-0.274$ v à $p_{\rm H}$ 5, avec, au cours de la baisse de potentiel, un point d'inflexion aux environs de $E_{\rm h}=-0.050$ v $p_{\rm H}$ 6,2.

4º Des essais de stabilisation du potentiel à des niveaux différents obtenus en envoyant des proportions variées d'un mélange azote + oxygène ont montré qu'avec 1,4 % d'oxygène on a une stabili-

sation à $E_h = +0.116$ v p_H 6.8 et croissance des bactéries.

5º La détermination du potentiel d'arrêt en fonction de la quantité de bactéries montre que ce potentiel est d'autant plus élevé que

la quantité de bactéries est plus grande.

6º Si l'on ajoute du milieu de culture dans lequel les bactéries sont à la dernière partie de la phase logarithmique de croissance, et que l'on a privé de bactéries par centrifugation à l'abri de l'air, le potentiel d'arrêt est plus élevé que dans les expériences témoin.

7º Si l'on sépare les bactéries du milieu où elles ont poussé, le potentiel d'arrêt est inférieur à celui obtenu dans les expériences témoin.

8º La signification de ces résultats est discutée.

Paris, Institut de Biologie physico-chimique.

1) Engelhard et Sakov, Biochemia 8, 35 (1943).

 $^{^2)\} Wurmser,$ L'électroactivité dans la chimie des cellules, Hermann, éditeur, Paris 1935, p. 76.

156. Quelques aperçus concernant l'oxydation du soufre organique chez les animaux supérieurs

par Cl. Fromageot et M. A. Royané.

(12 VI 46)

On sait que le soufre de la cystéine introduite chez les animaux supérieurs par ingestion ou par injection, ou produite dans leurs tissus par réduction ou hydrolyse de la cystine, est finalement oxydé en sulfate ou en taurine¹). Considérant les relations existant entre la minéralisation du soufre et son oxydation, on constate que ces relations correspondent à plusieurs possibilités:

- 1º— le soufre peut être détaché de la molécule organique avant toute oxydation. Ce détachement qui donne naissance à de l'hydrogène sulfuré, se fait sous l'action de la cystéine-désulfhydrase²). L'hydrogène sulfuré ainsi libéré est susceptible d'être oxydé en sulfate, cette oxydation se faisant par des stades successifs dont il ne sera pas question ici.
- 2° le soufre peut être partiellement oxydé tout en restant relié à la molécule organique; cette oxydation va jusqu'au stade acide sulfinique R—SO₂H. A ce stade, le soufre se sépare de la molécule organique puis est oxydé en sulfate.
- 3° le soufre, tout en restant en combinaison organique, est oxydé au maximum, ce qui aboutit à la formation d'acide cystéique R—SO₃H. Le soufre n'est plus alors détaché de la molécule organique: cette dernière est décarboxylée sous l'action de la cystéico-décarboxylase³); dans ce cas, le soufre oxydé est excrété sous forme de taurine.

La présente communication, préliminaire, concerne le mécanisme de la scission du soufre de l'acide cystéine-sulfinique, mécanisme encore mal connu. Le seul fait expérimental bien acquis actuellement, se rapportant à cette scission, est la formation, en aérobiose, de sulfate à partir d'acide cystéine-sulfinique, par des broyats ou des extraits de foie de rat¹). Cette oxydation a conduit $Medes^4$) à envisager l'existence d'un enzyme, la sulfinico-oxydase (sulphinic acid oxidase) qui en serait responsable. Mais il est difficile d'admettre qu'un seul ferment puisse à la fois scinder l'acide cystéine-sulfinique en une molécule organique sans soufre, et en un corps soufré minéral, puis oxyder celui-ci en sulfate. Cette difficulté n'a d'ailleurs pas

4) G. Medes, Biochem. J. 33, 1559 (1939).

¹⁾ Cl. Fromageot, Exposés Annuels de Biochimie médicale 6 281—301 (1946).

C. V. Smythe, Advances in Enzymology 5, 237 (1945).
 H. Blaschko, Biochem. J. 36, 571 (1942); 39, 76 (1945).

échappé à Medes et $Floyd^1$) qui ont proposé deux hypothèses pour expliquer cette formation de sulfate. La première de ces hypothèses met en œuvre les réactions suivantes:

$$R = S \xrightarrow{O} + H_2O \longrightarrow ROH + HS \xrightarrow{O} OH$$

$$HS \xrightarrow{O} + HS \xrightarrow{O} OH \longrightarrow HS \xrightarrow{O} OH$$

$$OH \longrightarrow OH$$

le thiosulfate formé s'oxydant ensuite facilement en sulfate²). Cette hypothèse est intéressante, car elle pourrait fournir l'une des explications de la présence constante des thiosulfates dans l'urine des animaux supérieurs³). La deuxième hypothèse de *Medes* et *Floyd* s'appuie sur la transformation de l'acide sulfoxylique en acide disulfoxylique, en solution alcaline⁴).

$$2 S(OH)_2 \longrightarrow HO \longrightarrow S \longrightarrow O \longrightarrow S \longrightarrow OH + H_2O$$

L'acide disulfoxylique réagirait à son tour avec une nouvelle molécule d'acide sulfoxylique pour donner de l'acide pyrosulfureux

$$HO-S-O-S-OH+S(OH)_2 \longrightarrow H_2S+S_2O_5H_2$$

dont on sait qu'il se transforme facilement en sulfate.

Etant donné le caractère hypothétique de ces réactions, nous avons repris la question expérimentalement, en étudiant d'une part la genèse éventuelle du thiosulfate chez l'animal à partir d'acide cystéine-sulfinique, et en essayant d'autre part de mettre en évidence par voie enzymatique, in vitro, le premier produit de scission de l'acide cystéine-sulfinique.

I. Production de thiosulfate chez le lapin après injection d'acide cystéinesulfinique.

Voici, à titre d'exemple, le détail d'une expérience mettant en évidence la genèse de thiosulfate chez le lapin à partir de l'acide cystéine-sulfinique.

Un lapin mâle, adulte (3,300 kg.) est soumis à un régime aussi pauvre que possible en soufre, mais bien équilibré d'autre part (régime constitué essentiellement par des carottes et du gâteau de maïs). L'urine de l'animal est recueillie chaque jour, mesurée, puis analysée en ce qui concerne sa teneur en soufre total (méthode de Folin), sulfates totaux, thiosulfate (méthode de Fromageot et Royer⁵) et méthode de Zorkendōrfer⁶); ces deux méthodes se contrôlent mutuellement et donnent des résultats pratiquement identiques) et sulfocyanure (méthode de Hartner⁷). Par suite de l'ingestion du régime en question,

¹⁾ G. Medes et N. Floyd, Biochem. J. 36, 259 (1942).

²) W. Nyiri, Bioch. Z. 141, 160 (1923).

³⁾ Cl. Fromageot et A. Royer, Enzymol. 11, 361 (1945).

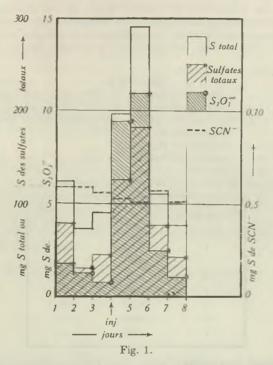
⁴⁾ H. Bassett et R. G. Durrant, Soc. 1927, 1401.

⁵⁾ Cl. Fromageot et A. Royer, Enzymol. 11, 253 (1944).

⁶⁾ W. Zorkendorfer, Bioch. Z. 278, 191 (1935).

⁷⁾ F. Hartner, Mikroch. 16, 141 (1935).

l'excrétion du thiosulfate baisse, atteint un niveau minimum et s'y maintient tant que l'animal ne reçoit pas d'autre source de soufre. On attend une huitaine de jours pour être sur de la régularité de l'excrétion du thiosulfate, puis à l'aide d'un dispositif convenable, on injecte par voie intraveineuse (veine marginale de l'oreille) 280 ml. d'une solution 39.25×10^{-3} M de cystéine-sulfinate de sodium, ce qui correspond à un apport de 351 mg. de soufre de l'acide sulfinique. Cette injection est faite à raison de 80 ml. environ à l'heure. On recueille l'urine, ainsi que celle des jours suivants, l'animal étant toujours soumis au même régime. Les résultats obtenus, calculés en mg. de soufre excrétés par 24 heures, sont représentés par les diagrammes de la figure 1.



Ces résultats sont très nets: ils montrent en particulier, de façon indiscutable, la genèse de thiosulfate après l'injection d'acide cystéine-sulfinique. Calculé par rapport à la quantité d'acide cystéine-sulfinique injecté, la proportion de thiosulfate formé est faible, de l'ordre de 5,5%. Mais cette faiblesse même s'explique par le rôle de corps intermédiaire joué par le thiosulfate. Les résultats précédents semblent ainsi correspondre à première vue à la première hypothèse de Medes et Floyd. Il était alors utile de reprendre la même étude in vitro, par voie enzymatique.

II. Production de sulfite par scission enzymatique de l'acide 1-cystéinesulfinique.

La caractérisation des produits de la scission enzymatique de l'acide cystéinesulfinique est faite de la façon suivante: on prépare avec les précautions habituelles un broyat de foie de lapin. On en introduit environ 10 gr. (soit 1,7 gr. poids sec) dans une cellule du modèle utilisé au laboratoire¹). Cette cellule contient en outre une solution de phosphate tampon M/30 à p_H 7.3, en quantité telle que le volume total de la suspension soit de 20 ml. A cette suspension, on ajoute une quantité déterminée de cystéinate de sodium. D'autre part, des cellules témoins sont préparées, contenant soit une suspension de broyat de foie dans la solution tampon de phosphate, sans acide cystéine-sulfinique, soit une solution de cystéine-sulfinate de sodium dans la solution de phosphate, soit une suspension de broyat de tissu dans la solution de phosphate placé au bain-marie bouillant pendant 10 minutes avant l'introduction de sulfinate de sodium. L'ensemble est placé pendant deux heures au thermostat à 38°. Après ce temps, on dose séparément dans chaque cellule le thiosulfate éventuellement formé et les autres substances soufrées réductrices: SO ou SO₂, qui prendraient naissance par acidification du milieu si celui-ci contenait du sulfoxylate ou du sulfite (dosage iodométrique). Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau I.

Tableau I.

- 1. Foie broyé 10 gr. + cystéine-sulfinate de Na 0.66×10^{-3} mol. + atmosphère N_2 .
- 2. Foie broyé 10 gr. + cystéine-sulfinate de Na 0.33×10^{-3} mol. + atmosphère N_2 .
- 3. Foie broyé 10 gr. traité au bain-marie + cystéine-sulfinate de Na 0.33×10^{-3} mol. + atmosphère N₂.
- 4. Foie broyé 10 gr. + atmosphère N2.
- 5. Foie broyé 10 gr.+ cystéine-sulfinate de Na 0.66×10^{-3} mol.+ air.
- 6. Foie brové 10 gr.+air.
- 7. Cystéine-sulfinate de Na 0.66×10^{-3} mol. + atmosphère N_2 .

Nº des essais	$S \text{ de } S_2O_3^ (mgr.)$	Sol. d'iode (ml.)
1	0,13	24,0
2	0,22	15,3
3	0,22	0,7
4	0,09	0,4
5	0,10	16,2
6	0,04	0,0
7	0,02	0,1

Il ressort de ces résultats que, dans les conditions expérimentales réalisées, il ne se produit pas de thiosulfate. Mais, en revanche, il apparaît des quantités importantes de substance titrable à l'iode et ce, uniquement dans les cellules contenant la suspension de tissus non soumise préalablement au bain-marie bouillant, et maintenue en contact avec le cystéine-sulfinate de sodium. On a là la preuve qu'il s'agit bien ici d'une réaction fermentaire.

Pour déterminer la nature de la substance réductrice titrable à l'iode, nous avons opéré de la façon suivante: au cours d'expériences faites comme il vient d'être dit, on recueille dans un flacon laveur la substance volatile réductrice, on la titre par l'iode puis, en milieu franchement chlorhydrique, on précipite par addition de chlorure de baryum, le sulfate formé par action oxydante de l'iode. Connaissant la quantité d'iode utilisé pour le dosage, et la quantité de sulfate de baryum formé, il est facile de savoir si l'on a à faire à du sulfoxylate ou à du sulfite. Le tableau II indique les résultats obtenus.

¹⁾ P. Desnuelle et Cl. Fromageot, Enzymol. 6, 80 (1939).

Tableau II.

ml. sol. I 0,1 N	16,2
millimol. SO ₂ correspondantes	0,081
millimol. SO correspondantes	0,0405
mgr. SO_4 Ba calculés pour SO_2 .	18,9
mgr. SO ₄ Ba calculés pour SO .	9,45
mgr. SO ₄ Ba trouvés	20,0

Ces résultats montrent de façon indiscutable qu'il s'agit bien ici de sulfite. Il serait encore prématuré de tirer de ces résultats des conclusions définitives: en particulier, il est difficile de dire si le sulfite provient immédiatement de la scission enzymatique de l'acide cystéine-sulfinique, ou s'il prend naissance à partir d'acide sulfoxylique, par transformation ultérieure de ce dernier, qui serait alors la première substance résultant de la scission de l'acide sulfinique. Des expériences sont actuellement en cours pour résoudre ce point.

RÉSUMÉ.

L'injection intraveineuse d'acide cystéine-sulfinique chez le lapin provoque un accroissement important de la quantité de thiosulfate excrété par l'urine. D'autre part, l'acide cystéine-sulfinique, mis en contact avec du foie broyé de lapin, est scindé avec formation de sulfite, par suite d'une réaction fermentaire dont le mécanisme n'est pas encore élucidé.

Lyon, Laboratoire de Chimie biologique, Institut de Chimie de l'Université.

157. Les substances agissant sur la résistance et la perméabilité capillaires et la notion de vitamine P

par M. Javillier et J. Lavollay.

(28 V 46)

Nous limitons cet exposé à certaines notions établies par plusieurs chercheurs associés aux efforts de nos laboratoires depuis que, en novembre 1939, l'un de nous, préoccupé par la recherche d'agents pouvant limiter les hémorragies des blessures de guerre¹), orienta ses collaborateurs vers l'étude de la «vitamine P», mise en évidence en 1936 par M. Szent-Györgyi.

D'après ce savant, la vitamine P accroît la résistance et diminue la perméabilité aux protéines des vaisseaux capillaires. Elle était présentée sous forme d'un extrait de citron, la «citrine», dont les constituants n'étaient pas en proportion constante et dont l'activité fut

attribuée successivement à l'hespéridoside, hétéroside de la trihydroxy-5,7,3'-méthoxy-4'-flavanone (I), puis à l'ériodictyolglucoside, hétéroside de la même flavanone déméthylée (II).

$$HO$$
 OH HO OOH OH OOH OO

La citrine renferme en outre un hétéroside du quercétol (tétrahydroxy-5,7,3',4'-flavonol) (III). Nous tenons pour bien établi que la citrine renforce effectivement la résistance et diminue la perméabilité pathologique des capillaires chez l'homme.

Szent-Györgyi avança que les hémorragies du scorbut expérimental ont pour origine une carence en vitamine P associée à la carence en acide ascorbique. De ses publications, il ressort que la vitamine P doit être considérée comme une flavanone aux propriétés exceptionnelles, douée d'une activité particulière vis-à-vis des agents d'oxydation.

Les acquisitions de nos laboratoires ont fait disparaître la notion d'une spécificité étroitement liée à la structure flavonique, l'activité P ayant été trouvée à des corps de structures diverses; elles permettent en outre d'interpréter le mode d'action de toutes ces substances ⁶)⁸)⁹)¹⁰) ¹⁶)¹⁸)¹⁹)²⁰)²⁴)²⁹)³¹).

Dans ces études, l'activité des substances est éprouvée sur le cobaye par la technique de la ventouse de Borbély, adaptée à cet animal. On retient comme chiffre de résistance vasculaire la plus petite dépression, exprimée en cm de Hg, qui, exercée pendant 15 secondes, est susceptible de faire éclater les vaisseaux cutanés. On injecte la substance à éprouver dans le péritoine et on fait plusieurs mesures à des intervalles de temps convenablement choisis. Pour les recherches de laboratoire, cette méthode s'avère rapide, sensible et fidèle.

La perméabilité capillaire est moins facilement mesurable, mais les premières observations cliniques de *Szent-Györgyi* et les déterminations postérieures de *Chiray*, *Lavollay* et *Maschas*⁷) ²⁰), ont établi la corrélation qui existe entre l'accroissement de la résistance et la restriction de la perméabilité.

A quelles substances appartient la faculté d'accroître la résistance vasculaire? Elle appartient, avec des intensités très diverses, à de nombreux corps du groupe des hydroxy-flavones, flavanones et flavonols et à leurs hétérosides; à des cyanidols (IV) et à leurs hétéro-

sides; à une catéchine (V). On notera le fait important que l'activité n'est pas liée à la présence du groupement carbonyl situé en 4 dans les flavones, ce groupement étant transformé en un —CH= dans les anthocyanidols et en un CH₂ dans les catéchines.

La d-catéchine du cachou (d-3,5,7,3',4'-penta-oxy-phénylbenzodihydropyrane), extraite suivant la technique habituelle, est inactive. Du cachou d'Acacia Catechu, on a obtenu, grâce à une technique nouvelle, une catéchine active. 2 mg de cette substance élèvent la résistance vasculaire pendant 3 à 4 jours. En soumettant cette catéchine à des recristallisations, on a abouti à un corps présentant les mêmes constantes physiques (P.F. et P.R.), mais inactif. L'activité s'était concentrée dans les eaux mères, et était en corrélation avec la réaction suivante: légèrement chauffé avec une trace d'âlcali, le produit développe une coloration pourpre, disparaissant en milieu acide et réapparaissant par retour à l'alcalinité. Des faits analogues furent observés avec les catéchines du Gambir et de la noix de cola.

La catéchine existe sous deux formes épimères, résultant de la structure spatiale du groupement CHOH. L'activité trouvée à la première préparation de catéchine était liée à la présence d'une petite quantité de la véritable substance active, la d-épicatéchine. Par la suite, on a pu, par diverses méthodes d'épimérisation, transformer la d-catéchine en produit actif sur la résistance vasculaire; cette activité est considérable: \(^{1}_{100}\)ème de mg élève la r.v. du cobaye de 17 à 35 cm de mercure en 1 heure et demie; \(^{1}_{1000}\)ème de mg l'élève de 20 à 29 cm. Cette activité est, suivant la méthode d'appréciation, de 500 à 1000 fois plus forte que celle de la citrine*) \(^{6}\)9\)\(^{10}\)1\(^{10}\)1\(^{18}\)).

Peu après avoir montré l'activité du produit d'épimérisation de la catéchine, l'un de nous 30) 31) a trouvé la haute activité du *phlorizoside* et de son aglycone, le *phlorétol* (VI), qui dérive d'une flavanone par ouverture de l'hétérocycle. Le phlorizoside est actif à la dose du microgramme.

^{*)} Les catéchines qui n'avaient été décelées que chez de rares espèces exotiques, ont été identifiées par une réaction nouvelle dans de nombreux végétaux de nos régions et dans les vins 15, 21).

La notion de spécificité des flavones était déjà atteinte par ces acquisitions; elle le fut à nouveau par la découverte de l'activité physiologique d'un nouveau groupe de composés. La coumarine (VII) (lactone de l'acide ortho-hydroxy-cinnamique) possède une activité sensible, et plusieurs de ses dérivés, parmi lesquels l'esculétol (VIII) et l'esculoside, ont une activité considérable. Un microgramme de ce dernier élève la r.v. du cobaye de 18 à 30 cm de mercure. Au ½10000ème de mg, il est actif 22.26). Notons que l'esculétol (6,7-dihydroxy-coumarine) est un orthodiphénol et possède une fonction lactone; c'est d'autre part un dérivé de l'α-pyrone, tandis que flavones et flavonols dérivent de la γ-pyrone. Ainsi, l'activité n'est pas nécessairement liée à l'existence du cycle γ-pyronique ou de ses dérivés par réduction.

Existe-t-il cependant, chez les substances actives, un groupement

d'atomes commun auquel l'activité puisse être rapportée 31)?

Un groupement orthodiphénol, comme on en trouve dans l'ériodictyol, le quercétol, l'esculétol, la catéchine, etc., est-il nécessaire, ainsi que l'admettait *Szent-Györgyi?* Non, car on ne le trouve point dans certains corps actifs: morinol, phlorétol, plusieurs dérivés de la coumarine*).

Dans la série des corps actifs de structure flavonique, l'ouverture de l'hétérocycle gouverne-t-elle l'activité? Le phlorétol, qui est très actif, peut être considéré comme provenant d'une flavanone dont l'hétérocycle serait rompu par hydrogénation. En outre, au cours de l'épimérisation de la d-catéchine, la transformation qui conduit à une substance active ne consiste-t-elle pas en l'ouverture du cycle oxygéné, conduisant à un produit ayant une structure de chalcone et avec mise en évidence de phloroglucinol? Cette hypothèse reste sans confirmation expérimentale.

En comparant dans le même esprit les produits d'ouverture de l'anneau lactonique des dérivés de la coumarine (IX) avec les produits provenant de la rupture de l'hétérocycle des substances dérivées du phénylchromane, l'un de nous³¹) a fait remarquer l'analogie de structure de ces composés, les uns et les autres caractérisés par l'existence d'une fonction phénolique en ortho par rapport à une chaîne latérale.

Les substances actives possèdent-elles une fonction biochimique commune, permettant d'interpréter leur action sur la résistance vas-culaire?

^{*)} Ces derniers étudiés par l'un de nous avec Ch. Mentzer et n'ayant pas encore été l'objet de publication.

Dès 1940, Lavollay et Neumann ont supposé que la vitamine pouvait exercer ses effets dans l'organisme en retardant l'inactivation de l'adrénaline²). In vitro, en effet, des extraits de vitamine P, divers dérivés de la flavone et du flavonol, des catéchines, l'esculétol, etc., protègent l'adrénaline contre l'oxydation — propriété qui a été établie par spectrophotométrie, par des mesures au Warburg et par les techniques pharmacodynamiques²)³)⁵)⁹)¹¹)¹²). En outre, la catéchine épimérisée, vitamine P très active, prolonge, chez l'animal vivant, les effets classiques de l'adrénaline, par exemple la contraction de la membrane nictitante du chat⁶)⁹)¹⁰)¹²)¹⁴)¹⁷)¹⁸)²²)³⁰)³¹).

D'autre part — et c'est ce qu'il importait de démontrer —, l'adrénaline elle-même possède la propriété de relever la résistance vasculaire. Un mg d'adrénaline fait passer chez l'homme la résistance vasculaire de 30 cm, chiffre normal, à 50 ou 60 cm de mercure en moins d'une heure (Parrot et Lavollay). Cette action tardive de l'adrénaline sur les capillaires est durable et peut être rapprochée de celle qu'elle exerce sur le temps de saignement. L'adrénochrome pos-

sède la même propriété 16)30).

De plus, un certain nombre d'inhibiteurs classiques de l'oxydation de l'adrénaline sont actifs sur la résistance vasculaire. Les acides aminés sont parmi les meilleurs inhibiteurs; ils prolongent ou amplifient certains des effets physiologiques de l'hormone. Or, ils se révèlent

d'une haute activité sur la résistance vasculaire24)29)30).

La thio-urée, le sulfocyanure de potassium, la cystéine, le carbonate de guanidine, l'acétochloroforme, bons inhibiteurs de l'oxydation de l'adrénaline, élèvent la résistance vasculaire. L'acide ascorbique, protecteur de l'adrénaline in vivo et in vitro, possède la même propriété*), contrairement à ce qui était admis depuis la mise, en évidence du facteur P²³)²⁴)²⁵)²⁷)³⁰). Le pyrogallol prolonge l'action de l'adrénaline sur la membrane nictitante du Chat, il est très actif sur la résistance vasculaire ²³)²⁴)³⁰).

Inversement, une substance antagoniste de l'adrénaline, l'ergotamine que nous avons expérimentée grâce à l'aimable envoi de MM. Stoll et Rothlin, provoque un abaissement de la résistance vasculaire.

Il semble donc que l'on soit en droit d'interpréter l'action des substances actives par un effet de protection de l'adrénaline. Il est d'ailleurs possible qu'elles possèdent une action propre sur les parois des vaisseaux.

La multiplicité des substances actives sur la résistance vasculaire nous oblige à poser la question de savoir si l'on peut maintenir le terme de «vitamine P». Nous ne trouvons pas ici une spécificité aussi étroite que celle à laquelle nous a habitués l'étude des vitamines. Nous avions appris la nécessité dans l'alimentation d'édifices moléculaires très particuliers: une lactone dérivée d'une sucre exceptionnel, un stérol

^{*)} Ce qui est en accord avec les idées émises dès 1939.

qui a ouvert son cycle B, une naphtoquinone, un dérivé de l'isoalloxazine, etc. ... Rien d'analogue ici.

D'autre part, on n'a jamais réalisé de carence P exclusive; on n'a jamais décrit d'avitaminose P, comme on décrit des avitaminoses A, B, ou PP. Lavollay et Sevestre ont établi que l'acide ascorbique, à dose suffisante, guérit la fragilité vasculaire du scorbut expérimental ²⁷) ³⁰). En outre, il n'a pas encore été possible d'établir un régime expérimental, d'où serait absente toute substance capable d'intervenir, par ellemême, ou par ses produits de métabolisme, sur la résistance capillaire. Doit-on continuer à user du terme de vitamine P ou rejeter ici le mot de vitamine? Nous n'y attachons qu'une minime importance.

Est une vitamine, tout principe organique qui, présent dans les aliments naturels est nécessaire, à faible dose, au maintien de l'équilibre physiologique. La question est de savoir s'il existe, dans les aliments usuels de l'homme et de l'animal, des substances dont de petites doses maintiennent la résistance et l'imperméabilité aux protéines des capillaires. Si tel est le cas, et nous savons qu'il en est ainsi, ces substances sont des vitamines P, ce qui ne s'oppose pas à ce que d'autres substances, naturelles ou artificielles, possèdent des activités identiques ou supérieures. Pour ces dernières, le terme de vitamine serait abusif et l'on aurait simplement à faire à des substances pharmacologiquement actives.

Dans le domaine des vitamines incontestées, on pourrait déjà relever quelques faits analogues; aussi, à notre sens, n'y a-t-il pas d'inconvénient grave à user du terme de vitamine P. Il suffit que les biochimistes s'entendent sur la portée des mots dont il font communément usage.

Laboratoires de Chimie biologique de la Faculté des Sciences*) et du Conservatoire National des Arts et Métiers (Paris)**).

BIBLIOGRAPHIE ***).

1) M. Javillier, Sur l'emploi aux Armées de la vitamine C (acide ascorbique) comme agent hémostatique. Rapports au C.N.R.S.A. et aux autorités militaires. Novembre 1939.

²⁾ J. Lavollay et J. Neumann, La fonction vitaminique P. Action chimique, pharmacodynamique et physiologique de substances naturelles inhibant l'autoxydation de l'adrénaline. C. r. 212, 251—3 (1941).

3) J. Lavollay, Prolongation des effets de l'adrénaline sur l'intestin isolé de cobaye en présence de substances polyphénoliques naturelles dérivées de la flavone (phénylbenzo-γ-pyrone). C. r. Soc. Biol. 135, 1193 (1941).

⁴) J. Lavollay et J. Neumann, Activation du système d'oxydation peroxydasique de l'adrénaline par des substances polyphénoliques naturelles dérivées de la flavone (phényl-benzo-γ-pyrone). C. r. 213, 193—95 (1941).

⁵) J. Lavollay, Durée des effets inhibiteurs de l'adrénaline sur l'intestin isolé de Cobaye; sa prolongation par des dérivés hydroxylés de la flavone. Emploi d'un dispositif nouveau pour cette étude. C. r. 214, 287—90 (1942).

^{*)} Prof. M. Javillier. **) Prof. M. Javillier, puis J. Lavollay.

^{***)} Limitée aux travaux issus des laboratoires des auteurs de cette note.

- 6) J. Lavollay et J. L. Parrot, Sur la nature de la vitamine P. Activité de la catéchine (pentahydroxyphénylbenzo-γ-pyrane) sur la résistance capillaire. C. r. 215, 496—98 (1941).
- ?) Chiray, Lavollay et Maschas, Un essai thérapeutique de l'extrait flavonique des ecorces d'oranges dans un cas de cirrhose éthylique avec purpura. La Revue du Foie, 1, 53 (1942).
- 8) A. Sevin, Activité comparée de différents dérivés polyhydroxylés de la flavone sur la résistance capillaire du cobaye normal et du cobaye scorbutique. C. r. 216, 505-07 (1943).
- ⁹) J. Lavollay, Activité vitaminique P et résistance capillaire. Ann. Pharm. fr. 1, 39 (1943).
 - 10) id., La vitamine P. C. r. Soc. biol. 137, 23 (1943).
- ¹¹) J. L. Parrot, La vitamine P, recherches physiologiques. C. r. Soc. biol. 137, 171 (1943).
- 12) J. Lavollay, L'autoxydation des diphénols, en particulier de l'adrénaline. Etat actuel du problème de la structure et du rôle fonctionnel de la vitamine P. Hermann, édit. 1943, 138 pages.
- 13) J. Lavollay et M. Vignau, Sur une méthode d'oxydation de la catéchine en cyanidol. Application de cette réaction. C. r. 217, 86—88 (1943).
- 14) J. Lavollay, J. L. Parrot et J. Sevestre, Sur la nature de la vitamine P. L'épicatéchine, substance jusqu'ici la plus active sur la résistance capillaire. C. r. 217, 540 (1943).
- 15) J. Lavollay, J. Sevestre et J. Dussy, Sur la présence de catéchines dans un certain nombre d'espèces végétales alimentaires, C. r. 218, 82 (1944).
- 16) J. L. Parrot et J. Lavollay, Sur le mode d'action de la vitamine P. Une propriété nouvelle de l'adrénaline, son activité sur la résistance des capillaires. C. r. 218, 211—13
- (1944).

 17) J. L. Parrot et J. Lavollay, La vitamine P. L'inactivation de l'adrénaline dans
- l'organisme et son ralentissement par l'épicatéchine. C. r. Soc. Biol. 138, 82 (1944).

 18) J. L. Parrot, J. Lavollay, J. Sevestre et P. Galmiche, Sur la vitamine P. Action de l'épicatéchine sur la résistance des capillaires. C. r. Soc. Biol. 138, 179 (1944).
- 19) A. Sevin et J. Lavollay, Action de l'acide ascorbique sur la teneur en histamine de l'organisme. Mécanisme de cette action. C. r. 218, 764 (1944).
- ²⁰) H. B. Maschas et J. Lavollay, Les modifications de la perméabilité capillaire et leurs conséquences. Rôle des vitamines P. Sem. Hôp. Paris, Nº du 15 Nov. 1944.
- ²¹) J. Lavollay et J. Sevestre, Le vin considéré comme un aliment riche en vitamine P. C. r. Ac. Agric., **30**, 259 (1944).
- ²²) id., Sur la nature de la vitamine P. Remarquable activité de l'esculoside sur la résistance capillaire. C. r. **218**, 979—80 (1944).
- 23) J. Lavollay, Action des inhibiteurs classiques de l'oxydation de l'adrénaline sur la résistance capillaire du cobaye, C. r. 219, 318—20 (1944).
- ²⁴) id., La fonction vitaminique P. Elévation de la résistance capillaire du Cobaye par les inhibiteurs classiques de l'oxydation de l'adrénaline. C. r. Soc. Biol., 138, 801 (1944).
- ²⁵) id., L'action de l'acide ascorbique sur la résistance capillaire du cobaye normal. Comparaison avec celle des vitamines P. C. r. Soc. Biol., 138, 816 (1944).
- ²⁶) id., Sur la vitamine P. Action de l'esculoside et de l'esculétol sur la résistance des capillaires. C. r. Soc. Biol., 139, 270 (1945).
- ²⁷) J. Lavollay et J. Sevestre, Action positive de l'acide ascorbique sur la résistance vasculaire du cobaye normal et du cobaye scorbutique. C. r. **220**, 472—74 (1945).
- 28) M. Javillier, La notion de Vitamine P. Société médico-chirurgicale des Hôpitaux libres, 7 juillet 1945.
- ²⁹) J. P. Soulier et J. Lavollay, Inaptitude de l'esculoside (vitamine P₂) à modifier le taux de prothrombine chez l'Homme. Revue de biologie clinique, 1945.
- 30) J. Lavollay, Recherches sur la vitamine P. Congrès de la Victoire de l'A.F.A.S., octobre 1945.
- 3) id., La vitamine P du point de vue chimique. Congrès de la Victoire de l'A.F.A.S., octobre 1945.

