

## 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.)

*Virgilio Bolcato*, dell'Istituto di Ricerche di Novara della Società Montecatini, *La Chimica delle Fermentazioni*, Microbiologia, Enzimologia, Chimica e Tecnica dello Fermentazioni, *Nicola Zanichelli*, Editore, Bologna 1946, XIX e 493 pagine, lire 600 nette.

Traité de Chimie analytique qualitative minérale, par *Paul-E. Wenger*, Dr. ès Sc., Professeur, Directeur des Laboratoires de Chimie analytique et de Microchimie de l'Université de Genève, *Roger Duckert*, Dr. ès Sc., Privat-docent, Chef de travaux aux Laboratoires de Chimie analytique et de Microchimie de l'Université de Genève, et *Yvonne Rusconi*, collaboratrice. Librairie de l'Université *Georg & Cie. S.A.*, Genève 1946, XII et 467 pages.

Festschrift *Emil Barell*. Herrn *Emil Christoph Barell*, Dr. phil., Dr. med. h. c., Dr. rer. pol. h. c., Präsident des Verwaltungsrates der *F. Hoffmann-La Roche & Co., Aktiengesellschaft*, zur Feier seiner fünfzigjährigen Tätigkeit im Hause „Roche“ überreicht von den wissenschaftlichen Mitarbeitern der „Roche“-Unternehmungen, Basel, 27. Juni 1946, 468 SS.

Les engrais phosphatés, par *A. Sanfourche*, Conseiller scientifique de la Compagnie de Saint-Gobin, XII + 278 pages avec 37 figures, 1946, *Dunod*, éditeur, Paris, Frs. franç. 850.—.

Boletim da Escola de Farmácia da Universidade de Coimbra. Vol. 5<sup>o</sup>, Coimbra 1945, 414 pag.

La funzione di alcuni aminoacidi nella difesa naturale contro le infezioni e nella chemioterapia sulfamidica, Prof. Dott. *F. Vacirca*, *Attualità di Chemioterapia*, estratto 1944.

Azione degli acidi aminovalerianico e aminocapronico sulla respirazione batterica, *R. Deotto* e *F. Vacirca*, Estratto dal „Bollettino“ dell'Istituto Sieroterapico Milanese, Vol. XXIII (1944).

L'attività antimicrobica di alcuni derivati dell'acido aminovalerianico ed aminocapronico, *F. Vacirca* e *B. Ciocca*, Estratto dal „Bollettino“ dell'Istituto Sieroterapico Milanese, Vol. XXIII (1944).

Azoto aminico e bilancio quantitativo dei singoli aminoacidi nel sangue alla luce delle proprietà biologiche di alcuni aminoacidi, Dott. *F. Vacirca*, Estratto da *Archivio per le Scienze Mediche*, Anno LXX, Vol. 80, N. 4—5—6 (Luglio-Agosto-Settembre 1945).

Sulla costituzione chimica delle agglutinine, Dr. *F. Vacirca*, Estratto dal „Bollettino“ dell'Istituto Sieroterapico Milanese, Vol. XXIV, Fasc. Gennaio-Giugno 1945.

Antibiosi, Batteriostasi, Battericidia, *F. Vacirca*, Estratto dal *Giornale di Batteriologia e Immunologia*, Vol. XXXIV, N. 2 (Febbraio 1946).

## 56. Zur Kenntnis von Anionentrennungen mittels Adsorption an Tonerde

von H. Kubli.

(25. XII. 46.)

Die Anwendungen der Fällungs-(Kationen)- und der Austausch-(Anionen)-Chromatographie auf einer entsprechend vorbehandelten Säule von Handelstonerde sind speziell in der anorganischen Chemie noch nicht sehr zahlreich.

Es hat sich gezeigt, dass die Adsorptionszonen eines Ions in günstigen Fällen seiner Menge proportional sind, so dass sich aus der Höhe der Zonen eine angenäherte quantitative Bestimmung des adsorbierten Ions ableiten lässt. Von *Schwab* und *Dattler*<sup>1)</sup> ist die Brauchbarkeit dieser Methode an einigen wenigen Beispielen gezeigt worden.

*P. Jacobs* und *F. Tompkins*<sup>2)</sup> untersuchten die Stellung, Durchlaufgeschwindigkeit und die Höhe von adsorbierten Ionen und zeigten, dass für Kationen nur unter ganz bestimmten Bedingungen ein Ausmassen der Zonenhöhe zur Schätzung der Menge des adsorbierten Ions führt.

Des weitern haben *Schwab* und *Gosh*<sup>3)</sup> eine qualitative Trennung der Metalle der HCl-, der H<sub>2</sub>S- und der (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S-Gruppen auf drei verschieden vorbehandelten und entwickelten Tonerdesäulen ausgeführt. Auf unvorbehandelter (basischer) Aluminiumoxydsäule gelangen ihnen neue sehr empfindliche Mikronachweise<sup>4)</sup> von einzelnen, ausgewählten Kationen mit Hilfe der Adsorptionsanalyse. Hierbei wurden die Erfassungsgrenzen für die Kationen Fe(III), Cu(II), Co(II), Ni, UO<sub>2</sub>, Ag, Pb(II) und Tl(I) nach der chromatographischen Methode auf 0,005—1  $\gamma$  festgelegt.

*Richard Kuhn* und *Th. Wieland*<sup>5)</sup> akkumulierten an mit Chlorwasserstoffsäure vorbehandelter Tonerde das Pantothenäureanion aus einem Thunfischleberkonzentrat und eluierten es hierauf wieder mit verdünntem Natrium- oder Bariumhydroxyd.

An einer in gleicher Weise vorbereiteten Säule gelang es *R. Kuhn*, *Th. Wieland* und *Müller*<sup>6)</sup> ( $\alpha, \gamma$ -Dioxy- $\beta, \beta$ -dimethyl-butryl)-taurin, eine der Pantothenäure analog gebaute Sulfosäure, von dem bei der Synthese nicht umgesetzten Taurin abzutrennen. Dabei lässt sich das Taurin (H<sub>2</sub>N · CH<sub>2</sub> · CH<sub>2</sub> · SO<sub>3</sub>H), das als Ampholyt, vergleichbar mit dem  $\alpha$ -Alanin, auf saurer Säule nicht festgehalten wird, mit Wasser ins Filtrat auswaschen, während sich die Elution des gewünschten Körpers wie bei der Pantothenäure erzielen lässt.

<sup>1)</sup> Z. angew. Ch. 51, 709 (1938).

<sup>2)</sup> Trans. Faraday Soc. 41, 388, 395, 400 (1945).

<sup>3)</sup> Z. angew. Ch. 52, 389 (1939).

<sup>4)</sup> Z. angew. Ch. 53, 39 (1940).

<sup>5)</sup> B. 73, 962 (1940).

<sup>6)</sup> B. 74, 1605 (1941).

Ausser den angeführten Trennungs-, Nachweis- und Reinigungsoperationen, ist die Umwandlung in andere Salze von präparativem Wert. So lässt sich z. B. das Pikrat eines Alkaloids oder einer Base an einer mit HCl ( $\text{HClO}_4$ ) beladenen sauren Säule in das Hydrochlorid (Perchlorat) überführen.

Es ist auch möglich, Anionentausch im aceton-wässrigen Milieu vorzunehmen. So gelang es *H. Wieland* u. Mitarbeitern<sup>1)</sup> durch Filtration einer siedenden Wasser-Acetonlösung des  $\beta$ -Anthrachinon-sulfonates eines Curarealkaloids durch eine mit HCl beladene Aluminiumoxydsäule des Hydrochlorid zu erhalten, während die  $\beta$ -Anthrachinon-sulfonsäure auf der Säule zurückgehalten wurde.

Gute Dienste hat die Chromatographie bei der Trennung und Isolierung von Aminosäuren geleistet. Hervorgehoben sei die Abtrennung von *d*(-)-Glutaminsäure mit Rücksicht auf ihr vermeintliches Vorkommen in malignen Tumoren<sup>2)</sup>. Dabei spielte bis vor kurzem<sup>3)</sup> Aluminiumoxyd als Adsorbens eine wichtige Rolle, indem auf unvorbehandelter basischer Säule die Diaminosäuren<sup>4)</sup>, mit Ausnahme von Histidin, von den Monoaminocarbonsäuren und Monoaminodicarbonsäuren abgetrennt werden können.

Auf mit HCl<sup>4)</sup>,  $\text{HClO}_4$ <sup>5)</sup> oder  $\text{CH}_3\text{COOH}$ <sup>6)</sup> vorbehandeltem Aluminiumoxyd haften Asparagin- und Glutaminsäure, während sowohl basische als auch neutrale Aminosäuren in Filtrat wandern. Durch eine saure Säule filtriert, lassen sich sogar neutrale Säuren, wie Glykokoll und Serin, adsorbieren, vorausgesetzt, dass sie in 70<sup>5)</sup>—80<sup>7)</sup>-proz. Äthanol oder in 10-proz. Formaldehydlösung<sup>8)</sup> (basenabschwächend-säureverstärkend) zur Adsorption gelangen.

Als Adsorptionsmittel in allen obenerwähnten und noch zu beschreibenden Fällen diene Aluminiumoxyd verschiedenster Provenienz und Vorbehandlung. Dabei kann gezeigt werden, dass für die Erzielung von reinen Ionenadsorptionseffekten vor allem die Art der Vorbehandlung und die Menge der Beladung der Tonerde mit meist anorganischen Säuren oder Basen den Ausschlag gibt. Die Korngrösse und die Trocknungstemperatur („Aktivierungstemperatur“) innerhalb eines normalen Bereiches von 300—600° C ist von untergeordneter Bedeutung.

Ich fand bei reinen und technischen Tonerden (*Merck, Kahlbaum, Merck „Brockmann“*, Neuhausen usw.), die sich unvorbehandelt direkt zur Kationenadsorption eignen, einen nahezu gleichen Gehalt an  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und einen  $\text{pH}$ -Wert von 9,2—9,4<sup>9)</sup>. Es zeigt sich dabei, dass für die Kationenadsorption, die auf der Ausfällung der Metallecarbonate, bzw. Hydroxyde beruhen soll, ebensogut Handelstonerde wie

<sup>1)</sup> *A.* 547, 153 (1941).

<sup>2)</sup> *Th. Wieland*, *B.* 75, 1001 (1942).

<sup>3)</sup> Vgl. *K. Freudenberg* und Mitarbeiter, *Naturwiss.* 30, 87 (1942); *Th. Wieland*, *B.* 77, 539 (1944): Basische Wofatite (M) adsorb. die sauren Aminosäuren, saure Wofatite (A, K, KS) adsorb. alle Aminosäuren, saure Wofatite (C) adsorb. nur die basischen Aminosäuren, Wofatit (C) mit KOH vorbehandelt adsorb. nur Arginin und Lysin. Wofatite haben 10 mal grössere Kapazität als Tonerde.

<sup>4)</sup> *Th. Wieland*, *Z. physiol. Ch.* 272, 24 (1942).

<sup>5)</sup> *J. Bergsland*, Diss. E.T.H. (1944).

<sup>6)</sup> *Turba*, *B.* 75, 340 (1942); *Turba* und *Richter*, *Naturwiss.* 31, 508 (1943).

<sup>7)</sup> *G. Schramm*, *B.* 76, 373 (1943).

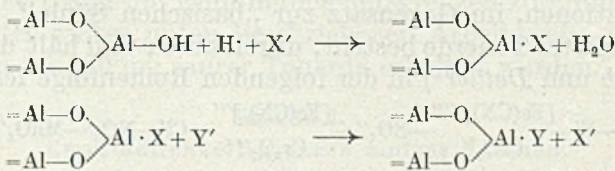
<sup>8)</sup> *Th. Wieland*, *Naturwiss.* 30, 374 (1942); vgl. *W. D. Treadwell* und *J. Bergsland*, *Helv.* 28, 945 (1945).

<sup>9)</sup> Vgl. *Siewert* und Mitarbeiter, *B.* 76, 210 (1943); *H. Kubli*, Diss. E.T.H. (1945).

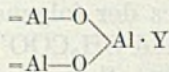
reinstes Aluminiumoxyd (z. B. selbst hergestellte Fasertonerde nach *Wislicenus*<sup>1)</sup>), das nachträglich mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  behandelt wurde, verwendet werden kann.

Behandelt man die alkalisch reagierende Tonerde mit wässriger Salzsäure, so wird  $\text{NaCl}$  gebildet. Gleichzeitig läßt sich dabei das  $\text{Al}_2\text{O}_3$  zu einem, wohl infolge Hydrolyse, hydroxylhaltigen Kation auf, das nun die Anionen verschiedener Säuren mehr oder weniger fest als wasserunlösliche Salze zu binden vermag. Wie *Schwab* und *Dattler*<sup>2)</sup> zeigen konnten, läßt sich an Tonerde, die mit Salpeter- oder Salzsäure vorbehandelt war, eine Trennung von anorganischen Säuregemischen durchführen, wenn man die wässrige Lösung ihrer Alkalisalze durch eine so vorbehandelte Säule passieren läßt.

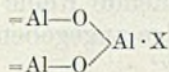
Der Mechanismus läßt sich wie folgt formulieren:



unter der Voraussetzung, dass die Löslichkeit von



kleiner ist als die von



Sinngemäß entspricht nun die Reihenfolge, d. h. die Stellung der Anionen untereinander auf einer Säule, der Zunahme der Löslichkeit der gebildeten basischen Aluminiumsalze von oben nach unten. Im Gegensatz zu den Vorgängen auf der basischen Säule, dürfen wir hier von einem eigentlichen anionischen Tonerdepermutit sprechen.

Die Elution oder Verdrängung der Säuren kann in diesen Fällen auf drei verschiedene Arten geschehen:

1. Durch Lauge (Umstimmung der Säule):



2. Durch Anionen, welche noch schwerer lösliche basische Aluminiumsalze bilden.

3. Durch die primär an die Säule gebundenen Anionen ( $\text{Cl}'$ ,  $\text{NO}_3'$ ) in höherer Konzentration. In diesem Falle beruht die eluierende

<sup>1)</sup> Z. angew. Ch. 17, 801 (1904).

<sup>2)</sup> Z. angew. Ch. 50, 691 (1937).

Wirkung auf der Umkehrung der zur Adsorption führenden Reaktion:



Es wurde nun versucht:

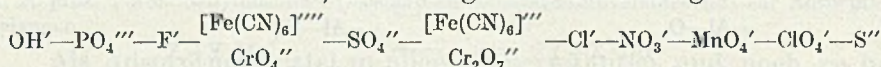
a) Die Reihenfolge der Anionen auf der mit Säure vorbehandelten Tonerde zu bestimmen, um die von *Schwab* und *Dattler*<sup>1)</sup> aufgestellte Reihe zu erweitern.

b) Die chromatographisch-analytischen Empfindlichkeitsgrenzen für besonders geeignete Anionen zu bestimmen.

c) Beispiele von quantitativen Trennungen aufzufinden.

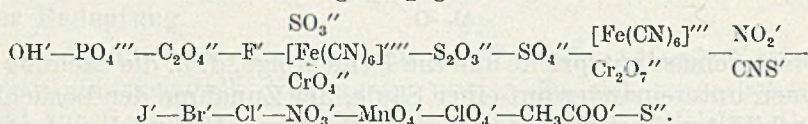
#### a) Die Anionenreihenfolge.

Eine mit Säure vorgewaschene Tonerdesäule („saure Säule“) lässt die Kationen, im Gegensatz zur „basischen Säule“, welche aus unvorbehandelter Tonerde besteht, durchlaufen und hält die Anionen nach *Schwab* und *Dattler*<sup>1)</sup> in der folgenden Reihenfolge fest:



(Zwischen übereinandergesetzten Anionen ist nur schwer oder gar nicht ein Zonenunterschied, bzw. Adsorptionsunterschied zu erkennen.)

Es gelang mir nun, jedes der folgenden Anionen:  $\text{C}_2\text{O}_4''$ ,  $\text{SO}_3''$ ,  $\text{CNS}'$ ,  $\text{NO}_2'$ ,  $\text{J}'$ ,  $\text{Br}'$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3''$  und  $\text{CH}_3\text{COO}'$  durch systematischen Vergleich mit je einem der von *Schwab* und *Dattler*<sup>1)</sup> untersuchten Anionen in die bereits bestehende Reihe einzugliedern, so dass nun folgende erweiterte Reihenfolge angegeben werden kann:



#### b) Empfindlichkeitsgrenzen einiger Anionen auf der „sauen“ Tonerdesäule.

Die Mikroanalyse auf chromatographischer Grundlage hat gegenüber andern Methoden, wie der Tüpfelplatte, folgende Vorteile:

Das zu analysierende Ion ist innerhalb der Erfassungsgrenze praktisch an keine Verdünnungsgrenze gebunden, da mit Hilfe der Säule beinahe beliebig akkumuliert werden kann, ohne dass man durch Verdampfen des Lösungsmittels die Konzentration des zu bestimmenden Ions erhöhen muss.

Es ist mit Hilfe der bekannten Tüpfelmethode nach *Feigl*<sup>2)</sup>, *Wenger* und *Duckert*<sup>3)</sup> und andern viel weniger leicht, quantitative Aussagen aus den Ergebnissen der Tüpfelreaktion zu machen als

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, Leipzig (1938).

<sup>3)</sup> Reactifs pour l'analyse qualitative minérale, Basel (1945).

bei der Fällungs- oder Austauschadsorption in einer Säule, wo durch den Hinzutritt der dritten Dimension (Zonenhöhe) zum Teil recht genaue Angaben über die Quantität der zu analysierenden Substanz gewonnen werden können.

Zu beachten ist: Der Aciditätsbereich des Entwicklers ist auf soda-alkalisch bis neutral bei der Kationen-, und auf 0,1-n. sauer bis neutral bei der Anionensäule beschränkt; infolge der ansonst eintretenden Elutionswirkung durch Umstimmung und Auflösung der Säule.

Nicht alle Farbreaktionen zwischen den zu bestimmenden Ionen und Entwicklern konnten zum Nachweis auf der Säule verwendet werden. Durch starke Eigenadsorption kann ein Reagens für den beabsichtigten Nachweis unbrauchbar werden.

In Tabelle I sind die Empfindlichkeitsgrenzen zusammengestellt, welche mit der weiter unten beschriebenen Arbeitsweise unter Verwendung von ca. 100 mg saurer Tonerde erhalten wurden.

Tabelle I.  
Empfindlichkeitsgrenzen einiger Anionen.

Anion	Entwickler	Farbe	Empfindlichkeit in $\gamma$	
			eigene Versuche	nach Feigl
MnO <sub>4</sub> '	—	graubraun	0,1	0,5 <sup>2)</sup>
Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ''	—	gelborange	1	—
	AgNO <sub>3</sub>	rot	0,5	0,5 <sup>2)</sup>
S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> '''	AgNO <sub>3</sub>	grau	0,12	0,025 <sup>3)</sup>
[Fe(CN) <sub>6</sub> ]'''	FeSO <sub>4</sub>	blau	0,3	—
[Fe(CN) <sub>6</sub> ]''''	FeCl <sub>3</sub>	blau	0,5	0,07
CNS'	FeCl <sub>3</sub>	rot	0,2	ca. 1 <sup>3)</sup>
Cl'	AgNO <sub>3</sub> -Belichtung	grauschwarz	0,25	1
	AgNO <sub>3</sub> -Metol-Hydrochinon-Entwickler <sup>1)</sup>	graubraun	0,05	—
	AgNO <sub>3</sub> -physikalische Entwicklung <sup>1)</sup>	grauschwarz	0,01	—
Br'	AgNO <sub>3</sub> -Belichtung	graubraun	0,2	—
	AgNO <sub>3</sub> , Metol-Hydrochinon-Entwickler <sup>1)</sup>	dunkelbraun	0,01	—
	AgNO <sub>3</sub> , physikalische Entwicklung <sup>1)</sup>	grau	0,005	—
J'	AgNO <sub>3</sub> , Metol-Hydrochinon-Entwickler <sup>1)</sup>	graubraun	0,04	0,5 <sup>2)</sup>
	AgNO <sub>3</sub> , physikalische Entwicklung <sup>1)</sup>	grau	0,01	—
PO <sub>4</sub> '''	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> , Benzidin NH <sub>3</sub> -gasförmig	blau	0,01	0,05

1) Siehe Exp. Teil.

2) Ähnliche Methode.

3) Andere Methode.

## c) Quantitative Trennungen.

Bei der Bestimmung des Alkalis in Sulfaten, Phosphaten, Chromaten, Hexacyanoferraten(II) und Hexacyanoferraten(III) handelt es sich zunächst darum, die genannten Anionen durch Chlorid oder Nitrat zu ersetzen, wenn die Perchlorat- oder Chloroplatinatmethode zur Anwendung kommen soll. Dies kann nun an einer Tonerdesäule durch Anionenaustausch ausgeführt werden. Hierzu filtriert man die zu analysierende Lösung durch eine mit verdünnter HCl oder HNO<sub>3</sub> vorbehandelte Tonerdesäule, wodurch die mehrwertigen Anionen quantitativ auf der Säule zurückgehalten und gegen das leicht bewegliche Anion der Säule umgetauscht werden. Man erspart sich dadurch die unter Umständen verlustreichen und zeitraubenden Abscheidungsoperationen der unerwünschten Begleit-anionen. *O. Samuelson*<sup>1)</sup> hat auf die Schwierigkeiten hingewiesen, welche bei der Bestimmung von Fe<sup>+++</sup>, Mg<sup>++</sup>, PO<sub>4</sub><sup>'''</sup> und SO<sub>4</sub><sup>''</sup> in einer Probe bestehen (Schwierigkeit in der Bestimmung von Mg<sup>++</sup> und SO<sub>4</sub><sup>''</sup>). Filtriert man nun eine solche Lösung durch eine mit HCl vorbehandelte Tonerdesäule, so erhält man den ganzen Kationenbestand in Form der Chloride ins Filtrat, ohne — bei sorgfältiger Leitung der Filtration — eine Spur Sulfat oder Phosphat im Eluat befürchten zu müssen. Um die auf der Säule verbliebenen Anionen wegzulösen, wäscht man mit verdünnter Lauge nach und hat nun den gesamten Anionenbestand der ursprünglichen Analysenlösung als Alkalisalze in diesem zweiten Filtrat. In dieser Weise lässt sich die von *Samuelson* erwähnte Schwierigkeit in eleganter Weise umgehen. Auf ähnliche Art sollte es möglich sein, an der sauren Tonerdesäule Cr<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> und Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> in Metallchlorid und Alkalisulfat aufzuspalten.

## Experimenteller Teil

Versuchsbedingungen für a) und b).

20 g basisches Aluminiumoxyd „Neuhausen“ wurden mit 100 cm<sup>3</sup> Perchlorsäure 1:1 gut durchgeschüttelt und ca. 2 Stunden stehen gelassen, dann abfiltriert und mit 50 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O ausgewaschen und 1 Stunde im elektrischen Ofen bei 120° C getrocknet. Die Versuche wurden in kleinen Glas- und Acetylcellulose-Röhrchen (Trinkhalmen) von ca. 70 mm Länge und 2–3 mm Durchmesser ausgeführt. In die Röhrchen, die in einer Gummipatte sitzen, welche über einem Saugrohr angebracht ist, werden ein Wattebäuschchen und ca. 100–200 mg der sauren Tonerde unter schwachem Saugen und Klopfen trocken eingefüllt. Man erhält so Säulchen von 30–60 mm Höhe, die mit ca. 0,1 bis 0,2 cm<sup>3</sup> dreifach destilliertem Wasser durchspült werden. Nun wird mit Hilfe einer kleinen Pipette, deren unteres Ende zu einer Siedekapillare ausgezogen ist, die Analysenlösung zugegeben. Die Lösungen, welche aus Mikrobüretten eingefüllt werden, können infolge des engen Lumens der Kapillare nicht selbständig ausfließen, sondern müssen aus der Pipette ausgeblasen werden, so dass sie den Wänden der Säule nach abfließen. Damit erreicht man eine luftblasenfreie ununterbrochene Zugabe der Lösungen auf die Säule, wobei man es in der Hand hat, durch schwaches oder starkes Saugen die Filtriergeschwindigkeit zu regulieren. Ist die zu analysierende Lösung bis auf 0,5 mm über dem

<sup>1)</sup> Z. anal. Ch. 116, 328 (1939).

Tabelle II.

Versuche zur Festlegung der Reihenfolge der Anionen<sup>1)</sup>.

(Das zuerst angeführte Anion eines Paares wird stärker adsorbiert, d. h. es steht höher in der Reihe.)

Anionenpaar	Entwickler	Reaktion
C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> '' Cl'	KMnO <sub>4</sub> (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) AgNO <sub>3</sub>	wird am oberen Rand der Säule sofort entfärbt in der Mitte der Säule entsteht nach der Be- lichtung eine schwarze Zone
C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> '' [Fe(CN) <sub>6</sub> ]''''	KMnO <sub>4</sub> (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) FeCl <sub>3</sub>	wird am oberen Rand der Säule sofort entfärbt stark blaue Zone in der Mitte der Säule
C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> F'	KMnO <sub>4</sub> (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) —	Beim Betupfen der aufgeschnittenen Säule entsteht oben eine farblose Zone, während darunter die violette Farbe des MnO <sub>4</sub> ' bestehen bleibt
PO <sup>'''</sup> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ''	AgNO <sub>3</sub> KMnO <sub>4</sub> (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	am oberen Rand entsteht gelbes Ag <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> am oberen und unteren Rand der Säule ent- stehen violette Zonen, in der Mitte sofortige Entfärbung
[Fe(CN) <sub>6</sub> ]'''' CNS'	FeCl <sub>3</sub>	Beim Betupfen der Säule mit dem Entwickler entsteht eine blaue, daran anschliessend eine rote Zone
[Fe(CN) <sub>6</sub> ]'''' CNS'		
[Fe(CN) <sub>6</sub> ]'''' CNS'	FeSO <sub>4</sub> FeCl <sub>3</sub>	am oberen Rand bildet sich eine stark blaue Zone aus unter der blauen Zone entwickelt sich eine rote Färbung
CNS' Cl'	FeCl <sub>3</sub> AgNO <sub>3</sub>	rote Zone oben nach der Belichtung schwarze Zone in der Mitte der Säule
[Fe(CN) <sub>6</sub> ]'''' NO <sub>2</sub> '	FeSO <sub>4</sub> m-Phenylendiamin (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	oben: blaue Zone anschliessend an die blaue entsteht eine gelbe Zone
NO <sub>2</sub> ' Cl'	m-Phenylendiamin (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) AgNO <sub>3</sub>	oben: gelbe Zone nach der Belichtung bildet sich anschliessend an die gelbe eine schwarze Zone aus
CNS' NO <sub>2</sub> '	FeCl <sub>3</sub> m-Phenylendiamin (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	oben: rote Zone auf die rote Zone überlagert entsteht eine gelbe Färbung Keine eindeutige Festlegung möglich, Adsorp- tion für beide Ionen ungefähr gleich stark

<sup>1)</sup> Mitbearbeitet von W. Kühn, cand. ing. chem.



Tabelle II (Fortsetzung)

Anionenpaar	Entwickler	Reaktion
J' Cl'	NaJO <sub>3</sub> (Stärke) AgNO <sub>3</sub>	oben: blaue Zone nach der Belichtung schwarze Färbung anschließend an die blaue Zone
CNS' J'	FeCl <sub>3</sub> NaJO <sub>3</sub> (Stärke)	oben: rote Zone in der Mitte der Säule blaue Zone
Br' Cl'	KMnO <sub>4</sub> (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) —	oben: farblose Zone, darunter violette Färbung
J' Br'	Pb(OOCCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> —	oben: gelbe Zone
SO <sub>3</sub> '' SO <sub>4</sub> ''	J <sub>2</sub> —	oben: Entfärbung der Jodlösung, darunter gelbbraune Färbung
F' SO <sub>3</sub> ''	— J <sub>2</sub>	oben und unten gelbbraune Zonen in der Mitte Entfärbung des J <sub>2</sub>
S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> '' Cl' }	J <sub>2</sub> —	oben: Entfärbung der Jodlösung unten: Die Farbe der Jodlösung bleibt bestehen
S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> '' Cl' }	AgNO <sub>3</sub>	oben entsteht ohne Belichtung eine braune, allmählich schwarz werdende Zone. Nach der Belichtung bildet sich in der Mitte eine graue Zone aus
S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> '' SO <sub>4</sub> ''	J <sub>2</sub> —	oben: Entfärbung der Jodlösung unten bleibt die gelbbraune Farbe bestehen
F' S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ''	— AgNO <sub>3</sub>	oben und unten farblose Zonen, in der Mitte braunschwarze Zone
SO <sub>3</sub> '' S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ''	— AgNO <sub>3</sub>	oben und unten farblose Zonen, in der Mitte braunschwarze Zone
CH <sub>3</sub> COO'	FeCl <sub>3</sub>	Beim Entwickeln mit FeCl <sub>3</sub> bleibt die Säule farblos, während im Filtrat eine rote Färbung entsteht. Das Acetat wird von der mit Perchlorsäure vorbehandelten Säure nicht zurückgehalten

oberen Säulenrand eingesickert, so wird mit 0,1–0,2 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O nachgewaschen, welches zuerst in kleinen Portionen in die Mikropipette eingemessen wird und diese zugleich von Resten der Analysenlösung ausspült. Darauf wird in gleicher Weise mit einem oder zwei passenden Reagenzien entwickelt.

In vielen Fällen ist es von Vorteil, an Stelle der Glasröhrchen solche aus durchsichtiger Acetylcellulose zu verwenden. Dies besonders in den Fällen, bei denen mehr als ein Anion entwickelt werden muss, oder in solchen, wo durch die Entwicklungsreagenzien eine Elution durch Übereinstimmung oder Auflösung der Säule auftreten kann. Diese Trinkröhrchen können mit einem scharfen Messer der Längsseite nach aufgeschnitten und durch Betupfen mit einem Pinsel mit Reagenzien entwickelt werden.

a) Eingliederung weiterer Anionen in die *Schwab-Dattler'sche* Reihe.

Bei allen Versuchen gelangten 0,5 cm<sup>3</sup> (0,25 cm<sup>3</sup> pro Anion) 10<sup>-3</sup>-n. Natrium- bzw. Kaliumsalzlösungen zur Anwendung. Die Ergebnisse, welche zur Neuaufstellung der Anionenreihe geführt haben, sind in Tabelle II zusammengestellt.

b) Empfindlichkeitsgrenzen einiger Anionen.

Diese Versuche wurden ebenfalls unter den oben angegebenen Bedingungen durchgeführt. Bei zahlreichen Beispielen konnte festgestellt werden, dass die Zonenhöhe ein quantitatives Mass für das adsorbierte Ion darstellt. Dies weist darauf hin, dass die Säule in allen Teilen mit einer bemerkenswerten konstanten Kapazität arbeitet. Als Beispiel für die Proportionalität der Zonenhöhen mit den angewandten Substanzmengen seien einige Zahlen für eine Thiosulfatlösung aufgeführt, von der abnehmende Mengen durch einen Tondefilter von konstanter Form mit 100 mg Beschickung filtriert wurden.



Entwickler: AgNO<sub>3</sub>

Verw. Lsg. in cm <sup>3</sup>	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> in γ	Farbreaktion	Zonenhöhe mm
1	2,8	graubraun	3
0,5	1,4	graubraun	1,5
0,25	0,7	graubraun	1
0,04	0,12	grau	diffuse gerade noch erkennbare Färbung über eine Zonenhöhe von ca. 0,5 mm-Grenze

(Gute Proportionalität wurde auch von MnO<sub>4</sub><sup>'</sup>, Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>''</sup>, [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>'''</sup>, Cl<sup>'</sup>, Br<sup>'</sup>, J<sup>'</sup> gezeigt<sup>1)</sup>.)

Die Versuche mit den Halogenionen wurden nach dem Durchsaugen von AgNO<sub>3</sub>-Lösung und nach dem Auswaschen des Überschusses mit H<sub>2</sub>O auf folgende drei Arten entwickelt:

1. Belichtung.
2. Belichtung und Entwicklung mit einem gebräuchlichen photographischen Metol-Hydrochinon-Entwickler ohne KBr-Zusatz während 3 Minuten.
3. Belichtung und Behandlung mit einem physikalischen Entwickler<sup>2)</sup> während höchstens 2 Minuten.

Bei J<sup>'</sup> ergab die Behandlung mit AgNO<sub>3</sub> und anschliessender Belichtung allein keine deutliche Färbung. Erst bei Entwicklung mit Metol-Hydrochinon bildete sich eine schwarze Zone aus.

<sup>1)</sup> Weitere Angaben sind in der Arbeit von *H. Kubli*, l. c., angeführt.

<sup>2)</sup> *E. v. Angerer*, Wissenschaftliche Photographie, Leipzig (1931), S. 19.

Der physikalische Entwickler ist eine Lösung von Metol und Citronensäure in Wasser, der unmittelbar vor Gebrauch wenig Silbernitrat zugefügt wird. Er hat die Eigenschaft, an Stellen, die belichtetes Silberhalogenid bzw. Silberkeime enthalten, Silber anzulagern. Dadurch können selbst kleinste Spuren von belichtetem Silberhalogenid, die mit gewöhnlichen Entwicklern keine deutliche Reaktion ergeben, durch Verstärkung der Silberfällung nachgewiesen werden.

Die Anwendung des physikalischen Entwicklers hat allerdings mit einiger Vorsicht zu erfolgen, da der fertig präparierte Entwickler nach einiger Zeit auch ohne Gegenwart von belichtetem Silberhalogenid kolloidales Silber ausscheidet. Deshalb wird das  $\text{AgNO}_3$  erst unmittelbar vor Gebrauch zugefügt und der fertige Entwickler nur 2 Minuten auf der Säule gelassen.

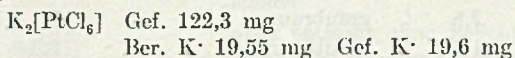
Herstellung des Entwicklers: 1 g Metol und 5 g Citronensäure werden in 50 cm Wasser gelöst. Auf 1 cm<sup>3</sup> dieser Lösung wird unmittelbar vor Gebrauch des Entwicklers 1 Tropfen 2-n.  $\text{AgNO}_3$ -Lösung zugefügt.

### c) Quantitative Trennungen.

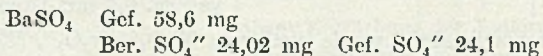
In den folgenden Versuchen wurde jedesmal ca. 4 g mit HCl beladene Tonerde verwendet, welche in ein mit  $\text{H}_2\text{O}$  gefülltes Rohr von 9 mm lichter Weite eingerieselt wurde. Dabei ergab sich eine homogene, luftblasenfreie Säule von 75—80 mm Höhe. Das HCl-saure Aluminiumoxyd wurde wie folgt hergestellt: 40 g der Tonerde „Neuhausen“ wurden auf einer Glasfilternutsche mit 100 cm<sup>3</sup> 0,5-n. HCl unter schwachem Saugen langsam durchspült und darauf von der oberflächlich anhaftenden Säure durch Waschen mit 100 cm<sup>3</sup> dest.  $\text{H}_2\text{O}$  befreit. Nach dem Trockensaugen gelangte das Produkt während 4 Stunden im elektrischen Wärmeschrank bei 120° C zur Trocknung.

#### K-Bestimmung in Kalium sulfuricum „Kahlbaum“ p. a.

5 cm<sup>3</sup> einer 0,1-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Lösung wurden auf die Säule gegeben und vor dem vollständigen Einsickern mit 15 cm<sup>3</sup>  $\text{H}_2\text{O}$  nachgespült. Die Durchflusgeschwindigkeit war 30 Tropfen pro Minute. Im Filtrat wurde K nach der bekannten Methode als Kaliumhexachloroplatinat gravimetrisch bestimmt.

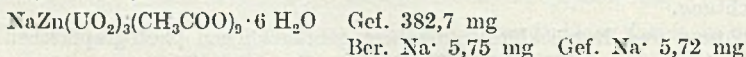


Das Filtrat gab keine Reaktion auf  $\text{SO}_4''$ . Nun wurde mit 20 cm<sup>3</sup> 0,05-n. NaOH die Säule ungestimmt und die Sulfationen abgelöst, ins Filtrat gewaschen und nach dem Ansäuern mit verdünnter  $\text{HNO}_3$  gravimetrisch als  $\text{BaSO}_4$  bestimmt.



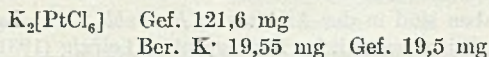
#### Na-Bestimmung in $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ purissimum.

5 cm<sup>3</sup> einer 0,025-n. Lösung wurden durch die saure Säule filtriert, mit 10 cm<sup>3</sup> Wasser nachgespült und im eingedampften Filtrat in üblicher Weise das Natrium mit Zink-Uranylacetat gefällt und der getrocknete Niederschlag gewogen.



#### K-Bestimmung in $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ „Merck“ p. a.

10 cm<sup>3</sup> einer jodometrisch überprüften 0,05-n. Kaliumdichromatlösung wurden durch eine saure Säule filtriert und mit 15 cm<sup>3</sup>  $\text{H}_2\text{O}$  nachgewaschen. Dabei blieb das  $\text{Cr}_2\text{O}_7$ -Ion als gelboranger 9—10 mm breiter Ring in der Säule, während aus dem Filtrat das Kalium mit Hexachloroplatinsäure gefällt werden konnte.



Analyse einer Lösung von Fe(III), Mg<sup>++</sup>, PO<sub>4</sub><sup>'''</sup>, SO<sub>4</sub><sup>''</sup>.

Aus drei einzeln eingestellten Lösungen von Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub> und Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> wurden 100 cm<sup>3</sup> einer Lösung mit folgendem Gehalt hergestellt:

Fe<sup>+++</sup> 111,7 mg; Mg<sup>++</sup> 100,0 mg; PO<sub>4</sub><sup>'''</sup> 51,8 mg; SO<sub>4</sub><sup>''</sup> 683,9 mg.

10 cm<sup>3</sup> dieser Lösung wurden durch eine Säule von 10 g vorbehandeltem Aluminiumoxyd mit einem Chloriongehalt von 524 mg filtriert und mit ca. 15 cm<sup>3</sup> 0,5-n. HCl nachgewaschen, wonach die Fe(III)-Reaktion mit [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>'''</sup> negativ war.

Fe: Das Filtrat wurde mit 5 g NH<sub>4</sub>Cl versetzt und mit konz. NH<sub>3</sub> das Eisenion tropfenweise gefällt, abfiltriert, umgefällt und dann nach dem Lösen in verdünnter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Reduktion mit Cd mit 0,05-n. KMnO<sub>4</sub>, titriert.

KMnO<sub>4</sub> Gef. 3,98 cm<sup>3</sup>  
Ber. Fe<sup>++</sup> 11,17 mg Gef. Fe<sup>++</sup> 11,1 mg

Mg: Aus dem Filtrat wurde das Mg als Oxycchinolat abgeschieden.

Mg-Oxin · 2 H<sub>2</sub>O Gef. 144,8 mg  
Ber. Mg<sup>++</sup> 10,00 mg Gef. Mg<sup>++</sup> 10,1 mg

Nun wurde die Säule mit 50 cm<sup>3</sup> NH<sub>3</sub> 1:1 umgestimmt und die Anionen SO<sub>4</sub><sup>''</sup> und PO<sub>4</sub><sup>'''</sup> in einen 100 cm<sup>3</sup> Masskolben eluiert.

PO<sub>4</sub><sup>'''</sup>: 40 cm<sup>3</sup> der Anionenlösung wurden eingedampft und zur Vertreibung der Chloride mehrmals mit HNO<sub>3</sub> abgeraucht und dann in bekannter Weise mit Ammoniummolybdat gefällt.

(NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> · 12 MoO<sub>3</sub> Gef. 39,6 mg  
Ber. PO<sub>4</sub><sup>'''</sup> 2,07 mg Gef. PO<sub>4</sub><sup>'''</sup> 2,0 mg

SO<sub>4</sub><sup>''</sup>: 40 cm<sup>3</sup> wurden mit Salzsäure stark angesäuert und siedend mit BaCl<sub>2</sub> versetzt.

BaSO<sub>4</sub> Gef. 66,6 mg  
Ber. SO<sub>4</sub><sup>''</sup> 27,35 mg Gef. SO<sub>4</sub><sup>''</sup> 27,4 mg

## Zusammenfassung.

1. Auf mit Perchlorsäure vorbehandelter Tonerde wurde die Reihenfolge der Adsorption von anorganischen Anionen ermittelt und dabei die von *Schwab* und *Dattler* aufgestellte Reihe erweitert.

2. Für eine Reihe von stark adsorbierbaren Anionen wurden die Empfindlichkeiten der Nachweisgrenzen an einer perchlorsauren Toneresäule von ca. 100 mg bestimmt.

3. Es wurde eine Reihe von quantitativen Austauschversuchen mehrwertiger Anionen gegen Chloridionen ausgeführt und anschliessend durch alkalische Eluierung die mehrwertigen Anionen gesammelt und quantitativ bestimmt.

Herrn Prof. Dr. W. D. Treadwell möchte ich auch an dieser Stelle für seine wertvollen Ratschläge meinen besten Dank aussprechen.

Zürich, den 24. Dezember 1946.

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

## 57. Relaxationszeitspektrum, Elastizität und Viskosität von Kautschuk II

von W. Kuhn, O. Künzle und A. Preissmann.

(I. I. 47.)

In Teil I der vorliegenden Arbeit<sup>1)</sup> wurde das Auftreten eines ausgedehnten Relaxationszeitspektrums bei Stoffen, wie Kautschuk, welche hochmolekulare Fadenmolekeln enthalten, begründet. Es wurden die Beziehungen angegeben, welche das mechanische und viskoelastische Verhalten einer Substanz beschreiben, wenn das Relaxationszeitspektrum gegeben ist; schliesslich wurde auf Grund der an Kautschuk und ähnlichen Stoffen beobachteten Fließkurve (Abhängigkeit der Längenänderung eines Versuchskörpers von der Zeit bei konstanter Belastung) ein quantitativer Ausdruck für die Dichteverteilung der Teilelastizitätsmoduln auf die Teile des Relaxationszeitspektrum angegeben (Gleichung 50 und Fig. 1).

Im vorliegenden zweiten Teil der Arbeit soll die gefundene Dichteverteilung der Teilelastizitätsmoduln diskutiert werden, und es sollen die Schlüsse gezogen werden, welche sich daraus für das elastische und viskose Verhalten ergeben. Dabei werden namentlich bei der Diskussion des viskosen Verhaltens neue Tatsachen zutage treten. Ausserdem soll versucht werden, die gefundenen Aussagen über das Relaxationszeitspektrum modellmässig zu interpretieren.

Die Numerierung von Abschnitten und Formeln schliesst sich an die in Teil I gegebene an.

### 3. Beschreibung des elastisch-viskosen Verhaltens auf Grund des Relaxationszeitspektrums.

Sobald das Relaxationszeitspektrum gemäss Gleichung (50) bekannt ist, können wir das elastische und viskose Verhalten völlig überblicken. Genau werden aber nur diejenigen Aussagen sein, welche sich auf den Verlauf des Relaxationszeitspektrums im Bereich (33a), also im Bereich  $10^{-2} < \tau < 10^4$  sek. stützen.

#### a) Spannungsrelaxation nach rasch erfolgter Dehnung.

Für den zeitlichen Verlauf des Elastizitätsmoduls  $E(t)$  (Gleichung 3), welcher experimentell bestimmt werden kann durch Messung der Rückstellkraft im Zeitpunkte  $t$  nach rasch vorgenommener Dehnung, erhalten wir durch Einsetzen von (50) in (3) die Beziehung (49).

<sup>1)</sup> Helv. 30, 307 (1947).

Der daraus folgende genaue Verlauf der Funktion  $E(t)$  kann dadurch erhalten werden, dass das Integral (49) für verschiedene vorgegebene Werte von  $t$  graphisch ausgewertet wird.

Wir haben andererseits gesehen, dass die Auswertung nur für den Bereich (33a), also für verhältnismässig grosse Werte von  $t$  praktisches Interesse haben kann. Für diesen Fall können wir uns mit einer Näherungslösung begnügen. Wir erhalten eine solche Näherung, indem wir anstelle des in (49) vorkommenden Faktors  $e^{-t/\tau}$  setzen:

$$f(t, \tau) = \begin{cases} 0 & \text{für } \frac{t}{\tau} > 1 \text{ bzw. für } t > \tau \\ 1 & \text{für } \frac{t}{\tau} < 1 \text{ bzw. für } t < \tau \end{cases} \quad (56)$$

Da sich der Nenner von (49) in dem Bereich, in dem der Wert von  $e^{-t/\tau}$  von 0 auf 1 übergeht, nicht stark ändert und da der Beitrag dieses Bereiches zugleich klein ist gegenüber dem absoluten Betrag des gesamten Integrals, fällt der durch Einführung der Näherung (56) begangene Fehler nicht stark ins Gewicht. Die Integration von (49) lässt sich nunmehr leicht durchführen. Falls die Zeit  $t$ , für welche wir den Wert  $E$  gemäss (49) bestimmen wollen, grösser als  $1/c$  ist, gilt  $1/t < c$ ; das Integral (49) wird in diesem Falle, unter Berücksichtigung von (56):

$$\begin{aligned} E(t) &= \int_{\frac{1}{c}}^{\infty} \frac{b \cdot e^{-t/\tau} d\tau}{\tau \{[\ln(c\tau - 1)]^2 + \pi^2\}} \cong b \int_t^{\infty} \frac{1 \cdot d\tau}{\tau \{[\ln(c\tau - 1)]^2 + \pi^2\}} = b \int_{\ln t}^{\infty} \frac{d \ln \tau}{[\ln(c\tau - 1)]^2 + \pi^2} \\ &\cong b \int_{\ln t}^{\infty} \frac{d \ln \tau}{(\ln c + \ln \tau)^2} = \frac{b}{\ln c + \ln t} \quad (\text{Näherung}) \quad (57) \end{aligned}$$

Setzen wir noch auf Grund von (35a) und (35b)  $\ln c \cong a$ , so geht dies über in

$$E(t) = \frac{b}{a + \ln t} \quad \text{oder} \quad \frac{1}{E(t)} = \frac{a + \ln t}{b} \quad (\text{Näherung}) \quad (58)$$

b) Vergleich der aus der Spannungsrelaxation einerseits, aus der Fliesskurve andererseits bestimmten Elastizitätsmoduln  $E$  bzw.  $E'$ .

Die rechte Seite von Beziehung (58) stimmt nun genau überein mit der rechten Seite der von *Brenschede* gefundenen empirischen Beziehung (33), auf Grund derer wir das Relaxationszeitspektrum berechnet haben. Dabei ist aber die linke Seite von (58), d. h.  $E(t)$ , inhaltlich verschieden von der linken Seite von (33), d. h. von  $E'(t)$ . Der Vergleich von (58) und (33) besagt also, dass die beiden bisher auseinandergehaltenen Grössen  $E(t)$  gemäss Gleichung (2) und  $E'(t)$  gemäss Gleichung (32) innerhalb der jetzt betrachteten Näherung miteinander übereinstimmen. Mit andern Worten heisst das: Der zeit-

liche Verlauf des reziproken Wertes der Spannung  $\sigma$ , welche anschliessend an eine rasch erzeugte und anschliessend konstant gehaltene Deformation beobachtet wird, stimmt überein mit dem zeitlichen Verlauf der relativen Längenänderung, welche unter Wirkung einer plötzlich einsetzenden und anschliessend konstant gehaltenen Spannung beobachtet wird; oder noch einfacher: Die Elastizitätsmoduln, welche aus der Spannungsrelaxation einerseits (Gleichung 3), aus der Fliesskurve andererseits (Gleichung 32) berechnet werden, stimmen einschliesslich des zeitlichen Verlaufs näherungsweise überein.

Der Grad der Übereinstimmung ist in Wirklichkeit sehr weitgehend. Er wird durch Fig. 3 veranschaulicht. Als Kurve 1 (ausgezogen) ist  $E'$  für den Fall des Kautschuks gemäss Gleichung (33) mit den aus Tab. 1 (4. Zeile) ersichtlichen Werten von  $a$  und  $b$  aufgetragen. Als Kurve 2 (gestrichelt) ist der auf Grund der genauen Beziehung (49) berechnete Wert  $E(t)$  angegeben. Die beiden Kurven lassen sich in dem Bereiche  $10^{-2}$  sek  $< t < 10^4$  sek, also in dem Bereich, in dem sie Anspruch auf die Wiedergabe der tatsächlichen Verhältnisse erheben können, nicht unterscheiden. Ein merklicher Unterschied zwischen beiden Kurven tritt erst weit ausserhalb des genannten praktisch interessierenden Bereiches (33a), etwa unterhalb  $t = 10^{-24}$  sek auf.

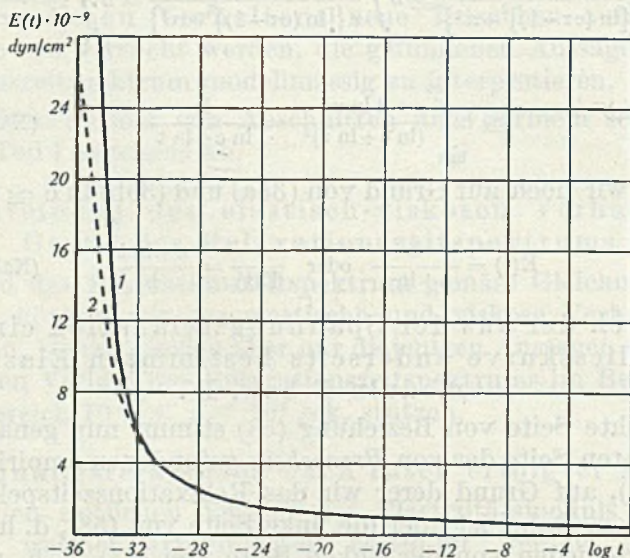


Fig. 3.

Abhängigkeit des Elastizitätsmoduls von der Zeit für vulkanisierten, gefüllten Kautschuk (zweitletzte Zeile von Tab. 1).

Ausgezogene Kurve: Näherung gemäss Gleichung (33).

Gestrichelte Kurve: Genaue Lösung gemäss Gleichung (49).

c) Der E-Modul im Zeitpunkt  $t$  als Funktion sämtlicher Teile des Relaxationszeitspektrums; Einfluss von Unrichtigkeiten in der Wiedergabe des Relaxationszeitspektrums auf die im Zeitpunkt  $t$  berechneten Werte von  $E$ .

Nach (49) ist der E-Modul im Zeitpunkt  $t$  eine Summe, zu der sämtliche Teile des Relaxationszeitspektrums beitragen. Nach dem eben Gesagten dürfen wir dabei erwarten, dass das Relaxationszeitspektrum [Abhängigkeit des Integranden in (49) von  $\tau$ ] für  $\tau$ -Werte, welche dem Gebiete (33a) entsprechen, gut stimmt, weniger gut aber für  $\tau$ -Werte, welche ausserhalb (33a) liegen. Die durch (49) gegebene Funktion  $E(t)$  enthält also teilweise Beiträge, über deren Richtigkeit wir Vorbehalte machen müssen. Es ist daher die Frage berechtigt, wie die mögliche Unrichtigkeit des Integranden von (49) für  $\tau$ -Werte, welche ausserhalb des Gebietes (33a) liegen, den Funktionswert  $E(t)$  für Werte von  $t$ , welche innerhalb (33a) liegen, praktisch beeinflussen wird.

Wir sehen sofort, dass sich eine im Gebiet  $\tau < t$  bzw.  $\tau < 10^{-2}$  sek liegende Unrichtigkeit der Dichtefunktion auf die  $E(t)$ -Werte des Bereiches (33a) nur schwach auswirkt. Die aus dem Gebiete  $\tau < t$  stammenden Beiträge werden ja gemäss (3) und (49) mit  $e^{-t/\tau}$  multipliziert, also mit einer Grösse, welche mit  $t > \tau$  rasch klein wird. Die Beiträge zum Integral (49), welche aus dem Gebiete  $\tau < t$  stammen, sind also unter allen Umständen klein. Bei der Herleitung der Beziehung (58) haben wir sie sogar gleich Null gesetzt.

Die Beiträge zum Integral (49), die aus Gebieten stammen, in denen  $\tau$  grösser ist als die in (33a) angegebene Grenze, also grösser als  $10^4$  sek, können sich dagegen erheblich auswirken. Die Änderung im Wert des Integrals (49), die sich ergibt, falls  $dE_0/d\tau$  im Gebiete  $\tau > 10^4$  sek in Wirklichkeit durch eine andere Funktion als Gleichung (50) gegeben sein sollte, ist dabei im ganzen Gebiet (33a) praktisch genommen die gleiche: d. h. falls  $E'(t)$  ausserhalb des Gebietes (33a) nicht mehr durch (33) dargestellt wird, ist die aus (50) zu berechnende Grösse  $E(t)$  im Gebiet (33a) bis auf eine additive Konstante korrekt.

d) Elastizitätsmodul bei periodischer Beanspruchung.

Der Elastizitätsmodul  $E(t)$ , bestimmt aus der im Zeitpunkte  $t$  nach rascher Erzeugung der Deformation vorhandenen Rückstellkraft, war durch (49) bzw. näherungsweise durch (58) gegeben. Er ist also eine Funktion der Zeit  $t$ . Wie wir in Abschnitt 1f sahen, können wir einer Substanz, deren Relaxationszeitspektrum bekannt ist, einen bestimmten, von der Versuchsdauer unabhängigen Elastizitätsmodul zuordnen, falls wir den Versuchskörper periodisch





beanspruchen. (Gleichung 23.) Der Elastizitätsmodul hängt dann grundsätzlich von der Kreisfrequenz  $\omega$ , welche bei der periodischen Beanspruchung angewendet wird, ab (Gleichung 28). Wenn das Relaxationszeitspektrum durch (50) gegeben ist, erhalten wir für den bei der periodischen Beanspruchung auftretenden Elastizitätsmodul durch Einsetzen in (28):

$$E(\omega) = \frac{b}{\ln c - \ln \omega} \quad \text{für } (\ln c - \ln \omega) \gg 1 \quad (59)$$

Wenn die Schwingungsdauer ( $T_s = 2\pi/\omega$ ) bei der betrachteten periodischen Beanspruchung dem Bereich (33a) (Bereich zwischen  $10^{-2}$  und  $10^4$  sek) angehört, ist für die meisten der in Tab. 1 zusammengestellten Gummisorten  $|\ln c| \gg \ln \omega$ . (59) geht in diesem Falle über in

$$E(\omega) \cong \frac{b}{a} \quad \text{für } |\ln c| \gg |\ln \omega| \quad (59a)$$

Es heisst dies, dass der dynamische Elastizitätsmodul im Bereiche (33a) von der Frequenz  $\omega$  praktisch genommen nicht abhängt. Das bedeutet weiter, dass die Intensität der Verteilungsfunktion in jenem Gebiete so klein ist, dass der Beitrag der Zusammenhaltsmechanismen, deren Relaxationszeit ins Gebiet (33a) fällt, für das elastische Verhalten (Elastizitätsmodul) keine wesentliche Rolle spielt.

Wir werden sogleich sehen, dass die Verhältnisse bei der Viskosität in dieser Hinsicht anders liegen.

#### e) Viskosität.

Wir haben in Abschnitt 1 gesehen, dass es nicht möglich ist, einer Substanz, deren Relaxationszeitspektrum sich bis  $\tau = \infty$  erstreckt, eine Viskosität im gewöhnlichen Sinne zuzuordnen. Wir zeigten aber anschliessend, dass die Definition einer Viskosität auch in diesem Falle dann möglich wird, wenn wir die Substanz einer periodischen Beanspruchung aussetzen. Die Viskosität hängt dann von der Frequenz  $\omega$  der periodischen Beanspruchung ab. (Gleichung 22.)

Indem wir  $dE_0/d\tau$  aus (50) und (50a) in (22) einsetzen, erhalten wir

$$\eta = \frac{1}{2(1+\mu)} \int_{\frac{1}{c}}^{\infty} \frac{b}{\tau} \frac{1}{[\ln(c\tau-1)]^2 + \pi^2} \cdot \frac{\tau \cdot d\tau}{\omega^2 \tau^2 + 1} \quad (60)$$

Besonders übersichtlich und einfach wird der Ausdruck für  $\eta$ , wenn wir anstatt des genauen Ausdruckes (50) die Näherung (55) in (22) einsetzen. Wir erhalten dann

$$\eta = \frac{1}{2(1+\mu)} \int_0^{\infty} \frac{b}{a^2} \frac{d\tau}{\omega^2 \tau^2 + 1} = \frac{1}{2(1+\mu)} \cdot \frac{b}{a^2} \int_0^{\infty} \frac{1}{\omega} \cdot \frac{dz}{z^2 + 1}$$

$$= \frac{1}{2(1+\mu)} \cdot \frac{b}{a^2} \cdot \frac{1}{\omega} \left[ \text{arc tg } z \right]_0^{\infty} = \frac{1}{2(1+\mu)} \cdot \frac{b}{a^2} \cdot \frac{\pi}{2\omega} \quad (61)$$

Bei dieser Auswertung wurde vorübergehend  $z = \omega \tau$  gesetzt.

Ist also

$$\frac{2\pi}{\omega} = T_s \quad (62)$$

die Schwingungsdauer in Sekunden, so ist

$$\eta = \frac{1}{2(1+\mu)} \cdot \frac{b}{a^2} \cdot \frac{T_s}{4} \quad (63)$$

Die Viskosität ist also, wenn die Substanz einer periodischen Beanspruchung ausgesetzt ist, direkt proportional der Schwingungsdauer  $T_s$  der die Substanz beanspruchenden Schwingung. Diese Beziehung gilt für alle Substanzen, deren Fließkurve durch Gleichung (33) gegeben ist.

Setzen wir die Zahlenwerte für  $b$  und  $a$  aus der 4. Zeile von Tabelle 1 ein, setzen die *Poisson'sche* Zahl  $\mu = 0,5$  und  $T_s = 10$  sek, so wird

$$\eta = \frac{4,0 \cdot 10^9}{80^2 \cdot 3} \cdot \frac{10}{4} = 5,2 \times 10^5 \text{ Poisen } (T_s = 10 \text{ sek}) \quad (63a)$$

als Viskosität des von *Brenschede* untersuchten, gefüllten Kautschuks. Für den von uns untersuchten reinen Kautschuk (Tab. 1 letzte Zeile) wird analog:

$$\eta = 3,7 \times 10^5 \text{ Poisen } (T_s = 10 \text{ sek}) \quad (63b)$$

und für die Bunasorten (Tab. 1)

$$\eta = (3-5) \times 10^6 \text{ Poisen } (T_s = 10 \text{ sek}) \quad (63c)$$

Von *Van der Wyk*<sup>1)</sup> war durch Messung der im Kautschuk hervorgerufenen Dämpfung einer mechanischen Schwingung nicht genauer angegebener Frequenz eine Viskosität von einigen Millionen Poisen gefunden worden. Es steht dies mit dem soeben gefundenen Ergebnis in Übereinstimmung.

Die Beziehung (63) zeigt indessen, dass die Angabe einer irgendwie genauen Viskosität für Kautschuk ganz sinnlos ist, solange die Schwingungsdauer  $T_s$ , welche bei der Messung angewendet wird, nicht gleichzeitig mit angegeben wird. Nach (63) muss die Viskosität, welche ein und dasselbe Präparat zeigt, um so grösser sein, je grösser

<sup>1)</sup> *A. J. A. Van der Wyk*, Proc. Rubber Technol. Conf. 1938, p. 985. Aus den von *Van der Wyk* angegebenen Apparatedimensionen lässt sich eine Schwingungsdauer von etwa 100–200 sek abschätzen. Setzt man diesen Wert in (63) ein, so erhält man für Kautschuk anstelle von (63a) und (63b) eine Viskosität von etwa  $(4-10) \times 10^6$  Poisen.

die Schwingungsdauer  $T_s$  ist, also um so grösser, je langsamer die Schwingung ist. Je höher frequent die Schwingung ist, desto kleiner wird der vom Kautschuk der Deformation entgegengesetzte viskose Widerstand (wobei gleichzeitig der Elastizitätsmodul mit wachsender Schwingungsfrequenz etwas zunimmt, Gleichung (59)).

Wäre die Viskosität von der Frequenz nicht abhängig, so wäre die bei einer periodischen Scherungsdeformation (15) pro  $\text{cm}^3$  pro Sekunde in Wärme verwandelte mechanische Energie durch (20) gegeben, also proportional  $\omega^2$ . Wie wir soeben sahen, müssen wir aber für Kautschuk und kautschukähnliche Substanzen anstatt eines frequenzunabhängigen Wertes den gemäss (61) von  $\omega$  abhängigen  $\eta$ -Wert in (20) einsetzen. Tun wir dies, so erhalten wir als Wärmeentwicklung pro  $\text{cm}^3$  und pro Sekunde

$$\frac{dA}{dt} = \frac{\omega \pi}{2(1+\mu) \cdot 4} \cdot \frac{b}{a^2} \cdot \gamma_0^2 \quad (64)$$

Diese Wärmeentwicklung nimmt also nicht mehr proportional  $\omega^2$ , sondern nur noch proportional  $\omega$  zu.

Es nimmt die Viskosität mit steigender Kreisfrequenz  $\omega$  ab (Gleichung 61), die pro Zeiteinheit entwickelte Wärmemenge aber zu, jedoch nur noch proportional  $\omega$  gemäss (64), nicht mehr quadratisch, wie man nach (20) erwarten sollte.

Da die *Poisson'sche* Zahl  $\mu$  für Kautschuk recht genau gleich 0,5 ist, erhalten wir, indem wir dies in (64) einsetzen:

$$\frac{dA}{dt} = \frac{\pi}{24} \cdot \frac{b}{a^2} \cdot \gamma_0^2 \omega \quad (64a)$$

als Wärmeentwicklung pro  $\text{cm}^3$  in einem Kautschukstück, welches mit der Kreisfrequenz  $\omega$  ( $\omega/2\pi$  Schwingungen pro Sekunde) und mit einer Amplitude  $\gamma_0$  auf Scherung beansprucht wird.

Wird der Versuchskörper anstatt auf Scherung periodisch auf Dehnung oder Kompression beansprucht, indem die relative Längenänderung  $\Delta l/l = \alpha_0 \sin \omega t$  gesetzt wird, so wird entsprechend die Wärmeentwicklung pro  $\text{cm}^3$  in einem Kautschukstück, welches mit der Kreisfrequenz  $\omega$  und mit der Amplitude  $\alpha_0$  auf Dehnung oder Kompression beansprucht wird

$$\frac{dA}{dt} = \frac{\pi}{8} \cdot \frac{b}{a^2} \cdot \alpha_0^2 \omega \quad (64b)$$

Die Beziehungen (64a und b) dürften sowohl von theoretischem als insbesondere auch von praktischem Interesse sein; sie geben ja die pro  $\text{cm}^3$  im Versuchskörper in Wärme verwandelte Energie in Funktion der Frequenz und der Amplitude der erzwungenen Deformation an. Dabei kann der in

(64a) und (64b) vorkommende Proportionalitätsfaktor  $b/a^2$  in einfachster Weise dadurch gefunden werden, dass  $b$  und  $a$  aus der Fließskurve des Versuchskörpers bestimmt werden, also aus der Zeitabhängigkeit der beobachteten Deformation bei konstanter Belastung gemäss Gleichung (33); Tab.1.