158. Recherches expérimentales sur le sort dans l'organisme des alcaloïdes natifs et dihydrogénés de l'ergot de seigle

(7 VI 46)

La possibilité de suivre le sort d'une substance dans l'organisme dépend essentiellement, d'une part de la quantité utilisée, et d'autre part de la sensibilité et de la spécificité des méthodes d'analyse. On emploie de si petites quantités d'alcaloïdes d'ergot de seigle, que seule une méthode extrêmement sensible et spécifique peut permettre d'en déceler la présence. D'après nos recherches, ce sont les expériences biologiques appliquées à l'utérus isolé de lapine et mieux encore à la vésicule séminale isolée du cobaye qui ont fait la preuve de cette méthode. Suivant l'alcaloïde utilisé, on peut mettre en évidence des quantités de 0,003-0,0017 y/cm3 de la solution à examiner. Les méthodes biologiques ne sont pas seulement plus sensibles que les méthodes colorimétriques, mais elles sont en outre aussi spécifiques. Elles mettent en évidence la partie non modifiée de l'alcaloïde, alors que la méthode colorimétrique conserve sa sensibilité tant que l'acide lysergique de la molécule reste intact. Au moyen de ces méthodes biologiques, on a fait le dosage de ces alcaloïdes dans le sang, dans des extraits d'organes et dans l'urine. Les alcaloïdes ont été retrouvés aussi dans l'humeur aqueuse des veux et dans le liquide céphalorachidien.

Exemples: 4 rats (540 g) reçoivent par voie intraveineuse 0,5 mg/100 g d'animal, soit au total 2,7 mg de tartrate d'ergocornine. Dans l'urine des 24 heures (16 cm³), on a trouvé, sous forme non modifiée, 2,7 γ , ce qui représente seulement la millième partie de la quantité injectée. A une lapine de 3 kg, on injecte 45 mg de tartrate de dihydroergotamine. Dosage dans le sang (200 cm³), on trouve: après 1 min. 332 γ , après 5 min. 200 γ , après 20 min. 100 γ , après 60 min. 60 γ et après 120 min. 40 γ . Pratiquement, l'alcaloïde disparaît complètement du sang dans l'espace d'une minute. Une infime quantité persiste pendant 2 heures.

Laboratoire de pharmacologie, Sandoz S.A., Bâle.

159. Sur quelques dérivés monocoumariniques à action antivitaminique K (hémorragiques)

par Paul Meunier, Charles Mentzer et Mlle Andrée Vinet.

(25 V 46)

A l'occasion d'une étude sur le poison hémorragique du mélilot gâté que venaient d'identifier les auteurs américains Stahman, Hübner et Link¹), le «dicoumarol», il nous est apparu, en 1942²), que ce composé devait être considéré comme une antivitamine d'un type nouveau, comme une antivitamine K. Et cela pour les raisons suivantes:

1º Le noyau hydroxycoumarinique, deux fois répété dans la molécule du «dicoumarol» (I), présente une parenté structurale évidente avec la méthyl-naphtohydroquinone (II), squelette fondamental des vitamines K:

2º L'action du «dicoumarol» est très spécifique et exactement opposée à celle d'une vitamine K: il détermine par seule ingestion un abaissement de la prothrombine plasmatique.

3º Cette action peut être, partiellement au moins, inhibée par des doses suffisantes de vitamine K. Cet antagonisme a, par la suite, été fréquemment nié ou réaffirmé, selon les conditions de posologie adoptées dans les essais. Il est maintenant bien reconnu (voir à ce sujet la revue récente de Quick³).

Dès 1943, nous avons pu, avec *Buu-Hoï* et *Cagniant*⁴), préparer une antivitamine K *artificielle*, à squelette naphtoquinonique, la méthylène-bis-oxynaphtoquinone (III), dérivant du phtiocol (IV):

- 1) Stahman, Hübner et Link, J. Biol. Chem. 138, 513 (1941).
- 2) P. Meunier et Ch. Mentzer, Bull. Soc. Chim. biol. 24, 371 (1942).

3) A. J. Quick, Physiol. Rev. 24, 297-318 (1944).

4) P. Meunier, Ch. Mentzer, Buu-Hoï et P. Cagniant, Bull. Soc. Chim. biol. 25, 384, (1943).

Plus tard, nous inspirant des résultats obtenus par *Kuhn* et collaborateurs¹) sur la lactoflavine, nous avons apporté de nouveaux exemples d'antivitamines K naphtoquinoniques, la chloro-2-naphtoquinone et la chloro-2-oxy-naphtoquinone, V et VI, d'activité hémorragique, il est vrai, très faible¹).

Indépendamment de nos recherches, divers auteurs ont exploré des séries chimiques plus ou moins voisines de celle de la coumarine, en quête de la même propriété hypoprothrombinémiante. Citons en particulier Jansen et Jensen²) qui etudièrent sans succès divers composés monocycliques lactoniques sous la forme symétrique bis-méthylénique, N. von Kaulla³) qui essaya des coumarines diversement substituées mais non hydroxylées en 4, J. Lehmann⁴) qui rechercha les groupes actifs du «dicoumarol» et enfin l'équipe américaine de Link⁵) qui prépara et essaya plus de cent corps.

Dans ces mémoires se trouvent mentionnés un certain nombre des 70 dérivés de la série coumarinique que nous avions nous-mêmes déjà préparés et essayés. Dans l'ensemble, sauf pour les corps VII et VIII (voir plus bas), il y a concordance entre leurs résultats et les nôtres. Nous ne citerons ici que des composés nouveaux (sauf les corps VII et VIII), qui nous permettront de montrer que des substitutions relativement simples R et R' sur la molécule primitive de coumarine elle-même inactive⁴)⁵) confèrent déjà à cette dernière une notable activité hémorragique.

Au début de nos recherches, nous avions fait une curieuse constatation relativement à l'un des plus simples de ces dérivés, la méthyle-3-oxy-4-coumarine (VII).

Ce corps, qui s'était montré inactif comme agent hémorragique, même à la dose de 30 mg chez le lapin de 2 kg (cf. ²) et ³)) s'était révélé au contraire capable dès la dose de 7—10 mg d'atténuer les

¹⁾ R. Kuhn et coll., B. 76, 1044 (1943).

²⁾ Jansen et Jensen, Z. physiol. Ch. 277, 66-73 (1942).

³⁾ N. von Kaulla, Klin. Wschr. 22, 205 (1943).

⁴⁾ J. Lehmann, Acta Physiol. Scandin. 6, fasc. 1 (1943).

⁵) Overman, Stahman, Hübner, Sullivan, Spero, Doherty, Ikawa, Graf, Roseman et Link, J. Biol. Chem. **153**, 5—24 (1944).

effets hémorragiques de 1 mg de dicoumarol¹). Il se comportait donc à la façon d'une vitamine K. Nous avons considéré ce dérivé comme tel, sans avoir pu vérifier encore qu'il possédait une action vitaminique réelle vis-à-vis du poulet carencé. Et nous lui avons fait subir la même altération chimique qui, dans la série naphtoquinonique, nous avait conduit à un renversement de l'action physiologique, c'est-à-dire le remplacement du méthyle par un halogène²).

Nous avons ainsi constaté que cette transformation, qui, selon Grimm (voir Lettré ³)), conserve l'isomorphisme, faisait bien apparaître la propriété hypoprothrombinémiante. Dès la dose de 15 mg/kg chez le lapin pour le dérivé bromé VIII et de 10 mg/kg pour le corps chloré, que nous croyons malheureusement incomplètement séparé de son précurseur inactif, la prothrombine s'abaisse à 50 % environ 1 ou 2 jours après l'ingestion (voir tableau des expériences). Le corps VIII a été trouvé inactif par les auteurs américains 4), peutêtre faute d'une méthode assez sensible (cf. 5)). Nous avons ensuite, engageant les carbones 3 et 4 de VII dans un cycle hexénique, obtenu le dérivé X, surchargé d'un CH₃ supplémentaire en 7, mais presque aussi actif que les précédents comme antivitamine K.

Mentionnons enfin la molécule dissymétrique XI où le méthyle de VII est remplacé par un reste plus important, la méthylène-hydroxy-4-méthyle-6-α-pyrone.

Un tel corps est à peine plus actif que le précédent comme hémorragique. Pas plus donc que les auteurs précédents nous n'avons pu approcher de l'activité considérable du composé naturel, le dicoumarol qui, à la dose de 1 mg/kg chez le lapin, abaisse la prothrombine à 10 % de sa valeur normale. La symétrie de la molécule joue un rôle privilégié dans cette action comme nous l'avons déjà constaté dans la série naphtoquinonique, le corps III s'étant montré beaucoup plus

¹⁾ P. Meunier et Ch. Mentzer, Bull. Soc. Chim. biol. 24, 371 (1942).

²⁾ P. Meunier, Ch. Mentzer et Buu-Hoï, Bull. Soc. Chim. biol. 27, 191-194 (1945).

³⁾ Lettré, Ergebn, Enzymf. 9, 1-13 (1943).

⁴⁾ Overman, Stahman, Hubner, Sullivan, Spero, Doherty, Ikawa, Graf, Roseman et Link, J. Biol. Chem. 153, 5—24 (1944).

⁵⁾ A. J. Quick, J. Biol. Chem. 161, 33-44 (1945).

actif que la chloro-oxy-naphtoquinone VI¹). Mais il est non moins incontestable que le noyau hydroxy-coumarinique, sensiblement de même dimension que celui de la naphtoquinone, représente déjà luimême un édifice atomique plus favorable à l'activité hémorragique.

Rappelons que nous avions déjà éprouvé à cet égard d'autres cycles «analogues», l'un hydroxythiocoumarinique et l'autre oxyquinoléique que nous avions trouvés, sous la forme symétrique bisméthylénique, également moins actifs (surtout le second) que le dicoumarol²).

Détails expérimentaux.

1º Préparation des dérivés coumariniques.

Le corps VIII, bromo-3-hydroxy-4-coumarine, a été obtenu par action d'une molécule de brome en solution acétique sur une molécule d'acide benzotétronique (hydroxy-4-coumarine). La réaction s'effectue à froid en quelques heures lorsque l'on expose le mélange à la lumière solaire. L'acide acétique est ensuite évaporé aux 4/5 sous vide et le résidu versé sur de la glace. On essore et recristallise dans l'alcool, puis dans l'eau chaude.

Point de fusion 183°. $C_9H_5O_3Br$ Br trouvé 32,58 Br calculé 33,15%. Absorption ultra-violette: Max. à 313 m μ ; E (1%) = 550; ε = 13250.

L'hydrolyse alcaline fournit de l'acide salicylique, l'halogène était donc bien fixé sur le noyau pyronique et non sur le cycle aromatique. L'analyse thermique, selon la technique de *Rheinboldt* et *Kircheisen*³) confirme l'isomorphisme avec la méthyl-3-hydroxy-4-coumarine (VII).

Nous avons essayé de préparer le corps IX en remplaçant dans l'opération précédente le brome par le chlore en quantité équimoléculaire. Mais le produit obtenu n'a pas une constitution encore clairement établie, comme le montre la teneur en chlore.

Point de fusion 175°. $C_5H_5O_3Cl$ Cl trouvé 9,15 Cl calculé 18,1%. Absorption ultra-violette: Spectre à 2 max. 305 et 278 m μ .

Poids moléculaire trouvé 187 (micro-Rast), calculé 196. L'hydrolyse alcaline fournit également de l'acide salicylique.

Nous pensons qu'il s'agit là d'un mélange équimoléculaire du corps IX et d'acide benzotétronique non attaqué, de solubilités très voisines, que nous n'avons pas pu encore séparer par cristallisations fractionnées. Des essais avec un excès de chlore déterminent la rupture du noyau pyronique avec formation de corps polychlorés qui feront l'objet d'une communication spéciale.

Le corps X, cycléno-3,4-méthyl-7-coumarine, est obtenu par condensation d'une molécule de méta-crésol avec une molécule de cyclohexanone-carbonate d'éthyle en présence d'un excès d'acide sulfurique, conformément à la réaction de *Pechmann* (cf. préparations antérieures⁴)⁵)).

1) R. Kuhn et coll., B. 76, 1044 (1943).

²) Ch. Mentzer et P. Meunier, Bull. Soc. Chim. biol. 25, 379 (1943).

3) Rheinboldt et Kircheisen, J. pr. [2] 113, 348 (1926).

4) Dieckmann, A. 317, 27 (1901).

⁵) Sen et Basu, J. Indian Chem. Soc. 5, 467-476 (1927) et C. 1928, 11, 2242,

Point de fusion 117°. Absorption ultra-violette: max. à 275 m μ (E 1% = 665) et å 315 m μ (E 1% = 425).

Le corps XI, dissymétrique, résulte de la condensation d'une molécule d'acide benzotétronique et d'hydroxy-4-méthyl-6- α -pyrone sous l'action de l'aldéhyde formique. Le précipité qui se forme immédiatement dans l'eau bouillante est un mélange de XI avec les deux composés symétriques à pont méthylène, formés avec les deux corps primitifs, le dicoumarol lui-même (1) et le méthylène-bis-oxy-4,4'-méthyl-6,6'- α -pyrone, déjà préparé et trouvé inactif par Jansen et Jensen'). Ces deux derniers corps sont beaucoup moins solubles dans l'eau et l'alcool que XI lui-même, que l'on recristallise aisément dans ce dernier.

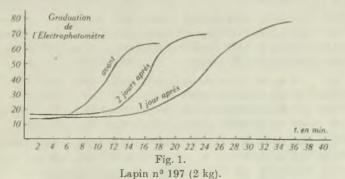
Point de fusion (après plusieurs recristallisations) 194°.

Absorption ultra-violette avec max. large et arrondi autour de 280 m μ (E 1% = 650).

2º Conduite des essais physiologiques.

Dans tous nos essais, nous avons utilisé des lapins jeunes de 1,5 kg à 2,5 kg, nourris principalement d'avoine et de son, sans verdure. Les produits expérimentés sont administrés avant le repas du soir, per os, en solution dans 1 à 2 cm² d'huile de germe de maïs décolorée. Le sang est prélevé par ponction cardiaque le matin, à raison de 2,5 cm³ par jour et immédiatement mélangé à 0,25 cm³ de solution de citrate de sodium à 4%. Après centrifugation de 5 minutes, la teneur en prothrombine du plasma citraté est déterminée à la fois par la méthode primitive de A. J. Quick²)³) et par la méthode photométrique⁴).

La première, effectuée sur 0.1 cm^3 de plasma citraté, sans dilution préalable, à l'aide de thromboplastine de cervelle de lapin, a l'avantage de fournir des résultats plus nets. Grâce au taux relativement élevé de fibrine en jeu, l'instant d'apparition du «caillot solide» est aisé à saisir (cf. 3)). Chaque jour d'expériences, un ou deux lapins non traités fournissent le plasma normal, servant à étalonner la préparation de thromboplastine. En comparant le temps de Quick «normal», qui varie de 7 à 10 secondes, avec celui des lapins traités, nous calculons la teneur en prothrombine du plasma de ces derniers, en utilisant la représentation logarithmique de $Legler^5$). Cela revient à utiliser des courbes $t=k\,c^3$ où t est le «temps de Quick», c la concentration en prothrombine, k et a deux constantes. (Dans nos essais, nous trouvons k0. Cette représentation montre bien que la méthode de k1. Cette pur sentation montre bien que la méthode de k2. Cette représentation montre bien que la méthode de k3. Secondes seulement.



Derivé chloré de la 4-hydroxy-coumarine (20 mg).

¹⁾ Jansen et Jensen, Z. physiol. Ch. 277, 66-73 (1942).

²) A. J. Quick, Am. J. Physiol. 118, 260 (1937).

³⁾ A. J. Quick, J. Biol. Chem. 161, 33—44 (1945).

^a) P. Meunier, C. r. **211**, 668 (1940). ⁵) Legler, Helv. **26**, 1512 (1943).

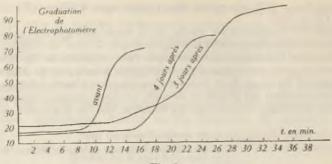


Fig. 2.

Lapin nº 197 (2 kg).

3º Tableau des expériences.

1	Lapins No Poids		Doses ingérées en mg	Taux de prothrombine plasmatique après					
			Dobbs Mgoress on Mg	avant	18 h.	2 jours		4 jours	5 jours
1	197	2	1 mg de corps I (pour comparaison)	100%	45%		70%		100%
İ	197	2	30 mg de VII 100% 10		100%	100%	pas d'action		
	100	2	10 mg de VIII (bromé)	100%	90%	100%			
1	197	2	20 mg de VIII (bromé)	100%	80%	80%	70%	(fig. 1)	
1	189	1,3	30 mg de VIII (bromé)	100%	80%	50%	70%		
1	197	2	120 mg de VIII (bromé)		50%	80%	-		
1	94	2,3	10 mg du dérivé chloré	100%	80%	70%	50%		
١	108	2,1	10 mg du dérivé chloré	100%	50%	80%	100%		
1	109	2,2	10 mg du dérivé chloré	100%	90%	85%	80%	95%	
ı	197	2	20 mg du dérivé chloré	100%	50%	80%	(fig. 2)		
1	151	1,5	10 mg de X	100%	95%	50%	50%	100%	
1	205	1,75	15 mg de X	100%	80%	50%	50%		
	147	1,75	10 mg de XI	100%	actio	action très faible			
	150	1,15	10 mg de XI	100%	?	50%	80%		
	205	1,75	15 mg de XI	100%	50%	40%	100%		
	207	1,75	15 mg de XI	100%	80%	80%	80%		

Lorsque un même lapin est repris pour un autre essai, ce n'est qu'après une semaine de repos au moins.

Dans ce cas, la méthode photométrique manifeste un avantage indéniable. En effet, l'opacification du plasma du lapin normal citraté, puis recalcifié à l'instant origine commence entre la $6^{\rm e}$ et la $8^{\rm e}$ minute et cesse de croître entre la $14^{\rm e}$ et la $20^{\rm e}$ minute, si les mesures sont effectuées, comme nous l'avons déjà préconisé, à $20^{\rm o} \pm 2^{\rm o}$ et sur du plasma dilué finalement à $1/5^{\rm l}$). Pratiquement, les mesures sont prises de 30 en 30 secondes à l'électrophotomètre de l'un de nous (P.M.) en lumière orangée, dans une cuve de 1 cm d'épaisseur, plongée elle-même dans une grande cuve à courant d'eau assurant la constance de la température. Dans les mêmes conditions, l'opacification s'échelonne entre 20 et 40 min. environ, pour une teneur en prothrombine de 50 à 60% de la normale. Voir les courbes représentatives (figures 1 et 2).

Laboratoires de Chimie biologique de la Faculté des Sciences de Paris et de Recherches des Etablissements Roussel à Paris.

160. Recherches sur la phytase par Paul Fleury et Jean Courtois.

(12 VI 46)

C'est en utilisant la phytine comme substrat que Suzuki-Yoshimura et Takaishi²) décelèrent pour la première fois une activité phosphatasique. Il est à ce propos curieux de constater que la phytine est sans doute l'ester phosphorique naturel le plus difficilement hydrolysable par les phosphatases.

L'enzyme qui dédouble les inositohexaphosphates a été dénommé phytase; c'est la moins répandue et la plus mal connue des diverses

phosphatases plus ou moins spécifiques.

Dans l'ouvrage général d'enzymologie: Die Methoden der Fermentforschung, l'article consacré à la phytase est l'un des chapitres les plus
courts de cet ouvrage; il fut confié au chimiste suisse T. Posternak³)
qui concluait ainsi «Das heutige Wissen über die Phytase ist ziemlich
beschränkt und kann nicht mit dem verglichen werden, was man über
andere Fermente gesammelt hat» et «Eine eingehende Untersuchung
dieser Frage wäre sehr zu wünschen».

Les recherches sur la phytase sont en effet assez disparates; le plus souvent cet enzyme a été étudié incidemment au cours de recherches générales sur les phosphatases. Quelques faits caractéristiques se dégagent cependant de ces divers résultats: en premier lieu il n'existe pas de parallélisme entre les activités glycérophosphatasique et pyrophosphatasique d'une part et l'activité phytasique d'autre part. C'est ce que l'on observe en particulier avec de nom-

²) V. Śuzuki, K. Yoshimura, et M. Takaishi, Tokio Imp. Univ. Coll. Agric. Bull. 7, 503 (1907).

¹⁾ cf. 4) p. 1295.

³⁾ T. Posternak, Phytase, p. 1681—1684, in «Die Methoden der Fermentforschung», Leipzig 1941.

breuses préparations fermentaires de graines, P. Fleury et $J. Courtois^1$).

En second lieu, toutes les préparations diastasiques étudiées qui dédoublaient les inositohexaphosphates (I) ont également hydrolysé les glycérophosphates (G). Il existe par contre un certain nombre de préparations diastasiques très actives sur G et pratiquement sans action sur I: rein — muscle, Mac Collum et Hart²); intestin, Plimmer³); os, Patwardhan⁴); érythrocytes et plasma de Mammifères, Rapoport, Leva et Guest⁵); urine humaine, Courtois et Biget⁶); phosphatases alcalines I du foie, du rein, de l'os, phosphatases acides II des feuilles et graines d'Amandier, du foie et du rein du Rat, Courtois ').

Les sons de Céréales et celui du Blé en particulier renferment des phytases très actives; c'est ainsi qu'à p_H 5,2 une macération de son de blé hydrolyse plus rapidement I que G à la même concentration

moléculaire en acide phosphorique estérifé.

Nous nous sommes proposés d'étudier l'hydrolyse de ces deux substrats par le son de blé. Pour la clarté de l'exposé nous dénommerons phytase l'enzyme hydrolysant l'inositohexaphosphate de sodium (I) et phosphatase, l'enzyme dédoublant le β -glycérophosphate de sodium (G); ceci sans préjuger de l'identité ou de la non-identité des deux enzymes.

On peut faire diverses hypothèses pour tenter d'interpréter l'ac-

tion du son de blé sur ces deux substrats:

1) Le son renfermerait un activateur susceptible de conférer à la phosphatase une activité phytasique. Cette hypothèse semble devoir être écartée. En effet, J. Courtois (l. c.) a observé qu'un extrait de son de blé chauffé à 100°, et dont la phytase est inactivée, mélangé à de l'émulsine d'amandes active sur G et inactive sur I ne la rend pas capable de dédoubler I. 20 cm³ de macération de son de blé à 2 pour cent libèrent en 24 heures la même quantité d'acide phosphorique que 20 cm³ de cette même macération additionnée de 15 cm³ de solution d'émulsine à 1 pour cent, dans les mêmes conditions. Les préparations de son ne paraissent donc pas renfermer de substance activatrice susceptible de conférer à une phosphatase une activité phytasique.

2) La phytase serait un enzyme spécifique des inositophosphates et par conséquent sans action sur d'autres monoesters phosphoriques.

3) La phytase se comporterait comme une phosphatase à champ d'action très étendu, une sorte de «superphosphatase» que nous proposerons de dénommer *phytophosphatase*; la phytophosphatase dé-

¹⁾ P. Fleury et J. Courtois, Enzymol. I, 377 (1937).

²⁾ E. Mac Collum et E. Hart, J. Biol. Chem. 4, 497 (1908).

³⁾ R. H. Plimmer, Biochem. J. 7, 43 (1913).

⁴⁾ V. N. Patwardhan, Biochem. J. 31, 560 (1937).
5) S. Rangnort E. Leng et G. Guest J. Riol Chem. 139

⁵) S. Rapoport, E. Leva et G. Guest, J. Biol. Chem. 139, 62 (1941).

⁶⁾ J. Courtois et P. Biget, Bl. Soc. Chim. biol. 25, 103 (1943).

⁷⁾ J. Courtois, Bl. Soc. Chim. biol. 27, 411 (1945).

doublerait à la fois les inositophosphates qui ne sont pas attaqués par les phosphatases ordinaires et de plus d'autres monoesters phosphoriques, substrats usuels des phosphatases, G en particulier.

Nos résultats sont en faveur de cette dernière conception. Tous les faits observés, en effet, peuvent s'interpréter comme si le son de blé renfermait en même temps une phytophosphatase très active susceptible d'hydrolyser à la fois G et I et une seconde phosphatase banale, moins active, dédoublant G, mais sans action sur I.

Nous avons tout d'abord étudié les cinétiques d'hydrolyse de G et I¹).

Les p_H optima d'hydrolyse des deux substrats sont placés au voisinage de 5,0—5,5, il est ainsi possible de classer ces phosphatases dans le groupe II, Roche et Courtois²).

De p_H 3,6 à 5,2, G est dédoublé plus rapidement que I, de p_H 5,0 à 6,0, I est par contre hydrolysé deux fois plus rapidement que G. Ces faits sont en faveur de l'existence de deux enzymes distincts dans le son.

Si l'on oppose à une dose constante d'enzyme des quantités croissantes de substrat, nous pouvons constater que l'enzyme présente une plus forte affinité pour I que pour G³).

Cette différence d'affinité entraîne comme conséquence, dans le cas où les deux substrats seraient transformés par un seul et même enzyme, que I soit dédoublé de préférence à G.

Par suite, dans un mélange de G et I, I devrait être dédoublé de préférence à G, au cas où le même enzyme transforme ces deux substrats.

Nous avons alors opposé à une dose constante de préparation diastasique des proportions variables de G et I soit seuls, soit mélangés; nous avons apprécié l'hydrolyse de chacun des substrats en dosant d'une part l'acide phosphorique libéré et d'autre part les fonctions a glycol libérées par l'hydrolyse et qui sont oxydables en aldéhydes par l'acide periodique. L'hydrolyse de G est nettement ralentie en présence de I, tandis que la présence de G ne provoque qu'une faible diminution de l'hydrolyse de I. Tout se passe donc comme si le son renfermait une phytophosphatase agissant à la fois sur I et G; cependant certaines particularités de la réaction nous ont suggéré l'intervention possible d'un second enzyme: une phosphatase hydrolysant seulement G. Cette suggestion s'est trouvée appuyée par l'étude de l'action de certains effecteurs chimiques. Le fluorure de sodium inhibe très nettement l'hydrolyse de I et G, mais les modalités de l'inhibition sont légèrement distinctes. Le molybdate de sodium, qui est un inhibiteur assez spécifique des phosphatases actives en milieu acide, Courtois et Bossard4), inhibe d'une façon à peine plus marquée l'hydrolyse de G que celle de I.

4) J. Courtois et M. Bossard, Bl. Soc. Chim. biol. 26, 464 (1944).

¹⁾ P. Fleury et J. Courtois, Intern. J. Biochem. Biophys. I (1946), à l'impression.
2) J. Roche et J. Courtois, Exposés annuels de Biochimie Médicale 4, 219 (1943).

 $^{^3}$) L'affinité K_M est l'inverse de la constante de dissociation moléculaire K_m de la combinaison enzyme-substrat (constante de *Michaelis*).

Enfin le sulfocyanate d'ammonium, activateur de certaines phosphatases, accélère faiblement l'hydrolyse de G en demeurant sans effet sur celle de I, Courtois et Bossard¹).

L'inactivation par un milieu fortement acide ou faiblement alcalin provoque des variations des activités phytasique et phosphatasique nettement distinctes. Enfin, nous avons tenté de les séparer par inactivation thermique sélective. La préparation de son chauffée 5 minutes à 75° ne conserve que 2 pour cent de son activité initiale sur I, contre 20 pour 100 de son activité initiale sur G. Après chauffage à 80° elle est sans action sur I et conserve 3 pour cent de son activité initiale, sur G.

Il est vraisemblable d'admettre que la phosphatase est un peu plus thermostable que la phytophosphatase associée. Le relargage par le sulfate d'ammonium a permis à l'un de nous d'obtenir à partir du son de blé une préparation fermentaire qui paraît dépourvue de phosphatase active exclusivement sur G. Avec cet échantillon, que nous considérons comme renfermant presque exclusivement la phytophosphatase, les activités vis-à-vis de G et I disparaissent simultanément après chauffage de cinq minutes un peu au-dessus de 76°.

Par ailleurs, l'un de nous, en collaboration avec $Mlle\ Longchampt^2$), a étudié l'inactivation thermique de phytases et phosphatases d'autres graines.

Il n'a pas été possible d'inactiver par chauffage la phosphatase du Pavot ou celle de la Moutarde-blanche sans inactiver parallèlement la phytase.

- $J.\ Courtois^3)$ a appliqué au son de blé les principales méthodes de fractionnement des enzymes en utilisant les techniques de précipitation et d'adsorption.
- a) Relargage par les solutions salines. Le sulfate d'ammonium à 33 pour cent de saturation ou le sulfate de magnésium à 50 pour cent de saturation précipitent une fraction hydrolysant lentement G et presque dépourvue d'activité sur I. Cette fraction paraît contenir principalement la phosphatase banale.

Après élimination de ces relargats, le sulfate d'ammonium à 66 pour cent de saturation ou le sulfate de magnésium à saturation précipitent un enzyme très actif qui hydrolyse I plus rapidement que G.

Cette préparation a les caractères d'une phytophosphatase, des relargages fractionnés par le sulfate d'ammonium ou des précipitations fractionnées par l'acétone n'ont jamais permis d'obtenir d'échantillons actifs sur un seul des deux substrats.

b) Purification par adsorption. Certaines des préparations purifiées ainsi obtenues furent soumises à l'action d'adsorbants. La phosphatase et la phytase se sont toujours comportées de la même façon vis-à-vis de ces derniers; elles sont assez facilement fixées sur la terre d'infusoires, plus difficilement retenues par le Kaolin Tonsil, très médiocrement adsorbées sur l'alumine $C\gamma$ et pas du tout sur l'alumine en poudre pour chromatographic.

Après adsorption, la phytase et la phosphatase sont éluées d'une façon identique soit par une solution d'inositohexaphosphate de sodium soit par une solution ammoniacale de chlorure d'ammonium.

¹⁾ J. Courtois et M. Bossard, Bl. Soc. Chim. biol. 27, 406 (1945).

²⁾ J. Courtois et Mile Longchampt, Recherches inédites.

³⁾ J. Courtois, Intern. Biochem. Biophys. 1, (1946), à l'impression.

Des adsorptions et élutions successives n'ont jamais modifié de façon appréciable le rapport des activités vis-à-vis de G et I.

Enfin, au cours de la conservation des solutions de certaines de ces préparations, les activités vis-à-vis de G et I décroissent d'une façon parallèle.

Dans l'ensemble, les 57 préparations diastasiques obtenues par des procédés différents à partir du son ont toujours hydrolysé à la fois G et I. 41 préparations se comportent comme la macération de son et hydrolysent I plus rapidement que G; toutes les préparations à action rapide font partie de ce groupe. 8 préparations hydrolysent les deux substrats à des vitesses sensiblement identiques; 8 autres préparations, d'activité assez faible, hydrolysent G plus rapidement que I.

En résumé, les faits rassemblés ci-dessus nous amènent à conclure que tout se passe comme si le son renfermait à la fois une phytophosphatase susceptible d'hydrolyser G et I et une phosphatase banale, moins active, dédoublant G à l'exclusion de I.

Mais, l'étude de la phytase nous a conduit à soulever un autre problème: les préparations phosphatasiques sans action sur l'inositohexaphosphate sont-elles susceptibles d'hydrolyser les inositophosphates moins riches en phosphore que I?

Courtois1) a observé qu'après hydrolyse sulfurique ou diastasique partielle de I, certaines phosphatases, en particulier l'émulsine d'amandes, deviennent capables d'hydrolyser les esters phosphoriques de l'inositol, étapes intermédiaires de l'hydrolyse de I. L'un de nous avec Joseph²) a étudié l'action de diverses préparations fermentaires sur deux inositophosphates: 1) L'inositopentaphosphate, extrait des germes de blé par la technique de Posternak³) est vraisemblablement un mélange équimoléculaire d'inositohexaphosphate et d'inositotétraphosphate. Ce produit est hydrolysé par la macération de son, mais n'est pas attaqué par l'émulsine d'amandes ou la Takadiastase, également inactives sur I. 2) L'inositotriphosphate a été séparé des produits d'hydrolyse phytasique partielle de l'hexaphosphate, Posternak (l. c.): Il est dédoublé par l'émulsine et la Takadiastase; par contre, diverses préparations phosphatasiques d'origine animale (os - rein - foie - cœur) demeurent sans action sur l'inositotriphosphate. Cette étude du comportement vis-à-vis des phosphatases de ces divers esters phosphoriques de l'inositol n'est qu'amorcée, mais on peut penser, d'après les premiers résultats, qu'elle permettra d'éclairer la question de la spécificité de la phytophosphatase.