Über eine Bestätigung der Beziehung (63) durch hiezu angestellte Versuche werden wir in einer späteren Arbeit berichten.

Für genauere Versuche und insbesondere beim Übergang zu Versuchen mit hohen Kreisfrequenzen  $\omega$  wird die Näherung (61) bzw. (63) nicht mehr ausreichen. Wir gehen daher auf die Beziehung (60) zurück, um dieselbe genauer, als dies in (61)ff. geschehen ist, auszuwerten. Wir bemerken sofort, dass die Ersetzung des Ausdrucks  $[\ln(c\tau - 1)]^2 + \pi^2$  durch  $a^2$ , welche (60) in (61) überführte, im allgemeinen den Nenner von (60) unter den tatsächlichen Wert erniedrigt, dass also die Viskosität  $\eta$  gemäss (61) etwas zu gross ausfällt.

Um eine etwas bessere Näherung zu finden, substituieren wir in (60):

$$\ln \omega \tau = x; \quad \tau = \frac{e^x}{\omega} \tag{65}$$

Es wird dann

$$\eta = \frac{b}{2(1+\mu)} \int_{\ln \frac{\omega}{c}}^{\infty} \frac{e^x}{\omega} \cdot \frac{1}{\left[ \ln \left( c \frac{e^x}{\omega} - 1 \right) \right]^2 + \pi^2} \cdot \frac{dx}{e^{2x} + 1} \tag{66}$$

Da wir  $c/\omega \gg 1$  vorausgesetzt haben, wird hieraus

$$\eta = \frac{b}{2(1+\mu)} \frac{1}{\omega} \int_{\ln \frac{\omega}{c}}^{\infty} \frac{1}{\left( \ln \frac{c}{\omega} + x \right)^2 + \pi^2} \cdot \frac{dx}{2 \mathfrak{C}of x} \tag{66a}$$

Wegen  $\omega \ll c$  ist die untere Grenze  $\ln \omega/c \ll 0$ . Dabei nimmt der Faktor  $1/\mathfrak{C}of x$  sowohl für  $x > 0$  als auch für  $x < 0$  ungefähr wie  $e^{-x}$  ab. In dem Bereich, in welchem  $1/\mathfrak{C}of x$  nicht sehr klein ist, d. h. etwa in dem Bereich  $-2 < x < +2$  wird sich daher der Ausdruck  $(\ln c - \ln \omega + x)^2 + \pi^2$  in (66a) nur wenig ändern, so dass wir ihn annähernd konstant gleich dem Werte, den er für  $x = 0$  annimmt, setzen können. Es wird dann

$$\eta = \frac{b}{2(1+\mu)} \frac{1}{\omega} \frac{1}{(\ln c - \ln \omega)^2 + \pi^2} \int_{\ln \frac{\omega}{c}}^{\infty} \frac{dx}{2 \mathfrak{C}of x} = \frac{b}{2(1+\mu)} \frac{1}{\omega} \frac{1}{(\ln c - \ln \omega)^2 + \pi^2} \left[ \operatorname{arc} \operatorname{tg} e^x \right]_{\ln \frac{\omega}{c}}^{\infty} \tag{66b}$$

Wegen  $\omega \ll c$  können wir für die untere Grenze des rechtsstehenden Integrals Null setzen. Wir erhalten dann

$$\eta = \frac{b}{2(1+\mu)} \cdot \frac{\pi}{2\omega} \cdot \frac{1}{(\ln c - \ln \omega)^2 + \pi^2} \tag{66c}$$

Der letzte der in (66c) rechts angeschriebenen Faktoren ist, wie ein Vergleich mit (54) zeigt, gleich

$$h \left( \frac{1}{\omega} \right) = \frac{1}{(\ln c - \ln \omega)^2 + \pi^2} = h \left( \frac{T_s}{2\pi} \right) \tag{67}$$

so dass wir anstatt (66c) auch schreiben können

$$\eta = \frac{b}{2(1+\mu)} \frac{T_s}{4} h\left(\frac{T_s}{2\pi}\right) \quad (68)$$

Der Wert des Faktors  $h(T_s/2\pi)$  als Funktion von  $T_s/2\pi$  kann dabei der Fig. 2 entnommen werden.

In der bei (54c) angegebenen Näherung geht  $h(T_s/2\pi)$  in  $1/a^2$  und damit (68) in (63) über.

f) Die Viskosität für die Deformationsfrequenz  $\omega$  als Funktion sämtlicher Teile des Relaxationszeitspektrums; Einfluss von Unrichtigkeiten in der Wiedergabe des Relaxationszeitspektrums auf die Viskosität für periodische Vorgänge, deren Schwingungsdauer  $T_s$  dem Intervall (33a) entspricht.

Auch die Viskosität, welche die Substanz zeigt, wenn sie mit einer Frequenz  $\omega$  (oder Schwingungsdauer  $T_s = 2\pi/\omega$ ) deformiert wird, ist nach Gleichung (22) eine Summe, zu der sämtliche Teile des Relaxationszeitspektrums beitragen.

Es ist daher von Interesse, auch hier die Frage zu stellen, wie gross der relative Anteil der verschiedenen Teile des Relaxationszeitspektrums am Zustandekommen der Viskosität (66c) bzw. (63) ist. Da es sich um eine qualitative Feststellung handeln soll, legen wir dieser Betrachtung die Näherung (61) zugrunde.

$\alpha$ ) Beiträge aus dem Gebiete  $\tau > T_s$ . Wir sehen sofort, dass die Gebiete, in welchen  $\omega\tau \gg 1$  bzw. auf Grund von (62)  $\tau \gg T_s$  ist, praktisch genommen keinen Beitrag zur Viskosität liefern. Es tragen also diejenigen Zusammenhaltsmechanismen, deren Relaxationszeit  $\tau$  grösser ist als die bei der periodischen Beanspruchung des Versuchskörpers angewandte Schwingungsdauer, praktisch nicht zur Viskosität bei. Jene Mechanismen tragen, wie wir bei Gleichung (28) sahen, im wesentlichen zur Elastizität bei.

Falls jetzt die wirkliche Verteilungsfunktion im Bereiche  $\tau \gg T_s$  von der gemäss (50) berechneten und unter Umständen extrapolierten Verteilung abweicht, wirkt sich dies auf die gemäss (60) oder (61) berechnete Viskosität praktisch genommen überhaupt nicht aus.

$\beta$ ) Beiträge aus dem Gebiete  $\tau < T_s$ . In dem Gebiete, in welchem  $\omega\tau \ll 1$  bzw.  $\tau \ll T_s$  ist, wird sehr bald  $\omega^2\tau^2 + 1$  ungefähr gleich 1. Es wird dann

$$\eta = \frac{1}{2(1+\mu)} \frac{b}{a^2} \int_0^{\tau_m} d\tau \quad (69)$$

wobei nach (63) die obere Grenze  $\tau_m$  ungefähr gleich  $\pi/2\omega = T_s/4$  zu setzen ist.

Wir entnehmen der Beziehung (69) die folgende einfache Aussage: Im Bereiche  $\tau \ll T_s$  ist der Beitrag, den die Zusammenhaltsmechanismen, deren Relaxationszeit zwischen  $\tau$  und  $\tau+d\tau$  liegt, zur Viskosität  $\eta(T_s)$  liefern, einfach proportional  $d\tau$ . Er ist unabhängig davon, in welchem Teile des Bereiches  $\tau < T_s$  das Intervall  $d\tau$  gewählt ist. Gleich breite Intervalle  $d\tau$  des Spektrums liefern gleich grosse Beiträge zur Viskosität.

Es folgt daraus, dass beispielsweise für eine Schwingungsdauer von 10 sek etwa 90% der auftretenden Reibung von Zusammenhaltsmechanismen herrühren, deren Relaxationszeit zwischen 1 und 10 sek liegt, während nur 10% aus dem Relaxationsintervall  $0-10^{-1}$  sek herrührt.

Allgemein rührt der Hauptteil der bei einer Schwingungsdauer  $T_s$  beobachteten Viskosität von den Zusammenhaltsmechanismen her, deren Relaxationszeit  $\tau$  etwas, aber verhältnismässig wenig kleiner als  $T_s$  ist. Die Verhältnisse sind hier gerade umgekehrt wie beim dynamischen Elastizitätsmodul: dort hatten wir festgestellt, dass diejenigen Zusammenhaltsmechanismen, deren Relaxationszeiten im Bereiche von  $T_s$  liegen oder kleiner als  $T_s$  sind, zu  $E(T_s)$  praktisch genommen nichts beitragen. (Abschnitt 3d, Gl. 59a.)

Nach (69) tragen die Zusammenhaltsmechanismen, deren Relaxationszeit kürzer als z. B.  $T_s \times 10^{-3}$  bzw. kürzer als  $T_s \times 10^{-6}$  ist, zusammen genommen nur etwa ein Tausendstel bzw. ein Millionstel der gesamten bei der Schwingungsdauer  $T_s$  beobachteten Viskosität bei. Genau stimmt diese Behauptung dann, wenn  $dE_0/d\tau$  wirklich durch (50) gegeben ist. Praktisch stimmt sie aber auch dann, wenn  $dE_0/d\tau$  im Gebiete  $\tau \ll T_s$  mehr oder weniger von (50) abweicht. Das heisst aber:

Abweichungen der tatsächlichen Verteilungsfunktion von der Funktion (50) im Gebiete  $\tau \ll T_s$  machen sich, wenn die Abweichungen nicht sehr gross sind, in der Viskosität überhaupt nicht bemerkbar. In dem Masse, als sie sich trotzdem geltend machen, äussern sie sich darin, dass die gemäss (60) berechnete Viskosität im ganzen Gebiet (33a) um einen konstanten additiven Betrag geändert wird.

### g) Phasenverschiebung zwischen Deformation und Spannung; Verlustwinkel.

Indem wir die Ausdrücke für die Viskosität und den Elastizitätsmodul, (66c) und (59), in (31) einsetzen, erhalten wir für die Phasenverschiebung zwischen der Deformation und der Spannung:

$$\operatorname{tg} \varphi = -\frac{\pi}{2\omega} \frac{\ln c - \ln \omega}{(\ln c - \ln \omega)^2 + \pi^2} \quad (70)$$

oder, wenn  $(\ln c - \ln \omega) \gg \pi$  ist:

$$\operatorname{tg} \varphi = -\frac{\pi}{2 \omega} \frac{1}{\ln c - \ln \omega} \quad (70a)$$

Unter Verwendung der Näherungen (59a) und (63) ergibt sich

$$\operatorname{tg} \varphi = -\frac{T_s}{4 a} \quad (\text{Näherung}) \quad (70b)$$

#### 4. Aussagen über das Relaxationszeitspektrum im Bereiche sehr grosser und sehr kleiner $\tau$ -Werte.

Wir haben mehrmals betont, dass wir genaue Aussagen über das Relaxationszeitspektrum nur in dem Bereich (33a) (für  $10^{-2}$  sek  $< \tau < 10^4$  sek) machen können und dass Aussagen über den Verlauf der Funktion  $dE_0/d\tau$  etwa gemäss Gleichung (50) für den Bereich ausserhalb dieses Gebietes Extrapolationen darstellen. Wir zeigen jetzt, dass wir konkrete Angaben darüber machen können, wie sich die wirkliche Verteilungsfunktion  $dE_0/d\tau$  in den an (33a) beiderseits angrenzenden Gebieten von dem gemäss (50) extrapolierten Verlaufe unterscheiden dürfte.

##### a) Bereich sehr grosser $\tau$ -Werte.

Abweichungen im Bereiche grosser  $\tau$ -Werte machen sich, wie wir an Hand von Gleichung (49) sahen, im Verhalten des Elastizitätsmoduls geltend. Wäre (49) streng gültig, so müsste in der Grenze grosser Werte von  $t$  die Beziehung (57) bzw. (58) gelten; d. h. es würde  $E(t)$  für  $t = \infty$  gleich Null. Es ist wahrscheinlich, dass dies nicht richtig ist; da aber  $E(t)$  nach (58) mit wachsendem  $t$  nur langsam abnimmt, müsste man bis zu sehr grossen Werten von  $t$  genau beobachten, um wirkliche Abweichungen festzustellen. Es ist aber sehr wahrscheinlich, dass  $dE_0/d\tau$  bei sehr grossen Werten von  $\tau$  schwächer als gemäss (50) absinkt, in solcher Weise, dass beim Einsetzen in (3) für  $t = \infty$  ein endlicher Elastizitätsmodul verbleibt.

##### b) Bereich kleiner $\tau$ -Werte.

Wir haben gesehen, dass sich Abweichungen von (50) im Bereiche sehr kleiner  $\tau$ -Werte beim Elastizitätsmodul überhaupt nicht, bei der Viskosität nur wenig bemerkbar machen. Trotzdem können wir mit Bestimmtheit sagen, dass (50) bei sehr kleinen  $\tau$ -Werten nicht mehr gültig sein wird. Es geschieht dies auf Grund der Beziehung (4a), welche zwar eine nur grössenordnungsmässige, aber trotzdem zuverlässige Feststellung ist. Sie hat mit der Analyse des Spektrums nichts zu tun. Erfahrungsgemäss können wir (4a) dahin weiter ergänzen, dass sich das Relaxationszeitspektrum bei niedrig molekularen Flüs-

sigkeiten bis zu etwa  $10^{-13}$  sek erstreckt, indem hier  $\eta = 1/3 E_0 \cdot \tau = 10^{-2}$  Poisen ist, während  $E_0$  etwa gleich  $10^{10}$ – $10^{12}$  dyn/cm<sup>2</sup> ist. Bei hochmolekularen Substanzen, bei denen das Relaxationszeitspektrum im Vergleich zu dem bei niedrig molekularen Flüssigkeiten stark auseinander gezogen ist, können wir annehmen, dass wenigstens die untere Grenze des Relaxationszeitspektrums nicht tiefer als bei den niedrig molekularen Flüssigkeiten ist; wir können ja Gründe dafür angeben, dass die Relaxationszeiten bei den hochmolekularen Stoffen z. T. gross sind; dagegen ist nicht einzusehen, warum sie wesentlich kleiner als bei niedrig molekularen Stoffen werden sollen. Bei hoch- und niedrig-molekularen Stoffen dürfen wir daher für die untere Grenze im Integral (49) ungefähr  $10^{-13}$  sek setzen. Wir erhalten also:

$$\int_{10^{-13}}^{\infty} \frac{dE_0}{d\tau} d\tau = E_0 = 10^{10}\text{--}10^{12} \text{ dyn/cm}^2 \quad (71)$$

Bilden wir nun für den Fall des Kautschuks das Integral (71) unter der Annahme, dass (50) bis hinunter zu  $\tau = 10^{-13}$  sek gültig sei (was auf Grund des Wertes von  $c$ , Tabelle 1 durchaus denkbar wäre) so erhalten wir

$$\begin{aligned} \int_{10^{-13}}^{\infty} \frac{b}{\tau} \frac{d\tau}{[\ln(c\tau-1)]^2 + \pi^2} &\cong \int_{10^{-13}}^{\infty} \frac{b}{\tau} \frac{d\tau}{(\ln c + \ln \tau)^2} = -b \left[ \frac{1}{\ln c + \ln \tau} \right]_{-13.2,3}^{\infty} \\ &= \frac{4 \cdot 10^9}{80 - 30} \cong 10^8 \text{ dyn/cm}^2 \quad (72) \end{aligned}$$

Das ist eine Zahl, welche hinter dem Wert (71) um mindestens 2 Grössenordnungen zurücksteht. Es liegt dies ausserhalb der durch die Versuchsfehler und die Ungenauigkeit der Näherungen bedingten Fehlergrenze. Es ist daher anzunehmen, dass (50) und demzufolge auch die Beziehung (33) im Bereiche  $10^{-13} < \tau < 10^{-2}$  sek ungenau ist, und zwar in dem Sinne, dass  $dE_0/d\tau$  beim Übergang zu kürzeren Relaxationszeiten stärker als die Funktion (50) zunimmt. Die Aussage wird durch experimentelle Feststellungen, welche wir selbst gemacht haben, bestätigt, indem die Fliesskurven von Kautschuk im Gebiete kleinerer Zeiten vom Verlauf gemäss (33) in Richtung etwas grösserer  $E'$ -Werte abwichen.

## 5. Deutung des Relaxationszeitspektrums.

Um das Relaxationszeitspektrum zu finden, war nur die Annahme der Existenz eines Spektrums sowie die empirische Beziehung (33) notwendig. Über die Art und Weise, wie das Spektrum zustande kommt, waren keine Voraussetzungen notwendig (siehe Abschnitt 1d,  $\beta$ ). Umgekehrt ist es, ohne dass weitere Argumente beige-



bracht werden, nicht möglich, die Beziehung (50) für modellmässige Aussagen zu benützen. Gewisse Aussagen für Kautschuk und kautschukähnliche Stoffe ergeben sich indessen, wenigstens für einen Teil des Relaxationszeitspektrums, auf Grund der kinetischen Theorie der Kautschukelastizität<sup>1)</sup>.

a) Vorliegen von Wahrscheinlichkeitselastizität bei grossen und mittleren Relaxationszeiten.

Bei schwach vulkanisiertem Kautschuk rührt der Zusammenhaltmechanismus mit  $\tau_1 = \infty$  und  $E_{10}$  etwa gleich  $10^5$ – $10^6$  dyn/cm<sup>2</sup> daher, dass die zwischen den Vulkanisierungspunkten liegenden Netzbogen beim Dehnen des Versuchskörpers teils orientiert, teils entknäuel werden. Dabei ist

$$E_{10} = 7 \frac{RT \varrho}{M_r'} \quad (73)$$

wobei  $M_r'$  das mittlere Molgewicht des zwischen zwei Vulkanisierungspunkten liegenden Fadenstückes, welches wir als Netzbogen bezeichnet haben, bedeutet. Wenn man berücksichtigt, dass eine Festlegung der Netzbogengestalt nicht nur durch die die Enden des Bogens festhaltenden chemischen Vulkanisierungspunkte bewirkt wird, sondern auch teilweise durch die sterische Wirkung fremder Vulkanisierungspunkte<sup>2)</sup>, so erhält man (anstelle von 73)

$$E_{10} = 3 \frac{RT \varrho}{M_r} \quad (74)$$

wobei  $M_r$  das Molgewicht eines durch chemische und „physikalische“ Vulkanisierung gemeinsam bestimmten Netzbogens bedeutet.

Bei schwach vulkanisiertem Kautschuk ist also der Zusammenhaltmechanismus, welcher den grossen Relaxationszeiten zuzuordnen ist, die Orientierung und Konstellation der Netzbogen. Es handelt sich, wenigstens bei mässigem Dehnungsgrade, praktisch genommen um eine reine Wahrscheinlichkeitselastizität.

Bei Kautschuk und kautschukähnlichen Stoffen dürften indessen nicht nur die Zusammenhaltmechanismen, für die  $\tau = \infty$  ist, auf Wahrscheinlichkeitselastizität zurückzuführen sein, sondern überdies alle Mechanismen, für welche  $\tau$  grösser als etwa  $10^{-2}$  sek ist.

Zur Begründung können wir z. B. auf einige in der Einleitung gegebene Hinweise zurückgreifen. Wir haben dort angedeutet, dass

<sup>1)</sup> W. Kuhn, Koll. Z. **78**, 258 (1936); Z. angew. Ch. **49**, 858 (1936); **51**, 640 (1938); Kautschuk **14**, 182 (1938) und spätere Arbeiten. Siehe dort auch Hinweise auf frühere qualitative Betrachtungen von E. Wöhlich, sowie von K. H. Meyer und von E. Guth und H. Mark.

<sup>2)</sup> Vgl. W. Kuhn, J. Polymer Sci. **1**, 380 (1946).

dann, wenn eine grosse statistisch geknäuelte Fadenmolekel mitsamt der sie einbettenden Masse deformiert wird, sowohl kleine Teile des Fadenknäuels als auch das Fadenknäuel als Ganzes eine Formänderung erfahren. Wir haben darauf hingewiesen, dass kleine Teile der Fadenmolekel nach der Dehnung rasch durch *Brown'sche* Bewegung in der sie einbettenden Masse in einen „normalen“ Zustand zurückkehren, weil hierfür die Zurücklegung nur kleiner Wege erforderlich ist, während grössere Fadenstücke oder der Faden als Ganzes mehr Zeit benötigen. Wir haben das Auftreten des Relaxationszeitpektrums hiermit in Zusammenhang gebracht, weil mit der Rückkehr des Fadens oder Fadenteiles in den „normalen“ Zustand der entsprechende Spannungsbeitrag verschwindet.

Die energetischen Spannungsanteile, welche auf Deformation von Valenzwinkeln und Atomabständen beruhen, verschwinden am schnellsten, weil die hier beteiligten Atome oder Atomgruppen zwecks Rückkehr aus dem deformierten in den „normalen“ Zustand nur ganz kleine Wege zurückzulegen brauchen, wogegen die Änderung der Konstellation von Fadenteilen mehr Zeit beansprucht.

Wenn ich daher einen Teil des Gesamtfadens, etwa ein Stück vom Molgewicht  $M^*$  betrachte, so wird es bei einer rasch herbeigeführten Deformation des Fadens seine Konstellation ändern und das Fadenstück wird die geänderte Konstellation praktisch genommen während einer Zeit  $t^*$  (welche mit  $M^*$  anwächst) behalten. Messen wir die Rückstellkraft gerade im Zeitpunkte  $t^*$  nach Erzeugung der Deformation, so werden sich also die in der Substanz enthaltenen Fadenstücke vom Molgewicht  $M^*$  gerade etwa so verhalten, als ob sie durch die Wirkung physikalischer und chemischer Vulkanisierungspunkte daran verhindert gewesen wären, zur „normalen“ Konstellation zurückzukehren. Fadenstücke von einem Molgewicht, welches wesentlich kleiner als  $M^*$  ist, wären dagegen im Zeitpunkte  $t^*$  bereits als wieder „normal“ zu betrachten. Wenn wir daher den E-Modul, den wir jetzt mit  $E^*$  bezeichnen wollen, im Zeitpunkte  $t^*$  nach Erzeugung der Deformation feststellen, so müssen wir in Analogie zu (74) erwarten, dass

$$E^*(t^*) = 3 \frac{RT \varrho}{M^*} \quad (75)$$

sein wird.  $M^*$  ist dann, wie gesagt, das Molgewicht derjenigen Fadenstücke, welche ungefähr eine Zeit  $t^*$  brauchen, um im elastisch festen Einbettungsmedium durch *Brown'sche* Bewegung ihre Konstellation merklich zu ändern. Nach dieser Auffassung nimmt der E-Modul  $E^*$  deswegen mit wachsender Zeit  $t^*$  ab, weil das Molgewicht  $M^*$ , welches zur Änderung seiner Konstellation gerade die Zeit  $t^*$  benötigt, mit

wachsender Zeit zunimmt. Wir werden auf diese Abhängigkeit so gleich zurückkommen.

Bevor wir das tun, wollen wir einige Feststellungen hinsichtlich der möglichen Werte von  $M^*$  und dann Hinweise auf einige experimentelle Tatsachen anfügen.

α) Vergleich der möglichen Werte von  $M^*$  bei vulkanisierten und nicht vulkanisierten Proben; sogenannte Springelastizität der letzteren.

Aus dem Gesagten ist klar, dass  $M^*$  als kleiner Teil einer Fadenmolekel notwendigerweise kleiner sein muss als das gesamte Molgewicht des Fadens oder Netzbogens. Wenn wir  $t^*$  genügend klein machen, ist es überdies wahrscheinlich, dass das zu  $t^*$  gehörige (kleine)  $M^*$  für vulkanisierte und nicht vulkanisierte Proben derselben Substanz einigermaßen übereinstimmt. Es würde dies nach (75) bedeuten, dass  $E^*(t^*)$  im Bereiche genügend kleiner Werte von  $t^*$  für vulkanisierte und nicht vulkanisierte Proben einen sehr ähnlichen Verlauf haben dürfte. Unterschiede müssen dann eintreten, wenn  $M^*$  mit zunehmender Zeit  $t^*$  in der nicht vulkanisierten Substanz ungefähr gleich dem wahren Molgewicht  $M$  der vorhandenen Fadenmolekel, in der vulkanisierten gleich dem Netzbogengewicht  $M_r$  wird.

Wenn  $M^*$  in der nicht vulkanisierten Substanz gleich dem wahren Molgewicht  $M$  der Molekel geworden ist, so bedeutet dies, dass in der zum Molgewicht  $M$  gehörigen Zeit  $t$  alle Konstellationsänderungen, welche bei der raschen Dehnung im Zeitpunkte  $t = 0$  erzeugt worden waren, verschwunden sind und dass nach dieser Zeit der Elastizitätsmodul  $E^*$  auf Null absinkt.

Bei der nicht vulkanisierten Substanz werden wir also bei passender Wahl des Zeitpunktes  $t$  jeden beliebigen Wert des Elastizitätsmoduls feststellen können. Bei polymer-homologen nicht vulkanisierten Substanzen wird aber insofern eine Abhängigkeit vom Polymerisationsgrad festzustellen sein, als der Zeitpunkt  $t$ , welchen ich wählen muss, damit gerade noch ein erheblicher Elastizitätsmodul festgestellt werden kann, etwa gleich der Konstellationswechselzeit der Molekel vom Molgewicht  $M$  ist, wobei diese Zeit  $t$  mit  $M$  anwachsen wird. Bei der nicht vulkanisierten Substanz ist also die Zeit nach erfolgter Deformation, innerhalb deren wir die Rückstellkraft feststellen müssen, damit überhaupt eine messbare Kraft gefunden werden kann, umso kürzer, je kleiner der Polymerisationsgrad ist. Es ist dies eine Feststellung, welche mit dem beobachteten Verhalten polymer-homologer nicht vulkanisierter Stoffe in Übereinstimmung steht und auf welche schon vor Jahren hingewiesen wurde<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> W. Kuhn, Z. angew. Ch. 51, 640 (1938), insbesondere S. 647.

So ist ein niedrig molekulares Buna eine dickflüssige Masse ohne Kautschukelastizität. Bei steigendem Polymerisationsgrade erhält man eine Masse, welche sehr langsam, z. B. im Laufe von Tagen, fließt und welche sich z. B. durch leichten, aber dauernden Druck in beliebige Gestalt bringen lässt. Dieselbe Substanz reagiert aber auf sehr rasche Formänderungen bereits wie Kautschuk (sog. Springelastizität).

Lassen wir den Polymerisationsgrad weiter ansteigen, so erhalten wir Präparate, welche bei kurzem Ziehen vollständig reversibel elastisch sind, bei langdauerndem und starkem Ziehen dagegen allmählich fließen.

Der Hinweis darauf, dass vulkanisierte und nicht vulkanisierte Präparate eines hochpolymeren Stoffes im Bereiche sehr kurzer Beobachtungszeiten einen ähnlich zu deutenden Verlauf der Spannungsrelaxation aufweisen, spricht sicher für die in Gleichung (75) zum Ausdruck gebrachte Auffassung, dass in beiden Fällen eine ähnliche Ursache vorliegt, nämlich die, dass zu jedem Molegewicht  $M^*$  eines Fadenstückes, welches kleiner als der Gesamtfaden oder Netzbogen ist, eine Relaxationszeit  $t^*$  gehört; ein Hinweis darauf, dass diese rasch abklingenden Spannungen einer Wahrscheinlichkeitselastizität entsprechen, ist aber aus diesem gleichartigen Verhalten von vulkanisiertem und nicht vulkanisiertem Präparat zunächst nicht zu entnehmen.

$\beta$ ) Bedeutung des Quotienten aus Dehnungsdoppelbrechung und Spannung für Rückschlüsse über das Vorliegen von Wahrscheinlichkeitselastizität oder Energieelastizität.

Wir erhalten einen solchen Hinweis durch Aufzeigung der bei der Deformation auftretenden Doppelbrechung. Es zeigt sich, dass beim vulkanisierten Kautschuk der Quotient aus Dehnungsdoppelbrechung und Spannung vom Vulkanisationsgrade nicht abhängt und dass der Quotient auch beim nicht vulkanisierten Kautschuk denselben Wert wie beim vulkanisierten besitzt<sup>1)</sup>. Das letztere schliesst in sich, dass Doppelbrechung und Spannung beim nicht vulkanisierten Kautschuk nach dem selben Zeitgesetz abklingen<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> P. Rossi, Rend. Napoli [3] 16, 125, 142, 207 (1910); Il nuovo cimento [5] 20, 226 (1910). Theoretische Begründung siehe W. Kuhn und F. Grün, Koll. Z. 101, 248 (1942). Siehe auch W. E. Thibodeau und A. T. Mc. Pherson, J. Research Nat. Bureau of Standards 13, 887 (1934).

<sup>2)</sup> Das Konstantbleiben des Quotienten aus Doppelbrechung und Spannung ist in den Versuchen von Rossi in einem nicht näher beschriebenen zeitlichen Bereich sichergestellt worden. Im weiteren ist die Relaxation der Doppelbrechung in noch nicht veröffentlichten Versuchen von F. Grün und J. Haegel im Zeitintervall von etwa  $10^{-3}$  sek bis 1 sek gemessen worden. Der zeitliche Verlauf ist annähernd derselbe wie bei der Relaxation des Elastizitätsmoduls; doch ist die Proportionalität in diesem Bereiche nicht mit grosser Genauigkeit geprüft worden.

Eine genaue Prüfung der Konstanz oder Nichtkonstanz des Quotienten aus Doppelbrechung und Rückstellkraft bis zu kleinen Zeiten dürfte eine Möglichkeit geben, um die Frage experimentell zu entscheiden, bei welchen Werten von  $\tau$  reine Wahrscheinlichkeitselastizität bzw. eine Mischung von Wahrscheinlichkeits- und Energieelastizität vorliegt. Nach dem Gesagten ist aber anzunehmen, dass von  $\tau = \infty$  an bis zu  $\tau$ -Werten von etwa  $10^{-2}$  sek beim Kautschuk im wesentlichen Wahrscheinlichkeitselastizität vorliegt.

Wenn nun im vulkanisierten Kautschuk sowohl die Doppelbrechung, als auch die Rückstellkraft beide durch Orientierung und Längenänderung der Netzbogen bestimmt sind und der Quotient im nicht vulkanisierten Präparat denselben für den Wahrscheinlichkeitsursprung der Effekte charakteristischen Zahlenwert besitzt, so folgt daraus, dass die zeitlich veränderliche Rückstellkraft im nicht vulkanisierten Kautschuk (im betrachteten Zeitintervall) auch nichts anderes als eine Wahrscheinlichkeitselastizität sein kann. Dasselbe überträgt sich auf die entsprechenden zeitabhängigen Anteile der Rückstellkraft im vulkanisierten Kautschuk, also auf die den grossen und mittleren  $\tau$ -Werten des Relaxationszeitspektrums entsprechenden Zusammenhaltsmechanismen.

b) Die von Fadenstücken vom Molgewicht  $M^*$  zur „völligen“ Konstellationsänderung benötigte Zeit  $t^*$ ; Abhängigkeit der Viskosität  $\eta^*$  des Einbettungsmediums vom Molgewicht  $M^*$  der im Medium zu bewegenden Fadenstücke.

Nach dem Vorigen und innerhalb der genannten Grenzen sind wir berechtigt, die Zeitabhängigkeit des Elastizitätsmoduls gemäss (75) mit der Konstellationswechselzeit  $t^*$ , welche einem Fadenstück des Molgewichts  $M^*$  zuzuordnen ist, in Zusammenhang zu bringen. Wir hätten zu setzen

$$M_r^*(t) = \frac{3 RT \rho}{E^*(t)} \quad (76)$$

Die Konstellationswechselzeit  $t^*$  hängt ihrerseits von der Diffusionskonstante  $D^*$  und diese von der Viskosität  $\eta^*$  ab, welche das Einbettungsmedium der *Brown'schen* Bewegung eines Fadenstückes vom Molgewicht  $M_r^*$  entgegensetzt. Es wäre falsch,  $\eta^*$  als von  $M_r^*$  unabhängig anzusehen, denn Versuche über die Diffusion von Fremdmolekeln in elastisch festem Kautschuk haben gezeigt, dass  $\eta^*$  mit  $M_r^*$  sehr rasch anwächst<sup>1)</sup>. Wir können die Beziehung (76) dazu benützen, um nun umgekehrt aus dem empirischen Verhalten (33) bzw. (58) auf die Abhängigkeit der Grösse  $\eta^*$  von  $M_r^*$  zu schliessen.

Hierzu überlegen wir folgendes: Ein Fadenstück vom Molgewicht  $M^*$  besteht aus

$$Z = \frac{M_r^*}{M_g} \quad (77)$$

monomeren Resten, wenn  $M_g$  das Molgewicht der Grundmolekel bedeutet. Ist  $s_m$  der Vorzugswert der Anzahl der in einem statistischen Fadenelement enthaltenen monomeren Reste,  $\Delta_m$  die Länge des statistischen Vorzugselementes, so besteht das Fadenstück vom Molgewicht  $M_r^*$  aus

$$\frac{M_r^*}{M_g} \cdot \frac{1}{s_m} = N_m^* \quad (78)$$

<sup>1)</sup> W. Kuhn, H. Suhr und K. Ryffel, *Helv. phys. acta* **14**, 497 (1941).

Vorzugselementen. Das mittlere Abstandsquadrat  $h^{*2}$  zwischen Anfangs- und Endpunkt des betrachteten Fadenstückes ist dann

$$h^{*2} = N_m^* \cdot A_m^2; \quad h^* = \sqrt{N_m^* \cdot A_m} \quad (79)$$

Denken wir uns zwecks Abschätzung des hydrodynamischen Widerstandes, welcher bei einer Bewegung des Endpunktes des betrachteten Fadenstückes in einem Medium von der Viskosität  $\eta^*$  auftritt,  $1/4$  des Fadenstückes im Endpunkt lokalisiert, so ist die Kraft, welche notwendig ist, um den Fadenendpunkt relativ zu seiner Umgebung mit einer Geschwindigkeit  $u$  zu bewegen<sup>1)</sup>, ungefähr gleich

$$K = \frac{N_m^* \cdot A_m}{4} \cdot \frac{3\pi}{2} \cdot u \cdot \eta^* \quad (80)$$

Die Geschwindigkeit, welche der Fadenendpunkt unter Wirkung einer Kraft von 1 Dyn erhält, wird also

$$\mu = \frac{8}{3\pi} \cdot \frac{1}{N_m^* \cdot A_m} \cdot \frac{1}{\eta^*} \quad (81)$$

Die Diffusionskonstante  $D^*$  des Fadenendpunktes erhalten wir hieraus durch Multiplikation mit  $kT$ , also:

$$D^* = \frac{8kT}{3\pi} \cdot \frac{1}{\eta^*} \cdot \frac{1}{N_m^* \cdot A_m} \quad (82)$$

Die Zeit  $t'$ , welche der Fadenendpunkt benötigt, um durch Diffusion eine Strecke vom Betrage  $x$  zurückzulegen, wird auf Grund von (82)

$$t' = \frac{x^2}{2D^*} = \frac{3\pi}{16kT} \cdot \eta^* \cdot N_m^* \cdot A_m \cdot x^2 \quad (83)$$

Die Zeit, welche das Fadenstück vom Molgewicht  $M^*$  benötigt, um seine Konstellation durch *Brown'sche* Bewegung vollständig zu ändern, erhalten wir offenbar, wenn wir  $x^2$  in (83) durch  $h^{*2}$  aus (79) ersetzen. Diese Zeit wird also

$$t = \frac{3\pi}{16kT} \eta^* N_m^{*2} A_m^3 \quad (84)$$

Indem wir  $N_m^*$  auf Grund von (78) durch  $M_r^*$  oder auf Grund von (79) durch  $h^*$  ersetzen, können wir hierfür auch schreiben:

$$t = \frac{3\pi}{16kT} \eta^* \frac{M_r^{*2}}{M_g^2 \cdot s_m^2} \cdot A_m^3 \quad (85)$$

oder

$$t = \frac{3\pi}{16kT} \eta^* \frac{h^{*4}}{A_m} \quad (86)$$

Wir setzen in Gleichung (76) für  $1/E^*(t)$  den Ausdruck (58) ein und erhalten

$$M_r^*(t) = 3RT \varrho \cdot \frac{a + \ln t}{b} \quad (87)$$

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu: *W. Kuhn und H. Kuhn, Helv. 26, 1394 (1943).*

In dieser Gleichung substituieren wir  $t$  aus (86).

$$M_f^* = \frac{3 RT \varrho}{b} \left[ a + \ln \eta^* + 2 \ln M_f^* + \ln \frac{3 \pi A_m^3}{16 k T M_g^2 s_m^2} \right] \quad (88)$$

Diese Gleichung lässt sich nach  $\eta^*$  auflösen:

$$\eta^* = \frac{16 k T M_g^2 s_m^2}{3 \pi A_m^3 M_f^{*2} c^3} \cdot e^{\frac{b M_f^*}{3 RT \varrho}} \quad (89)$$

Es müsste hiernach  $\eta^*$  exponentiell mit  $M_f^*$  zunehmen. Ein derartiger Zusammenhang ist auf Grund der l. c. erhaltenen Ergebnisse durchaus plausibel.

Ebenso wichtig wie die Beziehung (89) selbst ist allerdings die Einschränkung ihres Gültigkeitsbereiches. Die vorhin gegebene Begründung von (89) ist nur dann durchführbar, wenn einerseits die empirische Beziehung (33) erfüllt ist und wenn ausserdem  $M_f^*$  wenigstens etwa 3mal kleiner als  $M_f$  ist und demgemäss  $E^*(t)$  etwa 3mal grösser als der bei grossen Werten von  $t$  gemessene statische Elastizitätsmodul. Ist nämlich  $M_f^*$  nicht wesentlich kleiner als  $M_f$ , so ist es unzulässig, die Zeit, welche  $M_f^*$  benötigt, um die Konstellation wirklich zu ändern, unter Annahme einer freien Diffusion des Endpunktes von  $M_f^*$  zu berechnen.

Es ist ausserdem darauf hinzuweisen, dass sich das Relaxationszeitspektrum im Bereiche sehr kurzer Relaxationszeiten fortsetzen wird und dass es auch dort grundsätzlich experimentell ausgemessen werden kann, dass es aber nicht mehr zulässig sein wird, die mit kurzen Relaxationszeiten versehenen Zusammenhaltsmechanismen weiterhin ausschliesslich als Mechanismen mit Wahrscheinlichkeitselastizität gemäss Gleichung (76) zu betrachten. Im Bereiche sehr kurzer Relaxationszeiten, vermutlich für  $\tau < 10^{-3}$  sek wird also die durch Gleichung (75) verkörperte Deutung von  $E^*$  und damit auch die Berechnung von  $\eta^*$  hinfällig.

Im Zusammenhang mit (76) bemerken wir noch, dass es im Gültigkeitsbereich dieser Beziehung dieselben Fäden sind, welche für kurze Zeiten  $t$  ein kleines  $M_f^*$  und damit ein grosses  $E^*(t)$  und für grössere Zeiten  $t$  ein grosses  $M_f^*$  und damit ein kleines  $E^*(t)$  liefern. [An den rasch deformierten Fadenmolekeln verschwinden zunächst die an kurzen Fadenstücken (Molgewicht  $M^*(t)$ ) entstandenen unwahrscheinlichen Konstellationen, während sich die analogen Unwahrscheinlichkeiten an grossen Stücken desselben Fadens länger halten, so dass die letzteren bleiben, während die erstern schon verschwunden sind.]

Dieses an einem und demselben Faden sich abwickelnde Geschehen wirkt sich qualitativ als zeitliches Absinken des Elastizitätsmoduls  $E^*(t)$  aus. Wir haben anderseits dieses empirische Absinken

(gemäss Formel 58) durch ein Relaxationszeitspektrum (50) bzw. (2a) beschrieben und dabei gelegentlich von parallel zueinander wirkenden Zusammenhaltsmechanismen gesprochen. Tatsächlich lässt sich der Verlauf (2a) bzw. (50) durch entsprechende parallel zueinander und unabhängig voneinander wirkende Zusammenhaltsmechanismen erhalten. Wie in Abschnitt 1d nachdrücklich betont wurde, sind aber parallel wirkende Zusammenhaltsmechanismen nicht die einzige Möglichkeit, den Verlauf (2a) zu erhalten; es gibt daneben sehr viele andere, komplizierte Kombinationen, welche dasselbe leisten. Wir haben allen Anlass, an dieser Stelle auf jene Bemerkung zurückzukommen: Die vorhin für das Zustandekommen von (76) gegebene Deutung gibt tatsächlich den Verlauf (58), geht aber nicht von parallel zueinander und unabhängig voneinander wirkenden Mechanismen aus, sondern von einem komplizierten Gesamtmechanismus, in welchem die rasch relaxierenden Elemente in interessanter Weise als Bausteine der langsam relaxierenden Elemente verwendet sind. Es ist jedenfalls bei dem in Anschluss an (76) erläuterten Mechanismus ein Parallelwirken unabhängiger Mechanismen in höchstens symbolischer Weise verwirklicht.

Es war besonders aus diesem Grunde wichtig, dass die Beziehungen zwischen dem elastischen und viskosen Verhalten in dieser Arbeit so gewonnen wurden, dass nur die Tatsache der Zeitabhängigkeit des Elastizitätsmoduls gemäss (2a) bzw. (3) vorausgesetzt wurde, jedoch nichts über die Art und Weise, wie diese Zeitabhängigkeit erzeugt wird. Da wir uns hiervon unabhängig gemacht haben, sind alle Ergebnisse, wie beispielsweise die Berechnung der Viskosität aus dem zeitlichen Verlauf des Elastizitätsmoduls unabhängig von den besonderen Betrachtungen des vorliegenden Abschnittes, durch die wir den zeitlichen Verlauf des Elastizitätsmoduls modellmässig begründen.

c) Die Relaxationszeit eines einzelnen Zusammenhaltsmechanismus mitbestimmend für und zugleich bestimmt durch die Relaxationszeiten der übrigen in der Substanz vorkommenden Zusammenhaltmechanismen.

Ein weiteres Problem, welches durch die vorstehenden Betrachtungen nahegelegt und einer Behandlung teilweise zugänglich gemacht ist, sei im nachstehenden kurz besprochen: Wir wollen das Relaxationszeitspektrum, d. h.  $dE_0/d\tau$  in Gleichung (3) als bekannt voraussetzen. Damit ist das gesamte viskose und elastische Verhalten der Substanz, wie wir sahen, völlig bestimmt. Die Mechanismen, deren Relaxationszeiten zwischen  $\tau$  und  $\tau + d\tau$  liegen und denen zusammen ein Grundwert des Teilelastizitätsmoduls von der Grösse  $d\tau \cdot dE_0/d\tau$  zukommt, können dabei einem bestimmten in dem Medium sich ab-



spielenden Vorgang, beispielsweise der Konstellationsänderung bestimmter Netzbogenteile zugeordnet werden. Diese Bewegung der Netzbogenteile relativ zu ihrer Umgebung ist eine Art Diffusionsvorgang, wie er in Gleichungen (77ff) beschrieben wurde; er hängt also von der Viskosität, den das Einbettungsmedium diesem speziellen Vorgang entgegengesetzt, ab und ist also selber durch das Relaxationszeitspektrum bestimmt. D. h. jeder Teil des Relaxationszeitspektrums ist durch die übrigen Teile des Relaxationszeitspektrums bestimmt. Die Relaxationszeit eines jeden Zusammenhaltsmechanismus ist sowohl via Viskosität bestimmend für die übrigen in der Substanz vorkommenden Relaxationszeiten, als auch via Viskosität selbst bestimmt durch diese übrigen Relaxationszeiten.

Als Besonderheit, auf welche zuerst *J. Haegel* (l. c.) aufmerksam gemacht hat, tritt dabei der Umstand auf, dass die Fadenteile bei der Relaxation eines bestimmten Zusammenhaltsmechanismus, dem die Relaxationszeit  $\tau$  zukommt, einen Weg etwa von der Länge  $h^*$  zurücklegen müssen, wobei sie durch andere Zusammenhaltsmechanismen gehemmt werden, und wobei nur diejenigen fremden Mechanismen, deren Maschenweite kleiner oder ungefähr gleich  $h^*$  ist, auf den hervorgehobenen Mechanismus hemmend wirken.

Wäre beispielsweise die Relaxationszeit eines Mechanismus, bei welchem die Fadenteile, um zu relaxieren, den Weg  $h^*$  zurücklegen müssen, durch (86) gegeben, so wäre  $\eta^*$ , d. h. die Viskosität, welche das Medium für den hervorgehobenen Mechanismus besitzt, auf Grund von (13) gegeben durch

$$\eta^* = \frac{1}{2(1+\mu)} \int_0^{\tau_{\max}} \frac{dE_0}{d\tau} \tau d\tau \quad (90)$$

wobei für  $\tau_{\max}$  der aus (86) berechnete Wert von  $t$  einzusetzen wäre, also

$$\eta^* = \frac{1}{2(1+\mu)} \int_0^{\tau_{\max}} \frac{3\pi}{16kT} \eta^* \frac{h^{*4}}{A_m} \frac{dE_0}{d\tau} \tau d\tau \quad (91)$$

Die Auswertung dieser Beziehung, beispielsweise unter Benützung der wenigstens annähernd zutreffenden Gleichung (50) für  $dE_0/d\tau$  wird dadurch erschwert, dass der Wert des Integrals (91) gegen eine Änderung des für  $\tau_{\max}$  einzusetzenden Wertes sehr empfindlich ist, während es gleichzeitig schwierig erscheint, hierfür eine begründete genaue Festsetzung zu treffen. Es ist aber klar, dass Beziehungen von der Art der Beziehung (90) bestehen müssen und dass deren Aufsuchung und Auswertung weitgehenden Einblick in Einzelheiten der Entstehung des elastisch-mechanischen Verhaltens hoch- und niedrigmolekularer Substanzen geben wird.

## Zusammenfassung von Teil II.

In Teil I wurde das Auftreten eines Relaxationszeitspektrums bei hochmolekularen Stoffen begründet und es wurde auf Grund der an Kautschuk oder verwandten Stoffen beobachteten Fließkurve ein quantitativer Ausdruck für das Relaxationszeitspektrum dieser Stoffe gefunden. D. h. es wurde die Verteilungsdichte angegeben, mit der sich die Teilelastizitätsmoduln auf die Relaxationszeiten verteilen.

In der vorliegenden Arbeit werden umgekehrt aus dem so ermittelten Relaxationszeitspektrum Schlüsse auf das elastische und viskose Verhalten der Stoffe gezogen.

Es wird gefunden, dass die an einem solchen Stoff zu erwartende Fließkurve, d. h. der zeitliche Verlauf der Längenänderung bei konstant gehaltener Spannung praktisch genommen identisch sein muss mit dem reziproken Wert des Elastizitätsmoduls  $E$ , welcher letzterer als Zeitfunktion aus dem Spannungsabfall nach rasch erfolgter Dehnung bestimmt werden kann.

Der im Zeitpunkt  $t$  nach rasch erzeugter Deformation beobachtete  $E$ -Modul ist eine Funktion sämtlicher Teile des Relaxationszeitspektrums, doch sind für  $E(t)$  diejenigen Teile des Spektrums, für welche die Relaxationszeit  $\tau$  grösser als  $t$  ist, ausschlaggebend.

Die Genauigkeit, mit welcher aus den zugrunde gelegten Versuchsdaten auf die Verteilung der Teilelastizitätsmoduln über die Relaxationszeiten geschlossen werden kann, ist nicht für alle Bezirke des Relaxationszeitspektrums gleich gross. Die möglichen Ungenauigkeiten liegen im Gebiete sehr grosser Relaxationszeiten  $\tau$  einerseits, sehr kleiner Zeiten andererseits. Es zeigt sich aber, dass der Beitrag zum  $E$ -Modul einerseits, zur Viskosität andererseits, welcher von den ungenau bekannten Teilen des Spektrums herrührt, in allen Fällen klein ist und dass diese Ungenauigkeiten im praktisch interessierenden Gebiet nur einen kleinen konstanten additiven Beitrag zum  $E$ -Modul bzw. zur Viskosität darstellen.

Der dynamische Elastizitätsmodul hängt, wenn die Schwingungsdauer zwischen  $10^{-2}$  bis  $10^4$  sek geändert wird, auf Grund des gefundenen Relaxationszeitspektrums nur wenig von der Schwingungsdauer ab.

Dagegen nimmt die dynamische Viskosität proportional der Schwingungsdauer zu.

Für eine Schwingungsdauer  $T_s$  sind für die Grösse der dynamischen Viskosität diejenigen Zusammenhaltsmechanismen praktisch massgebend, deren Relaxationszeit etwas, aber nicht viel kleiner als  $T_s$  ist.

Die bei periodischer Beanspruchung pro  $\text{cm}^3$  und pro Sekunde im Versuchskörper entwickelte Wärmemenge nimmt proportional der

Frequenz der angewandten Schwingung zu, wobei der Proportionalitätsfaktor aus der bei konstanter Belastung auftretenden Deformations-Zeitkurve berechnet werden kann.

Es ist wahrscheinlich, dass die Verteilungsdichte im Relaxationszeitspektrum im Bereiche  $\tau < 10^{-4}$  sek etwas rascher ansteigt, als es die Extrapolation der für das Gebiet  $10^{-2}$  bis  $10^4$  sek gültigen Formel angibt.

Es wird gezeigt, dass diejenigen Zusammenhaltsmechanismen, bei welchen die Relaxationszeit grösser als etwa  $10^{-2}$  sek ist, auf Wahrscheinlichkeitselastizität beruhen dürften, während bei kürzeren Relaxationszeiten in zunehmendem Masse neben oder an Stelle der Wahrscheinlichkeitselastizität eine Energieelastizität tritt.

Das Zustandekommen von Mechanismen mit Wahrscheinlichkeitselastizität und einer Relaxationszeit  $t^*$  ist dahin zu deuten, dass Fadenteile von einem Molgewicht  $M^*$ , welches kleiner als das Molgewicht  $M_r$  des Gesamfadens bzw. Netzbogens sein muss, im Innern der Masse, in welcher sie eingebettet sind, eine Zeit  $t^*$  benötigen, um ihre Konstellation oder Orientierung merklich zu ändern. Es kann demgemäss eine Beziehung zwischen  $t^*$  und  $M^*$  angegeben werden.  $t^*$  hängt von der Viskosität  $\eta^*$  ab, welche das Einbettungsmedium einer *Brown'schen* Bewegung von Fadenteilen vom Molgewicht  $M^*$  entgegengesetzt.

Es kann geschlossen werden, dass  $\eta^*$  mit  $M^*$  rasch, z. B. exponentiell ansteigt.

Im weiteren ist, wie gezeigt wird, die Relaxationszeit eines jeden Zusammenhaltsmechanismus sowohl via Viskosität bestimmend für die übrigen in der Substanz vorkommenden Relaxationszeiten, als auch via Viskosität selbst bestimmt durch diese übrigen Relaxationszeiten.

Basel, Physikalisch-chemisches Institut der Universität.

## 58. Relaxationszeitspektrum bei Systemen mit beliebig vielen, teils in Serie, teils parallel wirkenden, mit Reibung belasteten elastischen Zusammenhaltsmechanismen

von Werner Kuhn.

(4. I. 47.)

In einer kürzlich erschienenen Arbeit<sup>1)</sup> wurde gezeigt, wie das Relaxationszeitspektrum von kautschukartigen Stoffen aus der Fließkurve bestimmt werden kann und wie die Kenntnis dieses Spektrums dazu verwendet werden kann, um Aussagen über weitere Eigenschaften, insbesondere über das viskose Verhalten zu gewinnen. Ausgangspunkt der Betrachtung war die Annahme, dass die pro  $\text{cm}^2$  des Versuchskörpers wirkende Spannung  $\sigma$ , welche in einem Zeitpunkt  $t$  nach rasch erzeugter Dehnung  $\Delta l/l = \alpha$  beobachtet wird, zu bestimmen sei aus der Gleichung

$$E = \frac{\sigma}{\alpha} = \sum_i E_{i0} e^{-\frac{t}{\tau_i}} \quad (1)$$

Die Grössen  $E_{i0}$  haben wir als Grundwerte der Teilelastizitätsmoduln, die  $\tau_i$  als die zugehörigen Relaxationszeiten bezeichnet, während  $E(t)$  der von der Zeit abhängige Elastizitätsmodul der Substanz ist. Für den Fall eines kontinuierlichen Relaxationszeitspektrums wäre (1) zu ersetzen durch das entsprechende Integral

$$E = \int_0^{\infty} \frac{dE_0}{d\tau} e^{-\frac{t}{\tau}} d\tau \quad (2)$$

Nachdem in der genannten Arbeit die theoretische und praktische Bedeutung der Kenntnis eines solchen Relaxationszeitspektrums besprochen wurde, liegt es nahe, nach den genaueren Voraussetzungen zu fragen, unter denen eine durch Gleichung (1) gegebene Abhängigkeit des Elastizitätsmoduls von der Zeit grundsätzlich auftritt.

Wir zeigen nachstehend, dass ein solcher Verlauf und damit ein Relaxationszeitspektrum von der durch Gleichung (1) oder (2) gekennzeichneten Art immer auftritt, wenn beliebig viele, voneinander beliebig verschiedene elastische Federn mit beliebig vielen Reibungsmechanismen teils in Serie, teils parallel zu einem mechanischen System zusammengefasst sind.

Der spezielle Fall, dass beliebig viele elastische Federn mit beliebig anzunehmenden Reibungselementen sämtlich in Serie zueinander geschaltet sind, ist in einer kürzlichen Arbeit allgemein be-

<sup>1)</sup> W. Kuhn, O. Künzle und A. Preissmann, *Helv.* **30**, 307, 464 (1947).

handelt worden<sup>1)</sup>. In diesem Falle reduziert sich (1) auf einen einzigen Term, also einen Grundwert und eine Relaxationszeit für das Gesamtsystem<sup>2)</sup>.

Im Falle zweier parallel geschalteter Mechanismen, von denen jeder mit einem Reibungselement ausgestattet ist, ist die Antwort ebenfalls sofort anzugeben. Sei für den ersten Zusammenhaltsmechanismus  $J_1$  die Härtekonstante und  $\tau_1$  die Relaxationszeit, so gilt im Zeitpunkt  $t$  nach rasch erzeugter Deformation für die auf den Endpunkt  $P_1$  des ersten Mechanismus wirkende Kraft (siehe Fig. 1)

$$\mathfrak{K}_1 = J_1 \Delta h e^{-\frac{t}{\tau_1}} \quad (3)$$

und für die auf den Endpunkt des zweiten Mechanismus wirkende Kraft

$$\mathfrak{K}_2 = J_2 \Delta h e^{-\frac{t}{\tau_2}} \quad (4)$$

Man sieht sofort, dass die auf die parallel geschalteten Mechanismen im Zeitpunkt  $t$  nach Erzeugung einer gemeinsamen Deformation  $\Delta h$  wirkende Kraft einfach gleich der Summe von (3) und (4) ist. Wir erhalten also einen zweigliedrigen Ausdruck vom Typus (1).

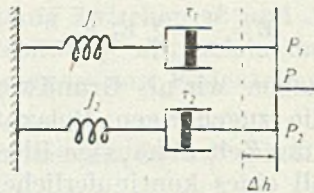


Fig. 1.

Als nächst komplizierteres System betrachten wir den Fall Fig. 2. In Serie zu dem in Fig. 1 betrachteten System von 2 parallel geschalteten Mechanismen liegt eine dritte elastische Feder mit einem (dritten) Reibungselement.

Es werde der Punkt  $P_3$  rasch um  $\Delta h_3$  verschoben und anschließend relativ zur festen Wand  $W$  festgehalten. Nach Erzeugung der

<sup>1)</sup> W. Kuhn und H. Kuhn, Helv. 29, 830 (1946) insbes. S. 841—844.

<sup>2)</sup> Es sei auch auf eine Arbeit von T. Alfrey und P. Doty verwiesen (J. Appl. Phys. 16, 700 (1945)) in welcher verschiedene Möglichkeiten der quantitativen Beschreibung relaxierender Systeme nebeneinander gestellt werden unter Angabe der Formeln, mit Hilfe derer die verschiedenen Darstellungsmöglichkeiten ineinander übergeführt werden können. Die in jener Arbeit stark diskutierte Beschreibung durch sogenannte Voigt'sche Modelle ist in der vorliegenden Arbeit nicht näher diskutiert. Ein Voigt'scher Mechanismus besteht aus einer elastischen Feder und einem parallel dazu wirkenden Dämpfungsmechanismus; wir würden einen solchen Mechanismus erhalten, wenn wir am Modell Fig. 1 beispielsweise die Feder  $J_2$  und die Dämpfung  $\tau_1$  weglassen würden. Ein solcher Mechanismus würde bei sehr rascher Dehnung eine unendlich grosse Rückstellkraft geben, eine Eigenschaft, welche den in hochpolymeren Substanzen vorkommenden Zusammenhaltsmechanismen sicher nicht zukommt. Es ist dies der Grund, weshalb wir eine Darstellung durch Voigt'sche Modelle [welche übrigens eine Entartung der Maxwell'schen Modelle darstellen] nicht in Betracht gezogen haben.

Deformation und auch in jedem beliebigen späteren Zeitpunkt muss die auf den Punkt P (Mitte in Fig. 2) wirkende Kraft gleich 0 sein, also

$$\mathfrak{K}_1 + \mathfrak{K}_2 - \mathfrak{K}_3 = 0 \quad (5)$$

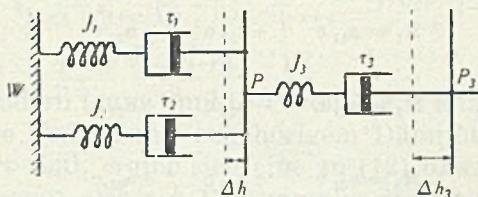


Fig. 2.

Ist  $\Delta h$  die Verschiebung des Punktes P aus der Ruhelage, so ist im Zeitpunkte  $t = 0$  nach Erzeugung der Verschiebung  $\Delta h_3$  am Punkte  $P_3$ :

$$\begin{aligned} \mathfrak{K}_{10} &= J_1 \Delta h \\ \mathfrak{K}_{20} &= J_2 \Delta h \\ \mathfrak{K}_{30} &= J_3 (\Delta h_3 - \Delta h) \end{aligned} \quad (6)$$

Da  $\mathfrak{K}_1 + \mathfrak{K}_2$  einerseits,  $\mathfrak{K}_3$  andererseits im allgemeinen verschieden rasch abklingen, wird  $\Delta h$  den aus (5) und (6) für  $t = 0$  folgenden Wert nicht beibehalten; es wird somit im allgemeinen  $\Delta h$  eine Funktion der Zeit  $t$  sein. Es ist also  $\Delta h$  im allgemeinen von Null verschieden. Für die im Zeitintervall  $t$  bis  $t + dt$  erfolgende Änderung der Kräfte  $\mathfrak{K}_1$ ,  $\mathfrak{K}_2$  und  $\mathfrak{K}_3$  gilt dann auf Grund der Relaxation und auf Grund der Längenänderung  $\Delta h$  zusammen:

$$\begin{aligned} \frac{d\mathfrak{K}_1}{dt} &= -\frac{\mathfrak{K}_1}{\tau_1} + J_1 \Delta \dot{h} \\ \frac{d\mathfrak{K}_2}{dt} &= -\frac{\mathfrak{K}_2}{\tau_2} + J_2 \Delta \dot{h} \\ \frac{d\mathfrak{K}_3}{dt} &= -\frac{\mathfrak{K}_3}{\tau_3} - J_3 \Delta \dot{h} \end{aligned} \quad (7)$$

Wegen (5) muss jetzt

$$\frac{d\mathfrak{K}_1}{dt} + \frac{d\mathfrak{K}_2}{dt} - \frac{d\mathfrak{K}_3}{dt}$$

gleich Null sein und damit folgt aus (7), zur Bestimmung von  $\Delta \dot{h}$ :

$$\Delta \dot{h} = \left( \frac{\mathfrak{K}_1}{\tau_1} + \frac{\mathfrak{K}_2}{\tau_2} - \frac{\mathfrak{K}_3}{\tau_3} \right) \frac{1}{J_1 + J_2 + J_3} \quad (8)$$

Indem wir dies in (7) einsetzen, erhalten wir zur Bestimmung der Zeitabhängigkeit der Kräfte  $\mathfrak{K}_1$ ,  $\mathfrak{K}_2$  und  $\mathfrak{K}_3$  das System von linearen, homogenen Differentialgleichungen:

$$\begin{aligned} \frac{d\mathfrak{K}_1}{dt} &= \frac{\mathfrak{K}_1}{\tau_1} \left[ -1 + \frac{J_1}{J_1 + J_2 + J_3} \right] + \frac{\mathfrak{K}_2}{\tau_2} \frac{J_1}{J_1 + J_2 + J_3} - \frac{\mathfrak{K}_3}{\tau_3} \frac{J_1}{J_1 + J_2 + J_3} \\ \frac{d\mathfrak{K}_2}{dt} &= \frac{\mathfrak{K}_1}{\tau_1} \frac{J_2}{J_1 + J_2 + J_3} + \frac{\mathfrak{K}_2}{\tau_2} \left[ -1 + \frac{J_2}{J_1 + J_2 + J_3} \right] - \frac{\mathfrak{K}_3}{\tau_3} \frac{J_2}{J_1 + J_2 + J_3} \\ \frac{d\mathfrak{K}_3}{dt} &= -\frac{\mathfrak{K}_1}{\tau_1} \frac{J_3}{J_1 + J_2 + J_3} - \frac{\mathfrak{K}_2}{\tau_2} \frac{J_3}{J_1 + J_2 + J_3} + \frac{\mathfrak{K}_3}{\tau_3} \left[ -1 + \frac{J_3}{J_1 + J_2 + J_3} \right] \end{aligned} \quad (9)$$

Die Lösung eines solchen Systems von linearen, homogenen Differentialgleichungen ist nun ganz allgemein vom Typus von Gleichung (1), also:

$$\begin{aligned} \mathfrak{R}_1 &= a_{11} e^{-\frac{t}{\tau_1}} + a_{12} e^{-\frac{t}{\tau_2}} + a_{13} e^{-\frac{t}{\tau_3}} \\ \mathfrak{R}_2 &= a_{21} e^{-\frac{t}{\tau_1}} + a_{22} e^{-\frac{t}{\tau_2}} + a_{23} e^{-\frac{t}{\tau_3}} \\ \mathfrak{R}_3 &= a_{31} e^{-\frac{t}{\tau_1}} + a_{32} e^{-\frac{t}{\tau_2}} + a_{33} e^{-\frac{t}{\tau_3}} \end{aligned} \quad (10)$$

wobei die  $a_{ik}$  sowie die  $\tau_i$  konstante, aus den Koeffizienten der Gleichung (9) zu bestimmende Grössen sind. Damit ist gezeigt, dass bei dem in Fig. 2 vorgegebenen mechanischen System die auf den Endpunkt wirkende Kraft  $\mathfrak{R}_3$  grundsätzlich den in Formel (1) beschriebenen Verlauf besitzen wird.