Paris, Laboratoire de Chimie biologique de la Faculté de Pharmacie.

¹⁾ J. Courtois, Bl. Soc. Chim. biol. 27, 411 (1945).

²⁾ J. Courtois et G. Joseph, Recherches inédites.

³⁾ T. Posternak, Helv. 12, 1174 (1929).

161. De l'activité biologique de la biotine et de ses analogues par J.-P. Bourquin.

(15 VI 46)

Une publication plus complète, résumant toute la littérature récente traitant de l'activité biologique de la biotine et de ses analogues paraîtra dans la Zeitschrift für Vitaminforschung¹). De ce fait, un bref résumé de l'exposé présenté aux Journées biochimiques franco-suisses est publié ci-dessous.

Les recherches chimiques et biologiques de ces trois dernières années ont montré l'importance de la biotine ou vitamine H, facteur

indispensable à la vie de tous les organismes.

Chimie: La formule de la biotine de du Vigneaud (isolée du foie de bœuf et du lait) a été vérifiée par deux synthèses (Harris et collaborateurs, et Grüssner, Bourquin, Schnider). Ces deux synthèses soulèvent des problèmes stéréochimiques relatifs aux différents isomères de la biotine. La formule de la biotine de Kögl (isolée du jaune d'œuf) n'a pas encore été confirmée par la synthèse. L'«oxy-biotine» (Hofmann et Duschinsky, Dolan) diffère de la biotine de du Vigneaud par la substitution d'un atome d'oxygène à l'atome de soufre. Dans la desthiobiotine (Harris et collaborateurs; Bourquin, Schnider, Grüssner, et Wood, du Vigneaud, et Duschinsky, Dolan), le soufre fait défaut et le cycle thiophane est rompu.

Biologie: Les tests usuels (néphélométrique ou acidimétrique) font usage de plusieurs sortes de micro-organismes (Saccharomyces cerevisiæ, Lactobacillus casei, etc.). Le seuil de la sensibilité voisine

avec 0,2 micro-gamma de biotine par 100 cm3.

Les oiseaux (poulets), les mammifères (rats, chiens) sont sujets à la carence. Au début, les symptômes sont généralement cutanés, ensuite toxiques généraux. Une paralysie ascendante aboutit à la suffocation. La biotine exerce un effet préventif et curatif à l'égard de la carence. La carence répétée est chaque fois guérissable par des doses semblables. La biosynthèse de la biotine par la flore intestinale, l'adsorption de la biotine par les aliments, les inconnus de la résorption de la biotine, rendent difficile la réalisation de la carence. Deux procédés techniques principaux ont été préconisés (avidine, sulfonamides). Certains effets de la carence sur le rat sont actuellement à l'étude dans les laboratoires pharmacologiques Roche.

Antagonisme: Celui de l'avidine (protéine isolée du blanc d'œuf) et de la biotine est connu. D'autres substances synthétiques pos-

sèdent également une action antagoniste.

Laboratoires de recherches des Etablissements F. Hoffmann-La Roche & Cie., S. A., Bâle.

¹⁾ Editeur: H. Huber, Berne.

162. Vitamines et microorganismes par W. H. Schopfer.

Paraîtra ailleurs.

163. Fermentation β -hydroxybutyrique par M. Lemoigne.

(12 VI 46)

Formation d'acide β -hydroxybutyrique par autolyse¹)²).

Le B. megatherium est un aérobie strict qui, dans de bonnes conditions de milieu, donne une culture abondante. Si l'on recueille les corps microbiens, on constate qu'ils s'acidifient rapidement. Cette acidification se fait par production d'acides solubles dont le principal est l'acide β -hydroxybutyrique. Elle se produit sans intervention d'oxygène par lyse de substances intracellulaires. Deux de ces substances ont été surtout étudiées.

Lipides β -hydroxybutyriques³).

La première est insoluble dans l'eau, l'éther, l'éther de pétrole, le benzène, le toluène, l'alcool froid, mais soluble dans l'alcool bouillant et le chloroforme. Sa solution alcoolique chaude se trouble par refroidissement et laisse déposer un précipité blanc, floconneux. Ce produit est constitué de fines aiguilles cristallisées groupées en étoiles, p. de f. 120°. Avec les microbes frais, on n'en obtient que des traces tandis que, dans les microbes autolysés, on en trouve 9 à 10 pour cent du poids sec des bactéries.

L'autre substance se distingue facilement de la première par son insolubilité dans l'alcool bouillant. Sa solution chloroformique, qui a l'aspect du collodion, laisse, par évaporation, une pellicule extrêmement mince, cohérente, transparente, incolore, ayant l'aspect de la cellophane et se détachant facilement des parois des vases. Pure, cette substance forme une poudre parfaitement blanche fondant à 156—157°.

Par extraction directe des microbes secs par le chloroforme bouillant, on n'en obtient guère que 7 à 9 pour cent des bacilles secs. Mais si les corps microbiens sont hydrolyses par HCl à 20 pour cent, à l'ébullition pendant 3 minutes, le rendement atteint 20 à 25 pour cent de la matière sèche, dans le cas de cultures sur gélose.

¹⁾ M. Lemoigne, Ann. Inst. Past. 39, 144 (1925).

²⁾ M. Lemoigne, Ann. Inst. Past. 41, 148 (1927).

³⁾ M. Lemoigne, Bl. Soc. Chim. biol. 8, 770 (1926).

Ces deux produits ont la même formule brute $(C_4H_6O_2)^n$, n est égal à 6 dans le cas du produit fondant à $+120^\circ$ et est plus grand que 6 pour le produit fondant à $+156^\circ$. Tous deux sont solubles dans des solutions alcalines bouillantes, le premier rapidement, le second difficilement. Dans les deux cas, on obtient le même indice de saponification correspondant à la formule $C_4H_6O_2$.

Les produits de cette hydrolyse par la soude sont l' α -crotonate et le β -hydroxybutyrate de sodium. Le rapport de ces deux acides est variable. On obtient d'autant moins d'acide α -crotonique que l'on chauffe moins longtemps, mais on obtient toujours cet acide éthylénique.

Quand on fait fondre ces deux produits, ils donnent de l'acide α -crotonique. Ces deux substances ne présentent ni fonction acide, ni fonction alcool, ni double liaison. On doit donc les considérer comme des esters de l'acide β -hydroxybutyrique à ranger dans le groupe des étholides, et qui se distinguent par leur degré de polymérisation différent. Le produit fondant à $+120^\circ$ provient de la dépolymérisation autolytique du produit fondant à $+156^\circ$.

De ces deux lipides, le plus important quantitativement est le produit insoluble dans l'alcool bouillant.

Origine du lipide β -hydroxybutyrique.

Ce lipide peut se former aux dépens des résidus carbonés des acides aminés, mais il provient surtout des oses.

Pour déterminer le rendement maximum obtenu aux dépens du glucose, nous avons été amenés à cultiver B. megatherium, en milieu minéral glucose liquide, le nitrate de potassium étant le seul aliment azoté. Ne poussant pas en surface et étant aérobie strict, on ne peut obtenir de belles cultures qu'en milieux agités. Dans ces conditions, la teneur des microbes secs en lipide β -hydroxybutyrique peut atteindre 50 pour cent et même parfois dépasser ce chiffre.

Dans les meilleures conditions de rendement, nous avons constaté que sur 100 molécules de glucose métabolisées, 42 servent à cette synthèse du lipide β -hydroxybutyrique¹).

A côté il se forme également de l'acétylméthylcarbinol.

Evolution du lipide β -hydroxybutyrique.

En milieu solide, au début la teneur du microbe en lipide β -hydroxybutyrique est faible, puis elle augmente peu à peu et atteint, vers le 2^e jour, un maximum (25 à 30 pour cent de la matière sèche). Quand les spores se forment, elle décroît brusquement.

En milieu liquide, l'évolution en fonction du temps est analogue, mais elle est beaucoup plus rapide et le maximum est beaucoup plus élevé²). Pour cent de la matière sèche des microbes, il atteint 46, 52, 54 et même 58.

¹⁾ M. Lemoigne et N. Roukhelman, Ann. Ferm. 5, 527 (1940).

²⁾ M. Lemoigne, N. Grelet, M. Croson et M. Le Treis, Bl. Soc. Chim. biol. 27, 93 (1945).

Ces différences tiennent sûrement aux vitesses de diffusion des métabolites et de l'oxygène beaucoup plus grandes en milieu liquide agité qu'en milieu solidifié par la gélose.

Ces faits montrent que le produit de déshydratation et de polymérisation de l'acide β -hydroxybutyrique n'est pas une substance de déchet qui s'accumule dans la cellule, mais est une substance de réserve qui est utilisée au moment de la sporulation.

La disparition de ce lipide β -hydroxybutyrique n'est pas un simple phénomène d'autolyse post-mortem, mais bien une transformation liée à la vie même du microbe.

Bactéries productrices de lipide β-hydroxybutyrique.

Toutes les souches de B. megatherium sont productrices de ce lipide. Nous avons essayé d'autres bacilles (193 souches)¹). Beaucoup d'entre elles contiennent des lipides apparents sous forme de globules très réfringents. Or, chaque fois que ces globules sont nombreux, on trouve des quantités importantes de lipide β -hydroxybutyrique.

Tels sont les cas des souches de B. megatherium, de B. mycoïdes, B. cereus, B. anthracis.

B. subtilis qui ne contient pas de globules lipidiques apparents ne donne pas de lipide β -hydroxybutyrique quand on applique la méthode ordinaire. Toutefois la réaction devient positive, si l'on part d'une prise plus grande. Ainsi 101 g de microbes contenant 24 g de matière sèche, ont permis d'obtenir un produit qui, purifié par traitement à l'éther, donne une pellicule très mince qui présente l'aspect tout à fait caractéristique du lipide β -hydroxybutyrique. Le rendement est de 0,029 pour cent de la matière sèche. Le B. subtilis est donc aussi producteur du lipide β -hydroxybutyrique.

Azotobacter chroococcum contient également des lipides qui s'accumulent pour disparaître en partie quand l'enkystement se produit, alors qu'ils subsistent quand il n'a pas lieu.

Avec H. $Girard^2$), nous avons constaté qu'Azotobacter chroococcum contient des quantités importantes de lipides β -hydroxybutyriques. Peu abondants dans les cultures jeunes, ils forment près de 20 pour cent de la matière sèche avant l'enkystement et diminuent brusquement quand celui-ci se produit.

Dans ce cas on retrouve donc le même lipide jouant le même rôle de matière de réserve.

Conclusions. Les résultats que nous venons d'exposer montrent tout d'abord que la formation de l'acide β -hydroxybutyrique aux dépens des glucides n'est pas une curiosité biologique due à un organisme exceptionnel, mais au contraire un phénomène normal chez de nombreuses espèces microbiennes très répandues dans la nature.

Cet acide ne s'accumule jamais dans le milieu comme le fait l'acide lactique, mais déshydraté et polymérisé, il forme un produit s'apparentant aux étholides. Ce lipide intracellulaire ne se trouve qu'à l'état de traces chez certaines espèces alors que chez d'autres, il constitue une réserve pouvant atteindre 25 à 50 pour cent de la ma-

2) M. Lemoigne et H. Girard, C. r. 217, 557 (1943).

¹⁾ M. Lemoigne, B. Delaporte et M. Croson, Ann. Inst. Past. 70, 224 (1944).

tière sèche du microbe. Ces réserves, au moment de la sporulation, se dépolymérisent en donnant un produit à point de fusion plus faible, puis s'hydratent en fournissant de l'acide β -hydroxybutyrique qui, lui-même, est alors utilisé.

Chez beaucoup de ces organismes, il y a très peu d'acides gras à poids moléculaire élevé. Le métabolisme des réserves lipidiques est alors très simplifié et réduit presque exclusivement à ce cycle β -hydroxybutyrique.

Nous continuons nos recherches pour préciser le mécanisme de la formation et de la disparition de ce lipide.

Paris, Institut Pasteur.

164. Sur l'action du periodate de sodium sur les protéines par P. Desnuelle et S. Antonin.

(7 VI 46)

Il est maintenant bien connu que l'acide periodique et ses sels alcalins coupent à froid la chaîne hydrocarbonée des α -glycols¹) et des α -oxyamines²) entre leurs fonctions, pourvu que celles-ci ne soient pas substituées. Rapide et quantitative dans certaines conditions de p_H , cette réaction donne naissance à deux aldéhydes et de nombreuses applications en ont été faites en chimie préparative comme en chimie analytique.

Remarquons tout de suite, dans ce dernier domaine, que les fonctions primaires sont oxydées en formol. Réglée par deux conditions restrictives, l'apparition de cet aldéhyde est donc susceptible soit de conduire, pour la substance oxydée, à des dosages hautement spécifiques, soit de donner de précieux renseignements concernant sa structure.

Pour nous limiter ici plus spécialement aux substances biologiquement intéressantes, signalons que d'importants résultats ont été obtenus, grâce à l'emploi des periodates, dans l'étude des sucres et de leurs dérivés ainsi que dans celle des acides aminés β -hydroxylés.

De très nombreux travaux ont montré en effet que les periodates coupent les chaînes sucrées partout où elles portent 2 fonctions -OH libres en α mais qu'ils respectent les ponts d'oxygène et les liaisons glycosidiques. Les hexoses, en particulier, produisent du formol par oxydation periodique car leurs -OH 5 et 6 sont libres. Mais le blocage

Malaprade, L., Bl. [4] 43, 685 (1928); [5] I, 832 (1934).
 Nicolet, B. H. et Shinn, L. A., Am. Soc. 61, 1615 (1939).

de l'une des deux fonctions empêche la formation de l'aldéhyde. Il peut être réalisé non seulement par substitution mais aussi en impliquant le carbone réducteur dans une liaison glycosidique qui stabilise le pont d'oxygène en position 1-5.

Trois acides aminés β -hydroxylés, par ailleurs, sont soumis à l'oxydation periodique classique: la sérine et l'hydroxylysine, d'une part, la thréonine, d'autre part, qui donnent naissance, respectivement à du formol et de l'acétaldéhyde de façon quantitative. Là encore, une substitution à l'azote ou à l'oxygène en α entraîne l'arrêt de toute action. D'autres amino-acides comme le tryptophane, la méthionine, la cystine, etc., sont oxydés par les periodates de façon tout autre et sans produire d'aldéhydes.

L'étude des réactions intervenant entre l'ion periodique et les molécules protéiques, contenant à la fois des sucres et des acides aminés, ne semble pas avoir encore été entreprise. Elle est pourtant intéressante car l'oxydation periodique se déroule dans des conditions de température et de p_H qui ne dénaturent pas la plupart des protéines et l'on peut espérer que, grâce à ses caractères si particuliers, elle soit de nature à donner quelques renseignements utiles concernant leur structure.

Prise dans son ensemble, cette action se révèle toutefois assez complexe. Nous l'étudions actuellement dans le cas de l'albumine d'œufs mais nous n'en décrivons, au cours de la présente note, qu'un aspect particulier: celui relatif à la production de formol.

On peut penser a priori que 3 constituants des protéines sont susceptibles de donner naissance à cet aldéhyde au contact des periodates: la sérine, l'hydroxylysine et les sucres protéidiques. Remarquons toutefois que la sérine, quand elle est incluse dans un polypeptide, ne peut donner de formol que dans le cas où, se trouvant en bout de chaîne, ses fonctions —OH et —NH $_2$ sont libres à la fois (I). Cette situation est, en général, peu probable comme nous le verrons plus loin. On peut supposer, au contraire, que la 2^0 fonction —NH $_2$ de l'hydroxylysine, comme la fonction amine en ε de la lysine, n'est pas impliquée dans les liaisons intrapeptidiques (II ou III).

Les chaînes latérales qu'apporte cet amino-acide aux protéines pourraient alors, avant toute hydrolyse, donner du formol si leurs fonctions —OH ne sont pas masquées ou engagées dans des liaisons stables entre polypeptides.

Quant aux sucres protéidiques, leur aptitude éventuelle à libérer du formol nous renseignera sur l'état des —OH portés par leurs dernier et avant-dernier carbones.

De toutes façons, les quantités maxima de formol que l'on peut attendre au cours de l'oxydation periodique d'une protéine, sont faibles. Nous avons pu cependant aborder cette étude avec quelques chances de succès grâce à notre microdosage colorimétrique qui permet¹) de mesurer encore avec exactitude 0.5γ de formol. Les protéines ont été oxydées par le periodate de sodium dans les conditions mêmes déjà utilisées par nous pour le dosage des aminoacides β -hydroxylés¹).

Nous avons rassemblé dans le tableau I les résultats obtenus au cours de cette étude.

Tableau I.

Apparition de formol au cours de l'oxydation periodique de quelques protéines.

Apparition de formol au cours de l'oxydation periodique de quelques proteines.							
	Mgr. formol % gr. de protéines						
Protéines	Dosés par colorimétrie	Calculés à partir de la teneur en Sérine Hydroxy- lysine Sucres					
			lysme				
Gélatine I							
(peaux de mammifères)	215 ± 10	1025	216				
Gélatine I	0 1 10	1005	04.0				
(après acétylation)	0 ± 10	1025	216	_			
Gélatine II (peaux de Scyllium Canicula L.) .	179 ± 10	1508	179	-			
Gélatine III		400=	00				
(peaux de Anguilla vulgaris Turt.)	54 ± 10	1667	68	_			
Albumine d'œufs²)	0 ± 10	2077	0	419³)			
Edestine ⁴)	0 ± 10	791	0	_			
Séricine	0 ± 10	9430	0				

L'examen des chiffres du tableau I suggère les quelques remarques suivantes:

1º Nous avons vérifié, pour chaque protéine, que la mesure colorimétrique du formol s'effectue normalement dans les conditions expérimentales utilisées. Quand le dosage est négatif, nous pouvons donc dire que 100 gr. de protéine ont formé moins de 10 mgr. de formol.

2º Parmi les protéines étudiées, seuls les divers échantillons de gélatine ont donné naissance à des quantités mesurables de formol,

Desnuelle, P., Antonin, S. et Naudet, M., Bl. Soc. Chim. biol. (Trav.) 26, 1168 (1944).
 Cristallisée 4 fois d'après Soerensen.

 $^{^3)}$ Calculé à partir de 4 mols. de mannose et 2 mols. de glucosamine dans $43\,000~\mathrm{gr}.$ de protéine.

⁴⁾ Edestine Hoffmann-La Roche, en solution dans NaCl 1,7 M.

quantités qui correspondent d'ailleurs étroitement à l'hydroxylysine qu'ils contiennent1).

Par contre, si l'on acétyle préalablement la gélatine I par le cétène de manière à bloquer ses $-\mathrm{NH_2}$ sans atteindre ses $-\mathrm{OH}$, aucune trace de formol n'est plus décelable. C'est donc fort probablement à côté d'un $-\mathrm{NH_2}$ libre de la protéine que se produit la rupture

génératrice de cet aldéhyde.

3º Les autres protéines étudiées, dépourvues d'hydroxylysine¹), ne donnent pas de formol au contact du periodate. Nous avons vérifié, d'ailleurs, qu'en présence des protéines et dans nos conditions expérimentales, la sérine et le glucose donnent respectivement 95 et 70% de la quantité théorique de formol. Il faut donc penser que les liaisons qui relient la sérine et le constituant sucré aux protéines étudiées, rendent impossible la production du formol.

En ce qui concerne tout d'abord la sérine, ce fait signifie qu'en aucun point des molécules protéiques, les groupements —OH et —NH₂ de l'amino-acide ne sont libres en même temps. Le calcul effectué sur l'albumine d'œufs montre en effet que si tel était le cas pour un seul reste de sérine, 100 gr. de la protéine devraient alors livrer une quantité de formol aisément décelable par notre méthode, soit 70 mgr. En d'autres termes, ou bien la sérine n'est jamais placée, dans ces protéines, de façon que sa fonction aminée soit libre ou bien, si l'—NH₂ est libre, la fonction hydroxyle est alors impliquée dans une autre liaison. Notons d'ailleurs que si l'on admet que l'albumine d'œufs possède 4 chaînes polypeptidiques seulement²), il est très peu probable que la sérine occupe une place terminale et c'est la première alternative qui paraît la plus vraisemblable pour cette protéine. Mais il pourrait ne pas en être de même dans le cas de la séricine formée pour un tiers de sérine; le nombre des chaînes polypeptidiques de cette protéine n'est malheureusement pas encore connu.

4º En ce qui concerne, par ailleurs, la partie sucrée des molécules protéiques, une discussion utile ne peut être engagée que dans le cas de l'albumine d'œufs. On sait en effet³) que cette dernière protéine contient un groupement prosthétique formé, pour les trois quarts, d'un hexasaccharide (4 mannoses et 2 glucosamines) et, pour un quart, d'une molécule azotée non-encore caractérisée. Si les —OH 5 et 6 étaient libres à la fois sur l'une des chaînes sucrées, 100 gr. de protéine donneraient naissance, comme précédemment, à 70 mgr. de formol. Nos résultats expérimentaux infirment donc cette hypothèse. Il paraît probable d'ailleurs que les carbones I des chaînes sont tous impliqués dans des liaisons anhydride ou glycosidiques car l'ensemble

2) Chibnall, A., Nature, 1942, 548.

¹⁾ Van Slyke, D. D., Hiller, A. et MacFadyen, D. A., J. Biol. Chem. 141, 681 (1941); Desnuelle, P. et Antonin, S., Biochemica acta (sous presse).

³⁾ Neuberger, A., Biochem. J. 32, 1435 (1938).

de la molécule, une fois séparée de la protéine, n'est pas réducteur1). Les ponts pyraniques sont donc stables et aucune fonction -OH en position 5 n'est libre.

5º L'ensemble de ces remarques suggère que le formol prenant naissance au cours de l'oxydation periodique de la gélatine, provient de la scission des chaînes latérales apportées par l'hydroxylysine, les deux fonctions -NH2 et -OH (δ et ε) étant libres dans la protéine en question.

6º Remarquons enfin que nos résultats incitent à penser que l'hydroxylysine fait réellement partie de la molécule de gélatine et n'est pas, comme on pourrait le croire, un artefact prenant naissance

au cours de son hydrolyse.

Marseille, Laboratoire de Chimie biologique de la Faculté des Sciences.

165. Formule glycoprotéidique du plasma sanguin par M.-F. Jayle et O. Judas.

(31 V 46)

Dans ce travail, nous avons eu pour objectif de préciser la localisation du sucre polyholosidique de plasmas et de sérums normaux et pathologiques, et, en superposant sa répartition à celle de l'azote protéique, d'établir une nouvelle classification des protéines sériques utilisable en clinique et mieux adaptée aux acquisitions récentes de la biochimie.

Pour ce faire, nous avons utilisé la méthode de fractionnement de Cohn par un mélange équimoléculaire de phosphates mono- et bi-potassiques et nous nous sommes référés pour le choix des molarités salines à l'excellent travail de Y. Derrien2), réalisé à l'Ecole de J. Roche.

Pour le dosage du sucre protéidique, nous avons adapté la méthode colorimétrique à l'orcinol de Særensen et Haugaard3) à l'électrophotomètre de Meunier et nous l'avons simplifiée et sensibilisée. Le sucre protéidique a été traduit en galactose, mannose et glucosamine (G.M.G.) et le sucre libre en glucose.

Trente-quatre plasmas ou sérums normaux et pathologiques ont été étudiés. La plupart n'ont été séparés qu'en trois ou cinq fractions: globuliniques, albuminiques et défécat trichloracétique (DT). Douze sérums ou plasmas ont été séparés en 12 ou 14 fractions.

¹⁾ Neuberger, A., Biochem. J. 32, 1435 (1938).

²⁾ Derrien, Y, Bl. Soc. Chim. biol. 26, 1091 (1944).

³⁾ Særensen et Haugaard, C. r. Lab. de Carlsberg 19, 1 (1933).

I.

Teneur en polyholosides des différentes fractions plasmatiques ou sériques.

1º Sérums de chevaux.

Deux sérums de chevaux ont été fractionnés aux molarités 1, 1,5, 1,7, 1,9, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9 et 3. Le sucre libre a été dosé par la méthode de *Hagedorn-Jensen*.

La répartition du sucre dans le sérum de cheval est très particulière, en ce sens qu'on en trouve la plus grande partie dans la fraction albuminique alors que les globulines en sont très pauvres, à l'exception de la première fraction qui précipite entre 0 et 1 M. Le sucre albuminique présente un maximum entre les molarités 2,2 et 2,3 et est ensuite réparti irrégulièrement jusqu'à la fin de la précipitation des albumines. La courbe se relève nettement entre 3 M et DT, le pourcentage atteignant alors 23,4 et 38,7%. Le rapport moyen sucre albuminique/sucre globulinique sur 4 sérums étudiés est égal à 2,1. On comprend pourquoi Hewitt a retiré des albumines de cheval le globoglycoïde et le séroglycoïde qui sont en fait des globulines α et β .

2º Sérums et plasmas humains.

L'étude a porté sur 28 sérums et plasmas de sujets normaux; 10 d'entre eux ont été soumis à de multiples fractionnements au phosphate de potassium.

a) De 0 à 0,75 M ne précipitent d'une façon inconstante dans le cas du sérum que des traces d'une globuline que nous dénommons macroglobuline, car elle représente sans doute les protéines d'un poids moléculaire de 900 000 que l'on retrouve dans le diagramme de l'ultracentrifugation. Son taux moyen normal est inférieur à 1 gr. Cette fraction est beaucoup plus importante dans le plasma, où elle s'additionne au fibrinogène, et son taux moyen passe à 5,37 gr. Si nous ne tenons pas compte de la macroglobuline, nous constatons que la teneur en hydrates de carbone de cette fraction chez le sujet normal est de 10 à 14%. On peut en déduire que le fibrinogène est un mucoprotéide, car ce polyholoside le suit fidèlement au cours de sa précipitation et on ne peut obtenir l'un sans l'autre. Aussi avons-nous été surpris de le retrouver dans la fraction 0,75 du sérum normal à un taux qui est voisin de celui du plasma. Il est relativement fixe d'un sérum à l'autre, contrastant par là avec les variations considérables de la macroglobuline. Dans le sérum normal il est pondérablement aussi important que la protéine précipitée, et tout cela exclut la possibilité d'une combinaison glycoprotéidique. Nous sommes donc amenés à considérer qu'il s'agit dans le sérum d'un polyholoside libre que nous dénommons mucoïde F; sans doute se détache-t-il du fibrinogène au moment de sa transformation en fibrine. Cette façon de voir pourrait conduire à reconsidérer sous un angle nouveau le mécanisme d'action de la thrombine.

Dans les sérums de tuberculeux évolutifs, il n'y a pas d'augmentation notable du mucoïde F, alors que la concentration de la macroglobuline augmente considérablement atteignant 5 gr. en moyenne. Nous ne pouvons pas encore affirmer que cette augmentation est caractéristique de la tuberculose, car nous manquons d'informations en pathologie générale.

b) Fraction 0,75 à 1,25 M. Il se produit ici une solution de continuité dans la courbe de précipitation saline et celle-ci nous paraît très caractéristique du plasma normal; un seul cas fait exception à cette règle qui n'est pas mise en défaut chez les tuberculeux.

c) Fraction 1,25 à 1,5 M. Dans cette zone flocule une globuline qui, pour les sujets 18, 22, 26 et 27, est soit totalement dépourvue, soit très pauvre en hydrates de carbone. Il est important d'insister sur l'existence d'une globuline de nature exclusivement protéidique qui, le plus souvent, flocule à ce niveau et plus rarement entre 1,5 et 1,70 M.

d) Fraction 1,50 à 1,70 M. Il existe ici des variations individuelles; le plus souvent la protéine de cette fraction est pauvre en glucides, que ce soit chez le sujet normal ou chez le sujet pathologique; parfois même elle n'en contient pas du tout. Nous en tirons la conclusion que les hydrates de carbone décelés entre 1,25 et 1,70 M ne font pas partie

de la globuline γ qui en serait dépourvue. Cette interprétation est exploitée pour l'évaluation du taux de cette protéine dans la formule que nous établirons plus loin.

e) Fraction 1,70 à 2,45 M. Pour Derrien1), la frontière entre les albumines et les globulines se situe à la molarité 2,17. Nous avons adopté cette ligne de démarcation en arrondissant ce chiffre à 2,2. Chez le sujet normal, c'est à ce niveau (1,7 à 2,2) que dans la plupart des cas se retrouve la fraction la plus riche en hydrates de carbone; elle coïncide rigoureusement avec la zone de précipitation de l'haptoglobine qui, chez l'homme, est dans 8 cas sur 10 une globuline homogène comme nous l'avons montré avec P. Gillard dans un travail en cours de rédaction, alors que chez le cheval elle se comporte comme une albumine qui se confond avec le séroglycoïde d'Hewitt (M.-F. Jayle et Abdellatij2)); cependant dans 2 cas sur 10 de sérum humain, l'haptoglobine flocule avec les albumines, et c'est pourquoi on retrouve alors la concentration maximum en sucre protéidique entre 2.2 et 2.45 M. On peut en déduire qu'il existe deux types de sérums humains normaux: les uns où les glycoprotéides se localisent principalement dans la partie terminale des globulines, les autres, plus rares, où ils se retrouvent dans la fraction initiale des albumines qui néanmoins, dans tous les cas, a une teneur appréciable en hydrates de carbone. Les travaux de $Blix^3$) nous apprennent que les globulines α et β ont une teneur en hydrates de carbone voisine de 10% et ceux d'Hewitt et de McMeekin qu'on en retrouve une portion notable dans les albumines. Nous avons personnellement observé que la molarité 2.45 représentait chez l'homme la ligne de démarcation entre les albumines riches en hydrates de carbone et celles qui en sont pratiquement dépourvues. Nous en concluons que les globulines a et \(\beta \) précipitent entre 1,7 et 2,45 M et que la position de leur densité maximum en fonction de la molarité saline dépend du type du sérum étudié, mais surtout de son état pathologique. En effet, dans les sérums pathologiques et en particulier tuberculeux, les globulines s'appauvrissent alors que les albumines s'enrichissent en sucre lié. Le rapport sucre albuminique/sucre globulinique est en moyenne de 0,64 chez les normaux et atteint 5,13 chez les tuberculeux. Cela est dû en partie à la migration des globulines et de la phase globulinique vers la phase albuminique. Or, l'haptoglobine précipite la encore le plus souvent avec les globulines, aussi donnons-nous avec P. Gillarda) l'interprétation suivante à ce phénomène de migration: quand on combine l'haptoglobine (Hp) de type globulinique à de l'hémoglobine (Hb), on retrouve le complexe Hp-Hb dans les albumines. Cette modification de la constante de précipitation saline de l'haptoglobine se produit sans doute chaque fois que l'haptoglobine se combine à de l'hémoglobine, des pigments, des toxines ou d'autres substances issues de la désintégration tissulaire. C'est ce qui explique que le sucre protéidique a tendance à pénétrer dans la zone albuminique au cours de syndromes infectieux ou toxiques et cela sans qu'on observe une augmentation importante des glucides liés entre les molarités 1,70 et 2,45, puisque leur taux moyen passe de 0,98 g chez les sujets normaux à 1,26 g chez les tuberculeux évolutifs.

Nous considérons que l'haptoglobine est destinée à fixer et à neutraliser les toxines circulantes. Mais comme il n'existe aucune proportionnalité entre le taux de l'haptoglobine et celui des glycoprotéides de 1,7 à 2,2 M (zone de précipitation la plus fréquente de l'haptoglobine humaine), nous sommes obligés d'admettre que, dans un premier temps du processus de détoxication humorale, l'haptoglobine résulte de la transformation d'un glycoprotéide circulant et qu'ensuite elle va fixer des substances diverses qui vont l'entraîner plus ou moins loin dans la phase albuminique tout en lui faisant perdre ses propriétés haptoenzymatiques.

f) Fraction 2,45 à 2,8 M. On flocule à ce niveau l'albumine véritable en n'entraînant avec elle que des traces d'impuretés polyholosidiques. Cette fraction est parfaitement

¹⁾ Derrien, loc. cit.

²⁾ Jayle, M.-F., et Abdellatif, Bl. Soc. Chim. biol. 28, 80 (1946).

³⁾ Blix, G., J. Biol. Chem. 137, 485 et 495 (1941).

⁴⁾ Jayle, M.-F., et Gillard, P., Bl. Soc. Chim. biol. 28, 63 (1946).

incolore et dans le sérum humain normal elle est de l'ordre de 30 gr. en moyenne. Il s'agit évidemment de l'albumine cristallisable et nous reviendrons plus loin sur la nature probable des traces de polyholosides entraînés.