Ausserdem können wir leicht überblicken, wie diese Betrachtungen und die Ergebnisse zu verallgemeinern sind auf den Fall eines Systems, welches aus beliebig vielen elastischen Federn mit zugehörigen Reibungselementen besteht und welches auf der einen Seite an einer festen Wand (W in Fig. 2) verankert ist, auf der andern Seite durch Bewegung eines Punktes  $P_n$  ( $P_3$  in Fig. 2) als Gesamtheit mechanisch-elastisch beansprucht werden kann.

Für jede der  $n$  in dem System enthaltenen Federn mit zugehörigem Reibungselement gilt eine zu (7) analoge Gleichung, etwa für die  $i^{\text{te}}$  Feder

$$\frac{d\mathfrak{R}_i}{dt} = -\frac{\mathfrak{R}_i}{\tau_i} + J_i A h_i \quad (11)$$

wobei

$$A h_i = h_{i,r} - h_{i,l} \quad (11a)$$

ist, wenn  $h_{i,r}$  und  $h_{i,l}$  die Geschwindigkeit ist, mit welcher sich der in Fig. 2 rechts bzw. links von der Feder liegende, das System der betrachteten Feder plus Reibungselement begrenzende Punkt bewegt. Für Feder 1 und 2 in Fig. 2 war  $h_{1,l} = 0$ , für Feder 3  $h_{3,r} = 0$ . Für jeden derartigen Begrenzungspunkt, z. B. für den rechts liegenden Begrenzungspunkt gilt im allgemeinen Fall die Bedingung, dass entweder  $h_{i,r}$  gleich Null ist [dann, wenn der Begrenzungspunkt entweder mit der festen Wand (W in Fig. 2) oder mit dem Punkt  $P_n$  ( $P_3$  in Fig. 2) zusammenfällt], oder aber, dass die Summe der in diesem Punkt angreifenden Kräfte gleich 0 ist, eine Bedingung analog zu Beziehung 5. Diese Bedingungen haben also etwa die Form

$$\mathfrak{R}_i + \mathfrak{R}_{i+1} + \cdots + \mathfrak{R}_{i-r} - \mathfrak{R}_{i+r+1} - \cdots - \mathfrak{R}_{i+r+s} = 0 \quad (12)$$

oder, nach  $t$  differenziert

$$\dot{\mathfrak{R}}_i + \dot{\mathfrak{R}}_{i+1} + \cdots + \dot{\mathfrak{R}}_{i+r} - \dot{\mathfrak{R}}_{i+r+1} - \cdots - \dot{\mathfrak{R}}_{i+r+s} = 0 \quad (12a)$$





tionszeitspektrums zwar ein Beweis dafür ist, dass in der Substanz parallel zueinander wirkende Zusammenhaltsmechanismen mit verschiedener Relaxationszeit vorkommen, dass sich aber der Parallelwirkung von Mechanismen in beliebig komplizierter Weise eine Serieschaltung zu einem Netz überlagern kann, ohne dass dies durch Analyse des mechanisch-elastischen Verhaltens festgestellt werden kann. Eine solche Analyse kann also, auch wenn sie hinsichtlich des Ergebnisses Gleichung (1) völlig korrekt ist, nicht als Beweis für das Vorliegen bestimmter in wohl definierter Weise miteinander gekoppelter Zusammenhaltsmechanismen verwendet werden. Es gibt stets sehr viele, voneinander inhaltlich ganz verschiedene Systeme elastischer Federn, welche hinsichtlich des Ergebnisses Gleichung (1) genau übereinstimmen. Die einfachste Interpretation eines Relaxationszeitspektrums ist stets die Annahme parallel zueinander wirkender Zusammenhaltsmechanismen. Kompliziertere Deutungen sind aber nie ausgeschlossen, stellen jedoch andererseits, wenn nicht zwingende modellmässige Gründe für die Annahme grösserer Kompliziertheit vorliegen, gegenüber der einfachsten Deutung weder eine Notwendigkeit noch eine Bereicherung der experimentell zu erwartenden Erscheinungen dar.

Wir haben in den vorangehenden Betrachtungen die bei der Bewegung der Federn und Reibungsmechanismen auftretende kinetische Energie vernachlässigt. Das Ergebnis würde durch die Berücksichtigung des Auftretens von Beschleunigungskräften nur unwesentlich geändert. Die Relaxationszeiten können in diesem Falle teilweise komplexe Werte erhalten (Auftreten gedämpfter periodischer Schwingungen gemäss Gleichung 1). Formell sieht man, dass bei Berücksichtigung der Beschleunigungskräfte der Ansatz (12) durch Hinzufügung der Grössen  $m_i \cdot h_i'' + m_{i+1} h_{i+1}'' + \dots$  auf der linken Seite jener Gleichung ergänzt werden muss. In ähnlicher Weise sind die Gleichungen (11) durch die der Beschleunigung der Masse Rechnung tragenden Glieder  $m_i h_i''$  zu ergänzen. All dies lässt den in bezug auf  $h_i$  und  $R_i$  homogenen linearen Charakter der Gleichungen und daher die Form des Lösungssystems unverändert.

### Zusammenfassung

Ein System von beliebig vielen elastischen Federn, von denen jede einen Reibungsmechanismus trägt, kann in beliebig komplizierter Weise dadurch zu einem Gesamtsystem vereinigt sein, dass die mit Reibungsmechanismus ausgerüsteten Federn teils parallel, teils in Serie zu Aggregaten zusammengefasst werden und dass diese Aggregate wieder teils parallel, teils in Serie zu höheren Einheiten zusammengefasst werden usw. Es wird gezeigt, dass die Gesamtwirkung eines solchen Systems nach aussen dieselbe ist wie die Wirkung eines

Systems, welches aus lauter parallel zueinander geschalteten, je einen Reibungsmechanismus tragenden Federn besteht. Der zeitliche Verlauf der Spannung, welche anschliessend an eine rasch erzeugte Dehnung beobachtet wird, lässt sich nämlich in allen diesen Fällen durch eine Beziehung vom Typus der Gleichung (1) darstellen.

Basel, Physikalisch-chemisches Institut der Universität.

## 59. Krystalsymmetrie und Eigensymmetrie der Molekeln

von E. Brandenberger.

(17. I. 47.)

Im Verlaufe von Krystalstrukturbestimmungen werden immer wieder Fälle namhaft gemacht, bei welchen die Eigensymmetrie der Molekeln oder Radikale, wie sie diesen aus chemischen Erwägungen zugeschrieben wird, mit der am entsprechenden Krystall feststellbaren Symmetrie in Widerspruch zu stehen scheint. Um die beiderlei Tatsachen miteinander in Einklang zu bringen, wird in neuerer Zeit bevorzugt zur Annahme gegriffen, es liege eine nicht streng nach den Gesetzen der Strukturtheorie gebaute Krystalstruktur vor. Dabei wird insbesondere der Befund einer hohen (z. B. kubischen oder wirrelichen) Krystalsymmetrie bei nicht entsprechend hoher Symmetrie der Molekeln selber als Ergebnis einer bloss statistisch-unregelmässigen Anordnung der Molekeln hinsichtlich ihrer gegenseitigen Stellung zueinander angesehen oder aber als Folge einer Rotation der Molekeln um bestimmte ausgezeichnete Achsen betrachtet. So hat auch neuerdings wieder *W. Nowacki* im Fall des Chinucidins<sup>1)</sup> diese Schlussweise angewandt, um die kubische Krystalsymmetrie dieser Verbindung bei bloss vier Molekeln von der Eigensymmetrie  $C_{3v}$ — $3m$  in der Elementarzelle zu deuten (die Annahme der trigonalen Molekel-symmetrie  $C_{3v}$  wird dabei aus den Ergebnissen der Erkundung der chemischen Konstitution übernommen). Obgleich diese Deutung zutreffen kann, legt doch auch dieses Beispiel nahe, erneut<sup>2)</sup> darauf hinzuweisen, dass auf Grund der beobachtbaren Daten derartige Folgerungen keineswegs als eindeutig begründet gelten dürfen. Es sind vielmehr hier und in andern Fällen in mehrfacher Richtung Einwände zu berücksichtigen:

1. Zunächst dahin gehend, dass sich auch bei der von *W. Nowacki* untersuchten Verbindung wie in vielen analogen und ähnlich ausgewerteten Fällen der Nachweis einer kubischen Symmetrie des Krystalls allein darauf gründet, dass neben dem optisch isotropen Verhalten der Verbindung die Interferenzen ihres Pulverdiagramms sich einem kubischen Gitter zuordnen lassen. Das aber heisst einzig, dass die Metrik des Gitters (die Gitterform) kubisch ist, besagt indes noch längst nicht, dass unter allen Umständen kubische Symmetrie vorzuliegen braucht, indem ja ganz allgemein kubische Metrik eine zwar notwendige, jedoch keineswegs hinreichende Bedingung für eine kubische Symmetrie darstellt<sup>3)</sup>. Selbst eine bloss pseudokubische Symmetrie wird durch die Feststellung einer kubischen Metrik noch nicht bewiesen, auch dann nicht, wenn innerhalb des Nachweisbaren optisch ein isotropes Verhalten gefunden wird<sup>4)</sup>.

2. Dazu kommt, dass aus dem Fehlen aller Interferenzen mit gemischten Indizes nur dann auf eine allseits flächenzentrierte Translationsgruppe geschlossen werden darf,

<sup>1)</sup> *W. Nowacki*, *Helv.* **29**, 1798 (1946).

<sup>2)</sup> *E. Brandenberger*, *Schweiz. Mineralog. Petrogr. Mitt.* **13**, 91 (1933).

<sup>3)</sup> *E. Brandenberger*, *Z. Kr. [A]* **76**, 1 (1930) und *Angewandte Kristallstrukturlehre*, Berlin 1938.

<sup>4)</sup> *E. Brandenberger*, *Schweiz. Mineralog. Petrogr. Mitt.* **26** (1946) (im Druck).

falls feststeht, dass der Interferenzversuch mit Sicherheit zwischen identischen (also einander parallel gestellten und parallel gleich umgebenen) Molekeln und zueinander nicht identischen, beispielsweise nur gleichwertigen zu unterscheiden gestattet<sup>1)</sup>. Gerade im Falle „kugelförmiger“ Molekeln (wie beim Beispiel des Chinuclidins) dürfte dies, speziell wenn es sich um offensichtlich nur unvollkommen gebaute Krystalle handelt und diese nur der Untersuchung nach der Pulvermethode zugänglich sind, sehr oft nicht zutreffen. Damit beschränkt sich aber die Aussage des Röntgendiagramms auf die Anordnung der Molekelzentren und muss die gegenseitige Stellung der Molekeln im Raume der einzelnen Elementarzelle offen bleiben. Das bedeutet, dass als mögliche Symmetriefälle nicht nur jene mit der allseits flächenzentrierten Translationsgruppe  $F$ , sondern auch solche mit dem einfach primitiven Gitter  $P$  in Betracht zu ziehen sind. Derartige Möglichkeiten gibt es im Rahmen der kubischen Raumsysteme eine ganze Reihe, indem eine Anordnung der Teilchen zu einer Struktur mit Molekelzentren in  $(000)$ ,  $(\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0)$ ,  $(\frac{1}{2}, 0, \frac{1}{2})$ ,  $(0, \frac{1}{2}, \frac{1}{2})$  z. B. auch in den Raumgruppen  $T^1-P23$ ,  $T^1-P2_13$ ,  $T^2_P-Pn3$ ,  $T^0_{II}-Pa3$ ,  $T^1_d-P43m$ ,  $O^2-P4_23$ ,  $O^4_{II}-Pn3m$  möglich ist. Für das Chinuclidin dürften hierunter insbesondere die Fälle  $T^1$ ,  $T^4$  und  $T^1_d$  Bedeutung erlangen, weil die Eigensymmetrie der fraglichen Punktlagen bei den zwei ersten Raumsystemen  $C_3-3$ , im Falle des letzteren  $C_{3v}-3m$  ist, also mit der Molekelsymmetrie verträglich wäre, wie sie der chemischen Strukturformel entspricht. Dabei ist allerdings nicht zu übersehen, dass die Eigensymmetrie einer Molekel wie überhaupt jeglicher Atomkonfiguration (also nicht nur molekularer, sondern auch krystalliner Atomverbände) wesentlich höher sein kann als die Symmetriebedingungen der entsprechenden Punktlagen des zugehörigen Raumsystems. Darauf beruht ja unter anderm, weshalb die Zuordnung der Krystallarten — Molekel- und Krystallverbindungen — zu den verschiedenen Raumgruppen über die Symmetrieverhältnisse der massgebenden Bauzusammenhänge der Krystallstruktur häufig nichts Wesentliches aussagt<sup>2)</sup>.

3. Widersprüche, wie sie bei Strukturbestimmungen von der hier interessierenden Art bestehen, können schliesslich auch darauf beruhen, dass Pseudoperioden zu eigentlichen Translationsperioden gewählt werden. Die Schwierigkeit, bei der fraglichen Krystallstruktur eine den Gesetzen der Strukturtheorie entsprechende Atomanordnung zu finden, wird dann ohne weiteres gehoben, wenn von der vermeintlichen Elementarzelle, welche nur eine Pseudozelle ist, zur eigentlichen Elementarzelle übergegangen wird. Auch in dieser Beziehung verlangt eine Untersuchung wie jene am Chinuclidin, die nur unter Verwendung der Pulvermethode ausführbar war und Krystalle von beeinträchtigtem Interferenzvermögen zu verwenden hatte, eine besonders vorsichtige Interpretation, indem unter diesen Umständen sehr leicht Interferenzen von geringer Intensität übersehen und dementsprechend dann die Translationsperioden zu klein gewählt werden<sup>3)</sup>.

Aus alledem folgt, dass die von *W. Nowacki* beim Chinuclidin und bereits von manchen andern Autoren bei andern Verbindungen früher angewandte Schlussweise nur eine unter mehreren, an sich zunächst völlig gleichberechtigten darstellt. Erst, wenn erwiesen ist, dass keine der hier erwähnten, weitem Möglichkeiten einer strukturtheoretisch „normalen“ Krystallstruktur zutreffen kann und das experimentelle Material hierzu überhaupt ausreicht, erhält die Annahme statistischer Ordnung oder einer Rotation der Molekel den hinreichenden Grad von Sicherheit.

Laboratorium für technische Röntgenographie und Feinstrukturuntersuchung an der Eidg. Materialprüfungsanstalt und am Mineralogischen Institut der E.T.H.

<sup>1)</sup> Siehe hierüber ausführlich bei *E. Brandenberger*, Angewandte Kristallstrukturlehre, S. 155f.

<sup>2)</sup> *E. Brandenberger*, Röntgenographisch-analytische Chemie, Basel 1945 (speziell S. 266f.).

<sup>3)</sup> Ein Beispiel hierfür bei *R. L. Parker* und *E. Brandenberger*, Schweiz. Mineralog.-Petrogr. Mitt. **26**, 12 (1946).

## 60. Bemerkungen zur vorstehenden Abhandlung von *E. Brandenberger*<sup>1)</sup>.

Von W. Nowacki.

(20. I. 47.)

Es ist sicherlich begrüßenswert, wenn immer wieder auf Vieldeutigkeiten beim Bestimmen von Krystallstrukturen hingewiesen wird, besteht doch ein grosser Wert der mathematischen Strukturlehre gerade darin, die Vielfalt der geometrischen Möglichkeiten darzulegen, so dass man vor falschen oder voreiligen Schlüssen bewahrt bleibt.

Wir sind uns durchaus bewusst, dass eine kubische Metrik noch kein hinreichender Beweis für kubische Symmetrie ist. Hingegen ist uns bis jetzt kein Fall einer optisch-isotropen Substanz, welche nicht-kubisch kristallisieren würde, bekannt geworden. Es wäre theoretisch denkbar, dass die Abweichungen von der kubischen Symmetrie oder der kubischen Metrik so klein wären, dass sie nicht wahrgenommen würden; doch muss man sich fragen, ob man mit solcher Argumentation weiter käme, weil schliesslich jede Struktur als niedriger-symmetrisch angesehen werden kann.

Es ist wohl bekannt, dass die Auswahlregel „nur ungemischte Indizes vorhanden“ keineswegs eindeutig eine flächenzentrierte Translationsgruppe ergibt, sondern, dass noch andere Möglichkeiten in Betracht gezogen werden müssen. So hatten auch wir die Raumgruppen  $T^1-P23$ ,  $T^1-P2_13$ ,  $T^2_Pn3$ ,  $T^6_Pn3$ ,  $T^4_P43m$ ,  $O^2-P4_23$  und  $O^4_Pn3m$  mit einfach-primitiver Translationsgruppe  $P$ , bei welchen eine flächenzentrierte Anordnung nur der Molekelzentren, hingegen eine einfach-primitive der Molekelatome vorliegen würde (bei fixierter Lage aller Molekeln), berücksichtigt, sie aber wieder ausgeschlossen, denn es würden dann sicherlich auch gemischte Indizes zu beobachten sein, was aber nicht der Fall ist. Es wäre nun allerdings an sich möglich, dass bei der starken Untergrundschwärzung der Filme Linien mit gemischten Indizes vorhanden, aber nicht beobachtbar wären. Unter dieser Voraussetzung wäre die Translationsgruppe nicht mehr flächenzentriert und obige einfach-primitive Raumgruppen wären durchaus in Betracht zu ziehen; damit aber auch eine fixierte Molekellage (der Symmetrie  $C_3-3$  oder  $C_{3v}-3m$ ). Eine statistische Anordnung der Molekeln mit flächenzentrierter Lage der Molekelzentren bei einfach-primitiver Translationsgruppe ist sicher von einer ebensolchen Anordnung bei flächenzentrierter Translationsgruppe nicht zu unterscheiden. Aus diesen Gründen wurde in unserer Arbeit über Chinolidin auch keine spezielle Raumgruppe als die „richtige“ angegeben.

Um ganz vollständig zu sein, müsste man endlich auch die Möglichkeit einer Komposition, d. h. eines Ineinanderstellens zweier Gitter (mit 1- und 3-Zähligkeit) in Betracht ziehen, wofür aber bis jetzt keine Anzeichen vorliegen.

Wenn das Koordinationspolyeder um ein Teilchen einer Krystallstruktur z. B. die Form eines Oktaeders hat, die Symmetriebedingung seiner Punktlage in der Raumgruppe aber nur  $C_3-3$  ist, so würden wir vorziehen, nicht zu sagen, die Teilchensymmetrie sei höher als die Punktsymmetrie, sondern das Teilchen habe in der betreffenden Struktur und Raumgruppe die Symmetrie  $C_3-3$ . Die 6 „Oktaeder“-Ecken erweisen sich damit als ungleichwertig ( $6 = 3 + 3$ ).

Was die Zuordnung der molekularen Verbindungen und der Krystallverbindungen zu den 219 Raumgruppen betrifft<sup>2)</sup>, so hat die Statistik zum mindesten bei den organischen Verbindungen die wesentlichen, allgemeinen krystallstrukturellen Bauprinzipien erkennen lassen<sup>3)</sup>, während für die übrigen Verbindungsklassen die Statistik im einzelnen noch nicht interpretiert worden ist.

Mineralogisch-petrographisches Institut der Universität Bern.

<sup>1)</sup> *E. Brandenberger*, *Helv.* **30**, 493 (1947).      <sup>2)</sup> *W. Nowacki*, *Helv.* **25**, 863 (1942).

<sup>3)</sup> *W. Nowacki*, *Helv.* **26**, 459 (1943); *Mitt. Natf. Ges. Bern [N.F.]* **2**, 43 (1945); *Helv.* **28**, 664 (1945).

61. 2-Desoxy-*d*-gulose-3-methyläther<sup>1</sup>).Desoxyzucker 14. Mitteilung<sup>2</sup>)

von A. C. Maehly und T. Reichstein.

(17. I. 47.)

Vor kurzem wurde gezeigt, dass man durch Umsetzung geeigneter Abkömmlinge der 2,3-Anhydro-*d*-allose mit NaSCH<sub>3</sub> zu Derivaten der 2-Methylthio-*d*-altrose gelangen kann, aus denen sich durch reduktive Entschwefelung nach *Mozingo* und Mitarb.<sup>3</sup>) 2-Desoxyzucker gewinnen liessen<sup>4</sup>)<sup>5</sup>). In dieser Arbeit wurde zunächst versucht, ob man nicht auch direkt aus dem 2-Tosyl-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (VI)<sup>e</sup>)<sup>1</sup>)<sup>6</sup>) durch Umsetzung mit NaSCH<sub>3</sub> zum 2-Methylthio-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther oder zum entsprechenden 2-Methylthio-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-talosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther gelangen kann, aus denen sich leicht Derivate des 2-Desoxy-*d*-galaktose-3-methyläthers hätten bereiten lassen.

Die Gewinnung von (VI) geschah auf einem neuen Weg. 4,6-Benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$  (I)<sup>a</sup>)<sup>b</sup>)<sup>c</sup>) wurde partiell carbäthoxyliert. Die analoge Reaktion ist in der  $\beta$ -Reihe bereits durchgeführt worden und lieferte vorwiegend das 3-Mono-carbäthoxy-Derivat<sup>f</sup>). In der  $\alpha$ -Reihe verläuft sie etwas weniger einheitlich, doch liess sich unter Zuhilfenahme der chromatographischen Trennung neben dem Di-carbäthoxy-Derivat (II) das 3-Mono-carbäthoxy-Derivat (III) rein fassen. (II) sowie Mischfraktionen von nicht genau ermittelter Zusammensetzung konnten leicht wieder zu (I) verseift werden, das erneut zum Umsatz gelangte.

Aus dem so in ca. 60% Ausbeute erhaltenen (III) liess sich durch Tosylierung leicht das 2-Tosyl-3-carbäthoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$  (IV) gewinnen, das bei der Verseifung mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in wässrigem Methanol das bekannte 2-Tosyl-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$  (V)<sup>e</sup>)<sup>1</sup>) lieferte. Methylierung mit CH<sub>3</sub>J und Ag<sub>2</sub>O gab in bekannter Weise (VI)<sup>e</sup>)<sup>1</sup>). Beim Erhitzen von (VI) mit methanolischer Natrium-methylmercaptid-Lösung auf 80° trat keine Umsetzung ein. Wurde das Gemisch im Einschlussrohr auf 100° erhitzt, so liessen sich 70% 4,6-Benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (VII)<sup>1</sup>) gewinnen. Statt der gewünschten Umsetzung war also

<sup>1</sup>) Auszug aus der Diss. A. C. Maehly, die demnächst erscheint.

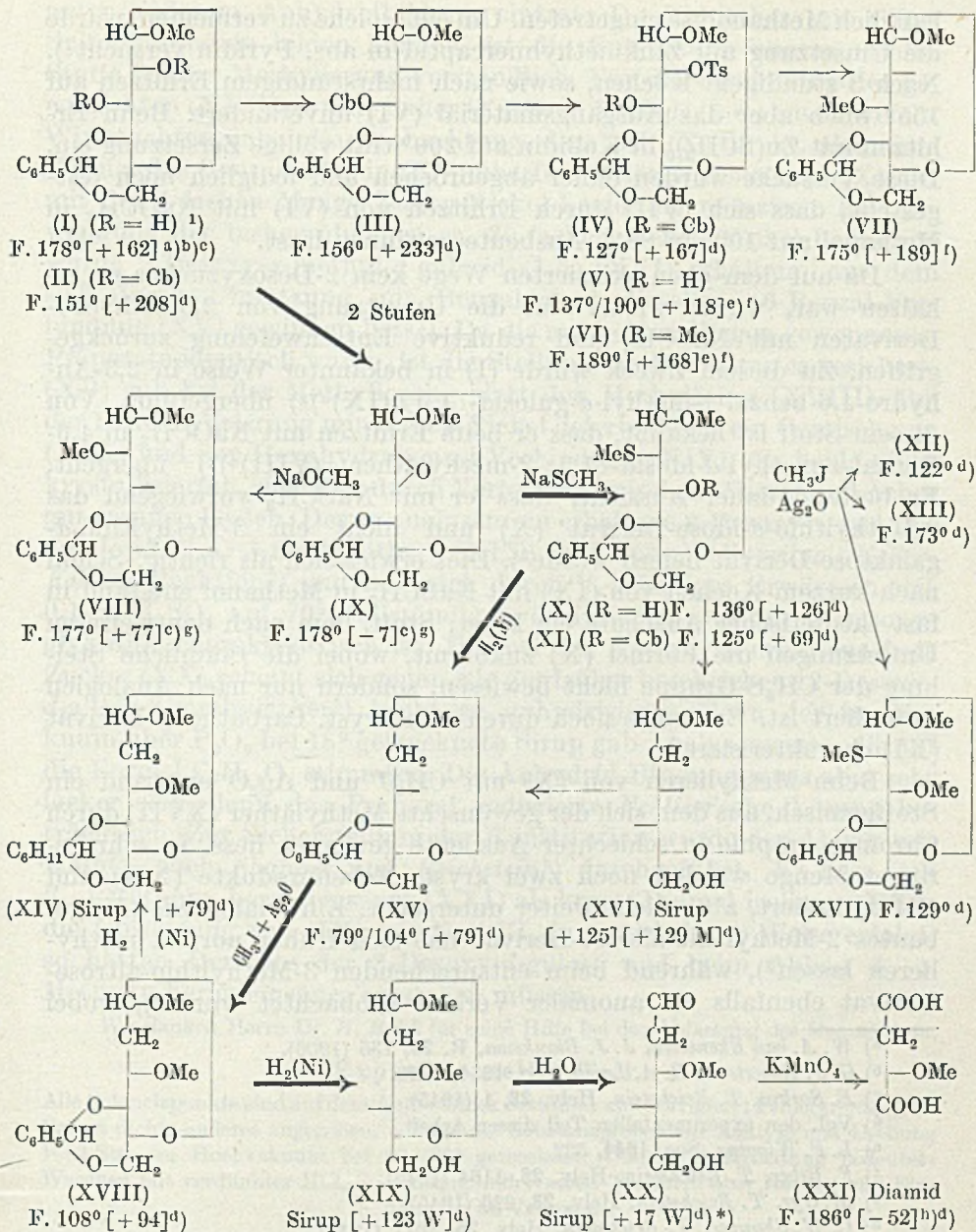
<sup>2</sup>) 13. Mitteilung M. Gut, T. Reichstein, Helv. 29, 1555 (1946).

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

<sup>4</sup>) R. Jeanloz, D. A. Prins, T. Reichstein, Exper. 1, 336 (1945).

<sup>5</sup>) R. Jeanloz, D. A. Prins, T. Reichstein, Helv. 29, 371 (1946).

<sup>6</sup>) Die mit den Buchstaben a)–h) bezeichneten Fussnoten siehe auf der Formelseite.



Abkürzungen: Me = CH<sub>3</sub>-; Cb = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>·O·CO-; Ts = p-CH<sub>2</sub>·C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>·SO<sub>2</sub>-.  
Der präparative Weg ist durch fette Pfeile markiert. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: ohne Bezeichnung = Chloroform; M = Methanol; W = Wasser.

<sup>1)</sup> Fussnoten a)–h) siehe S. 498.

\*) Auf das Anhydrid berechnet.

lediglich Methanolyse eingetreten. Um eine solche zu vermeiden, wurde die Umsetzung mit Zinkmethylmercaptid in abs. Pyridin versucht<sup>1)</sup>. Nach 3-stündigem Kochen, sowie nach mehrstündigem Erhitzen auf 155° blieb aber das Ausgangsmaterial (VI) unverändert. Beim Erhitzen mit Zn(SCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in Kollidin auf 260° trat völlige Zersetzung ein. Diese Versuche wurden daher abgebrochen und lediglich noch festgestellt, dass sich (VII) durch Erhitzen von (VI) mit NaOCH<sub>3</sub> in Methanol auf 100° in 88% Ausbeute gewinnen lässt.

Da auf dem oben skizzierten Wege kein 2-Desoxyzucker zu erhalten war, wurde wieder auf die Umsetzung von 2,3-Anhydro-Derivaten mit NaSCH<sub>3</sub> und reduktive Entschwefelung zurückgegriffen. Zu diesem Zweck wurde (I) in bekannter Weise in 2,3-Anhydro-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle$ 1,5 $\rangle$  (IX)<sup>c)</sup><sup>e)</sup> übergeführt. Von diesem Stoff ist bekannt, dass er beim Erhitzen mit NaOCH<sub>3</sub> in 4,6-Benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-idosid- $\langle$ 1,5 $\rangle$ -2-methyläther (VIII)<sup>c)</sup><sup>e)</sup> übergeht. Es bestand daher Aussicht, dass er mit NaSCH<sub>3</sub> vorwiegend das 2-Methylthio-*d*-idose-Derivat (X) und nicht ein 3-Methylthio-*d*-galaktose-Derivat liefern würde<sup>2)</sup>. Dies erwies sich als richtig. Schon nach kurzem Kochen von (IX) mit NaSCH<sub>3</sub> in Methanol entstand in fast theoretischer Ausbeute ein kryst. Stoff, dem nach den weiteren Umsetzungen die Formel (X) zukommt, wobei die räumliche Stellung der CH<sub>3</sub>S-Gruppe nicht bewiesen, sondern nur nach Analogien formuliert ist. Er wurde noch durch sein kryst. Carbäthoxy-Derivat (XI) charakterisiert.

Beim Methylieren von (X) mit CH<sub>3</sub>J und Ag<sub>2</sub>O entstand ein Stoffgemisch, aus dem sich der gewünschte Methyläther (XVII) durch Chromatographie in schlechter Ausbeute gewinnen liess. In sehr geringer Menge wurden noch zwei kryst. Nebenprodukte (XII) und (XIII) isoliert, aber nicht weiter untersucht. Ein analog wie (X) gebautes 2-Methylthio-altrose-Derivat hat sich früher normal methylieren lassen<sup>3)</sup>, während beim entsprechenden 3-Methylthio-altrose-Derivat ebenfalls ein anomaler Verlauf beobachtet wurde<sup>4)</sup>, wobei

a) *W. A. van Ekenstein, J. J. Blanksma, R. 25, 135 (1906).*

b) *G. J. Robertson, R. A. Lamb, Soc. 1934, 1321.*

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

d) Vgl. den experimentellen Teil dieser Arbeit.

e) *L. F. Wiggins, Soc. 1944, 522.*

f) *F. Reber, T. Reichstein, Helv. 28, 1164 (1945).*

g) *M. Gyr, T. Reichstein, Helv. 28, 226 (1945).*

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

<sup>1)</sup> Tosylate primärer Alkohole, sowie primäre Alkyljodide liefern unter diesen Bedingungen in guter Ausbeute Methylthioäther.

<sup>2)</sup> Bei der Öffnung des Äthylenoxyd-Ringes wird die Konfiguration des C-Atoms, an dem der Sauerstoff haften bleibt, nicht geändert, während an demjenigen, an das der Schwefel tritt, wahrscheinlich Konfigurationswechsel stattfindet.

<sup>3)</sup> *R. Jeanloz, D. A. Prins, T. Reichstein, Helv. 29, 371 (1946).*

<sup>4)</sup> *H. R. Bolliger, D. A. Prins, Helv. 29, 1061 (1946).*

unter anderem Anhydridbildung eintrat. Da Thioäther mit  $\text{CH}_3\text{J}$  Sulfoniumjodide bilden können, ist die Entstehung unerwünschter Stoffe bei der Methylierung verständlich. Für die Gewinnung des gewünschten (XVIII) wurde daher (X) nach *Mozingo* (l. c.) entschweifelt. Wir machten dabei die Beobachtung, dass sich (X) direkt, also ohne Verlust des Benzalrestes in (XV) überführen lässt, wenn man (X) nur mit der 4-fachen Menge *Raney*-Nickel-Legierung reduziert. Bei Anwendung der bisher üblichen ca. 30-fachen Menge Nickel-Legierung wurde 2-Desoxy- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle 1,5 \rangle$  (XVI) erhalten, aus dem sich durch Umsetzung mit Benzaldehyd dieselbe 4,6-Benzal-Verbindung (XV) gewinnen liess<sup>1)</sup>. Da die auf beiden Wegen gewonnenen Präparate identisch waren, ist die Stellung des Benzalrestes gesichert. (XV) gab bei der Methylierung glatt den Methyläther (XVIII). Bei der Druckhydrierung mit *Raney*-Nickel lieferte dieser ein Gemisch von (XIX) und der Hexahydrobenzal-Verbindung (XIV), die beide nicht krystallisierten, sich aber durch Verteilung zwischen Wasser und Äther gut trennen liessen. Der so analysenrein erhaltene 2-Desoxy- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (XIX) gab eine olivgrüne *Keller-Kiliani*-Reaktion<sup>2)</sup> und liess sich durch  $\frac{3}{4}$ -ständiges Erwärmen mit 0,1-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf 70° vollständig hydrolysieren, was für 2-Desoxyglykoside charakteristisch ist. Der bei der Hydrolyse erhaltene freie Zucker (XX) scheint sich genau wie der früher beschriebene 2-Desoxy-*d*-allose-3-methyläther<sup>3)</sup> leicht zu anhydrieren, denn der im Vakuum über  $\text{P}_2\text{O}_5$  bei 18° getrocknete Sirup gab Analysenwerte, die auf die Formel  $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_4$  stimmten. Die Anhydrid-Bindung muss aber sehr locker sein, denn das Präparat reduzierte *Fehling'sche* Lösung beträchtlich. Zur Sicherstellung der Konstitution wurde der Abbau mit  $\text{KMnO}_4$  nach *Shoppee* und *Reichstein*<sup>4)</sup> durchgeführt. Es liess sich *l*(-)-Methoxy-bernsteinsäure (XXI) als kryst. Diamid isolieren. Wäre die Umsetzung von (IX) mit  $\text{NaSCH}_3$  in umgekehrter Weise erfolgt, so hätten Derivate der 3-Desoxy-*d*-gulose und beim Abbau *d*(+)-Methoxy-bernsteinsäure entstehen müssen.

Wir danken Herrn Dr. H. Reich für seine Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

### Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ . Sofern nichts anderes angegeben, wurden die Substanzproben zur Analyse und Drehung 1—2 Std. im Hochvakuum bei 60—80° getrocknet. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Waschen mit verdünnter  $\text{HCl}$ , Sodalösung und Wasser, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen im Vakuum.

<sup>1)</sup> In Spuren wurde auf beiden Wegen noch ein kryst. isomeres Nebenprodukt vom Smp. 194° erhalten, das nicht weiter untersucht wurde. Es wäre nicht ausgeschlossen, dass der verwendete (IX) Spuren des isomeren 2,3-Anhydro-talosid-Derivats enthalten hat. Dieses würde auf dem benützten Wege wahrscheinlich ein 3-Desoxy-talosid-Derivat geben.

<sup>2)</sup> Vgl. analoge Färbungen beim 2-Desoxy- $\alpha$ -methyl-*d*-allosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther<sup>3)</sup>, beim 2-Desoxy-*d*-allose-3-methyläther<sup>3)</sup> und beim 2-Desoxy-*d*-glucose-3-methyläther<sup>4)</sup>.

<sup>3)</sup> R. Jeanloz, D. A. Prins, T. Reichstein, *Helv.* **29**, 371 (1946).

<sup>4)</sup> H. R. Bolliger, D. A. Prins, *Helv.* **29**, 1121 (1946).



2,3-Dicarbäthoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$  (II).

250 mg 4,6-Benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$  (I)<sup>a</sup>)<sup>b</sup>)<sup>c</sup>), Smp. 171°, wurden in 0,38 cm<sup>3</sup> Pyridin und 1,25 cm<sup>3</sup> alkoholfreiem Chloroform gelöst und innert 5 Minuten tropfenweise mit der Lösung von 380 mg (= 4 Mol) Chlorameisensäure-äthylester in 2,5 cm<sup>3</sup> alkoholfreiem Chloroform versetzt. Dann wurde wenig Eis zugegeben und 10 Minuten geschüttelt. Die wässrige Phase wurde noch mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt und mit der ursprünglichen Chloroformlösung vereinigt. Die übliche Aufarbeitung gab 360 mg farbloses Öl, das auf Zusatz von Äthanol kristallisierte. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther wurden 300 mg (= 80%) Prismen vom Smp. 146—148° erhalten. Erneutes Umkrystallisieren aus Aceton-Äther und Benzol-Petroläther erhöhte den Smp. auf 150—151°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{19} = +208,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,291$  in Chloroform).

32,336 mg Subst. zu 2,5050 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{19} = +2,69^\circ \pm 0,02^\circ$

3,723 mg Subst. gaben 7,683 mg CO<sub>2</sub> und 2,074 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub> (426,41) Ber. C 56,33 H 6,15%  
Gef. „ 56,32 „ 6,24%

3-Carbäthoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$  (III).

10 g 4,6-Benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$  (I), Smp. 168—172°, wurden in 10 cm<sup>3</sup> Pyridin und 40 cm<sup>3</sup> alkoholfreiem Chloroform gelöst, die Lösung auf 0° abgekühlt und unter Rühren die Lösung von 5 g (= 1,3 Mol) Chlorameisensäure-äthylester in 40 cm<sup>3</sup> alkoholfreiem Chloroform innert 10 Min. zugepft. Die Aufarbeitung erfolgte wie im vorhergehenden Versuch und gab 10,5 g farbloses Öl. Es wurde in Benzol gelöst und auf eine Säule von 60 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (= ca. 6-fache Menge) gegeben. Zur Elution dienten je 200 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel. Je 8 mit Benzol und Benzol-Äther 1:1 eluierte Fraktionen lieferten 9,3 g Krystalle, die ein Gemisch von (II) und (III) darstellten. Mit Äther wurde nur wenig Öl eluiert, dagegen mit Äther-Methanol 1,2 g (= ca. 12%) Ausgangsmaterial (I). Aus dem obigen Gemisch liessen sich durch Umkrystallisieren aus Methanol 1,27 g (II) vom Smp. 151—154° abtrennen. Die eingedampften Mutterlaugen wurden aus Chloroform-Äther umkrystallisiert und gaben 6,54 g (= 59% auf umgesetztes Material berechnet) (III) vom Smp. 153—156°. Erneutes Umkrystallisieren aus Aceton-Äther und Benzol-Petroläther gab farblose Nadeln vom Smp. 154—156°. Die Mischprobe mit (II) schmolz bei 120—130°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{17} = +233,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,174$  in Chloroform).

29,399 mg Subst. zu 2,5050 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +2,74^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Std. im Hochvakuum bei 100° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,666 mg Subst. gaben 7,719 mg CO<sub>2</sub> und 2,091 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub> (354,35) Ber. C 57,62 H 6,26%  
Gef. „ 57,46 „ 6,38%

2-Tosyl-3-carbäthoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$  (IV).

4,5 g 3-Carbäthoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$  (III), Smp. 152—155°, wurden in 15 cm<sup>3</sup> alkoholfreiem Chloroform gelöst, mit 6 g (= 3 Mol) Tosylchlorid und 9 cm<sup>3</sup> Pyridin versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluss 72 Std. bei 38° stehen gelassen. Nach Zusatz von 8 cm<sup>3</sup> Wasser wurde 2 Std. geschüttelt, dann die wässrige Schicht mit Chloroform ausgezogen und diese Lösungen mit der ursprünglichen Chloroformlösung vereinigt. Die übliche Aufarbeitung gab 6,85 g Öl. Aus abs. Äthanol wurden 5,91 g (= 92%) Nadeln vom Smp. 126—127° erhalten. Die Mutterlaugen lieferten noch 170 mg weniger reines Material. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{18} = +166,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,051$  in Chloroform).

10,564 mg Subst. zu 1,0052 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = +1,75^\circ \pm 0,02^\circ$

3,780 mg Subst. gaben 7,820 mg CO<sub>2</sub> und 1,889 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

2,646 mg Subst. verbr. 1,072 cm<sup>3</sup> 0,01-n. KOH (*Pregl*) (E.T.H.)

C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>O<sub>10</sub>S (508,53) Ber. C 56,68 H 5,55 S 6,30%

Gef. „ 56,46 „ 5,58 „ 6,49%

### 2-Tosyl-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉 (V)<sup>1</sup>.

4 g 2-Tosyl-3-carbäthoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉 (IV), Smp. 126—127°, wurden in 120 cm<sup>3</sup> Methanol heiss gelöst, auf 18° abgekühlt und mit einer Lösung von 2,48 g K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 24 cm<sup>3</sup> Wasser und 40 cm<sup>3</sup> Methanol versetzt. Das Gemisch wurde 20 Std. bei 18° stehen gelassen, wobei sich reichlich Krystalle abschieden, die abgenutscht und mit Methanol-Wasser gewaschen wurden. Nach dem Trocknen wogen sie 2,6 g und schmolzen bei 185—188°. Das Filtrat wurde im Vakuum bei 20° zum dünnen Sirup eingedampft und mit Chloroform ausgezogen. Die übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Benzol gab 660 mg (V) vom Smp. 185—186°. Aus der Mutterlauge wurden weitere 140 mg gewonnen, sodass die Ausbeute 3,26 g (= 95%) betrug. Die Mischprobe mit authentischem Material<sup>1</sup>) gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

### 2-Tosyl-4,6-benzyl- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉-3-methyläther (VI)<sup>1</sup>.

Diese Substanz wurde nach den Angaben von *Reber* und *Reichstein*<sup>1</sup>) bereitet. Es erwies sich als günstig, das Ag<sub>2</sub>O portionsweise zuzugeben. Aus 2 g (V) wurden 1,95 g (= 90%) (VI) vom Smp. 185—188° erhalten. Sie erwiesen sich mit authentischem Material<sup>1</sup>) als identisch, während die Mischprobe mit (V) eine deutliche Schmelzpunkts-erniedrigung zeigte.

Versuche, die TsO-Gruppe in (VI) durch -SCH<sub>3</sub> zu ersetzen.

#### a) mit NaSCH<sub>3</sub>-Lösung.

22,5 g Natrium wurden in 450 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und bei 0° mit 60 g gekühltem Methylmercaptan versetzt. 100 mg 2-Tosyl-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉-3-methyläther (VI), Smp. 185—188°, wurden mit 0,7 cm<sup>3</sup> der obigen NaSCH<sub>3</sub>-Lösung (entspr. 5 Mol) 5 Std. unter Rückfluss gekocht. Die im Vakuum eingedampfte Lösung wurde mit wenig Wasser versetzt und mit Chloroform ausgezogen. Die übliche Aufarbeitung lieferte nach Umkrystallisieren aus Methanol-Äther nur unverändertes Ausgangsmaterial (VI).

In einem weiteren Versuch wurden 100 mg (VI) mit 2,8 cm<sup>3</sup> obiger NaSCH<sub>3</sub>-Lösung (entspr. 20 Mol) 5 Std. im Einschlussrohr auf 100° erhitzt. Die wie oben durchgeführte Aufarbeitung gab 57 mg Abdampfrückstand. Aus Chloroform-Äther krystallisierten 47 mg (= 70%) verfilzte Nadeln vom Smp. 171—172°, die sich als schwefelfrei erwiesen. Die Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial (VI) schmolz bei 150—182°. Die Substanz erwies sich nach Mischprobe als identisch mit 4,6-Benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉-3-methyläther (VII)<sup>1</sup>).

#### b) mit Zn(SCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in Pyridin.

2,6 g Zinkacetat-dihydrat wurden in 7 cm<sup>3</sup> Wasser und 7 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und mit der Lösung von 1 g Methylmercaptan in 20 cm<sup>3</sup> Methanol versetzt, worauf das Zinkmethylmercaptid sofort ausfiel. Es wurde abgenutscht, mit Wasser, Methanol und Äther gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet. Ausbeute 1,74 g. — 100 mg 2-Tosyl-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid-〈1,5〉-3-methyläther (VI) und 105 mg (= 3 Mol) Zinkmethylmercaptid wurden in 2 cm<sup>3</sup> Pyridin gelöst und unter Wasserausschluss 3 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Entfernung des Pyridins im Vakuum wurde 2-n. Natronlauge zugegeben und mit Chloroform ausgezogen. Die mit Wasser gewaschenen und getrockneten Chloroformlösungen lieferten nach Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther 49 mg Nadelbüschel vom Smp. 185—186°, die sich als unverändertes Ausgangsmaterial erwiesen. Vierstündiges Erhitzen von 100 mg (VI) mit 105 mg Zn(SCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in 3 cm<sup>3</sup> Pyridin im Einschlussrohr auf 155° führte zum gleichen negativen Ergebnis. Es wurden 86 mg Ausgangsmaterial (VI) zurückerhalten.

4,6-Benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (VII)<sup>f</sup>.

300 mg 2-Tosyl-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (VI), Smp. 185—188°, wurden mit 8,4 cm<sup>3</sup> 2-n. Natriummethylat-Lösung in Methanol (ca. 15 Mol NaOCH<sub>3</sub>) im Einschlussrohr 5 Std. auf 100° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Lösung stark eingengt, Wasser zugesetzt und das Methanol im Vakuum vollständig vertrieben. Die Suspension wurde mit Chloroform ausgeschüttelt und die Lösungen mit wenig Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der kristalline Rückstand (192 mg) wurde aus Aceton-Äther umkristallisiert und gab 171 mg (= 88%) Nadelchen vom Smp. 172—173°, die mit authentischem (VII)<sup>f</sup> keine Schmelzpunktserniedrigung zeigten.

3-Tosyl-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ <sup>c</sup>.

18 g 4,6-Benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$  (I), Smp. 171°, wurden unter den früher beschriebenen Bedingungen<sup>f</sup>) tosyliert. Das Rohprodukt wog 27,54 g und wurde aus Methanol und Aceton-Äther umkristallisiert, wodurch zunächst 8,75 g Ditosylat vom Smp. 177—179°, dann 1,38 g 2-Tosylat vom Smp. 178—184° und schliesslich 3,29 g 3-Tosylat vom Smp. 171—173° erhalten werden konnten. Die Mutterlaugen (10,5 g) wurden über 285 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 900 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel. Mit Benzol und Benzol-Äther 99:1 liessen sich 1,05 g Ditosylat, mit weiteren Benzol-Äther-Gemischen und Äther 7,24 g eines Gemisches der beiden Mono-tosylate und mit Äther-Methanol 4:1 und Methanol 1,66 g Ausgangsmaterial (I) eluieren. Das Gemisch der Mono-tosylate konnte durch fraktionierte Krystallisation aus Aceton-Äther weitgehend getrennt werden. Die gesamte Ausbeute betrug, auf umgesetztes Material berechnet, 27% Ditosylat, 14% 2-Tosylat (Smp. 180—184°) und 22% 3-Tosylat (Smp. 173—176°).

2,3-Anhydro-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle 1,5 \rangle$  (IX)<sup>c</sup>)<sup>g</sup>.

4 g 3-Tosyl-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ , Smp. 172—175°, wurden in 50 cm<sup>3</sup> Methanol warm gelöst und mit der Lösung von 3,47 g (= 3 Mol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 35 cm<sup>3</sup> Wasser und 115 cm<sup>3</sup> Methanol 15 Std. unter Rückfluss gekocht, wobei sich die Lösung dunkelbraun färbte. Dann wurde im Vakuum eingengt, mit Wasser versetzt, das Methanol vollständig entfernt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Waschen mit Wasser, Trocknen und Eindampfen gab 2,0 g Rohprodukt. Durch Umkristallisieren aus Methanol-Äther-Petroläther 1,68 g (= 64%) feine Nadeln vom Smp. 174—175°, die sich mit authentischem Material<sup>c</sup>) als identisch erwiesen. Weiteres 2,3-Anhydro-gulosid (IX) wurde aus dem obigen Ditosylat nach der Vorschrift von *Sorkin* und *Reichstein*<sup>e</sup>) gewonnen. Das dabei als Nebenprodukt entstehende 2,3-Anhydro-talosid<sup>g</sup>) kann leicht von (IX) getrennt werden, da es in Äther schwerer löslich ist als dieses.

2-Methylthio-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-idosid- $\langle 1,5 \rangle$  (X).

2,1 g 2,3-Anhydro-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle 1,5 \rangle$  (IX), Smp. 172—175°, wurden mit 15 cm<sup>3</sup> einer aus 22,5 g Natrium, 450 cm<sup>3</sup> Methanol und 60 g Methylmercaptan bereiteten NaSCH<sub>3</sub>-Lösung 1½ Std. unter Rückfluss gekocht (Feuchtigkeitsausschluss). Beim Abkühlen erstarrte die Lösung zu einem Krystallbrei. Es wurde im Vakuum auf das halbe Volumen eingengt, 15 cm<sup>3</sup> Wasser zugegeben und das Methanol vollständig abgedampft. Die Suspension wurde mit 450 cm<sup>3</sup> Äther ausgeschüttelt, die Auszüge mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt (2,42 g) gab aus Aceton-Äther-Petroläther farblose, zu Büscheln vereinigte Nadeln vom Smp. 135—136°. Die wässrigen Lösungen lieferten durch Ausschütteln mit Chloroform noch 21 mg (X). Die gesamte Ausbeute betrug 2,40 g (= 97%). Durch weiteres Umkristallisieren liess sich der Schmelzpunkt nicht mehr erhöhen. Bei einem grösseren Ansatz wurde später jedoch ein Smp. von 141—143° gefunden. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{13,5} = +26,4^{\circ} \pm 1^{\circ}$  (c = 1,136 in Chloroform).

28,452 mg Subst. zu 2,5050 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18,5} = +0,30^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$

3,722 mg Subst. gaben 7,845 mg CO<sub>2</sub> und 2,172 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

5,510 mg Subst. verbr. 3,456 cm<sup>3</sup> 0,01-n. KOH (*Pregl*) (E.T.H.)

C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>S (312,37) Ber. C 57,67 H 6,45 S 10,26%  
Gef. „ 57,52 „ 6,53 „ 10,05%

2-Methylthio-3-carbäthoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-idosid- $\langle 1,5 \rangle$  (XI).

200 mg 2-Methylthio-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-idosid- $\langle 1,5 \rangle$  (X), Smp. 135—136°, wurden in 0,3 cm<sup>3</sup> Pyridin und 1 cm<sup>3</sup> alkoholfreiem Chloroform gelöst. Dann wurde die Lösung von 208 mg (= 3 Mol) Chlorameisensäure-äthylester in 1,4 cm<sup>3</sup> alkoholfreiem Chloroform unter Umschütteln innert 5 Min. zugetropft und 1 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Zusatz von Eis wurde 10 Min. geschüttelt, mehr Chloroform zugegeben und wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt (244 mg) wurde aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und gab 229 mg (= 94%) grosse farblose Prismen vom Smp. 124—125°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{17} = +69,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,129$  in Chloroform).

28,275 mg Subst. zu 2,5050 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +0,78^\circ \pm 0,02^\circ$

3,777; 3,770 mg Subst. gaben 7,869; 7,700 mg CO<sub>2</sub> und 2,190; 2,063 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

4,398 mg Subst. verbr. 1,131 cm<sup>3</sup> 0,02-n. KJO<sub>3</sub> (S-Best. nach *Bürger*<sup>1)</sup> (E.T.H.)

C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>S (384,43) Ber. C 56,23 H 6,29 S 8,34%  
Gef. „ 56,86; 55,74 „ 6,49; 6,12 „ 8,24%

2-Methylthio-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-idosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (XVII).

200 mg 2-Methylthio-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-idosid- $\langle 1,5 \rangle$  (X), Smp. 135—136°, wurden 1 Std. bei 70° im Hochvakuum getrocknet und mit 0,4 g über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> im Vakuum getrocknetem Ag<sub>2</sub>O und 10 g CH<sub>3</sub>J 5 Std. unter Rückfluss gekocht (Feuchtigkeitsausschluss). Nach der 2. und 4. Stunde wurden noch je 0,4 g Ag<sub>2</sub>O zugegeben. Das CH<sub>3</sub>J wurde vollständig im Vakuum abdestilliert und der Rückstand mit Chloroform ausgezogen. Die Auszüge lieferten 204 mg Rohprodukt, das über 7 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde. Zum Nachwaschen dienten je 10 cm<sup>3</sup> der in der folgenden Tabelle genannten Lösungsmittel.

Fraktion Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand
1—3	Petroläther-Benzol 9:1	—
4—6	„ „ 9:1	25 mg Nadeln, Smp. 107—120°
7—9	„ „ 9:1	14 mg Gemische
10—12	„ „ 4:1	} 36 mg Nadeln, Smp. 163—170°
13—14	„ „ 1:1	
15—16	„ „ 1:1	18 mg Gemische
17—18	Benzol	} 75 mg feine Nadelchen, Smp. 110—130°
19	Benzol-Äther 9:1	
20—23	„ „ 1:1	
24—30	Äther und Methanol	31 mg ölige Gemische

Die Fraktionen 4—6 gaben nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 12 mg farblose Nadeln vom Smp. 120—122° (XII). Die Substanz erwies sich als S-frei. Zur Analyse wurde sie unmittelbar vor dem Verbrennen geschmolzen.

3,688 mg Subst. gaben 8,848 mg CO<sub>2</sub> und 2,211 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

2,705 mg Subst. verbr. 5,507 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (*Zeisel-Vieböck*) (E.T.H.)

C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub> (292,32) Ber. C 65,73 H 6,90 —OCH<sub>3</sub> 21,23%  
Gef. „ 65,47 „ 6,71 „ 21,05%

<sup>1)</sup> K. *Bürger*, Z. angew. Ch. 54, 479 (1941); 55, 245 (1942).

Über die Konstitution dieser Substanz lässt sich nichts aussagen. Aus den Fraktionen 10—14 konnten durch Umkrystallisieren aus Aceton-Äther einige mg kurze, farblose Stäbchen vom Smp. 172—173° (XIII) gewonnen werden. Bei der Mischprobe mit 2,3-Anhydro-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle$ 1,5 $\rangle$  (IX) (Smp. 176—178°) zeigten sie eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung. Auf eine Analyse musste wegen Materialmangel verzichtet werden.

Die Fraktionen 17—23 wurden nochmals chromatographisch gereinigt, bei 0,05 mm und 100° Badtemperatur im Molekularkolben sublimiert und aus Äther-Petroläther umkrystallisiert. Es wurden 9 mg feine, lange Nadeln vom Smp. 126—129° (XVII) erhalten.

3,674 mg Subst. gaben 7,931 mg CO<sub>2</sub> und 2,234 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

3,074 mg Subst. verbr. 0,933 cm<sup>3</sup> 0,02-n. KJO<sub>3</sub> (S-Best. nach *Bürger*<sup>1)</sup>) (E.T.H.)

C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>S (326,40) Ber. C 58,87 H 6,79 S 9,82%

Gef. „ 58,77 „ 6,81 „ 9,73%

2-Desoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle$ 1,5 $\rangle$  (XV) aus (X).

5 g gepulverte Ni-Al-Legierung<sup>2)</sup> (= 1,2 g pro Millimol der zu hydrierenden Substanz) wurden portionsweise unter mechanischem Rühren innert 1 Std. in 700 cm<sup>3</sup> 3,5-proz. NaOH eingetragen, sodass die Temperatur 35° nicht überstieg. Anschliessend wurde 1 Std. auf 50° erwärmt. Nach dem Erkalten wurde das Nickel gründlich mit Wasser gewaschen, in 1/2 Liter Äthanol aufgeschlemmt und dieses bis auf 15 cm<sup>3</sup> abgegossen. 1,3 g 2-Methylthio-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-idosid- $\langle$ 1,5 $\rangle$  (X), Smp. 135—136°, wurden in 50 cm<sup>3</sup> Äthanol gelöst, zum Katalysator gegeben und nach Zusatz von 12 cm<sup>3</sup> Wasser 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Hierauf wurde vom Katalysator abgesaugt, dieser gründlich mit Äthanol gewaschen und das Filtrat im Vakuum zur Trockne gedampft. Nach Aufnehmen in Aceton und Filtration wurde erneut eingedampft. Der Rückstand wurde zwischen Chloroform und Wasser verteilt und die Chloroformlösungen getrocknet und eingedampft. Sie lieferten 1,07 g (= 93%) leicht gelblichen Sirup, der über 30 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde. Zum Nachwaschen dienten je 100 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel. Die mit Petroläther-Benzol, Benzol und Benzol-Äther 19:1 eluierten Fraktionen lieferten nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 650 mg (= 57%) 2-Desoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle$ 1,5 $\rangle$  (XV) vom Smp. 77—79°. Sie wurden bei 90° im Hochvakuum sublimiert und nochmals aus Äther-Petroläther umkrystallisiert. Die so erhaltenen Krystalle stellten farblose, dünne Stäbchen vom Smp. 78—79° dar. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{20,5} = +79,0^\circ \pm 1^\circ$  (c = 1,190 in Chloroform).

29,870 mg Subst. zu 2,5112 cm<sup>3</sup>; *l* = 1 dm;  $\alpha_D^{20,5} = +0,94^\circ \pm 0,01^\circ$

3,714 mg Subst. gaben 8,580 mg CO<sub>2</sub> und 2,286 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub> (266,28) Ber. C 63,15 H 6,81%

Gef. „ 63,04 „ 6,88%

Die mit Benzol-Äther 1:1 eluierten Fraktionen wurden aus Aceton-Äther-Petroläther umkrystallisiert und lieferten farblose Nadeln vom Smp. 190—191°. Nach erneutem Umkrystallisieren schmolzen sie bei 194—195°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{20} = +121,4^\circ \pm 1^\circ$  (c = 1,186 in Chloroform).

12,030 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>; *l* = 1 dm;  $\alpha_D^{20} = +1,44^\circ \pm 0,01^\circ$

3,726 mg Subst. gaben 8,558 mg CO<sub>2</sub> und 2,252 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

2,443 mg Subst. verbr. 2,731 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (*Zeisel-Vieböck*) (E.T.H.)

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub> (266,28) Ber. C 63,15 H 6,81 —OCH<sub>3</sub> 11,65%

Gef. „ 62,68 „ 6,76 „ 11,56%

Die Substanz ist also mit (XV) isomer. Möglicherweise handelt es sich um ein 3-Desoxy-talosid-Derivat.

<sup>1)</sup> *K. Bürger*, Z. angew. Ch. 54, 479 (1941); 55, 245 (1942).

<sup>2)</sup> Diese Nickel-Legierung wurde uns von der *Ciba A.G.*, Basel, zur Verfügung gestellt, wofür hier bestens gedankt sei.

Die bei der Aufarbeitung erhaltene wässrige Lösung wurde im Vakuum eingedampft und lieferte 55 mg (= 7%) eines farblosen Sirups, der zur Hauptsache aus (XVI) bestanden haben dürfte.

Bei einem späteren Ansatz wurde das Reaktionsprodukt zwischen Wasser und Äther verteilt, die Ätherlösung wie üblich aufgearbeitet und der Rückstand im Hochvakuum fraktioniert (Molekularkolben). Die bis 90° übergehende Fraktion wurde aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und gab grosse Prismen vom Smp. 103—104°. Bei der Mischprobe mit dem oben erhaltenen Präparat vom Smp. 77—79° wandelte sich dieses in die höherschmelzende Form um, sodass die ganze Menge bei 103—104° schmolz. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{19} = +77,3^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,139$  in Chloroform).

28,528 mg Subst. zu 2,5050 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{19} = +0,88^\circ \pm 0,02^\circ$

Es handelt sich also um eine zweite Modifikation von (XV).

### 2-Desoxy- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XVI).

1,0 g 2-Methylthio-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-idosid- $\langle 1,5 \rangle$  (X), Smp. 134—135°, wurden in 40 cm<sup>3</sup> Äthanol gelöst und zu einer Aufschlemmung von aus 30 g (= 10 g pro Millimol der zu hydrierenden Substanz) Ni-Al-Legierung bereiteten Raney-Nickel (siehe oben) in 20 cm<sup>3</sup> Äthanol gegeben. Nach Zusatz von 14 cm<sup>3</sup> Wasser wurde 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung erfolgte wie im vorhergehenden Versuch. Die chloroformlöslichen Anteile wogen 35 mg (= 4%) und stellten ein gelbliches Öl dar, das zur Hauptsache aus (XV) bestanden haben dürfte. Die wasserlöslichen Anteile gaben nach zweitägigem Trocknen im Vakuumexsikkator 550 mg (= 96%) 2-Desoxy- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle 1,5 \rangle$  (XVI) als hygroskopischen Sirup. Er wurde im Hochvakuum destilliert und die zwischen 60 und 70° übergehenden Anteile zur Drehung und Analyse verwendet. Zur Drehung wurde 3 Tage im Vakuumexsikkator über CaCl<sub>2</sub> und 1 Std. im Hochvakuum bei 40° getrocknet. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{18} = +129,3^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,430$  in Methanol);  $[\alpha]_D^{18} = +124,8^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 1,103$  in Chloroform).

35,921 mg Subst. zu 2,5112 cm<sup>3</sup> (Methanol);  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = +1,85^\circ \pm 0,02^\circ$

27,711 mg Subst. zu 2,5112 cm<sup>3</sup> (Chloroform);  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = +1,38^\circ \pm 0,04^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Tage über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

4,180 mg Subst. gaben 7,173 mg CO<sub>2</sub> und 2,993 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub> (178,18) Ber. C 47,18 H 7,92%

Gef. „ 46,83 „ 8,01%

Bei der Benzalierung, die in Anlehnung an eine frühere Vorschrift<sup>1)</sup> durchgeführt wurde, konnten aus 520 mg (XVI) 733 mg rohes Benzal-Derivat (XV) erhalten werden, das durch Chromatographie über 20 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> gereinigt wurde. Es wurden so 348 mg (= 45%) reines (XV) vom Smp. 76—78° gewonnen, das bei der Mischprobe mit dem direkt aus (X) bereiteten Präparat keine Schmelzpunktserniedrigung gab. Als Nebenprodukt wurde wieder eine kleine Menge Nadelchen vom Smp. 191—192° erhalten, die mit dem oben analysierten Nebenprodukt vom gleichen Smp. identisch waren.

### 2-Desoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (XVIII).

500 mg 2-Desoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle 1,5 \rangle$  (XV), Smp. 78—79°, wurden 3 Tage im Vakuum über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet und mit 1 g trockenem Ag<sub>2</sub>O und 10 g CH<sub>3</sub>J 5 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach der 2. und 4. Stunde wurde noch je 1 g Ag<sub>2</sub>O zugegeben. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie bei (XVII). Aus dem kryst. Rohprodukt (530 mg) liessen sich durch Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 428 mg (= 83%) (XVIII) vom Smp. 105—108° gewinnen. Nach nochmaligem Umkrystallisieren aus

<sup>1)</sup> H. R. Bolliger, D. A. Prins, Helv. 29, 1061 (1946).

Äther-Petroläther stellte es Büschel feiner Nadeln vom Smp. 107—108° dar. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{20} = +93,6^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,090$  in Chloroform).

27,294 mg Subst. zu 2,5050 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{20} = +1,02^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,640 mg Subst. gaben 8,566 mg CO<sub>2</sub> und 2,363 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

2,425 mg Subst. verbr. 5,223 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Zeisel-Vieböck) (E.T.H.)

C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub> (280,31) Ber. C 64,27 H 7,19 —OCH<sub>3</sub> 22,14%  
Gef. „ 64,23 „ 7,27 „ 22,26%

2-Desoxy- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (XIX) und sein Hexahydrobenzal-Derivat (XIV) aus (XVIII).

660 mg 2-Desoxy-4,6-benzal- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (XVIII), Smp. 105—108°, wurden in 5 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und mit dem aus 1 g Ni-Al-Legierung frisch bereiteten Raney-Nickel bei 100 Atm. H<sub>2</sub>-Druck 13 Std. auf 60—70° erwärmt. Dann wurde vom Katalysator abfiltriert, im Vakuum zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit Wasser versetzt und mehrmals mit Äther ausgezogen. Die Ätherauszüge gaben nach dem Trocknen und Eindampfen 184 mg (= 27%) Sirup (XIV). Eine Probe wurde zur Drehung und Analyse im Hochvakuum bei 70° sublimiert und 1 Std. bei 40° getrocknet. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{18} = +79,4^{\circ} \pm 1^{\circ}$  ( $c = 1,165$  in Chloroform).

58,0  $\pm$  0,2 mg Subst. zu 4,980 cm<sup>3</sup>;  $l = 2$  dm;  $\alpha_D^{18} = +1,85^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,999 mg Subst. gaben 9,17 mg CO<sub>2</sub> und 3,29 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub> (286,36) Ber. C 62,91 H 9,15%  
Gef. „ 62,72 „ 9,23%

Die wasserlöslichen Anteile wurden im Vakuum eingedampft und gaben 318 mg Rohprodukt, das im Hochvakuum bei 60° destilliert wurde. Es wurden so 306 mg (= 68%) eines farblosen Sirups (XIX) erhalten. Zur Drehung und Analyse wurde er erneut im Hochvakuum destilliert und 1 Std. bei 20° getrocknet. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{19} = +122,5^{\circ} \pm 4^{\circ}$  ( $c = 1,142$  in Wasser).

28,619 mg Subst. zu 2,5050 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{19} = +1,40^{\circ} \pm 0,04^{\circ}$

Zur Analyse wurde 3 Tage über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

4,448 mg Subst. gaben 8,16 mg CO<sub>2</sub> und 3,40 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

3,146 mg Subst. gaben 7,752 mg AgJ (Zeisel) (F.W.)

C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub> (192,21) Ber. C 49,99 H 8,39 —OCH<sub>3</sub> 32,29%  
Gef. „ 50,06 „ 8,55 „ 32,57%

2-Desoxy-*d*-gulose-3-methyläther (XX).

438 mg 2-Desoxy- $\alpha$ -methyl-*d*-gulosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (XIX) wurden in 4 cm<sup>3</sup> 0,1-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gelöst und 45 Min. auf 70° erwärmt. Dann wurde mit frisch gefälltem BaCO<sub>3</sub> neutralisiert und über frisch gefälltes, gründlich mit Wasser gewaschenes BaCO<sub>3</sub> abgesaugt. Das Filtrat und die Waschwässer wurden im Vakuum bei 35° auf 3 cm<sup>3</sup> eingengt. Zur Drehung wurde eine Probe über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> eingedunstet, dann 3 Tage getrocknet und 1 Std. im Hochvakuum bei 60° nachgetrocknet. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{20} = +17,1^{\circ} \pm 3^{\circ}$  (nach ca. 1 Std.;  $c = 0,700$  in Wasser, auf das Anhydrid berechnet, s. u.).

17,539 mg Subst. zu 2,5050 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{20} = +0,12^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Die zur Drehung verwendete Lösung wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Aceton aufgenommen, die Lösung filtriert und erneut eingedampft und der zurückbleibende Sirup 1 Std. im Hochvakuum bei 20° getrocknet. Vor der Verbrennung wurde noch 3 Tage über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

4,472 mg Subst. gaben 8,60 mg CO<sub>2</sub> und 3,05 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> (160,17) Ber. C 52,49 H 7,55%  
Gef. „ 52,48 „ 7,63%

Der Analyse nach handelt es sich um ein Anhydrid des 2-Desoxy-*d*-gulose-3-methyläthers (XX), das wahrscheinlich erst beim Trocknen unter Verlust von 1 Mol H<sub>2</sub>O entstanden ist. Vgl. die entsprechende Beobachtung beim 2-Desoxy-*d*-allose-3-methyläther<sup>1</sup>).

*l*(-)-Methoxy-bernsteinsäure (XXI) aus (XX).

Die Hauptmenge des oben erhaltenen (XX) (ca. 380 mg) in 3 cm<sup>3</sup> Wasser wurde unter Durchleiten von CO<sub>2</sub> tropfenweise innert 2 Std. mit der Lösung von 1,55 g KMnO<sub>4</sub> in 30 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 16 Std. im Dunkeln stehen gelassen. Die Aufarbeitung erfolgte genau nach der Vorschrift von *Shopee* und *Reichstein*<sup>h</sup>). Die Fraktionierung des entstandenen Estergemisches bei 12 mm lieferte

44 mg vom Sdp. 30—70°  
11 mg vom Sdp. 70—90°  
und 10 mg Rückstand

Die beiden Destillate wurden getrennt mit je der 10-fachen Menge einer bei 0° gesättigten Lösung von trockenem NH<sub>3</sub> in Methanol versetzt und 48 Std. gut verschlossen stehen gelassen. Hierauf wurde eingedampft und bei 0,005 mm und 100—160° Badtemperatur im Molekularkolben sublimiert. Aus der höhersiedenden Fraktion konnte keine kryst. Substanz gewonnen werden. Die tiefersiedende Fraktion gab 14 mg Sublimat, das nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol-Äther 6 mg Diamid von (XXI) vom Smp. 183—185° lieferte. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{10} = -51,7^\circ \pm 6^\circ$  (*c* = 0,483 in Methanol).

4,858 mg Subst. zu 1,0052 cm<sup>3</sup>; *l* = 1 dm;  $\alpha_D^{10} = -0,25^\circ \pm 0,03^\circ$

*Shopee* und *Reichstein*<sup>h</sup>) fanden für *l*(-)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid  $[\alpha]_D^{18} = -57,2^\circ \pm 2^\circ$  (*c* = 0,979 in Methanol), *Jeanloz*, *Prins* und *Reichstein*<sup>1</sup>)  $[\alpha]_D^{21} = -55,8^\circ \pm 2^\circ$  (*c* = 0,986 in Methanol).

Nach erneuter Sublimation im Hochvakuum und Umkrystallisieren aus Methanol-Äther wurden feine Prismen vom Smp. 185—186° erhalten. Die Mischprobe mit aus Cymarose bereitetem Diamid vom Smp. 183—185°<sup>h</sup>) schmolz bei 183—186°, diejenige mit *d*(+)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid (Smp. 184—185°<sup>h</sup>) bei 180—182°.

Die Mikroanalysen wurden teils im mikroanalytischen Laboratorium der Eidgen. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser* (E.T.H.)), teils im Laboratorium von *F. Weiser*, Basel (F.W.), ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

## 62. Zur Kenntnis lokalanästhetisch wirksamer Pyridin-4-carbonsäure-Derivate

von *J. Büchi*, *P. Labhart* und *L. Ragaz*.

(18. 1. 47.)

Verbindungen, welche die Erregbarkeit und Leitfähigkeit der peripheren Nerven ohne Beeinflussung der Funktion anderer Körperzellen reversibel aufzuheben vermögen, sind in sehr vielen chemischen Körperklassen gefunden worden. Wir verdanken *Miescher*<sup>2</sup>) und dann *Moore*<sup>3</sup>) systematische Übersichten der Lokalanästhetika, die erken-

<sup>1</sup>) *R. Jeanloz*, *D. A. Prins*, *T. Reichstein*, *Helv.* **29**, 371 (1946).

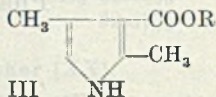
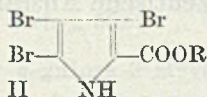
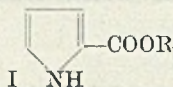
<sup>2</sup>) *Miescher*, *Helv.* **15**, 172 (1932).      <sup>3</sup>) *Moore*, *J. Am. Pharm. Ass.* **33**, 193 (1944).



nen lassen, dass Säurederivate und zwar Ester neutraler Alkohole und von Amino-alkoholen, sowie Amide, eine grosse therapeutische Bedeutung erlangt haben. Die meisten bewährten Lokalanästhetika sind Ester aromatischer Carbonsäuren mit den verschiedenartigsten aliphatischen und cyclischen Amino-alkoholen. Äusserst zahlreiche arzneimittelsynthetische Studien befassten sich in der Folge mit der Frage, ob sich die vor allem bewährte Benzoe- und p-Aminobenzoesäure durch eine andere Säurekomponente ersetzen lässt. Die wichtigsten Untersuchungen in dieser Richtung und ihre Resultate sind in der nebenstehenden Übersicht zusammengestellt

Die Übersicht lässt erkennen, dass vor allem zahlreiche Ester-Derivate von auf die mannigfaltigste Weise substituierten Benzolmonocarbonsäuren, Benzoldicarbonsäuren, Arylfettsäuren und mehrkernigen Carbonsäuren (z. T. auch von Amino-, Alkylamino- und Alkoxy-substituierten) hergestellt und pharmakologisch überprüft wurden. Mit Ausnahme der Phenylelessigsäure-Derivate sind in diesen Körpergruppen mehr oder weniger stark lokalanästhetisch wirksame Ester gefunden worden. Aus dieser grossen Reihe von synthetischen Verbindungen hat nur eine, das Hydrochlorid des Dimethylamino-äthylesters der p-Butylaminobenzoesäure (= Pantocain) Eingang in den Arzneischatz gefunden.

Nachdem durch *Miescher*<sup>1)</sup> im Percain (= 2-Butoxy-chinolin-4-carbonsäure-diäthyl-äthylendiamid-Hydrochlorid) ein vorzügliches Lokalanästhetikum aufgefunden wurde, wandte sich das arzneimittelsynthetische Interesse in vermehrtem Masse den Estern und Amididen heterocyclischer Carbonsäuren zu. So stellten *Blicke* und *Blake*<sup>2)</sup> und *Gilman* und *Pickens*<sup>3)</sup> verschiedene Ester der einfachen und substituierten Pyrrol-carbonsäuren (I—III)



her und fanden, dass sie ebenfalls schwach lokalanästhetisch wirksam sind. Die uns näher interessierende Pyridincarbonsäure-Reihe ist zuerst von *Ingersoll* und *Robbins*<sup>4)</sup> bearbeitet worden. Die von ihnen hergestellten basischen Nicotinsäure-ester (IV) entbehren jeglicher anästhetischer Wirksamkeit; dasselbe ist auch von den von uns synthetisierten Isonicotinsäure-estern (V) und basischen Säureamiden zu sagen; auch sie sind absolut inaktiv. *Renshaw* und *Dreisbach*<sup>5)</sup> hingegen gelangten zu wirksamen Verbindungen, indem sie im

<sup>1)</sup> *Miescher*, Helv. 15, 172 (1932).

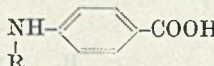

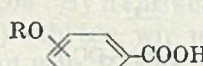
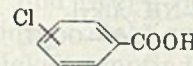
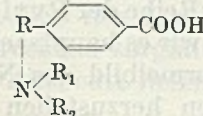
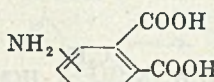
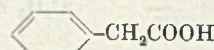
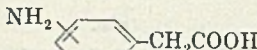
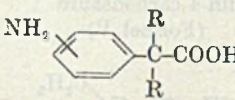
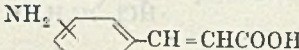
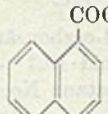
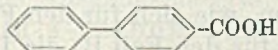
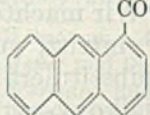
<sup>2)</sup> *Blicke* und *Blake*, Am. Soc. 53, 1015 (1931).

<sup>3)</sup> *Gilman* und *Pickens*, Am. Soc. 47, 245 (1925).

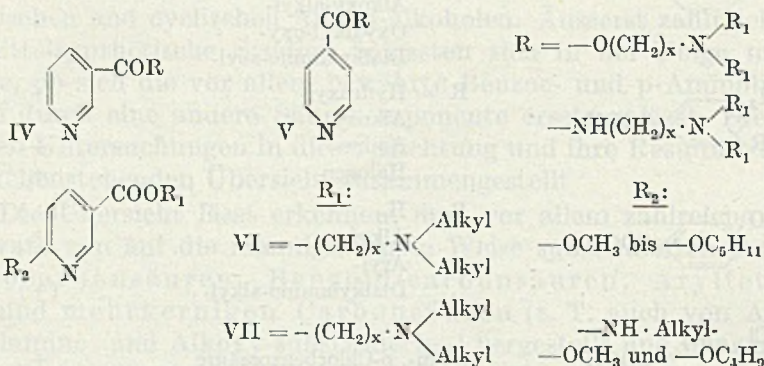
<sup>4)</sup> *Ingersoll* und *Robbins*, Am. Soc. 48, 2499 (1926).

<sup>5)</sup> *Renshaw* und *Dreisbach*, A.P. 2194567 (1940).

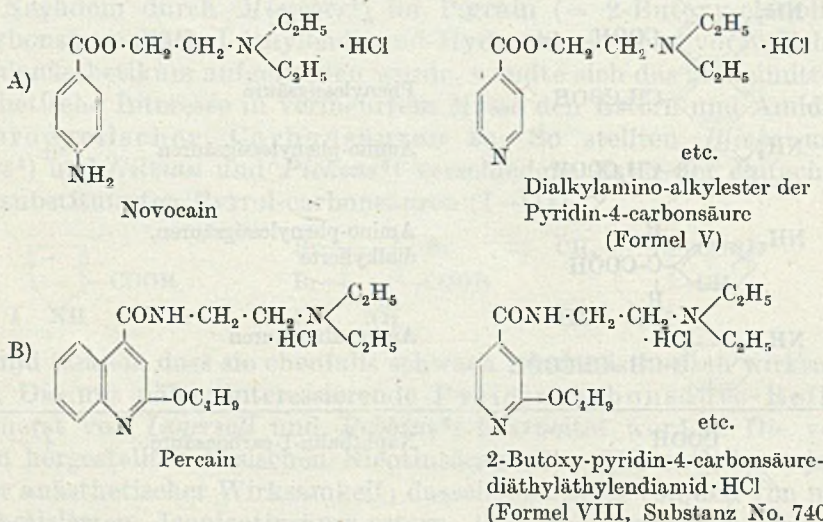
Variation der Säurekomponente bei Dialkylamino-alkylestern

		Lokalanästhet. Wirkung
	R = Alkyl-, Arylalkyl- Alkoxy-alkyl- Oxyalkyl-oxy- Dialkylamino-acyl-	++
	R = Hydroxyl- Alkoxy- Amino- Halogen-	+ ++ + +
	R = H- Alkyl- Aryl- Dialkylamino-alkyl-	(+) +  (+)
	o-, m-, p-Chlorbenzoesäure	+
	R1 = H-, Alkyl- R2 = Alkyl-, Benzyl-	(+)
	2-Aminophtalsäure 4- „	+ +
	Phenylelessigsäure	-
	Amino-phenylelessigsäuren	±
	Amino-phenylelessigsäuren, dialkylierte	-
	Amino-zimtsäuren	+
	Naphthalin-1-carbonsäure	+
	Diphenyl-4-carbonsäure	+
	Anthracen-1-carbonsäure	+

Pyridinkern neben der veresterten Carboxylgruppe eine Äther- bzw. Alkylaminogruppe einführen. Die Hydrochloride der basischen Ester (VI) und (VII) sind nach Auffassung dieser Autoren als Lokalanästhetika zu verwenden.

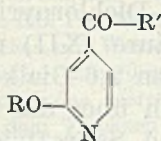


Wir untersuchten nun die Verhältnisse in der Reihe der Pyridin-4-carbonsäure (Isonicotinsäure). Dabei hatten wir es hauptsächlich darauf abgesehen, in der Pyridin-Reihe dem Formelbild des Novocains und Percains entsprechende Verbindungen herzustellen und zu überprüfen:



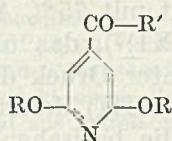
Es erschien uns interessant abzuklären, wie sich für den Fall A) das Hereinbringen des N in den Ring und für den Fall B) die Unterdrückung des Benzolringes im Chinolinrest auswirkt. Wir machten die Feststellung, dass auch hier die Wirkung sprunghaft eintritt, wenn in Stellung 2 ein, bzw. in 2 und 6 je ein Ätherrest substituiert wird. Sowohl die 2-Alkoxy- (VIII) als auch die 2,6-Dialkoxy-pyridin-4

carbonsäure-ester und -amide (IX) zeigen je nach der Grösse des Ätherrestes teils beträchtliche lokalanästhetische Wirksamkeit.



VIII

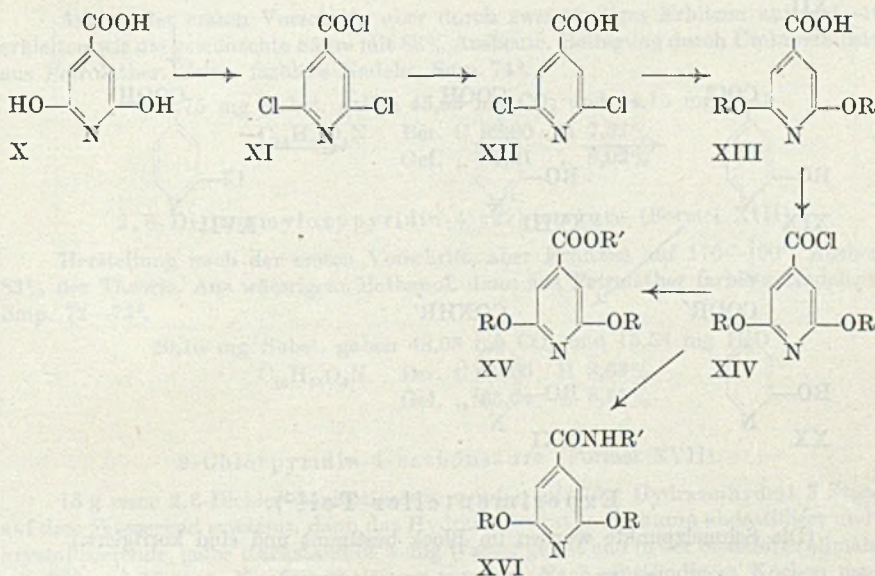
R = Alkyl: C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>  
R' = Alkoxy-, bas. Alkylamin



IX

R = Alkyl: C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>  
R' = Alkoxy-, bas. Alkylamin

Die Synthese der Pyridin-4-carbonsäure (Isonicotinsäure) führten wir nach der Methode von *Wibaut* und *Arens*<sup>1)</sup> ausgehend von Pyridin über 4-Äthylpyridin und dessen Oxydation mit Kaliumpermanganat durch. Die Herstellung des Säurechlorids nach *Meyer* und *Graf*<sup>2)</sup> bereitete anfangs einige Schwierigkeiten, da das Reaktionsprodukt aus Isonicotinsäure und Thionylchlorid ein äusserst feuchtigkeitsempfindliches Öl darstellt, das an der Luft sofort zu Krystallen des Isonicotinsäure-hydrochlorids erstarrt, das aber bei entsprechend sorgfältiger Behandlung die Ester und Säure-amide in guter Ausbeute liefert.



Das Ausgangsmaterial für die Herstellung der 2,6-Dialkoxy-pyridin-4-carbonsäure-Derivate bildete die von *Behrmann* und *Hoffmann*<sup>3)</sup> sowie von *Pfiffner*<sup>4)</sup> beschriebene 2,6-Dioxy-pyridin-4-

<sup>1)</sup> *Wibaut* und *Arens*, R. 60, 119 (1941).

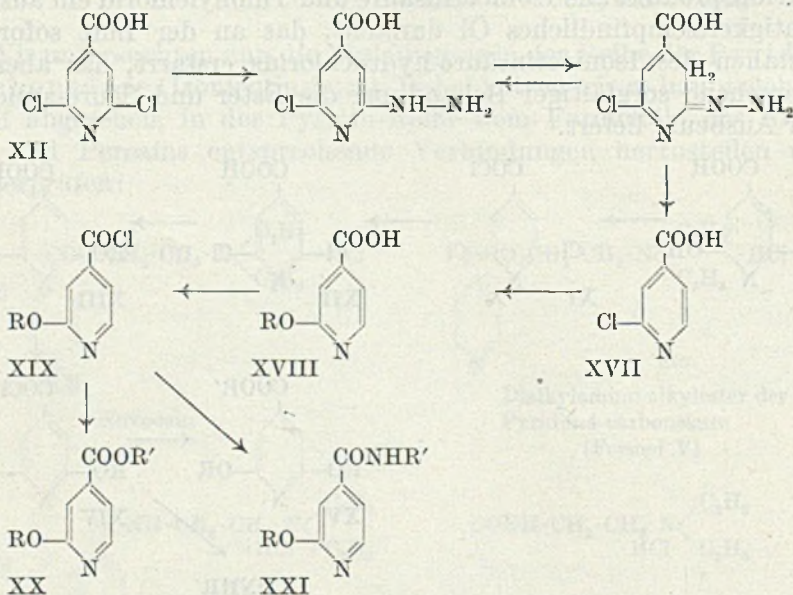
<sup>2)</sup> *Meyer* und *Graf*, B. 61, 2206 (1928).

<sup>3)</sup> *Behrmann* und *Hoffmann*, B. 17, 2687 (1884).

<sup>4)</sup> *Pfiffner*, Diss. Genf (1921).

carbonsäure (Citrazinsäure X), die aus Citronensäure leicht zugänglich ist. Durch Erhitzen der Citrazinsäure mit Phosphoroxychlorid unter Druck entsteht mit 75% Ausbeute das 2,6-Dichlorpyridin-4-carbonsäurechlorid (XI)<sup>1)</sup>, das über die freie Säure (XII) mit Natriumalkoholaten unter Druck die entsprechenden 2,6-Dialkoxy-pyridin-4-carbonsäuren (XIII) liefert, aus denen sich über die Säurechloride (XIV) leicht die basischen Ester (XV) und Säureamide (XVI) gewinnen lassen.

Die 2-Alkoxy-pyridin-4-carbonsäure-Derivate wurden aus der oben beschriebenen 2,6-Dichlorpyridin-4-carbonsäure (XII) wie folgt bereitet. Nach Art der *Wolff-Kishner*'schen Ketonreduktion lässt sich mittels Hydrazinhydrat ein Chloratom abspalten, wodurch man zur 2-Chlorpyridin-4-carbonsäure (XVII) gelangt.<sup>2)</sup> Diese Säure führt man wiederum mittels Natriumalkoholat in die 2-Alkoxy-säure (XVIII) über, die sich wie oben beschrieben verestern lässt.



### Experimenteller Teil<sup>3)</sup>.

(Die Schmelzpunkte wurden im Block bestimmt und sind korrigiert.)

#### 1. Herstellung der Säuren.

##### 2,6-Diäthoxy-pyridin-4-carbonsäure (Formel XIII).

In eine abgekühlte Lösung von 12 g Natrium in 100 g abs. Alkohol gab man 30 g reine 2,6-Dichlor-isonicotinsäure und erwärmte während 10 Minuten am Rückfluss. Der

<sup>1)</sup> *Bittner*, B. 35, 2933 (1902).

<sup>2)</sup> *Thielepape* und *Spreckelsen*, B. 55, 2929 (1922).

<sup>3)</sup> Ausführliche Beschreibung siehe *P. Labhart*. Synthese einiger lokalanästhetisch wirksamer Pyridin-4-carbonsäure-Derivate. Diss. E.T.H. Zürich 1946.

Kolbeninhalt wurde dann in ein Bombenrohr übergeführt und 2 Stunden auf 130—140° erhitzt. Nach dem Erkalten spülte man den Rohrinhalt mit wenig Wasser in einen Kolben, saugte an Vakuum auf dem Wasserbad trocken und löste in 400 cm<sup>3</sup> Wasser. Beim Ansäuern mit konz. HCl fiel die freie 2,6-Diäthoxy-isonicotinsäure als grauweißer Niederschlag aus. Waschen mit Wasser und Trocknen über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> im Vakuum. Ausbeute: 23 g = 70% der Theorie. Reinigung: 2 g rohe Säure wurden aus wässrigem Methanol umkrystallisiert, wobei das zuerst ölig anfallende Produkt durch Reiben krystallinisch erstarrte. Nach dem Trocknen wurde noch zweimal aus Petroläther umkrystallisiert. Grosse, farblose Prismen. Smp. 100—101°.

20,30 mg Subst. gaben 42,24 mg CO<sub>2</sub> und 11,08 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>O<sub>4</sub>N Ber. C 56,86 H 6,20%

Gef. „ 56,78 „ 6,11%

#### 2,6-Dipropoxyppyridin-4-carbonsäure (Formel XIII).

Diese wurde analog der obigen Vorschrift hergestellt, aber der Ansatz 2 Stunden im Rohr auf 150—160° erhitzt. Aus Petroläther feine, farblose Nadeln vom Smp. 91°. Ausbeute: 81% der Theorie.

20,54 mg Subst. gaben 45,32 mg CO<sub>2</sub> und 13,05 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>O<sub>4</sub>N Ber. C 60,23 H 7,16%

Gef. „ 60,21 „ 7,11%

#### 2,6-Dibutoxyppyridin-4-carbonsäure (Formel XIII).

Analog der ersten Vorschrift, aber durch zweistündiges Erhitzen auf 150—160°, erhielten wir die gewünschte Säure mit 88% Ausbeute. Reinigung durch Umkrystallisieren aus Petroläther. Feine, farblose Nadeln, Smp. 74°.

19,75 mg Subst. gaben 45,53 mg CO<sub>2</sub> und 14,15 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>O<sub>4</sub>N Ber. C 62,90 H 7,92%

Gef. „ 62,91 „ 8,02%

#### 2,6-Di-isoamyloxyppyridin-4-carbonsäure (Formel XIII).

Herstellung nach der ersten Vorschrift, aber Erhitzen auf 170—190°. Ausbeute: 83% der Theorie. Aus wässrigem Methanol, dann aus Petroläther farblose Nadeln vom Smp. 72—73°.

20,16 mg Subst. gaben 48,05 mg CO<sub>2</sub> und 15,58 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>16</sub>H<sub>25</sub>O<sub>4</sub>N Ber. C 65,06 H 8,53%

Gef. „ 65,04 „ 8,65%

#### 2-Chlorppyridin-4-carbonsäure (Formel XVII).

15 g reine 2,6-Dichlor-isonicotinsäure wurden mit 75 g Hydrazinhydrat 3 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt, dann das Hydrazinhydrat im Vakuum abdestilliert und der krystallisierende, gelbe Rückstand in wenig Wasser gelöst und in der Siedehitze allmählich mit 250 cm<sup>3</sup> 10-proz. Kupfersulfatlösung versetzt. Nach einstündigem Kochen machte man stark alkalisch und siedete eine halbe Stunde weiter. Dann wurde filtriert und das Filtrat nach dem Erkalten angesäuert. Die ausfallende bräunliche 2-Chlor-isonicotinsäure saugte man ab und trocknete bei 120°. Ausbeute: 8,8 g Säure, entsprechend 73% der Theorie.

Durch Kochen mit der berechneten Menge Phosphorpentachlorid in Benzol entstand das 2-Chlor-isonicotinsäure-chlorid vom Sdp.<sub>10 mm</sub> 101° mit 70% Ausbeute. Durch Zersetzen mit verdünnter NaOH, Filtrieren und Ansäuern fiel die 2-Chlor-isonicotinsäure rein aus. Smp. 234—235°.

## 2-Propoxy-pyridin-4-carbonsäure (Formel XVIII).

Hier wurde genau wie bei 2,6-Dipropoxy-isonicotinsäure verfahren und dabei die 2-Propoxysäure mit 77% Ausbeute erhalten. Umkrystallisieren aus wässrigem Methanol. Nadeln vom Smp. 126—127°.

21,79 mg Subst. gaben 47,49 mg CO<sub>2</sub> und 11,79 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>N Ber. C 59,66 H 6,12%  
Gef. „ 59,60 „ 6,05%

## 2-Butoxy-pyridin-4-carbonsäure (Formel XVIII).

Man erhielt diese Säure durch zweistündiges Erhitzen von 2-Chlor-isonicotinsäure mit Natriumbutylat auf 160° im Rohr und durch bekannte Aufarbeitung. Ausbeute: 78%. Blättchen aus verdünntem Methanol, Smp. 124°.

20,36 mg Subst. gaben 45,86 mg CO<sub>2</sub> und 12,22 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub>N Ber. C 61,52 H 6,71%  
Gef. „ 61,47 „ 6,72%

## Säurechloride (Formeln XIV und XIX).

Durch Erhitzen der Säuren mit der berechneten Menge PCl<sub>5</sub> in Benzol bis zum Aufhören der HCl-Entwicklung wurden die Säurechloride in guter Ausbeute erhalten:

Tabelle I.

Säure	Säurechlorid		Bemerkung
	Sdp.	Ausbeute	
Diäthoxy- . . .	118—120°/1 mm	78%	Erstarrt. Smp. 35°
Dipropoxy- . . .	122—124°/1,4 mm	92%	
Dibutoxy- . . .	154—155°/1,6 mm	95%	Unbeständig. Zers. an der Luft
Di-isoamyloxy- .	158—160°/1 mm	97%	Zersetzlich
Propoxy- . . .	117—118°/13 mm	50%	Zers. bei der Dest.
Butoxy- . . . .	127°/10 mm	65%	

## 2. Herstellung der Ester und Säureamide (Formeln XV, XVI, XX und XXI).

Man löste das Säurechlorid in der 10fachen Menge absolutem Benzol und gab dazu 150% der theoretischen Menge an Amino-alkohol bzw. Dialkylamino-alkylamin usw. Unter erheblicher Erwärmung schied sich im allgemeinen das Hydrochlorid der gebildeten Base ab. Es wurde anschliessend noch 1—2 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt, nach dem Erkalten mit überschüssiger Pottaschelösung durchgeschüttelt, das Benzol abgetrennt und die wässrige Lösung ausgeäthert. Die benzolisch-ätherische Lösung wurde über Pottasche getrocknet, die Lösungsmittel verdampft und der Rückstand im Hochvakuum destilliert. Die Ausbeuten betragen 75—95%.

## Herstellung der Ester- bzw. Säureamid-Hydrochloride.

Man löste ca. 0,1 g Ester in 10 cm<sup>3</sup> abs. Äther und leitete vorsichtig einen trockenen HCl-Gasstrom über die auf -20° abgekühlte Lösung. Die amorphe Ausfällung wurde dann durch Erwärmen und Zugabe von wenig abs. Alkohol umkrystallisiert.

Tabelle II.

Ester und Säureamide der einfachen und substituierten Pyridin-4-carbonsäuren.

Verzeichnis der verwendeten Amino-alkohole und Amine:

- |                           |   |
|---------------------------|---|
| (1) Diäthylamino-äthanol  | (7) 1-Diäthylamino-2,2-dimethylpropanol-(3) |
| (2) Diäthylamino-propanol | (8) Dimethylamino-dimethyläthylcarbinol     |
| (3) Piperidino-äthanol    | (9) Diäthylamin                             |
| (4) Piperidino-propanol   | (10) Diäthyläthylendiamin                   |
| (5) Morpholino-äthanol    | (11) Piperidin                              |
| (6) Morpholino-propanol   |   |

Bl. = Blättchen    Nad. = Nadeln

Alkohol Amin	freier Ester Smp.	(Amid) Sdp.	Hydrochlorid Smp.    Form		Analyse % <sup>1)</sup>			
					C Ber. Gef.	H Ber. Gef.	N Ber. Gef.	Cl Ber. Gef.
Pyridin-4-carbonsäure-Derivate								
(1)	—	—	151—152° (2 HCl, 1½ H <sub>2</sub> O)				8,94 9,00	23,30 23,32
(3)	gelbes Öl		79—80° (2 HCl, 1½ H <sub>2</sub> O)	46,70 46,72	6,94 6,94		8,38 8,36	
(7)	—	—	180—181° (½ H <sub>2</sub> O)				9,04 9,07	
(8)	—	—	160° (½ H <sub>2</sub> O) 216° w. frei				9,94 10,03	
(11)	—	135°/0,3 mm	—				14,73 14,95	
(10)	—	175°/1 mm	245—247°				19,01 19,08	
2-Propoxy-pyridin-4-carbonsäure-Derivate								
(1)	—	152°/0,2 mm	154°    Nad.	56,86 56,92	7,95 8,01			
(10)	—	189°/0,2 mm	—    —				15,05 15,05	
2-Butoxy-pyridin-4-carbonsäure-Derivate								
(1)	—	166°/0,8 mm	142°    Nad.	58,08 57,97	8,23 8,18			
(10)	—	196°/0,1 mm	—    —				14,32 14,25	
2,6-Diäthoxy-pyridin-4-carbonsäure-Derivate								
(1)	—	166°/0,7 mm	121°    Bl.	55,40 55,48	7,85 7,87			
(10)	30—32°	203°/2 mm	134°    Nad.				13,56 13,85	

<sup>1)</sup> Die Mikroanalysen wurden im chem.-technischen Laboratorium der E.T.H. von Fräulein Dr. E. Pfanner ausgeführt.



Tabelle II (Fortsetzung).

Alkohol Amin	freier Ester (Amid)		Hydrochlorid		Analyse %			
	Smp.	Sdp.	Smp.	Form.	C Ber. Gef.	H Ber. Gef.	N Ber. Gef.	Cl Ber. Gef.
2, 6-Dipropoxyppyridin-4-carbonsäure-Derivate								
(1)	—	180°/0,8 mm	106°	Nad.	57,66 57,60	8,33 8,39		
(2)	—	191°/1,8 mm	118°	Nad.	58,67 58,61	8,54 8,51		
(10)	28—29°	211°/1 mm	—	—			12,44 12,53	
2, 6-Dibutoxyppyridin-4-carbonsäure-Derivate								
(1)	—	188°/0,6 mm	114°	Nad.			6,95 7,02	
(2)	—	203°/0,7 mm	87°	hygr.	66,25 66,06	9,54 9,49		
(3)	—	221°/2 mm	166°	—	60,12 59,86	9,54 9,49		
(4)	—	217°/0,07 mm	135°	Bl.	61,55 61,60	8,69 8,56		8,26 8,03
(5)	—	215-20°/0,1	137°	Bl.	57,61 57,67	7,97 7,79		8,50 8,35
(6)	—	220°/0,6 mm	166°	Bl.	58,53 58,64	8,19 8,25		
(7)	—	202°/0,3 mm	130°	Nad.	61,45 61,41	9,27 9,13		
(8)	—	184°/0,8 mm	—	—			7,36 7,21	
(10)	—	219°/0,6 mm	—	—			11,48 11,54	
2, 6-Di-isoamyloxyppyridin-4-carbonsäure-Derivate								
(1)	—	188°/0,2 mm	135°	Nad.	61,38 61,30	9,10 9,11		
(2)	—	196°/0,3 mm	109°	Bl.	62,02 61,96	9,28 9,25		
(3)	—	206°/0,15 mm	165°	Nad.	62,35 62,21	8,86 8,70		
(4)	—	217°/0,15 mm	158°	Nad.	63,07 62,66	8,93 9,04		
(7)	—	218°/0,4 mm	127°	—	63,47 63,44	9,58 9,58		
(8)	—	206°/0,5 mm	—	—			6,85 6,93	
(10)	—	226°/2 mm	—	—			10,68 10,72	

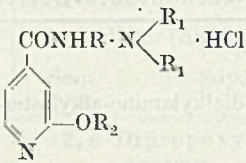
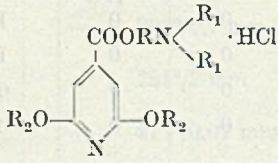
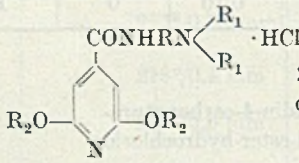
Die pharmakologische Voruntersuchung der von *P. Labhart* hergestellten neuen Derivate wurde von *L. Ragaz* durchgeführt. Er überprüfte ihre oberflächenanästhetischen Eigenschaften an der Kaninchenhornhaut nach *Régnier*<sup>1)</sup> und die Spinalanästhesie am Frosch nach *Bieter* und *Barges*<sup>2)</sup>. Gleichzeitig wurden einige Vorversuche über den Grad der Reizbarkeit miteinbezogen. Die so gewonnenen Resultate finden sich zusammengestellt in Tabelle III:

<sup>1)</sup> *Régnier*, C. r. 177, 558 (1923).

<sup>2)</sup> *Bieter* und *Barges*, J. Pharmacol. 45, 291 (1932).



Tabelle III (Fortsetzung).

 <p>2-Monoalkoxy-pyridin-4-carbonsäure-dialkylalkylendiamid-hydrochloride</p>					
No.	Substanz: $-\text{NHR} \cdot \text{N} \begin{matrix} \text{R}_1 \\ \text{R}_1 \end{matrix} =$	$-\text{R}_2 =$	Anästhetischer Index Schleimhaut Cocain = 1,0    Nervenstamm Novocain = 1,0		Grad der Gewebsreizung
742	$-\text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	$-\text{C}_3\text{H}_7$	0,26	2,5	I
740	„	$-\text{C}_4\text{H}_9$	0,80	3,6	I
 <p>2,6-Dialkoxy-pyridin-4-carbonsäure-dialkylamino-alkyl-ester-hydrochloride</p>					
No.	Substanz: $-\text{RN} \begin{matrix} \text{R}_1 \\ \text{R}_1 \end{matrix} =$	$-\text{R}_2 =$	Anästhetischer Index Schleimhaut Cocain = 1,0    Nervenstamm Novocain = 1,0		Grad der Gewebsreizung
737	$-\text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	$-\text{C}_2\text{H}_5$	0	1,5	III
734	„	$-\text{C}_3\text{H}_7$	0,15	4,2	III
712	„	$-\text{C}_4\text{H}_9$	0,25	2,9	III
724	„	$-\text{C}_5\text{H}_{11}^i$	0	0,8	III
735	$-\text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	$-\text{C}_3\text{H}_7$	0,15	5,5	III
714	„	$-\text{C}_4\text{H}_9$	0,3	4,2	III
725	„	$-\text{C}_5\text{H}_{11}^i$	0,15	2,0	III
720	$-\text{CH}(\text{CH}_3) \cdot \text{CH}(\text{CH}_3) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{N}(\text{CH}_3)_2$	$-\text{C}_4\text{H}_9$	0	2,17	III
729	„	$-\text{C}_5\text{H}_{11}^i$	0	0	III
719	$-\text{CH}_2 \cdot \text{C}(\text{CH}_3)_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	$-\text{C}_4\text{H}_9$	0	1,2	III
728	„	$-\text{C}_5\text{H}_{11}^i$	0	0	III
 <p>2,6-Dialkoxy-pyridin-4-carbonsäure-dialkylalkylendiamid-hydrochloride</p>					
No.	Substanz: $-\text{NHR} \cdot \text{N} \begin{matrix} \text{R}_1 \\ \text{R}_1 \end{matrix} =$	$-\text{R}_2 =$	Anästhetischer Index Schleimhaut Cocain = 1,0    Nervenstamm Novocain = 1,0		Grad der Gewebsreizung
738	$-\text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	$-\text{C}_2\text{H}_5$	0,5	0,8	I
736	„	$-\text{C}_3\text{H}_7$	4,5	4,6	III
721	„	$-\text{C}_4\text{H}_9$	6,0	6,0	III
730	„	$-\text{C}_5\text{H}_{11}^i$	0,25	2,3	III

Die am Kern nicht weiter substituierten Pyridin-4-carbonsäure-Ester haben sich als völlig unwirksam erwiesen. Sie zeigen in dieser Hinsicht ein gleiches Verhalten wie die Pyridin-3-carbonsäure- und Chinolin-4-carbonsäure-Ester. Bei den entsprechenden Pyridin-4-carbonsäure-Amiden dagegen beginnt sich eine — wenn auch sehr schwache — Oberflächenwirkung abzuzeichnen. Sie erreicht aber diejenige des Cocains bei weitem noch nicht.

Dagegen führt die Einführung einer Alkoxy-Gruppe an den Pyridinring, sowohl bei den Estern als auch den Amiden der 2-Monoalkoxy-pyridin-4-carbonsäure, zu einer beträchtlichen Wirkungssteigerung. Die Amide erwiesen sich auch in dieser Reihe deutlich wirksamer als die entsprechenden Ester.

Die 2,6-Dialkoxy-Derivate sind allgemein nochmals wirksamer als die Monoalkoxy-Verbindungen. Erneut wirken die Amide erheblich stärker lokalanästhetisch als die entsprechenden Ester. In den Substanzen Nr. 736 und Nr. 721 fanden wir lokalanästhesierende Stoffe, welche  $4\frac{1}{2}$  bzw. 6mal stärker wirken als Cocain bzw. Novocain. Interessant ist, darauf hinzuweisen, dass die Verlängerung des Alkoxy-Restes in 2- und 2,6-Stellung zu einer wesentlichen Wirkungssteigerung bis zum Butoxy-Rest führt, worauf die Amyloxy-Derivate wieder durchwegs weniger wirksam sind. Diese Beziehungen sind auch von *Miescher*<sup>1)</sup> bei den 2-Alkoxy-chinolin-4-carbonsäure-Derivaten angetroffen worden. Beim 2-Butoxy-chinolin-4-carbonsäure-diäthyläthylendiamid (Percain) ist ebenfalls das Wirkungsoptimum erreicht.

Da die als gut lokalanästhetisch wirksam erkannten Verbindungen durchwegs Gewebsreizungen verursachen, musste auf ihre klinische Auswertung verzichtet werden.

Pharmazeutisches Institut der  
Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.  
Wissenschaftliche Forschungsabteilung  
der *Dr. A. Wander AG.*, Bern.

### 63. Der neuro-regenerative Wuchsstoff „NR“.

3. Mitteilung<sup>2) 3)</sup>

von B. Koechlin und A. von Muralt.

(22. I. 47.)

Wird ein Nerv durchtrennt, so verfallen die von ihren Zellen abgeschnittenen peripheren Stücke der Degeneration unter Verlust ihrer normalen Funktionen und unter charakteristischen Veränderungen des histologischen und chemischen Aufbaues, (vgl.<sup>4)</sup>). Vom zentralen Stück aus setzt nach einiger Zeit die langsame Regeneration ein, durch Aussprossen neuer Fasern, die in die alten Nervenbahnen einwachsen und diesen folgend bis zur Peripherie vordringen.

Wie wir schon in unseren früheren Arbeiten<sup>2) 3)</sup> mitgeteilt haben, gelang, es aus nervösem Material Extrakte herzustellen, die bei intra-

<sup>1)</sup> *Miescher*, Helv. 15, 172 (1932).

<sup>2)</sup> 1. Mitt. *M. Jent*, *B. Koechlin*, *A. v. Muralt* und *Th. Wagner-Jauregg*, Schweiz. med. Wschr. 75, 317 (1945).

<sup>3)</sup> 2. Mitt. *B. Koechlin* und *A. v. Muralt*, Helv. physiol. acta 3, C. 38 (1945).

<sup>4)</sup> *A. v. Muralt*, Die Signalübermittlung im Nerven, Verlag *Birkhäuser*, Basel, 1946.

peritonealer Applikation am Kaninchen in sehr kleinen Mengen die Regeneration der sensiblen Nerven in der Kaninchen-Hornhaut (Cornea) beschleunigen. Wir haben den für diese Wirkung verantwortlichen Stoff vorläufig als den neuro-regenerativen Wuchsstoff „NR“ bezeichnet. Der besondere Test, um die Wirksamkeit zu prüfen (Cornea-Test) ist durch *Jent*<sup>1)</sup> am Hallerianum ausgearbeitet worden und hat es ermöglicht, nach dem Wuchsstoff zu suchen. In der vorliegenden Arbeit sollen die bisherigen Resultate der chemischen Bearbeitung des Wuchsstoffes „NR“ mitgeteilt und diskutiert werden. Es scheint aber angezeigt, auch an dieser Stelle etwas über den Test auf den sich die Arbeiten stützen, seine Leistungsfähigkeit und seine Grenzen zu sagen.

### Der Cornea-Test.

Ausführung: Die radiär einstrahlenden sensiblen Nerven der Kaninchen-Cornea werden durch einen circulären, bis zur *Descemet*'schen Membran geführten Schnitt durchtrennt. Die innerhalb des Narbenringes liegenden Fasern degenerieren in 3—5 Tagen. Die Sensibilität der Cornea geht gleichzeitig verloren. Der Verlust wird am Aussetzen des Lidschlagreflexes beim Bestreichen der Hornhaut mit einem Tasthaar geprüft. Das Einsprossen neuer Fasern erfolgt nach 13—30 Tagen am innern Narbenrand und ihr Fortschreiten kann mit Hilfe des Tasthaars zeitlich verfolgt werden. Als Testwert gilt der Mittelwert in Tagen, von der Durchschneidung an bis zum Auftreten der ersten deutlichen Sensibilität innerhalb des Narbenrandes gerechnet, an einer Gruppe von 5 Tieren gemessen.

Der Corneatest wird den folgenden, an einen brauchbaren Nervenregenerationstest zu stellenden Anforderungen gerecht: 1. Er ermöglicht ein direktes Beobachten der Regenerationsvorgänge in vivo durch das natürliche Fenster, die Cornea.

2. Er erfordert zur Nervendurchtrennung einen unter Lokalanästhesie durchführbaren operativen Eingriff, der die gegenseitige Lage der durchtrennten Nerven sehr wenig verändert.

3. Die wiedereinsetzende Regeneration lässt sich an Hand der Sensibilität eindeutig und reproduzierbar feststellen. Fragliche Testresultate sind durch vitale Anfärbung mit Methylenblau mit Hilfe des Spaltlampenmikroskopes nachprüfbar.

Er hat aber folgende Nachteile:

1. Das Kaninchen ist ein labiles Versuchstier. Die Aufrechterhaltung des einwandfreien Gesundheitszustandes erfordert sorgfältige Ernährung und Pflege. Die Anzahl der gleichzeitig im Versuch stehenden Tiere ist beschränkt, d. h. es können nur relativ wenig chemische Fraktionen gleichzeitig geprüft werden und man ist gezwungen, mit kleinen Versuchsgruppen, meistens nur Gruppen von 5 Tieren, für jeden Ansatz auszukommen.

2. Die relativ lange Dauer bis zur Feststellung des Ergebnisses hemmt die Arbeit des Chemikers. Je nachdem verstreichen 8—20 Tage bis das Resultat vorliegt.

<sup>1)</sup> *M. Jent*, *Helv. physiol. acta* **3**, 65 (1945).

## Prüfung und Bewertung der Extrakte.

**Ausführung der Prüfung:** Die Extrakte werden an Versuchsgruppen von 5, in wichtigen Fällen von 10 Kaninchen geprüft. Jedem Tier vom ungefähren Gewicht von 1500 g wird täglich vom Tag der Operation an 1 cm<sup>3</sup> einer mit Kochsalz isotonisch gemachten wässrigen Lösung des zu prüfenden Extraktes intraperitoneal injiziert. Als Testwert gilt der Durchschnittswert der bei den 5 Versuchstieren gefundenen Regenerationszeiten. Die Einzelwerte werden ebenfalls angegeben, da die Grösse ihrer Streuung einen weiteren wichtigen Anhaltspunkt für die Bewertung eines Extraktes bietet. **Kontrollwerte:** In regelmässigen Zeitabständen werden Kontrollgruppen angesetzt, bei denen täglich 1 cm<sup>3</sup> einer isotonischen Kochsalzlösung injiziert wird. Auffallend ist bei den Kontrollgruppen die grosse Streuung der Einzelwerte. Bis jetzt sind 800 Operationen mit gutem Erfolg für den Corneatest ausgeführt worden.

**„NR“-Wirkung:** Die wirksamen Extrakte verkürzen die Regenerationszeit auf 6–11 Tage. Dies bedeutet gegenüber den Kontrollwerten eine Verkürzung um das 1,5–5fache. Geringe Streuung der Einzelwerte sind für wirksame Extrakte charakteristisch, ferner ein besonders eindeutiges Einsetzen der Sensibilität innerhalb des Narbenrandes und ein rasches Fortschreiten der Regeneration unter Bildung eines dichten Fasernetzes.

Geringe Wirksamkeit der Extrakte äussert sich in einer Zunahme der Durchschnittswerte unter gleichzeitiger charakteristischer Zunahme der Streuung der Einzelwerte. Neben guten Werten werden bei solchen Extrakten einzelne, aus der Reihe springende relativ hohe Werte angetroffen. Allgemein bedeuten Testwerte von 6–11 Tagen sichere, mehr oder weniger ausgeprägte Wirksamkeit, Werte von 13–16 Tagen fragliche und höhere Werte keine Wirksamkeit.

## Vorkommen des „NR“-Stoffes.

Wirksame Extrakte lassen sich aus peripheren Nerven, Rückenmark und Gehirn bereiten. Der Stoff wird vorwiegend in der weissen Substanz des Gehirns angetroffen. Analog hergestellte Extrakte aus der zellreichen grauen Substanz sind nur wenig wirksam.

Tabelle.

Substanz	Durchschnitt	Einzelwerte in Tagen
Kaninchengehirn, Brei . . . .	7,4	(7, 7, 7, 8, 8)
Kalbsgehirn, Dialysat . . . .	6,2	(6, 6, 6, 6, 7)
Kalbsgehirn, weisse Subst. . . .	6,2	(6, 6, 6, 6, 7)
Kalbsgehirn, graue Subst. . . .	12	(6, 6, 14, 14, 20)
Ischiadicus, Brei . . . . .	10,9	(7, 8, 8, 8, 9, 11, 12, 15, 15, 16)
Kalbsthymus, Brei . . . . .	10,8	(7, 10, 11, 13, 13)
Kalbsthymus, Dialysat . . . .	11,2	(6, 6, 9, 17, 18)
Kalbs-Milz, Dialysat . . . . .	17,2	(12, 16, 19, 22)
Kalbs-Leber, Dialysat . . . .	16,6	(13, 16, 17, 17, 20)

Die Extrakte aus Milz und Leber werden als unwirksam zum Vergleich angeführt.

## Aufarbeitung und Bereitung der Extrakte.

Die Gehirne werden möglichst frisch nach der Schlachtung mit Kleinhirn und Medulla entnommen und anschliessend im Kühlraum bei 4° verarbeitet. Nach Entfernung der Pia Mater und der grössten Blutgefässe lässt sich das zerkleinerte Gehirn im Mörser zerreiben und mit Wasser oder isotonischer Kochsalzlösung zu einem leicht injizierbaren Brei anteigen. Gründliche Zerkleinerung und guter Anschluss der Zellen sind von grossem Einfluss auf die Wirksamkeit der Extrakte. Dies lässt sich schon durch kräftiges, anhaltendes Verreiben, vor allem aber durch wiederholtes Einfrieren und Auftauen des Materials erreichen.

Die Dialyse: Die Dialyse hat sich zur Gewinnung wirksamster Extrakte bisher als die beste und zweckmässigste Methode erwiesen. Sie ermöglicht eine schonende, vollständige Abtrennung des „NR“-Stoffes von den Lipoiden und Proteinen. Die Dialysate sind wasserklare, in konzentrierter Form leicht gelbstichige Lösungen. Wird der Gehirnbrei längere Zeit dialysiert, so geht die Aktivität fast vollständig ins Dialysat über.

Rückstand . . . . 17,8 (8,9,22,24,26)

Dialysat. . . . . 9,4 (8,7,9,9,14)

Es handelt sich folglich beim aktiven Stoff „NR“ um eine wasserlösliche, niedermolekulare, nicht eiweissartige Substanz, die im Gehirn vorkommt. Es ist möglich, dass der „NR“-Stoff im Verlauf der Dialyse auf fermentativem Wege freigesetzt wird.

Wird der Gehirnbrei bei 35° unter aseptischen Bedingungen einer energischen Autolyse unterworfen, so büsst er seine Wirksamkeit vollständig ein. Der Wuchsstoff wird unter diesen Bedingungen zerstört: Er unterscheidet sich somit deutlich von den von *Henschen*<sup>1)</sup> beschriebenen regenerationsfördernden Wuchsstoffen, die aus Geweben verschiedener Art durch Autolyse gewonnen werden können.

Hirn-Autolysat 18,6 (13, 15, 18, 19, 28).

## Verdünnungskurve.

Die Wirksamkeit der Dialysate ist von ihrer Verdünnung in charakteristischer Weise abhängig. In Fig. 1 ist eine solche Verdünnungskurve wiedergegeben. Bei relativ hohen Konzentrationen kommt die Wirksamkeit des Dialysates noch nicht vollständig zur Auswirkung, sondern erreicht erst nach einer gewissen Verdünnung ihren maximalen Wert. Wird das Dialysat über diese optimale Konzentration hinaus weiter verdünnt, so klingt die Wirksamkeit allmählich ab, ist aber auch noch in sehr grossen Verdünnungen erkennbar.

Die Tatsache, dass die Wirksamkeit bei Verdünnung steigt, steht wohl kaum mit einer Überdosierung in Zusammenhang. Sie muss eher mit der Annahme erklärt werden, dass im Extrakt Hemmstoffe vorkommen, deren Wirkung bei Verdünnung rascher abklingt, als die des „NR“-Stoffes.

Anti-NR-Stoffe: Es zeigte sich im Verlauf unserer Arbeit, dass gründlicher Aufschluss des Ausgangsmaterials und erschöpfende Dialyse allein gute Wirksamkeit eines Dialysates nicht gewährleisten. Es fiel uns auf, dass die wirksamsten Dialysate gerade diejenigen waren, die beim Einengen Temperaturen von über 35° ausgesetzt waren, während die sorgfältig bei weniger als 35° eingengten Dialysate meist wenig oder überhaupt nicht aktiv waren. Wenig aktive, bei tiefer Temperatur eingengte Dialysate konnten durch nachträgliches Erhitzen in aktivere übergeführt werden. Wir haben

<sup>1)</sup> C. Henschen, Schweiz. med. Wschr. 59, 1230 (1929).

in unserer ersten Mitteilung gezeigt, dass es Stoffe gibt, die die Nervenregeneration sogar hemmen können. Solche Hemmstoffe können auch in Organextrakten neben den regenerationsstimulierenden Stoffen in wirksamen Mengen vorkommen. Es ist denkbar, dass der Anti-NR-Stoff bei Verdünnung stärker inaktiviert wird als der NR-Stoff, und dass sich aus diesem Grund das Gleichgewicht zu Gunsten des NR-Stoffes verschiebt.

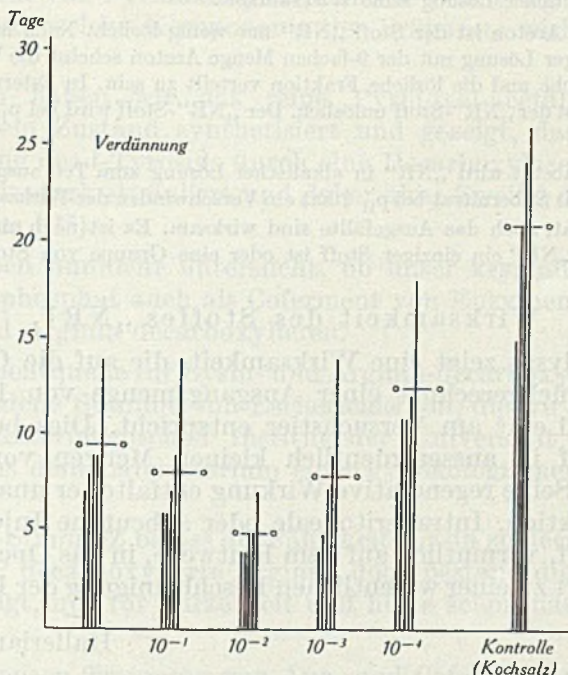


Fig. 1.

Ergebnis des Corneatestes mit 5 verschiedenen Verdünnungen des gleichen Gehirndialysates. Als Kontrolle sind die Ergebnisse einer mit Kochsalzlösung injizierten Versuchsgruppe aufgezeichnet. Ordinate: Anzahl der Tage bis zum Einsetzen der Regeneration. Abszisse: Verdünnung.

#### Eigenschaften des Stoffes „NR“.

**Beständigkeit:** Der Stoff „NR“ ist nicht absolut thermostabil. Er wird bei 1stündigem Kochen in neutraler wässriger Lösung zerstört, hingegen verträgt er mehrstündiges Erhitzen auf  $50^{\circ}$  ohne wesentlich an Wirksamkeit einzubüßen.

Die Haltbarkeit der Lösungen beim Stehen ist stark vom  $p_{\text{H}}$  abhängig. Bei einem  $p_{\text{H}}$  von 7,2 war die Wirksamkeit bereits nach zwei Monaten verschwunden, während sich eine andere Lösung von einem  $p_{\text{H}}$  von 6–6,5 über drei Monate hielt. Es gelingt, durch Eindampfen einer bei  $20^{\circ}$  sorgfältig voreingengten Lösung im gefrorenen Zustand im Hochvakuum ein aktives, pulvriges Trockenpräparat herzustellen.

Gegen Säure ist „NR“ in der Kälte beständig. Es wird durch 20stündiges Stehen mit 0,1-n. HCl nicht zerstört.

Gegen Alkali ist „NR“ nur beschränkt beständig. 20-stündiges Stehen in 0,1-n. NaOH hat einen gewissen Aktivitätsverlust zur Folge. Aktivitätsverlust beim Durchleiten von Sauerstoff durch die wässrige Lösung liess sich nicht feststellen. Trotzdem werden die Dialysate stets unter Kohlendioxyd eingengt und unter reinem Stickstoff,



in Ampullen eingeschmolzen, aufbewahrt. Auch die Berührung mit Schwermetall wird während der ganzen Aufarbeitung vermieden.

**Löslichkeit:** Der Stoff „NR“ ist in 90-proz. Alkohol vollständig löslich. Er lässt sich auf Grund dieser Eigenschaft von Salzen, Phosphaten und andern alkoholunlöslichen Stoffen trennen und so aus den Dialysaten anreichern. Der Stoff verliert bei längerem Stehen in alkoholischer Lösung seine Wirksamkeit.

In 90-proz. Aceton ist der Stoff „NR“ nur wenig löslich. Nach mehrfachem Ausfällen aus wässriger Lösung mit der 9-fachen Menge Aceton scheint die Wirksamkeit auf die acetonunlösliche und die lösliche Fraktion verteilt zu sein. In Estern, Äther, Benzol und Petroläther ist der „NR“-Stoff unlöslich. Der „NR“-Stoff wird bei  $p_H$  2 an Frankonit adsorbiert.

Durch Bleiacetat wird „NR“ in alkalischer Lösung zum Teil ausgefällt. Ausfällen der Silbersalze mit Silbernitrat bei  $p_H$  8 hat ein Verschwinden der Wirksamkeit zur Folge. Weder das Filtrat, noch das Ausgefällte sind wirksam. Es ist noch nicht möglich, zu entscheiden, ob „NR“ ein einziger Stoff ist oder eine Gruppe von Stoffen darstellt.

### Wirksamkeit des Stoffes „NR“.

Das Dialysat zeigt eine Wirksamkeit, die auf die Gehirnfeuchts substanz zurückgerechnet einer Ausgangsmenge von 1 mg pro Injektion von 1 cm<sup>3</sup> am Versuchstier entspricht. Dies bedeutet, dass der NR-Stoff in ausserordentlich kleinen Mengen vorkommt und wirksam ist. Seine regenerative Wirkung entfaltet er unabhängig vom Ort der Injektion. Intraperitoneale oder subcutane Injektion bringt den Wirkstoff, vermutlich auf dem Blutwege, in das Operationsgebiet und führt dort zu einer wesentlichen Beschleunigung der Regeneration.

Hallerianum, Bern.

## 64. Krystallisiertes, synthetisches Pyridoxal-acetal-phosphat als Coferment von *l*-Aminosäuren-decarboxylasen

von P. Karrer und M. Viseontini.

(29. I. 47.)

Pyridoxal-phosphat ist in letzter Zeit als Coferment zahlreicher Enzyme angesprochen worden. Man hält es für das Coferment der *l*-Tyrosin-decarboxylase<sup>1)</sup>, der *l*-Lysin-decarboxylase<sup>2)</sup>, der *l*-Arginin-decarboxylase<sup>3)</sup>, der *l*-Glutaminsäure-decarboxylase<sup>3)</sup>, der *l*-Ornithin-decarboxylase<sup>4)</sup>, der *l*-Dioxyphenylalanin-decarboxylase<sup>4)</sup>, der Trans-

<sup>1)</sup> Gunsalus, Bellamy, Umbreit, J. Biol. Chem. **155**, 685 (1944). — Bellamy, Umbreit, Gunsalus, J. Biol. Chem. **160**, 461 (1945).

<sup>2)</sup> Baddiley, Gale, Nature **155**, 727 (1945).

<sup>3)</sup> Umbreit, Gunsalus, J. Biol. Chem. **159**, 333 (1945).

<sup>4)</sup> Lichstein, Gunsalus, Umbreit, J. Biol. Chem. **161**, 311 (1945).

aminase<sup>1</sup>), welche den Aminostickstoff der Glutaminsäure auf Brenztraubensäure oder Oxalessigsäure überträgt, und eines Fermentes, welches Tryptophan aus Indol und Serin synthetisiert<sup>2</sup>). Es ist allerdings hervorzuheben, dass in allen diesen Arbeiten kein einheitliches, reines Präparat von Pyridoxal-phosphat zur Verfügung stand, so dass es unsicher ist, welche Komponente der Präparate wirksam gewesen sein soll.

Kürzlich haben wir das reine Pyridoxal-acetal-phosphat in kristallisiertem Zustand synthetisiert und gezeigt, dass es die Decarboxylierung des *l*-Tyrosins durch eine Decarboxylase aus *Streptococcus faecalis* stark stimuliert und daher ohne Zweifel das Coferment dieses Enzyms ist<sup>3</sup>).