- g) Fraction 2,8 à 3 M. Entre 2,8 et 3 M, la quantité d'albumine qui précipite est peu importante, mais sa teneur en hydrates de carbone est plus élevée; comme dans le cas précédent, le polyholoside appartient à une substance incolore ce qui élimine l'éventualité de la présence de globulines α et β toujours fortement pigmentées.
- h) Fraction 3 M à DT. Chez l'individu normal, l'azote qui précipite entre la molarité 3 M et la défécation trichloracétique est inférieur à 0,15 gr.; il peut dépasser considérablement ce taux dans certains plasmas pathologiques. Il s'agit ici d'une protéine a poids moléculaire vraisemblablement faible que nous considérons comme un polypeptide; c'est une observation constante que tous les sérums normaux d'homme ou de cheval que nous avons examinés possèdent dans cette zone une fraction riche en hydrates de carbone dont le taux oscille entre 15 et 30%; doit-on considérer qu'elle est constituée par le séromucoïde des auteurs classiques dont le taux en hydrates de carbone serait voisin de 20%? La réponse à cette question nous est fournie par les résultats obtenus chez les tuberculeux évolutifs où le sucre polyholosidique entre 3 M et DT. est en moyenne de 0,75 gr. alors qu'il n'est que de 0,20 chez les sujets normaux. Cette augmentation pathologique ne s'accompagne pas d'une élévation du taux des polypeptides, ce qui fait monter jusqu'à 80% le pourcentage glucidique de cette fraction. Inversement, dans d'autres cas, les concentrations polypeptidiques atteignent plusieurs grammes, sans entraîner un accroissement du sucre correspondant, et le pourcentage en hydrates de carbone devient très faible.

Les variations de ce mucoïde et du polypeptide sont donc parfaitement indépendantes l'une de l'autre, et nous en déduisons que le séromucoïde est de nature entièrement polyholosidique, ayant une concentration fixe chez l'individu normal et très augmentée chez les tuberculeux évolutifs.

i) Sucre libre. Le dosage colorimétrique du sucre libre du filtrat trichloracétique fournit des chiffres qui coïncident à 5% près à ceux que donne la technique de Hagedorn. Ce fait est une garantie de la précision de la méthode photométrique qui est parfaitement utilisable pour la détermination clinique de la glycémie; elle possède sur les techniques volumétriques l'avantage de la rapidité. En outre, on peut éliminer l'hypothèse d'un polyholoside non précipitable par l'acide trichloracétique, car, s'il existait, on devrait trouver avec la méthode colorimétrique, qui dose en même temps les oses et les polyholosides, des résultats plus forts que ceux fournis par le Hagedorn.

II.

Etablissement de la formule glycoprotéidique du sérum.

L'ensemble de nos résultats nous permet de considérer qu'il existe dans le sérum sanguin huit fractions principales:

- 1º Macroglobuline. Elle précipite à 0,75 M. Son intérêt réside dans les variations considérables qu'elle présente en pathologie. Son taux moyen est inférieur à 1 gr. $^0/_{00}$ chez le sujet normal.
- 2º Mucoïde F. Il représente le sucre polyholosidique qui précipite du sérum avec la macroglobuline de 0 à 0,75 M. Son taux moyen est de 0,4 gr. 0 /00.
- 3^{0} Globuline γ . Pour calculer cette fraction, on part du principe qu'elle est exempte d'hydrates de carbone et qu'elle précipite entre 0,75 et 2,2 M. Pour en déduire les globulines α et β , on fixe conventionnellement à 10% leur taux en glucides et on multiplie par 10 la quantité de sucre protéidique qui précipite entre 1,5 et 2,2 M. Son taux, assez constant, est en moyenne de 13 gr. $^{0}/_{00}$.
- 4^{0} Glycoprotéides. On applique la même définition que précédemment et on multiplie par 10 le sucre protéidique qui précipite entre 1,5 et 2,45 M et dont le taux moyen normal est de 1 gr. 9 ₀₀.

 5° Albumine véritable. On retranche des protéines totales précipitées entre 2,2 et 3 M les glycoprotéides entraînés entre 2,2 et 2,45 M. Le taux moyen de l'albumine est de 38 gr. $^{\circ}$ 00 et est soumis à des variations relativement faibles chez les sujets examinés. Ce taux assez constant est une preuve de la supériorité de cette dernière détermination sur la méthode classique qui fournit des résultats très variables d'un sujet à l'autre.

Cette fraction peut être divisée en albumines A₁ et A₂ qui précipitent respectivement entre 2,2—2,8 et 2,8—3 M. La fraction A₂ augmente dans certains cas pathologiques.

 6° Séromucoïde. Il est représenté par le sucre polyholosidique qui précipite entre 2,45 M et DT. Il paraît aussi fixe que la glycémie et son taux moyen chez le sujet normal est de 0,56 gr. $^{\circ}$ / $_{00}$, ses variations n'excédant pas 10%. Chez les tuberculeux évolutifs, son taux augmente considérablement et peut atteindre 1,5 gr. $^{\circ}$ / $_{00}$.

 7° Polypeptides. On dénomme ainsi l'azote protéique qui précipite entre 3 M et DT. Son taux moyen est de $0.91~{\rm gr.^0/_{00}}$, mais il présente des variations en pathologie.

8º On dose d'autre part l'haptoglobine par la technique enzymatique déjà décrite¹).

TIT.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

Le sucre protéidique se répartit en trois fractions principales dans le sérum sanguin. La première est représentée par un polyholoside qui précipite à 0,75 M du mélange de phosphates et nous émettons l'hypothèse selon laquelle ce mucoïde F se détacherait de la molécule de fibrinogène au moment de la coagulation.

La seconde fraction fait partie des globulines β et précipite entre 1,7 et 2,45 M. C'est aux dépens de cette fraction que se forme l'haptoglobine et celle-ci, en se liant à des protéines ou à des substances toxiques, pénètre dans la phase albuminique. Cette migration des globulines riches en hydrates de carbone est une des raisons de l'augmentation du rapport sucre albuminique/sucre globulinique en pathologie.

La troisième fraction glucidique est composée par un polyholoside, le séromucoïde, dont le taux chez le sujet normal est remarquablement fixe. Il augmente considérablement au cours des tuberculoses évolutives.

Deux fractions protéiques semblent avoir un grand intérêt clinique: l'une, la macroglobuline, précipite du sérum à 0,75 M, l'autre, que nous dénommons polypeptide, entre 3 M et le filtrat trichloracétique. A l'état de traces chez le sujet normal, ces protéines extrêmes augmentent en concentration dans certains états pathologiques.

Il existe un diagramme normal de la précipitation combinée de l'azote et du sucre polyholosidique. On le traduit par une formule glycoprotéidique qui groupe 8 substances que nous dénommons: macroglobuline, globuline γ , glycoprotéide $\alpha\beta$, albumine, mucoïde \mathbf{F} , séromucoïde, polypeptide et haptoglobine.

Laboratoire de Chimie biologique de la Faculté de Médecine à Paris.

¹⁾ Jayle, M.-F., et Gillard, P., Bl. Soc. Chim. biol. 28, 63 (1946).

166. Sur l'acidolyse des amides¹) par E. Cherbuliez et F. Landolt.

(3 VI 46)

L'acidolyse des amides est représentée par l'équation suivante: $R-CONH_2+R'-COOH=R'-CONH_2+R-COOH$

Si quelques cas particuliers de cette réaction réversible ont déjà été décrits, on ne semble toutefois pas l'avoir envisagée comme un processus tout à fait général. Nous en avons étudié la marche notamment dans le cas des amides de l'acide carbonique. L'urée. au contact d'un acide quelconque, fournit, à une température convenable, l'amide de cet acide à côté d'acide carbamidique libre, qui, instable, se décompose immédiatement en ammoniaque et anhydride carbonique; de ce fait, la réaction cesse ici d'être réversible et devient quantitative. L'acide carbamidique lui-même donne naissance à une transformation analogue. Comme il est instable dans les conditions ordinaires, il faut travailler sous pression. Comme la réaction entre ammoniaque et anhydride carbonique tendant à donner de l'acide carbamidique est rapide, comme, d'autre part, l'acide carbamidique semble réagir rapidement avec les acides pour donner des amides. l'anhydride carbonique peut jouer le rôle de catalyseur dans la formation d'une amide à partir du sel ammoniacal d'un acide. La portée biochimique éventuelle de ce phénomène est discutée.

Laboratoire de Chimie organique et pharmaceutique de l'Université de Genève.

167. Sur la présence d'aminoacides nouveaux dans les vibrions cholériques: Acide aminoadipique et acide hydroxyaminoadipique par Judith Blass et Michel Macheboeuf.

(28 V 46)

Si l'on traite les vibrions cholériques par de l'alcool éthylique, de l'alcool méthylique ou de l'acétone, on est surpris par les fortes quantités d'azote non lipidique qu'extraient ces solvants²). Dans les extraits ainsi obtenus, il existe plusieurs substances azotées hydrosolubles, car l'acide phosphotungstique en milieu acide ne précipite que le ½ environ de l'azote. Dans la partie qui ne précipite pas par l'acide phosphotungstique, la majeure partie de l'azote est sous forme

¹⁾ Note préliminaire.

²⁾ M. Machebæuf et J. Blass, Congrès international de microbiologie, Londres 1937, p. 430 du volume du Congrès.

d'amines primaires. La positivité de la réaction à la ninhydrine nous a fait penser qu'il pouvait s'agir d'aminoacides. Nous avons donc cherché quels étaient les aminoacides que les vibrions livraient ainsi en abondance à l'alcool ou à l'acétone.

La méthode qui nous a donné les meilleurs résultats est inspirée de celle que l'un de nous a utilisée autrefois pour les bacilles tuber-culeux¹).

Nous avons obtenu les vibrions cholériques par culture en boîtes de Roux, sur milieu gélose²). Dès leur récolte, les vibrions étaient mis à macérer à froid dans un volume d'acétone égal à neuf fois le volume de la purée bactérienne. Après plusieurs semaines, la solution acétonique était recueillie et les corps microbiens étaient traités une nouvelle fois dans les mêmes conditions par de l'acétone. Les solutions acétoniques furent évaporées dans le vide, le résidu constituant la fraction A.

Les corps microbiens séparés de l'acétone furent épuisés par l'éther qui enlève seulement des substances ne nous intéressant pas ici. Finalement, les corps microbiens sont épuisés par de l'alcool méthylique dans un appareil de Soxhlet. Les solutions alcooliques

évaporées laissent un résidu qui constitue la fraction M.

Les fractions A et M sont abondantes et riches en substances azotées hydrosolubles, mais elles contiennent également des lipides que nous avons éliminés par un traitement au chloroforme ou à l'éther. Elles contiennent en outre quelques substances non lipidiques très peu solubles dans l'eau que nous avons également éliminées. Les solutions aqueuses ainsi obtenues contiennent respectivement les fractions A_I et M_I sur lesquelles porte le présent travail³). L'étude de la fraction méthylique fut plus facile que l'étude de la fraction acétonique. C'est donc par elle que nous commencerons cet exposé.

Après avoir acidifié la solution par l'acide sulfurique jusqu'à ce que le titre soit 0,2 N, nous avons ajouté de l'acide phosphotungstique jusqu'à léger excès. Ainsi furent précipitées et éliminées des substances azotées à caractère basique sur lesquelles nous n'insisterons pas aujourd'hui. Dans le liquide filtré, nous avons éliminé l'acide sulfurique et l'acide phosphotungstique par la baryte, puis enlevé l'excès de baryte après transformation en carbonate. La solution filtrée fut concentrée dans le vide jusqu'à consistance sirupeuse. Il y apparut des cristaux abondants que nous avons séparés et purifiés, dont l'analyse élémentaire conduisit à la formule brute: $C_6H_{10}O_4NNa$. L'azote est à l'état d'amine primaire, les quatre oxygènes correspondent à deux fonctions acides. Le spectre d'absorption ultraviolet ne présente pas de bandes correspondant à l'existence de cycle aromatique. Il s'agit donc vraisemblablement du sel de sodium d'un acide aminoadipique. Nous n'avions pas assez de substance pour pouvoir préciser la position exacte de la fonction amine, et c'est par simple analogie avec les acides aminés les plus courants dans la nature que nous pouvons penser à la formule suivante:

$$\begin{array}{c} \text{HOOC--CH}_2\text{---CH}_2\text{----CH}_2\text{-----CH}-\text{COOH} \\ \stackrel{|}{\text{NH}}_2 \end{array}$$

Le rendement en cristaux de ce type fut de 1,6% environ du poids sec des vibrions. Revenons maintenant à la fraction acétonique $A_{\rm I}$. Elle est également très riche en aminoacides. Nos tentatives pour obtenir directement des cristaux séparables en concentrant progressivement la solution sous vide ont été infructueuses. Il se forme des sirops très épais qui se dessèchent finalement sous forme vitreuse. Nous avons donc dû mettre en pratique des fractionnements. La technique qui nous a donné de bons résultats fut la suivante: la fraction dissoute dans un petit volume d'eau est additionnée d'alcool absolu

²) Bouillon de viande de veau gélose à 3%, à p_H 8.

¹⁾ M. Machebæuf, J. Dieryck et R. Stoop, Ann. Inst. Pasteur 54, 71 (1935).

³) J. Blass et M. Machebæuf, 2 notes préliminaires sur le présent travail ont paru aux C. r. 221, 189 et 313 (1945).

jusqu'à ce que le titre alcoolique atteigne 90°, on élimine une petite fraction qui a précipité, puis on ajoute progressivement de l'éther tant que le précipité augmente notablement, mais on cesse lorsqu'une nouvelle addition d'éther ne provoque plus que la formation d'un louche. Dans ces conditions, on recueille sous forme de précipité une fraction abondante qui contient des aminoacides tandis que le liquide alcoolo-éthéré conserve d'autres substances dont nous ne nous occuperons pas ici. Le précipité est dissous dans une solution aqueuse d'acide sulfurique 0,2 N, puis additionné d'acide phosphotungstique tant qu'il se forme un précipité. La solution débarassée du précipité est traitée par la baryte pour enlever l'acide sulfurique et l'acide phosphotungstique. On élimine l'excès de baryte à l'état de carbonate. La solution laisse, par évaporation sous vide, un résidu micro-cristallin qui, après purification, fut soumis à l'analyse élémentaire. Le résultat correspond à la formule brute: C₆H₁₀O₅NNa et l'azote est à l'état d'amine primaire. La substance donne toutes les réactions générales des aminoacides; nous avons encore affaire à un diacide monoaminé, mais il existe un cirquième oxygène. Nous avons pu constater que cet oxygène supplémentaire appartient à une fonction alcool. En effet, par acétylation, nous avons obtenu un produit qui contenait deux radicaux acétyle, l'un fixé sur la fonction amine et l'autre sur la fonction alcool. La formule développée doit donc être du type

dans laquelle, faute de quantités suffisantes de matière première et par suite des difficultés actuelles de culture de vibrions en grande masse, nous n'avons pas pu préciser les positions exactes de NH, et de CHOH, mais notre travail suffit à nous faire penser qu'il s'agit bien d'un acide hydroxyaminoadipique. Le rendement en sel de sodium cristallisé fut de 1% environ par rapport au poids des vibrions séchés. L'ensemble des aminodiacides en C_s que nous avons pu isoler des vibrions (acide aminoadipique + acide hydroxyaminoadipique) représente donc environ 2,5% de la matière sèche du vibrion (cristaux bruts).

Un travail en cours encore inédit que nous effectuons avec Mlle Daisy Robert nous montre déjà que l'existence de ces aminoacides en telle abondance dans le vibrion cholérique est un cas particulier. En effet, dans deux autres microbes que nous avons étudiés, ces acides n'existent pas en quantités suffisantes pour qu'on puisse les isoler par une méthode aussi simple que celle qui a suffi dans le cas du vibrion cholérique.

Institut Pasteur, Paris.

168. Action biologique de quelques dérivés du DDT par R. Domenjoz.

(15 VI 46)

Les fonctions suivantes ont été déterminées pour une série de dérivés du DDT: pouvoir insecticide1), toxicité sur la souris (adminis-

¹⁾ Méthode de détermination du pouvoir insecticide, voir R. Domenjoz, Helv. physiol. pharmacol. acta, (sous presse).

tration per os dans l'huile d'olive), capacité de libérer du HCl¹), solubilité dans l'acétone et dans l'huile d'olive.

La désintégration du DDT chez le mammifère (Stohlman et Smith²) White et Sweeney³)) ne correspond pas à une neutralisation de l'effet toxique, vu que la toxicité du produit final de ce processus (III) ne diffère que très peu de celle du DDT.

Les acides p, o'-dichloro-diphényl-acétique (VI) et p, p'-diméthyl-diphényl-acétique (XI) sont notablement plus toxiques que les dérivés trichloro-éthyliques correspondants (V et X).

Quelques dérivés secondaires, contenus dans le produit technique (Haller, Bartlett, etc.⁴), Gaetzi et Stammbach⁵)) sont moins toxiques que le DDT (V, XVI, XIX, XX, XVII, XVIII) de sorte que leur présence n'altère pas la toxicité du DDT commercial.

De toutes les substances examinées, le p,p'-difluordiphényltrichloro-éthane (IV, excellent pouvoir insecticide) et le ditétralyltrichloro-éthane (XV, sans aucune action insecticide par contact), sont d'une toxicité égale à celle du DDT. Seul le p,m'-DDT (VII) est plus toxique que le p,p'-DDT.

Les données de Jensen, Pind et Wolffbrand⁶) et de Bushvine⁷) ont été confirmées par de nouveaux exemples. Il en résulte, en contradiction avec la théorie de Läuger⁸) que le pouvoir insecticide et la liposolubilité ne sont point fonction de certains groupements de la molécule. Le pouvoir insecticide n'est pas lié à la présence du radical chlorobenzénique (I, X, XIV), de même que la présence du radical trichloro-éthylique ne conditionne pas la liposolubilité de la molécule (VI, XII, XVI).

Le pouvoir insecticide n'est pas fonction de la liposolubilité (à comparer: I/II, II/V, II/VII, V/VI, XIII/XIV) et n'a pas de relation avec la toxicité, déterminée chez la souris.

La capacité de libérer du HCl correspond dans quelques cas à l'intensité du pouvoir insecticide (II, IV, XVI, XX), par contre cette propriété ne permet pas d'expliquer l'efficacité de certains produits, incapables de libérer du HCl (X, XIV, XIX).

 $^{^{1})}$ 0,5 gr. de substance ont été traitées durant 45 minutes à une température de $22-23^{\rm o}$ avec $100~{\rm cm^3}$ d'une solution alcoolique de KOH n/10; ensuite détermination du chlore d'après la méthode de Volhard.

E. F. Stohlman et M. I. Smith, J. Pharmacology 84, 375 (1945).
 W. C. White et Th. R. Sweeney, Publ. Health Rep. 60, 66 (1945).

⁴⁾ H. L. Haller, P. D. Bartlett, etc., Am. Soc. 1945, 1591.

⁵⁾ K. Gaetzi et W. Stammbach, Helv. 29, 563 (1946).

⁶⁾ K. A. Jensen, K. Pind et C. G. Wolffbrand, Kemisk. Maanedsblad 1945, 106.

⁷⁾ I. R. Bushvine, Nature 1945, 169.

⁸⁾ P. Lauger, H. Martin et P. Müller, Helv. 27, 892 (1944); comparer ibid. 29, 405 (1946).

	Toxici	Toxicité, souris		A	Action insecticide	nsectici	de		Dé.	Solu	Solubilité
	Dl 50 per os gr. l.gr.	Symptômes	nod	mou-	four- mi	cha- ran çon	pyrale	mite	gage- ment HCl Mol %	gr./10 acé- tone	acé- huile cone d'olive
но Сн	2,0	DDT.		+	‡	Ø		÷	13	156	27
CH CH COI.	0,4	DDT- tremor	+++++	++	+ + + +	++++	+ +	ŕ	001	21	10
COOH	0,59	obnubi- lation	Ø	Ø	+	(+)	+	Ø	0	26	1,9
F—CH—CH—COI3	0,44	DDT.	† †	++++++	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	+ + + + +	† † †	++	65	>350	>40
CH—CH	3,35	tremor sporad.,	+	<u>+</u>	+	+	÷ + +	+	10	77	11
CH CH	0,515	sions convul-	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	0	102	=
ноор ноор	0,07	DDT.	+	÷	+ + + +	+ + +	+	+	- 82	ŧ	1
COL3											

	Toxioi	Toxicité, souris		Ac	Action insecticide	secticid	9 9		Dé-	Solu	Solubilité
	DI 50 per os gr. kgr.	Symptômes	nod	mou-	four. mi	cha- ran- çon	pyrale	mite	ment HCl Mol %	acé- tone	acé- huile tone d'olive
он—Сн ссн сон	3,6	obnubi. lation	Ø	Ø	Ø	101	(†)	Ø	0	85	2,6
сн,о—сн—сн—ссн, іх ссп,	1,85	DDT- tremor	Ø	+ + +	‡ +	Ø	÷	± +	3,4	7.1	ಸ್ತ
сн.,—Сн.—Сн.	3,35	tremor, légères convulsions	‡	+++	+ + +	Ø	±	± †	6	53	7,7
соон	1,2	convul-	Ø	Ø	Ø	Ø	+	Ø	0	33	1,1
	1,0	convul- sions	+	+	+	7	ŧ	+	0	31	88
	8,6	légères convul- sions	Ø	Ø	Ø	Ø	+	Ø	0	16	4,6
CH, CH, CCH,	8,4	tremor	Ø	+ +	Ø	(+	(+)	++++++	0,7	59	5,7

	Toxici	Toxicité souris		A	Action insecticide	secticic	le		Dé-	Solu	Solubilité
	Di 50 per os gr./kgr.	Symptônes	nod	mou-	four- mi	cha- ran- çon	pyrale	mite	gage- ment HCl Mol %	gr./10 Acé- tone	gr./100 cm³ Acé- huile cone d'olive
XV CCH	0,44	DDT.	Ø	Ø	Ø	Ø	+	‡	0	Į~	بر ب
CI—CH—CH—CII	5,8	DUT.	€	+ + +	÷	Ø	+ + +		79	20	70.0
CI————————————————————————————————————	24	tremor sporad.	Ø	Ø	Ø	Ø	+ +	+	0	9,4	£,
CI————CI XVIII	2,95	DDT. tremor	+	т	Ø	Ø	+ + + +	Ø	0	57	1C:
CI—CH—OH XIX COI3	3,2	convul- sions	± ±	+ + +	+	+	Τ.	3	1,0)350	28
CI—CH—CI XX CCI ₃	0,6	obnubi- lation	‡	+	T			Ø	100	1	1

Le terme «pouvoir insecticide» ne correspond pas à un mécanisme biologique clairement défini; il comprend un grand nombre de réactions biologiques et toxicologiques qui nous échappent pour des raisons techniques. Ces faits compliquent l'étude des relations entre la constitution chimique et le pouvoir insecticide.

Légende de la tabelle.

Action insecticide: \emptyset = aucune action.

 $+\dot{a}+++$ plus ou moins forte action.

Insectes examinés: Pou = Pediculi vestimenti,

Mouche: Calliphora vomitoria, Fourmi: Formica fusca, Charançon: Calandra granaria, Pyrale: Ephestia Kugniella, Mite: Larves de Tineola biselliella.

Laboratoires de recherches, J. R. Geigy, A.G., Bâle.

169. Progrès récents dans la biochimie de la choline et de ses dérivés par Ernest Kahane¹) et Jeanne Lévy²).

(12 VI 46)

Les travaux que nous avons consacrés à la biochimie de la choline et de ses dérivés appartiennent aux trois groupes suivants:

- 1º Etude de la présence et de l'état de la choline chez les êtres vivants;
- 2º Etude de la présence de l'acétylcholine libre ou dissimulée chez les êtres vivants;
- 3º Pharmacologie de l'acétylcholine et des substances qui lui sont apparentées.

Nous décrirons dans ce travail l'évolution de nos recherches sur la présence et sur l'état de la choline dans les substances biologiques, qui nous ont amenés à établir plusieurs techniques analytiques nouvelles.

Si la présence de la choline à l'état combiné, sous la forme de lécithine, est depuis longtemps universellement reconnue dans toutes les cellules vivantes, son existence à l'état libre était loin d'être établie avec certitude. La polémique qui a mis aux prises entre 1907 et 1910 Gautrelet et Blanchetière au sujet de la choline libre du sang, est parti-

¹) Maître de Conférences à l'Ecole Nationale d'agriculture de Grignon, Directeur du laboratoire de Microanalyse Organique du Centre National de la Recherche Scientifique.

²⁾ Professeur à la Faculté de Médecine de Paris, Directeur du laboratoire de Contrôle des Médicaments antivénériens de l'Académie de Médecine de Paris.

culièrement significative à cet égard. Une substance biologique avait cependant été l'objet de nombreux travaux qui étaient tous concordants: c'est le sperme, dont la richesse en choline était même le principe de sa recherche médico-légale par la réaction de *Florence* (précipitation caractéristique de l'ennéaiodure de choline).

En vertu de cette propriété, Rondeau du Noyer et Kahane ont essayé d'établir en 1933 une méthode d'identification de la poudre de testicules, par la formation des cristaux de Florence au moyen d'un réactif iodo-ioduré. En fait, cette réaction était fortement positive, non seulement avec la poudre de testicules, mais également avec toutes les autres poudres opothérapiques soumises à l'expérience. Ce résultat, qui interdisait l'application analytique projetée, était en contradiction avec ce que l'on savait du caractère aléatoire de la recherche de la choline dans les organes animaux.

Les techniques analytiques dont on disposait à cette époque ne permettaient pas d'aller beaucoup plus loin, car la choline possède peu de réactions caractéristiques. Elle précipite avec les réactifs généraux des alcaloïdes en même temps qu'un grand nombre parmi les substances azotées des extraits animaux et végétaux. La réaction biologique, après acétylation, si elle est spécifique de la choline, peut intéresser dans une mesure plus ou moins grande la choline engagée dans ses combinaisons. De plus, le simple problème de la séparation de la choline libre et des lécithines était mal résolu. Il nous a fallu établir des techniques plus sûres que les méthodes générales classiques et nous avons été assez heureux pour trouver dans l'hydroxyde de fer naissant, employé sous la forme du mélange d'une solution de sulfate de fer(III) et de carbonate de calcium, un réactif qui fournit des extraits aqueux remarquablement purs et fidèles.

Même dans ces extraits, la choline est loin d'être la seule substance qui précipite par les réactifs généraux des alcaloïdes et notamment par le réactif iodo-ioduré. Néanmoins, à condition d'opérer en milieu très dilué, la réaction de *Florence* apparaît généralement avec netteté. Un dosage approximatif peut être fait en observant la dilution limite de disparition de la réaction de *Florence* par comparaison avec une solution-témoin.

Nous avons appliqué cette méthode à de nombreux tissus. En faisant le broyage et la défécation aussi rapidement que possible après le prélèvement, de façon à éviter toute altération de la choline primitivement présente ou toute apparition de choline aux dépens de ses formes complexes, nous avons reconnu que la quasi-totalité des substances biologiques renferment de la choline à l'état libre, en quantité extrêmement variable de l'une à l'autre, mais avec une certaine régularité pour des échantillons différents du même tissu appartenant à la même espèce.

Mais le phénomène antérieurement décrit n'était pas suffisamment expliqué par la présence ainsi reconnue de choline libre dans tous les organes. Non seulement la quantité de choline libre de l'intestin (10—60 γ par g), du foie (5—120), des poumons (5—75), des reins (5—90), etc., est relativement faible, mais celle que l'on trouve dans les testicules (5—60), les vésicules séminales (10—175) et le sperme (70) l'est également. Après le paradoxe de la choline libre abondante dans toutes les poudres d'organes, nous tombons sur le paradoxe de la choline libre rare même dans les substances biologiques traditionnellement réputées en contenir beaucoup.

L'étude particulière du sperme et des organes génitaux mâles nous a montré que l'abondance de la choline libre est sous l'étroite dépendance du temps qui s'écoule entre le prélèvement et la préparation de l'extrait. Un énorme supplément de choline libre apparaît rapidement dans ces différents tissus, et surtout dans le sperme (2,12 mg après 6 h.). L'idée d'un processus enzymatique s'imposait, et elle a été confirmée par l'observation du pouvoir enzymatique intense des extraits de prostate vis-à-vis des extraits de vésicules séminales.

Quel était le substrat aux dépens duquel se faisait la libération de choline? La défécation par l'hydroxyde de fer(III) naissant permet de séparer les principes franchement hydrosolubles des principes insolubles ou existant à l'état colloïdal. Il fut facile de reconnaître que ce n'est pas aux dépens de ceux-ci que se fait la libération de choline, mais par action de l'extrait de prostate sur le liquide provenant de la défécation.

A côté de la choline libre que nous avions rencontrée dans les extraits aqueux des tissus, ceux-ci renferment donc une forme combinée de la choline capable de libérer cette substance sous une influence enzymatique. La même libération a lieu par hydrolyse, notamment sous l'influence de l'acide chlorhydrique à l'ébullition. Cette forme de choline, que nous désignons provisoirement sous le nom de «Choline hydrosoluble combinée», n'est pas particulière au sperme, mais existe dans la majeure partie des tissus animaux et végétaux. Son abondance est variable, mais la quantité de choline qu'elle fournit par hydrolyse est généralement supérieure à la choline libre. Dans certains cas, elle est considérable, comme pour les vésicules séminales (0,5 à 2,3 mg par g) et le sperme (2,8 mg). Chez la plupart des organes animaux, on en trouve de 0,05 à 0,2 mg par g.

Ces tissus étaient peu utilisables pour une recherche systématique en vue de l'identification de la «choline hydrosoluble combinée», les uns parce qu'ils sont peu accessibles, les autres parce qu'ils sont trop pauvres. Nous avons procédé à une enquête afin de trouver une matière première à la fois abondante et riche en choline hydrosoluble combinée. Au cours d'un séjour à la Station Zoologique de Roscoff, nous avons eu la bonne fortune de trouver dans un mollusque, la Patelle (*Patella vulgata*), la source que nous recherchions. La Patelle contient en effet par gramme environ 0,1 mg de choline libre et 0,4 à 2,5 mgr. de choline à l'état hydrosoluble combiné.

Nous avons traité 76 kg de patelles afin d'en extraire le principe en question, d'étudier ses propriétés et d'établir sa composition. La choline hydrosoluble combinée ne présente aucune des réactions de précipitation par les réactifs généraux des alcaloïdes. Mais comme elle est soluble dans les alcools et dans l'eau, et insoluble dans l'acétone, nous avons effectué une série de précipitations par ce dernier réactif qui ont largement purifié l'extrait primitif provenant de la défécation ferrique. Le rapport du produit sec au chlorure de choline qu'il donne par hydrolyse était passé de 70 à 11. Nous avons alors poussé plus loin la purification de notre extrait par adsorption de la choline hydrosoluble combinée en solution dans l'alcool méthylique sur le silicagel. L'élution était faite par action de l'eau bouillante, et fournissait un extrait contenant environ un tiers de son poids de chlorure de choline.

C'est sur ces entrefaites que nos recherches ont été interrompues par la guerre, puis entravées par l'occupation. Nous les avons reprises avec activité dès la Libération qui nous a permis de reconstituer nos équipes de travail. Mais presque tous nos extraits s'étaient hydrolysés dans l'intervalle et étaient devenus inutilisables. Les côtes étaient inaccessibles et la récolte des Patelles à peu près impossible.

Aussi, en attendant de reprendre l'étude des extraits de Patelle, nous avons pensé à utiliser un matériel plus simple. En effet, nous avons effectué des recherches sur l'autolyse des organes, comme suite à nos observations sur l'action de l'enzyme de la prostate sur les extraits de vésicules séminales. En raison de la libération progressive de choline par l'intestin maintenu en survie, libération bien connue à laquelle on avait même attribué un caractère hormonal, nous avons étudié d'une façon particulièrement approfondie l'évolution des substances choliniques de l'intestin intact ou broyé. Nous avons ainsi reconnu que le stock de choline hydrosoluble combinée et celui de choline libre croissent au détriment de la choline non hydrosoluble, la totalité de la choline, ou presque, finissant par se trouver à l'état libre. Cette dégradation paraît être due à un mécanisme en deux étapes: hydrolyse enzymatique des phospho-aminolipides en choline hydrosoluble combinée, hydrolyse enzymatique de celle-ci en choline libre. Nous avons pu définir les conditions expérimentales dans lesquelles le premier mécanisme se produit presque exclusivement et nous avons reconnu qu'il permet la dégradation des lécithines isolées.