Wir haben nunmehr untersucht, ob unser kristallisiertes Pyridoxal-acetal-phosphat auch als Coferment von Enzymen wirksam ist, die Lysin und Arginin decarboxylieren.

Als Fermentquelle für Lysin- und Arginin-decarboxylasen dienten zwei verschiedene Stämme von *Escherichia coli*, die wir als Stamm Z (aus dem Bakteriologischen Institut der Universität Zürich) und Stamm P (aus dem Laboratorium einer gynäkologischen Klinik) bezeichnen.

Der *Coli*-Stamm Z besass die Fähigkeit, Lysin zu decarboxylieren. Der Stamm P decarboxylierte Arginin, doch bestand diese Aktivität, wie Fig. 2 zeigt, nur für kurze Zeit und hörte schon nach ca. 20 Minuten auf.

Zur teilweisen Trennung von Apo- und Cofermenten wurden die Pulver der beiden *Coli*-Bazillen autolytisiert und die Cofermente durch Dialyse teilweise entfernt. Mit den an Coferment verarmten Apofermenten haben wir hierauf die Decarboxylierung von Lysin und Arginin teils ohne, teils mit Zusatz von kristallisiertem Pyridoxal-acetal-phosphat ausgeführt. Die Figuren 1 und 2 lassen erkennen, dass in beiden Fällen Pyridoxal-acetal-phosphat als Coferment wirkt und die CO<sub>2</sub>-Abspaltung stark erhöht. Daraus darf geschlossen werden, dass Pyridoxal-acetal-phosphat bzw. Pyridoxal-phosphat mit veresteter phenolischer Hydroxylgruppe nicht nur das Coferment der *l*-Tyrosin-decarboxylase, sondern auch dasjenige der *l*-Lysin- und *l*-Arginin-decarboxylase ist. Die Spezifität der genannten drei *l*-Aminosäuren-decarboxylasen ist somit ausschliesslich auf die Apoferment-Komponente, d. h. den Proteinanteil, zurückzuführen.

<sup>1</sup>) H. C. Lichstein, J. C. Gunsalus, W. W. Umbreit, J. Biol. Chem. **161**, 311 (1945). — Schlenk und Snell, J. Biol. Chem. **157**, 425 (1945). — D. E. Green, L. F. Leloir, V. Nocito, J. Biol. Chem. **161**, 559 (1945).

<sup>2</sup>) Umbreit, Wood, Gunsalus, J. Biol. Chem. **165**, 731 (1946).

<sup>3</sup>) P. Karrer und M. Viscontini, Helv. **30**, 52 (1947).

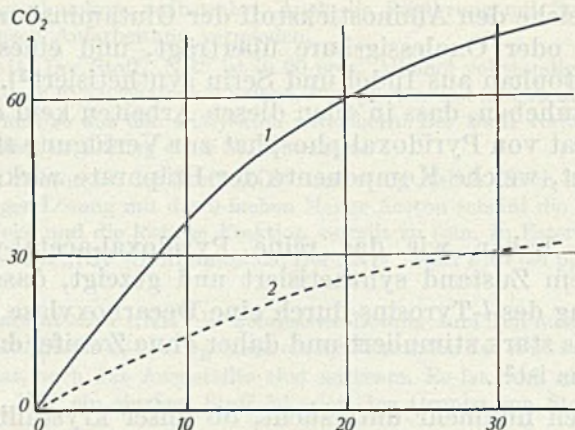


Fig. 1.

Decarboxylierung von Lysin durch Ferment aus *B. coli* Stamm Z.

Kurve 1: mit 30  $\gamma$  synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

Kurve 2: ohne synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

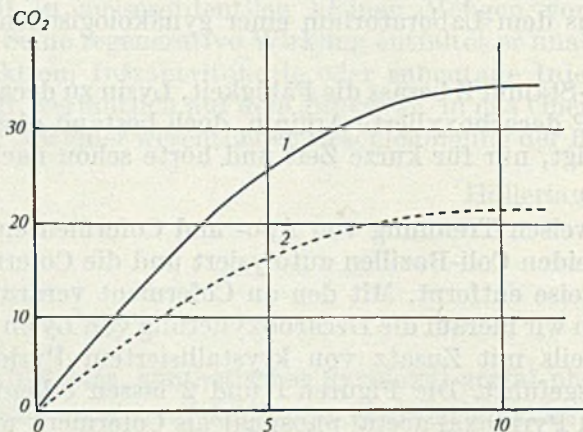


Fig. 2.

Decarboxylierung von Arginin durch Ferment aus *B. coli* Stamm P.

Kurve 1: mit 30  $\gamma$  synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

Kurve 2: ohne synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

Während die Zerlegung der Decarboxylasen des *l*(-)-Tyrosins, *l*(+)-Lysins, *l*(+)-Arginins und *l*(+)-Ornithins in Apo- und Cofermente verschiedenen Autoren gelang<sup>1)</sup>, wurde die Auffassung vertreten, dass *l*(-)-Histidin-decarboxylase und *l*(+)-Glutaminsäure-decarboxylase keine durch Dialyse abtrennbaren Cofermente enthalten<sup>1)</sup>. Für die *l*(+)-Glutaminsäure-decarboxylase stimmen unsere Erfahrungen mit

<sup>1)</sup> Vgl. z. B. *J. Baddiley, E. F. Gale, Nature* **155**, 727 (1945).

jenen Angaben nicht überein. Die Fig. 3 und 4 zeigen, dass Pyridoxal-acetal-phosphat auch bei der *l*(+)-Glutaminsäure-decarboxylase die Rolle eines Cofermentes spielt. Für diese Versuche konnte sowohl der *Coli*-Stamm Z als auch ein *Coli*-Stamm M (aus verunreinigter Milch gewonnen) Anwendung finden. Wiederum wird die Spezifität der *l*(+)-Glutaminsäure-decarboxylase allein durch die Proteinkomponente bedingt.

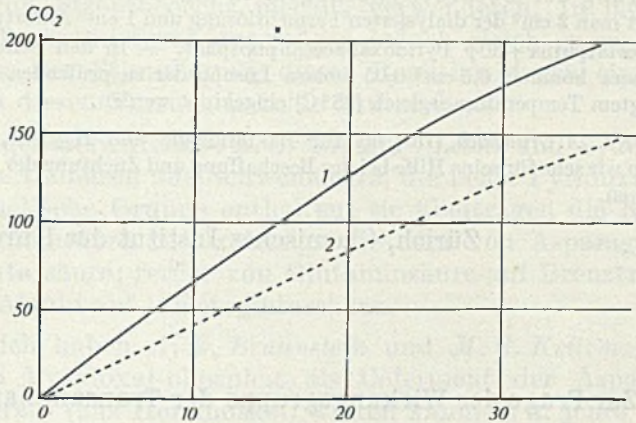


Fig. 3.

Decarboxylierung von Glutaminsäure durch Ferment aus *B. coli* Stamm Z.

Kurve 1: mit 30 γ synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

Kurve 2: ohne synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

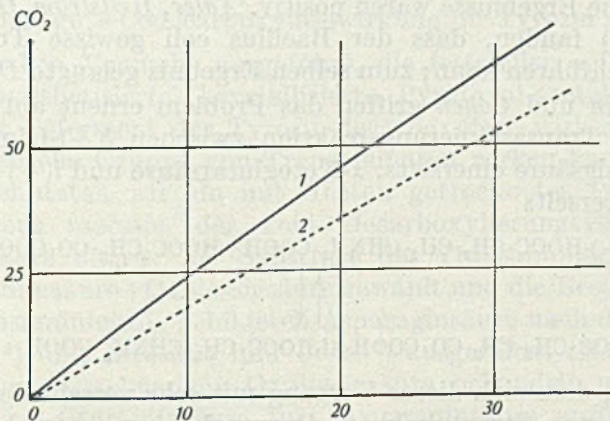


Fig. 4.

Decarboxylierung von Glutaminsäure durch Ferment aus *B. coli* Stamm M.

Kurve 1: mit 30 γ synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

Kurve 2: ohne synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

## Experimentelles.

Ca. 50 mg des Pulvers der Coli-Bazillen werden in 10 cm<sup>3</sup> 0,15-molarer Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung suspendiert und zur Autolyse 2 Stunden bei 37° gehalten. Hierauf bringt man die Suspension ohne irgendwelche Trennung in einen Kollodiumsack und dialysiert während 48 Stunden gegen einen 0,2-molaren Acetatpuffer von p<sub>H</sub> 5,5 bei 0° (4-malige Erneuerung des Acetatpuffers). Die im Kollodiumsack zurückgebliebene, etwas opaleszierende Flüssigkeit, die pro cm<sup>3</sup> ca. 5 mg Mikroorganismen-Trockengewicht enthält, dient direkt zu den Ferment-Versuchen.

Ausführung der Decarboxylierungen. In den zentralen Teil des *Warburg*-Gefässes bringt man 2 cm<sup>3</sup> der dialysierten Fermentlösung und 1 cm<sup>3</sup> Acetatpuffer p<sub>H</sub> 5,5 bzw. 1 cm<sup>3</sup> Acetatpuffer + 30 γ Pyridoxal-acetal-phosphat. — In den Seitenansatz des *Warburg*-Gefässes kommen 0,5 cm<sup>3</sup> 0,05 molare Lösung der zu prüfenden Aminosäure, die nach erfolgtem Temperatúrausgleich (28° C) eingekippt werden.

Herrn Prof. *A. Grumbach* (Institut für Bakteriologie und Hygiene, Universität Zürich) danken wir sehr für seine Hilfe bei der Beschaffung und Züchtung der verwendeten Mikroorganismen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

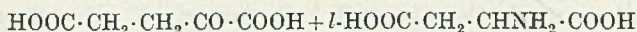
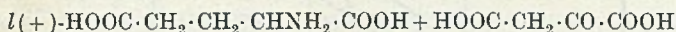
## 65. Zur Frage der Wirkungsgruppe der Transaminasen

von P. Karrer und M. Viscontini.

(29. I. 47.)

Nachdem Transaminierungsvorgänge zwischen Aminosäuren und α-Ketocarbonsäuren bei Tieren und höheren Pflanzen aufgefunden worden waren<sup>1)</sup>, suchte man solche auch in Mikroorganismen nachzuweisen. Die Ergebnisse waren positiv. *Adler*, *Hellström*, *Günther* und *H. v. Euler*<sup>2)</sup> fanden, dass der *Bacillus coli* gewisse Transaminierungen durchführen kann; zum selben Ergebnis gelangte *Diczfalusy*<sup>3)</sup>.

*Lichstein* und *Cohn* griffen das Problem erneut auf<sup>4)</sup>. Sie studierten die Transaminierungsreaktion zwischen l(+)-Glutaminsäure und Oxallessigsäure einerseits, α-Ketoglutar Säure und l(+)-Asparaginsäure andererseits



und fanden, dass sich dieser Vorgang mit sehr verschiedenen Mikroorganismen, wie Streptokokken, Pneumokokken, *Acetobacter vineandii*, *Bacillus Welchii* und *Bacillus coli* durchführen lässt.

<sup>1)</sup> Literaturzusammenstellung bis 1939 vgl. *Braunstein*, *Enzymol.* 7, 25 (1939).

<sup>2)</sup> *Z. physiol. Ch.* 255, 14 (1938).

<sup>3)</sup> *Bioch. Z.* 313, 75 (1942).

<sup>4)</sup> *J. Biol. Chem.* 157, 85 (1945).

*Schlenk* und *Snell*<sup>1)</sup> berichteten, dass ein Auszug aus Muskeln normal ernährter Ratten viel stärkere Transaminierungen durchführt als ein solcher von Ratten, die an einer starken Vitamin B<sub>6</sub>-Avitaminose litten. Es wurde daher vermutet, dass ein Derivat des Vitamins B<sub>6</sub> an der Transaminierungsreaktion beteiligt sei. Diese letztere Hypothese suchten *Cohen* und *Lichstein*<sup>2)</sup> dadurch zu prüfen, dass sie zu Transaminierungsversuchen einerseits einen normal gezüchteten, andererseits einen auf einem B<sub>6</sub>-freien Nährboden gewachsenen Stamm von *Streptococcus faecalis* verwendeten. In beiden Fällen war das Transaminierungsvermögen jedoch gleich gross, so dass die Hypothese der Stimulierung dieser Reaktion durch ein Pyridoxinderivat in diesen Versuchen keine Stütze fand.

Dagegen berichten *D. E. Green*, *L. F. Leloir* und *V. Nocito*<sup>3)</sup> über zwei Transaminasen aus Schweineherz, die beide Pyridoxal-phosphat als prosthetische Gruppe enthalten; sie übertragen die NH<sub>2</sub>-Gruppe von Glutaminsäure zu Oxalessigsäure oder von Asparaginsäure auf  $\alpha$ -Ketoglutarsäure; ferner von Glutaminsäure auf Brenztraubensäure und von Alanin auf  $\alpha$ -Ketoglutarsäure.

Endlich haben *A. E. Braunstein* und *M. G. Kritzmann*<sup>4)</sup> untersucht, ob Pyridoxal-phosphat als Coferment der Asparaginsäureaminopherase (aus Herzmuskel) wirken kann, d. h. jenes Fermentes, welches aus Brenztraubensäure und Asparaginsäure Alanin bildet. Sie kamen dabei zur Verneinung dieser Frage. *Gale* und *Tomlinson*<sup>4)</sup> bestätigten gleichzeitig, dass in dieser Transaminierungsreaktion Pyridoxal-phosphat nicht die Rolle eines Cofermentes ausübt. Andererseits berichten sie, dass ein hochwertiges Präparat von Glutaminsäureaminopherase (welches aus Glutaminsäure und Brenztraubensäure Alanin bildet) gute Codecarboxylasewirkung für Tyrosin aufwies.

Wir haben Versuche ausgeführt, die feststellen sollten, ob das von uns synthetisierte, krystallisierte Pyridoxal-acetal-phosphat<sup>5)</sup>, welches als Coferment der Tyrosin-decarboxylase wirksam ist, auch als prosthetische Gruppe von Transaminasen wirken kann. Als Apoferment benutzten wir ein mit Aceton getrocknetes Präparat von *Streptococcus faecalis*, das kein Decarboxylierungsvermögen für Glutaminsäure besass. Als Substrate der Transaminierung wurden l(+)-Glutaminsäure + Oxalessigsäure gewählt und die Bestimmung der durch Transaminierung gebildeten Asparaginsäure nach den Angaben von *Cohen*<sup>6)</sup> und *Lichstein* und *Cohen*<sup>7)</sup> ausgeführt. (Nach der Zerstörung der überschüssigen Oxalessigsäure behandelt man die Lösung, welche Glutaminsäure und Asparaginsäure enthält, mit p-

1) J. Biol. Chem. **157**, 425 (1945).

2) J. Biol. Chem. **159**, 367 (1945).

3) J. Biol. Chem. **161**, 559 (1945).

4) Nature **158**, 102 (1946).

5) Helv. **30**, 52 (1947).

6) J. Biol. Chem. **136**, 565 (1940).

7) J. Biol. Chem. **157**, 85 (1945).

Toluolsulfon-chloramid, wobei Glutaminsäure 1 Mol  $\text{CO}_2$ , Asparaginsäure 2 Mol  $\text{CO}_2$  liefert.)

Die Messungen wurden in der *Warburg*-Apparatur vorgenommen. Jedes Gefäss enthielt 25 mg trockenes Pulver von *Streptococcus faecalis*. Die Reaktionsdauer betrug 20 Minuten, die Reaktionstemperatur  $38^\circ$ .

Alle Versuche zeigten, dass das benützte Apoferment (Pulver von *Strept. faecalis*) eine wirksame Transaminase enthält, welche aus  $l(+)$ -Glutaminsäure und Oxalessigsäure Asparaginsäure erzeugt, dass aber krystallisiertes Pyridoxal-acetal-phosphat die Geschwindigkeit dieser Transaminierungsreaktion nicht verstärkt.

## 1. Versuch.

	Blind-versuch		Zusatz von 25 mg Apoferment	Zusatz von 25 mg Apoferment + 50 $\gamma$ Pyridoxal-acetal-phosphat	
	Gemessene Menge $\text{CO}_2$ ( $\text{mm}^3$ ) . .	120	123	149	155
Durch Transaminierung bewirkte zusätzliche $\text{CO}_2$ -Entwicklung .			24%	28%	27%

## 2. Versuch.

	Blind-versuch		Zusatz von 25 mg Apoferment			Zusatz von 25 mg Apoferment + 50 $\gamma$ Pyridoxal-acetal-phosphat		
	Gemessene Menge $\text{CO}_2$ ( $\text{mm}^3$ ) . . . . .	152	148	168	160	160	166	162
Durch Transaminierung bewirkte zusätzliche $\text{CO}_2$ -Entwicklung . . . . .			12%	7%	7%	10%	8%	8%

Unsere mit dem krystallisierten Pyridoxal-acetal-phosphat erzielten Ergebnisse zeigen, dass Pyridoxal-phosphorsäure-ester (mit dem Phosphorsäurerest am phenolischen Hydroxyl) sehr wahrscheinlich nicht das Coferment der in *Streptococcus faecalis* wirksamen Transaminase sein kann. Ob es andere Transaminasen gibt, in denen Pyridoxal-phosphat als Wirkungsgruppe auftritt, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

## 66. Rubichrom, ein neues, natürlich vorkommendes Carotinoid mit furanoidem Ringsystem

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

(29. I. 47.)

Über Carotinoidfarbstoffe aus *Tagetes*-Blüten liegen einige Untersuchungen aus früheren Jahren vor. *R. Kuhn*, *Winterstein* und *Lederer*<sup>1)</sup> fanden in *Tagetes grandiflora*, *T. nana* und *T. patula* Xanthophyll, in ersterem ausserdem Violaxanthin.

Eine Neubearbeitung der Farbstoffe aus Blüten von *Tagetes patula* (*nana flora plenum*), die im Herbst gepflückt worden waren, ergab eine viel grössere Reichhaltigkeit an Carotinoidpigmenten. Neben dem Hauptfarbstoff, dem Xanthophyll, konnten wir nachweisen und chromatographisch trennen:  $\beta$ -Carotin,  $\alpha$ -Carotin, Xanthophyll-epoxyd, Lycopin, Rubixanthin, sowie einen neuen, bisher unbekanntes Carotinoidfarbstoff, dem wir den Namen Rubichrom zuerteilen.

Rubichrom ist eine gut kristallisierte Verbindung vom Smp. 154°. Sie besitzt die Bruttoformel  $C_{40}H_{56}O_2$ . Von den beiden Sauerstoffatomen gehört nur eines einer Hydroxylgruppe an (1 aktives H-Atom bei der *Zerewitinoff*-Bestimmung), das andere ist ätherartig gebunden. Rubichrom ist kein Carotinoid-(1,2)-epoxyd, denn es lässt sich durch chlorwasserstoffhaltiges Chloroform nicht umlagern. Infolgedessen kommt für die Substanz die Formel eines furanoiden Oxyds in Frage. Diese wird durch den positiven Ausfall der Salzsäurereaktion bestätigt: wenn man die ätherische Lösung des Rubichroms mit konz. wässriger Salzsäure durchschüttelt, so färbt sich die Salzsäureschicht, wie bei anderen furanoiden Oxyden der Carotinreihe mit einem Furanring, mässig stark blau; diese Färbung ist tagelang beständig.

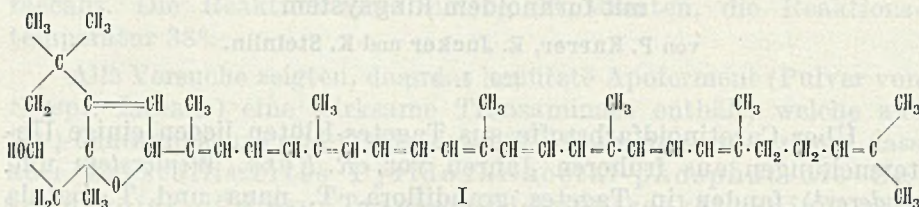
Rubichrom besitzt in Schwefelkohlenstoff Absorptionsmaxima bei 506 und 476  $m\mu$ . Da die längstwellige Bande eines mono-furanoiden Oxydes eines Carotinfarbstoffes in Schwefelkohlenstoff stets 27–30  $m\mu$  kürzerwellig liegt als diejenige des Pigmentes, von dem es sich ableitet, muss der Farbstoff, dessen furanoides Oxyd das Rubichrom ist, in  $CS_2$  Absorptionsmaxima bei ca. 533–536  $m\mu$  und 492–496  $m\mu$  besitzen. Dieses Absorptionsspektrum kommt dem Rubixanthin zu (Absorptionsmaxima 534, 493  $m\mu$ ). Rubichrom besitzt daher folgende Konstitution I (S. 532).

Mit dieser Formel stimmen auch alle übrigen Eigenschaften des Pigmentes überein: Bei der Verteilung zwischen Methanol und Petrol-

<sup>1)</sup> Z. physiol. Ch. 197, 141 (1931).

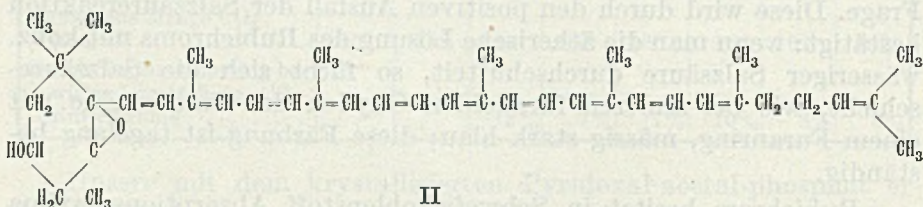


äther nehmen beide Schichten nach Art von Mono-hydroxy-carotinoiden Farbstoff auf; im Chromatogramm findet man Rubichrom unterhalb des Xanthophylls, wie dies die unten aufgestellte Konstitutionsformel erwarten lässt.



Es ist schon erwähnt worden, dass die untersuchten Tagetesblüten auch Rubixanthin enthielten. Das Rubichrom ist daher sehr wahrscheinlich in der Pflanze aus Rubixanthin gebildet worden, wobei Rubixanthin-epoxyd als Zwischenprodukt auftreten wird. Letzteres konnten wir in unserem im Herbst gesammelten Blütenmaterial nicht feststellen; es ist aber denkbar, dass es zu anderen Jahreszeiten in den Blüten vorkommt. Auch bei der Untersuchung der Blüten des Stiefmütterchens hatte sich s. Zt.<sup>1)</sup> gezeigt, dass diese im Frühjahr neben dem Di-epoxyd Violaxanthin, dessen furanoides Umlagerungsprodukt, das Auroxanthin, nur in kleiner Menge enthalten, während letzteres in den Sommer- und Herbstmonaten, d. h. in den Blüten älterer Pflanzen, sehr stark zunimmt.

Wir haben versucht, die Konstitution des Rubichroms auch durch synthetische Versuche zu stützen. Dieser Weg musste über das Rubixanthin-epoxyd (II)



führen. Die Oxydation des Rubixanthins wurde in gewohnter Weise mit Phtalpersäure ausgeführt. Leider verlief sie mit schlechter Ausbeute an Epoxyd, was darauf zurückzuführen ist, dass die Rubixanthinmolekel nicht beidseitig von Jonon-kohlenstoffringen begrenzt wird; offenkettige Struktur bei Carotinoidfarbstoffen gibt, wie wir von anderen Beispielen wissen (Lycopin u. a.), bei Oxydationen mit Phtalpersäure zu uneinheitlichem und unübersichtlichem Reaktionsverlauf Anlass. Immerhin ist es gelungen, eine kleine Menge Rubixanthin-epoxyd krystallisiert zu erhalten und es dreimal umzukrystallisieren. Smp. 170–171°. Die Absorptionsspektren waren die er-

<sup>1)</sup> P. Karrer, E. Jucker, J. Rutschmann, K. Steinlin, Helv. 28, 1149 (1945).

warteten (in  $\text{CS}_2$  7  $\mu$  kürzerwellig als diejenigen des Rubixanthins, vgl. experim. Teil). Die Analyse des Präparates stimmte ungefähr auf die Formel  $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2 + 0,5$  bis 1 Mol.  $\text{H}_2\text{O}$ ; aus Mangel an Substanz liess sich leider nicht feststellen, ob diese nach weiterem Trocknen auf die wasserfreie Formel berechnete Analysenwerte ergeben hätte.

Rubixanthin-epoxyd färbt beim Versetzen seiner ätherischen Lösung mit konz. Salzsäure letztere blau; die Färbung entspricht nach Intensität und Haltbarkeit derjenigen des Rubichroms.

Rubixanthin-epoxyd wird durch Chloroform, das Spuren von Chlorwasserstoff enthielt, in derselben Weise wie andere Carotinoid-epoxyde verändert. Die Umsetzungsprodukte liessen sich nicht kristallisiert isolieren, da wir nur wenige mg Epoxyd bei dem Versuch einsetzen konnten. Die Trennung im Chromatogramm ergab 3 Zonen, welche Pigmente mit den erwarteten Eigenschaften enthielten:

unterste Schicht: zurückgebildetes Rubixanthin (Absorptionsmaxima in  $\text{CS}_2$  534, 494  $\mu$ );  
mittlere Schicht: Spuren von unverändertem Rubixanthin-epoxyd (Absorptionsmaxima in  $\text{CS}_2$  526, 492  $\mu$ );

oberste Schicht (Hauptmenge): Farbstoff mit demselben Absorptionsspektrum, derselben Verteilung zwischen Methanol-Petroläther, demselben Adsorptionsverhalten und derselben Farbreaktion mit konz. Salzsäure wie Rubichrom.

Es kann daher kein Zweifel bestehen, dass dieses aus Rubixanthin-epoxyd durch Umlagerung entstandene furanoide Oxyd mit dem natürlichen Rubichrom identisch ist.

Zu den früher bekannt gewordenen, natürlich vorkommenden Carotinoid-epoxyden (Xanthophyll-epoxyd, Antheraxanthin, Violaxanthin,  $\alpha$ -Carotin-epoxyd) und furanoiden Carotinoid-oxyden (Flavoxanthin, Chrysanthemaxanthin, Auroxanthin, Citroxanthin = Muta-tochrom<sup>1)</sup>) kommt somit jetzt als neues das Rubichrom hinzu.

### Experimenteller Teil.

Extraktion der Farbstoffe aus Blüten von *Tagetes patula*.

3,2 kg der getrockneten und fein gemahlene Tagetesblüten wurden bei Zimmertemperatur dreimal mit Petroläther und hierauf mit Benzol extrahiert, die Lösungsmittel auf 600  $\text{cm}^3$  eingengt und das Konzentrat in drei ungefähr gleichen Portionen aufgearbeitet.

Zu jedem Anteil dieses Petroläther-Extraktes gab man 600  $\text{cm}^3$  Äther und 400  $\text{cm}^3$  12-proz. methanolische Kalilauge und liess die Mischung über Nacht bei  $-10^\circ$  stehen. Die auskristallisierten Sterine nutschten wir ab und wuschen das Filtrat mit Wasser alkalifrei. Hierauf wurde dieses im Vakuum zur Trockene verdampft, der kristalline Rückstand wiederholt mit hochsiedendem Petroläther ausgekocht, abgenutscht und aus einem Gemisch von Methanol-Petroläther umkristallisiert. Man erhielt auf diese Weise direkt reines Xanthophyll, dessen Gewichtsmenge aus den drei Ansätzen zusammen 3,4 g betrug. Smp.  $190^\circ$  (unkorr., im Vakuum).

Die verschiedenen Petrolätherauszüge haben wir vereinigt und zur Trennung der darin enthaltenen Farbstoffe mit Methanol ausgeschüttelt. Dadurch wurde eine Trennung in epiphasische und hypophasische Pigmente erzielt. Die Mutterlaugen von der Xanthophyllreinigung haben wir zusammen mit der Hypophase aufgearbeitet.

<sup>1)</sup> Vgl. die nachfolgende Mitteilung.

## A. Aufarbeitung der Hypophase.

Der Methanolauszug je eines Ansatzes wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft und zwecks teilweiser Entfernung der Sterine mehrmals mit Petroläther ausgekocht. Den harzigen Rückstand nahm man in Benzol auf und chromatographierte die Lösung an einer Säule von Zinkcarbonat (4,8 × 60 cm), wobei das Chromatogramm zunächst mit Benzol, dann mit einem Gemisch von Benzol und Äther entwickelt wurde. Die beobachteten Schichten waren folgende:

- |                    |              |                                  |                 |
|--------------------|--------------|----------------------------------|-----------------|
| 1. (oberste) Zone: | braun 3 cm   | Absorpt.-Max. in CS <sub>2</sub> | 497 469 m $\mu$ |
| 2.                 | „ braun 7 cm | „ „ „ „                          | 504 470 m $\mu$ |
| 3.                 | „ braun 7 cm | „ „ „ „                          | 500 470 m $\mu$ |

Aus der obersten Zone liess sich kein kristallisierter Farbstoff gewinnen.

Als man das Eluat der 2. Schicht mit etwas chlorwasserstoffhaltigem Chloroform schüttelte, trat eine Verschiebung der Absorptionsmaxima ein. Der ungelagerte Farbstoff besass in Schwefelkohlenstoff die Absorptionsmaxima 476, 450 m $\mu$ . Daraus kann geschlossen werden, dass Zone 2 Xanthophyll-epoxyd enthielt. Für die Isolierung des Farbstoffs war aber die Menge zu gering.

Den Farbstoff der 3. Zone haben wir nach der Elution nochmals an Zinkcarbonat chromatographiert und dabei die beiden folgenden Schichten erhalten:

- |                |            |                                  |                 |
|----------------|------------|----------------------------------|-----------------|
| obere Schicht: | braun 3 cm | Absorpt.-Max. in CS <sub>2</sub> | 508 479 m $\mu$ |
| untere Zone:   | braun 8 cm | „ „ „ „                          | 506 478 m $\mu$ |

Die beiden Schichten waren durch eine breite farblose Zone getrennt.

Aus der oberen liessen sich 10 mg kristallisiertes Xanthophyll gewinnen. Aus der unteren Zone erhielten wir 20 mg Farbstoff, der nach zweimaligem Umkristallisieren aus einem Gemisch von Methanol und Äther analysenrein war.

Diese Verbindung, das Rubichrom, kristallisierte in dünnen Blättchen, die in der Aufsicht rotviolette Farbe besitzen. Smp. 154° (unkorr., im evakuierten Röhrchen). Die ätherische Lösung des Pigmentes färbt beim Durchschütteln mit konz. Salzsäure die letztere blau. Bei der Verteilung zwischen Methanol und Petroläther geht der Farbstoff in beide Schichten.

C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 84,43 H 9,93 1 akt. H 0,17%  
Gef. „ 83,85 „ 9,75 „ „ 0,19% (Zerewitinoff-Best.)

Absorptionsmaxima:	in Schwefelkohlenstoff	506 476 m $\mu$
	in Benzol	490 458 m $\mu$
	in Alkohol	480 448 m $\mu$
	in Chloroform	488 456 m $\mu$
	in Benzin	479 448 m $\mu$

## B. Aufarbeitung der Epiphase.

Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abdestilliert und der ölige Rückstand zur teilweisen Entfernung der Sterine wiederholt mit Methanol ausgekocht. Hierauf haben wir ihn in Petroläther gelöst und an einer Calciumhydroxydsäule (4,8 × 60 cm) chromatographiert:

- |             |             |                                  |                             |
|-------------|-------------|----------------------------------|-----------------------------|
| obere Zone: | orange 8 cm | Absorpt.-Max. in CS <sub>2</sub> | unsharp ca. 530 497 m $\mu$ |
| untere „    | gelb 8 cm   | „ „ „ „                          | 513 483 m $\mu$             |

Die obere Zone haben wir nach der Elution ein zweites Mal chromatographiert, wobei folgende Aufteilung stattfand:

- |                    |             |                                  |                 |
|--------------------|-------------|----------------------------------|-----------------|
| 1. (oberste) Zone: | orange 3 cm | Absorpt.-Max. in CS <sub>2</sub> | —               |
| 2.                 | „ „ 6 cm    | „ „ „ „                          | 533 493 m $\mu$ |
| 3.                 | „ „ 3 cm    | „ „ „ „                          | 530 490 m $\mu$ |
| 4.                 | „ gelb 5 cm | „ „ „ „                          | 509 478 m $\mu$ |
| 5.                 | „ „ 3 cm    | „ „ „ „                          | 503 471 m $\mu$ |

Der Farbstoff aus Zone 2 ist nach der Lage der Absorptionsbanden Rubixanthin; dasselbe Pigment ist auch noch in der Zone 3 enthalten. In Zone 4 sowie in der unteren Zone des vorhergehenden Chromatogramms kommen  $\beta$ - und  $\alpha$ -Carotin vor. Die Mengen dieser epiphasischen Farbstoffe waren für eine Kristallisation zu gering.

## Oxydation des Rubixanthins: Rubixanthin-mono-epoxyd und Rubichrom.

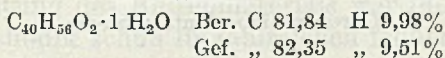
0,60 g Rubixanthin wurden in 50 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin gelöst, diese Lösung mit 5 g Essigsäure-anhydrid versetzt und während 2 Stunden auf 50° erwärmt. Anschliessend nahm man in Äther auf, wusch wiederholt mit Wasser (15—20 mal), trocknete mit frisch geglühtem Natriumsulfat und versetzte in der Kälte mit der berechneten Menge einer ätherischen Lösung von Phtalmonopersäure (auf 1 Mol Farbstoff haben wir 1 Mol Persäure angewendet). Nach 20 Stunden war die Oxydation beendet (Raumtemperatur, im Dunkeln). Zur Entfernung der Phtalsäure wurde das Reaktionsgemisch mehrmals mit verdünnter Natronlauge ausgeschüttelt, getrocknet, im Vakuum eingeeengt und mit methanolischer Kalilauge verseift. Die Farbstoffe hat man in Äther übergeführt, diese Lösung mit Wasser alkalifrei gewaschen, getrocknet, das Lösungsmittel abdestilliert und den Rückstand aus einem Gemisch von Benzol und Petroläther 1:1 an einer Säule von Zinkcarbonat chromatographiert. Nach dem Entwickeln mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch besass das Chromatogramm folgenden Bau:

- |                                      |                              |                 |
|--------------------------------------|------------------------------|-----------------|
| 1. (oberste) Zone: 8 cm orangerot a) | Abs.-Max. in CS <sub>2</sub> | 500 472 m $\mu$ |
|                                      | b) „ „ „ „                   | 528 492 m $\mu$ |
| 2. „ 3 cm rot                        | „ „ „ „                      | 533 492 m $\mu$ |

Die Farbstoffe wurden mit einem Gemisch von Äther und Methanol 10:1 eluiert. Zone 2 enthielt geringe Mengen unverändertes Rubixanthin, während Schicht 1b Rubixanthin-mono-epoxyd lieferte.

Nach Elution und zweimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Methanolgemisch erhielt man aus der unteren Hälfte der obersten Zone (1b) eine geringe Menge Rubixanthin-mono-epoxyd. Die Verbindung zeigte folgende Eigenschaften: Smp. 170—171° (unkorr. im Vakuum), orangerote Nadeln aus Äther-Methanolgemisch. Makroskopisch betrachtet, bildet das Epoxyd ein feines Krystallpulver von kupferroter Farbe und schönem Oberflächenlanz. Bei der Verteilung zwischen Petroläther und 90-proz. Methanol färbt Rubixanthin-mono-epoxyd beide Schichten an. Beim Versetzen einer ätherischen Lösung des Farbstoffes mit konz. wässriger Salzsäure tritt nach etwa 1/4 Minute starke Blaufärbung auf, welche tagelang bestehen bleibt.

Absorptionsmaxima: in Schwefelkohlenstoff	526 491 461 m $\mu$
in Benzol	504 475 m $\mu$
in Chloroform	504 474 m $\mu$
in Petroläther	491 461 m $\mu$



Die völlige Reinheit dieser Verbindung ist nicht gewährleistet (vgl. theoretischen Teil).

Rubichrom kann durch Einwirkung von HCl-haltigem Chloroform auf Rubixanthin-mono-epoxyd erhalten werden. Das Chromatogramm der Umlagerungsprodukte (ZnCO<sub>3</sub>, Benzol) besass folgenden Bau:

- |                   |                 |                             |
|-------------------|-----------------|-----------------------------|
| 1. (oberste) Zone | 505 475 m $\mu$ | Rubichrom (Hauptmenge)      |
| 2. „              | 526 493 m $\mu$ | Rubixanthin-epoxyd (Spuren) |
| 3. „              | 534 494 m $\mu$ | Rubixanthin                 |

Rubichrom verhält sich bei der Verteilungsprobe ähnlich wie Rubixanthin-epoxyd; beide Schichten werden angefärbt, die untere etwas stärker. Die Salzsäurereaktion fällt positiv aus; die Blaufärbung hält sich tagelang unverändert.

Absorptionsmaxima in:

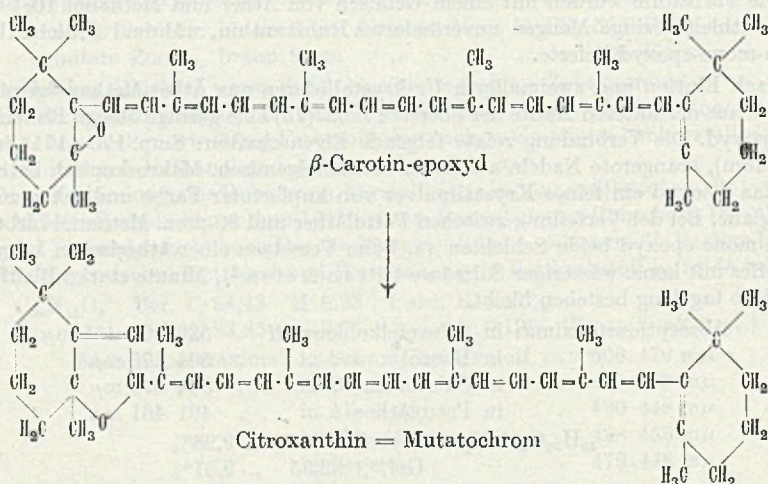
Schwefelkohlenstoff	506 476 m $\mu$
Benzol	486 455 m $\mu$
Chloroform	486 455 m $\mu$
Petroläther	475 447 m $\mu$

## 67. Die Konstitution des Citroxanthins

von P. Karrer und E. Jucker.

(29. I. 47.)

Vor einiger Zeit<sup>1)</sup> fanden wir in Orangenschalen neben Kryptoxanthin einen neuen Carotinoidfarbstoff, den wir Citroxanthin nannten. Wir haben jetzt festgestellt, dass Citroxanthin mit Mutatochrom, einem Pigment, das wir inzwischen aus  $\beta$ -Carotin partialsynthetisch hergestellt haben<sup>2)</sup>, identisch ist. Die Synthese führt über das  $\beta$ -Carotin-epoxyd und es ist wahrscheinlich, dass auch das Citroxanthin der Orangenschalen auf dem gleichen Weg gebildet wird:



Nachfolgend geben wir eine Gegenüberstellung der Eigenschaften des natürlichen Citroxanthins und des synthetischen Mutatochroms, so wie wir sie früher für die beiden Substanzen beschrieben hatten:

	Citroxanthin	Mutatochrom
Formel . . . . .	$C_{40}H_{56}O^1)$	$C_{40}H_{56}O^2)$
Schmelzpunkt . . . . .	167° (korr.) <sup>1)</sup>	164° (unkorr.) = 167° (korr.) <sup>2)</sup>
Absorpt.-Max. in $CS_2$ . . . . .	488 456 $m\mu$	489 459 $m\mu^2)$
Reakt. m. konz. Salzsäure	schwach blau <sup>3)</sup>	schwach blau <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> P. Karrer, E. Jucker, Helv. 27, 1695 (1944).

<sup>2)</sup> P. Karrer, E. Jucker, Helv. 28, 427 (1945).

<sup>3)</sup> Ergebnis einer jetzt ausgeführten Prüfung.

Wir haben nunmehr auch ein Mischchromatogramm von Citroxanthin und Mutatoxanthin ausgeführt. Eine Trennung der beiden Farbstoffe trat nicht ein, was ebenfalls für ihre Identität zeugt.

Das furanoide Monoxyd des  $\beta$ -Carotins ist nach diesen Feststellungen ein in der Natur vorkommendes Pigment. Im Citroxanthin wurde es zum erstenmal im Pflanzenreich festgestellt. Da sich seine Bildung über das  $\beta$ -Carotin-epoxyd vollziehen dürfte, wird auch letzteres ein Naturfarbstoff sein.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

## 68. Zur Verbreitung der Carotinoide, insbesondere Carotinoid-epoxyde in Blüten

von P. Karrer, E. Jucker und E. Krause-Voith.

(29. I. 47.)

Zwecks Feststellung der Verbreitung von Carotinoid-epoxyden im Pflanzenreich wurden in unserem Laboratorium in letzter Zeit eine Reihe verschiedener Blüten auf ihren Gehalt an Carotinoid-pigmenten untersucht. Einige dieser Blüten waren schon früher Gegenstand analoger Forschungen gewesen, jedoch zu einer Zeit, als die Carotinoid-epoxyde noch nicht bekannt und auch die Trennungsmethoden für Carotinoide noch nicht so entwickelt gewesen waren wie heute. So ist es denn auch neuerdings gelungen, in verschiedenen Blüten Farbstoffe aufzufinden, die der Beobachtung früher entgangen waren.

Die Aufarbeitung des Blütenmaterials war im Prinzip stets dieselbe. Da die Methodik schon in zahlreichen früheren Abhandlungen beschrieben ist, verzichten wir auf eine erneute Schilderung des Trennungsverfahrens. Das Prinzip des Arbeitsganges besteht darin, die Carotinoidpigmente nach der Extraktion mit alkoholischer Lauge zu verseifen, durch Verteilung zwischen Petroläther und Methanol in hypophasische und epiphasische Anteile zu trennen und schliesslich die beiden Anteile chromatographisch zu zerlegen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind folgende:

Blüten von *Crepis aurea*. *Crepis*-Arten enthalten nach älteren Angaben<sup>1)</sup> nicht näher bestimmte Carotinoide. Wir konnten in den Blüten von *Crepis aurea* nachweisen:  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, Xanthophyll, Violaxanthin und einen noch nicht identifizierten Farbstoff, der in Schwefelkohlenstofflösung Absorptionsmaxima bei 501 und 470  $m\mu$  besitzt und sich durch Chlorwasserstoff-haltiges Chloroform nicht umlagern lässt, demnach kein Epoxyd ist.

<sup>1)</sup> Collins, Sci. 63, 52 (1926).

Blüten von *Lotus corniculatus* (gelber Klee). Diese scheinen bisher nicht auf Carotinoide geprüft worden zu sein. Es liessen sich darin nachweisen:  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, Xanthophyll, Xanthophyll-epoxyd, Violaxanthin; wahrscheinlich kommt noch ein weiteres, nicht identifiziertes Carotinoid-epoxyd darin vor.

Blüten von *Arnica montana*. Früher hat man Xanthophyll in diesen Blüten festgestellt<sup>1)</sup>. Dazu kommen jetzt neu: Xanthophyll-epoxyd und Zeaxanthin. Die epiphasischen Pigmente treten nur in sehr geringen Mengen auf und sind noch nicht ermittelt.

Von den vorbeschriebenen Beobachtungen scheinen uns insbesondere diejenigen Interesse zu bieten, die sich auf das Vorkommen von Epoxyden (Xanthophyll-epoxyd, Violaxanthin,  $\alpha$ -Carotin-epoxyd) beziehen. Sie bestätigen die weite Verbreitung dieser Verbindungen im Pflanzenreich; insbesondere häufig begegnet man dem Xanthophyll-epoxyd.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

### 69. Comment déceler analytiquement la présence des organo-mercuriels dans une préparation pharmaceutique

par A. Bolle et P. Wenger.

(31 I 47)

Parmi les nombreux antiseptiques employés de nos jours, les composés organomercuriels occupent une place importante, grâce à leur action bactériostatique et bactéricide puissante. On connaît actuellement une quantité de dérivés, parmi lesquels ceux qui contiennent le radical phényl-mercure trouvent le plus d'applications pharmaceutiques.

On les emploie, non seulement dans un but strictement thérapeutique, mais aussi comme agents de conservation pour des vaccins, sérums, collyres... etc.

Jusqu'ici, il n'y avait, à notre connaissance, aucun moyen rapide de déceler ces corps dans une préparation pharmaceutique, à moins de détruire la matière organique pour révéler la présence de mercure inorganique.

Or, nous avons pu constater récemment, que parmi les réactifs du mercure recommandés par le Rapport de la Commission internationale des Réactifs, l'un d'eux, la diphényl-carbazone, réagit

<sup>1)</sup> Kuhn und Winterstein, Naturwiss. 18, 754 (1930).

avec une extrême sensibilité sur la plupart des composés organo-mercuriels bruts, sans minéralisation préalable.

Ce réactif, déjà préconisé dans la littérature pour un dosage colorimétrique du mercure minéral, s'applique de même au dosage colorimétrique de l'ion phényl-mercure jusqu'à la dilution de  $10^{-6}$ .

Nous nous réservons le droit d'indiquer, dans une note ultérieure, les précisions de la méthode qui semble devoir présenter d'intéressantes applications biologiques et pharmaceutiques.

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

## 70. Über den Stoffwechsel von Tuberkelbazillen.

(11. Mitteilung<sup>1</sup>)).

### Systematische Untersuchungen über die Wirkung primärer aromatischer Amine auf das Wachstum von Tuberkelbazillen<sup>2</sup>)

von H. Bloch, G. Brubacher, H. Erlenmeyer und E. Suter.

(I. II. 47.)

In früheren Mitteilungen berichteten wir über die tuberkulostatische Wirkung von primären Aminen und deren Derivaten<sup>3</sup>). Das Hemmvermögen dieser Verbindungen wurde gemessen, indem man sie synthetischen Nährflüssigkeiten beimischte und ihren Einfluss auf die Entwicklung von Oberflächen-Schwimmkulturen eines bestimmten Tuberkelbazillenstamms feststellte. Um die Ergebnisse solcher Reihenversuche unter sich besser vergleichbar zu machen und Schwankungen, wie sie bei dieser Versuchsanordnung immer wieder vorkommen, auszugleichen, stellten wir nicht nur die das Kulturwachstum eben noch hemmende Grenzkonzentration eines Stoffes fest, sondern verglichen diese immer noch mit derjenigen von salicylsaurem Natrium, das in der Konzentration von  $2 \times 10^{-4}$  Mol/l als Standard-Hemmsubstanz für diese Versuche verwendet wurde. Das Hemmvermögen einer Verbindung kann demnach durch die eben

<sup>1</sup>) 10. Mitteilung: H. Bloch und E. Suter, Schw. Z. Path. Bakt., im Druck.

<sup>2</sup>) Die vorliegenden Untersuchungen wurden mit Unterstützung eines Arbeitsbeschaffungskredits des Bundes ausgeführt, für dessen Gewährung wir auch an dieser Stelle danken möchten. Ferner danken wir auch der Ciba Aktiengesellschaft für ihre Unterstützung.

<sup>3</sup>) H. Bloch, H. Lehr und H. Erlenmeyer, Helv. 28, 1406 (1945); H. Bloch, H. Lehr, H. Erlenmeyer und K. Vogler, Helv. 28, 1410 (1945); H. Erlenmeyer, H. Lehr und H. Bloch, Helv. 28, 1413 (1945); H. Lehr, H. Bloch und H. Erlenmeyer, Helv. 28, 1415 (1945).



noch hemmende Grenzkonzentration sowie durch die Zahl charakterisiert werden, um die die betreffende Substanz wirksamer ist als eine  $2 \times 10^{-4}$ -molare Natriumsalicylatlösung, einen Wert, den wir als „Salicylatzahl“ bezeichnet haben. Es sei hier noch betont, dass die so erhaltenen Werte relative Grössen darstellen, die zunächst nur für die beschriebene Versuchsanordnung Gültigkeit besitzen und unter sich verglichen werden können.

Beim Vergleich einer grösseren Zahl solcher Amine erwies sich deren Wirkung als spezifisch<sup>1)</sup> und strukturabhängig. So geht aus den früher veröffentlichten Tabellen bereits hervor, dass z. B.  $\alpha$ -Naphthylamin 20mal weniger wirksam ist als  $\beta$ -Naphthylamin. Unsere neueren Untersuchungen, über die wir hier berichten, haben diese grossen strukturbedingten Unterschiede bestätigt und gezeigt, dass in Reihen von sehr ähnlichen Verbindungen einzelne Vertreter bis 3000 mal wirksamer sein können als andere.

Allgemein zeigte es sich, dass nur solche primäre aromatische Amine das Tuberkelbazillenwachstum hemmen, bei denen die Parastellung des die  $\text{NH}_2$ -Gruppe tragenden Ringes besetzt ist. Die quantitativen Unterschiede waren jedoch beträchtlich zwischen den einzelnen Verbindungen, so dass der Einfluss auf die para-ständige  $\text{NH}_2$ -Gruppe zur Diskussion steht. Wir führten deshalb systematische Untersuchungen durch, um Näheres über die Struktur der die bakteriostatischen Eigenschaften offensichtlich beeinflussenden Substituenten kennen zu lernen. Einige der Ergebnisse finden sich in den Tabellen 1 bis 4 wiedergegeben, wo neben den Formeln der geprüften Substanzen deren absolutes und das auf Natriumsalicylat bezogene Hemmvermögen in der Oberflächen-Schwimmkultur auf der früher beschriebenen<sup>2)</sup> synthetischen Nährflüssigkeit aufgeführt wird.

Für die Auswahl der in diesen Tabellen zusammengestellten Substanzen waren verschiedene systematische Ordnungen chemischer Verbindungen begleitend. Die Tabellen 1a und 1b bringen Verbindungen aus homologen Reihen; als Beispiele für die Beziehungen, die sich aus dem periodischen System der Elemente ableiten lassen, sind die in Tabellen 2a und 2b zusammengestellten Reihen zu nennen, während die in Tabellen 3a, 3b und 3c sowie in 4a und 4b aufgeführten Substanzen die im Hydridverschiebungssatz von *H. G. Grimm* angegebenen isosteren Reihen berücksichtigen. Die Beziehungen zwischen der Struktur dieser nach den genannten verschiedenen Gesichtspunkten systematisch geordneten Verbindungen und ihrer tuberkulostatischen Wirkung sind aus diesen Tabellen ersichtlich.

<sup>1)</sup> *H. Bloch*, Schweiz. med. Wschr. **76**, 1179 (1946).

<sup>2)</sup> *H. Bloch*, *H. Erlenmeyer* und *H. P. Furger*, Helv. **27**, 414 (1944).

Tabelle 1a.

Tuberkulostatische Wirkung homologer Ester der p-Aminobenzoesäure, ausgedrückt durch Salicylzahl (S.Z.) und total hemmende Grenzkonzentration (Mol/l).

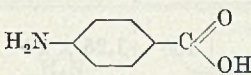
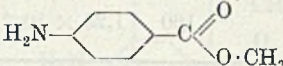
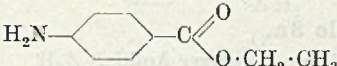
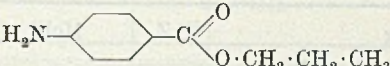
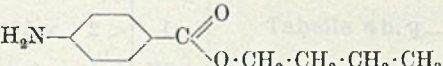
Verbindung	S.Z.	Mol/l
	0,5	$4 \times 10^{-4}$
	16	$1,25 \times 10^{-5}$
	40	$5 \times 10^{-6}$
	400	$5 \times 10^{-7}$
	400	$5 \times 10^{-7}$

Tabelle 1b.

Tuberkulostatische Wirkung homologer Äther des p-Aminophenols.



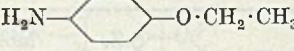
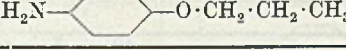
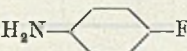

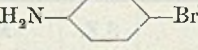
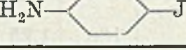
Verbindung	S.Z.	Mol/l
	< 1	$< 2 \times 10^{-4}$
	20	$1 \times 10^{-5}$
	160	$1,25 \times 10^{-6}$
	320	$6,25 \times 10^{-7}$

Tabelle 2a.

Tuberkulostatische Wirkung der p-Amino-halogen-benzole.

Verbindung	S.Z.	Mol/l
	< 1	$< 2 \times 10^{-4}$
	6 <sup>1)</sup>	$3,3 \times 10^{-5}$
	7 <sup>1)</sup>	$3 \times 10^{-5}$
	20	$1 \times 10^{-5}$

<sup>1)</sup> Der Unterschied im Hemmvermögen dieser beiden Verbindungen ist gering, jedoch zeigt sich das p-Bromanilin in sämtlichen Versuchen etwas stärker wirksam als das p-Chloranilin.

Tabelle 2b.

Vergleich der tuberkulostatischen Wirkung von p-Phenetidin und dem entsprechenden Thioäther.

Verbindung	S.Z.	Mol/l
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2$	160	$1,25 \times 10^{-6}$
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{S}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_3$	160	$1,25 \times 10^{-6}$

Tabelle 3a.

Tuberkulostatische Wirkung isomerer Amine.

Verbindung	S.Z.	Mol/l
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{F}$	<1	$< 2 \times 10^{-4}$
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$	<1	$< 2 \times 10^{-4}$
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}_2$	<1	$< 2 \times 10^{-4}$
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_3$	27	$7,4 \times 10^{-6}$

Tabelle 3b.

Tuberkulostatische Wirkung isomerer Amine der  $-\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{X}\cdot\text{C}_6\text{H}_6$ -Reihe.

Verbindung	S.Z.	Mol/l
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_{11}$	40	$5 \times 10^{-6}$
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_{11}$	2	$1 \times 10^{-4}$
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_{11}$	160	$1,25 \times 10^{-6}$

Tabelle 3c.

Tuberkulostatische Wirkung isomerer Amine der  $-\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{X}\cdot\text{C}_2\text{H}_5$ -Reihe.

Verbindung	S.Z.	Mol/l
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_3$	160	$1,25 \times 10^{-6}$
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_3$	320	$6,25 \times 10^{-7}$

Tabelle 4a.

Tuberkulostatische Wirkung isosterer Amine der  $-C_6H_4 \cdot C \begin{matrix} O \\ \diagup \\ X \end{matrix}$ -Reihe.

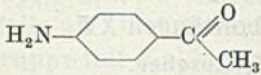
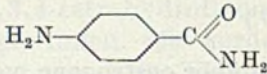
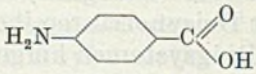
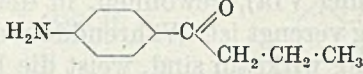
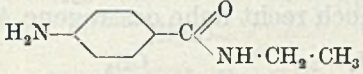
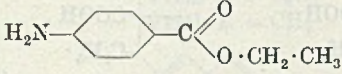
Verbindung	S.Z.	Mol/l
	0,2	$1 \times 10^{-3}$
	<0,2	$< 1 \times 10^{-3}$
	0,5	$4 \times 10^{-4}$

Tabelle 4b.

Tuberkulostatische Wirkung isolierter Amine der  $-C_6H_4 \cdot C \begin{matrix} O \\ \diagup \\ XC_2H_5 \end{matrix}$ -Reihe.

Verbindung	S.Z.	Mol/l
	80	$2,5 \times 10^{-6}$
	1	$2 \times 10^{-4}$
	40	$5 \times 10^{-6}$

Basel, Hygienisches Institut und Anstalt  
für anorganische Chemie der Universität.

## 71. Über Steroide.

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

## B-Nor-monodehydro-doisyngsäuren.

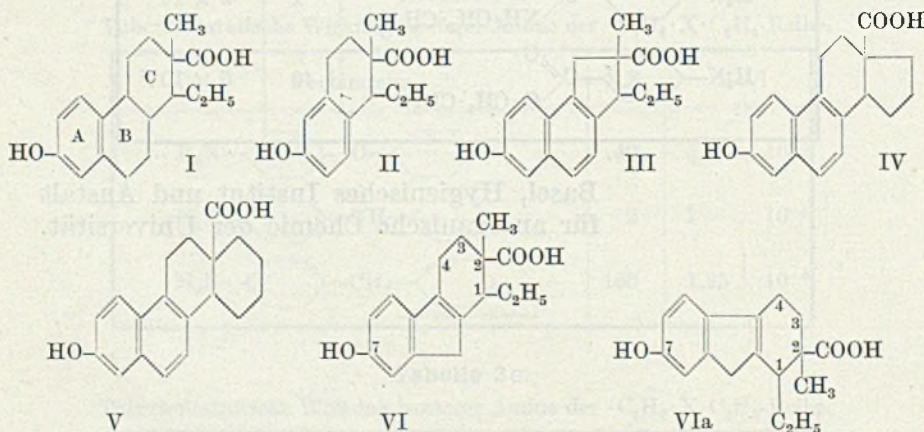
## Über oestrogene Carbonsäuren XV

von G. Anner und K. Miescher.

(4. II. 47.)

Im Laufe unserer Untersuchungen über oestrogene, vom Phenanthren sich ableitende Carbonsäuren der Doisyngsäurereihe (I) wurden auch analoge Vertreter von 4 anderen Ringsystemen hergestellt, nämlich dem des Tetralins (Säure II<sup>2)</sup>), des 10,11-Cyclopentano-naphthalins (Säure III<sup>3)</sup>), des Cyclopentano- (Säure IV<sup>1)</sup>) und Cyclohexano-tetrahydro-phenanthrens (Säure V<sup>1)</sup>), wobei in den letzteren zwei Verbindungen die für den Doisyngsäuretypus charakteristischen beiden Alkylgruppen zur ringförmigen Alkylenbrücke geschlossen sind.

Als weiteren Vertreter dieser Reihe haben wir nun auch die B-Nor-monodehydro-doisyngsäure (VI), eine Tetrahydro-fluorencarbonsäure (siehe auch Formel VIa), gewonnen, in der der Ring B der Doisyngsäure zum 5-Ring verengt ist. Währenddem die Säuren II bis V nicht oder nur sehr wenig wirksam sind, weist die B-Nor-monodehydro-doisyngsäure (VI) noch recht hohe oestrogene Aktivität auf.



Zur Synthese der Säure VI setzten wir, analog dem Verfahren von *J. Heer, J. R. Billeter* und *K. Miescher*<sup>4)</sup> zur Gewinnung der Bis-

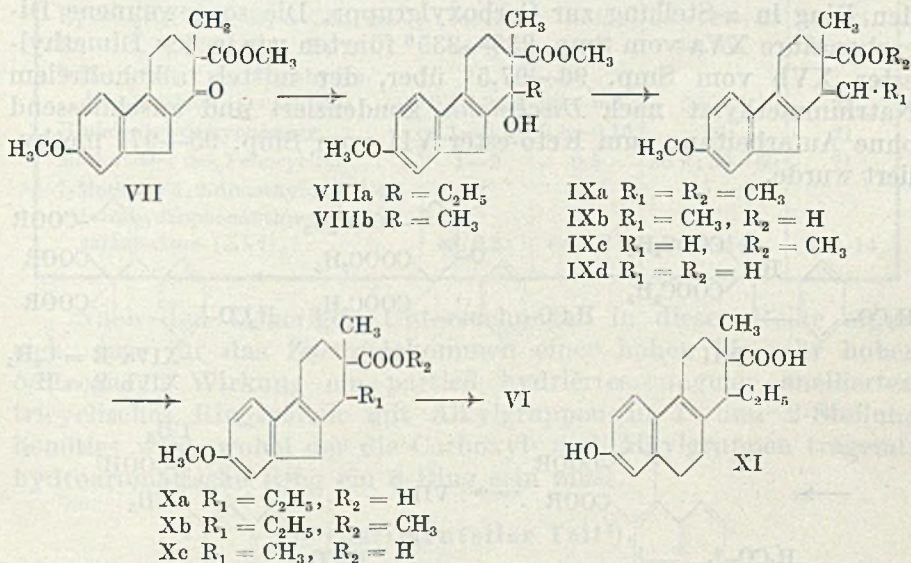
<sup>1)</sup> 57. Mitteilung und XIV siehe *L. Ehmann* und *K. Miescher*, *Helv.* **30**, 413 (1947).

<sup>2)</sup> *G. Anner* und *K. Miescher*, *Helv.* **29**, 586 (1946).

<sup>3)</sup> *J. R. Billeter* und *K. Miescher*, *Helv.* **29**, 859 (1946).

<sup>4)</sup> *Helv.* **28**, 1342 (1945).

dehydro-doisylnsäure den 7-Methoxy-1-keto-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-fluoren-2-carbonsäure-methylester (VII) mit Äthylmagnesiumjodid um. Das in ölig Form erhaltene Carbinol VIIIa unterwarfen wir ohne weitere Reinigung der Wasserabspaltung durch Erhitzen mit Jod in Chloroformlösung und erhielten den 7-Methoxy-1-äthyliden-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure-methylester (IXa) ebenfalls als Öl. Daraus liess sich durch Verseifung der Carbo-methoxy-Gruppe mit Kalilauge bei 170° die 7-Methoxy-1-äthyliden-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (IXb) vom Smp. 169—171° gewinnen. Sie wurde anschliessend in alkalischer Lösung in Gegenwart von *Rupe*-Nickel hydriert, wobei nur eines der beiden möglichen Racemate der tetrahydrierten Säure Xa entstand. Die 7-Methoxy-1-äthyl-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (Xa) vom Smp. 152—153° führten wir mittels Diazomethan in den bei 56—57° schmelzenden Methylester Xb über. Die Spaltung der Methoxysäure Xa mittels Pyridinhydrochlorid bei 170° lieferte die 7-Oxy-1-äthyl-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (VI = VIa) vom Smp. 174—176°. Sterisch dürfte sie dem wirksamen Vertreter der beiden diastereomeren Monodehydro-doisylnsäuren (XI) entsprechen<sup>1</sup>).

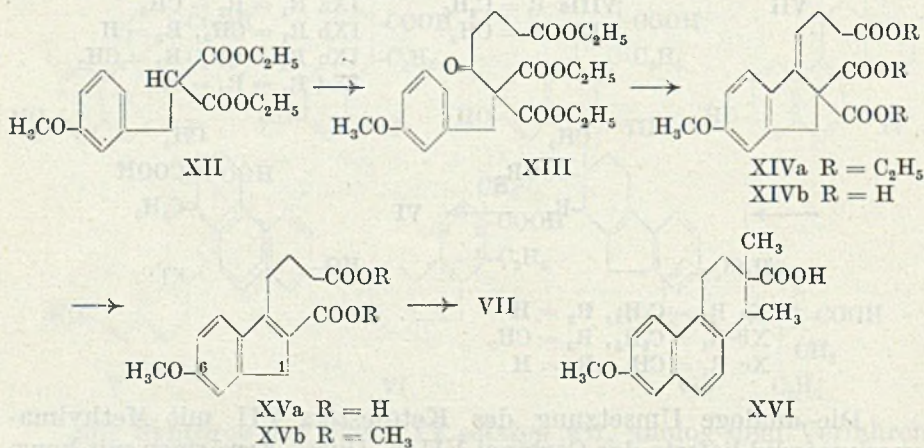


Die analoge Umsetzung des Keto-esters VII mit Methylmagnesiumjodid lieferte das Carbinol VIIIb. Durch Erwärmen mit konz. Ameisensäure erhielt man daraus den 7-Methoxy-1-methylen-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure-methylester (IXc), der direkt mit Kalilauge bei 170° verseift wurde. Die so gewonnene

<sup>1</sup>) G. Anner und K. Miescher, Helv. 29, 1889 (1946).

7-Methoxy-1-methylen-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (IXd) vom Smp. 125—127° hydrierten wir in alkalischer Lösung in Gegenwart von *Rupe*-Nickel zur 7-Methoxy-1,2-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (Xe) vom Smp. 174—176°. Eine isomere Säure Xc wurde auch hier nicht gebildet.

Den als Ausgangsmaterial benötigten, in der Literatur noch nicht beschriebenen 7-Methoxy-1-keto-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure-methylester (VII) bereiteten wir aus dem Natriumsalz des *m*-Methoxy-phenylmethyl-malonsäure-diäthylesters (XII). Es wurde nach den Angaben von *W. E. Bachmann*<sup>1)</sup>, der schon eine analoge Synthese in der Phenanthrenreihe ausgeführt hatte, mit Glutarsäure-äthylesterchlorid zum Keto-triäthylester XIII umgesetzt. Dieser liess sich unter Abspaltung von Wasser zum ungesättigten Triäthylester XIVa cyclisieren. Als Cyclisierungsmittel verwendeten wir 80-proz. Schwefelsäure bei 0° oder 100-proz. Phosphorsäure bei 50—60°. Die aus dem rohen Triäthylester XIVa durch Verseifen mit wässrig-alkoholischer Kalilauge erhaltene Tricarbonsäure XIVb spaltet beim Erwärmen auf 90° im Vakuum äusserst leicht 1 Mol Kohlendioxyd ab. Sehr wahrscheinlich wandert dabei gleichzeitig auch die semicyclische Doppelbindung in den Ring in  $\alpha$ -Stellung zur Carboxylgruppe. Die so gewonnene Dicarbonsäure XVa vom Smp. 233—235° führten wir in den Dimethylester XVb vom Smp. 96—97,5° über, der mittels alkoholfreiem Natriummethylat nach *Dieckmann* kondensiert und anschliessend ohne Aufarbeitung zum Keto-ester VII vom Smp. 95—97° methyliert wurde.

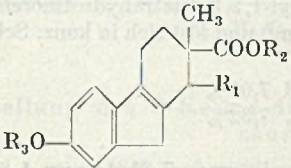


Die Wirkung der beschriebenen Verbindungen der Hydrofluorencarbonsäurereihe wurde von *E. Tschopp* in unserem biologischen Laboratorium im Oestrustest an der kastrierten Ratte nach

<sup>1)</sup> *W. E. Bachmann, S. Kushner und A. C. Stevenson, Am. Soc. 64, 974 (1942).*

einmaliger subcutaner oder oraler Applikation einer hydrogen-carbonathaltigen wässrigen Lösung bestimmt<sup>1</sup>). Aus untenstehender Tabelle ergibt sich, dass der Schwellenwert der B-Nor-monodehydro-doisylnsäure (VI) und ihres Methyläthers Xa im Vergleich zur Bisdehydro-doisylnsäure und ihrem Methyläther (Fenocyclin) 10mal höher liegt und die Wirkungsdauer ungefähr halb so lang ist. Beim Methylester Xb, der in Öl-Lösung verabreicht wurde, und dem 1-Methyl-homologen Xc ist die oestrogene Wirksamkeit gegenüber dem entsprechenden Bisdehydro-doisylnsäure-Derivat und dem 1-Methyl-homologen (XVI) noch stärker vermindert.

Tabelle.

	Oestrus-Schwellenwert an der Ratte in $\gamma$		Oestrus-Dauer bei der Ratte nach einmaliger Gabe von 1 mg, in Tagen	
	subcutan	stomachal	subcutan	stomachal
$R_1 = C_2H_5; R_2 = H; R_3 = CH_3$				
Xa . . . . .	1—2	1—2	ca. 10	ca. 10
$R_1 = C_2H_5; R_2 = R_3 = H; VI$ . . . . .	1—2	1—2	8—10	8—10
$R_1 = C_2H_5; R_2 = R_3 = CH_3; Xb$ . . . . .	ca. 10	ca. 10	50 $\gamma$ : 17—20	9—11
$R_1 = R_3 = CH_3; R_2 = H; Xc$ . . . . .	ca. 7	ca. 7	8—10	8—10
7-Methyläther der Bisdehydro-doisylnsäure (Fenocyclin) . . . . .	0,1—0,15	0,1—0,2	20—21	21
Bisdehydro-doisylnsäure . . . . .	0,1—0,15	0,1—0,15	20	21
Methylester des Fenocyclins . . . . .	1—2	0,5	50 $\gamma$ : 50—60	21
7-Methoxy-1,2-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydrophenanthren-2-carbonsäure (XVI) . . . . .	ca. 0,2	ca. 0,2	12—14	12—14

Nach den bisherigen Untersuchungen in dieser Reihe ergibt sich, dass für das Zustandekommen einer hohen bis sehr hohen oestrogenen Wirkung ein partiell hydriertes, angulär anelliertes, tricyclisches Ringsystem mit Alkylgruppen in 1- und 2-Stellung benötigt wird, wobei der die Carboxyl- und Alkylgruppen tragende hydroaromatische Ring ein 6-Ring sein muss.

### Experimenteller Teil<sup>2</sup>).

#### 7-Methoxy-1-äthyliden-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (IXb).

Zu einer *Grignard*-Lösung, die aus 1,27 g Magnesium und 5,7 g Äthylbromid in 150 cm<sup>3</sup> Äther hergestellt worden war, liess man bei ca. 0° eine Lösung von 10 g 7-Methoxy-1-oxo-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure-methylester (VII) in 150 cm<sup>3</sup> Benzol zulaufen. Die Reaktionsmischung kochte man anschliessend auf dem Wasserbad

<sup>1</sup>) Pro Dosis wurden jeweilen 5 kastrierte, weibliche Ratten eingesetzt.

<sup>2</sup>) Sämtliche Schmelzpunkte sind korrigiert.



und zersetzte sie nach dem Abkühlen mit Eis und Salzsäure. Das Umsetzungsprodukt, das den 7-Methoxy-1-oxy-1-äthyl-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure-methylester (VIIIa) darstellt, wurde nach dem Waschen, Trocknen und Verdampfen des Lösungsmittels als braun gefärbtes Öl erhalten. Zwecks Wasserabspaltung löste man das rohe Carbinol VIIIa in 200 cm<sup>3</sup> Chloroform und kochte nach Zugabe von 0,5 g Jod 1½ Stunden am Rückfluss. Die gekühlte Lösung wurde in Wasser gegossen, mit Natriumthiosulfatlösung und Wasser gewaschen, getrocknet und verdampft, worauf man den 7-Methoxy-1-äthyliden-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure-methylester (IXa) als braun gefärbtes Öl isolierte. Zur Verseifung der Carbomethoxygruppe erhitzten wir 8 g der rohen Äthyliden-Verbindung IXa in einer Mischung von 25 g Kaliumhydroxyd, 5 cm<sup>3</sup> Wasser und 10 cm<sup>3</sup> Alkohol auf 170°. Die Reaktionsmischung goss man hierauf in Wasser, entzog ihr mittels Äther harzige Neutralkörper und säuerte sie mit Salzsäure an, wobei die ungesättigte Säure als gelb gefärbte Krystallmasse ausfiel. Nach dem Abnutschen wurde sie auf dem Filter mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus Aceton umkrystallisiert. Die 7-Methoxy-1-äthyliden-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (IXb) schmolz bei 176—178° (unter Zersetzung) und löst sich in konz. Schwefelsäure mit gelb-brauner Farbe.

$C_{18}H_{20}O_3$	Ber. C 76,03	H 7,09%
	Gef. „ 76,17	„ 7,32%

Methyläther der B-Nor-monodehydro-doisylnsäure, 7-Methoxy-1-äthyl-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (Xa).

2 g der ungesättigten Säure IXb wurden in 200 cm<sup>3</sup> 1-proz. Natronlauge gelöst und in Gegenwart von 2 g Rupe-Nickel hydriert. Die Hydrierung kam nach Aufnahme der für 1 Mol Wasserstoff berechneten Menge zum Stillstand. Nach Abtrennung des Katalysators wurde die alkalische Lösung angesäuert, wobei die Carbonsäure (Xa) in fester Form ausfiel. Nach Umlösen aus Methanol schmolz sie bei 151—152° und färbte sich mit konz. Schwefelsäure hellgelb. Es wurde keine isomere Säure isoliert.

$C_{18}H_{22}O_3$	Ber. C 75,49	H 7,74%
	Gef. „ 75,53	„ 7,88%

Methylester. Der aus dieser Säure mittels ätherischer Diazomethanlösung hergestellte Ester (Xb) schmolz bei 56—57° (aus Methanol).

$C_{19}H_{24}O_3$	Ber. C 75,97	H 8,05%
	Gef. „ 76,07	„ 8,12%

B-Nor-monodehydro-doisylnsäure, 7-Oxy-1-äthyl-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (VI = VIa).

3 g 7-Methoxy-1-äthyl-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure vom Smp. 151—152° erhitzte man zwecks Verseifung der Methoxygruppe mit 20 g Pyridinhydrochlorid während 3—4 Stunden auf 170—180°. Das Reaktionsprodukt goss man in Wasser, extrahierte mit Äther und verdampfte das mit Salzsäure und Wasser gewaschene und getrocknete Lösungsmittel. Der hellgelb gefärbte Rückstand wurde aus Essigester umkrystallisiert und stellt die Carbonsäure (VI) vom Smp. 174—176° dar.

$C_{17}H_{22}O_3$	Ber. C 74,42	H 8,08%
	Gef. „ 74,42	„ 7,96%

7-Methoxy-1,2-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (Xc).

5 g 7-Methoxy-1-oxo-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure-methylester (VII), gelöst in 75 cm<sup>3</sup> Benzol, setzte man bei ca. 0° mit einer aus 0,65 g Magnesium, 3,75 g Methyljodid und 75 cm<sup>3</sup> Äther hergestellten Grignard-Lösung um. Nach anschließendem Kochen auf dem Wasserbad wurde die Reaktionsmischung nach dem Abkühlen mit Eis und Salzsäure zersetzt, in Äther aufgenommen und das Lösungsmittel nach dem

Waschen mit Wasser und Trocknen verdampft. Das erhaltene rohe Carbinol VIIIb wurde sodann in 50 cm<sup>3</sup> 90-proz. Ameisensäure gelöst und auf ca. 90° erwärmt. Nach beendeter Wasserabspaltung goss man in Wasser, extrahierte mit Äther und verdampfte das Lösungsmittel nach dem Waschen mit Wasser und Trocknen. Der Rückstand, der den 7-Methoxy-1-methylen-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäuremethylester (IXc) darstellte, wurde ohne weitere Reinigung in einer Kaliumhydroxyd-Schmelze bei 170° verseift. Aus dem als Öl erhaltenen sauren Verseifungsprodukt krystallisierte die 7-Methoxy-1-methylen-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (IXd) vom Smp. 125—127° (unter Zersetzung) beim Stehen mit Methanol.

Zwecks Absättigung der semicyclischen Doppelbindung lösten wir 2,5 g der ungesättigten Säure IXd in 500 cm<sup>3</sup> 1-proz. Natronlauge und hydrierten in Gegenwart von 5 g *Rupe*-Nickel. Das durch Ansäuern der alkalischen Lösung in fester Form erhaltene Hydrierungsprodukt wurde aus Methanol umkrystallisiert und stellte die 7-Methoxy-1,2-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure (Xc) vom Smp. 174—176° dar. Eine isomere Säure wurde nicht gefunden.

$C_{17}H_{20}O_3$  Ber. C 74,97 H 7,40%  
Gef. „ 74,91 „ 7,38%

Herstellung des  $\delta$ -Keto- $\epsilon$ -dicarbäthoxy- $\omega$ (m-methoxy-phenyl)-oenanthsäure-äthylesters (XIII).

41,4 g m-Methoxybenzyl-malonsäure-diäthylester führten wir in Benzollösung mittels 3,45 g Natrium in die Natriumverbindung über. Sie fiel dabei zum Teil krystallinisch aus und wurde nach dem Abkühlen mit 33 g Glutarsäure-äthylesterchlorid umgesetzt. Zur Beendigung der Reaktion wurde noch ½ Stunde gekocht, dann gekühlt und in Wasser gegossen. Die Benzollösung wusch man mit Kochsalzlösung, trocknete und verdampfte sie. Der Keto-triäthylester XIII wurde durch Destillation im Hochvakuum gereinigt (Sdp.<sub>0,05 mm</sub> 182—187°).

$C_{22}H_{30}O_8$  Ber. C 62,54 H 7,16%  
Gef. „ 62,24 „ 7,05%

Herstellung der  $\gamma$ -(6-Methoxy-2-carboxy-indenyl-3)-buttersäure (XVa) durch Cyclisierung von XIII und anschließende Verseifung und Decarboxylierung.

37 g Keto-triester XIII löste man in 250 cm<sup>3</sup> 100-proz. Phosphorsäure und erwärmte die Mischung während 5 Stunden auf 50—60°. Die rotbraun gefärbte klare Lösung wurde nach dem Abkühlen auf Eiswasser gegossen und mit Äther extrahiert. Das rot gefärbte Cyclisierungsprodukt, das den rohen Triäthylester XIVa darstellte, wurde ohne weitere Reinigung mit einer Mischung von 100 cm<sup>3</sup> Methanol und 100 cm<sup>3</sup> 45-proz. wässriger Kalilauge auf dem Wasserbad verseift. Die in üblicher Weise isolierte freie Tricarbonsäure XIVb wurde durch Erhitzen im Vakuum bei etwa 100° decarboxyliert. Die dabei gebildete Dicarbonsäure XVa erhielten wir nach Umkrystallisation aus Aceton in Form farbloser Nadeln vom Smp. 233—235° (unter Zersetzung).

$C_{15}H_{16}O_5$  Ber. C 65,21 H 5,84%  
Gef. „ 65,10 „ 5,62%

Dimethylester XVb: Er wurde aus der Dicarbonsäure XIVa durch Veresterung mit Diazomethan erhalten und schmolz nach Umlösen aus Methanol bei 96—97,5°.

$C_{17}H_{20}O_5$  Ber. C 67,09 H 6,62%  
Gef. „ 66,89 „ 6,59%

7-Methoxy-1-keto-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäuremethylester (VII).

32,6 g der Dicarbonsäure XVa veresterten wir mittels Diazomethan und erhitzen den rohen Dimethylester XVb zwecks *Dieckmann*-Kondensation in 320 cm<sup>3</sup> Benzol mit

Natriummethylat, erhalten aus 4,94 g Natrium und Methanol. Nach 24 Stunden wurde gekühlt, eine Mischung von 110 cm<sup>3</sup> Methyljodid und 110 cm<sup>3</sup> Methanol zugegeben, 12 Stunden stehen gelassen und zum Schluss noch 1 Stunde am Rückfluss gekocht. Die gekühlte Mischung goss man auf die berechnete Menge eiskalte Essigsäure, wusch das Lösungsmittel mit Sodalösung und Wasser, verdampfte zur Trockne und destillierte den Rückstand im Hochvakuum. Der dabei erhaltene 7-Methoxy-1-keto-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrofluoren-2-carbonsäure-methylester (VII) siedete unter einem Druck von 0,05 mm bei 180°. Aus Methanol umkrystallisiert, schmolz er bei 95—97°.

$C_{17}H_{18}O_4$  Ber. C 71,31 H 6,34%  
Gef. „ 71,29 „ 6,40%

Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium unter der Leitung von Hrn. Dr. *Gysel* durchgeführt.

Forschungslaboratorien der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel,  
Pharmazeutische Abteilung.

## 72. Über Steroide.

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

### Dehydrierungen in der Doisynolsäurereihe. Über oestrogene Carbonsäuren XVI

von J. Heer und K. Miescher.

(5. II. 47.)

In unserer 56. Mitteilung<sup>2)</sup> berichteten wir über die Umwandlung von Säuren vom Marrianol- in solche des Doisynoltypus. Darnach entspräche in sterischer Beziehung dem wirksamen Equilenin die unwirksame  $\beta$ -Bisdehydro-doisynolsäure (iso), dem unwirksamen iso-Equilenin aber die hochwirksame  $\alpha$ -Bisdehydro-doisynolsäure (normal). Umgekehrt aber stünde dem wirksamen Oestron die hochwirksame Doisynolsäure, dem unwirksamen lumi-Oestron die unwirksame lumi-Doisynolsäure gegenüber. Dieses Ergebnis schien uns derart auffallend, dass wir zur weiteren Klärung nach einer direkteren Verknüpfung der Doisynol- und lumi-Doisynolsäure mit den von uns totalsynthetisch erschlossenen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Bisdehydro-doisynolsäuren suchten.

*Butenandt*, *Wolff* und *Karlson*<sup>3)</sup> waren schon früher durch Dehydrierung von Oestron und lumi-Oestron mit Palladiumschwarz bei 260° zu den beiden optisch aktiven iso-Equileninen gelangt, und zwar

<sup>1)</sup> 58. Mitteilung und XV, siehe *G. Anner* und *K. Miescher*, *Helv.* **30**, 544 (1947).

<sup>2)</sup> *J. Heer* und *K. Miescher*, *Helv.* **29**, 1895 (1946).

<sup>3)</sup> *A. Butenandt*, *A. Wolff* und *P. Karlson*, *B.* **74**, 1308 (1941); siehe ferner *B.* **75**, 1931 (1942); **77**, 39, 394 (1944).

erhielten sie aus (+)Oestron den rechtsdrehenden und aus (–)lumi-Oestron den linksdrehenden Antipoden. Da Oestron und lumi-Oestron keine Antipoden darstellen, musste offenbar im einen Fall ein Konfigurationswechsel an einer der Verknüpfungsstellen der Ringe C und D eingetreten sein.

In ähnlicher Weise behandelten wir nun die (+)Doisynolsäure und die (+)lumi-Doisynolsäure. Wie früher gezeigt<sup>1)</sup>, wird bei energischer Dehydrierung (320°) die Carboxylgruppe abgespalten und Ring C aromatisiert. Indem wir die Methylester der Methoxysäuren verwandten und die Reaktion mit 10-proz. Palladium-Tierkohle und Aceton als Wasserstoffakzeptor bei 250° im Bombenrohr durchführten, gelang uns in der Tat die partielle Dehydrierung. Dabei ging die (+)Doisynolsäure in die unwirksame (+)β-Bisdehydro-doisynolsäure und die (+)lumi-Doisynolsäure in die nur wenig wirksame (+)α-Bisdehydro-doisynolsäure (normal), den Antipoden der hochwirksamen Form über. Unsere Dehydrierungsprodukte, die 7-Methyläther-2-methylester, stimmen in ihren Eigenschaften mit den auf anderem Wege erhaltenen Verbindungen überein, mit denen sie im Gemisch keine Schmelzpunktserniedrigung ergeben (vgl. Tab. 1).

Tabelle 1.  
Methylester.

	Dehydrierungs- produkt		auf anderem Wege dargestellt	
	Smp.	$\alpha_D$	Smp.	$\alpha_D$
(+)α-7-Methyl-bisdehydro- doisynolsäure . . . . .	a) 102–103°	+ 80°	b) 103–104°	+ 84° <sup>2)</sup>
(+)β-7-Methyl-bisdehydro- doisynolsäure . . . . .	c) 99–100°	+ 19°	d) 99–100°	+ 24° <sup>3)</sup>
Mischschmelzpunkte . . . . .	a + b: 102–104° ! a + d: 65–75° c + d: 99–100° ! c + b: 74–80°			

Aus den beiden Doisynolsäuren entstehen somit zwei diastereomere Bisdehydro-doisynolsäuren, die keine Antipoden darstellen. Offenbar erfolgte hier die Dehydrierung ohne Konfigurationswechsel.

Wie wir früher gezeigt haben, gelangt man vom rac. iso-Equilenin über rac. α-Bisdehydro-marrianolsäure zur rac. α-Bisdehydro-doisynolsäure (normal). Diesen Versuch wiederholten wir mit optisch

<sup>1)</sup> J. Heer und K. Miescher, Helv. 28, 163 (1945).

<sup>2)</sup> J. Heer und K. Miescher, Helv. 28, 156 (1944).

<sup>3)</sup> R. Rometsch und K. Miescher, Helv. 29, 1231 (1946).

aktivem Material. Einerseits oxydierten wir (+)iso-Equilenin, das wir durch Dehydrierung von Oestron nach *Butenandt* gewannen, mit Kaliumhypoiodit zur (—) $\alpha$ -Bisdehydro-marrianolsäure auf, andererseits stellten wir nach *Bachmann*<sup>1)</sup> ihren Halbesther vom Smp. 157—158° und der Drehung  $[\alpha]_D^{24} = -158^\circ$  auch synthetisch her. Aus letzterem gewannen wir nach dem kürzlich von uns mitgeteilten Verfahren über das Säurehalbchlorid, Reduktion zum Aldehyd und Behandlung nach der Methode von *Wolff-Kishner*, den (—) $\alpha$ -7-Methylbisdehydro-doisylnsäure-methylester vom Smp. 102—103° und der Drehung  $[\alpha]_D^{22} = -84^\circ$ . Damit steht fest, dass auf diesem Weg die Antipoden des iso-Equilenins unter Drehungswechsel in die Antipoden der  $\alpha$ -Bisdehydro-doisylnsäure übergehen; und es führt der stufenweise Umbau des (+)iso-Equilenins zum gleichen wirksamen Antipoden der  $\alpha$ -Bisdehydro-doisylnsäure wie die Kalischmelze des (+)Equilenins.

Wir schlossen unsere 56. Mitteilung mit der Alternative, dass entweder Oestron und Equilenin dieselbe trans-Verknüpfung der Ringe C und D aufweisen, dagegen der wirksamen (—) $\alpha$ -Bisdehydro-doisylnsäure cis-Stellung der 1-Äthyl- und 2-Carboxylgruppe zukomme, oder dass letztere Säure analog dem Oestron trans-Stellung der genannten Gruppen besitze, wobei dann im Equilenin, entgegen der bisherigen Annahme, die Ringe C und D in cis-Stellung zueinander stehen müssten.

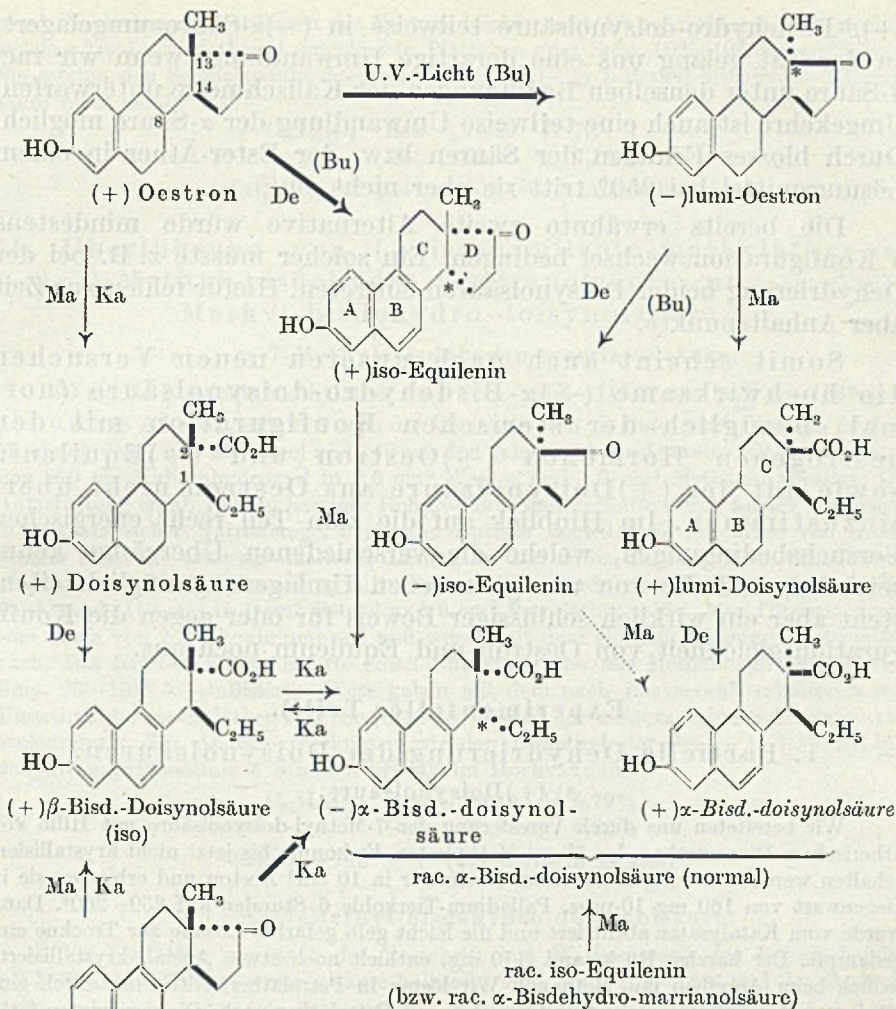
Die erste der beiden Alternativen haben wir schematisch dargestellt. Darnach würde an 3 Stellen ein Konfigurationswechsel eintreten.

1. Bei der Belichtung des Oestrone unter Bildung von lumi-Oestron. *Butenandt* vermutet, dass der Wechsel an C<sub>13</sub> erfolgt, da Desoxo-oestron durch U.V.-Licht nicht verändert wird. Während der deutsche Forscher auch Androsteron unschwer in lumi-Androsteron überführen konnte, ergab selbst zweitägige Belichtung von (+)Equilenin höchstens eine geringfügige Umlagerung zu (—)iso-Equilenin. Schon beim lumi-Oestron beträgt die Ausbeute bloss  $\frac{1}{3}$  der Theorie.

2. Bei der Dehydrierung des Oestrone zu (+)iso-Equilenin. Wie schon *Butenandt* annimmt, erfolgt hier der Konfigurationswechsel an C<sub>14</sub>, indem vielleicht intermediär eine Doppelbindung zwischen C<sub>8</sub> und C<sub>14</sub> auftritt<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> *W. Bachmann* und Mitarb., Am. Soc. 62, 824 (1942).

<sup>2)</sup> Nach *W. Dirscherl* und *F. Hanusch*, Z. physiol. Ch. 236, 131 (1935) lässt sich (+) Equilin zum (+)Equilenin dehydrieren; lagert man ersteres aber nach *H. Hirschmann* und *O. Wintersteiner*, J. Biol. Chem. 126, 737 (1938), mit Eisessig-Salzsäure in iso-Equilin A um, so führt dessen Dehydrierung zum (+)iso-Equilenin.



De = Dehydrierung mit Pd  
 Ka = Kalischmelze  
 Ma = Reaktion über Marrianolsäuren  
 Bu = Butenandt  
 $\longrightarrow$  Sterische Umlagerung an dem mit \* bezeichneten Kohlenstoffatom

Wirksame Verbindungen sind gesperrt gedruckt.

3. Bei der Kalischmelze des Equilenins. Hier entsteht etwa zu gleichen Teilen die  $(-)$  $\alpha$ - und die  $(+)$  $\beta$ -Bisdehydro-doisynol-säure<sup>1)</sup>, wobei im ersteren Fall ebenfalls ein Konfigurationswechsel an C<sub>14</sub> anzunehmen wäre. Möglicherweise wird intermediär das  $(+)$  iso-Equilenin gebildet. Wahrscheinlicher wird aber zuerst gebildete

<sup>1)</sup> J. Heer, J. R. Billeter und K. Miescher, Helv. 28, 991 (1945).

(+) $\beta$ -Bisdehydro-doisylnsäure teilweise in (-) $\alpha$ -Säure umgelagert. In der Tat gelang uns eine derartige Umwandlung, wenn wir rac.  $\beta$ -Säure unter denselben Bedingungen der Kalischmelze unterwarfen. Umgekehrt ist auch eine teilweise Umwandlung der  $\alpha$ -Säure möglich. Durch blosses Erhitzen der Säuren bzw. der Ester-Äther in einem Lösungsmittel bei 250° tritt sie aber nicht ein.

Die bereits erwähnte zweite Alternative würde mindestens 5 Konfigurationswechsel bedingen. Ein solcher müsste z. B. bei der Dehydrierung beider Doisylnsäuren eintreten. Hiefür fehlen zur Zeit aber Anhaltspunkte.

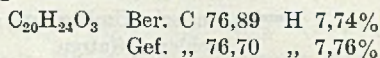
Somit scheint auch nach unseren neuen Versuchen die hochwirksame (-) $\alpha$ -Bisdehydro-doisylnsäure (normal) bezüglich der sterischen Konfiguration mit den oestrogenen Hormonen (+)Oestron und (+)Equilenin sowie mit der (+)Doisylnsäure aus Oestron nicht übereinzustimmen. Im Hinblick auf die zum Teil recht energischen Versuchsbedingungen, welche die verschiedenen Übergänge kennzeichnen, und die von uns gefundenen Umlagerungsmöglichkeiten, steht aber ein wirklich schlüssiger Beweis für oder gegen die Konfigurationsgleichheit von Oestron und Equilenin noch aus.

### Experimenteller Teil<sup>1)</sup>.

#### I. Partielle Dehydrierung der Doisylnsäuren.

##### a) (+)Doisylnsäure.

Wir bereiteten uns durch Veresterung der 7-Methyl-doisylnsäure mit Hilfe von ätherischem Diazomethan den öligen Methylester. Er konnte bis jetzt nicht krystallisiert erhalten werden. 160 mg Äther-Ester lösten wir in 10 cm<sup>3</sup> Aceton und erhitzen sie in Gegenwart von 160 mg 10-proz. Palladium-Tierkohle 6 Stunden auf 250—260°. Dann wurde vom Katalysator abfiltriert und die leicht gelb gefärbte Lösung zur Trockne eingedampft. Der harzige Rückstand (170 mg) enthielt noch etwas Acetal, krystallisierte jedoch beim Anreiben mit Methanol. Wir lösten in Petroläther, filtrierten durch eine Säule von 2 g Aluminiumoxyd und wuschen mit Petroläther nach. Die vereinigten farblosen Filtrate ergaben beim Eindampfen 100 mg Rückstand, der aus Methanol in flatten Nadeln vom Smp. 99—100° krystallisierte. Sie gaben mit dem (+) $\beta$ -7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure-methylester (iso) vom Smp. 99—100° keine Erniedrigung, jedoch mit dem normalen Ester vom Smp. 103—104° eine solche von 25°. Zur Analyse wurde 12 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.



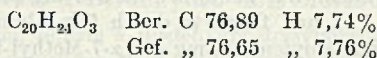
$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +19^{\circ} \pm 4^{\circ} \quad (c = 0,789 \text{ in Alkohol}).$$

##### b) (-)lumi-Doisylnsäure.

120 mg Methylester der lumi-7-Methyl-doisylnsäure vom Smp. 107—109° wurden in Gegenwart von 100 mg 10-proz. Palladium-Tierkohle in 5 cm<sup>3</sup> Aceton 6 Stunden auf 240—250° erhitzt. Nach dem Abfiltrieren der gelblichen Lösung dampfte man sie ein, löste den Rückstand (100 mg) in Pentan und filtrierte durch eine Säule von 1 g Aluminium-

<sup>1)</sup> Sämtliche Schmelzpunkte sind korrigiert.

oxyd. Nach dem Abdestillieren des Pentans blieben noch 80 mg farbloses Harz zurück, welches 2mal aus Methanol umgelöst in Plättchen vom Smp. 102—103° kristallisierte. Sie setzten den Schmelzpunkt des Methylesters der (+)- $\alpha$ -7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure nicht herab.

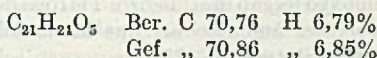


$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +80^\circ \pm 4^\circ \quad (c = 0,786 \text{ in Alkohol}).$$

## II. Überführung von (+)-iso-Equilenin-methyläther in (-)- $\alpha$ -7-Methyl-bisdehydro-marrianolsäure und (-)- $\alpha$ -7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure.

### a) (-)- $\alpha$ -7-Methyl-bisdehydro-marrianolsäure.

90 mg iso-Equilenin-methyläther vom Smp. 117,5—118,5° und  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +176^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,852$  in Alkohol), erhalten nach der Vorschrift von A. Butenandt<sup>1)</sup>, wurden in einer Mischung von 7 cm<sup>3</sup> Methanol und 140 mg Jod gelöst und tropfenweise mit einer Lösung von 200 mg Kaliumhydroxyd in 0,6 cm<sup>3</sup> Wasser und 1,2 cm<sup>3</sup> Methanol versetzt. Die Aufarbeitung ergab 140 mg harziges Rohprodukt. Man verseifte durch kurzes Erwärmen in methanolischer Natronlauge, entfernte neutrale Begleitstoffe mit Hilfe von Äther, säuerte dann die wässrig-alkalische Lösung an und nahm die ausgefällte Carbonsäure in Äther auf. Nach Behandlung mit Diazomethan wurde eingedampft und der gelbe Rückstand (110 mg) in 1 cm<sup>3</sup> Benzol und 9 cm<sup>3</sup> Petroläther gelöst. Man filtrierte durch eine Säule von 2 g Aluminiumoxyd und wusch mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch nach. Das farblose Filtrat lieferte einen Rückstand, der aus Methanol in Drusen vom Smp. 99—101° kristallisierte. Diese gaben mit dem nach Bachmann<sup>2)</sup> erhaltenen rac. Dimethylester-methyläther vom Smp. 124,5—125,5° der  $\alpha$ -Säure keine Schmelzpunktniedrigung. Zur Analyse trockneten wir den Dimethylester der (-)- $\alpha$ -7-Methyl-bisdehydro-marrianolsäure 8 Stunden bei 80° im Hochvakuum.



$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -146^\circ \pm 4^\circ \quad (c = 0,375 \text{ in Benzol})^3$$

### b) (-)- $\alpha$ -7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure.

Wir bereiteten uns nach der Vorschrift von W. Bachmann den linksdrehenden  $\alpha$ -7-Methyl-bisdehydro-marrianolsäure-halbesther vom Smp. 156—158° und der Drehung  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -158^\circ$  ( $c = 0,945$  in Benzol).

800 mg Halbesther lösten wir in 2 cm<sup>3</sup> Benzol, versetzten mit 1 cm<sup>3</sup> Oxalylchlorid und erwärmten gelinde. Nach dem Aufhören der Gasentwicklung dampfte man im Vakuum ein, gab nochmals 2 cm<sup>3</sup> Benzol dazu und destillierte erneut ab. Das rohe Säurechlorid wurde in 15 cm<sup>3</sup> Xylol in Gegenwart von 400 mg 10-proz. Palladium-Tierkohle nach der Methode von Rosenmund reduziert. Die Trennung nach Girard ergab 400 mg Rohaldehyd vom Smp. 112—114°. Die Farbreaktion mit 1,4-Dioxy-naphthalin<sup>4)</sup> war erwartungsgemäss positiv. Ohne weitere Reinigung reduzierten wir den Aldehyd nach Wolff-Kishner, indem wir die 400 mg Rohprodukt in einer Lösung von 12 cm<sup>3</sup> Glykol, 0,6 g Natrium und 0,2 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat 16 Stunden unter Stickstoff auf 180—190°

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> W. Bachmann und Mitarb., Am. Soc. 62, 824 (1940).

<sup>3)</sup> Bachmann gibt für den synth. opt. aktiven Ester-Äther eine Drehung von  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -151^\circ$  an.

<sup>4)</sup> H. Raudnitz und G. Puluji, B. 64, 2212 (1931); K. Miescher, A. Wettstein und C. Scholz, Helv. 22, 902 (1939).



erhitzten. Man versetzte schliesslich mit Wasser, säuerte die nur leicht getrübe Lösung an und nahm den Niederschlag in Äther auf. Hierauf versetzten wir die Ätherlösung mit überschüssigem Diazomethan und methylierten nach dem Eindampfen mittels Natronlauge und Dimethylsulfat nach. Wir gewannen so 300 mg öligen Rohester. Man löste ihn in Benzol-Petroläther 1:2 und filtrierte durch 5 g Aluminiumoxyd. Das farblose Filtrat lieferte nach dem Eindampfen 160 mg (-)  $\alpha$ -7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure-methylester, welcher aus Methanol in farblosen Plättchen vom Smp. 102—103° kristallisierte. Sie erwiesen sich im Mischschmelzpunkt als identisch mit dem Äther-Ester der durch Kalischmelze des Equilenin erhaltenen Säure.

$C_{20}H_{24}O_3$  Ber. C 76,89 H 7,74%

Gef. „ 76,86 „ 7,57%

$[\alpha]_D^{22} = -84^\circ$  (c = 0,937 in Alkohol)

### III. U.V.-Bestrahlung von (+)Equilenin-methyläther.

1,2 g Equilenin-methyläther (Smp. 191—192°,  $[\alpha]_D^{22} = +79^\circ$  in Dioxan) wurden in 200 cm<sup>3</sup> trockenem Dioxan gelöst und 58 Stunden unter Stickstoff mit ultraviolettem Licht bestrahlt. Die Lösung blieb klar, verfärbte sich aber gelblich-rot. Nach dem Eindampfen im Vakuum blieben 1,20 g rötliches, zum Teil mit Harz durchsetztes Krystallisat vom Smp. 150—162° (Sintern ab 108°) und einer Drehung von  $[\alpha]_D^{22} = +11^\circ$  (c = 0,814 in Alkohol) zurück. Wir behandelten das Produkt mit Girard-Reagens T und gewannen nach der üblichen Aufarbeitung folgende Fraktionen:

a) 330 mg Nichtketon (Öl) von einer Drehung  $[\alpha]_D^{22} = -40^\circ$  (c = 1,118 in Alkohol);

b) 710 mg Keton (rötliche Krystalle) Smp. 158—170° (Sintern ab 138°);

c) 35 mg Soda-lösliches Harz.

Aufarbeitung der Nichtketonfraktion: Die chromatographische Analyse des Nichtketones an 10 g Aluminiumoxyd ergab mit Benzol-Petroläther 1:1 80 mg schmierige Krystalle, welche aus Petroläther und nachher aus Methanol ungelöst 30 mg Nadeln lieferten vom Smp. 135—138° (Sintern ab 132°).

$C_{22}H_{26}O_3$  Ber. C 78,07 H 7,74%

Gef. „ 78,17; 77,87 „ 7,43; 7,74%

$[\alpha]_D^{22} = -40^\circ$  (c = 0,325 in Dioxan)

Aufarbeitung des ketonischen Anteils: 680 mg des ketonischen Rohproduktes wurden in einem Gemisch von 10 cm<sup>3</sup> Benzol und 10 cm<sup>3</sup> Petroläther gelöst und an einer Säule von 10 g Aluminiumoxyd chromatographiert, wobei mehrmals mit je 10 cm<sup>3</sup> des gleichen Lösungsgemisches nachgewaschen wurde. Neben 530 mg Krystallfraktionen, die zwischen 175—188° schmolzen und sich nach Mischschmelzpunkt als Ausgangsmaterial erwiesen, erhielten wir 40 mg Krystalle (A) vom Smp. 113—115° (105°) und 10 mg Krystalle (B), vom Smp. 113—119°.

A:  $C_{19}H_{20}O_2$  Ber. C 81,39 H 7,19%

Gef. „ 81,41 „ 6,91%

$[\alpha]_D^{22} = -101^\circ$  (c = 0,932 in Dioxan)

Mischschmelzpunkt mit (+)iso-Equilenin-methyläther vom Smp. 117,5—118,5°: 117—125° (105°)<sup>1)</sup>.

B:  $[\alpha]_D^{22} = -120^\circ$  (c = 1,087 in Dioxan)

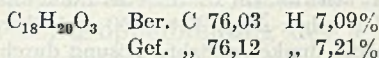
<sup>1)</sup> Das Racemat schmilzt nach Bachmann bei 127—127,5°, wird wieder fest und schmilzt dann bei 130—130,5°; die Drehung von (-) iso-Equilenin-methyläther sollte  $[\alpha]_D = -176^\circ$  betragen.

#### IV. Umlagerungsversuche mit Bisdehydro-doisyndol-säuren.

##### a) rac. $\alpha$ -Bisdehydro-doisyndol-säure.

Kalischmelze: 500 mg reinste  $\alpha$ -Bisdehydro-doisyndol-säure wurden im Nickeltiegel  $1\frac{1}{4}$  Stunden in einer Mischung von 25 g Kaliumhydroxyd und 7 cm<sup>3</sup> Wasser in einem Metallbad von 295° erhitzt. Nach dem Erkalten nahm man in Wasser auf, entfernte zuerst mittels Äther 10 mg harzige Neutralprodukte, säuerte dann mit Mineralsäure an und nahm die ausgefallene Carbonsäure in Äther auf. Nach dem Waschen und Trocknen wurde eingedampft, der kristallisierte Rückstand (490 mg) in 1 cm<sup>3</sup> 16-proz. Natriumcarbonatlösung und 40 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und mit Kohlendioxyd behandelt. Nach einiger Zeit fielen 190 mg kristallisierte Säure vom Smp. 225—228° (Sintern ab 178°) aus. Aus dem Filtrat gewann man durch Versetzen mit verdünnter Salzsäure 300 mg beinahe reine  $\alpha$ -Bisdehydro-doisyndol-säure vom Smp. 198—200° (Sintern ab 180°) zurück.

Die 190 mg mittels Kohlendioxyd ausgefällte rohe  $\beta$ -Bisdehydro-doisyndol-säure wurde erneut in 0,3 cm<sup>3</sup> 16-proz. Sodalösung und 10 cm<sup>3</sup> Wasser aufgenommen und mit Kohlendioxyd behandelt. Jetzt fielen noch 100 mg farbloses Krystallinat vom Smp. 231—233° (Sintern ab 195°) an, welches aus verdünntem Methanol in kleinen Nadeln (70 mg) vom Smp. 237—239° (Sintern ab 226°) kristallisierte und mit der auf anderem Wege hergestellten rac.  $\beta$ -Bisdehydro-doisyndol-säure keine Schmelzpunktserniedrigung zeigte. Zur Analyse trockneten wir 4 Stunden bei 140° im Hochvakuum.



Mittels ätherischem Diazomethan bereiteten wir uns eine Probe des Methylesters vom Smp. 194—196°, welcher mit dem früher von uns hergestellten Methylester der  $\beta$ -Säure keine Erniedrigung des Schmelzpunktes zeigte.

Mit Natrium in Glykol<sup>1)</sup>: 500 mg  $\alpha$ -Säure wurden in einer Lösung von 1,3 g Natrium in 25 cm<sup>3</sup> Glykol im Bad von 190° 20 Stunden lang erhitzt. Nach dem Abkühlen goss man in Wasser und arbeitete analog dem vorangehenden Beispiel auf. Neben 10 mg eines harzigen Neutralteiles gewannen wir 500 mg Rohsäure. Wir lösten sie in einer Mischung von 1 cm<sup>3</sup> 16-proz. Sodalösung und 14 cm<sup>3</sup> Wasser und leiteten durch die Lösung Kohlendioxyd. Die dabei entstehende schwache Fällung (90 mg) wurde abzentrifugiert und in 0,3 cm<sup>3</sup> Sodalösung und 7 cm<sup>3</sup> Wasser aufgenommen. Beim Durchleiten von Kohlendioxyd schieden sich jetzt nur noch wenige braune Flocken ab, von denen man abfiltrierte. Die aus dem Filtrat ausgefällte Carbonsäure (65 mg) schmolz bei 194—215° (Sintern ab 140°) und wurde noch einmal in 0,1 cm<sup>3</sup> 16-proz. Sodalösung und 5 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und mit Kohlendioxyd behandelt. Dabei schieden sich nur noch 10 mg eines farblosen Pulvers ab, welches bei 210—218° (Sintern ab 170°) schmolz und möglicherweise etwas der gesuchten rac.  $\beta$ -Bisdehydro-doisyndol-säure enthielt. Eine Probe davon entwickelte in der Tat mit konz. Schwefelsäure schon in der Kälte Kohlendioxyd, wie das bekanntlich bei der  $\beta$ -Bisdehydro-doisyndol-säure der Fall ist. Mit Natriumglycolat findet also höchstens eine ganz geringfügige Umwandlung statt<sup>1)</sup>.

##### b) rac. $\beta$ -Bisdehydro-doisyndol-säure.

Kalischmelze: 500 mg rac.  $\beta$ -Bisdehydro-doisyndol-säure<sup>2)</sup> wurden in einer Mischung von 50 g Kaliumhydroxyd und 7 cm<sup>3</sup> Wasser im Metallbad von 295°  $1\frac{1}{4}$  Stunden lang erhitzt. Nach der oben beschriebenen Aufarbeitung erhielten wir neben 20 mg neutralem Harz insgesamt 470 mg kristallisierte Rohcarbonsäure. Letztere lösten wir in 1 cm<sup>3</sup> 16-proz. Sodalösung und 40 cm<sup>3</sup> Wasser und schieden mittels durchströmendem Kohlen-

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu die *Wolff-Kishner*-Reduktion der Halbaldehyde in unserer 56. Mittlg.

<sup>2)</sup> 1 g Säure gelöst in 1 cm<sup>3</sup> gesättigter Sodalösung und 40 cm<sup>3</sup> Wasser wurde bis auf Spuren mit durchströmendem Kohlendioxydgas ausgefällt.

dioxyd 360 mg  $\beta$ -Säure ab. Aus dem Filtrat derselben fällten wir mit Salzsäure 190 mg bräunliche krystallisierte Carbonsäure aus. Man löste dieselbe in 0,2 cm<sup>3</sup> Sodalösung und 10 cm<sup>3</sup> Wasser und brachte mittels Kohlendioxyd weitere 80 mg Ausgangsmaterial zur Abscheidung, während aus dem Filtrat mit Hilfe von Salzsäure 90 mg rohe rac.  $\alpha$ -Bisdehydro-doisylnsäure ausgefällt wurden. Aus verdünntem Methanol krystallisierte sie in farblosen Blättchen vom Smp. 203—204° (Sintern ab 195°) und gab mit der von uns auf anderem Wege hergestellten racemischen  $\alpha$ -Bisdehydro-doisylnsäure keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse trockneten wir sie 4 Stunden bei 140° im Hochvakuum.

$C_{18}H_{20}O_3$	Ber. C	76,03	H	7,09%
	Gef. „	76,19	„	6,93%

Durch Veresterung mittels Diazomethan und Behandlung mit Dimethylsulfat in Natronlauge wurde der Methylester der  $\alpha$ -7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäure dargestellt. Wir gewannen Krystalle vom Smp. 75—77°, welche mit der entsprechenden, von uns früher erhaltenen Verbindung vom Smp. 76—78° keine Schmelzpunktserniedrigung zeigten.

Mit Natrium in Glykol: 500 mg  $\beta$ -Säure erhitzte man 20 Stunden in einer Lösung von 800 mg Natrium in 15 cm<sup>3</sup> Glykol im Bad von 190°. Die Aufarbeitung ergab wieder 500 mg Rohsäure neben Spuren eines neutralen Harzes. Wir lösten die Säure in 1 cm<sup>3</sup> 16-proz. Sodalösung und 40 cm<sup>3</sup> Wasser und konnten mit Hilfe von Kohlendioxyd 390 mg Ausgangsprodukt vom Smp. 234—236° (Sintern ab 210°) zur Abscheidung bringen. Aus dem Filtrat erhielt man mittels Salzsäure 45 mg stark verunreinigte Krystalle. Diese führte man zuerst mit ätherischem Diazomethan und anschliessend mit Dimethylsulfat in Natronlauge in den rohen Äther-Ester (50 mg) über. Letzteren lösten wir in Petroläther und filtrierten die dunkel gefärbte Lösung durch eine Säule von 500 mg Aluminiumoxyd. Das farblose Filtrat hinterliess nach dem Eindampfen 35 mg Harz, welches nach längerem Stehen zum Teil krystallisierte. Eine Probe davon wurde auf Filtrierpapier und mit 2—3 Tropfen Methanol gewaschen, getrocknet und schmolz dann unscharf zwischen 70—93°. Da der reine  $\alpha$ -7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäuremethylester bei 78° schmilzt, die entsprechende  $\beta$ -Verbindung aber bei 117—118,5°, so kann das vorliegende Reaktionsprodukt ein Gemisch der beiden stereoisomeren Verbindungen darstellen, in welchen aber die  $\beta$ -Form überwiegt. Wie die  $\alpha$ -Säure wird also auch die  $\beta$ -Säure durch Natriumglycolat höchstens in unbedeutendem Masse umgelagert.

In Aceton bei 250—260°: Man erhitzte 300 mg rac.  $\beta$ -7-Methyl-bisdehydro-doisylnsäuremethylester vom Smp. 115—117° (Sintern ab 110°) in 5 cm<sup>3</sup> Aceton 6 Stunden im Bombenrohr auf 250—260°, und erhielt eine braune Lösung, welche nach dem Eindampfen 300 mg braunes Harz zurückliess. Man nahm das Harz in 40 cm<sup>3</sup> Petroläther auf, wobei braune Zersetzungsprodukte ungelöst blieben, filtrierte die Lösung durch 6 g Aluminiumoxyd und wusch mit 100 cm<sup>3</sup> Petroläther nach. Das Filtrat ergab nach dem Eindampfen 280 mg leicht gefärbtes Harz, welches beim Anfeuchten mit Methanol sofort krystallisierte. Die Krystalle schmolzen zwischen 115—117° (Sintern ab 100°) und gaben keine Erniedrigung mit dem Ausgangsmaterial.

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

Forschungslaboratorien der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel,  
Pharmazeutische Abteilung.



Die Oxydation dieses reinen Vitamin A-Präparates mit 1 Äquivalent Phtalpersäure führte, wie in den früheren Versuchen, zu einem Vitamin A-Epoxyd  $C_{20}H_{30}O_2$ , welches in seinen spektralen Eigenschaften und der Art der *Carr-Price*'schen Reaktion mit dem früher beschriebenen Präparat und mit dem Hepaxanthin aus Leberölen übereinstimmte. Das Maximum des U.V.-Absorptionsspektrums liegt bei  $275 m\mu$ ; die Extinktion ist auffallend niedrig (vgl. Fig. 1).

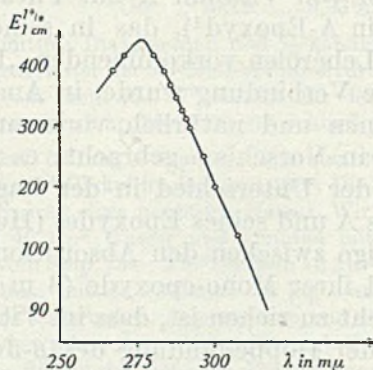


Fig. 1.  
Vitamin A-Epoxyd.

Neben diesem Hauptprodukt der Oxydation liess sich durch chromatographische Trennung an einer Aluminiumoxydsäule in kleinerer Menge eine zweite Substanz fassen, die wir vorläufig als „Verbindung Y aus Vitamin A“ bezeichnen. Ihr spektrales Verhalten ist von demjenigen des Vitamins A und Vitamin A-Epoxyds völlig verschieden. Ihr Absorptionsmaximum liegt wesentlich längerwellig als diejenigen der beiden andern Verbindungen, nämlich bei  $339 m\mu$ . Bei der *Carr-Price*-Reaktion beobachtet man eine Bande bei  $575 m\mu$ ; im Gegensatz zu jener des Vitamin A-Epoxydes bleibt diese aber bestehen und wird nicht durch eine solche bei  $620 m\mu$  abgelöst.

Über die chemische Natur der neuen Substanz kann zur Zeit nichts gesagt werden; sie liegt noch nicht rein vor, denn die Analyse führte zu C-Werten, die 1,4% tiefer liegen als der für die Formel  $C_{20}H_{30}O$  berechnete. Trotzdem steht es ziemlich sicher fest, dass sie nur ein O-Atom enthält; denn ausser der Analyse spricht dafür der Umstand, dass sie im Chromatogramm unter dem Vitamin A-Epoxyd liegt, was bei grösserem Sauerstoffgehalt nicht möglich wäre.

Das längerwellige Absorptionsmaximum ( $21 m\mu$  gegenüber Vitamin A) beweist das Vorliegen eines stärkeren Chromophors (vgl. Fig. 2). Man wäre versucht, an den Vitamin A-Aldehyd zu denken, der ein geringeres Haftvermögen als Axerophthol und ein längerwelliges Absorptionsspektrum haben muss, wenn nicht die Formel

des Vitamin A-Aldehyds schon für das Retinin<sub>1</sub> in Anspruch genommen worden wäre<sup>1)</sup>, welches andere spektrale Eigenschaften als unsere „Verbindung Y aus Vitamin A“ besitzt. Diese Fragen bedürften einer erneuten Prüfung.

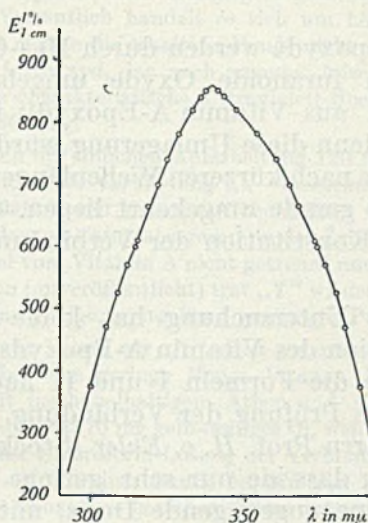


Fig. 2.  
Verbindung Y.

Wir haben schon in unserer letzten Mitteilung<sup>2)</sup> über Vitamin A-Epoxyd berichtet, dass dieses durch Chloroform, das sehr geringe Mengen Chlorwasserstoff enthält, in eine Verbindung übergeführt wird, welche in der Lage der Absorptionsbande im Ultraviolett- und im Blauspektrum (*Carr-Price-Reaktion*) mit Axerophthol übereinstimmt. Auch diese Reaktion ist indessen nicht einheitlich. Im Chromatogramm liessen sich neben geringen Mengen von Zersetzungsprodukten 2 Verbindungen abtrennen. Die eine, die wir als „Substanz Z aus Vitamin A-Epoxyd“ bezeichnen, stimmte in ihrer Zusammensetzung und ihrem spektralen Verhalten mit Axerophthol weitgehend überein, ist aber trotzdem von letzterem verschieden. Dies ergibt sich aus der biologischen Prüfung. Die von Herrn Prof. Dr. *H. von Euler* (Stockholm) durchgeführte Untersuchung der Verbindung auf Vitamin A-Wirkung ergab, dass sie selbst in Dosen von 100  $\gamma$  wirkungslos ist. „Substanz Z aus Vitamin A-Epoxyd“ muss daher eine von Axerophthol verschiedene Struktur besitzen.

Die zweite Substanz, die unter der Wirkung des chlorwasserstoffhaltigen Chloroforms aus Vitamin A-Epoxyd entsteht und die wir vorläufig als „Substanz X aus Vitamin A-Epoxyd“ bezeichnen,

<sup>1)</sup> *Ball, Goodwin und Morton*, *Bioch. J.* 40, *Proceed.* LIX (1946).

<sup>2)</sup> *Helv.* 28, 717 (1945).

ergab Analysenwerte, welche mit der Formel  $C_{20}H_{30}O_2$  harmonierten. Ihr U.V.-Spektrum ist dreibandig: 333,5, 350, 367,5  $m\mu$ , also längerwellig als dasjenige des Axerophthols. Die mit Antimontrichlorid-Chloroform erzeugte Blaufärbung weist eine Bande bei 619  $m\mu$  auf.

Die Carotinoid-epoxyde werden durch HCl-Chloroform bekanntlich grösstenteils in furanoide Oxyde umgelagert. Diesen kann unsere „Substanz X aus Vitamin A-Epoxyd“ in der Konstitution nicht entsprechen, denn diese Umlagerung würde eine Verschiebung der Absorptionsbande nach kürzeren Wellenlängen bedingen, während die Verhältnisse hier gerade umgekehrt liegen. So müssen wir auch die Frage nach der Konstitution der Verbindung X vorläufig offen lassen.

Die vorliegende Untersuchung hat keine Ergebnisse gezeigt, welche die Konstitution des Vitamin A-Epoxyds eindeutig beweisen. Für letzteres bleiben die Formeln I und II nach wie vor zur Diskussion. Eine erneute Prüfung der Verbindung auf Vitamin A-Wirkung, für die wir Herrn Prof. H. v. Euler (Stockholm) zu Dank verpflichtet sind, ergab, dass sie nur sehr geringe Vitamin A-Wirkung besitzt; 50  $\gamma$  sind eine ungenügende Dosis, mit 100  $\gamma$  wuchsen die Ratten normal.

### Experimenteller Teil.

#### 1. Oxydation von Vitamin A mit Phtalmonopersäure.

1,0 g kristallisiertes Vitamin A wurde in 300  $cm^3$  absolutem Äther gelöst, in der Kälte mit der berechneten Menge Phtalpersäure (auf 1 Mol Vitamin A 1 Atom aktiver Sauerstoff) versetzt und ca. 40 Stunden bei Raumtemperatur (etwa 15°) im Dunkeln stehen gelassen. Der Verlauf der Oxydation wurde durch Entnahme von Proben und Ausführung der Carr-Price-Reaktion verfolgt. Nach Verlauf der genannten Zeit schüttelte man die gebildete Phtalsäure mit sehr verdünnter Natronlauge aus, wusch die ätherische Lösung mit destilliertem Wasser alkalifrei und trocknete sie über frisch geglühtem Natriumsulfat. Sodann wurde das Lösungsmittel im Teilvakuum bei 20—30° abdestilliert, der gelbe Rückstand in absolutem, frisch destilliertem Benzol aufgenommen und an Aluminiumoxyd (Merck, nach Brockmann) chromatographiert. Infolge der guten Haftfestigkeit der Oxydationsprodukte an Aluminiumoxyd kommt man zur Adsorption mit einer kleinen Säule von 20  $\times$  2 cm aus, was sich auf die Ausbeute und die Reinheit der Präparate vorteilhaft auswirkt. Das Chromatogramm wurde mit Benzol entwickelt und zeigte folgenden Bau:

1. (oberste) Zone	2 cm orange	Blauspektrum: 620 $m\mu$ verschwommen
2.	„ 5 „ gelb	„ : 575 $m\mu^*$ 620 $m\mu$
3.	„ 3 „ gelb-orange	„ : 575 $m\mu$ (Produkt Y)
4.	„ 4 „ hellgelb	„ : 620 $m\mu$

\*) Nach einigen Sekunden beginnt sich bei 620  $m\mu$  eine Bande zu bilden, während die Bande bei 575  $m\mu$  ausbleicht. Nach ca. einer Minute ist nur noch die Bande bei 620  $m\mu$  sichtbar.

Die Aufarbeitung des Chromatogramms geschah auf die übliche Weise, indem man durch Elution mit methanolhaltigem Äther den einzelnen Zonen die adsorbierten Stoffe entzog. Sodann dampfte man das Lösungsmittel im Teilvakuum bei etwa 30° ab und untersuchte die einzelnen Fraktionen.

Schicht 1 ergab nur Spuren einer orange-gelb gefärbten Substanz mit sehr unscharfem Blauspektrum. Vermutlich handelt es sich um höhere Oxydationsprodukte. Zur näheren Untersuchung reichte die erhaltene Menge nicht aus. Aus der 2. Zone erhielt man ca. 400 mg Vitamin A-Epoxyd, das nach erneuter Adsorption an Aluminiumoxyd analysenrein war und das charakteristische Ultraviolett-Spektrum besass (vgl. Fig. 1). Die Ausbeute betrug ca. 300 mg.

Schicht 3 lieferte nach der üblichen Aufarbeitung 120 mg einer gelb-orangen Verbindung, welche im folgenden als Verbindung „Y“ bezeichnet wird. („Y“ ist von uns schon bei der ersten Oxydation von Vitamin A beobachtet worden<sup>1)</sup>). Die Verbindung befand sich im Calciumhydroxyd-Chromatogramm in der Zone 4a und 4b, konnte damals aber infolge Materialmangel vom Vitamin A nicht getrennt und näher untersucht werden. In einer späteren Oxydation (unveröffentlicht) trat „Y“ wieder auf und zeigte das gleiche spektrale Verhalten wie das jetzige, weitgehend gereinigte Produkt.

Zur weiteren Reinigung haben wir „Y“ einer erneuten chromatographischen Adsorption unterworfen, wobei eine geringe Menge Vitamin A durchgewaschen werden konnte. Nach Elution mit methanolhaltigem Äther und Abdestillieren des Lösungsmittels im Vakuum verblieben ca. 70 mg gelb-oranges Öl, welches folgende Eigenschaften besass: Beim Versetzen einer Chloroform-Lösung der Verbindung mit Antimontrichlorid tritt rot-violette Färbung auf mit einer Bande bei 575 m $\mu$ . Diese Bande bleibt — zum Unterschied von Vitamin A-Epoxyd — bestehen. Diese rot-violette Färbung bleicht nach kurzer Zeit aus.

„Y“ löst sich gut in Benzol, Äther und Alkohol, etwas schlechter in Petroläther. Die Elementaranalyse ergab folgende Werte:

C: 82,37% H: 9,53%

Im Ultraviolett besitzt „Y“ ein Absorptionsmaximum bei 339 m $\mu$  (vgl. Fig. 2).

Nach der üblichen Aufarbeitung der 4. Schicht des Hauptchromatogramms erhielt man ca. 100 mg Vitamin A, das bei der Oxydation unverändert geblieben war.

## 2. Umlagerung des Vitamin A-Epoxyds.

400 mg Vitamin A-Epoxyd wurden in 100 cm<sup>3</sup> Chloroform, das sehr wenig HCl enthielt, gelöst und während 7 Minuten bei Raumtemperatur belassen. Alsdann schüttelte man wiederholt mit verdünnter wässriger Natronlauge aus, trocknete die gelb-orange gefärbte Lösung über Natriumsulfat und destillierte das Lösungsmittel im Teilvakuum bei 30—40° ab. Den verbliebenen, gelb-orangen Rückstand löste man in Benzol und adsorbierte diese Lösung an eine Säule von Aluminiumoxyd (20 × 2 cm). Das Chromatogramm wurde mit dem gleichen Lösungsmittel entwickelt und zeigte folgenden Bau:

1. (oberste) Zone	2 cm	orange	Blauspektrum	617 m $\mu$ (unscharf)
2.	„ 3	„ gelb	„	575 m $\mu$ 620 m $\mu$ *
3.	„ 6	„ gelb	„	620 m $\mu$ (sehr scharf)
4.	„ 3	„ gelb-orange	„	618 m $\mu$ (unscharf)
5.	„ 6	„ orange-gelb	„	620 m $\mu$ (sehr scharf) (wurde durchgewaschen)

\*) Die Bande bei 575 m $\mu$  beginnt nach einigen Sekunden auszubleichen, und es bildet sich eine Bande bei 620 m $\mu$ , welche nach etwa einer Minute allein sichtbar ist.