Opérant sur une suspension de lécithine de l'œuf dans l'eau, nous avons obtenu par l'action de l'intestin broyé une solution renfermant, après défécation, une portion importante de la choline primitive sous forme combinée. Nous avons appliqué à ces extraits les méthodes de précipitation à l'acétone et d'adsorption sur silicagel qui avaient permis de purifier les extraits de Patelle. Comme nous partions d'un

milieu plus simple et plus riche, nous avons obtenu plus facilement des extraits plus purs. Le produit final s'est montré en effet rebelle à toutes les tentatives de séparation auxquelles nous l'avons soumis. Il contient environ la moitié de son poids de choline (comptée en chlorure) et renferme, pour une molécule de choline, une molécule d'acide glycérophosphorique. Au moins dans ce cas particulier, la choline hydrosoluble combinée s'identifie par conséquent à l'ester glycérophosphorique de la choline.

Nous ne pouvons pas généraliser entièrement ce résultat et nous continuerons à désigner sous le nom de choline hydrosoluble combinée le principe que nous avons rencontré dans la plupart des tissus animaux et végétaux. Certaines observations nous font penser que ce principe n'est pas toujours identique à lui-même et qu'il s'agit sans doute de toute une classe d'esters dont la glycérophosphoryl-choline n'est que l'un des représentants.

Pour toutes ces recherches nous avons eu besoin de connaître avec le maximum de précision la teneur en choline libre et en choline totale des substances sur lesquelles nous travaillions. Les méthodes de dosage par appréciation de la dilution limite de la réaction de Florence, ou biologique après acétylation, ne permettaient qu'une évaluation approximative. Nous nous sommes attachés à mettre au point une technique plus précise et nous avons réussi à adapter le dosage volumétrique de l'iode du periodure de choline aux extraits biologiques.

En fait, cette méthode est fréquemment utilisée, mais ne donne de bons résultats que sur les extraits contenant peu de substances étrangères à côté de la choline elle-même, car la plupart des bases de l'organisme donnent en milieu concentré des précipités avec le réactif iodo-ioduré. La séparation de la choline et de ces bases est difficile et les méthodes par précipitation, qu'elles fassent appel à ce réactif, au sel de Reinecke, à l'acide phosphotungstique, etc., ne conviennent qu'aux extraits lipidiques. La préparation de ces derniers extraits offre elle-même des difficultés notables, car il est pratiquement impossible d'extraire d'un tissu la totalité de sa choline au moven des solvants organiques. Le dosage de la choline totale doit être fait sur le tissu total, et nous avons successivement décrit une méthode d'attaque sulfurique, puis une méthode d'attaque nitrique, au cours desquelles la choline se trouve libérée de ses combinaisons. Beaucoup de substances azotées sont détruites au cours de ces attaques acides et dans le deuxième procédé, la choline reste seule à précipiter par le réactif iodo-ioduré

La technique que nous préconisons (en collaboration avec G. Ducet), consiste par conséquent à attaquer la substance biologique par l'acide nitrique au tiers, à neutraliser par un excès de carbonate de calcium, à déféquer par addition de sulfate de fer(III), à précipiter le periodure de choline par un réactif iodo-ioduré et enfin à titrer au thiosulfate

8 des 9 atomes d'iode de ce periodure. Nous obtenons ainsi des résultats reproductibles. De plus, le periodure de choline isolé peut servir à l'identification de la choline par transformation en phosphotungstate et étude des propriétés de ce sel.

Nous employons cette méthode, qui offre le maximum de garantie, pour éclaircir le problème du métabolisme de la choline qui est fort mal connu, dans l'espoir de jeter quelque lumière sur ce que l'on soupçonne du rôle physiologique de la choline, de la choline hydrosoluble combinée et des phosphoaminolipides.

Paris, Laboratoire de microanalyse organique du C.N.R.S. Laboratoire de Contrôle des Médicaments antivénériens de l'Académie de Médecine.

BIBLIOGRAPHIE.

Bl. Soc. Chim. biol. **15**, 938—943 (1933); **18**, 479—489; 490—504; 505—528; 529 à 555 (1936); **19**, 205—233; id. 777—786; id. 959—975; id. 976—989 (1937); **21**, 223—240; id. 241—249; id. 250—255; id. 256—263; id. 1055 (1939); **27**, 65—72; id. 72—77; id. 164—167; id. 167—171; id. 171—180; id. 346—353; id. 354—357; id. 544—553; id. 553—562; id. 562—570 (1945).

Monographies publiées par *Hermann & Cie.*, Paris: Biochimie de la choline et de ses dérivés: I. Choline-Neurine. II. Acétylcholine. III. Colamine, triméthylamine et substances diverses. VI. Dosages biologiques (1938).

Thèse Pharmacien Supérieur, Pédron, Paris, 1944.

C. r. 191, 1130 (1930); 202, 781; id. 1210; id. 2186 (1936); 204, 1752 (1937); 207, 642; id. 747 (1938); 219, 431 (1944); 220, 97 (1945).

Bl. [4] 49, 557—567 (1931); [5] 3, 621—626; id. 1588—1595 (1936); [5] 4, 717—727

(1937); [5] 6, 647—655 (1939).

C. r. Soc. Biol. **99**, 1136 (1928); **101**, 909 (1929); **121**, 1896 (1936); **125**, 252 (1937); **127**, 10 (1938); **130**, 309; id. 312; id. 316 (1939).

J. Pharm. Chim. 12, 220—228 (1930); 13, 371—385 (1931); 15, 49—60 (1932);

22, 254-267 (1935).

C. r. Journ. méd. pharm. Franco-belges, Lille, 1934, 155—162; Arch. Physiol. Path. Gén. 35, 389—406 (1937); Arch. intern. Pharm. Thérap. 57, 467—488 (1937); Sech. J. Physiol., U.S.S.R. 21, 383 (1938); Ann. Physiol. 14, 575—581 (1938); C. r. XIII Congrès Assoc. Physiol. Langue Franç., Louvain, 1938, 114; C. r. XIIIe Congrès, 1939, 397; Le Lait 25, 193—223 (1945).

170. Recherches récentes dans le domaine des hormones en Suisse par K. Mieseher.

(17 VI 46)

Paraîtra ailleurs 1).

¹⁾ Exper. 2, 237 (1946).

171. Propriétés biochimiques des ptérines par Michel Polonovski, René-Guy Busnel et Marcel Pesson. (26 V 46)

La biologie pose des problèmes que la biochimie doit s'essayer à résoudre: l'étude des ptérines est, depuis leur découverte par Hopkins en 1889, une des plus belles illustrations de cette inter-dépendance des deux disciplines. D'abord localisées aux écailles des ailes de Piérides, d'où elles ont été isolées par Wieland et ses collaborateurs, trouvées ensuite par Koschara dans l'urine, puis dans le foie des vertébrés supérieurs, identifiées dans le tube de Malpighi d'un Bombyx¹), nous les avons nous-mêmes signalées chez les vertébrés inférieurs²) ainsi que chez les crustacés³)⁴). Le rôle que l'on entrevoit actuellement pour ces composés ptériniques dans l'érythropoièse, leur rapport avec certaines anémies macrocytaires, et leur comportement en tant que vitamine du groupe B a suscité envers ces substances un nouveau regain d'intérêt.

A l'origine de nos travaux se situe également une observation biologique: la présence, décelée par *Fontaine* et *Busnel*, d'une substance à fluorescence bleue dans les écailles de certains poissons⁵), et les relations de ce pigment avec la riboflavine et la mélanogénèse, dans les mélanocytes de tous les vertébrés inférieurs et dans l'hypoderme des crustacés décapodes brachyoures⁶).

La substance fluorescente se trouve, in vivo, sous forme d'un chromoprotéide (déjà dissocié par simple contact avec l'acide acétique à 10 p. 100). Nous l'avons isolée par ultra-filtration de l'extrait acétique (pour éliminer les protéines), suivie d'une chromatographie à $p_{\rm H}$ acide sur franconite (qui retient la riboflavine en haut de la colonne, d'où on la sépare ensuite mécaniquement) et d'une élution par le mélange d'*Emmerie*. Après évaporation dans le vide du résidu et reprise par l'eau bouillante, on obtient le pigment, sous forme cristallisée, par concentration de ses solutions?). Nous lui avons donné le nom de fluorescyanine qui rappelle sa propriété la plus caractéristique.

¹⁾ Busnel R. G. et Drilhon A., Arch. Zoologie exp. et gén. 82, 321-56 (1942).

²⁾ Busnel, R.G., C. r. 214, 189 (1942).

³⁾ Polonovski, M., Verne, J., Busnel, R. G. et Pesson, M., C. r. Soc. Biol. 137, 416 (1943).

⁴⁾ Polonovski, M. et Fournier, E., C. r. Soc. Biol. 138, 357 (1944).

⁵⁾ Fontaine, M. et Busnel, R. G., Bull. Inst. Océanogr., Monaco, 1939, Nº 782.

⁶) Certaines cellules pigmentaires, comme les chromatocytes des poissons rouges contiennent à leur origine de la mélanine qui disparaît secondairement en laissant subsister la substance fluorescente bleue.

⁷⁾ Polonovski, M., Busnel, R.G. et Pesson, M., C. r. 217, 163 (1943).

La fluorescyanine est certainement identique à l'ichtyoptérine, $C_7H_8O_3N_4$ (?) décrite indépendamment par $H\ddot{u}ttel$ et $Sprengling^1$) bien que les données analytiques ne soient pas entièrement superposables.

La fluorescyanine cristallise en aiguilles jaunâtres groupées en pelotes épineuses. Elle est insoluble dans les solvants organiques non miscibles à l'eau, mais soluble dans l'eau, l'alcool éthylique à $60^{\rm C}$, le méthanol et la pyridine. Sa fluorescence dans l'ultraviolet se manifeste surtout entre $p_{\rm H}$ 5 et $p_{\rm H}$ 8 et diminue très rapidement en dehors de ces limites. Le spectre de fluorescence accuse un maximum entre 4316 et 4323 Å. La fluorescyanine est thermostable et ne donne pas de lumi-dérivés par photolyse sous l'influence des rayons ultraviolets. Elle est facilement absorbée par l'alumine, la terre à foulon, la franconite, la jagolithe en milieu neutre ou acide, et par la floridine X S en milieu alcalin.

Toutes ces propriétés apparentent la fluorescyanine aux ptérines. La «redox-réaction» (réduction par HI fumant et reoxydation par dilution) que donne notre pigment le rapproche plus spécialement de la 8-désoxy-leucoptérine ou isoxanthoptérine.

isoxanthoptérine

Le dithionite de sodium réduit la fluorescyanine moins rapidement que la riboflavine en un leucodérivé dépourvu de fluorescence et qui se réoxyde par simple agitation à l'air, plus facilement que la leucoflavine. Cette facile réductibilité, et sa non moins facile réversibilité faisaient pressentir le rôle possible de cette substance dans les phénomènes d'oxydo-réduction comme transporteur d'hydrogène. Il nous a été donné de mettre cette fonction physiologique en évidence par quatre séries différentes d'expériences que nous résumerons ici brièvement.

1. Action de la fluorescyanine sur la respiration tissulaire.

En mesurant, à l'aide de la méthode manométrique de Warburg, l'intensité respiratoire des différentes fractions des écailles de Carpe ou de Cyprin doré, en fonction de leur richesse en fluorescyanine ferment — les écailles dorsales étant abondamment pigmentées et riches en fluorescyanine alors que les ventrales incolores en sont dépourvues — nous avons trouvé (avec A. Pelou²)):

Carpe		Ecailles	dorsales	93	mm^3	de	O_2	absorbé	par	g./heure	à	$17,5^{\circ}$
3		1)	ventrales	70	mm^3				id.			
Cyprin	doré	*	dorsales	45	mm^3				id.			
)	16	*	ventrales	35	mm^3				id.			

¹⁾ Hüttel, R. et Sprengling, G., A. 554, 69, 82 (1943).

²⁾ Busnel, R.G., Pelou, A. et Polonovski, M., C. r. 220, 185 (1945).

En fractionnant les écailles dorsales et en comparant les parties les plus pigmentées aux régions incolores, nous avons serré encore de plus près l'influence du pigment, car les quantités d'oxygène absorbé par gramme/heure furent alors de 174 mm³ pour les régions riches en fluorescyanine et de 34 mm³ seulement pour les autres. Cet écart est en grande partie indépendant des systèmes cytochromiques, car la respiration résiduelle de la première fraction, après addition d'une solution de KCN, est encore de 45 mm³ par g./h., tandis qu'elle devient nulle pour les régions incolores.

2. Action sur le catat-olurine-test de Peters.

Nous avons utilisé des coupes d'hémisphères cérébraux de rats carences en vitamine B₁ et comparé, à l'aide de l'appareil de Warburg, les variations d'absorption d'oxygène et de dégagement de CO₂ du tissu carence servant de témoin et des mêmes tissus après une demi-heure de contact, à 38°, soit avec la fluorescyanine, soit avec de l'aneurine.

Témoin	+0 y 2 d'aneurine	+ 1 γ fluorescyanine 92—94 mm³
CO ₂ 87,8—88 mm ³	$92-96 \text{ mm}^3$	92—94 mm°

Nous avons observé des effets analogues avec des ptérines de synthèse¹) et notamment avec l'isoxanthoptérine et avec l'éthyl-thio-2-hydroxy-6-ptéridine.

Témoin mm 3 de O_2 absorbé à 37^0 par g./h.	1 γ d'ac. isoxanthoptérine- carboxylique	isoxanthoptérine (1 γ)
132	135,6	139,2
mm³ de O ₂ absorbé à 37º par g./h. 133.3	2γ d'éthylthio-2-hydroxy- 6-ptéridine 149,2	

3. Action vicariante de la Vitamine B2.

La similitude de localisation dans le mélanocyte de la fluorescyanine et de la riboflavine²) suggérait la possibilité d'une action physiologique commune et nous avons recherché si notre pigment n'était pas également doué de propriétés vitaminiques B_2 . A cet effet, des rats carencés en vitamine B_2 reçurent $10\ \gamma$ par jour de fluorescyanine: leur croissance moyenne auparavant arrêtée, fut de $2\ g$. par jour (leur poids s'élevant de $40\ à\ 80\ g$. en $20\ jours$), croissance analogue à celle des témoins positifs recevant de la riboflavine³).

Cette vicariance se révéla également dans le test chronaximétrique de *P. Chauchard*⁴): la chronaxie des rats carences en B₂ fortement abaissée redevient normale après addition de fluorescyanine à l'animal, comme après restitution de la riboflavine ⁵).

4. Action vicariante de la vitamine B, chez le rat et chez le pigeon.

Mais le résultat le plus inattendu auquel nos expériences nous ont conduit est l'action vicariante de la fluorescyanine et d'un très grand nombre de ptérines de synthèse vis-à-vis de la vitamine B₁, tant chez le pigeon que chez le rat carencés en aneurine,

¹⁾ Polonovski, M., Pesson, M., Vieillefosse, R., C. r. 218, 796 (1944).

²) Verne, J. et Busnel, R.G., C. r. Soc. Biol. 136, 164 (1942).

³⁾ Busnel, R. G., Chauchard, P., Mazoué, H., Pesson, M., Polonovski, M., C. r. 217, 185 (1943).

⁴⁾ Chauchard, P., Busnel, R. G., Raffy, A., Lecoq, R., C. r. Soc. Biol. 137, 82 (1943).

⁵) Busnel, R. G., Chauchard, P., Mazoué, H., Pesson, M., Polonovski, M., C. r. Soc. Biol. 137, 594 (1943); 138, 171 (1944).

action que nous avons pu mettre en évidence, soit par la courbe de croissance de l'animal, soit par la prévention ou la guérison des crises polynévritiques, soit par le rétablissement des indices chronaxiques de la glycémie normale et de la température, ou par la correction de la brachycardie.

Nos essais ont porté sur la fluorescyanine naturelle, sur l'isoxanthoptérine, sur les acides xanthoptérine-, isoxanthoptérine-, désimino-isoxanthoptérine-carboxylique, sur la 2,6-dihydroxy-8,9-diméthyl-ptéridine et la 2-amino-6-hydroxy-8,9-diméthyl-ptéridine.

Chez le rat, alors que les témoins négatifs soumis à un régime dépourvu de vitamine B_1 , perdaient 13 g. en 5 jours et mourraient, en accusant une chronaxie abaissée et que les témoins positifs, reçevant $10~\gamma$ d'aneurine par jour, gagnaient 31 g. en 26 jours, en conservant une chronaxie normale, les animaux auxquels nous avons donné $10~\gamma$ de fluorescyanine croissaient aussi de 30 g. en 26 jours, leur chronaxie redevant normale au 8e jour.

Les ptérines de synthèse ont provoqué également, pour des doses variant de 50 à $100 \, \gamma$, des gains de poids s'échelonnant entre 12 et 37 g. et un retour de la chronaxie à la normale comme l'indique le tableau suivant.

Vicariance	des	ptérines	pour	le	rat	carence	en	B_1 .
------------	-----	----------	------	----	-----	---------	----	---------

Nom du produit	Dose en γ p. jour	Gain de poids	Temps pour le retour à la chronaxie normale
Acide isoxanthoptérine-	50	12 g. en 21 jours	21 jours
carboxylique	100	20 g. en 21 jours	14 jours
Acide xanthoptérine-	50	13 g. en 26 jours	17 jours
carboxylique	100	25 g. en 26 jours	10 jours
Dihydroxy-2,6-diméthyl-	50	26 g. en 21 jours	17 jours
8,9-ptéridine		37 g. en 21 jours	17 jours
Isoxanthoptérine	50	27 g. en 26 jours 21 g. en 26 jours	20 jours 17 jours
Acide désimino-isoxan-	50	19 g. en 21 jours	21 jours
thoptérine-carboxyl.		21 g. en 21 jours	21 jours
Amino-2-hydroxy-6-	50	26 g. en 21 jours	21 jours
diméthyl-8,9-ptéridine		37 g. en 21 jours	21 jours

Tous ces composés ptériniques restent cependant incapables de se substituer efficacement à l'aneurine dans la croissance du Glaucoma ou de Polytomella Coeca. Leur action ne s'étend pas à ces microorganismes, mais elle est tout aussi nette chez le pigeon béribérique que chez le rat carencé en B_1 , aussi bien pour la fluorescyanine elle-même que pour les ptérines de synthèse qui provoquent respectivement un gain de poids de 29 à 45 g. en 25 jours. On remarque aussi un effet correctif sur la température ramenée aux environs de 40° et sur la glycémie, qui se rétablit aux environs de 2 g.

En ce qui concerne la chronaxie des extenseurs et des fléchisseurs, on note chez le pigeon carencé en B_1 des valeurs de 12 et 13 m γ F que 10 γ de fluorescyanine ou 50 γ d'acide isoxanthoptérine-carboxylique ramènent en 12 jours à leurs valeurs normales de 20—40 m γ F. Les témoins laissés au régime de base carencé en B_1 meurent tous dans ces délais avec des indices chronaxiques de 10—10 et une température centrale abaissée à $38,6^{\circ}$.

Vicariance	des	ptérines	pour	le	pigeon	carence	en	B ₁ .	
------------	-----	----------	------	----	--------	---------	----	------------------	--

Nom du produit	Gain de poids	Glycémie	Température
Amino-2-hydroxy-6-diméthyl- 8,9-ptéridine	29 g. en 25 jours	2,09 g.	42,40
Dihydroxy-2,6-diméthyl-8,9- ptéridine	27 g. en 25 jours	2,11 g.	41,60
Isoxanthoptérine	39 g. en 25 jours	1,91 g.	42,10
Acide désimino-isoxanthoptérine- carboxylique	45 g. en 25 jours	1,84 g.	42,20

L'action corrective sur la chronaxie fut encore mise en évidence par l'antagonisme de nos ptérines et de la thyroxine, cette dernière hormone raccourcissant, comme on le sait, les chronaxies périphériques aussi bien que vestibulaires¹). L'injection quotidienne à un pigeon de 10 mmg. d'acide isoxanthoptérine-carboxylique conduit en 4 jours à un allongement des chronaxies. Si l'on donne alors par voie buccale $25~\gamma$ de thyroxine, en même temps qu'on continue l'injection de ptérine, les chronaxies vestibulaires et périphériques redeviennent normales. Si l'on supprime la ptérine, en continuant la thyroxine, la chronaxie s'abaisse considérablement. L'opération inverse révèle le même effet antagoniste: si l'on injecte les 10 mmg. d'acide isoxanthoptérine-carboxylique à un pigeon soumis depuis 4 jours à l'ingestion de $25~\gamma$ de thyroxine, les chronaxies, respectivement de 4 (vestibulaires), 9 (extenseurs), 11 (fléchisseurs), se relèvent à 25, 22, $42~\mathrm{m}\gamma\mathrm{F}$.

Nombre d'autres ptérines de synthèse conduisent aux mêmes résultats: l'amino-2-hydroxy-6-ptéridine, l'acide amino-6-isoxanthoptérine-carboxylique, la 2-éthyl-thio-6-hydroxy-8,9-diphényl ptéridine, la 2-thio-6-hydroxy-ptéridine, la lumazine. De même encore certaines isoptérines que nous avons préparées par synthèse directe, et qui sont d'ailleurs des substances également fluorescentes en bleu en U-V., facilement réductibles par le dithionite de sodium et se réoxydant à l'air. Il semble bien d'ailleurs, qu'en ce qui concerne l'action sur la chronaxie, l'effet physiologique soit en relation directe avec le rôle probable de transporteur d'hydrogène de ces substances.

$$\begin{array}{c|c} CH & CH \\ N & C & N \\ R_1-C & C & C-R_2 \\ \hline N & N \\ Isoptérine \end{array}$$

L'action vicariante de la fluorescyanine et de certaines ptérines de synthèse pour la vitamine B_1 et pour la vitamine B_2 se manifeste d'ailleurs tout aussi bien au cours d'une carence double B_1 et B_2 chez le rat ou chez le pigeon.

A l'exception de l'éthyl-thio-2-hydroxy-6-ptérine et de l'acide éthyl-thio-2,6-dihydroxy-ptéridine-dicarboxylique, les autres ptérines que nous avons étudiées (acide isoxanthoptérine-, désimino-isoxanthoptérine-, amino-6-isoxanthoptérine-carboxylique, thio-2-hydroxy-6-ptéridine, l'éthyl-thio-2-hydroxy-6-diphényl-8,9-ptéridine, la leucoptérine et la lumazine) possèdent un effet curatif et préventif «homotélique» avec les vitamines B₁ et B₂, séparément comme globalement²), chez le rat et le pigeon.

Busnel, R. G., Chauchard, P., Mazoué, H., Polonovski, M., C. r. Soc. Biol. 139, 139 (1945).

²⁾ Busnel, R. G., Chauchard, P., Mazoué, H., Polonovski, M., C. r. Soc. Biol. 1945.

On pouvait être tenté d'expliquer cette homotélie par une transformation, grâce à l'action bactérienne de la flore intestinale, des ptérines en facteurs B_1 et B_2 , étant donné la similitude de constitution du noyau pyrimidique commun à tous ces composés. Cependant, nous avons retrouvé les mêmes effets vicariants aussi bien par injection de nos ptérines que par ingestion. Des expériences que les circonstances nous ont malheureusement empêchés de terminer avant ces Journées, pratiquées sur des rats caecumectomisés, nous permettront de lever définitivement cette objection ou de faire nôtre une pareille hypothèse.

A la suite des travaux de Tschesche et $Wolff^1$) sur l'action hématopoiétique de la xanthoptérine, naturelle (foie) ou synthétique, et de la leucoptérine, nous avons étudié, chez le rat en régime normal ou anémié par un régime carencé²), l'effet de l'acide isoxanthoptérine-carboxylique. A la dose de $50~\gamma$ par jour (per os) pendant deux semaines, nous n'avons constaté ni l'augmentation du nombre des hématies chez le rat normal ni le rétablissement de ce nombre chez les rats anémiés. Reprises avec une dose quatre fois plus forte et avec diverses autres ptérines de synthèse (éthyl-thio-ptérines), ces expériences nous ont conduit en 9 jours, chez des rats soumis à un régime normal, à une augmentation des globules rouges (observée chez les $^2/_3$ de nos animaux) atteignant en moyenne 1 million d'hématies.

En présence de ces résultats et nous reportant aux travaux de $Jacobson^3$), sur la présence de ptérines dans les cellules entérochromoargentaffines de Nicolas-Masson et des observations de Busnel sur l'existence de xanthoptérine dans les cellules argentaffines de l'estomac du rat, de sa disparition au cours de l'anémie pernicieuse et de la sprue, nous avons recherché l'action hématopoiétique de la fluorescyanine ou de l'acide isoxanthoptérine-carboxylique choisi comme type de ptérine de synthèse, au cours d'anémies de Biermer. Nos premiers résultats ne furent guère encourageants; mais ils peuvent s'expliquer par les quantités beaucoup trop minimes de ptérines ingérées (0,20~g). de poudre d'écailles de carpe) ou injectées (50~p) d'acide isoxanthoptérine-carboxylique). Ne disposant malheureusement pas alors d'une provision suffisante de fluorescyanine, ces essais thérapeutiques ne purent être poursuivis sur une plus grande échelle. Nous continuons cette étude ainsi que celle des relations des ptérines avec le groupe vitaminique de l'acide folique.

Signalons enfin que, contrairement à une remarque faite par Koschara⁴), la xanthoptérine, pas plus d'ailleurs qu'aucune autre ptérine ou thioptérine de synthèse parmi toutes celles que nous avons pu essayer, n'a d'action inhibitrice sur la fermentation de la levure.

Paris, Faculté de Médecine.

1)	Tsche	sche,	R. e	t Wol	H, H. J.,	Z.	physiol. Ch. 248, 34–40 (1937).	
2)	25 g.	par	jour	d'un	mélange	de:	: caséine totale 60	00
		_					amidon de blé 20	00
							mélange salin	4 0
							huile de foie de morue	20

Jacobson, W., J. Path. and Bact. 49, 1-19 (1939); Biochem. J. 40, 1-14 (1946).
 Koschara, W. et Hurbesch, A., Z. physiol. Ch. 263, 39-46 (1939).

172. Étude du métabolisme de certains acides gras supérieurs au moyen du brome radioactif

par Ng. Ph. Buu-Hoï, M. Berger, P. et R. Daudel, S. May et Cl. Miguet. (8 VI 46)

On sait que l'importance biologique des acides gras supérieurs à chaînes ramifiées se manifeste dans de nombreux domaines. C'est ainsi que le bacille tuberculeux renferme une proportion considérable de tels acides, soit à l'état de combinaisons lipoïdiques complexes, soit même à l'état libre 1). De nombreuses recherches, effectuées soit au moyen d'acides gras tirés du bacille de $Koch^2$), soit au moyen d'acides ramifiés obtenus par synthèse 3), tendent à montrer que l'intervention de ces acides anormaux constitue la cause principale de la formation des lésions tissulaires typiques de l'infection tuberculeuse telles, par exemple, que les cellules du type de Langhans. Dans un tout autre domaine, qui est celui de la pathologie végétale, on retrouve également l'existence d'acides gras ramifiés chez le phytomonas tumefaciens, agent de certaines tumeurs chez les plantes 4).

Etant donné que les acides gras «pathologiques» ne se différencient des acides normaux que par la présence de ramifications hydrocarbonées supplémentaires, il est raisonnable de penser que leurs effets biologiques particuliers proviennent des anomalies de leur métabolisme, par exemple de leur inaptitude à subir les dégradations enzymatiques normales. S'il en était bien ainsi, on devait pouvoir trouver des différences sensibles dans les vitesses de résorption ou de transit d'un acide gras à chaîne normale, et celle d'un acide gras ramifié, à l'intérieur de l'organisme vivant. Un moyen commode pour vérifier cette hypothèse consiste à suivre, chez un animal, les destinées respectives d'un acide gras linéaire et d'un acide gras ramifié. Un des moyens que nous avons employés pour atteindre ce but consiste à utiliser la méthode des indicateurs radioactifs, c'està-dire à marquer divers acides gras normaux et ramifiés avec un radioélément artificiel tel que du radiobrome, de manière à pouvoir suivre uniquement par des mesures de radioactivité le passage de ces acides à travers les milieux biologiques. L'utilisation du radiobrome s'explique par la facilité d'obtention de cet élément qui se produit avec de bons rendements dans l'irradiation du bromure d'éthyle avec des neutrons 5).

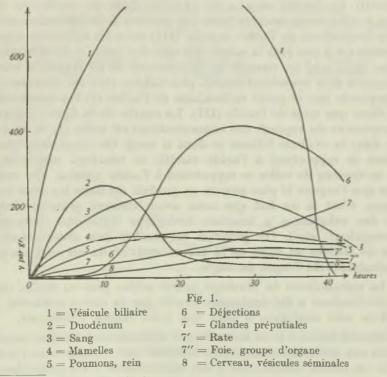
¹⁾ R. J. Anderson et E. Chargaff, J. Biol. Chem. 84, 703 (1929).

K. C. Smithburn et F. R. Sabin, J. exp. Med. 61, 771 (1935).
 Ng. Ph. Buu-Hoï et R. Ratsimamanga, C. r. Soc. Biol. 137, 189 (1943).

Velick et Anderson, J. Biol. Chem. 152, 523 (1944).
 Exper. 2, 70 et 184 (1946).

Dans une série d'expériences, nous avons transformé l'acide oléique en acide 9,10-dibromostéarique (I) au moyen du brome radioactif obtenu selon notre technique habituelle:

L'addition du brome à l'acide oléique étant faite à 0° en milieu chloroformique anhydre, les échantillons de produit obtenus retiennent pratiquement toute l'activité du brome. La substance est alors injectée par voie sous-cutanée à des souris, à la dose de 5 mg par animal. La technique de prélèvement et de dosage est celle que nous avions déjà décrite à plusieurs reprises¹). Elle consiste à sacrifier les animaux à des intervalles de temps réguliers (2, 10, 20, 30, 40 heures, etc.), à isoler les organes, à les étaler sur une feuille d'aluminium, et à mesurer l'activité au compteur de Geiger-Müller. Les courbes de la figure 1 (abscisses: temps en heures, ordonnées: γ de produit par g d'organe) résument les résultats obtenus. Elles indiquent un transit intense par la vésicule biliaire²), ainsi qu'une dif-



1) Exper. 2, 70 et 184 (1846).

²⁾ Le tropisme des acides gras étudiés vis-à-vis de la vésicule biliaire est remarquable; rappelons dans un autre ordre d'idées que le vaccin B.C.G. se prépare à l'aide milieux biliés.

fusion assez rapide à travers l'organisme. Le duodénum s'enrichit également de façon rapide, et une grosse partie de l'élimination s'effectue par les déjections; au bout d'une quarantaine d'heures environ, la vésicule biliaire ne contient plus que des traces de produit. Le sang et le foie sont également des organes collecteurs de l'acide gras.

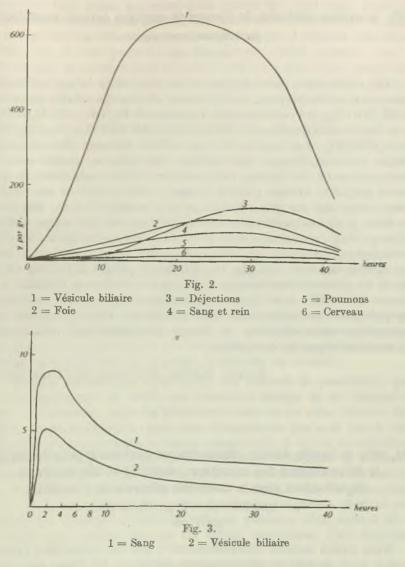
$$\begin{array}{ccc} & & & & & & \\ & & & & & & \\ (II) & & & & & \\ & & & & & \\ & & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & &$$

De facon parallèle, on a fait agir du radiobrome sur l'acide (II), ce qui a fourni l'acide 12,13-dibromo-2,2-diméthyltridécylique (III) radioactif. Ce dernier corps a été examiné dans des conditions identiques à celles indiquées plus haut. Les courbes de la figure 2 montrent que la localisation de l'acide ramifié (III) dans les différents organes examinés est à peu près la même que celle de l'acide 9,10-dibromostéarique, mais que les vitesses de distribution et de transit à travers les organes sont considérablement plus faibles. Ceci est d'autant plus remarquable que le poids moléculaire de l'acide (I) est notablement plus élevé que celui de l'acide (III). La courbe de la figure 3 indique les variations du rapport des concentrations en acide (I) et en acide (III) dans la vésicule biliaire et dans le sang. On constatera que les courbes se rapportant à l'acide ramifié se trouvent constamment bien en-dessous de celles se rapportant à l'acide normal. On remarquera que l'organe le plus pauvre en produit est dans les deux cas le cerveau. C'est là un fait que nous avons observé plusieurs fois et avec des substances à fonction biologique différente (æstrogène, anticoagulant, etc.). On pourrait rapprocher nos observations de celles de Rothlin au sujet de la non-réceptivité du cerveau vis-à-vis des alcaloïdes de l'ergot de seigle.