<sup>1)</sup> P. Karrer, E. Jucker, Helv. 28, 721 (1945).



Die Aufarbeitung des Chromatogramms geschah auf die übliche Weise.

1. Zone: Diese Schicht enthielt eine stark haftende Verbindung, die zur weiteren Reinigung erneut an Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Auf diese Art gewann man ca. 30 mg eines zähen Harzes, das nur ein ganz unscharfes Blauspektrum bei ca. 616  $m\mu$  zeigte. Die Elementaranalyse der Verbindung lieferte folgende Werte:

C: 74,79; 74,25 H: 9,27; 9,57%  
akt. Wasserstoff: 0,509%

2. Zone: Diese Schicht enthielt noch Spuren unverändertes Epoxyd.

3. Zone: Nach der üblichen Aufarbeitung erhielt man aus dieser Schicht ca. 70 mg eines gelb-orangen, viskosen Öles, das dasselbe Verhalten gegenüber Antimontrichlorid wie Vitamin A zeigte, im Gegensatz zu diesem aber bedeutend stärker an Aluminiumoxyd haftet (Vitamin A wird unter den angewandten Bedingungen aus der Säule durchgewaschen, während das beschriebene Produkt nur schwach wandert). Nach erneuter, zweimaliger Adsorption an Aluminiumoxyd hatten wir ca. 30 mg Substanz, die sich chromatographisch einheitlich verhielt. Auch im optischen Verhalten dieser Verbindung, die im folgenden als „Substanz X“ bezeichnet wird, lassen sich gegenüber Vitamin A grössere Unterschiede erkennen, indem „X“ ein gut ausgebildetes Dreibandenspektrum (in Äthanol) mit Maxima bei 333,5, 350, 367,5  $m\mu$  besitzt. (Vgl. Fig. 3.) Die Elementaranalyse von „X“ lieferte auf  $C_{20}H_{30}O_2$  stimmende Werte:

$C_{20}H_{30}O_2$	Ber. C 79,47	H 9,93	1 aktiv. H = 0,33%
	Gef. „ 79,07	„ 9,75	„ „ = 0,46%

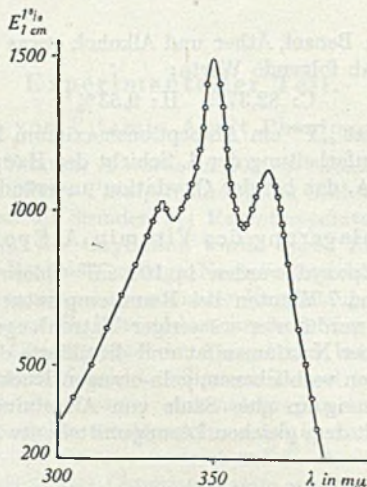


Fig. 3.

Umlagerungsprodukt X.

Carr-Price-Reaktion: blau, mit einer scharfen Bande bei 619  $m\mu$ .

Zone 4: Diese Schicht enthielt nur unbedeutende Mengen von verunreinigter „Substanz X“.

5. Zone: Aus dieser Schicht liessen sich ca. 250 mg „der Substanz Z aus Vitamin A-Epoxyd“ gewinnen, die zur weiteren Reinigung nochmals an einer Säule von Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Man erhielt auf diese Weise 170 mg der Substanz Z, die

im Ultraviolett ein Absorptionsmaximum bei 326—327  $m\mu$  zeigte (Fig. 4). Die Elementaranalyse ergab folgende Werte:

$C_{20}H_{30}O$	Ber. C 83,83	H 10,58%
	Gef. „ 83,39	„ 10,26%

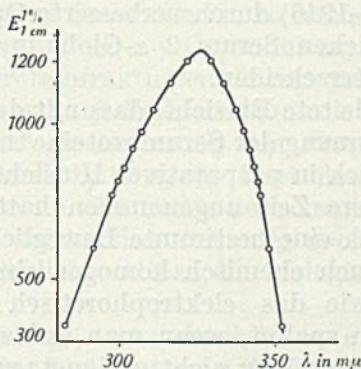


Fig. 4.

Substanz Z aus Vitamin A-Epoxyd.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

#### 74. Studien zur Darstellung von $\gamma$ -Globulin und dessen Komponenten von Ch. Wunderly.

(7. II. 47.)

Die komplexe Struktur der Serumproteine hat von zwei Seiten her eine neue Bestätigung erfahren. Einmal die Aussalzungskurven von *Roche, Derrien und Mandel*<sup>1)</sup> sowie *Derrien* (1946)<sup>2)</sup>. Dieselben haben durch entsprechend abgestufte Konzentrationen von  $(NH_4)_2SO_4$  bei  $p_H$  6 und 37<sup>0</sup> die Serumproteine in 121 Fraktionen aufgetrennt. Werden die Punkte, welche sich aus diesen Löslichkeiten ergeben, in üblicher Weise auf einer Kurve vereinigt, so werden im Bereich der Albumine fünf und im Bereich der Globuline 7 Unstetigkeiten gefunden. Daraus folgt, dass die Fraktionen, wie sie mit analoger, wenn auch in weniger umfassender Weise *Butler* und Mitarb.<sup>3)</sup>, ferner *Kydd*<sup>4)</sup> (1934) und *Richards*<sup>5)</sup> (1938) erhalten hatten, nicht homogen

<sup>1)</sup> *Roche, Derrien und Mandel*, C. r. Soc. Biol. **138**, 515, 600, 634, 676, 677 (1944); **139**, 101 (1945), C. r. **220**, 572 (1945).

<sup>2)</sup> *Derrien*, Bull. Soc. Chim. biol. **26**, 1091 (1944); Th. Sc. Marseille **1946**, 143.

<sup>3)</sup> *Butler und Montgomery*, J. Biol. Chem. **99**, 173 (1932); *Butler, Blatt und Southgate*, J. Biol. Chem. **109**, 755 (1935).

<sup>4)</sup> *Kydd, D. M.*, J. Biol. Chem. **107**, 747 (1934).

<sup>5)</sup> *Richards, M. M.*, J. Biol. Chem. **122**, 727 (1938).

waren. Dieselbe Einsicht hat sich etwa gleichzeitig auf Grund der Elektrophorese der Serumproteine ergeben. Hier war es *Svensson*<sup>1)</sup> (1941), der erstmals im Pferdeserum 2 getrennt wandernde  $\alpha$ -Globuline und ebenso 2  $\beta$ -Globuline feststellte. Neuerdings gelang es *Wiedemann*<sup>2)</sup> (1945—1946) durch verbesserte Optik, mittels Elektrophorese im menschlichen Serum 2  $\alpha$ -Globuline, 3  $\beta$ -Globuline und 2  $\gamma$ -Globuline zu unterscheiden.

Die daraus abgeleitete Einsicht, dass mit den stetig verbesserten Methoden die Auftrennung der Serumproteine immer weiter getrieben werden kann, hat auch in präparativer Hinsicht ihre Folgen gehabt. Während man längere Zeit angenommen hatte, dass Proteinfractionen, die sich durch eine bestimmte Beweglichkeit im elektrischen Feld auszeichnen, auch chemisch homogen sind, haben *Cohn*<sup>3)</sup> und Mitarb. bewiesen, wie das elektrophoretisch isolierte  $\gamma$ -Globulin sich in 2 Fraktionen spaltet, wenn man es der Dialyse unterwirft. Es ist somit auch dieser Weg nicht geeignet, um in einfacher Weise zu homogenen Fraktionen zu gelangen. Dazu kommen die bedeutenden Schwierigkeiten, welche alsbald auftreten, wenn versucht wird, durch Elektrophorese Proteinfractionen in Mengen zu isolieren, die nicht nur für mikroanalytische Zwecke genügen (vgl. *Svensson*<sup>4)</sup>, 1942, 1946), wie etwa Gehaltsbestimmungen an Cholesterin, Phospholipoiden, Fettsäuren, Kohlehydraten etc., sondern für eigentlich präparative Ziele. Für die Belange der klinischen Chemie, etwa zur Beeinflussung der Abwehrkraft gegen bakterielle Infektion oder als haemostatische Mittel bei Blutungen, bildet die fraktionierte Fällung der Proteine, sei es durch Neutralsalze (Ammoniumsulfat, Natriumsulfat, Kaliumcitrat, Dikaliumhydrogen- und Kaliumdihydrogenphosphat), sei es durch Ausfrieren in Äthanol-Wasser-Mischungen (vgl. *Cohn* und Mitarb. 1946)<sup>5)</sup> den am besten geeigneten Weg. Zur Prüfung der erreichten Einheitlichkeit ist es alsdann besonders vorteilhaft, die einzelnen Fraktionen durch anschliessende Elektrophorese zu analysieren.

Von dieser Möglichkeit der Kontrollanalyse hat die Bostoner Arbeitsgruppe unter *E. Cohn*<sup>6)</sup> vielfachen Gebrauch gemacht. Dabei hat sich herausgestellt, dass den Fraktionen, wie sie durch ihre Beweglichkeiten im elektrischen Feld definiert sind, ganz bestimmte biologische Funktionen zukommen; d. h. die Mitwirkung bestimmter Proteine, etwa bei den Gerinnungsvorgängen des Blutes oder im Verlaufe einer Immunisation, lässt sich durch Elektrophorese genauer

1) *Svensson, H.*, J. Biol. Chem. **139**, 805 (1941).

2) *Wiedemann, E.*, Schweiz. med. Wschr. **75**, 229 (1945); **76**, 241 (1946).

3) *Cohn, E., Mc. Meekin, Oncley, Newell* und *Hughes*, Am. Soc. **62**, 3386 (1940).

4) *Svensson, H.*, Ark. Kem. **15 B** Nr. 19 (1942); **22 A**, Nr. 10 (1946).

5) *Cohn, E., Strong, Hughes, Mulford, Ashworth, Melin* und *Taylor*, Am. Soc. **68**, 459 (1946).

6) *Cohn, E., Oncley, Strong, Hughes* und *Armstrong*, J. Clin. Invest. **23**, 417 (1944).

umschreiben als durch die Angaben der entsprechenden Löslichkeitsgrenzen. Daraus ist das Bedürfnis entstanden, entweder Fällungen vorzunehmen, welche die  $\alpha$ -,  $\beta$ - oder  $\gamma$ -Globuline möglichst rein auszusalzen, oder sonstige Anreicherungsverfahren zu entwickeln, welche es gestatten, die gefällten Fraktionen so zu reinigen, dass sie möglichst viel des angestrebten  $\alpha$ -,  $\beta$ - oder  $\gamma$ -Globulins enthalten. Nachdem sich gezeigt hat, dass Proteinfractionen immer nur homogen erhalten werden können in bezug auf die Methode ihrer Isolierung, verzichtet man grundsätzlich auf die Isolierung von Proteinfractionen, welche chemisch homogen sind, und strebt statt dessen die Homogenität im biologischen Sinne an. An Stelle der chemischen Einheitlichkeit der Plasmaproteine, welche sich vorläufig noch nicht verwirklichen lässt, tritt als massgebliche Grösse die biologische Funktion.

Das Proteingemisch<sub>[33]</sub> aus dem Blutserum von Mensch, Pferd, Rind und Maultier.

Wird ein Blutserum mit soviel gesättigter  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung versetzt, dass die Endkonzentration 33 % ausmacht, dann wird ein Proteingemisch ausgesalzen, welches *Soerensen* mit Globulin<sub>[33]</sub> bezeichnete. Wie unsere nachstehenden Daten erkennen lassen, werden jedoch nicht nur Globuline ausgefällt, sondern auch ein gewisser Teil der Albumine. Um dies festzustellen, boten die früheren analytischen Methoden keine hinreichend genaue Messmöglichkeit. Nachdem sich aber mit der Elektrophorese zeigen lässt, dass z. B. im menschlichen Serum bis zu 23 % Albumine mitausgefällt werden, ist es richtiger, von einem Proteingemisch<sub>[33]</sub> zu sprechen. Dieser Befund steht in guter Übereinstimmung mit dem Fällungsvermögen des neu entwickelten Cadmium-Reagens (*Wunderly* und *Wuhrmann*)<sup>1)</sup>; da dasselbe ausschliesslich Trübungen gibt in krankheitshalber veränderten Sera und in denselben die grobdispersen Anteile zumeist erhöht sind, war die Annahme naheliegend, dass das Reagens Globuline zur Aussalzung bringt. Allein die Elektrophorese von Serumresten nach abgestuften Fällungen mit  $\text{CdSO}_4$  zeigte uns, dass nicht nur Globuline, sondern stets ein Gemisch von Albumin und Globulin ausgefällt werden. Im  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  wie im  $\text{CdSO}_4$  ist in erster Linie das Anion für den aussalzenden Effekt verantwortlich, und deshalb eine analoge Wirkung zu erwarten.

Um die Wechselwirkung sichtbar zu machen, wie sie zwischen Ausgangsserum und Proteingemisch<sub>[33]</sub> besteht, geben wir nachfolgend je 2 charakteristische Elektrophorese-Analysen von normalem Serum vom Mensch (ausgewählt aus 10 Untersuchungen), Pferd (8), Rind (6) und Maultier (5).

<sup>1)</sup> *Wunderly* und *Wuhrmann*, Exper. 2, Heft 8 (1946); Schweiz. med. Wschr. 75, 1128 (1945).

Die vorbereitende Dialyse der Sera sowie die technische Durchführung der Elektrophorese sind von *Wiedemann* (l. c.) letzthin beschrieben worden. Die in der Schweiz gebaute Elektrophorese-Apparatur (*Strübin & Co.*, Basel) ist abgebildet (s. *Wunderly*)<sup>1)</sup> und mit Einrichtung zur Basisreduktion versehen. Um von den Tiersera klare Diagramme zu erhalten, war es notwendig, die Tiere während der 20 Stunden, welche der Blutentnahme vorausgehen, fasten zu lassen. Dadurch gelingt die notwendige Reduktion des Serumfettgehaltes. Als Puffer diente der koehsalzhaltige Veronal-Natrium/Natriumacetat-HCl-Puffer von *L. Michaelis*<sup>2)</sup> mit der Einstellung auf  $p_{\text{H}}$  7,9 und  $\mu = 0,1$ ; die Spannung lag zwischen 3,60 und 3,73 Volt/cm; die Temperatur betrug 3° C und die Versuchszeit zwischen 7500 und 8100 Sek. Die Diagramme der Fig. 1 zeigen „descending boundaries“ mit der Wanderungsrichtung von rechts nach links. Die kathodische Beweglichkeit  $u$  ist angegeben in  $(\text{cm}/\text{Sek} \times \text{Volt}) \times 10^6$ . Für die Aussalzung wurde das Serum/ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Gemisch für 16 Stunden in den Thermostaten von 25° gestellt und oft kräftig aufgerührt. Das  $p_{\text{H}}$  wurde mit Acetat auf 7 gebracht.

Tabelle 1.  
Auswertung von Elektrophorese-Diagrammen.

Blutserum	rel. %	abs. %	u	rel. %	abs. %	u	
Mensch . . Alb.	67,4	4,65	8,49	65,1	4,75	8,22	
Globulin . {	$\alpha$	3,8	6,11	6,1	0,44	6,02	
	$\beta$	11,5	4,83	12,3	0,90	4,71	
	$\gamma$	17,3	1,20	16,5	1,21	1,97	
			6,90%		7,30%		
Pferd . . . Alb.	40,9	2,86	8,44	37,6	2,37	8,57	
Globulin . {	$\alpha$	15,0	1,05	6,78	14,3	0,90	6,81
	$\beta_1$	15,9	1,11	5,26	14,7	0,93	5,33
	$\beta_2$	6,4	0,45	3,89	7,4	0,44	4,09
	$\gamma$	21,8	1,53	2,67	26,4	1,66	2,79
		7,00%		6,30%			
Rind . . . Alb <sub>1</sub>	45,2	2,89	9,54	42,1	2,82	9,31	
Alb <sub>2</sub>	6,1	0,39	8,23	5,8	0,39	8,39	
Globulin . {	$\alpha_1$	9,2	0,59	7,07	8,7	0,58	6,94
	$\alpha_2$	3,1	0,20	6,10	3,0	0,20	6,27
	$\beta_1$	9,2	0,59	5,24	10,3	0,69	5,11
	$\beta_2$	15,8	1,01	4,07	13,0	0,87	4,34
	$\gamma_1$	7,7	0,49	2,03	17,79	1,15	1,96
	$\gamma_2$	3,7	0,24	1,70		6,70%	
		6,40%					
Maultier . . Alb.	47,6	3,14	8,52	51,0	3,16	8,45	
Globulin . {	$\alpha$	10,8	0,71	6,49	10,8	0,67	6,56
	$\beta$	20,0	1,32	5,13	12,6	0,78	4,98
	$\gamma$	21,6	1,43	2,64	25,6	1,59	2,71
		6,60%			6,20%		

1) *Wunderly*, Vjschr. Naturf. Ges. Zürich 91, 197 (1946).

2) *Michaelis*, Bioch. Z. 234, 139 (1931).

Aus den Gehaltsangaben der Tabelle 1 geht hervor, dass sich das menschliche Serum von den Tiersera hauptsächlich durch seinen höheren Albumingehalt auszeichnet. Derselbe nimmt durchschnittlich ab in der Reihenfolge Mensch > Maultier > Rind > Pferd, was eine Bestätigung darstellt der 1944 hier gezeigten Aussalzungskurven (*Wunderly*)<sup>1)</sup>. Die Untersuchungsreihe hat ferner ergeben, dass der Gehalt an einzelnen Fraktionen von Individuum zu Individuum beträchtlich schwankt, womit wir die Auffassung von *H. Svensson*<sup>2)</sup> bestätigen können. Dagegen erweisen wiederholte Kontrollen, dass der einzelne Organismus die Zusammensetzung seiner Serumproteine bemerkenswert konstant erhält. Insofern bestehen bei den Serumproteinen dieselben Gegebenheiten wie sie *W. R. Bloor*<sup>3)</sup> bei den Lipoiden des Blutserums festgestellt hat.

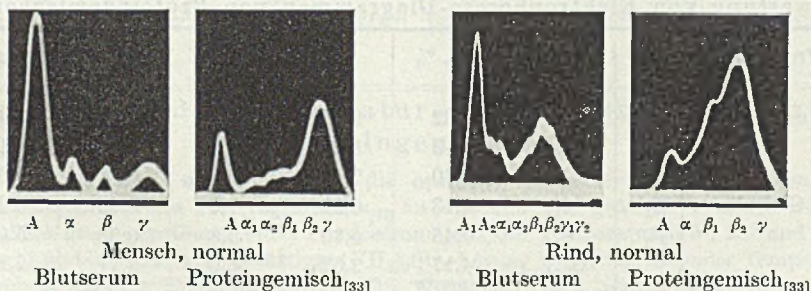


Fig. 1.  
Elektrophoresdiagramme

Tabelle 2.

	Verhältniszahlen zum Albumingehalt		
	α	β	γ
<i>Svensson, H.</i> , Koll. Z. <b>87</b> , 181 (1939) . . . . .	0,13	0,26	0,17
<i>Longsworth, L. G.</i> , J. Exp. Med. <b>70</b> , 399 (1939) . . .	0,12	0,23	0,20
<i>Luetscher, J. A.</i> , J. Clin. Invest. <b>19</b> , 313 (1940); <b>20</b> , 315 (1941) . . . . .	0,11	0,21	0,19
<i>Scudder</i> , Ann. Surg. <b>112</b> , 502 (1940) . . . . .	0,10	0,18	0,17
<i>Moore, D. H.</i> , und <i>Lynn, J.</i> , J. Biol. Chem. <b>141</b> , 819 (1941)	0,13	0,22	0,19
<i>Gutmann, J. et al.</i> , J. Clin. Invest. <b>20</b> , 765 (1941); <b>20</b> , 788 (1941) . . . . .	0,12	0,21	0,27
<i>Taylor und Keys</i> , J. Biol. Chem. <b>148</b> , 379 (1943) . . .	0,10	0,21	0,21
<i>Deutsch und Goodloe</i> , J. Biol. Chem. <b>161</b> , 1 (1945) . .	0,26	0,18	0,15
<i>Olhagen, B.</i> , Acta Med. Scand., Suppl. <b>162</b> (1945) . .	0,12	0,25	0,35
<i>Wiedemann, E.</i> , Schweiz. med. Wschr. <b>74</b> , 566 (1944); <b>76</b> , 241 (1946) . . . . .	0,08	0,13	0,21
Eigene Untersuchungen . . . . .	0,09	0,17	0,23
Durchschnittliche Verhältniszahlen . . . . .	0,123	0,205	0,213

<sup>1)</sup> *Wunderly*, Helv. **27**, 417 (1944).    <sup>2)</sup> *Svensson*, Ark. Kem. **22** A, Nr. 10, 135 (1946).  
<sup>3)</sup> *Bloor*, Biochemistry of the Fatty Acids (New York, 1943), S. 131.

Zu Vergleichszwecken hat es sich als nützlich erwiesen, die Gehalte der Globulinunterfraktionen des normalen menschlichen Serums in das Verhältnis zu setzen vom Albumingehalt. Auf diese Weise geben wir in Tab. 2 den Durchschnittsgehalt von 10 untersuchten menschlichen Sera, neben den Ergebnissen von 10 weiteren Untersuchern.

Zu der Vergleichbarkeit der einzelnen Untersuchungsreihen ist zu bemerken, dass nicht alle Elektrophoresen unter denselben Bedingungen vorgenommen wurden. So schwanken die verwendeten  $p_{\text{H}}$ -Werte zwischen 7,4 und 8,6; die Temperatur zwischen 1° und 4°; die Ionenstärke  $\mu$  zwischen 0,1 und 0,2; als Puffersystem wurde etwa gleich oft Phosphat (*Sørensen*) wie Veronal-Acetat (*Michaelis*) angewandt. In Anbetracht der verschiedenen Messverhältnisse darf die Übereinstimmung als gut bezeichnet werden; ebenso sei mit Befriedigung vermerkt, dass es der Schweiz 1944 gelungen ist, sich in diese Reihe einzuschalten.

Tabelle 3.

Auswertung von Elektrophorese-Diagrammen von Proteingemischen<sub>(33)</sub>.

Proteingemisch <sub>(33)</sub>	rel. %	abs. %	u	rel. %	abs. %	u	
Mensch . . . Alb.	18,3	1,22	9,86	23,4	1,54	9,41	
Globulin . . .	$\alpha_1$	2,0	0,13	8,27	2,2	0,14	8,11
	$\alpha_2$	4,5	0,30	7,41	5,6	0,37	7,07
	$\beta_1$	6,4	0,43	6,22	7,0	0,46	6,20
	$\beta_2$	6,7	0,45	5,19	5,8	0,38	5,09
	$\gamma$	62,1	4,17	2,52	56,0	3,71	2,13
			6,70%			6,60%	
Pferd . . . Alb.	8,6	0,64	9,55	7,4	0,51	9,80	
Globulin . . .	$\alpha_1$	1,3	0,09	7,69	1,4	0,10	8,07
	$\alpha_2$	6,3	0,46	6,90	5,9	0,41	7,27
	$\beta_1$	4,7	0,38	6,07	5,5	0,38	6,03
	$\beta_2$	22,5	1,66	5,30	24,7	1,70	5,44
	$\gamma$	56,6	4,17	1,99	55,1	3,80	2,23
			7,40%			6,90%	
Rind . . . Alb.	9,8	0,75	8,18	8,2	0,60	9,01	
Globulin . . .	$\alpha$	9,8	0,75	6,16	9,1	0,66	6,98
	$\beta$	37,0	2,85	4,49	$\beta_1$ 14,3	1,04	5,51
					$\beta_2$ 25,1	1,83	4,60
	$\gamma$	43,4	3,35	2,82	43,3	3,17	2,14
		7,70%			7,30%		
Maultier . Alb.	2,7	0,21	9,77	5,2	0,34	9,51	
Globulin . . .	$\alpha$	11,3	0,89	7,39	11,7	0,76	7,22
	$\beta_1$	15,1	1,18	5,54	16,8	1,09	5,40
	$\beta_2$	13,5	1,05	3,87	12,2	0,79	3,66
	$\gamma_1$	27,0	2,11	2,64	$\gamma$ 54,1	3,52	1,91
	$\gamma_2$	30,4	2,36	1,84			
			7,80%			6,50%	

In Tab. 3 befinden sich die Auswertungen von je 2 Elektrophorese-Diagrammen von Proteingemischen<sub>[33]</sub>, ausgesalzen aus dem Serum von Mensch, Pferd, Rind und Maultier. In Fig. 1 ist je ein charakteristisches Diagramm von Mensch und Rind abgebildet.

Die stets bei 25° ausgesalzene Proteingemische<sub>[33]</sub> wurden abzentrifugiert, in dest. Wasser zu 7—8-proz. Lösung aufgenommen, während 12 Stunden gegen fließendes Wasser und darauf in üblicher Weise gegen *Michaelis*-Puffer dialysiert. Alle übrigen Daten wie vorn.

Die Auswertungen zeigen, dass die Aufteilung des Diagrammes in deutlich einzeln wandernde Fraktionen beim Proteingemisch<sub>[33]</sub> des Rindes verhältnismässig einfach ist, obwohl das Rinderserum seinerseits eine starke Aufteilung zeigt (vgl. Tab. 1). Es wird somit keine einfache Abhängigkeit sichtbar zwischen Serumzusammensetzung und Aussalzungseffekt. Einzig der Albumingehalt, der im menschlichen Serum am grössten ist, ist es ebenfalls im Proteingemisch<sub>[33]</sub> dieses Serums.

#### Der Einfluss der Temperatur auf die Zusammensetzung des Proteingemisches<sub>[33]</sub>.

Derselbe wurde untersucht, um die optimale Temperatur kennenzulernen, bei welcher der Gehalt des Proteingemisches<sub>[33]</sub> an  $\gamma$ -Globulin am grössten ist. Dazu wurden drei gleich grosse Portionen eines Pferdeserums auf die Temperaturen 5°, 25° und 37,5° gebracht und alsbald soviel gesättigte  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung von entsprechender Temperatur zugegeben, dass die Endkonzentration 33% ausmacht. Nach Neutralisation mit Acetat auf  $p_{\text{H}}$  7 wurden die Gemische für 16 Stunden bei diesen Temperaturen gehalten. Anschliessend wurde scharf abzentrifugiert und der Proteinniederschlag in soviel Wasser aufgenommen, dass ein ca. 8-proz. Sol entstand. Dasselbe wurde erst gegen fließendes Wasser, dann gegen *Michaelis*-Puffer dialysiert und schliesslich der Elektrophorese unterworfen. Dieselbe dauerte jeweils 8100 Sekunden, alle übrigen Daten gleich wie vorn.

Tabelle 4.

Proteingemisch <sub>[33]</sub> (Pferdeserum)	Ausgefällt bei						
	5°		25°		37,5°		
	rel. %	abs. %	rel. %	abs. %	rel. %	abs. %	
Albumin . . {	A <sub>1</sub>	2,5	0,20				
	A <sub>2</sub>	10,8	0,86	6,5	0,54	9,5	0,77
Globulin . . {	$\alpha$	9,0	0,72	6,6	0,55	5,0	0,40
	$\beta_1$	9,5	0,76	8,2	0,69	7,1	0,57
	$\beta_2$	13,3	1,06	15,3	1,28	19,0	1,54
	$\gamma$	54,9	4,40	63,4	5,34	59,4	4,82
		8,00%		8,40%		8,10%	

Die Verschiedenheit der Fällungstemperatur verändert die Dissoziation der verschiedenen freien Gruppen in den Seitenketten der Proteine, ferner die Kräfte, welche wirksam sind zwischen Proteinteilchen im festen Zustand und den hydratisierten Proteinteilchen in der Lösung, schliesslich die verschieden stark lösende wie fällende



Wirkung der 33-proz. Salzlösung. Während in verdünnten Salzlösungen die Löslichkeit der Proteine mit erhöhter Temperatur im allgemeinen zunimmt, erweist sich hier in Gegenwart der konzentrierten  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung  $25^\circ$  als optimale Temperatur. Bei  $5^\circ$  wie bei  $37,5^\circ$  wird weniger Protein gefällt, und zwar hauptsächlich  $\gamma$ -Globulin. Albumin dagegen fällt bei  $5^\circ$  und  $37,5^\circ$  stärker aus als bei  $25^\circ$ .

Das Albuminteilchen besitzt besonders viele polare Gruppen, nämlich etwa je 90—100 negativ und positiv geladene Gruppen. Da diese in regelmässiger Weise über die Teilchenoberfläche verteilt sind, besitzt es nur ein kleines Dipolmoment; so hat in Wasser gelöstes Serum-Albumin (Pferd) bei  $25^\circ$  ein Dipolmoment von 380 *Debey*-Einheiten gegenüber dem  $\gamma$ -Pseudoglobulin (Pferd) mit 1100 *Debey*-Einheiten (aus *E. J. Cohn* und *J. T. Edsall*)<sup>1</sup>). Diese grossen Unterschiede in der Ladungsverteilung lassen uns vermuten, dass die beobachteten Löslichkeitsunterschiede von Albumin und  $\gamma$ -Globulin bei  $5^\circ$ ,  $25^\circ$  und  $37,5^\circ$  nicht so sehr bedingt sind durch Eigenschaftsänderungen der einzelnen Teilchen als vielmehr durch die verschieden starke Bildung grösserer Protein-Assoziate zwischen Albumin und  $\gamma$ -Globulinteilchen. Was somit zur Messung gelangt, dürfte die temperaturbedingte Wechselwirkung der genannten Fraktionen sein. Es sei erinnert, dass auch *Butler* und Mitarb.<sup>2</sup>) die Temperatur von  $25^\circ$  fällungstechnisch als optimal betrachten. Wir können dies bestätigen und erkennen zudem, dass bei dieser Temperatur die relativ grösste Menge an  $\gamma$ -Globulin ausgesalzen wird.

#### Die Darstellung von Globulin<sub>[33]</sub>.

Der nächste Schritt zur Reindarstellung des  $\gamma$ -Globulin<sub>[33]</sub> bestand in der Elimination des Albumin-Anteiles, wie er im Proteingemisch<sub>[33]</sub> noch vorhanden ist. Dafür wurden die folgenden drei Möglichkeiten geprüft. Einmal war zu untersuchen, ob durch Behandlung mit negativ geladenen Suspensionen von  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{BaSO}_4$ ,  $\text{Al}(\text{OH})_3$  oder  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  eine selektive Adsorption der leicht dispersen Anteile des Proteingemisches<sub>[33]</sub> erreichbar ist. Seit *Bordet*<sup>3</sup>) (1920), ist bekannt, dass auf diese Weise aus Oxalat-Plasma Prothrombin adsorbiert wird. Seither konnte gezeigt werden, dass Prothrombin grösstenteils zum  $\alpha$ -Globulin gerechnet werden muss (*Orr* und *Moore*<sup>4</sup>), *Cohn* et al.<sup>5</sup>), da es in gereinigter Form bei  $\text{p}_\text{H}$  8 eine elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit von  $u = 7,6$  besitzt (*Seegers* et al.)<sup>6</sup>).

<sup>1</sup>) *Cohn* und *Edsall*, *Proteins, Amino Acids and Peptides* (New York, 1943).

<sup>2</sup>) *Butler*, *Blatt* und *Southgate*, *J. Biol. Chem.* **109**, 755 (1935); *Butler* und *Montgomery*, *J. Biol. Chem.* **99**, 173 (1933).

<sup>3</sup>) *Bordet*, *Ann. Inst. Pasteur* **34**, 561 (1920).

<sup>4</sup>) *Orr* und *Moore*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **46**, 357 (1941).

<sup>5</sup>) *Cohn*, *Oncley*, *Strong*, *Hughes* und *Armstrong*, *J. Clin. Invest.* **23**, 417 (1944).

<sup>6</sup>) *Seegers*, *Loomis* und *Vandenbelt*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **56**, 70 (1944).

Für die Herstellung der Suspension folgen wir den Angaben von *Astrup* und *Darling*<sup>1)</sup>. Zu 100 cm<sup>3</sup> einer 10-proz. Lösung von wasserfreiem CaCl<sub>2</sub> werden 100 cm<sup>3</sup> einer 10-proz. Lösung von Trinatriumphosphat gegeben und durch Umschwenken gut gemischt. Nach 2 Minuten wird zentrifugiert, die überstehende Lösung abgessogen und das Sediment je dreimal auf der Zentrifuge mit destilliertem Wasser und NaCl physiol. gewaschen. Darauf wird das rein weisse Sediment in 80 cm<sup>3</sup> NaCl physiol. gleichmässig suspendiert.

Inzwischen wurde aus menschlichem Serum in üblicher Weise durch Salzfällung das Proteingemisch<sub>[33]</sub> gewonnen. Dasselbe wird in destilliertem Wasser zu einer 8-proz. Lösung aufgenommen und 12 Stunden gegen fließendes Wasser dialysiert. Flocken von ausgefallenem, grobdisperssem Protein werden mit einigen Körnchen Kochsalz wieder peptisiert. Mit 100 cm<sup>3</sup> des Proteinsols werden 25 cm<sup>3</sup> der frischen Suspension gut vermischt und mit einigen Tropfen 0,1-n. HCl auf p<sub>H</sub> 7 neutralisiert. Die Aufschlammung wird 15 Minuten gerührt, zentrifugiert und vom Bodensatz das Proteinsol abgessogen. Das Sol wird erneut mit 25 cm<sup>3</sup> der Suspension während 15 Minuten gerührt und durch Zentrifugieren getrennt. Die Adsorption wird ein drittes Mal mit den restlichen 30 cm<sup>3</sup> der Suspension wiederholt. Nachdem 1 Stunde gerührt wurde, zentrifugiert man ab, dialysiert erst 12 Stunden gegen fließendes Wasser, darauf 3 Tage im Eisschrank gegen öfters erneuerten *Michaelis*-Puffer vom p<sub>H</sub> 7,9. Das Ergebnis der anschliessenden Elektrophorese ist in Tabelle 5 wiedergegeben. Um darzutun, wie die Adsorption sich auf die einzelnen Proteinfractionen verteilt, sind die Gehaltsdifferenzen in relativen Prozenten aufgeführt, gegenüber dem unvorbehandelten Proteingemisch<sub>[33]</sub>.

Als weitere Möglichkeit der Anreicherung von  $\gamma$ -Globulin aus dem Proteingemisch<sub>[33]</sub> haben wir dasselbe nach *E. Cohn*<sup>2)</sup> mit einer Äthanol-Wasser-Mischung bei  $-5^{\circ}$  gefällt. Der Vorteil dieser Methode beruht darin, dass bei Temperaturen von  $0^{\circ}$  bis  $-10^{\circ}$  Proteine durch Alkohol nicht denaturiert werden und die Dialyse überflüssig wird. *Cohn* hat gezeigt, wie man Proteine aus dem gefrorenen Zustand unmittelbar im Vakuum trocknen kann, so dass stabile, hochgereinigte Produkte entstehen.

Um der kriegbedingten Nachfrage nach einzelnen Proteinfractionen genügen zu können, wurde diese Methode in Boston u. a. als eigentlicher Fabrikationsprozess aufgezo-gen.

Dementsprechend haben wir ein gegen Wasser audialysiertes Proteingemisch<sub>[33]</sub> aus menschlichem Serum, mit Acetat-Puffer von  $\mu = 0,2$  auf p<sub>H</sub> 6,7 gebracht und mit Wasser soweit verdünnt, dass der Proteingehalt 6,0% beträgt. Der Erlenmeyerkolben, in welchem sich die 120 cm<sup>3</sup> Proteinsol befinden, steht in einer Kältemischung, so dass die Temperatur des Sols  $-5^{\circ}$  beträgt. Nun wird ein elektrisch betriebener Rührer eingeschaltet und aus einem Scheidetrichter allmählich 53 cm<sup>3</sup> vorgekühltes Äthanol von 53,3% zugetro-pft. Nach 2 Stunden bei  $-5^{\circ}$  wird die Proteinfällung in der eisgekühlten Zentrifuge abgeschleudert, in soviel destilliertem Wasser aufgenommen, dass ein 7,5-proz. Sol entsteht und in üblicher Weise gegen *Michaelis*-Puffer dialysiert. Die Auswertung des Elektrophorese-Diagrammes steht in Tabelle 5.

Als dritter Weg wurde das Proteingemisch<sub>[33]</sub> dem peptischen Abbau ausgesetzt. Wie wir zeigen konnten (*Wunderly*)<sup>3)</sup> wird dabei in erster Linie das Albumin betroffen, so dass auch in dieser Weise eine Anreicherung der grobdispersen Anteile erfolgen kann.

<sup>1)</sup> *Astrup* und *Darling*, Acta Physiol. Scand. 4, 45 (1942).

<sup>2)</sup> *Cohn*, Medecine 24, 333 (1945); *Cohn*, *Strong*, *Hughes*, *Mulford*, *Ashworth*, *Melin* und *Taylor*, Am. Soc. 68, 459 (1946).

<sup>3)</sup> *Wunderly*, Nature 158, 556 (1946).

Dazu werden 40 cm<sup>3</sup> einer dialysierten, 8-proz. Lösung von Proteingemisch<sub>[33]</sub> mit 10 cm<sup>3</sup> *Michaelis*-Puffer von p<sub>H</sub> 4,9 versetzt. Das Sol wird auf 37° erwärmt und unter stetigem Rühren soviel Pepsin (*Fairchild*) zugegeben, dass das Verhältnis von Pepsin zu Protein wie 1:9 ist. Nach 15 Minuten wird durch Zugabe von entsprechendem *Michaelis*-Puffer das p<sub>H</sub> auf 7,9 gebracht und bei 2° gegen *Michaelis*-Puffer von demselben p<sub>H</sub> dialysiert. Die Daten der Elektrophorese sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Tabelle 5.

Auswertung von Elektrophorese-Diagrammen für Verfahren zur Darstellung von Globulin<sub>[33]</sub>.

Protein- fraktion	Adsorption		Abnahme in % der Fraktion	Fällung durch Äthanol		Abbau durch Pepsin	
	rel. %	abs. %		rel. %	abs. %	rel. %	abs. %
Albumin	17,9	1,38	3,2	—	—	—	—
Glo- bu- lin	α <sub>1</sub>	1,4	0,11	17,6	—	2,9	0,20
	α <sub>2</sub>	4,0	0,31	18,3	2,5	0,19	6,5
	β <sub>1</sub>	4,2	0,32	14,3	9,2	0,71	8,2
	β <sub>2</sub>	6,7	0,51		5,1	0,39	18,0
	γ	65,8	5,07		83,2	6,43	64,4

Wie aus Tabelle 5 hervorgeht, führt die Adsorption an einer Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>-Suspension nicht zum Ziel. Die leicht dispersen Anteile des Proteingemisches nehmen zwar beträchtlich ab, jedoch wollte es nicht gelingen, den Rest von Albumin zu eliminieren, weder durch erhöhten Gehalt an adsorbierender Suspension noch durch andere Adsorbentien, wie BaSO<sub>4</sub>, Al(OH)<sub>3</sub> oder Mg(OH)<sub>2</sub>. Auf die Einzelgehalte der Unterfraktionen berechnet, ergibt sich eine Zunahme der Adsorption in der Reihenfolge Albumin < β<sub>1</sub> < α<sub>1</sub> < α<sub>2</sub> während β<sub>2</sub>- und γ-Globulin unter den angegebenen Bedingungen nicht messbar adsorbiert werden. Es ist denkbar, dass durch entsprechende Variation des p<sub>H</sub> die adsorptiven Eigenschaften der Suspension so geändert werden können, dass eine andere Selektion von Proteinfractionen eintritt. Als Kontrollanalyse solcher Vorgänge, wo ungefärbte, hochmolekulare Substanzen beteiligt sind, eignet sich die Elektrophorese vorzüglich.

Die Äthanol-Fällung eliminiert das Albumin vollständig, denn im Niederschlag befinden sich nur noch die Unterfraktionen α<sub>2</sub>, β<sub>1</sub>, β<sub>2</sub> und γ, dieses letztere auch besonders hoch angereichert, nämlich 83,2%. Von dem im Proteingemisch<sub>[33]</sub> befindlichen γ-Protein werden 87% wiedergefunden. *Deutsch et al.*<sup>1)</sup> sind von den *Cohn*'schen Fraktionen II + III ausgegangen und haben bei p<sub>H</sub> 5,1 und einer Äthanol-Konzentration von 17% bei -6°, 3/4 der γ-Fraktion in einer Reinheit von ca. 95% isolieren können.

Beim peptischen Abbau wird das Albumin quantitativ hydrolysiert. Das zeitliche Fortschreiten der Proteolyse haben wir nach

<sup>1)</sup> *Deutsch, Gosting, Alberty und Williams, J. Biol. Chem.* **164**, 109 (1946).

*Krijgsman*<sup>1)</sup> verfolgt. Vom ursprünglichen  $\gamma$ -Protein werden 71% wiedergefunden. Die Proteolyse wird nicht beim optimalen  $p_H$  vorgenommen, weil es sich gezeigt hat, dass beim Unterschreiten des isoelektrischen Punktes von Albumin,  $p_H$  4,6, bei der nachfolgenden alkalischen Pufferung auf  $p_H$  7,9 irreversible Trübungen entstehen, welche klare Diagramme verunmöglichen.

In der Absicht, immunologisch aktive Fraktionen von inaktivem Begleitprotein zu befreien, haben *Deutsch et al.*<sup>2)</sup> die *Cohn*'sche Fraktion III-1 der Pepsin-Hydrolyse unterworfen. Bei  $p_H$  3,6 und 0—2° haben sie ein Endprodukt erhalten, das zu 88% aus  $\gamma$ , 10%  $\beta_2$  und 2%  $\beta_1$  besteht. Nach *M. Petermann*<sup>3)</sup> spaltet Pepsin die Globulinteilchen vorerst in zwei Hälften; diese sind noch gross genug, um im elektrischen Feld gleich rasch zu wandern wie die ursprünglichen Globuline, erst die nochmalige Spaltung in Viertelsteile hat die Bildung von Bruchstücken zur Folge, welche hohe Diffusionsraten besitzen und deshalb, auch bei verlängerter Elektrophorese, keine eigenen Schlieren mehr ausbilden. Es ist bei  $p_H$  7,9 nie beobachtet worden, dass Pepsin sich mit  $\gamma$ -Globulin zu einer neuen Komponente verbindet, die ihrerseits einen neuen Gipfel im Schlierendiagramm bedingen müsste. Für die elektrophoretische Kontrolle der Proteolyse ist Pepsin auch deshalb günstig, weil es keine Aktivatoren erfordert, deren Nebenwirkung auf Proteine oder Spaltstücke unerwünscht wäre. Beim peptischen Abbau von Lösungen kristallisierten Ovalbumins haben *Tiselius et al.*<sup>4)</sup> gefunden, dass das nicht-abgebaute Protein seine physikalisch-chemischen Eigenschaften unverändert beibehält. Da auch die Sedimentationsgeschwindigkeit gemessen wurde, so hätten nach *Petermann* halbierte Proteinteilchen gefunden werden müssen. *Tiselius* beobachtete jedoch einen raschen Abbau zu niedrig-molekularen Teilchen von ca. 1000 Mol. Gew. Wie er es bezeichnet, handelte es sich um den „alles oder nichts“-Reaktionstypus. Die Verschiedenheit der Auffassung zeigt, dass weitere Untersuchungen über die Reaktionskinetik notwendig sind, wobei solche Untersucher die grössten Möglichkeiten besitzen welche gleichzeitig verschiedene physikalisch-chemische Messgrössen während der Proteolyse beobachten können. Die Forschungen von *Bergmann* und Mit-arb.<sup>5)</sup> haben ergeben, dass die Spezifität der proteolytischen Enzyme nicht durch die Kettenlänge der Substratmolekel bestimmt wird, sondern durch die Gruppen der Seitenketten und deren relative Stellung zur Peptidbindung, welche gelöst wird. Dabei wurden als notwendige Bausteine der Seitenkette Tyrosin und Phenylalanin erkannt. Da die Gehalte an diesen aromatischen Aminosäuren im menschlichen Blutplasma im Albumin 4,9% und 7,6% und im  $\gamma$ -Globulin 7,1% und 4,4% betragen, genügen die vorläufigen Erkenntnisse noch nicht, um zu erklären, warum Albumin soviel rascher von Pepsin hydrolytisch gespalten wird wie  $\gamma$ -Globulin.

### Die Darstellung von $\gamma$ -Globulin.

Da uns aus technischen Gründen die routinemässige Äthanol-Fraktionierung in der Kälte nicht möglich ist, versuchten wir durch Mehrfach-Fällung mit  $(NH_4)_2SO_4$  ein  $\gamma$ -Globulin von der gewünschten Reinheit zu erhalten. Wie wir uns durch elektrophoretische Kontroll-Analyse überzeugten, genügt hiefür eine wiederholte Fällung noch nicht (vgl. *H. Svensson*)<sup>6)</sup>. Wir haben deshalb den folgenden Weg eingeschlagen:

1) *Krijgsman*, Z. physiol. Ch. **227**, 251 (1934).

2) *Deutsch, Petermann und Williams*, J. Biol. Chem. **164**, 93 (1946).

3) *Petermann*, Soc. **68**, 106 (1946); J. Phys. Chem. **46**, 183 (1942).

4) *Tiselius und Eriksson-Quensel*, Biochem. J. (London) **33**, 1752 (1939).

5) *Bergmann und Fruton*, Adv. in Enzymol. **1**, 63 (1941).

6) *Svensson*, J. Biol. Chem. **139**, 805 (1941).

Zu 50 cm<sup>3</sup> normalem menschlichem Serum wurden bei 25° 25 cm<sup>3</sup> vorgewärmte 33-proz. (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung unter Rühren zugegeben und nach Neutralisation mit Acetat für 16 Stunden bei 25° in den Thermostaten gestellt. Alsdann wird scharf abzentrifugiert und das ausgefallte Protein in soviel destilliertem Wasser aufgenommen, dass das Sol 16 cm<sup>3</sup> ausmacht. Dasselbe wird 2 Stunden gegen fließendes Wasser dialysiert, wobei das Volumen etwas zunimmt. Um vergleichbare Verhältnisse zu schaffen, wird mit destilliertem Wasser auf 20 cm<sup>3</sup> aufgefüllt, auf 25° vorgewärmt und mit 10 cm<sup>3</sup> 33-proz. (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> neuerdings gefällt. Nach 6 Stunden bei 25° wird abzentrifugiert, das Protein in 12 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser aufgenommen und mit 6 cm<sup>3</sup> 33-proz. (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ein drittes Mal gefällt. Nach 3 Stunden bei 25° wird zentrifugiert, das Protein in 8 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser aufgenommen und 2 Stunden gegen fließendes Wasser dialysiert. Man erhält auf diese Weise ein Sol, dessen Gehalt an  $\gamma$ -Globulin etwa 2,5–3,0% beträgt, wobei die Reinheit (siehe Tabelle 6) nahezu 98% erreicht. Nachdem die ursprünglichen 50 cm<sup>3</sup> Serum bei einem mittleren Gehalt von 7% Protein zwischen 0,50 und 0,65 g  $\gamma$ -Globulin enthalten, werden davon etwa 35–45% in reiner Form isoliert (siehe Fig. 2).

### Die Komponenten des $\gamma$ -Globulins.

Wie vorn erwähnt, haben *Cohn et al.* (l. c.) das  $\gamma$ -Globulin durch Dialyse in 2 Komponenten zerlegt, die stark abweichende Löslichkeiten besitzen. Um die Zusammensetzung dieser Komponenten kennenzulernen, haben wir sie der Elektrophorese unterworfen.

Dazu werden 20 cm<sup>3</sup> einer 2,9-proz. Lösung von reinem  $\gamma$ -Globulin (aus menschlichem Serum) erst 20 Stunden gegen fließendes Wasser von 5° und anschliessend 4 Stunden gegen destilliertes Wasser dialysiert. Die unlösliche Komponente vom Euglobulin-Typus fällt aus, wird abzentrifugiert und zur Elektrophorese in soviel *Michaelis*-Puffer von p<sub>H</sub> 4 und  $\mu = 0,1$  aufgenommen, dass die Lösung 2,8% Protein enthält. Im üblichen Puffer von p<sub>H</sub> 7,9 ist diese Komponente nahezu unlöslich, ebenso im NaCl physiol.; auch in Serum gelingt die Peptisation nur teilweise, so dass man annehmen muss, dass in vivo die lyophilen Eigenschaften der löslichen Komponente notwendig sind, um die unlösliche zu peptisieren; in 0,1-n. CH<sub>3</sub>COOH löst sie sich allmählich zu einem grobdispersen Sol. Von demselben werden zur Bestimmung des I.E.P. je 0,1 cm<sup>3</sup> mit 8 cm<sup>3</sup> Wasser verdünnt und 3 cm<sup>3</sup> Veronal-Acetat-Puffer-Gemisch vom p<sub>H</sub> Bereich 5,5–7,5 und  $\mu = 0,1$  zugefügt. Die im Stufenphotometer ermittelten Trübungen ergeben beim Röhrechen mit p<sub>H</sub> 6,6 ein Maximum. Die elektrophoretische Wanderung bei p<sub>H</sub> 4 geschieht somit kathodisch; Fig. 2 zeigt das Elektrophorese-Diagramm und Tabelle 6 die Zusammensetzung.

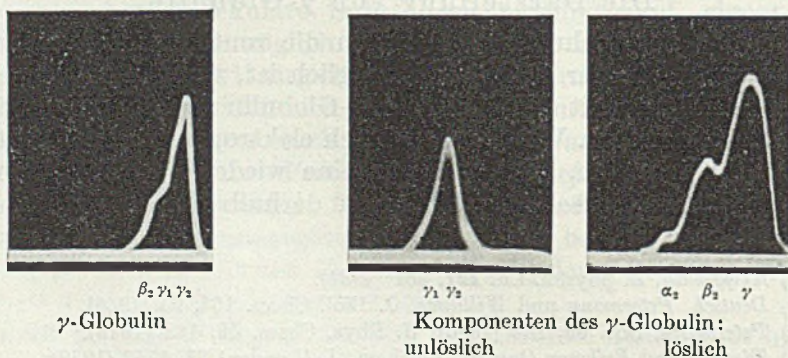


Fig. 2.

Elektrophorese-Diagramme

Tabelle 6.

Protein- Fraktionen	$\gamma$ -Globulin (Mensch)			Komponenten des $\gamma$ -Globulins (Mensch)					
	rel. %	abs. %	u	unlöslich			löslich		
				rel. %	abs. %	u	rel. %	abs. %	u
$\alpha_2$ . . . .	—	—	—	—	—	—	5,1	0,43	8,45
$\beta_2$ . . . .	2,1	0,13	4,23	—	—	—	28,1	2,39	5,81
$\gamma_1$ . . . .	29,0	1,77	3,05	6,5	0,20	14,82	$\gamma$ 66,8	5,68	2,50
$\gamma_2$ . . . .	68,9	4,20	1,84	93,5	2,95	11,98			

Die lösliche Komponente des  $\gamma$ -Globulins wird für die Elektrophorese mit soviel *Michaelis*-Puffer von  $p_{\text{H}}$  7,9 verdünnt, dass ein Gehalt von 2,8% Protein resultiert. Der ebenfalls nephelometrisch bestimmte I.E.P. wird bei  $p_{\text{H}}$  6,4 gefunden. Das Verhältnis der unlöslichen zur löslichen Komponente zeigt beträchtliche Schwankungen; es wird im Mittel von 4 Bestimmungen wie 1:3,8 gefunden; der nach *Seibert* und *Atno*<sup>1)</sup> kolorimetrisch bestimmte Kohlehydratgehalt beträgt für die unlösliche Komponente 5,7% und für die lösliche 2,4%. Der kombinierte Gesamtwert für  $\gamma$ -Globulin nähert sich den Angaben von *G. Blix*, *A. Tiselius* und *H. Svensson*<sup>2)</sup>, welche im  $\gamma$ -Globulin aus menschlichem Serum 3,6% und 3,0% gefunden haben. Es sei erinnert, dass *L. Pillemer* et al.<sup>3)</sup> in einer Komponente des Euglobulins 10,3% Kohlehydrat fanden, ferner *W. H. Seegers*<sup>4)</sup> im Prothrombin und Thrombin 3,8—6,2%.

Nach der Auswertung des Diagrammes des  $\gamma$ -Globulins (s. Tab. 6) ergibt sich dessen Reinheit zu 97,9%. Möglicherweise hat sich mit der grössten Beweglichkeit ein Extra-Gradient ( $\epsilon$ -Boundary) abgebildet, so dass die Reinheit nahezu an 100% herankommen dürfte.

Die Form des Diagrammes der unlöslichen Komponente des  $\gamma$ -Globulins erweist deutlich ihre Homogenität bei  $p_{\text{H}}$  4, wogegen der lösliche Anteil sich bei  $p_{\text{H}}$  7,9 vielfältiger aufteilt. Die Versuchszeit war 7500 Sek. und die übrigen technischen Daten gleich wie vorn.

#### Zusammenfassung.

Es werden die Ergebnisse der ausgewerteten Elektrophorese-Diagramme angegeben vom Blutserum von Mensch, Pferd, Rind und Maultier, ebenso diejenigen der einmaligen Fällung mit Ammoniumsulfat. Die Elektrophorese als Kontrollanalyse dient dazu, den Einfluss der Fällungstemperatur darzutun.

Zur Anreicherung an  $\gamma$ -Globulin wird das gefällte Proteingemisch mit Tricalciumphosphat behandelt, ferner mit Äthanol in der Kälte gefällt und die Albuminkomponente mit Pepsin abgebaut.

Durch dreifach wiederholte Fällung wird reines  $\gamma$ -Globulin erhalten. Dasselbe wird durch Dialyse in zwei Komponenten zerlegt, welche sich durch verschiedene Löslichkeit auszeichnen. Ihre Diagramme werden gezeigt.

Medizinische Universitätsklinik, Zürich.

1) *Seibert* und *Atno*, J. Biol. Chem. 163, 511 (1946).

2) *Blix*, *Tiselius* und *Svensson*, J. Biol. Chem. 137, 485 (1941).

3) *Pillemer*, *Ecker*, *Oncley* und *Cohn*, J. Exp. Med. 74, 297 (1941).

4) *Seegers*, J. Biol. Chem. 136, 103 (1940).

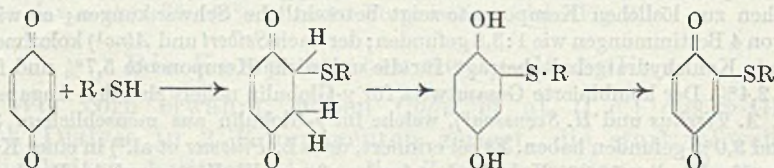
## 75. Mono-alcoylmercapto-quinones.

## Méthode de synthèse simple

par W. Alcalay.

(8 II 47)

Les dérivés alcoylés et arylés de mercapto-quinones s'obtiennent le plus souvent par fixation d'un thioalcool ou d'un thiophénol sur une molécule quinonique d'après le schéma suivant:



La réaction est en général difficile à arrêter au produit monosubstitué. Si la quinone possède plusieurs points réactifs, on obtient simultanément des dérivés di- ou trisubstitués, dont la proportion varie selon les conditions d'expérience. Alors que l'addition des thiophénols s'opère assez facilement, il n'en est pas toujours de même des thioalcools, surtout quand on désire des dérivés monosubstitués. Aussi ne connaît-on pas une dizaine de représentants alcoylés de la série benzénique. Citons à titre d'exemples le produit des réactions:

- benzoquinone + acide thioglycolique<sup>1)</sup>
- benzoquinone + acide thiol-propionique<sup>1)</sup>
- benzoquinone + mercapto-camphre<sup>2)</sup>
- benzoquinone + esters de la cystéine<sup>3)</sup>
- toluquinone + benzylmercaptan<sup>4)</sup>
- duroquinone + acide thioglycolique<sup>1)</sup>
- duroquinone + octyl-mercaptan<sup>1)</sup>

Les rendements sont le plus souvent médiocres, et les dérivés correspondant aux mercaptans les plus simples sont inconnus. On en a décrit un seul représentant: la méthylmercapto-benzoquinone V obtenue par voie indirecte à partir de la 3-méthylmercapto-diméthyl-aniline (5 stades intermédiaires)<sup>5)</sup>.

La présente communication indique une méthode générale simple permettant la synthèse de mono-alcoylmercapto-benzo-quinones difficilement accessibles par les méthodes connues.

<sup>1)</sup> Snell et Weissberger, Am. Soc. **61**, 450 (1939).

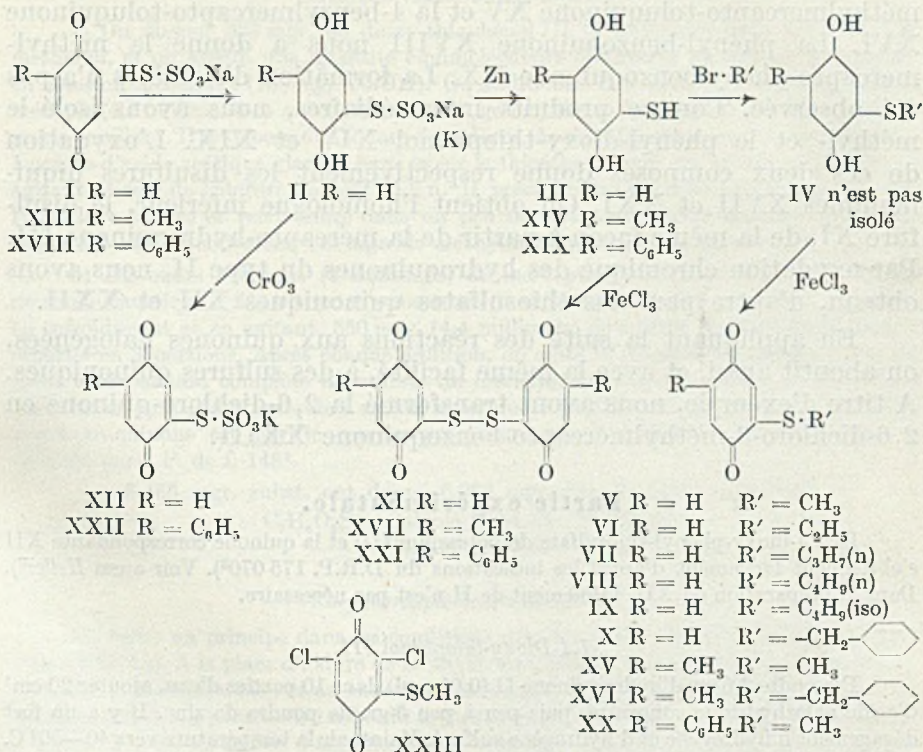
<sup>2)</sup> Dimroth et coll., A. **545**, 126 (1940).

<sup>3)</sup> R. Kuhn et Beinert, B. **77**, 606 (1944).

<sup>4)</sup> Posner et Lipski, A. **336**, 117 (1904).

<sup>5)</sup> Zincke et Müller, B. **46**, 1777 (1913).

La marche à suivre est montrée dans la schéma suivant:



Pour obtenir par exemple les dérivés de la benzoquinone, on opère comme suit:

Une solution acétique de benzoquinone est soumise à froid, selon le D.R.P. 175 070<sup>1)</sup>, à une solution concentrée de thiosulfate de sodium. Le mélange se décolore, et il se forme l'hydroquinone II que l'on réduit sans autre par la poudre de zinc en milieu chlorhydrique. Il en résulte une mercapto-hydroquinone III bien cristallisée. Après alcoylation du groupe thiol au moyen d'un bromure aliphatique, on oxyde le 1,4-dioxy-phényl-thioéther obtenu IV, par le chlorure de fer(III) concentré. L'alcoylmercapto-benzoquinone cherchée précipite.

Ces transformations successives se font avec de bons rendements. En variant la nature du bromure d'alcoyle, on peut obtenir toutes les mercapto-quinones voulues. Pour les méthylations, on se sert soit de l'iodure de méthyle, soit du sulfate de méthyle. L'iodure de méthyle et les bromures d'éthyle, de propyle normal, de butyle normal, d'isobutyle et de benzyle nous ont fourni de cette manière les quinones sulfurées V à X.

La réaction peut être étendue à toute quinone réagissant avec le thiosulfate de sodium.

<sup>1)</sup> D.R.P. 175 070 (1905); Frdl. 3, 140.



Avec la toluquinone par exemple, nous avons préparé la 4-méthylmercapto-toluquinone XV et la 4-benzylmercapto-toluquinone XVI. La phényl-benzoquinone XVIII nous a donné la méthylmercapto-phénylbenzoquinone XX. La formation d'isomères n'a pas été observée. Comme produits intermédiaires, nous avons isolé le méthyl- et le phényl-dioxy-thiophénol XIV et XIX. L'oxydation de ces deux composés donne respectivement les disulfures diquinoniques XVII et XXI. On obtient l'homologue inférieur, le disulfure XI, de la même façon à partir de la mercapto-hydroquinone III. Par oxydation chromique des hydroquinones du type II, nous avons obtenu, d'autre part, les thiosulfates quinoniques XII et XXII.

En appliquant la suite des réactions aux quinones halogénées, on aboutit aussi, et avec la même facilité, à des sulfures quinoniques. A titre d'exemple, nous avons transformé la 2,6-dichloro-quinone en 2,6-dichloro-3-méthylmercapto-benzoquinone XXIII.

### Partie expérimentale.

Le 1,4-dioxy-phényl-thiosulfate de potassium II<sup>1)</sup> et la quinone correspondante XII s'obtiennent facilement d'après les indications du D.R.P. 175 070<sup>2)</sup>. Voir aussi *Heller*<sup>3)</sup>. Dans la préparation de XII, l'isolement de II n'est pas nécessaire.

#### *1,4-Dioxy-thiophénol III.*

Dissoudre 2,6 gr. d'hydroquinone II (0,01 mol) dans 10 parties d'eau, ajouter 20 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique concentré, puis peu à peu 5 gr. de poudre de zinc. Il y a un fort dégagement d'hydrogène et d'hydrogène sulfuré. Maintenir la température vers 40—50° C. La réaction terminée, on laisse refroidir. La solution acide est extraite trois fois à l'éther. L'extrait étheré, évaporé à sec dans le vide en présence de potasse caustique, abandonne de longues aiguilles incolores de mercaptan pratiquement pur. On peut recristalliser dans du benzène. Aiguilles incolores. P. de f. 118°.