Le métabolisme de plusieurs autres acides plus ou moins riches en ramifications a été également étudié par la même méthode. Les résultats sont analogues à ceux que nous venons d'indiquer.

En conclusion il a été montré que l'adjonction de chaînes latérales grasses aux acides gras supérieurs entraîne bien, comme nous l'avions prévu, un retard considérable à leur métabolisme. C'est probablement à la stagnation de pareils lipides hétérogènes à l'intérieur des tissus qu'il faut attribuer l'apparition des formations cellulaires particulières qui caractérisent les maladies provoquées par les microorganismes

secréteurs de ces lipoïdes. Des expériences sont en cours avec des acides gras marqués avec l'isotope 13 du carbone.



Institut du Radium et Laboratoire de Chimie Organique de l'Ecole Polytechnique à Paris.

173. Nouvelles méthodes de dosage de certains cations métalliques par G. Schwarzenbach.

(15 VI 46)

Ces méthodes¹) sont fondées sur les propriétés de quelques acides amino-polycarboxyliques, spécialement de l'acide nitrilo-triacétique N(CH₂COOH)₃, del'acide uramile-diacétique C₄H₃O₃N₂-N(CH₂COOH)₂ et de l'acide éthylènediamine-tétracétique (HOOCCH₂)₂N—CH₂CH₂— N(CH₂COOH)₂. Les anions de ces acides forment des complexes stables avec la plupart des cations métalliques, même avec les alcalino-terreux, le lithium et le sodium. Cette formation de complexes peut être utilisée pour le dosage volumétrique de ces métaux. Nous avons mis au point trois modes d'emploi. La fin du titrage des deux premières méthodes est marquée par un effet de p_H utilisant le virage d'un indicateur coloré. Pour la troisième méthode, on utilise un indicateur donnant un composé coloré avec le cation à doser. Les cations suivants: Li, Mg, Ca, Sr, Ba, Zn, Hg, Cd, Cu, Fe, Co, Ni, Mn et Ce peuvent être dosés à l'aide de ces méthodes. Certains complexes du Co(III) avec l'acide éthylènediamine-tétracétique forment des précipités insolubles avec l'ion potassium. Cette propriété peut être utilisée pour effectuer un dosage gravimétrique, volumétrique ou colorimétrique du potassium.

Zurich, Institut de Chimie de l'Université.

174. Rôle de l'acide désoxy-ribonucléique hautement polymérisé dans le déterminisme des caractères héréditaires des bactéries.

Signification pour la biochimie générale de l'hérédité

par André Boivin et Roger Vendrely.

(26 V 46)

Nous avons montré antérieurement²) que les colibacilles peuvent exister sous de très nombreux types distincts: les types simultané-

¹⁾ Comparer G. Schwarzenbach, Schw. Ch. Z. 28, 181, 377 (1945); G. Schwarzenbach, E. Kampitsch et R. Steiner, Helv. 28, 828, 1133 (1945); 29, 364 (1946); G. Schwarzenbach, W. Biedermann et F. Bangerter, Helv. 29, 811 (1946).

²) Boivin, Corre et Lehoult, C. r. Soc. Biol. **136**, 98, 257 et 432 (1942); **137**, 42, 138, 410 et 714 (1943); Bl. Acad. Méd. **127**, 95, 125 et 162 (1943); Rev. Immunol. **7**, 97 (1942).

ment présents dans la flore fécale diffèrent beaucoup de sujet à sujet et, chez un même sujet. d'une semaine à l'autre ou même d'un jour à l'autre; tout porte à croire qu'il existe des centaines, voire des milliers de types de colibacilles. Chacun d'eux est défini par le détail de ses propriétés biochimiques (comportement à l'égard des divers sucres, des divers polyalcools, des divers acides aminés, etc.) et surtout par la possession d'un polysaccharide spécifique particulier, caractérisé tout à la fois par son comportement sérologique (précipitation par l'anticorps correspondant) et par sa constitution chimique (nature et proportions des sucres, des acides uroniques, des hexosamines pouvant entrer dans sa composition). Dans l'ensemble de ces types, il semble possible de distinguer des groupes, dont chacun serait défini par la spécificité propre des protéines constituant les germes. Mais c'est là une question qui demeure encore à l'étude dans notre laboratoire et l'inventaire de ces groupes, comme aussi bien celui des types renfermés dans chaque groupe, reste à faire. Nous nous sommes préoccupés de rechercher les interactions possibles entre des colibacilles différents appelés à vivre côte-à-côte dans le même milieu nutritif et nous avons effectué, dans ce but, de multiples expériences depuis plusieurs années, expériences dont nous ne saurions rapporter ici le détail1). Au cours de ces études, nous avons rencontré un phénomène de « mutation dirigée»: nous avons vu un colibacille imposer sa propre spécificité et certaines au moins de ses propriétés biochimiques à un autre colibacille, voisin du premier (même groupe), et vivant dans le même milieu que lui; nous avons pu préciser la nature désoxy-ribonucléique du principe inducteur en cause²).

Depuis les travaux de *Griffith*, on connaît la possibilité, pour un pneumocoque, de subir une mutation dirigée et de changer de type. L'expérience peut se réaliser in vivo ou in vitro. Soient deux types de pneumocoques, que nous désignerons par a et par b, dont chacun peut exister sous la forme smooth (S_a et S_b) et sous la forme rough (R_a et R_b)³). Si l'on vient à inoculer à l'animal R_a vivant en même temps que S_b tué par la chaleur, ou si l'on vient à cultiver R_a vivant en contact avec S_b tué par la chaleur, il arrive qu'on puisse isoler de l'animal ou de la culture S_b vivant. Le même résultat peut encore être obtenu en cultivant R_a en présence d'un extrait de S_b ne contenant aucun cadavre ou débris bactériens. Une substance

¹⁾ Boivin, Delaunay, Vendrely et Lehoult, C. r. 221, 718 (1945).

²⁾ Boivin, Vendrely et Lehoult, C. r. 221, 646 (1945); Exper. 1, 334 (1945).

³⁾ On sait que la variante smooth (ou lisse), qui est la forme normale de la bactérie, possède le polysaccharide caractéristique du type considéré, alors que la variante rough (ou rugueuse), qui est une forme dégradée, a perdu son polysaccharide. Le passage spontané de S à R se voit fréquemment, dans les vieilles cultures; au contraire, la réversion spontanée de R en S est chose tout à fait exceptionnelle; lorsqu'elle se produit, elle redonne le type originel.

chimique issue de S_b est donc en cause, pour déclancher la mutation dirigée. Au cours de travaux tout à fait remarquables, Avery et ses collaborateurs McCarty et MacLeod ont découvert récemment la nature de cette substance inductrice: il s'agit d'acide désoxy-ribonucléique dans un haut état de polymérisation¹).

Nos expériences ont porté sur deux types de colibacilles retirés des matières fécales de l'homme normal, que nous désignerons par C₁ et C₂. C₁ renferme un polysaccharide donnant la réaction des acides uroniques (naphtorésorcine) tandis que C2 contient un glucide sans acide uronique et de tout autre spécificité sérologique (pas de précipitation croisée entre les deux polysaccharides). Selon la règle valable pour les bactéries à «Gram négatif», les glucides spécifigues ne se rencontrent que dans les formes lisses, où ils existent en complexes glucido-lipido-polypeptidiques, d'où on peut aisément les libérer par chauffage en milieu faiblement acide (Boivin et Mesrobeanu). Nous comptons revenir en détail, ultérieurement, sur la constitution des polysaccharides de C1 et C2. Or si l'on cultive, pendant quelques jours, C₂ rough dans un filtrat de culture sur bouillon de C₁ smooth, on obtient côte-à-côte beaucoup de germes répondant à C, rough et quelques-uns répondant à C, smooth; on les sépare par l'artifice habituel de colonies isolées sur gélose; de même C, smooth, qui se transforme très aisément et de façon spontanée en C2 rough, conduit, dans les mêmes conditions, à un mélange de C, smooth, C2 rough et C1 smooth; de même enfin, C1 rough mène, quoique rarement, à C1 smooth, ce qu'il ne fait pas spontanément. C1 issu de C₂ présente les mêmes caractères antigéniques que C₁ naturel: même polysaccharide à acides uroniques, précipitant spécifiquement et à haute dilution par l'anticorps valable contre C, smooth naturel et ne précipitant pas avec l'anticorps correspondant à C2 smooth.

Des résultats identiques peuvent être obtenus en substituant au filtrat de culture de C_1 smooth, du bouillon vierge auquel on ajoute un autolysat de C_1 smooth, stérilisé par filtration sur bougie.

Cet autolysat se prépare comme suit. Cultiver les bactéries sur gélose pendant 18 à 20 heures à 37° , les recueillir, les laver au sérum physiologique par centrifugation, les mettre en suspension dans dix fois leurs poids de sérum physiologique, ajouter quelques gouttes de toluène, bien agiter, puis abandonner finalement pendant deux heures à la température ordinaire; cela fait, on centrifuge pour éliminer les cadavres bactériens. On obtient un liquide coloré en jaune par des corps flaviniques, qui se montre assez riche en matières protéidiques précipitables par l'acide trichloracétique. Le principe actif se retrouve dans la fraction nucléoprotéidique qu'on peut précipiter à p_H 3,5. Par une série de précipitations à ce p_H , suivies de redissolutions vers p_H 7,5—8, on parvient à se débarrasser à peu près complètement du complexe glucido-lipido-polypeptidique spécifique de C_1 que contenait en abondance l'autolysat brut (on suit la purification

¹⁾ Avery, MacLeod et McCarty, J. exp. Med. 79, 137 (1944); McCarty, J. exp. Med. 81, 501 (1945); J. gen. Physiol. 29, 123 (1946); McCarty et Avery, J. exp. Med. 83, 89 et 97 (1946).

en recourant à des réactions de précipitation au moyen du sérum d'un lapin immunisé contre ce complexe antigénique de C1). Le principe actif se retrouve dans l'acide nucléique brut qu'on peut isoler de ce nucléoprotéide par digestion pepsique prolongée pendant 3 à 4 heures à la température ordinaire et à p_H 2, suivie de précipitations fractionnées répétées par l'alcool acidulé (adjonction au liquide de digestion de 2 à 3 volumes d'alcool et acidulation nette par de l'acide chlorhydrique; opérer à froid en ne maintenant le contact que juste le temps nécessaire). Avant digestion, les préparations renferment 4 à 6 fois plus de matériel protéique que d'acide nucléique (dosage de l'azote total, du phosphore total et des bases puriques totales, celles-ci par la méthode au cuivre1)). Après digestion et précipitations fractionnées par l'alcool, on se trouve en présence d'acide nucléique impur, ou plus exactement d'un mélange d'acide ribonucléique et d'acide désoxy-ribonucléique impurs (on peut doser ces deux acides en recourant d'une part à l'évaluation des purines totales et d'autre part à la méthode de Dische à la diphénylamine²), qui permet de connaître l'acide à désoxy-ribose; quant à l'acide à ribose, on l'a par différence et on peut en contrôler l'ordre de grandeur par la méthode de Bial-Mejbaum à l'orcine3)).

Voici les résultats que nous ont fournis trois échantillons actifs, obtenus par trois techniques de précipitations fractionnées un peu différentes l'une de l'autre par les quantités d'alcool et les quantités d'acide mises en œuvre:

Nº des préparations	Acide nucléique total dans 100 parties de matière	Rapport: acide désoxy-ribonucléique acide nucléique total
N 6	58,7	0,69
N 8	76,1	0,22
N 11	59,0	0,37

Nous avons recherché ce que devient l'activité de nos préparations après action des deux polynucléotidases qu'on peut retirer du pancréas de bœuf, séparer et purifier selon Fischer et ses collaborateurs⁴). La ribo-polynucléotidase ($p_H=6$, tampon d'acétates, en présence d'un peu d'ion magnésium) n'inactive pas en 6 heures à 37°, alors que la désoxyribo-polynucléotidase ($p_H=7$, tampon de phosphates, en présence d'un peu d'ion magnésium) inactive complètement la préparation en moins d'une heure (en une heure, l'acide ribonucléique de levure est totalement dépolymérisé par la ribonucléase, rendu non précipitable par ClH). Il y a donc tout lieu de penser que le principe inducteur présent dans les extraits de C_1 est de l'acide désoxy-ribonucléique sous une forme hautement polymérisée. Ajoutons qu'on ne peut pas stériliser par filtration sur bougie la solution, nettement visqueuse, des nucléates obtenus à partir du colibacille, avant de les incorporer au bouillon pour pro-

¹⁾ Vendrely et Sarciron, Bl. Soc. Chim. biol. 26, 214 (1944).

²⁾ Dische, Mikroch. 8, 4 (1930).

³⁾ Mejbaum, Z. physiol. Ch. 258, 117 (1939).

⁴⁾ Fischer, Böttger et Lehmann-Echternacht, Z. physiol. Ch. 271, 246 (1941).

voquer le phénomène de la mutation dirigée. Mais il suffit de précipiter la solution de ces nucléates par adjonction d'alcool, de laisser quelque temps en contact, de recueillir le précipité par centrifugation et de le redissoudre dans de l'eau stérilisée, pour se mettre à l'abri des germes étrangers.

Le passage de C_2 à C_1 nécessite évidemment un certain remaniement de l'équipement enzymatique du colibacille, puisque C_1 élabore un polysaccharide autre que celui de C_2 . Mais il semble bien que des modifications plus étendues d'équipement enzymatique aient lieu: C_1 originel, C_1 issu de C_2 et C_2 font fermenter le glucose et le lactose, avec production d'acides; C_1 originel et C_1 issu de C_2 ne font pas fermenter le saccharose, même après des passages répétés sur des milieux contenant ce disaccharide (pas d'enzymes, même « adaptatifs » pour l'attaque du saccharose), alors que C_2 le fait fermenter immédiatement (intervention d'enzymes « constitutifs » au sens de Karström). La mutation de C_2 en C_1 s'accompagne d'une perte de l'enzyme nécessaire pour l'attaque initiale du saccharose, de la saccharase, ainsi que nous avons pu le vérifier directement, en recourant à des bactéries tuées par le toluène.

Comme on le pense, nous avons cherché à reproduire le même phénomène de mutation dirigée en sens inverse, c'est-à-dire à passer de C₁ rough à C₂ smooth, grâce à un extrait de C₂ (nucléoprotéide ou acide nucléique). Nous avons, jusqu'à présent, toujours échoué dans nos tentatives répétées. Comment s'expliquer la chose? Il semble bien qu'il faille qu'un germe soit dans un état de particulière instabilité pour qu'une mutation dirigée puisse se produire, du moins avec quelque fréquence. Tel paraît être le cas de C, rough qui donne lieu à tout un « spectre » de variantes quant à l'aspect de ses colonies; encore n'est-ce que l'une d'entre elles (variante à petites colonies) qui se montre capable de se transformer en C1. On a rencontré des faits absolument comparables en ce qui concerne les pneumocoques. Mais il convient de noter que l'échec d'une tentative de mutation dirigée peut vraisemblablement tenir à d'autres causes qu'à un manque d'instabilité du germe sur lequel on opère. Pour isoler l'acide nucléique des colibacilles, on ne peut malheureusement pas mettre en œuvre une dissolution des germes par le désoxy-cholate de sodium, comme on le fait dans le cas des pneumocoques d'Avery; il faut recourir à l'autolyse ménagée. Or, beaucoup de colibacilles s'autolysent mal ou encore ne conduisent qu'à de l'acide nucléique dégradé par les propres enzymes des bactéries. Dans les cas les plus favorables (C, par exemple), les pertes en acide nucléique hautement polymérisé sont certainement énormes et sans doute faut-il attribuer à ce fait l'activité relativement basse de nos préparations du principe inducteur nucléique de C1: activité limitée à des dilutions de quelques

centaines de *milliers* de fois, alors que les préparations homologues d'Avery se montrent agissantes jusqu'à des dilutions atteignant plusieurs centaines de *millions* de fois¹).

Enfin, nous avons vérifié que la substitution à l'acide nucléique de C_1 d'acides retirés de trois autres colibacilles, du staphylocoque et de la rate de cheval ne donne aucun résultat. Ce n'est donc pas un acide thymonucléique quelconque, mais bien l'acide particulier contenu dans C_1 qui provoque le saut de C_2 à C_1 .

Il était intéressant de connaître la richesse de C_1 smooth en acide thymonucléique. Pour le savoir, nous avons appliqué à ce germe, avec quelques modifications, la technique donnée récemment par $Schneider^2$) pour les tissus animaux.

Notre mode opératoire a été le suivant, dans ses grandes lignes: enlèvement de l'«acido-soluble» des germes (purines et pyrimidines libres, nucléosides, nucléotides) par l'acide trichloracétique froid, puis solubilisation — au prix d'une hydrolyse partielle qui ne gêne pas les dosages — des deux acides nucléiques par l'acide trichloracétique chaud. Dans le second extrait trichloracétique, on dose les purines totales (bloc de deux acides nucléiques) et les deux acides séparément, selon Dische et selon Bial-Mejbaum. En outre, on peut calculer la teneur approximative des germes en protéines, en admettant que tout l'azote non nucléique des bactéries est protéique. Voici nos résultats:

N total	= 14,4 pour 10	00 parties de matières bactériennes séchées.
Protéines totales	= 76,8	id.
Acide nucléique total	= 13,1	id.
Acide désoxy-ribonucléique	= 4,4	id.
Acide ribonucléique	= 8,7	id.
Rapport:		
1.7 77 (7 77)		

acide désoxy-ribonucléique = 0,34 acide nucléique total

Une souche différente de colibacille (K_2) et plusieurs autres espèces bactériennes (bacille typhique, staphylocoque, etc.), étudiées de même, nous ont donné des résultats fort analogues³). Le colibacille C_1 n'a donc rien de particulier quant à sa teneur en produits nucléiques.

Il semble bien établi, maintenant, que la cellule bactérienne possède un noyau (voir spécialement les recherches récentes de $Robinow^4$)) et par analogie avec les cellules des êtres supérieurs, il y a tout lieu de penser que ce noyau renferme l'acide désoxy-ribonucléique révélé par l'analyse, tandis que l'acide ribonucléique se localise dans le cytoplasme. Le principe désoxy-ribonucléique issu de C_1 et qui se montre capable d'imposer à C_2 une constitution moléculaire nouvelle pour son polysaccharide et un équipement enzymatique

Boivin, Delaunay, Vendrely et Lehoult, Exper. 2, 139 (1946).

²) Schneider, J. Biol. Chem. 161, 293 (1945).

³⁾ Vendrely et Lehoult, C. r. 222, 1357 (1946).

⁴⁾ Robinow, Proc. Roy. Soc. London (B) 130, 299 (1942); J. Hyg. 43, 413 (1944); Addendum au livre de Dubos, The Bacterial Cell (1 vol. 1945, Harvard Univ. Press).

nouveau, ne résulte-t-il pas d'une simple solubilisation de l'appareil chromosomique de C_1 ?. L'hypothèse est fort vraisemblable. Si elle répond à la réalité, elle ouvre des horizons tout à fait nouveaux et combien prometteurs en ce qui concerne la biochimie de l'hérédité. En particulier, c'est du côté de l'acide nucléique et non plus de la protéine de la macromolécule nucléoprotéidique constituant un gène qu'il faudrait chercher la raison des propriétés spéciales à ce gène. Cela amènerait à envisager la possibilité d'une structure — structure « primaire » ou plus vraisemblablement structure « secondaire » — susceptible de différencier entre eux les divers acides nucléiques à désoxy-ribose, sous leur état naturel de polymérisation.

Il semble ainsi qu'on puisse attendre beaucoup de l'étude du déterminisme chimique des caractères héréditaires chez les microorganismes, pour la compréhension des processus les plus généraux et les plus fondamentaux de l'hérédité.

Service des Recherches Immunologiques de l'Institut Pasteur, Garches-Paris.

175. Le sort des acides aminés lors de leur absorption par F. Leuthardt et B. Glasson.

(15 VI 46)

Les acides aminés, comme les sucres, sont absorbés par la veine porte. Par conséquent, ils traversent le foie avant d'être distribués dans les différents tissus. D'autre part, le foie est également le siège de l'uréogenèse. Les acides aminés constituent la source principale d'azote pour la formation de l'urée. Selon l'opinion courante, ils sont désaminés dans les cellules hépatiques elles-mêmes, l'ammoniaque libérée fournissant l'urée par le cycle de l'ornithine. Quel est, dans ces conditions, le sort des acides aminés qui sont absorbés au niveau de l'intestin et qui entrent dans le foie par la veine porte?

Si les groupes α-aminés constituent le point de départ de l'uréogenèse hépatique, il faut s'attendre à ce que la production maximale d'urée coïncide avec l'afflux maximal des amino-acides dans le foie et qu'une partie plus ou moins considérable de l'azote absorbé soit transformé en urée au moment où il traverse le foie. Plusieurs auteurs¹)

¹⁾ Folin, O., et Denis, W., J. Biol. Chem. 11, 77, 161 (1912); 12, 141 (1912); van Slyke, D. D., et Meyer, G. M., J. Biol. Chem. 16, 197 (1913); Folin, O. et Berglund, H., J. Biol. Chem. 51, 395 (1922); Seth, T. N. et Luck, J. M., Biochem. J. 19, 366 (1925); Kiech, C., et Luck, J. M., J. Biol. Chem. 94, 433 (1931); Terroine, E. F., et Firdmann, J., Bl. Soc. Chim. biol. 19, 259 (1937).

ont étudié cette question. Leurs résultats, qui sont tout à fait concordants, montrent qu'il y a un décalage considérable entre l'afflux des aides aminés et l'apparition de l'urée.

Dans une série d'expériences sur le cobaye, nous avons étudié à l'aide d'une méthode perfectionnée, l'élimination de l'urée après ingestion d'acides aminés purs. Le graphique suivant (fig. 1) représente la marche horaire de cette élimination.

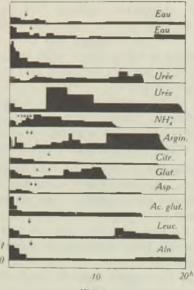


Fig. 1.

Marche horaire de l'élimination de l'urée après ingestion de substances azotées. Au moment indiqué par les flèches, 10 millimoles de la substance sont donnés par voie entérale. La surface noire donne l'élimination totale, la hauteur des blocs noirs, la vitesse moyenne de l'élimination pendant la période en question (mgr. par min.). Argin.: arginine; citr.: citrulline; glut.: glutamine; asp.: asparagine; ac. glut.: acide glutamique; leuc.: leucine; aln.: alanine (forme naturelle de tous les acides aminés).

L'urée elle-même ainsi que les sels d'ammonium provoquent une augmentation immédiate de l'urée urinaire. Les acides aminés peuvent être divisés en deux groupes: ceux qui font augmenter l'excrétion de l'urée d'une manière sensible dans les six premières heures après ingestion (arginine, glutamine et asparagine), et ceux dont l'ingestion ne change pas d'une manière significative la production de l'urée (alanine, leucine, acide glutamique, citrulline).

Ces expériences montrent d'une façon très nette que certains acides aminés semblent disparaître dans les tissus, sans provoquer une augmentation sensible de la production de l'urée lors de leur passage à travers le foie. Les autres, dont l'ingestion se traduit par une augmentation nette de l'élimination horaire, sont ceux qui jouent un rôle particulier dans l'uréogenèse (arginine, glutamine). Terroine et Firdmann¹) étaient arrivés à la conception suivante des processus qui ont lieu lors de l'absorption des acides aminés: l'afflux d'acides aminés submerge les capacités de rétention du foie. Les acides aminés passent dans la circulation générale et sont retenus dans les tissus. Au fur et à mesure que l'uréogenèse hépatique progresse, les amino-acides entreposés dans les tissus retournent dans le sang pour être désaminés au niveau du foie. Cette conception explique bien la production tardive de l'urée. Mais elle ne nous dit pas pourquoi le maximum de la production horaire de l'urée ne coıncide pas avec le maximum de la concentration des acides aminés dans le sang de la veine porte et dans le foie. Si dans le foie, la partie principale de l'urée était synthétisée aux dépens de groupes α-aminés, la vitesse de sa production devrait traduire la quantité d'amino-acides présents dans le foie. Le décalage considérable qui existe en réalité entre l'afflux de l'azote aminé et l'élimination de l'urée montre que le groupe α-aminé ne constitue pas la principale source d'azote de l'uréogenèse hépatique.

Terroine et Firdmann¹) admettent que les amino-acides, après avoir traversé le foie, sont entreposés dans les tissus, sans subir de transformation. Cela est peu probable. Les recherches de l'école de Schoenheimer, utilisant des acides aminés marqués, ont démontré l'extrême rapidité avec laquelle les substances azotées sont entraînées par le «torrent métabolique». Pour expliquer le retard de la formation de l'urée, nous admettons que le groupe α -aminé est dirigé vers une substance qui entre plus facilement dans le cycle de l'ornithine que le groupe α -aminé lui-même; cette substance serait transportée peu à peu dans le foie par la circulation générale et donnerait naissance à l'urée. La formation tardive de l'urée à partir de certains acides aminés s'expliquerait ainsi par la nécessité de la transition préliminaire du groupe aminé en une forme plus apte à réagir avec les ferments de l'uréogenèse.

Selon cette conception, il n'existe pas une multitude de substances azotées qui constituent la source de l'uréogenèse hépatique; nous admettons au contraire que le métabolisme azoté tissulaire converge vers une seule substance, ou un nombre très restreint de substances azotées, qui sont les vrais précurseurs de l'uréogenèse hépatique. En ce qui concerne la nature de ce précurseur d'urée, c'est surtout la glutamine qui entre en ligne de compte. Nous avons trouvé en 1938 qu'à part les sels d'ammonium, le groupe amide de la glutamine est le meilleur générateur d'urée²). Krebs avait montré en 1935 que les tissus des mammifères (surtout les reins et le cerveau) sont capables

¹⁾ loc. cit.

²) Leuthardt, F., Z. physiol. Ch. 252, 238 (1938).

de synthétiser la glutamine à partir de l'ammonium et de l'acide glutamique1). Certaines observations encore incomplètes qui ont été faites dans notre laboratoire laissent entrevoir qu'il s'agit d'un processus plus répandu. Hamilton²), étudiant la répartition de la glutamine dans différents tissus par une méthode spécifique, trouve que cette amide constitue une fraction très élevée de l'azote aminé non protéinique dans les muscles (50-60%). Cette constatation laisse entrevoir la possibilité d'une synthèse dans ce même tissu. Nos travaux sur l'uréogenèse à partir de la glutamine et les recherches de Krebs sur sa synthèse dans les tissus extrahépatiques nous avaient amenés à considérer la glutamine comme «transporteur d'ammoniaque», et son groupe amide comme de «l'ammoniaque potentielle». Une de ses fonctions consisterait à ramener au foie l'azote provenant des tissus périphériques et de le faire entrer dans le cycle de l'ornithine. Une fonction analogue a été découverte par van Slyke et ses collaborateurs³). L'ammoniaque urinaire (chez le chien) se forme aux dépens de la glutamine sanguine. De plus, Hamilton2) a trouvé que dans le plasma sanguin jusqu'à 25% de l'azote aminé non protéinique est représenté par le groupe α-aminé de la glutamine. Ces différentes constatations nous amènent à attribuer à la glutamine un rôle particulier parmi les amino-acides du sang, et de voir dans cette substance l'un des pivots du métabolisme azoté.

Institut de Chimie physiologique de l'Université de Genève.

¹⁾ Krebs, H. A., Biochem. J. 29, 1951 (1935).

²) Hamilton, P. B., J. Biol. Chem. 158, 397 (1945).

³⁾ van Slyke, D. D., Phillips, R. A., Hamilton, P. B., Archibald, R. M., Futcher, P. H., et Miller, A., J. Biol. Chem. 150, 481 (1943).

176. Métabolisme des acides nucléiques de l'épithélioma atypique du rat par Mme Yvonne Khouvine.

(26 V 46)

Depuis les travaux de Casperson¹) et ceux de Mitchell²) sur l'absorption des rayons ultra-violets par les acides nucléiques des cellules, on sait que l'acide ribonucléique joue un grand rôle dans la division cellulaire et dans la synthèse des protéines. Brachet3) a montré par des colorations histochimiques et par l'action de la ribonucléase que les taux d'acides ribo- et thymonucléiques sont variables suivant l'état de la cellule. Davidson et Waymouth⁴), entre autres, ont fait des dosages de ces acides sur différents tissus et ont montré que les tissus hépatiques en voie de régénération, les hépatomes et les adénocarcinomes de rats, le sarcome de Rous, quelques tumeurs humaines et les tissus embryonnaires sont plus riches en acide ribonucléique que les tissus normaux correspondants ou que les tissus à l'état de repos. Ils ont, en outre, trouvé qu'il y a dans les tissus plus d'acide ribonucléique que d'acide thymonucléique. Sans connaître ces derniers travaux qui nous sont parvenus il n'y a que quelques mois, nous avions, avec Grégoire5), montré que les tissus des cancers du sein, de l'utérus, de l'estomac et du rectum, contiennent 2 à 3 fois plus d'acide ribonucléique que les tissus sains correspondants, prélevés sur un fragment excisé au voisinage de la partie malade, et que le tissu cancéreux «normal» de l'épithélioma atypique du rat (souche de l'Institut du Cancer de Villejuif) est également plus riche en acide ribonucléique que le tissu nécrosé ou que la peau de rat épilée et écharnée. Nous avons, en outre, montré que les tissus embryonnaires de poulet sont encore plus riches en acide ribonucléique que les tissus cancéreux, si l'on rapporte les valeurs trouvées au poids sec et non au poids frais, car la teneur en eau de l'embryon de poulet (90%) est plus grande que celle des tissus cancéreux (80%).

Pour compléter ces recherches, nous avons étudié le métabolisme des acides nucléiques de l'épithélioma atypique du rat en dosant, dans les tissus cancéreux et nécrosés, l'acide thymonucléique par la méthode de Dische⁶), l'acide ribonucléique par celle de Hoffman⁷),

¹) T. Caspersson, Skand. Arch. Physiol. 73, suppl. 8 (1936).

²) J. S. Mitchell, Brit. J. Exp. Path. 23, 285; 86, 309 (1942).

³⁾ J. Brachet, C. r. Soc. Biol. 193, 193 (1945).

⁴⁾ J. N. Davidson, C. Waymouth, Biochem. J. 38, 375, 379 (1944).

⁵) Y. Khouvine et J. Grégoire, C. r. Soc. Biol. 133, 142 (1945).

⁶⁾ Z. Dische, Mikroch. 8, 4 (1930).

⁷) W. S. Hoffman, J. Biol. Chem. 73, 15 (1927).

les nucléotides totaux par précipitation sous forme de sel d'urane et dosage de l'azote total du précipité, les nucléotides puriques, les nucléosides puriques et les purines libres par la méthode de Kerr et l'azote purique total résiduel par la méthode de Kruger¹)²) modifiée par Vendrely et Sarciron³).

Tableau 1.

Utérus				Estomac				Sein			
Cancereux		Sain		Cancéreux		Sain		Cancereux		Sain	
Frais %	Sec %	Frais %	Sec %	Frais	Sec %	Frais %	Sec %	Frais	Sec %	Frais	Sec %
0,18 0,38	0,84 1,90	0,13 0,10	0,60 0,45	0,26 0,33	1,30 1,67	0,16 0,14	0,79 0,68	0,23 0,42 0,50	1,12 2,10 2,50	0,15	0,75
								0,10 0,13	0,49	0,05	0,25

	Rectum				Epithélioma atypique du rat					
Cance	Cancéreux		Sain		ssu éreux	Tissu nécrosé				
Frais	Sec	Frais	Sec	Frais	Sec	Frais	Sec			
%	%	%	%	%	%	%	%			
0,08	0,40)	0,02	0,10	0,40	2,10 1	0,14	0,74			
				0,36 0,42						

Embryon de poulet						
	Frais %	Sec %				
9 j. 13 j. 15 j.	0,17 0,18 0,19	1,70 1,80 1,90				

Les poids des tissus cancéreux et nécrosés que l'on obtient avec une seule tumeur sont, en général, trop faibles, surtout quand la tumeur est jeune, pour qu'on puisse faire toute cette série de dosages. Il est, en outre, difficile de comparer les dosages de plusieurs substances faits sur différentes tumeurs, chaque série de résultats étant elle-même assez variable. Aussi avons-nous prélevé plusieurs tumeurs à la fois et mélangé les tissus cancéreux d'une part et nécrosés d'autre part. Chaque résultat est donc déjà un résultat moyen.

Il faut environ, en poids de tissu frais, 2 gr. de tissu cancéreux normal et 5 gr. de tissu nécrosé pour un dosage d'acide ribonucléique, 2 gr. de chaque tissu pour un dosage d'acide thymonucléique et, respectivement, 1 gr. pour les nucléotides totaux, les nucléotides puriques et l'azote purique résiduel. La délipidation est faite dans l'appareil de Kumagawa, soit avant, soit après l'extraction trichloracétique, 16 heures par l'acétone, 8 heures par l'alcool, 8 heures par l'éther et enfin 8 heures par l'acétone.

¹⁾ M. Kruger, A. Schittenhelm, Z. physiol. Ch. 45, 14 (1905).

²⁾ M. Kruger et J. Schmid, id. 1.

³⁾ R. Vendrely, R. Sarciron, Bl. Soc. Chim. biol. 26, 214 (1944).

Tableau 2. Extraction acetonique préalable.

	Nombre de tumeurs	OID	œ	4	1-	67	5	6 méta- stases
- 12	N des Nucleo- sides et purines libres cgr./100 gr.		7,2	2,1	2,1	2,3	2.9	4 6
	N des Nucleo- tides puriques cgr./100 gr.		5.0	2,4	2,8	3.2	2,1	2,0
	N des Nucleo- tides totaux cgr./100 gr.	1,0		2,3	5,9	6,3	1,3	4,6
	N purique du résidu cgr./100 gr.	13	15,3 17,0	12,0 17,0	18,1	17.2	13,4	12,8
	Rapport ThyN RbN	1,3		2,7	1,7	1,5	2,6	1,4
	Acide ThyN du tissu cgr./100 gr.	78,6		82,3 62,1	57,4	74,3	72,4	83,2
	Total acide RbN cgr./100 gr.	59,2 22,3	40,7	30,5	33,6 13,0	49,7 12,7	28,2	60.8
	Acide RbN du filtrat cgr./100 gr.	2, 64 6, 64	3,9	2,9	2,4	1,7	0 traces	0,8 traces
	Acide RbN du résidu cgr./100 gr.	48,9	36,8	27,5	31,2	48,0	28,2	60,0
	Nature des tissus	Cancéreux Nécrosé	Cancéreux Nécrosé	Cancéreux Nécrosé	Cancéreux Nécrosé	Cancéreux Nécrosé	Cancéreux Nécrosé	Cancéreux Nécrosé

Les animaux sont tués par décapitation, les tumeurs sont prélevées, mises dans une boîte de *Petri* reposant sur de la glace et le tissu nécrosé est séparé du tissu cancéreux à l'aide d'un scalpel. Nous avons vérifié sur des coupes histologiques que cette séparation est tout à fait bonne quand on ne conserve pour les dosages que les fragments nettement caractérisés.

Délipidation préalable. Les tissus pesés sont additionnés d'acétone, coupés aux ciseaux, puis délipidés dans l'appareil de Kumagawa, d'abord par l'acétone, puis par l'alcool, l'éther et enfin par l'acétone. On laisse évaporer l'excès de solvant et l'on broye le tissu dans un moulin à café turc. La poudre obtenue est pesée, puis délayée au mortier avec un peu d'acide trichloracétique à 10% et extraite avec 5 fois son poids de solution acide. On triture pendant ½ heure, on filtre sur verre fritté et l'on fait une deuxième extraction avec la même quantité d'acide. On filtre, on réunit les filtrats et on fait sécher la poudre au dessiccateur ou dans l'étuve à 100—105°. Sur les tissus, on dose l'acide thymonucléique, l'acide ribonucléique et les purines résiduelles. Dans le filtrat amené à un volume connu, on dose les nucléotides totaux, les nucléotides puriques et les nucléosides puriques avec l'azote purique libre.

Extraction trichloracétique préalable. Les tissus pesés sont additionnés de 5 fois leur poids d'acide trichloracétique, coupés finement aux ciseaux puis traités comme nous l'avons indiqué ci-dessus. Après la seconde extraction, on fait la délipidation. Dans les filtrats trichloracétiques et sur les tissus séchés, on fait les mêmes dosages que ci-dessus.

Ces techniques ont été employées non seulement pour les tissus des tumeurs et des métastases, mais aussi pour le sang des rats normaux et cancéreux.

Nous avons également fait des dosages d'acide urique par la méthode de Folin¹), d'allantoine par la méthode de Young, MacPherson, Wentworth et Hawkins²) et d'urée par la méthode de Cuny et Robert³).

Nos résultats sont réunis dans les tableaux 2 et 3.

On voit d'après ces tableaux que la teneur en acide ribonucléique d'un même tissu est variable d'une expérience à l'autre, mais que la teneur du tissu cancéreux «normal» est toujours 3 à 6 fois plus grande que celle du tissu nécrosé. En revanche, le taux d'acide thymonucléique varie, le plus souvent, assez peu ou bien est plus élevé dans le tissu nécrosé que dans le tissu cancéreux. Il semble que ces dernières variations soient dues à un état plus ou moins avancé de nécrose, car le taux d'acide thymonucléique est le plus élevé dans les tumeurs les plus grosses (celles de 2 rats qui pesaient chacune environ 35 g) où le tissu nécrosé ne contient plus guère que des noyaux. Dans les métastases, ces résultats sont encore plus nets, les tissus étant, si l'on peut dire, beaucoup plus purs.

Quant au rapport acide thymonucléique/acide ribonucléique, il est plus grand pour le tissu nécrosé que pour le tissu cancéreux, et il est toujours plus grand que l'unité. Davidson et Waymouth⁴) ont obtenu un rapport acide ribonucléique/acide thymonucléique

¹⁾ Folin, J. Biol. Chem. 101, 111 (1933); 106, 311 (1934).

²) E. G. Young, C. C. MacPherson, H. P. Wentworth, N. W. Hawkins, J. Biol. Chem. **142**, 839 (1944).

³⁾ L. Cuny et J. Robert, J. Pharm. Chim. 15, 7 (1932).

⁴⁾ Loc. cit.

voisin de 2 et souvent bien supérieur à 2, alors que nous obtenons un rapport inverse au moins égal à 1,3 et qui peut même être égal à 53 dans le tissu nécrosé des métastases.

Tableau 3.

Extraction trichloracétique préalable.

Nature des tissus	Acide RbN du résidu egr./100 gr.	Acide RbN du filtrat cgr./100 gr.	Total acide RbN cgr./100 gr.	Acide ThyN du tissu cgr./100 gr.	Rapport ThyN RbN
Cancéreux Nécrosé	54,6 15,7	3,9 2,0	58,5 17,7	78,1 70,3	1,3 3,9
Cancéreux Nécrosé	43,6 11,7	1,6 9,4	45,2 21,1	60,4 67,2	1,3 3,1
Cancéreux Nécrosé	50,2 26,6				
Cancéreux Nécrosé	53,5 11,7				
Nature des tissus	N purique du résidu egr./100 gr.	N des Nucléotides totaux cgr./100 gr.	N des Nucléotides puriques cgr./100 gr.	N des Nucleosides et purines libres	Nombre de tumeurs
Cancéreux Nécrosé	11,2 7,5	5,2 5,5	1,5 1,3	1,6 1,8	7
Cancéreux Nécrosé	15,2 8,4	4,4 3,6	2,5 1,6	2,4 4,6	7
Cancéreux Nécrosé	10,5 11,6		2,1 1,4		8
Cancéreux Nécrosé	9,1 8,7		1,7 1,6		3

Les tissus de l'épithélioma atypique du rat sont donc très riches en acide thymonucléique et leur thymonucléoprotéine s'extrait, d'ailleurs, assez facilement. Cependant, on ne peut conclure, même lorsque dans le tissu nécrosé l'acide thymonucléique augmente alors que l'acide ribonucléique disparaît, à une synthèse de l'un aux dépens de l'autre, car on ne peut dire qu'un poids donné de tissu nécrosé correspond à un poids égal de tissu cancéreux.

Les tableaux 2 et 3 montrent encore que les taux de nucléotides et de nucléosides sont faibles et que leurs variations d'un tissu à l'autre, quand il y en a, ne rendent pas compte de la disparition de l'acide ribonucléique. Que devient cet acide? Nous l'avons recherché en vain sous la forme de produits dérivant des purines tels que l'acide urique, l'allantoïne ou l'urée. Les taux de ces substances varient autour d'un chiffre moyen, d'un animal à l'autre, mais ne varient pas plus chez les animaux cancéreux que chez les témoins. La composition du sang, elle-même, reste constante. Il faut donc penser que l'élimination des produits de dégradation, s'il y en a, se fait par les reins qui restent normaux pendant le développement de la tumeur.

Comment disparaît l'acide ribonucléique? Probablement sous l'action d'un enzyme qui pourrait être la ribonucléase. Nous avons essayé de montrer que le tissu nécrosé était riche en ribonucléase par la méthode de Bain et Rusch¹), dans le dispositif de Warburg, et nous avons vu que ce tissu homogénéisé ne contient même pas plus de ribonucléase qu'un rein de rat normal, qui lui-même en contient très peu. Cependant on ne peut conclure que le tissu nécrosé ne contient pas un enzyme capable d'attaquer l'acide ribonucléique du tissu cancéreux de l'épithélioma atypique du rat parce qu'il n'attaque pas celui de la levure. Nous essayons, actuellement, de préparer l'acide ribonucléique de cette tumeur afin de poursuivre nos recherches.

Institut de Biologie physico-chimique. Service de biochimie, Paris.

¹⁾ J. A. Bain, H. P. Rusch, J. Biol. Chem. 153, 569 (1944).

177. Sur les constituants de l'ambre gris II. Ambréine et Coprostanone 1)

par E. Lederer, F. Marx, D. Mercier et G. Pérot²).
(26 V 46)

L'ambre gris est une concrétion intestinale du Cachalot (Physeter macrocephalus L.).

On l'utilise en parfumerie à cause de son odeur et de son pouvoir fixateur (voir Naves et Mazuyer; Janistyn; Treff).

Les constituants suivants ont été isolés de l'ambre gris:

Une substance cristallisée appelée ambréine (Pelletier et Caventou, F. 36°; Riban, F. 82°, C₂₃H₄₀O; Suzuki, F. 83°, C₂₅H₄₄O).

L'épicoprostérol, le coprostérol et un peu de cholestérol (Isiguro et Watanabe; Janistyn).

L'acide arachidique, CooH40O2 (Isiguro et Watanabe).

Une «ambraporphyrine» ressemblant à la coproporphyrine (Okahara).

Une partie cétonique (Sabetay et Sandulesco).

Une paraffine liquide C₁₈H₃₈, probablement identique au pristane de Tsujimoto¹).

Schmidt-Nielsen et ses collaborateurs ont analysé sommairement plusieurs échantillons d'ambre gris.

Nous rapportons maintenant des détails sur la structure chimique de l'ambréine, substance spécifique de l'ambre gris, et sur l'isolement de la coprostanone-3, cétone principale de l'ambre gris.

Ambréine.

C'est Suzuki qui l'a obtenue le premier à l'état pur; nous pouvons entièrement confirmer le point de fusion, la rotation optique et les analyses élémentaires indiquées par cet auteur.

Nous isolons l'ambréine par chromatographie sur alumine d'un extrait brut d'ambre gris, ou mieux, de la partie non cétonique de l'insaponifiable. Les hydrocarbures ($C_{18}H_{38}$ et $C_{30}H_{50}$) sont élués par l'éther de pétrole, puis l'ambréine par le benzène. Les élutions suivantes, à l'éthanol, contiennent surtout de l'épicoprostérol.

Après une deuxième chromatographie, l'ambréine est recristal-lisée dans un mélange d'acétate d'éthyle et de méthanol. On l'obtient ainsi en très fines aiguilles incolores fondant à 83—83,5° 3), $[\alpha]_D^{16} = +20,5°$ (dans l'alcool). L'ambréine est facilement soluble dans la plupart des solvants organiques, assez peu dans le méthanol.

¹⁾ Première communication: E. Lederer, Bl. Soc. Chim. biol. (Trav.) 25, 1239 (1943).

²⁾ Mémoire exposé le 26 mai 1946 à Bâle, au cours des «Journées Biochimiques Franco-Suisses».

³) Les points de fusion de ce travail ont été déterminés soit au bloc *Berl*, soit sous le microscope avec l'appareil de *Reichert*, et sont corrigés.

Le réactif de *Liebermann* donne avec l'ambréine une couleur rose environ 10 fois moins intense que la coloration verte du cholestérol; il n'y a pas de coloration avec les réactifs décrits récemment par Miescher.

La composition élémentaire de l'ambréine (Suzuki 83,7 % C, 12,1% H; Hoffmann-La Roche¹): 83,84% C, 12,1% H), concorde aussi bien avec les formules C26H44O, C27H46O, etc. qu'avec C30H52O ou C₃₁H₅₄O. Le poids moléculaire trouvé par Suzuki (340) concorde plutôt avec la première formule (372); celui trouvé par Hoffmann-La Roche (465) plutôt avec la dernière (442). Les résultats de l'oxydation et de la déshydratation de l'ambréine nous ont décidés d'adopter la formule C₃₀H₅₂O.

L'ambréine a 2 doubles liaisons déjà décelées par Suzuki qui a obtenu la tétrahydro-ambréine à l'état cristallisé (F. 80°). Notre tétrahydro-ambréine est restée huileuse. D'après le spectre d'absorption ultra-violet, les 2 doubles liaisons sont isolées2).

L'oxygène de l'ambréine. — L'ambréine ne contient ni carbonvle, ni méthoxyle; la présence d'un hydroxyle est indiquée: 10 - par les résultats d'un dosage d'hydrogène mobile d'après Zérévitinov (trouvé par Hoffmann-La Roche 0,22%; calculé pour 1 OH, 0,24%). 20 - par la déshydratation effectuée par ébullition de l'ambréine avec le chlorure d'acétyle dans le toluène, qui donne un hydrocarbure C₃₀H₅₀ avec 3 doubles liaisons. 30 - par la formation d'une lactone après oxydation de l'ambréine.

L'hydroxyle de l'ambréine ne se laisse pas acétyler à l'anhydride acétique ni au chlorure d'acétyle, ni benzoyler par le chlorure de benzoyle. Il se comporte donc comme un hydroxyle tertiaire, ce qui explique la déshydratation facile par le chlorure d'acétyle. L'ambréine C₃₀H₅₂O est donc dérivée d'un hydrocarbure C₃₀H₅₂, ayant 2 doubles liaisons. L'ambrane, C30 H56, l'hydrocarbure saturé correspondant, doit être tricyclique.

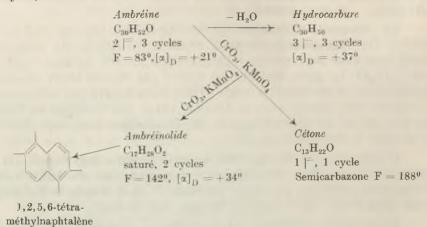
Oxydation de l'ambréine. - L'oxydation permanganique ou chromique de l'ambréine donne une lactone C₁₇H₂₈O₂, F. 141—142°, $[\alpha]_{D}^{16} = +34^{\circ}$ (dans l'alcool) que nous appelons ambréinolide, et une cetone liquide C₁₃H₂₂O (semicarbazone F. 187,5—188,5°); nous retrouvons donc ici les 30 atomes de carbone de l'ambréine. En admettant que l'ambréine ait été scindée en 2 parties au niveau d'une double liaison, un des deux produits d'oxydation doit être saturé, l'autre doit encore contenir une double liaison. C'est la lactone qui est saturée,

2) Nous remercions vivement Mme P. Ramart-Lucas pour nous avoir fait faire

plusieurs mesures de spectres d'absorption.

¹⁾ Nous remercions vivement la Direction scientifique de F. Hoffmann-La Roche, Bâle, pour avoir fait effectuer à Bâle plusieurs microanalyses de nos substances. Les analyses portant la mention Weiler ont été effectuées à Oxford.

tandis que la cétone contient une double liaison. D'après le spectre d'absorption, la double liaison n'est pas en conjugaison avec le carbonyle¹).



A côté de la cétone $C_{13}H_{22}O$, nous avons isolé une substance saturée ayant probablement la formule $C_{13}H_{22}O_2$, disemicarbazone, F. 203—205°.

L'ambréinolide est une γ -lactone, car son oxyacide se cyclise spontanément en lactone. L'ambréinolide est dérivé d'un hydroxyacide, $C_{17}H_{30}O_3$, saturé et bicyclique; la cétone $C_{13}H_{22}O$ étant monocyclique, nous sommes amenés à nous représenter l'ambréine comme un triterpène contenant un système bicyclique saturé, et un noyau monocyclique insaturé, reliés par une chaîne de plusieurs atomes de carbone, portant la double liaison au niveau de laquelle se produit la coupure oxydative.

L'appartenance de l'ambréine aux triterpènes est indiquée par la présence de groupes méthyles à divers endroits de la molécule. L'ambréine donne, au dosage de C—CH₃ d'après Kuhn-Roth, 2,45 molécules de C—CH₃, l'ambréinolide 1,28, et la cétone C₁₃H₂₂O, 1,65 molécules. Etant donné que différents groupes CH₃ ne donnent dans ce dosage qu'un faible pour cent de la valeur théorique (voir Kuhn et L'Orsa), on peut facilement admettre la présence de 6 groupes méthyles correspondant aux 6 molécules d'isoprène, dont la condensation formerait l'ambréine (règle isoprénique de Ruzicka).

Nous avons essayé de préciser la structure de l'ambréinolide par des déshydrogénations, au sélénium et au palladium. Avec le sélénium nous avons obtenu un picrate orange fondant à 88°, dérivé d'un

 $^{^{1})\ \}mathrm{Nous}$ remercions vivement M. A. E. Gillam, Manchester, pour la mesure de ce spectre.

hydrocarbure liquide C₁₄H₁₆, puis un picrate rouge fondant, encore impur, de 120 à 128°. La déshydrogénation de l'ambréinolide avec le palladium sur charbon, nous a donné un hydrocarbure C₁₄H₁₆ fondant à 114—116°, picrate rouge F. 154—156°, styphnate orange F. 162—164°. Cet hydrocarbure est identique au 1,2,5,6-tétraméthylnaphtalène (F. 116°, picrate F. 156°, styphnate F. 165°), que plusieurs auteurs ont isolé par déshydrogénation de divers triterpènes (voir p. ex. Ruzicka, Brüngger, etc.; Ruzicka et Rosenkranz, Noller, Schulze). Notre hydrocarbure n'a pas donné de dépression de point de fusion mélangé avec le 1,2,5,6-tétraméthyl-naphtalène authentique¹).

Déshydratation de l'ambréine. — L'insaponifiable de l'ambre gris contient, à côté de la paraffine C₁₈H₃₈ (pristane), un hydrocarbure $C_{30}H_{50}$ ([α]] = +370, dans l'éther), que nous obtenons à l'état pur après chromatographie et distillation sous 0,2 mm. (p. d'éb. 200-205°). Il se présente sous forme d'une huile très épaisse, incolore, et donne dans l'éther absolu saturé d'HCl, un trichlorhydrate fondant à 141—143°, $[\alpha]_0^{16} = +26°$ (dans l'éther). Cet hydrocarbure ne se trouve qu'en très faible quantité dans des extraits bruts d'ambre gris; il se forme au cours de la saponification ou de la distillation sous 0,2 mm des extraits d'ambre, et peut être préparé avec un très bon rendement par l'ébullition de l'ambréine avec le chlorure d'acétyle dans le toluène. Cette réaction est toutefois accompagnée d'une légère racémisation (ou isomérisation): le trichlorhydrate isolé de l'insaponifiable a un $[\alpha]_{D}^{16} = +26^{\circ}$ (dans l'éther), tandis que le trichlorhydrate du produit de déshydratation de l'ambréine a des [α]n variant de + 16° à + 20°; son p. de f. est de 132—136°. Nous n'avons pas encore précisé les conditions de la formation de l'hydrocarbure C₃₀H₅₀ à partir des extraits bruts d'ambre gris par saponification ou par distillation.

L'oxydation permanganique de l'hydrocarbure $C_{30}H_{50}$ donne la même cétone $C_{13}H_{22}O$ (semicarbazone F. 188°), que l'ambréine, mais pas d'ambréinolide.

Structure chimique de l'ambréine. — L'hydrocarbure $C_{30}H_{50}$ est un isomère tricyclique du squalène, dont il pourrait dériver par cyclisation. Heilbron, Kamm et Owens ont déjà préparé un tétracyclosqualène (I) par cyclisation partielle du squalène (voir Ruzicka et Hosking). En admettant que notre hydrocarbure $C_{30}H_{50}$ soit un tricyclosqualène (I bis), l'ambréine serait un hydroxy-tricyclo-squalène de la formule II. On voit que l'hydroxyle de l'ambréine est placé à l'endroit d'une des doubles liaisons du tricyclo-squalène et que c'est au niveau d'une autre que se produit la coupure oxydative en une lactone $C_{17}H_{28}O_2$ (III) et une cétone $C_{13}H_{22}O$ (IV). Dans ce cas cependant,

¹⁾ Nous remercions Monsieur L. Ruzicka pour un échantillon de cet hydrocarbure.

la cétone $C_{13}H_{22}O$ (semicarbazone F. 188°), ne serait rien d'autre que la dihydro- β -ionone (IV) dont la semicarbazone fond à 170°. Notre cétone est différente aussi de la dihydro- α -ionone dont la semicarbazone fond à 167—167,5° (Palfray, Sabetay et Kandel; Kandel; Naves et Bachmann; Ruzicka et Fischer). La double liaison pourrait être située à un autre endroit de la molécule. Dans ce cas, l'hydrogénation de la cétone $C_{13}H_{22}O$ devrait donner la tétrahydroionone¹).

La formule de l'ambréinolide (III) nous paraît assez bien fondée, car elle est dérivée du tricyclo-squalène par simple hydratation et oxydation, et elle rend compte de la formation du 1,2,5,6-tétraméthylnaphtalène (V) par déshydrogénation. Nous reviendrons plus tard sur la question de savoir si cet hydrocarbure a été formé par une migration d'un méthyle géminal ou si l'ambréine contient déjà les 2 méthyles du noyau A en position ortho.

La partie bicyclique de l'ambréine qui fournit l'ambréinolide rappelle ainsi le diterpène sclaréol étudié par Ruzicka et Janot. L'ambréinolide est un proche parent de la lactone $C_{16}H_{26}O$, F. 126°, obtenue par oxydation du sclaréol (Ruzicka, Seidel et Engel). Si l'hydroxyle de l'ambréine se trouvait à la même place que celui du sclaréol, l'ambréinolide serait une δ -lactone, ce qui ne semble pas être le cas.

L'ambréine est ainsi un nouveau triterpène animal qu'il convient de ranger entre le squalène aliphatique et les alcools tétracycliques de la graisse de laine.

¹⁾ C'est ce que Ruzicka et Lardon ont effectivement trouvé, Helv. 29, 912 (1946).

Coprostanone-3.

Sabetay et Sandulesco ont été les premiers à isoler les cétones de l'ambre gris sous forme d'une huile épaisse jaunâtre. Nous en avons obtenu la principale à l'état pur, après distillation fractionnée, chromatographie et recristallisation dans l'alcool absolu. Elle fond à $61-62^{\circ}$, $[\alpha]_D^{10}=+35^{\circ}$ (dans l'alcool). Sa composition élémentaire est exactement celle de l'ambréine, ce qui nous a d'abord conduits à lui donner la formule $C_{30}H_{52}O$, et le nom d'«ambrone». Mais nous avons récemment trouvé que l'«ambrone» n'est rien d'autre que la coprostanone-3 (F. 62° , $[\alpha]_D^{18}=+36^{\circ}$).

La coprostanone de l'ambre gris donne toutes les réactions décrites pour la coprostanone authentique: réduction en épicoprostérol (F. 116°) et coprostérol (F. 101°) et finalement en coprostane (F. 71°), oxydation chromique en acide dicarboxylique $C_{27}H_{46}O_4$ (F. 245°, ester diméthylique F. 61°, Gardner et Godden; Windaus; Grasshof), et oxydation perbenzoïque en lactone $C_{27}H_{46}O_2$ (F. 157°, $[\alpha]_D = +50$ °, Burckhardt et Reichstein).

L'identité de la coprostanone de l'ambre gris avec celle obtenue par oxydation chromique de l'épicoprostérol, a été prouvée de façon certaine par les points de fusion des quatre mélanges suivants, qui n'ont pas donné de dépression: coprostanone-3 (F. $61-62^{\circ}$), sa semicarbazone (F. 190°), épicoprostérol obtenu par réduction avec PtO_2 (F. $114-116^{\circ}$) et son acétate (F. 88°).

La coprostanone-3 ne semble pas encore avoir été isolée d'une source naturelle. Sa présence dans l'ambre gris à côté de l'épicoprostérol et du coprostérol est une nouvelle preuve de l'exactitude de la théorie de Rosenheim-Starling et Schönheimer-Rittenberg-Graff, sur la formation du coprostérol à partir du cholestérol dans l'organisme animal. D'après cette théorie le cholestérol est d'abord oxydé en cholestène-5-one-3 qui est réduite en coprostanone-3, dont la réduction donne finalement les 2 épimères coprostérol et épicoprostérol. Récemment, Rosenheim et Webster ont effectivement isolé la cholesténone-3 des fécès de Chien et de Rat, et Marker, Wittbecker, Wagner et Turner ont trouvé l'épicoprostérol dans les fécès de Chien. Seule la coprostanone, intermédiaire important de cette réaction, n'avait pas encore été isolée.

L'acide dicarboxylique $C_{27}H_{46}O_4$ (F. 245°) formé par oxydation chromique de la coprostanone se trouve aussi parmi les acides libres de l'ambre gris, d'où nous l'avons isolé grâce à sa difficile estérification par le méthanol contenant 3% d'acide sulfurique. Le point de fusion de l'acide naturel et de son ester diméthylique (F. 61°) ne donne pas de dépression par le mélange avec l'acide synthétique et son ester (voir Gardner et Godden; Grasshof; Windaus).

Transformation du cholestérol en coprostérol

Cet acide est ainsi un nouvel acide biliaire naturel, dont la constitution diffère sensiblement de celle des autres acides biliaires naturels.

Nous avons l'intention de vérifier sur de l'ambre gris prélevé directement de l'intestin du Cachalot, la présence de la coprostanone et de son acide dicarboxylique, car ces 2 substances pourraient peutêtre se former seulement en dehors de l'animal, après exposition prolongée de l'ambre gris à l'air et à la lumière.

Composition globale de l'ambre gris.

Les différents échantillons d'ambre gris que nous avons étudiés ont la composition suivante:

Insoluble dans l'éther	10 à 16%
Hydrocarbure $C_{18}H_{38}$	2 à 4%
Ambréine	25 à 45%
Epicoprostérol libre et estérifié	30 à 40%
Coprostérol	1 à 5%
Cholestérol	moins de 0,1%
Cétones (dont plus que la moitié de coprostanone-3)	6 à 8%
Acides libres	5%
Acides estérifiés	5 à 8%

Description des expériences.

Isolement de l'ambréine. — 1. Par chromatographie d'un extrait brut d'ambre gris. Un morceau de 125 gr. d'ambre gris de bonne qualité a été traité à plusieurs reprises à l'éther éthylique. Il reste 20 gr. d'insoluble = 16 %. On lave les extraits éthérés à

la soude N et obtient 5,9 gr. = 5% d'acides libres et 98 gr. de partie neutre = 79%. 8,35 gr. de cette dernière sont dissous dans 30 cm^3 d'éther de pétrole et filtrés sur 300 gr. d'alumine Prolabo.

Élutions	Grammes	Substances
a) 100 cm³ d'éther de pétrole . b) 100 cm³ d'éther de pétrole . c) 200 cm³ d'éther de pétrole . d) 100 cm³ de benzène e) 500 cm³ de benzène f) 500 cm³ d'alcool	0,213 0,029 0,042 0,401 3,595 4,054	Hydrocarbures Ambréine Ambréine Stérols

L'élution e) possède une forte fluorescence vert-jaune.

L'ambréine des élutions d) et e) est purifiée par une nouvelle chromatographie.

2. Par chromatographie de l'insaponifiable non cétonique. On saponifie 45 gr. d'une partie neutre non cétonique avec 45 gr. de potasse alcoolique à 10% par ébullition pendant 6 heures. Après le traitement habituel, on obtient 41 gr. de partie insaponifiable, et 3,2 gr. d'acides. On élimine ensuite la paraffine liquide C₁₉H₂₈ et les produits volatils par une distillation sous 0,2 mm en élevant lentement la température jusqu'à 150°. Il passe en tout 3 gr. (pristane et produits odorants).

28 gr. du résidu de distillation sont dissous dans 100 cm³ d'éther de pétrole et filtrés sur 590 gr. d'alumine.

Grammes	Substances
4,812	Hydrocarbure C ₃₀ H ₅₀
0,082	
14,526	Ambréine
0,795	
0,187	
7,953	Epicoprostérol
	4,812 0,082 14,526 0,795 0,187

L'ambréine du filtrat c) est dissoute dans le même volume d'acétate d'éthyle et cristallise après un séjour à la glacière. On y ajoute encore un volume de méthanol à 98%, puis on essore. Après deux recristallisations, l'ambréine est obtenue sous forme de fines aiguilles incolores fondant à $82,5^{\circ}-83,5^{\circ}$; $[\alpha]_{D}^{16}=+21^{\circ}$ (300 mgr. dans 10 cm³ d'alcool), $[\alpha]_{D}^{16}=+15^{\circ}$ (dans le benzène).

H 12,23%

P.M. 428,4

Trouvé (Hoffmann-La Roche)

C 83,97; 83,70; 83,85 H 12,04; 12,12; 12,13%; dans le camphre: 465

Méthoxyle: 0%. H mobile d'après Zérévitinov: 0,22%

calculé pour 1 H: 0,24%

 $\mathrm{CH_3-C}$: 8,6% = 2,45 molécules (Weiler).

L'ambréine pure peut être distillée sans décomposition appréciable à $0,2\,\mathrm{mm}$ (éb. $\sim 210^{\circ}$).

Déshydratation de l'ambréine. On fait bouillir pendant 2 heures 500 mgr. d'ambréine avec 1 cm³ de chlorure d'acétyle dans 4 cm³ de toluène. On évapore à sec, sous vide, et dissout le résidu dans 10 cm³ d'éther de pétrole pour le filtrer sur une colonne de 20 gr. d'alumine Prolabo. Le premier filtrat obtenu avec 20 cm³ d'éther de pétrole contient 480 mgr. d'hydrocarbure; on le dissout dans 5 cm³ d'éther absolu que l'on sature avec HCl à 0°. Les cristaux du trichlorhydrate sont essorés, lavés à l'alcool et recristallisés dans un mélange éther-alcool. On obtient des aiguilles incolores fondant à 132—136°; [a] = +16° (dans l'éther).

L'hydrocarbure du filtrat a) (4,812 gr.) décrit ci-dessus ([α]) $^{16}_{D}=+37^{o}$ dans l'éther; d=0,9368; $n_{D}^{20}=1,5185$; RM $_{D}$ trouvé 132,87; calculé 132,74) donne un trichlorhydrate fondant à 139—143°; [α] $^{16}_{D}=+26^{o}$ (dans l'éther). Le mélange des deux trichlorhydrates fond à 133—142°.

Oxydation de l'ambréine. 26,3 gr. d'ambréine sont dissous dans 790 cm³ d'acétone; on porte la solution à l'ébullition et y ajoute par petites portions 79 gr. de KMnO₄. L'oxydation dure environ 18 heures. On acidifie et dissout le MnO₂ par barbotage de SO₂; on chasse la plus grande partie de l'acétone et filtre l'ambréinolide qui a cristallisé (7,4 gr.); on épuise le filtrat à l'éther que l'on lave à la soude; on obtient ainsi 4,2 gr. d'acides sous forme d'une huile épaisse. La partie neutre contient les deux cétones $C_{13}H_{22}O$ (~ 3 gr.) et $C_{13}H_{22}O_2$ (~ 2 gr.).

Ambréinolide. On le recristallise 2 fois dans l'alcool et obtient de grands prismes fondant à 142° ; $[\alpha]_{D}^{16} = +34^{\circ}$ (dans l'alcool).

Le poids moléculaire trouvé par titration du groupement lactonique est de 270. La déshydrogénation avec du Pd sur charbon a été opérée dans des tubes à boules contenant chacun 2 gr. d'ambréinolide et 800 mgr. de catalyseur contenant 15% de Pd. On chauffe progressivement jusqu'à 330° et y maintient la température pendant 15 heures. On distille ensuite sous vide le produit de réaction: 890 mgr. d'huile que l'on dissout dans 5 cm³ d'éther de pétrole. On filtre cette solution sur 15 gr. d'alumine. Les premiers lavages à l'éther de pétrole contiennent des hydrocarbures qui ne se combinent pas à l'acide picrique (383 mgr.); les filtrats suivants, (120 mgr.) donnent dans l'alcool un picrate rouge qui fond après recristallisation à 152—155° (rendement en produit pur: 30 mgr.).

Après décomposition du picrate par filtration de sa solution benzénique sur alumine d'après *Plattner* et *Pfau*, nous avons obtenu l'hydrocarbure fondant après recristallisation dans l'alcool à 114—116°. Le styphnate de cet hydrocarbure (aiguilles oranges) fond à 162—164°. Il n'y a pas de dépression de point de fusion avec le picrate et le styphnate authentiques.

La déshydrogénation de $10~{\rm gr.}$ d'ambréinolide par le sélénium nous a donné $30~{\rm mgr.}$ d'un pierate orange fondant à 85° .

 $\it C\'etone~C_{13}H_{22}O.$ La partie neutre provenant de l'oxydation de l'ambréine est traitée trois fois avec le réactif T de $\it Girard$ et $\it Sandulesco$; on obtient 5,2 gr. de partie cétonique. que l'on fractionne dans un petit ballon à colonne $\it Vigreux$; la cétone $\rm C_{13}H_{22}O$ (2,3 gr.) distille à 71—75°/0,3 mm; liquide incolore $\rm n_D^{20}=1,4860,~d=0,9495,~RM_D$: trouvé 58,78; calculé 59,57. Ne réduit pas l'argent ammoniacal; donne une coloration jaune avec le tétranitrométhane; pas de réaction colorée des méthylcétones d'après $\it Legal-Feigl.$ 2,4-Dinitrophénylhydrazone recristallisée dans l'alcool: aiguilles oranges F. 97—99°.

Semicarbazone recristallisée dans l'acétate d'éthyle: prismes F. 188-189°.

C₁₃H₂₂=N-NHCONH₂

Calculé C 66,88 H 10,03 N 16,72% Trouvé (Hoffmann-La Roche) ,, 66,90; 67,04 ,, 9,97; 9,75 ,, 17,09; 16,73% CH_2-C : 9.9% = 1,63 molécules (Weiler).

Dicétone $C_{13}H_{22}O_2$. Cette cétone (1,7 gr.) distille à 88—90°/0,3 mm. Liquide incolore, $n_D^{20}=1,4935$. Disemicarbazone F. 203—205°, très difficilement soluble dans les solvants organiques.

Cette cétone réduit l'argent ammoniacal et donne la réaction colorée des méthylcétones d'après *Legal-Feigl*; elle ne colore pas le tétranitrométhane.

Coprostanone-3. Les cétones de l'ambre gris extraites de la partie neutre par le réactif T sont distillées sous 0,3 mm dans un ballon à colonne Vigreux; 21 gr. de cétones donnent ainsi 0,9 gr. d'une huile distillant jusqu'à 200°, puis 11,4 gr. d'une huile épaisse passant à 210—215°, et qui commence bientôt à cristalliser. Après purification chromatographique sur alumine, et cristallisations répétées dans l'alcool absolu, on obtient de grandes paillettes incolores brillantes, fondant à $61-62^\circ$; [α] [16] = +36,3° (dans l'alcool); point de fusion du mélange avec la coprostanone-3 authentique, 61-62°.

C₂₇H₄₆O Calculé C 83,85 H 12,01% P.M. 386 Trouvé (Hoffmann-La Roche) , 83,97; 83,76 , 12,25; 12,20% , 382; 391

Semicarbazone F. $188-190^{\circ}$; pas de dépression du F. du mélange avec la semicarbazone de la coprostanone.

L'hydrogénation catalytique de 480 mgr. de coprostanone d'ambre gris avec 100 mgr. de PtO₂ d'après *Adams*, dans 20 cm³ d'alcool, nous a donné un hydrocarbure et deux alcools. Ce mélange, dissous dans 5 cm³ d'éther de pétrole, est filtré sur 12 g d'alumine Prolabo.

Elution	mgr.	Substances (après recristallisation)
a) 50 cm³ d'éther de pétrole b) 30 cm³ d'éther de pétrole	80 10	F. 69.5—70,5°: coprostane
c) 30 cm³ d'éther de pétrole/benzène 3/1	85	F. 110—114°: épicoprostérol
d) 30 cm³ d'éther de pétrole/benzène 2/1 e) 30 cm³ de benzène	79 90	F. 110—114°: épicoprostérol F. 110—114°: épicoprostérol
f) 30 cm ³ d'éther	125	F. 98—101°: coprostérol

Coprostane du filtrat a): $C_{27}H_{48}$ Calculé C 87,00 H 13,00% Trouvé (Weiler) ,, 86,80; 86,68 ,, 12,95; 12,73%

Les filtrats c), d) et e) réunis ont donné, après plusieurs recristallisations dans l'acétate d'éthyle et dans l'alcool, des aiguilles soyeuses fondant à 113—116°; pas de dépression de point de fusion du mélange avec l'épicoprostérol authentique.

 $C_{27}H_{48}O$ Calculé C 83,34 H 12,46% Trouvé (Weiler) , 83,47; 83,65 ,, 12,20; 12,43%

L'acétate de l'épicoprostérol des filtrats c), d), e) fond à 88° et ne donne pas de dépression de F., mélangé avec l'acétate de l'épicoprostérol authentique.

L'oxydation chromique de la coprostanone de l'ambre gris effectuée dans l'acide acétique glacial donne l'acide $C_{27}H_{46}O_4$ fondant à 245^0 ; [α] $_{11}^{16}=+49^0$ (dans l'alcool).

Son ester diméthylique préparé par action du diazométhane fond à 61°.

Nous avons aussi préparé l'anhydride qui semble ne pas encore avoir été décrit (ébullition de l'acide avec un excès d'anhydride acétique); paillettes brillantes fondant à 172—173°.

L'oxydation perbenzoïque de la coprostanone de l'ambre gris, d'après Burckhardt et Reichstein, a donné la lactone $C_{27}H_{46}O_2$ décrite par ces auteurs: aiguilles fondant à $163-165^\circ$; [α] $_{10}^{16}=+50^\circ$ (dans l'alcool).

Isolement de l'acide $C_{27}H_{46}O_4$ de l'ambre gris. Les acides libres de l'ambre gris ont été estérifiés par ébullition dans le méthanol contenant 3% d'acide sulfurique. Les acides non estérifiés par ce traitement (6% des acides) constituent une masse brune partiellement cristallisée. Après purification dans l'alcool, nous avons finalement obtenu des prismes encore légèrement teintés, fondant à $238-243^\circ$, et dont le mélange avec l'acide $C_{27}H_{46}O_4$ obtenu par oxydation de la coprostanone, ne présentait pas de dépression de point de fusion. L'ester diméthylique de l'acide naturel fond à 61° et ne donne pas de dépression de point de fusion, mélangé avec l'ester diméthylique synthétique.

Laboratoire de Chimie biologique, Institut de Chimie de l'Université, Lyon,

BIBLIOGRAPHIE.

Burckhardt, V. et Reichstein, T., Helv. 25, 1434 (1942).
Feigl, F., Qualitative Analysis by Spot Tests; Elsevier, Amsterdam 1939.
Gardner, J. A. et Godden, W., Biochem. J. 7, 588 (1913).
Girard, A. et Sandulesco, G., Helv. 19, 1095 (1936).
Grasshof, H., Z. physiol. Ch. 223, 249 (1934).
Heilbron, I. M., Kamm, E. D. et Owens, W. M., Soc. 1926, 1630.
Isiguro, T. et Watanabe, M., J. pharm. Soc. Japan 58, 260 (1938).
Janistyn, H., Fette u. Seifen 48, 501 (1941).
Kandel, J., C. r. 205, 63, 994 (1937); Ann. chim. [11] II, 73 (1939).
Kuhn, R. et L'Orsa, F., Z. angew. Ch. 44, 847 (1931).
Kuhn, R. et Roth, H., B. 66, 1274 (1933).

Lederer, E., Bl. Soc. Chim. biol. (Trav.) 25, 1239 (1943).

Marker, R. E, Wittbecker, E. L., Wagner, R. B. et Turner, D. L., Am. Soc. 64, 818 (1942).

Miescher, K., Helv. 29, 743 (1946).

Naves, Y. R. et Bachmann, P., Helv. 26, 2151 (1943).

Naves, Y. R. et Mazuyer, G., Les Parfums Naturels; Gauthiers-Villars, Paris 1939.

Noller, C. R., Am. Soc. 56, 1582 (1934).

Okahara, Y., Japan. J. med. Sci. II, Biochem. I, 247 (1927).

Palfray, L., Sabetay, S. et Kandel, J., C. r. 203, 1376 (1936).

Pelletier et Caventou, J. Pharm. 6, 49 (1820).

Plattner, Pl. et Pfau, A. St., Helv. 20, 224 (1937).

Riban, M. Y., Bl. [4] 11, 754 (1912).

Rosenheim, O. et Starling, W. W., Chem. Ind. 48, 238 (1933).

Rosenheim, O. et Webster, T. A., Biochem. J. 37, 513 (1943).

Ruzicka, L., Brüngger, H., Egli, R., Ehmann, L., Furter, M. et Hösli, H., Helv. 15, 431 (1932).

Ruzicka, L. et Fischer, W., Helv. 17, 633 (1934).

Ruzicka, L. et Hosking, J. R., Helv. 14, 203 (1931).

Ruzicka, L. et Janot, M. M., Helv. 14, 645 (1931).

Ruzicka, L. et Rosenkranz, G., Helv. 23, 1311 (1940).

Ruzicka, L., Seidel C. F. et Engel, L. L., Helv. 25, 621 (1942).

Ruzicka, L., Schellenberg, H. et Goldberg, M. W., Helv. 20, 791 (1937).

Sabetay, S. et Sandulesco, G., Riechstoffindustrie 1937, 161.

Schmidt-Nielsen et coll., Kong. Norske Vidensk. Selsk. Forh. 9, 5 (1936); 13, 149 (1941); 14, 101 (1941).

Schönheimer, R., Rittenberg, O. et Graff, M., J. Biol. Chem. 111, 183 (1935).

Schulze, H., Z. physiol. Ch. 238, 35 (1936).

Suzuki, M., Japan. J. med. Sci. Trans. II. 1, 31 (1925).

Treff, W., Fette u. Seifen 45, 106 (1938).

Tsujimoto, M., J. Ind. Eng. Chem. 9, 1098 (1917).

Windaus, A., B. 49, 1732 (1916).

178. Vitamine D2.

Etude de la purification et du dosage de la vitamine D₂ dans les préparations pharmaceutiques et de quelques esters de calciférol par H. Pénau et G. Hagemann.

(26 V 46)

La vitamine D_2 cristallisée, employée couramment depuis dix ans environ pour les besoins pharmaceutiques, sous forme de solutions huileuses ou de solutés alcooliques, n'était utilisée, jusqu'à présent, qu'à des doses relativement faibles, de 15 à 30 mgr. par mois, dans la cure ou la prévention du rachitisme, ou mieux, pour assurer les équilibres phosphocalciques de l'organisme, en période de carence alimentaire. Au cours des toutes dernières années, la posologie de la vitamine D_2 a été progressivement étendue, et il n'est pas rare, par exemple, pour certaines formes de tuberculose, de voir administrer au malade, par voie gastrique ou parentérale, jusqu'à 0,20 gr. de calciférol par mois.

Pour ces récentes conditions d'application, il nous a paru intéressant, d'une part, de serrer les normes du calciférol chimiquement pur, et d'autre part, d'étudier la préparation d'esters purs de calciférol pouvant présenter des effets physiologiques plus ou moins différents de ceux de la vitamine D_2 libre. Pour suivre, au cours du temps, la stabilité des préparations pharmaceutiques à base de vitamine D_2 , et constater en particulier si ces préparations ne subissent pas, au cours de leur vieillissement, une dégradation partielle avec formation de dérivés inactifs ou toxiques, nous avons mis au point une méthode de dosage, que nous décrivons plus loin.

$1^{\rm o}$ Vitamine $D_{\rm o}$ purifiée, pour solutions injectables à fortes doses.

Il est indispensable, pour obtenir toutes les garanties possibles concernant la parfaite innocuité et la bonne conservation de la vitamine \mathbf{D}_2 , d'éliminer les substances qui prennent naissance au cours de l'irradiation: toxiques (suprastérols, toxistérols), instables (lumistérol, tachystérol), ou inactives (ex.: ergostérol non transformé). A cet effet, il nous a paru utile de soumettre à une purification le calciférol officinal pour lequel, dans les différentes pharmacopées, un certain battement est prévu dans les normes physicochimiques. Les purifications du produit de saponification du dinitrobenzoate de calciférol chimiquement pur, par recristallisations répétées dans le méthanol, permettent d'obtenir la vitamine \mathbf{D}_2 pure, de caractéristiques physiques constantes:

aspect micro et macro cristallographique homogène, point de fusion: F_i 121°, pouvoir rotatoire: $[\alpha]_{5461} = +121$ à 122°, c=1% éthanol absolu, coefficient d'absorption: $E_{1\,\mathrm{cm}}^{1\,\%} = 485-490$ pour $\lambda=2650$ Å, pas de précipitation avec la digitonine, solubilités dans $100\ \mathrm{cm}^3$ de solvant, à 26° C: éthanol absolu $28\ \mathrm{gr}$.

éthanol absolu 28 gr. acétone anhydre 25 gr. éther iso 25 gr. acétate éthyle 31 gr.

Les solutions de vitamine D₂ pure dans l'huile d'olive ou dans l'éthanol sont stables, en ampoules scellées conservées à l'obscurité. La stérilisation des solutions «injectables» n'entraîne aucune perte d'activité.

2º Esters de calciférol.

Pour la préparation des esters de calciférol, nous avons essayé d'utiliser, soit les anhydrides d'acides, soit les chlorures d'acides dans différents milieux, soit les acides eux-mêmes (par exemple pour l'acide chaulmoogrique, en présence de lipase du ricin). Seuls les chlorures d'acides purs nous ont donné des résultats satisfaisants par la méthode classique d'estérification en présence de pyridine. Nous avons ainsi préparé quelques esters en précisant les conditions opératoires, puis étudié les caractéristiques physiques des produits obtenus.

A) Benzoate de calciférol. — Il est nécessaire d'effectuer la benzoylation à basse température pour obtenir un ester cristallisable, avec un rendement satisfaisant:

Une solution de 10 gr. de vitamine D_2 cristallisée dans 40 cm³ de benzène anhydre est additionnée de 20 cm³ de pyridine pure anhydre (E. 114^0 — 117^0). Après refroidissement à 0°, le mélange est additionné peu à peu d'une solution de 10 cm³ de chlorure de benzoyle pur rectifié (E. 189— 190°) dans 30 cm³ de benzène anhydre. Après 10 minutes d'agitation, toujours à 0°, le mélange est laissé au repos 45 minutes à la température de 20° . La solution est ensuite versée lentement dans une ampoule à décantation contenant 250 cm³ de solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium; après plusieurs agitations, la phase aqueuse est épuisée trois fois avec du benzène; les extraits benzéniques réunis sont lavés avec de l'acide chlorhydrique dilué (environ N/1) jusqu'à élimination complète de la pyridine, puis avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, et enfin avec de l'eau distillée.

La solution benzénique finale est déshydratée sur du sulfate de sodium anhydre et distillée à sec sous pression réduite.

Le résidu est dissous dans 25 cm³ d'acétone anhydre et la solution obtenue est additionnée de 20 cm³ de méthanol pur. Par cristallisation à 0°, on obtient un premier jet de benzoate de calciférol très blanc, et un deuxième jet par addition de méthanol à 0°. Par recristallisation dans le mélange acétone-méthanol, on obtient, avec un rendement de 94%, un benzoate pur dont les caractéristiques ne varient plus par une deuxième recristallisation.

Caractéristiques du benzoate de calciférol:

Point de fusion: F, 92°.

Pouvoir rotatoire: $[\alpha]_{5790} = +100^{\circ}$ (c = 1% acétone).

Insoluble dans l'eau, très peu soluble dans le méthanol.

Très soluble dans l'acétone, le benzène, le toluène.

Le benzoate de calciférol cristallisé, pulvérisé finement, se dissout directement dans l'huile d'olive, sans solvant intermédiaire, par simple chauffage à 40° . La solution huileuse à la concentration de 6% ne précipite pas, même à $+2^{\circ}$.

La courbe d'absorption du benzoate de calciférol, dans l'ultra-violet, est différente de celle de la vitamine D_2 non estérifiée: le maximum caractéristique correspondant à la longueur d'onde de 2650 Å ne se présente plus et se trouve déplacé vers l'ultra-violet plus poussé ($\lambda=2550$ Å).

B) Acétate de calciférol. — L'acétylation de la vitamine D₂ s'effectue correctement dans les conditions suivantes:

Une solution de $10~\rm gr.$ de vitamine D_2 cristallisée, dans $40~\rm cm^3$ de benzène anhydre, est additionnée de $20~\rm cm^3$ de pyridine pure anhydre, puis, après refroidissement à 0° , d'une solution de $10~\rm cm^3$ de chlorure d'acétyle rectifié (E. 137°) dans $30~\rm cm^3$ de benzène anhydre. Après agitation du mélange pendant $10~\rm minutes$ à 0° , on laisse la réaction se terminer pendant $1~\rm heure$ à 20° . On effectue ensuite les mêmes traitements que pour le benzoate de calciférol. La première cristallisation, effectuée dans le mélange acétone-méthanol, est suivie d'une recristallisation dans l'acétone pur.

Caractéristiques de l'acétate de calciférol:

Point de fusion: F_i 86°.

Pouvoir rotatoire: $[\alpha]_{5790} = +38^{\circ}$ (c = 1% acétone).

Très soluble dans l'acétone. Peu soluble dans le méthanol (à 70°C: 50 parties).

L'acétate de calciférol pulvérisé finement se dissout directement dans l'huile d'olive, sans solvant intermédiaire, par simple chauffage à 40° . La solution huileuse à 4% est stable, et reste limpide même à $+2^{\circ}$ C.

La courbe d'absorption de l'acétate de calciférol, dans l'ultra-violet, diffère relativement peu de celle de la vitamine D_2 non estérifiée; le maximum est légèrement décalé vers les courtes longueurs d'ondes ($\lambda=2620$ Å).

C) Propionate de calciférol. — La propionylation de la vitamine D_2 s'effectue, avec de bons rendements, dans les conditions suivantes:

Une solution de 10 gr. de vitamine D_2 cristallisée dans 40 cm³ de benzène anhydre est additionnée de $20 \, \mathrm{cm}^3$ de pyridine pure anhydre, puis, après refroidissement à 0° , d'une solution de $10 \, \mathrm{cm}^3$ de chlorure de propionyle rectifié (E. 78°) dans $30 \, \mathrm{cm}^3$ de benzène anhydre. Après 10 minutes d'agitation à 0° , la réaction est poursuivie pendant une heure à 20° C. On effectue ensuite les mêmes traitements que pour le benzoate de calciférol. Par deux cristallisations successives dans l'acétone pure, on obtient le propionate pur, en cristaux prismatiques blancs.

Caractéristiques du propionate de calciférol:

Point de fusion: 77°.

Pouvoir rotatoire: $[\alpha]_{5790} = +37^{\circ},6$ (c = 1% acétone).

Très soluble dans l'acétone.

La solution huileuse à 4% est stable et reste limpide, même à $+2^{\circ}$ C.

La courbe d'absorption dans l'ultra-violet présente presque le même aspect que la courbe de la vitamine D_2 non estérifiée; cependant le coefficient d'absorption correspondant au maximum, légèrement décalé vers les courtes longueurs d'ondes ($\lambda=2640$ Å) est plus faible: $E_{1~\rm cm}^{1\,\%}=420$ (au lieu de 485 pour la vitamine D_2).

D) Oléate de calciférol. — L'oléate de calciférol, liquide à la température ordinaire, ne cristallise qu'à la température de $-20^{\rm o}$ C en solution acétonique. L'estérification s'effectue dans les conditions suivantes: 10 gr. de vitamine D₂ cristallisée sont dissous dans 60 cm³ de benzêne anhydre et additionnés de 20 cm³ de pyridine pure anhydre.

Le mélange, refroidi à 0° , est additionné d'une solution de 15 gr. de chlorure d'oléyle rectifié (E. 160° sous 1 mm) dans 15 cm³ de benzène anhydre. On laisse réagir le mélange pendant 2 heures ½ à 0° , en présence d'un léger courant d'azote. Après réaction, on effectue les même traitements que pour le benzoate de calciférol.

La solution benzénique finale, déshydratée, est distillée à sec sous vide: on obtient ainsi l'oléate de calciférol huileux à température ordinaire.

Caractéristiques de l'oléate de calciférol:

Pouvoir rotatoire: $[\alpha]_{5790} = +18,7^{\circ}$ (c = 1% chloroforme).

La courbe d'absorption dans l'ultra-violet est sensiblement la même que celle de la vitamine D_2 non estérifiée; la branche de courbe descendante, vers les courtes longueurs d'ondes, est un peu redressée.

$$E_{1 \text{ cm}}^{1} = 420 \ (\lambda = 2650 \text{ Å}).$$

E) Chaulmoograte de calciférol. — La préparation de cet ester est assez délicate, et nécessite une préparation préliminaire d'acide chaulmoogrique pur, puis de chlorure de chaulmoogryle pur, rectifié sous vide poussé. Les conditions opératoires les plus satisfaisantes sont les suivantes:

Une solution de $10\,\mathrm{gr}$, de vitamine D_2 cristallisée, dans $60\,\mathrm{cm}^3$ de benzène anhydre et $20\,\mathrm{cm}^3$ de pyridine pure anhydre, est refroidie à 0^0 en présence d'azote; on ajoute ensuite une solution de $13\,\mathrm{gr}$, de chlorure de chaulmoogryle pur fraichement rectifié (E. $140-160^0$ sous $0.1\,\mathrm{mm}$), dans $13\,\mathrm{cm}^3$ de benzène anhydre. On laisse réagir pendant $2\,\mathrm{heures}\,\,\frac{1}{2}\,\grave{a}\,\,0^0$, avec un lent barbotage d'azote. On procède ensuite à des lavages pour élimination de l'excès des réactifs, comme pour le benzoate de calciférol. Le chaulmoograte de calciférol brut est soumis $\grave{a}\,\mathrm{deux}\,\mathrm{cristallisations}\,\mathrm{successives}\,\mathrm{dans}\,\mathrm{l'acétone}\,\mathrm{anhydre}\,\,\grave{a}\,\,0^0\,\mathrm{C.}$, et séché sous vide phosphorique.

Caractéristiques du chaulmoograte de calciférol:

Cristaux blancs.

Point de fusion: F, 53°.

Pouvoir rotatoire: $[\alpha]_{5790} = +52$ à 52,8° (c = 1% chloroforme anesthésique).

Titre en insaponifiable (calciférol): 57%.

La courbe d'absorption est presque identique à celle du calciférol non estérifié, le coefficient d'absorption étant plus faible et donnant un titre apparent spectrographique de 37% en vitamine D_2 .

Le dosage spectrographique effectué sur l'insaponifiable de l'ester cristallisé fournit une courbe de vitamine D_2 caractéristique, avec un taux conforme à la formule théorique du chaulmoograte de calciférol pur (teneur en vitamine D_2 alcool: 57%). Le chaulmoograte de calciférol est aisément soluble dans l'huile d'olive (la solution à 2% est stable).

- 3º Dosage de la vitamine D₂ dans les préparations pharmaceutiques.
- A) Le problème le plus simple est le dosage de la vitamine D₂ dans une solution alcoolique; dans ce cas, d'après la courbe d'absorption dans l'ultra-violet, on peut déduire directement:
- a) Si la vitamine D_2 est bien conservée (c'est-à-dire si la courbe d'absorption présente la forme caractéristique, avec un maximum pour $\lambda=2650$ Å). Toute modification de la courbe (déplacement du maximum, dissymétrie accentuée de la courbe, etc.) indique la présence d'impuretés (stérols par exemple) ou de produits de dégradation du calciférol.
- b) Si le titre en calciférol est correct, par le calcul du coefficient d'absorption. E $_{1~\mathrm{cm}}^{1~\mathrm{sh}}$ ($\lambda=2650~\mathrm{Å}$) connaissant le coefficient fourni par la vitamine D_2 pure:

$$E_{1 \text{ cm}}^{1}$$
 ($\lambda = 2650 \text{ A}$) = 485–490.

Les solutions alcooliques (alcool à 90° ou alcool absolu) de vitamine D_2 pure cristallisée sont stables, en ampoules scellées et à l'abri de la lumière. Elles conservent toute leur activité après plusieurs années.

- B) Lorsqu'il s'agit de doser la vitamine D_2 dans des solutions huileuses, il est nécessaire d'éliminer la cause d'erreur due à l'absorption propre de l'huile, qui pourrait modifier la courbe due à la vitamine D_2 , ou tout au moins le coefficient d'absorption correspondant au maximum. Pour tourner cette difficulté, nous opérons de la façon suivante:
- a) Si l'on dispose d'un échantillon de l'huile ayant été utilisée pour la préparation de la solution vitaminée, le dosage spectrophotométrique peut s'effectuer directement: une quantité exactement pesée de solution huileuse (environ: 1,5 gr.) est diluée dans du chloroforme anesthésique pur, à un volume exactement connu (fiole jaugée de 25 cm3). On prélève exactement, à la pipette, un volume connu de cette solution, on amène à 100 cm³ en fiole jaugée, par addition d'alcool éthylique absolu; le volume de solution chloroformée à diluer est calculé, d'après le titre annoncé en vitamine D2, pour que la solution finale dans l'alcool soit théoriquement au titre de 0,0015% en vitamine Do. On effectue, d'autre part, les mêmes dilutions exactement (chloroforme, puis alcool), avec l'huile-témoin ne contenant pas de vitamine. On trace ensuite la courbe d'absorption ultraviolette, en utilisant, dans la cuve de référence du spectrographe, la seconde solution. De cette manière, on élimine les erreurs dues à l'absorption propre de l'huile, et l'on obtient (si la vitamine D2 est correcte et non altérée) une courbe d'absorption caractéristique de la vitamine D₂ pure; la détermination du coefficient d'absorption correspondant au maximum ($\lambda = 2650 \text{ Å}$) permet de déterminer le titre de la solution huileuse, comme pour le cas des solutions alcooliques.

Les dosages, effectués dans ces conditions, permettent d'affirmer que la vitamine D_2 pure cristallisée, est stable en solution huileuse à 1%, en ampoules scellées. La stérilisation par chauffage d'une heure à 100° n'altère en aucune façon les qualités de la substance, ni son comportement au cours du temps.

b) Si l'échantillon à doser n'est pas accompagné d'une ampoule de l'huile ayant servi à préparer la solution vitaminée (si, par exemple, il s'agit de procéder à des «coups de sonde» sur des stocks de préparations pharmaceutiques ayant une certaine ancienneté), ou s'il s'agit de formes estérifiées de la vitamine D_2 , il est nécessaire d'effectuer le dosage spectrophotométrique sur l'insaponifiable, la perte de vitamine D_2 au cours de la saponification étant déterminée une fois pour toutes, sur une solution huileuse à 1% exactement titrée, dans des conditions opératoires bien déterminées (perte: 7,5% de vitamine D_2).

L'insaponifiable propre des huiles végétales utilisées pour la préparation des solutions vitaminées peut évidemment intervenir dans le dosage; mais nous avons constaté que le coefficient d'absorption $E_{1~m}^{1~\%}$ pour la longueur d'ondes correspondant au maximum de la courbe de vitamine D_2 ($\lambda=2650$ Å) est faible et ne risque pas d'intervenir pour plus de 5 à 6% dans le résultat. Ainsi, par exemple, on trouve: $E_{1~m}^{1~\%}=27$ pour $\lambda=2650$ Å, pour l'insaponifiable d'une huile d'olive non vitaminée. Pour une solution à 1% de vitamine D_2 dans cette huile, il serait donc théoriquement nécessaire de retrancher cette valeur du coefficient d'absorption $E_{1~m}^{1~\%}$ ($\lambda=2650$ Å) trouvé pour l'insaponifiable du total huile + vitamine; mais, en fait, la correction serait de 4,8% du titre trouvé, et l'on peut pratiquement la négliger, la méthode de dosage spectrophotométrique ne donnant pas une meilleure précision.

Nous précisons ci-dessous le mode opératoire:

Une quantité de solution huileuse exactement pesée (voisine de 1 gr.) est saponifié au bain-marie, au reflux, en présence d'azote, dans un ballon rodé muni d'un réfrigérant, par $15~{\rm cm}^3$ de potasse alcoolique N/2, pendant $10~{\rm minutes}$. Le mélange est aussitôt refroidi,

additionné de $25~\rm cm^3$ d'eau distillée bouillie, et épuisé 3 fois avec $25~\rm cm^3$ d'éther-oxyde d'éthyle officinal exempt de peroxydes. Les solutions éthérées réunies sont lavées, d'abord avec $10~\rm cm^3$ de potasse aqueuse N/2, puis avec de l'eau $(3\times 10~\rm cm^3)$. Après déshydratation sur un peu de sulfate de sodium, filtration et lavages du sel à l'éther, la solution est amenée à sec sous courant d'azote, puis sous vide, dans un petit ballon taré.

Le résidu pesé (insaponifiable total) est dissous dans l'alcool à 95°, et l'on prépare à l'aide de cette solution-mère, d'après le titre annoncé dans la solution huileuse initiale, une solution alcoolique titrant théoriquement 0,0015% de vitamine D; on dose ensuite au spectrographe comme d'ordinaire, en plaçant dans la cuve de référence de l'alcool à 95° seul. D'après le coefficient d'absorption $E_{1~\rm cm}^{1\,\%}$ trouvé pour le maximum de la courbe ($\lambda=2650~\rm \AA$), on déduit le titre en vitamine D_2 , en ajoutant une correction de 7,5% pour la perte à la saponification.

Divers dosages effectués, dans ces conditions, sur des échantillons de solutions huileuses de vitamine D_2 pure (Stérogyl 15 injectable ou buvable) prélevés au hasard dans des pharmacies de détail permettent d'affirmer que la conservation est excellente.

RÉSUMÉ.

Dans cette note, il nous a paru intéressant de préciser les caractères physiques du calciférol chimiquement pur qui doit être employé en thérapeutique pour les doses massives utilisées par les cliniciens dans les diverses formes de tuberculose.

L'étude de quelques esters de calciférol, dont l'ester chaulmoogrique, a paru retenir l'attention des cliniciens français dans certaines formes de tuberculose. On sait, en effet, les rapports d'acido-résistance qui unissent le bacille de *Hansen* et le bacille de *Koch* et la spécificité accordée aux huiles des Flacourtiacées, dans le traitement de la lèpre.

Des essais encourageants sont en cours actuellement dans le traitement de la lèpre et de la tuberculose.

Enfin, étant données la lenteur des essais physiologiques de vitamine D_2 et la nécessité de la mise en œuvre d'un grand nombre d'animaux (rats) pour obtenir une précision suffisante, il nous a paru intéressant de donner une méthode relativement précise (à \pm 10 %) de dosage du calciférol, dans les préparations pharmaceutiques simples les plus courantes.

Romainville, Laboratoires Roussel, Département des Recherches biologiques. H. Pénau.

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.)

Index culturel espagnol, édité par le Ministère des Affaires étrangères, Direction générale des relations culturelles, 1re année, numéro 4, mai 1946, 40 pages; numéro 5, juin 1946, 40 pages.

Analysmetoder, Samlade och utarbetade av Apotekens kontroll-laboratorium. Utgivna av Nordiska Specialitetskommissionen, Häfte XVI, Kronobergsgatan 27, Stockholm. 96 SS., 1946.

Steroid Chains as Components of Protein and Carbon Molecules, by *Theodore van Schelven*. Kosmos Publishing Company, Amsterdam, 64 pages, \$ 3.00, 1946.