L'acétate de plomb donne un sel jaune, l'acide nitreux en solution étherée une réaction colorée verte fugace. On peut titrer le mercaptan par NaOH 0,1 n.

3,655 mgr. subst. ont donné 6,810 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,445 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> S	Calculé C	50,68	H	4,25%
	Trouvé „	50,87	„	4,42%

#### «Disulfure de benzoquinone» XI.

Ajouter à une solution de 285 mgr. de mercaptan III dans 10 parties d'alcool ordinaire 3,5 cm<sup>3</sup> de chlorure de fer(III) 2 n. La diquinone se sépare sous forme d'un précipité jaune assez peu soluble dans l'alcool et l'éther, davantage dans le méthanol. Recristalliser dans de l'acide acétique glacial. Petits cristaux jaunes se décomposant vers 178°. Rendement quantitatif.

3,450 mgr. subst. ont donné 6,560 mgr. CO<sub>2</sub> et 0,710 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	Calculé C	51,79	H	2,17%
	Trouvé „	51,87	„	2,31%

<sup>1)</sup> Nous préférons cette nomenclature à celle de *Heller* et du D. R. P. 175 070 qui considèrent les corps de ce type comme des aryl-thiosulfonates.

<sup>2)</sup> D.R.P. 175 070 (1905); *Frdl.* 8, 140.

<sup>3)</sup> *Heller*, *J. pr.* [2] 108, 257 (1924).

*Méthylmercapto-benzoquinone V.*

a) On dissout 568 mgr. de dioxy-thiophénol III (4 millimols) dans 4 à 5 cm<sup>3</sup> de méthanol, et on ajoute une quantité équimoléculaire d'éthylate de sodium hydrolysé<sup>1)</sup> en solution alcoolique (160 mgr. NaOH). On additionne 640 mgr. (0,28 cm<sup>3</sup>) d'iode de méthyle (4,4 millimols) et on chauffe le mélange en tube scellé pendant 2 heures au bain-marie bouillant. Il se dépose de l'iode de sodium. Après refroidissement, on acidifie avec 1 goutte d'acide acétique glacial. Sans isoler le thioéther formé, on ajoute au liquide, en agitant, 4 cm<sup>3</sup> de chlorure de fer(III) 2 n. Il précipite des aiguilles rouge-brun que l'on filtre, lave à l'eau et recristallise dans un peu de méthanol. Belles aiguilles rouge-brun fondant à 148°. Rendement 440 mgr. de méthylmercapto-quinone pure.

b) Dissoudre 568 mgr. (4 millimols) de mercapto-hydroquinone III dans 10 cm<sup>3</sup> de soude caustique à 2% contenant une trace de dithionite de sodium Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Ajouter, en refroidissant et en agitant, 550 mgr. (4,4 millimols) de sulfate de méthyle (0,55 cm<sup>3</sup>) répartis en 3 portions. Après chaque addition, on agite 10 minutes au moins, et à la fin jusqu'à disparition complète du sulfate de méthyle. La solution neutre ou légèrement acide est ensuite additionnée de 4 cm<sup>3</sup> de chlorure de fer(III) 2 n. Le précipité de méthylmercapto-quinone est purifié comme précédemment. Rendement: 300—400 mgr. de quinone pure. P. de f. 148°.

3,465 mgr. subst. ont donné 6,965 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,290 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> S	Calculé C	54,53	H	3,92%
	Trouvé „	54,81	„	4,17%

*Ethylmercapto-benzoquinone VI.*

On opère en principe dans les conditions décrites pour la méthylmercapto-quinone sous chiffre (a). A la place d'iode de méthyle, on utilise le bromure d'éthyle (480 mgr. = 0,34 cm<sup>3</sup> = 4,4 millimols), et on chauffe le mélange à 80° en tube scellé (ampoule à médicament) pendant 4 heures. On refroidit le liquide et on ajoute 4 cm<sup>3</sup> de chlorure de fer(III) 2 n. Il y a prise en masse d'aiguilles rouge-brun que l'on filtre immédiatement et lave soigneusement à l'eau. On obtient 500 mgr. de produit brut. Par dissolution dans 10 parties d'alcool ordinaire et filtration à chaud, on sépare une petite quantité (20 mgr.) de sous-produit peu soluble.

L'éthylmercapto-benzoquinone cristallise dans le filtrat sous forme d'aiguilles rouge-brun fondant à 94—95°. Rendement global: 420 mgr. de produit pur.

3,275 mgr. ont donné 6,885 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,440 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> S	Calculé C	57,12	H	4,80%
	Trouvé „	57,36	„	4,92%

Le sous-produit se présente sous forme d'écailles jaunes se décomposant progressivement à partir de 180°. Recristallisé dans de l'acide acétique glacial, le corps donne de magnifiques aiguilles rouges de même point de décomposition. Lorsque celles-ci sont dissoutes dans un solvant à chaud, puis additionnées d'un peu d'eau, le produit cristallise de nouveau en écailles jaunes.

*n-Propylmercapto-benzoquinone VII.*

On prépare comme pour les homologues inférieurs le sel sodique de 568 mgr. (4 millimols) de mercapto-hydroquinone III en solution dans du méthanol. On ajoute la quantité équimoléculaire de bromure de propyle normal et on chauffe le mélange à l'ébullition et à reflux pendant 1 heure environ (de préférence dans une atmosphère d'hydrogène), jusqu'à ce qu'une prise ne donne plus de précipité jaune avec l'acétate de plomb (absence de mercaptan, formation de Br<sub>2</sub>Pb blanc). On refroidit, acidifie, puis on oxyde le thioéther formé par le chlorure de fer(III) 2 n. (4 cm<sup>3</sup>). Il se forme un abondant précipité de propylmercapto-benzoquinone brun-rougeâtre qui, après essorage, doit être soigneusement lavé à

<sup>1)</sup> On peut aussi utiliser de la soude caustique solide.

l'eau. On sépare une petite quantité de sous-produit jaune peu soluble par dissolution dans 10 parties d'alcool et filtration à chaud. La quinone cristallise dans les eaux-mères en aiguilles brun-orangé fondant à 86—88°. Rendement 580 mgr. Très soluble dans les solvants hydroxylés et le benzène. Soluble dans l'éther de pétrole et le chloroforme.

3,745 mgr. subst. ont donné 8,145 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,900 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> S	Calculé C	59,32	H	5,53%
	Trouvé „	59,61	„	5,65%

Le sous-produit est recristallisé dans environ 50 parties d'acide acétique glacial. Par refroidissement lent, on obtient de magnifiques prismes jaune-or fondant vers 213° avec décomposition. Peu soluble dans les solvants usuels, sauf le chloroforme.

Les composés suivants ont été synthétisés exactement comme la n-propylmercaptoquinone en employant dans chaque cas le bromure aliphatique approprié. Voici les principales propriétés de ces corps:

#### *n-Butylmercapto-benzoquinone VIII.*

Aiguilles jaune-brun fondant à 82° après recristallisation dans de l'alcool ordinaire. Très soluble dans les solvants usuels. La substance sublime facilement, comme d'ailleurs tous ses congénères, et possède aussi comme ces derniers une odeur de «sulfure» caractéristique. Comme dans la préparation de VII, il y a un sous-produit jaune peu soluble cristallisant en écailles (acide acétique glacial) et fondant avec décomposition vers 203°.

4,390 mgr. subst. ont donné 9,885 mgr. CO<sub>2</sub> et 2,474 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> S	Calculé C	61,20	H	6,16%
	Trouvé „	61,48	„	6,31%

#### *Isobutylmercapto-benzoquinone IX.*

Longues aiguilles ou prismes brun-jaune, obtenus par recristallisation dans 8 parties d'alcool. P. de f. 92—93°. Très soluble dans les solvants hydroxylés, peu soluble dans les hydrocarbures.

3,590 mgr. subst. ont donné 8,055 mgr. CO<sub>2</sub> et 2,010 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> S	Calculé C	61,20	H	6,16%
	Trouvé „	61,39	„	6,27%

Un sous-produit jaune, très peu soluble, a été obtenu. Décomposition au delà de 250—260°.

#### *Benzylmercapto-benzoquinone X.*

Belles aiguilles rouge-orangé, fondant à 119° après recristallisations répétées dans 8 à 10 parties d'alcool. Comme toutes les quinones de la même série, la substance libère de l'iode dans une solution acidifiée d'iodure de potassium.

3,627 mgr. subst. ont donné 9,045 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,470 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> S	Calculé C	67,80	H	4,38%
	Trouvé „	68,07	„	4,54%

#### *Mercapto-toluhydroquinone XIV.*

A une solution refroidie de 7,44 gr. (0,03 mol) de thiosulfate de sodium dans 15 cm<sup>3</sup> d'eau, ajouter goutte à goutte une dissolution de 2,44 gr (0,02 mol) de toluquinone dans 10 cm<sup>3</sup> d'acide acétique glacial. Chaque goutte provoque d'abord une coloration rouge fugace, puis il y a décoloration complète. Il se forme un dioxy-tolyl-thiosulfate du type II extrêmement soluble et difficile à séparer à l'état pur. Aussi est-il préférable de le transformer directement en mercaptan correspondant XIV. Dans ce but, on ajoute 40 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique concentré et 20 cm<sup>3</sup> d'eau pour redissoudre le précipité de ClNa. Additionner à ce mélange par petites portions 10 gr. de poudre de zinc. Il se dégage de l'hydrogène et de l'hydrogène sulfuré. Maintenir la température vers 40—50°. Lorsque la ré-

duction est terminée, on refroidit et on extrait à l'éther. Après évaporation dans le vide sur KOH, on obtient 3,10 gr. de mercaptan (rendement quantitatif) fondant vers 128°. On peut recristalliser dans du benzène. Petits cristaux incolores fondant vers 136°. Le produit donne toutes les réactions caractéristiques des thiophénols.

3,645 mgr. subst. ont donné 7,235 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,725 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> S	Calculé C 53,85	H 5,17%
Trouvé „	54,18	„ 5,29%

«Disulfure de toluquinone» XVII.

Dissoudre 312 mgr. (2 millimols) de mercapto-toluhydroquinone dans 10 parties d'alcool et ajouter 3,5 cm<sup>3</sup> de chlorure de fer(III) 2 n. On recueille le précipité jaune et recristallise la diquinone dans de l'alcool ordinaire. P. de f. 144° (déc.). La substance met l'iode en liberté dans une solution acidifiée d'iodeure de potassium.

4,125 mgr. subst. ont donné 8,330 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,255 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	Calculé C 54,89	H 3,29%
Trouvé „	55,07	„ 3,40%

4-Méthylmercapto-toluquinone XV.

Cette substance se prépare exactement dans les mêmes conditions que la méthylmercapto-benzoquinone. La méthylation de la mercapto-toluhydroquinone (1,56 gr. = 0,01 mol) peut s'effectuer soit par le sulfate de méthyle, soit par l'iodeure de méthyle, comme nous l'avons décrit plus haut. Après acidification, on oxyde le thioéther formé par le chlorure de fer(III) 2 n. (10 cm<sup>3</sup>). Les cristaux obtenus sont lavés à fond à l'eau et recristallisés dans 6 parties d'alcool méthylique. Magnifiques aiguilles rouges fondant à 113°. Rendement 65—70%.

3,435 mgr. subst. ont donné 7,220 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,540 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> S	Calculé C 57,12	H 4,80%
Trouvé „	57,40	„ 4,91%

4-Benzylmercapto-toluquinone XVI.

Opérer comme pour les corps analogues de la série benzoquinonique. Durée de la benzylation: environ 2 heures. Après oxydation, il arrive que la quinone se sépare sous forme d'une huile rouge insoluble. On décante alors, et on reprend par de l'alcool à chaud. Par refroidissement on obtient de beaux cristaux rouges. Après recristallisations répétées dans 35 parties d'alcool, on a de belles tablettes rouge-orange fondant à 136°. Le composé paraît être identique à celui que Posner avait obtenu en petites quantités dans la réaction entre le benzylmercaptan et la toluquinone.

4,310 mgr. subst. ont donné 10,900 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,990 mgr. H<sub>2</sub>O

C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> S	Calculé C 68,83	H 4,95%
Trouvé „	68,97	„ 5,17%

1,4-Dioxy-diphényl-thiosulfate de potassium et quinone correspondante XXII.

Verser goutte à goutte une solution tiède de 0,92 gr. (5 millimols) de phényl-benzoquinone<sup>1)</sup> dans 8,5 cm<sup>3</sup> d'acide acétique glacial dans une solution refroidie dans la glace de 1,86 gr. (7,5 millimols) de thiosulfate de sodium dans 2 cm<sup>3</sup> d'eau. On obtient une solution à peine colorée de dioxy-diphényl-thiosulfate que l'on peut précipiter en partie par le chlorure de potassium en excès. Le rendement est quantitatif.

Pour toutes les transformations ultérieures, on se sert avec avantage de la solution brute. La quinone XXII, par exemple, s'obtient par addition de 3,5 cm<sup>3</sup> d'acide chromique à 10% en solution aqueuse. Belles aiguilles jaune-or, très peu solubles dans l'alcool,

<sup>1)</sup> Kvalnes, Am. Soc. 56, 2478 (1934).

assez solubles dans l'eau à chaud. On purifie par recristallisation dans l'eau. P. de f. vers 220° (déc.).

4,350 mgr. subst. ont donné 6,910 mgr. CO<sub>2</sub> et 0,890 mgr. H<sub>2</sub>O

C<sub>12</sub>H<sub>7</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>K    Calculé C 43,10    H 2,11%

                  Trouvé    ,, 43,37    ,, 2,29%

*1,4-Dioxy-diphényl-mercaptan XIX.*

La solution brute de dioxy-diphényl-thiosulfate est additionnée de 10 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique concentré et par petites portions, de 2 gr. de poudre de zinc. A la fin de la réaction, le mercaptan se sépare. Après extraction à l'éther, nous l'avons obtenu quantitativement sous forme d'une huile visqueuse auto-oxydable, donnant toutes les réactions caractéristiques des mercaptans (sel de plomb jaune, etc.). On peut se servir du produit brut pour les réactions suivantes:

«Disulfure de phényl-benzoquinone» XXI.

Dissoudre le mercaptan précédent dans 10 parties d'alcool et ajouter un excès de chlorure de fer(III) 2 n. Le précipité jaune est recristallisé dans 70—80 parties d'acide acétique glacial. Petites tablettes jaunes fondant vers 230° avec décomposition.

3,910 mgr. subst. ont donné 9,630 mgr. CO<sub>2</sub> et 1,210 mgr. H<sub>2</sub>O

C<sub>24</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>    Calculé C 66,96    H 3,28%

                  Trouvé    ,, 67,18    ,, 3,46%

*A-Méthylmercapto-phénylbenzoquinone XX.*

On suit la procédure décrite pour la méthylmercapto-benzoquinone sous chiffre (a). Parfois, après oxydation, la quinone ne se sépare qu'en petites quantités du liquide de réaction. On dilue alors à l'eau et on l'extrait à l'éther. Après recristallisation dans de l'alcool, le produit forme de belles tablettes rouges fondant à 124—125°.

2,875 mgr. subst. ont donné 7,160 mgr. CO<sub>2</sub> et 0,920 mgr. H<sub>2</sub>O

C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>S    Calculé C 67,80    H 4,38%

                  Trouvé    ,, 67,97    ,, 4,52%

*Méthylmercapto-2,6-dichloro-benzoquinone XXIII.*

La 2,6-dichloro-benzoquinone<sup>1)</sup> est transformée quantitativement en 1,4-dioxy-2,6-dichloro-phényl-thiosulfate de sodium, puis en dioxy-dichloro-thiophénol selon le D.R.P. 175 070<sup>2)</sup>.

Le thiophénol est ensuite méthylylé d'après les indications données plus haut pour la méthylmercapto-benzoquinone sous chiffre (b). Après oxydation du thioéther formé, on obtient la méthylmercapto-2,6-dichloro-benzoquinone sous forme d'aiguilles rouges. Recristalliser dans 8 à 9 parties de méthanol et filtrer à chaud un sous-produit rouge peu soluble. La quinone fond à 64°. Très soluble dans tous les solvants usuels.

3,815 mgr. subst. ont donné 5,315 mgr. CO<sub>2</sub> et 0,680 mgr. H<sub>2</sub>O

C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>S    Calculé C 37,69    H 1,81%

                  Trouvé    ,, 38,02    ,, 1,99%

Le sous-produit cristallise en tablettes fondant vers 185°.

Laboratoire VIFOR S.A., Genève.

<sup>1)</sup> *Kehrmann*, J. pr. [2] 40, 481 (1889).

<sup>2)</sup> D.R.P. 175 070 (1905); *Frdl.* 8, 140.

## 76. Zur Kenntnis von Derivaten des Pyrimidino-thiazols II. Über Isostere des Theophyllins, Methyl-adenins und Methyl-purins

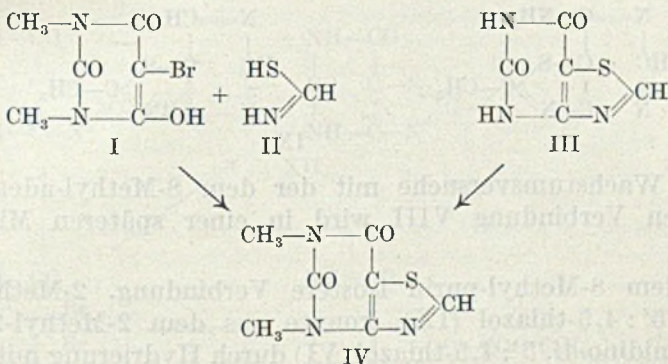
von H. Erlenmeyer und H. P. Furger.

(S. II. 47.)

In einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> berichteten wir über die Darstellung des 2', 6'-Dioxo-1', 2', 3', 6'-tetrahydro-pyrimidino-4', 5': 4, 5-thiazols (III), einer Verbindung, die als isoster mit Xanthin, — dem Dioxo-tetrahydro-pyrimidino-imidazol —, aufzufassen ist.

Charakteristische biologische Eigenschaften, die für vergleichende Versuche ausgewertet werden können, zeigt in der Xanthinreihe das Dimethyl-xanthin (Theophyllin), so dass wir uns für die Darstellung des entsprechenden Isosteren, des 1', 3'-Dimethyl-2', 6'-dioxo-1', 2', 3', 6-tetrahydro-pyrimidino-4', 5': 4, 5-thiazols (IV), interessierten.

Die Synthese dieser Verbindung lässt sich ausgehend von der 1,3-Dimethyl-5-brombarbitursäure (I) durch Kondensation mit Thioformamid (II) oder auch durch Methylierung des Dioxo-tetrahydro-pyrimidino-thiazols<sup>1)</sup> (III) mit Diazomethan durchführen.



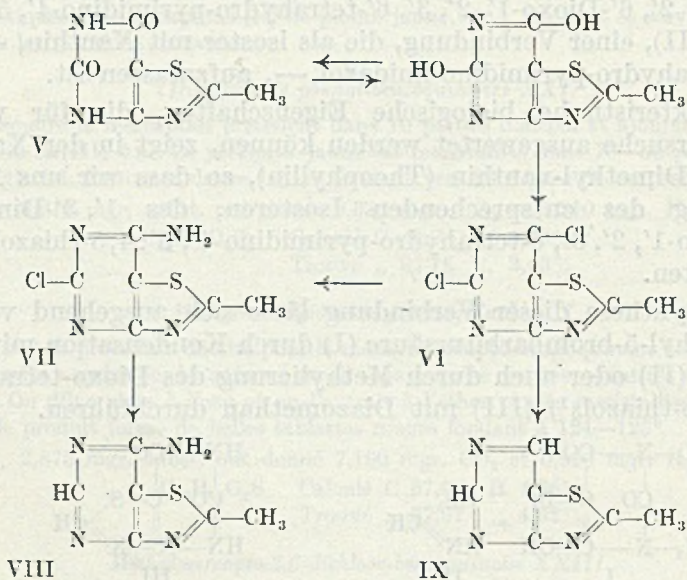
Die Oxydationsstufe, die dem Purin, dem Pyrimidino-imidazol, entspricht, d. h. in der das System „aromatischen“ Charakter besitzt, lässt sich gleichfalls in der isosteren Thiazolreihe gewinnen.

Ein biologisch wichtiges Purinderivat ist das Adenin, das u. a. auch von einigen Mikroorganismen als Wachstumsstoff benötigt wird. Da das durch solche Wachstumsstoffe bedingte Wachstum häufig durch strukturähnliche Verbindungen gehemmt wird, interessierten wir uns im Zusammenhang mit Untersuchungen auf diesem Gebiet, die

<sup>1)</sup> H. Erlenmeyer und H. P. Furger, *Helv.* **26**, 366 (1942). Nähere Angaben siehe H. P. Furger, Diss. Basel 1944.

wir gemeinsam mit *H. Bloch* durchführen, für die Herstellung einer dem Adenin strukturähnlichen Verbindung aus der Pyrimidino-thiazolreihe.

Das Isostere des 8-Methyl-adenins, das 2-Methyl-6'-amino-pyrimidino-4', 5': 4,5-thiazol (VII), konnte ausgehend vom 2-Methyl-2', 6'-dioxo-1', 2', 3', 6'-tetrahydro-pyrimidino-4', 5': 4,5-thiazol<sup>1)</sup> (V) über die Stufen VI und VII erhalten werden. Die Reaktionsfähigkeit des 2'-Chloratoms der Verbindung VI kann aus den Erfahrungen bei den entsprechenden Purinderivaten abgeleitet werden<sup>2)</sup>.



Über Wachstumsversuche mit der dem 8-Methyl-adenin entsprechenden Verbindung VIII wird in einer späteren Mitteilung berichtet.

Die dem 8-Methyl-purin isostere Verbindung, 2-Methyl-pyrimidino-4', 5': 4,5-thiazol (IX), konnte aus dem 2-Methyl-2', 6'-dichlor-pyrimidino-4', 5': 4,5-thiazol (VI) durch Hydrierung mit *Raney-Nickel* dargestellt werden.

Eine Reihe von anderen Derivaten des Pyrimidino-thiazols konnte durch direkte Kondensation mit 5,5-Dibrom-barbitursäure (X), einem Zwischenprodukt bei der Darstellung der 5-Brom-barbitursäure, erhalten werden. Bei Verwendung eines  $\alpha, \alpha$ -Di-halogen-ketons als Reaktionskomponente<sup>3)</sup> müssen 2 Mol Thioamid verwendet

<sup>1)</sup> *H. Erlenmeyer* und *H. P. Furger*, loc. cit.

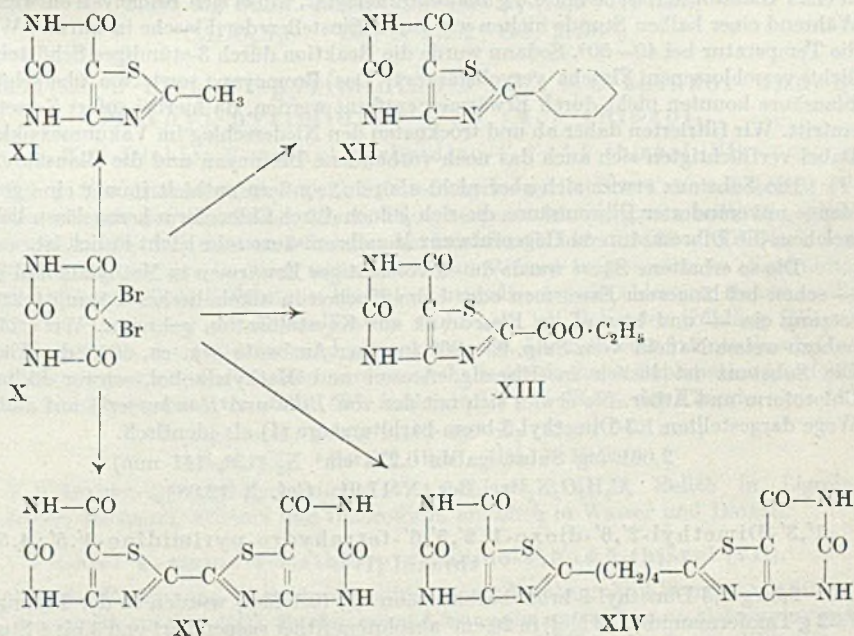
<sup>2)</sup> *E. Fischer*, B. **30**, 2226 (1897); **31**, 104 (1888).

<sup>3)</sup> Vgl. die Darstellung von 2-Amino-thiazol-4-carbonsäure (Sulfuvinursäure) aus Di- oder Tri-brom-brenztraubensäure und Thioharnstoff: *Nencki* und *Sieber*, J. pr. [2] **25**, 74 (1882); *Böttiger*, Arch. Pharm. **232**, 350 (1894).

werden, wobei der Überschuss benötigt wird, um das Di-halogenketon in das Mono-halogen-keton überzuführen, das dann mit dem verbleibenden Thioamid in normaler Weise reagiert. Es wurde das Reaktionsvermögen der 5,5-Dibrom-barbitursäure gegenüber Thioacetamid, Thiobenzamid, Thio-oxamäthan, Adipinsäure-dithioamid und Rubeanwasserstoff geprüft und es wurden in allen Fällen die erwarteten Derivate des Thiazols erhalten, nämlich:

- 2-Methyl-2', 6'-dioxo-1', 2', 3', 6'-tetrahydro-pyrimidino-4', 5' : 4,5-thiazol (XI);
- 2-Phenyl-2', 6'-dioxo-1', 2', 3', 6'-tetrahydro-pyrimidino-4', 5' : 4,5-thiazol (XII);
- 2', 6'-Dioxo-1', 2', 3', 6'-tetrahydro-pyrimidino-4', 5' : 4,5-thiazol-2-carbonsäure-äthylester (XIII);
- $\alpha, \omega$ -Di-[2', 6'-Dioxo-1', 2', 3', 6'-tetrahydro-pyrimidino-4', 5' : 4,5-thiazolyl-(2)]-n-butan (XIV);
- Di-[2', 6'-Dioxo-1', 2', 3', 6'-tetrahydro-pyrimidino-4', 5' : 4,5-thiazolyl-(2)] (XV).

Die Verbindung XI erwies sich als identisch mit dem früher<sup>1)</sup> von uns beschriebenen, aus 5-Brom-barbitursäure und Thio-acetamid erhaltenen Produkt.



<sup>1)</sup> H. Erlenmeyer und H. P. Furger, loc. cit.



## Experimenteller Teil.

## 1',3'-Dimethyl-2',6'-dioxo-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol.

A. Aus 1,3-Dimethyl-5-brom-barbitursäure und Thioformamid:

## 1,3-Dimethyl-barbitursäure.

Die Dimethyl-barbitursäure stellten wir nach einer etwas abgeänderten Vorschrift von *H. Biltz* und *H. Witteck*<sup>1)</sup> dar.

0,5 g symm. Dimethyl-harnstoff und 0,7 g Malonsäure werden in 2 cm<sup>3</sup> Eisessig in der Wärme klar gelöst. Sodann lässt man nach und nach 3 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid zutropfen und erwärmt unter ständigem Rühren auf dem Wasserbad. Nach ca. 6 Stunden ist die Reaktion beendet.

Beim Erkalten kristallisiert eine kleine Menge des Reaktionsprodukts aus, die Hauptmenge hingegen erst beim Einengen des Filtrats. Nach Umkrystallisieren aus Alkohol zeigt die 1,3-Dimethyl-barbitursäure den Smp. 120—122°. Ausbeute ca. 70% der Theorie.

## 1,3-Dimethyl-5,5-dibrom-barbitursäure.

2 g 1,3-Dimethyl-barbitursäure wurden in 15 cm<sup>3</sup> Eisessig suspendiert und im Laufe einer halben Stunde die berechnete Menge Brom (4,1 g) zutropffelt, wobei die Temperatur konstant bei 55—60° gehalten wurde. Die Lösung wurde darauf im Vakuum fast bis zur Trockne eingedampft. Die so erhaltene rohe 1,3-Dimethyl-5,5-dibrom-barbitursäure kristallisierten wir dann aus der 10-fachen Menge Wasser um. Smp. 102°, Ausbeute fast quantitativ.

## 1,3-Dimethyl-5-brom-barbitursäure (I).

2 g Dimethyl-dibrom-barbitursäure wurden in ca. 15 cm<sup>3</sup> Wasser suspendiert und in einer Glasstöpselflasche mit 0,5 g Blausäure zersetzt, wobei sich Bromcyan entwickelte. Während einer halben Stunde hielten wir durch Einstellen der Flasche in warmes Wasser die Temperatur bei 40—50°. Sodann wurde die Reaktion durch 3-stündiges Schütteln der dicht verschlossenen Flasche vervollständigt. Das Bromcyan sowie die überschüssige Blausäure konnten nicht durch Erwärmen entfernt werden, da hierbei sofort Zersetzung eintritt. Wir filtrierten daher ab und trockneten den Niederschlag im Vakuumexsikkator. Dabei verflüchtigten sich auch das noch vorhandene Bromcyan und die Blausäure.

Die Substanz erwies sich aber nicht als rein, sondern enthielt immer eine gewisse Menge unveränderter Dibromsäure, die sich jedoch durch Chloroform herauslösen liess, in welchem die Dibromsäure in Gegensatz zur Monobromsäure sehr leicht löslich ist.

Die so erhaltene Säure wurde durch vorsichtiges Erwärmen in Methylalkohol gelöst — schon bei längerem Erwärmen oder beim Kochen in alkoholischer Lösung tritt Zersetzung ein — und hierauf im Eisschrank zur Krystallisation gebracht. Wir erhielten nahezu weisse Nadeln vom Smp. 95—96° in einer Ausbeute von ca. 60% der Theorie. Die Substanz ist löslich in Eisessig, Aceton und Methylalkohol, schwer löslich in Chloroform und Äther. Sie erwies sich mit der von *Biltz* und *Hamburger*<sup>2)</sup> auf anderem Wege dargestellten 1,3-Dimethyl-5-brom-barbitursäure (I) als identisch.

2,061 mg Subst. gaben 0,214 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (13°, 741 mm)

C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Br Ber. N 11,91 Gef. N 12,08%

## 1',3'-Dimethyl-2',6'-dioxo-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (IV).

2,35 g 1,3-Dimethyl-5-brom-barbitursäure (I) (0,1 Mol) wurden in der Lösung von 1,22 g Thioformamid (0,02 Mol) in 20 cm<sup>3</sup> absolutem Äther suspendiert und 3 bis 4 Stunden

<sup>1)</sup> *H. Biltz* und *H. Witteck*, B. 54, 1035 (1921).

<sup>2)</sup> *H. Biltz* und *T. Hamburger*, B. 49, 635 (1916).

zum Sieden erhitzt. Die Kondensation geht nur sehr langsam vor sich, da die Dimethylbrombarbitursäure in Äther sehr schwer löslich ist. Den Äther destillierten wir ab, nahmen das Produkt in Methylalkohol auf, um den kleinen Rest nicht kondensierter Säure herauszulösen und behandelten den ungelösten Rückstand der Reihe nach mit Äthylalkohol, Ligroin und Eisessig, um alle Verunreinigungen zu entfernen.

Das so entstandene, in allen von uns untersuchten Lösungsmitteln schwerlösliche 1',3'-Dimethyl-2',6'-dioxo-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (IV) ist ein hellgelber Körper vom Zersp. 340°.

3,529 mg Subst. gaben 5,49 mg CO<sub>2</sub> und 1,10 mg H<sub>2</sub>O

2,596 mg Subst. gaben 0,475 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (10°, 754 mm)

C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub>S Ber. C 42,64 H 3,55 N 21,32%

Gef. „ 42,46 „ 3,49 „ 21,59%

B. Aus 2',6'-Dioxo-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (III) mit Diazomethan:

1',3'-Dimethyl-2',6'-dioxo-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (IV).

Zu 1,69 g der Verbindung III gaben wir eine ätherische Lösung von 1,7 g Diazomethan, dargestellt durch Eintragen von Nitrosomethylharnstoff in mit Äther überschichtete 40-proz. Kalilauge. Den locker verschlossenen Kolben liessen wir 3 Stunden unter zeitweiligem kräftigem Umschütteln in Eis stehen. Man bemerkt von Anfang an eine Stickstoffentwicklung und kann bei langsamem Eintragen der Diazomethanlösung Entfärbung beobachten.

Wir liessen dann das Reaktionsgemisch über Nacht bei Zimmertemperatur stehen, destillierten den Äther ab, pulverisierten den Rückstand und wiederholten die ganze Operation. Der so erhaltene Körper erwies sich auf Grund von Eigenschaften und Analyse als identisch mit dem soeben beschriebenen 1',3'-Dimethyl-2',6'-dioxo-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (IV).

1,881 mg Subst. gaben 0,350 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (12,5° 744 mm)

C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub>S Ber. N 21,32 Gef. 21,78%

6'-Amino-2-methyl-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol und 2-Methyl-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol.

2',6'-Dichlor-2-methyl-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (VI).

2,6 g 2',6'-Dioxo-2-methyl-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (V) mischten wir mit der zehnfachen Menge Phosphorpentachlorid, gaben noch 12 g Phosphoroxychlorid zu und erhitzen 2 Stunden am Rückflusskühler auf 135–140°. Nach dem Erkalten liessen wir das Gemisch unter ständigem Rühren tropfenweise in eisgekühltes Wasser einfließen. Gute Kühlung ist hierbei wichtig, da sonst die chlorierte Substanz ölig ausfällt und nur schwer zur Krystallisation zu bringen ist. Bei guter Kühlung fällt ein gelber Körper aus, der abfiltriert und getrocknet wird. Die Substanz konnte durch Umkrystallisieren nie ganz rein erhalten werden, weshalb wir sie durch Sublimation im Hochvakuum vollständig reinigten. Smp. 59°, Ausbeute 1,2 g = 38,5% der Theorie.

2,896 mg Subst. gaben 0,472 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (12,5°, 740 mm)

C<sub>8</sub>H<sub>3</sub>N<sub>3</sub>SCl<sub>2</sub> Ber. N 19,10 Gef. N 18,98%

2',6'-Dichlor-2-methyl-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (VI) ist löslich in Ligroin, Petroläther, Methanol, Äthanol und Chloroform, unlöslich in Wasser und Dioxan.

2'-Chlor-6'-amino-2-methyl-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (VII).

0,5 g der Verbindung VI erwärmen wir in einem Bombenrohr 6 Stunden mit 10 cm<sup>3</sup> konz. Ammoniak auf 95–100°. Es trat zuerst Lösung ein, später begann sich ein kristalliner Körper abzuscheiden, von dem wir nach Erkalten und Öffnen des Rohrs abfiltrierten. Eine weitere Menge konnte durch Einengen des Filtrats gewonnen werden.

Die Reinigung der anscheinend durch Spaltprodukte verunreinigten Substanz geschah durch Erwärmen in schwach alkalischer Lösung, wobei die Spaltprodukte in Lösung gingen. Das zurückbleibende Amin konnte dann durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Alkohol gereinigt werden. Die Reinausbeute an 2'-Chlor-6'-amino-2-methyl-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (VII) beträgt 35% der Theorie. Es ist rein weiss, gut löslich in Alkohol und zeigt den Zersp. 305° (Schwarzfärbung).

2,044 mg Subst. gaben 0,482 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (17°, 749 mm)

C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>4</sub>SCl Ber. N 27,93 Gef. N 27,36%

#### 6'-Amino-2-methyl-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (VIII).

1 g der Verbindung VII lösten wir in 100 cm<sup>3</sup> Alkohol, gaben 2 Spatel BaCO<sub>3</sub>-Aufschlammung — um die bei der Hydrierung entstehende, den Katalysator vergiftende Salzsäure zu binden — sowie ca. 0,1 g Raney-Nickel hinzu und hydrierten während 8 Stunden in der Kälte.

Nach beendeter Reaktion wurde von den anorganischen Anteilen und vom Raney-Nickel abfiltriert und das Filtrat eingengt. Wir erhielten so einen krystallinen Körper, der zur weiteren Reinigung zuerst mit ganz verdünnter Salzsäure, dann mit heissem Wasser ausgewaschen wurde, um auch noch Spuren von anorganischen Anteilen zu entfernen. Hierauf lösten wir den Rückstand in Alkohol und führten die weitere Reinigung auf chromatographischem Wege an einer Aluminiumoxydsäule durch. Die alkoholische Lösung wurde dann vorsichtig eingengt und die erhaltene Substanz nochmals aus Methanol umkrystallisiert. Die Ausbeute beträgt bei dieser Stufe der Synthese 80% der Theorie.

Das erhaltene 6'-Amino-2-methyl-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (VIII) ist leicht löslich in Methyl- und Äthylalkohol, schwerer in Amylalkohol und Essigester, unlöslich in Wasser, Petroläther und Ligroin. Es zersetzt sich bei ca. 325°.

3,781 mg Subst. gaben 5,98 mg CO<sub>2</sub> und 1,21 mg H<sub>2</sub>O

0,996 mg Subst. gaben 0,249 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 742 mm)

2,324 mg Subst. verbrauchten 1,390 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Jodlösung

C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>S Ber. C 43,37 H 3,26 N 33,73 S 19,28%

Gef. „ 43,12 „ 3,58 „ 33,34 „ 19,17%

#### 2-Methyl-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (IX).

0,5 g Dichlor-methyl-pyrimidino-thiazol (VI) wurden in 80 cm<sup>3</sup> Alkohol über Nacht mit Raney-Nickel unter Zusatz von etwas BaCO<sub>3</sub>-Aufschlammung hydriert. Es wurde dann von den anorganischen Anteilen und dem Nickelkatalysator abfiltriert und das Filtrat vorsichtig eingengt. Es fiel eine weisse, amorphe Substanz aus, die aus Alkohol umkrystallisiert wurde. 2-Methyl-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (IX) zersetzt sich oberhalb 300°.

1,287 mg Subst. gaben 0,302 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (12°, 743 mm)

C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>S Ber. N 27,81 Gef. N 27,48%

### Kondensationen mit 5,5-Dibrom-barbitursäure (X).

#### 2',6'-Dioxo-2-methyl-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (XI).

Die Lösungen von 2,2 g Dibrom-barbitursäure (X) in 100 cm<sup>3</sup> Alkohol und von 2 g Thioacetamid in 20 cm<sup>3</sup> Alkohol werden vereinigt, wobei sofort eine Trübung entsteht, und zwei Stunden auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt. Die heisse alkoholische Lösung wird dann vom entstandenen Schwefel abfiltriert. Beim Erkalten krystallisiert das Kondensationsprodukt in schönen Nadeln aus. Die so in einer Ausbeute von 1,3 g = 66% der Theorie erhaltene Verbindung erwies sich als identisch mit dem aus 5-Brombarbitursäure und Thioacetamid erhaltenen 2',6'-Dioxo-2-methyl-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> H. Erlenmeyer und H. P. Furger, loc. cit.

## 2',6'-Dioxo-2-phenyl-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol(XII)

Zu 1 g 5,5-Dibrom-barbitursäure (X) in 50 cm<sup>3</sup> Alkohol gaben wir eine alkoholische Lösung von 1 g Thiobenzamid und erwärmten eine Stunde auf dem Wasserbad. Nach und nach begann sich etwas Schwefel abzuscheiden, von dem heiss abfiltriert wurde.

Beim Einengen der alkoholischen Lösung erhielten wir ein Gemisch aus dem gesuchten Thiazol (XII) und 3,5-Diphenyl-1,2,4-thiodiazol, einem Oxydationsprodukt des Thiobenzamids vom Smp. 88—89°. Da das Thiazol in Alkohol schwerer löslich ist, konnten die beiden Körper durch fraktionierte Krystallisation aus Alkohol unter Zusatz von Tierkohle getrennt werden.

2',6'-Dioxo-2-phenyl-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol (XII) zersetzt sich bei 250°. Es ist löslich in Methanol und Äthanol. Ausbeute 0,6 g = 71% der Theorie.

3,425 mg Subst. gaben 0,515 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (20°, 738 mm)

C<sub>11</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub>S Ber. N 17,14 Gef. N 17,01%

## 2',6'-Dioxo-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol-2-carbonsäure-äthylester (XIII).

2,86 g 5,5-Dibrom-barbitursäure (X) werden in 80 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und mit einer Lösung von 2,66 g Thio-oxamäthan in 20 cm<sup>3</sup> Alkohol versetzt. Es tritt eine Trübung ein, die beim Erwärmen wieder verschwindet. Nun kocht man 2 Stunden auf dem Wasserbad, wobei sich allmählich Schwefel abscheidet. Man filtriert sodann die noch heisse Lösung und lässt erkalten, wobei sich 1,5 g des Kondensationsprodukts als hellgelbe Krystalle abscheiden. Durch Umkrystallisieren aus Alkohol unter Zusatz von Aktivkohle können sie rein weiss erhalten werden.

Beim Stehen über Nacht fällt eine weitere Menge von ca. 1 g aus; durch Einengen der Mutterlauge erhält man noch 1,2 g, die durch Nebenprodukte und nicht umgesetzte Ausgangsmaterialien verunreinigt sind, jedoch durch Ausziehen mit Ligroin gereinigt werden können.

Der erhaltene 2',6'-Dioxo-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazol-2-carbonsäure-äthylester (XIII) schmilzt unter Zersetzung bei 250° und ist löslich in Ligroin, Äthyl- und Methylalkohol.

4,658 mg Subst. gaben 0,704 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (10°, 744,5 mm)

C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>O<sub>4</sub>N<sub>3</sub>S Ber. N 17,43 Gef. N 17,86%

 $\alpha, \omega$ -Di-[2',6'-dioxo-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazolyl-(2)]-n-butan (XIV).

1,4 g 5,5-Dibrom-barbitursäure (X) löst man in 50 cm<sup>3</sup> Alkohol und gibt dazu eine alkoholische Lösung von 0,85 g Adipinsäure-di-thioamid. Beim Vereinigen der Lösungen tritt eine milchige Trübung auf, die beim Erwärmen — abgesehen von etwas Schwefel — wieder verschwindet. Beim Erkalten scheidet sich eine weitere Menge Schwefel ab, von dem abfiltriert wird. Das Kondensationsprodukt erhält man beim Einengen des Filtrats als hellgelbes Pulver. Durch zweimaliges Umkrystallisieren aus Alkohol wurde das  $\alpha, \omega$ -Di-[2',6'-dioxo-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazolyl-(2)]-n-butan (XIV) vollkommen weiss und analysenrein erhalten. Smp. 244° unter Zersetzung.

3,597 mg Subst. gaben 0,663 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (15°, 743 mm)

C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>N<sub>6</sub>S<sub>2</sub> Ber. N 21,42 Gef. N 21,36%

## Di-[2',6'-dioxo-1',2',3',6'-tetrahydro-pyrimidino-4',5':4,5-thiazolyl-(2)] (XV).

1,4 g 5,5-Dibrom-barbitursäure (X) wurden in 50 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und durch einen Tropftrichter eine Lösung von 1,2 g Rubeanwasserstoff in 30 cm<sup>3</sup> Alkohol unter ständigem Rühren zugetropft. Es fiel sofort ein dunkelbrauner Niederschlag aus. Nach

einstündigem Erhitzen auf dem Wasserbad wurde die Lösung auf die Hälfte des Volumens eingengt und erkalten gelassen. Der so erhaltene dunkle Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet. Er enthielt noch Schwefel, der aber grösstenteils mit Ligroin herausgelöst werden konnte.

Der Rückstand, der sich in fast allen Lösungsmitteln als schwer löslich erwies, wurde in viel Alkohol gelöst, 10 Min. unter Zusatz von Aktivkohle gekocht und die hellgelbe Lösung filtriert. Beim Einengen erhielten wir das Di-[2',6'-dioxo-1',2',3',6'-tetrahydropyrimidino-4',5':4,5-thiazolyl-(2)] (XV) als hellbraune Substanz. Der Zersetzungspunkt liegt oberhalb 300°.

2,480 mg Subst. gaben 0,546 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (19,5°, 749 mm)

C<sub>10</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>N<sub>6</sub>S<sub>2</sub> Ber. N 25,00 Gef. 25,32%

Die Analysen verdanken wir dem mikroanalytischen Laboratorium der CIBA-Aktiengesellschaft (Leitung Dr. H. Gysel).

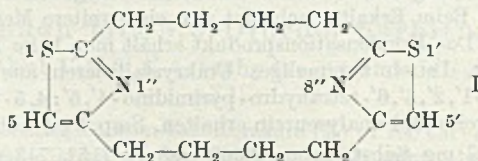
Universität Basel, Anstalt für anorganische Chemie.

## 77. Zur Kenntnis einer makrocyclischen Thiazolverbindung II

von H. Erlenmeyer und K. Degen.

(8. II. 47.)

In einer vorangegangenen Mitteilung<sup>1)</sup> berichteten wir über die Isolierung der ringförmigen Di-thiazolylverbindung I, Di-thiazolo-2,4—2',4':2'',14''—7'',9''—Δ<sup>1''</sup>,Δ<sup>7''</sup>-diaz-a-(1'',8'')-cyclo-tetradecadien, die als Nebenprodukt — neben linear-polymeren Kondensationsprodukten — bei der Kondensation von Adipinsäure-dithioamid mit 1,8-Dichlor-octandion-(2,7) gebildet wird. Im folgenden werden Versuche beschrieben, die in der Absicht unternommen wurden, durch geeignete Reaktionsbedingungen das Verhältnis der beiden möglichen Polymerisationsreaktionen — d. i. Bildung einer linearpolymeren Verbindung bzw. Bildung einer makrocyclischen Verbindung — zugunsten der Ringbildungsreaktion zu verschieben.



Wir führten in diesem Zusammenhang Kondensationen in sehr verdünnten Lösungen durch, wobei als Lösungsmittel Äther, Benzol und Eisessig zur Verwendung kamen. In den Versuchen wurde jeweils eine Komponente in starker Verdünnung vorgelegt und die zweite,

<sup>1)</sup> H. Erlenmeyer und K. Degen, Helv. 29, 1080 (1946).

fortlaufend verdünnte Komponente mit Hilfe einer geeigneten Apparatur zugeführt. Die ersten Versuche wurden mit Äther als Lösungsmittel durchgeführt.

Bei der Aufarbeitung eines solchen Versuchs erhielten wir jedoch ca. 95% des Ausgangsmaterials unverändert zurück. Es kann vermutet werden, dass infolge der niedrigen Temperatur des siedenden Äthers keine Kondensationsreaktion erfolgt ist.

In einem zweiten Versuch wurde Benzol als Lösungsmittel verwendet. Ein Liter heisses Benzol löst ca. 80 mg Adipinsäure-dithioamid, während im gleichen Volumen schon in der Kälte 0,5 g des 1,8-Dichlor-octan-dion-(2,7) löslich sind. Bei einem Kondensationsversuch ergab die Aufarbeitung der Reaktionsprodukte eine Ausbeute von 37% an Di-thiazolo-2,4—2', 4': 2'', 14''—7'', 9''—11'', 17''-diaza-(1'', 8'')-cyclo-tetradecadien(I), bezogen auf die umgesetzte Substanz. Unter den gewählten Versuchsbedingungen kamen jedoch nur 31% der eingesetzten Ausgangsmaterialien zum Umsatz.

Der Schmelzpunkt der isolierten Verbindung und der Mischschmelzpunkt mit dem früher<sup>1)</sup> gewonnenen Präparat liegt bei 184—185° (korr.). Die Verbindung bildet ein Hexachloroplatinat(IV), welches in rotgelben Krystallen der Formel  $C_{14}H_{18}N_2S_2 \cdot H_2[PtCl_6]$  erhalten wird. Die Verbindung zersetzt sich allmählich bei höherer Temperatur ohne bis 360° zu schmelzen.

Ein dritter Kondensationsversuch wurde in Eisessig durchgeführt, in dem das sonst sehr schwer lösliche Adipinsäure-dithioamid in der Wärme relativ gut löslich ist (0,1 g in 10 cm<sup>3</sup>).

Die Reaktion wurde mit je einem Millimol Thioamid und Chloro- keton durchgeführt. Nach der Aufarbeitung und Sublimation des Reaktionsproduktes im Hochvakuum erhielten wir 107 mg des Körpers I, was einer Ausbeute von 38,4%, bezogen auf die eingesetzten Ausgangsmaterialien, entspricht. Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit unserem früher<sup>1)</sup> dargestellten Präparat betragen 184—185° (korr.).

Das Tetracyanoplatinat(II),  $C_{14}H_{18}N_2S_2 \cdot H_2[Pt(CN)_4]$ , kristallisiert aus Wasser in langen Nadeln, welche sich von 300° an zersetzen, ohne zu schmelzen. Das in ätherischer Lösung dargestellte Pikrat  $C_{14}H_{18}N_2S_2 \cdot 2 C_6H_3O_7N_3$  schmilzt bei 215—217°.

Bei dem in unserer früheren Mitteilung beschriebenen Isolierungsverfahren betrug die Ausbeute an der Substanz I 5,7<sup>0</sup>/<sub>100</sub>. Demgegenüber ist es nach der neu beschriebenen Methode möglich, Di-thiazolo-2,4—2', 4': 2'', 14''—7'', 9''—11'', 17''-diaza-(1'', 8'')-cyclo-tetradecadien in präparativer Ausbeute zu gewinnen.

<sup>1)</sup> H. Erlenmeyer und K. Degen, l. c.

## Experimenteller Teil.

### 1. Versuch zur Ringkondensation in Äther als Lösungsmittel.

Der Versuch wurde in einem von *Ziegler*<sup>1)</sup> angegebenen Apparat durchgeführt, jedoch wurde die Quecksilber-Zutropfregulierung durch eine *Mariotte'sche* Flasche mit fein einstellbaren Hähnen zur Regulierung der Zutropfgeschwindigkeit ersetzt.

Zu 2,0 g Adipinsäure-di-thioamid<sup>2)</sup> in 3 Liter Äther wurde nach dem *Ziegler'schen* Verfahren im Laufe von 3 Tagen 2,1 g 1,8-Dichlor-octan-dion-(2,7)<sup>3)</sup>, in 1,5 Liter Äther gelöst, zugegeben. Das Ausgangsmaterial hatte sich nach dieser Zeit nicht umgesetzt. Es wurden 1,9 g Adipinsäure-di-thioamid und 2,0 g Chlorketon aus der Reaktionslösung isoliert, die nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol bzw. Äther durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit den Ausgangsmaterialien identifiziert werden konnten.

### 2. Synthese der ringförmigen Di-thiazolyl-Verbindung I in Benzol als Lösungsmittel.

Bei diesem und dem folgenden Versuch wurde die oben erwähnte *Ziegler'sche* Apparatur durch folgende einfachere Einrichtung ersetzt: Auf einen 1-Liter-Zweihals-Schliffkolben wird ein 30 cm<sup>3</sup> fassender *Soxhlet*-Apparat (ohne Extraktionshülse) aufgesetzt, welcher seinerseits einen Schliffkühler mit seitlichem Ansatz trägt. Mittels Schliff wird weiterhin in den Ansatz des Kühlers das Ende einer Bürette eingeführt. Diese ist zur Regulierung der Zutropfgeschwindigkeit mit Tropfenzähler und zwei fein einstellbaren Hähnen versehen. Die Dampfstrecke bis zum Kühler wird so isoliert, dass der Rückfluss bei einer Badtemperatur von 110—115° ca. 30 cm<sup>3</sup> in 3 Minuten beträgt und sich der *Soxhlet*-Apparat jeweils nach Ablauf dieser Zeit entleert.

In den zweiten Kolbenhals führt man ein Einleitungsrohr, durch welches trockener Stickstoff so eingeleitet wird, dass man die Blasen in der Siedehitze noch bequem zählen kann.

In den Kolben gibt man 52,9 mg (0,3 Millimol) Adipinsäure-di-thioamid und 600 cm<sup>3</sup> reinstes Benzol und erwärmt durch Eintauchen in ein Ölbad von 110—115°. Hierbei tritt völlige Lösung des Thioamids im Benzol ein. Ist ein konstanter Rückfluss erreicht, so tropft man aus der Bürette während 48 Stunden gleichmässig 200 cm<sup>3</sup> einer Lösung von 63,4 mg (0,3 Millimol) 1,8-Dichlor-octan-dion-(2,7) in reinstem Benzol in den *Soxhlet*-Apparat. Nach jeweils 3 Minuten sind also ca. 0,2 cm<sup>3</sup> dieser Lösung in den *Soxhlet*-Apparat gelangt und fließen, mit weiteren 30 cm<sup>3</sup> Benzol aus dem Rückfluss verdünnt, in den Reaktionskolben ab. Nach Beendigung des Zutropfens wird das Erhitzen noch während 4 Stunden unter weiterem Einleiten von Stickstoff fortgesetzt.

Nun engt man die Reaktionslösung auf ca. 200 cm<sup>3</sup> ein und lässt während 35 Stunden stehen. Es scheiden sich schwach gelb gefärbte Krystalle ab, welche durch Filtration isoliert werden. Die Wägung ergibt 30,2 mg, weitere 0,8 mg gewinnt man durch Nachspülen des Reaktionskolbens mit 50 cm<sup>3</sup> absolutem Benzol. Diese 31 mg Substanz wurden dreimal aus 1,5 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol umkrystallisiert. Die Krystalle schmelzen alsdann bei 180—181° (unkorr.) unter Zersetzung. Der Mischschmelzpunkt mit Adipinsäure-di-thioamid zeigte keine Erniedrigung.

Zur Prüfung der in der Lösung verbliebenen Substanz wird diese im Vakuum bei 30—40° zunächst auf 40—50 cm<sup>3</sup>, sodann auf 10 cm<sup>3</sup> eingengt und jeweils einige Zeit stehen gelassen, um eventuell ausfallendes Chlorketon abtrennen zu können. Da eine Krystallisation nicht eintrat, wurde weiter bis auf 4 cm<sup>3</sup> eingengt, worauf sich eine klebrige Masse abschied. Die Wägung ergab nach 48-stündigem Trocknen bei 12 mm über Silikagel 69,4 mg Substanz. Bei 450-facher Vergrößerung zeigten sich keine krystallinen Strukturen. Das Produkt wurde daher an Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode wie folgt chromatographiert.

<sup>1)</sup> *K. Ziegler*, A. 504, 94 (1933); 513, 43 (1934); vgl. auch *M. Stoll*, Helv. 17, 1283 (1934).

<sup>2)</sup> *H. Erlenmeyer* und *K. Degen*, l. c.

<sup>3)</sup> *J. Walker*, Soc. 1940, 1304.

Von den erhaltenen 69,4 mg Substanz lösen sich 62 mg in 15 cm<sup>3</sup> reinstem Benzol in der Wärme. Man filtriert vom ungelösten Polymeren ab und versetzt mit reinstem Petroläther (Sdp. 40—60°), bis die Lösung eben milchig wird. Dann bringt man die Lösung auf eine unter Petroläther bereitete Säule von 2,1 g Aluminiumoxyd (stand. nach *Brockmann*) und eluiert mit je 7 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel.

Fraktion	Eluiermittel	Rückstand
1	Petroläther	4 mg farbl. Krystalle
2—10	PÄ-Benzol 99:1/95:5/90:10	Spuren farbl. Krystalle
11—15	PÄ-Benzol 80:20/70:30/60:40	ca. 5 mg Krystalle
16—18	PÄ-Benzol 60:40/50:50	—
19—73	Benzol-Äther Chloroform-Methanol	In allen Fraktionen Spuren eines Öls, insgesamt 29 mg

Die öligen Rückstände der Fraktionen 19—73 konnten nach Anreiben mit Äther und Animpfen mit 1,8-Dichlor-octan-dion-(2,7) oder der Verbindung I auch nach mehrwöchigem Stehenlassen bei 0° nicht zur Krystallisation gebracht werden.

Die krystallisierten Rückstände der Fraktionen 1—15 zeigten unter sich bei 450-facher Vergrößerung den gleichen Krystallhabitus, auch beim Vergleichen mit Substanz I ist im gewöhnlichen oder polarisierten Licht kein Unterschied wahrzunehmen. Die Krystalle begannen bei 160° unter Zersetzung unscharf zu schmelzen. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus absolutem Petroläther erhielt man Krystalle (9,5 mg), die scharf bei 184—185° schmolzen. Der Mischschmelzpunkt mit Substanz I zeigte keine Erniedrigung. Beide Substanzen sublimieren kurz vor dem Schmelzen.

Von den 69,4 mg der zur Chromatographie eingesetzten Substanz erhielt man also: 7,0 mg linear Polymeres, 9,5 mg Substanz I, 29,0 mg wahrscheinlich zersetztes Chlorketon (ölige Fraktionen), zusammen 45,5 mg = 65% der eingesetzten Substanz. Zum Umsatz gelangte 31,0% des eingesetzten Di-thioamids; somit beträgt die Ausbeute an Substanz I 37%, bezogen auf die umgesetzten Ausgangsstoffe.

#### Hexachloroplatinat (IV).

5,5 mg Substanz I (0,02 Millimol) werden in 2 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und diese Lösung zu einer 0,15-proz. wässrigen, auf dem Wasserbad vorgewärmten Lösung von Platinchlorwasserstoffsäure gegeben. Eine auftretende Trübung wird durch nochmaliges Einstellen in das Wasserbad zum Verschwinden gebracht, dann wird langsam abgekühlt. Es fallen rotgelbe Krystalle aus, die zur Reinigung mit wenig Alkohol benetzt und aus 0,2-proz. Salzsäure umkrystallisiert werden. Zersetzung von 270° an ohne vorheriges Schmelzen.

Zur Analyse wurde 6 Stunden bei 80° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> im Hochvakuum getrocknet.

3,465 mg Subst. gaben 3,10 mg CO<sub>2</sub> und 1,10 mg H<sub>2</sub>O

$C_{14}H_{18}N_2S_2 \cdot H_2[PtCl_6]$  Ber. C 24,42 H 2,93%  
Gef. „ 24,42 „ 3,55%

#### 3. Synthese von Substanz I in Eisessig als Lösungsmittel.

Es wurde die gleiche Apparatur wie im letzten Versuch verwendet, jedoch die Dampfstrecke bis zum Kühler nicht nur isoliert, sondern mittels eines Heizdrahts geheizt. Die Badtemperatur betrug ca. 140°.



Einer siedenden Lösung von 176,3 mg Adipinsäure-di-thioamid (1 Millimol) in 500 cm<sup>3</sup> über CrO<sub>3</sub> destilliertem Eisessig wird über den *Soxhlet* während 110 Stunden aus der Bürette eine Lösung von 211,1 mg 1,8-Dichlor-octan-dion-(2,7) (1 Millimol) in 200 cm<sup>3</sup> Eisessig zugeführt. Anschliessend wird noch während 10 Stunden am Rückfluss gekocht.

Die resultierende gelb gefärbte Lösung wird sodann bei 12 mm auf ca. 15 cm<sup>3</sup> eingengt und über Nacht bei 0° aufbewahrt, wobei keine Krystallisation eintritt. Erst nach weiterem Einengen auf 3—4 cm<sup>3</sup> krystallisieren nach eintägigem Stehen lange gelbe Prismen aus; Zersetzungspunkt 184—185,5°. Von 175° an beobachtet man Sublimation. Aus der verbleibenden Lösung wird der Rest der Essigsäure sodann im Vakuum bei Zimmertemperatur abdestilliert und die erhaltene Mischung von krystalliner Substanz und schwarzem Öl der Vakuumsublimation bei 0,0001 mm und 90° unterworfen.

Die Sublimation wird fraktioniert durchgeführt, die einzelnen Fraktionen gewogen, mit warmem Petroläther ausgezogen und die erkalteten Auszüge filtriert. Man setzt die Sublimation so lange fort, bis sich aus den Sublimaten mit Petroläther nichts mehr ausziehen lässt. Die vereinigten filtrierten Petrolätherauszüge ergeben nach Abdestillieren des Petroläthers 121,9 mg Substanz.

Durch nochmalige Vakuumsublimation und Umkrystallisieren aus Petroläther-Benzol erhält man 107,0 mg krystallisierte Substanz, die die gleichen Eigenschaften zeigt wie die gereinigte Substanz aus Versuch 2. Die Ausbeute an Substanz I entspricht demnach 38,4%, bezogen auf das eingesetzte Material. Die Substanz krystallisiert in gut ausgebildeten Rhomben.

Die in Petroläther unlöslichen Rückstände, 12 mg, sind in Wasser löslich, sie wurden nicht weiter untersucht, ebensowenig wie der schwarze, harzige Sublimationsrückstand (102 mg).

#### Tetracyanoplatinat (II).

Zu einer Lösung von 50 mg Kaliumtetracyanoplatinat(II) in 6 cm<sup>3</sup> Wasser, das 0,25 cm<sup>3</sup> 2-n. Salzsäure enthält, fügt man die Lösung von 29 mg der Verbindung I in 0,75 cm<sup>3</sup> Aceton und erhitzt auf dem Wasserbad. Dabei beginnt sich ein schwer lösliches Salz in langen Nadeln abzuscheiden. Man setzt das Erhitzen so lange fort, bis die überstehende Lösung nicht mehr trübe ist. Beim Umkrystallisieren aus Wasser erhält man farblose Nadeln, welche sich von 300° an zersetzen.

Zur Analyse wurde 6 Stunden bei 80° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> im Hochvakuum getrocknet.

4,329 mg Subst. gaben 5,93 mg CO<sub>2</sub> und 1,24 mg H<sub>2</sub>O, Rückstand 1,460 mg

2,64 mg Subst. gaben 0,347 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (25°, 741 mm)

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>[Pt(CN)<sub>4</sub>] Ber. C 37,29 H 3,48 N 14,50 Pt 33,67%

Gef. „ 37,39 „ 3,21 „ 14,68 „ 33,7%

#### Pikrat.

Das Pikrat wird durch Eintropfen einer Lösung von 11 mg der Verbindung I in 1 cm<sup>3</sup> Äther in 1 cm<sup>3</sup> einer 2-proz. ätherischen Pikrinsäurelösung erhalten und aus 15 cm<sup>3</sup> Methanol umkrystallisiert. Schmelzpunkt der gelben Nadeln 215—217°.

4,080 mg Subst. gaben 6,33 mg CO<sub>2</sub> und 1,21 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>·2 C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub> Ber. C 42,39 H 3,28%

Gef. „ 42,34 „ 3,32%

Die Analysen verdanken wir dem mikroanalytischen Laboratorium der CIBA Aktiengesellschaft (Leitung Dr. H. Gysel).

Universität Basel, Anstalt für anorganische Chemie.

## 78. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

43. Mitteilung<sup>1)</sup>.Derivate und Umwandlungsprodukte der Ätio-cholsäure<sup>2)</sup>

von A. Lardon.

(9. II. 47.)

Als Ausgangsmaterial für die Teilsynthese von Nebennierenrinden-Steroiden mit Sauerstoff in 11-Stellung (Dehydro-corticosteron<sup>3)</sup> und Corticosteron<sup>4)</sup>) diente bisher ausschliesslich Desoxycholsäure. Da aber die Rindergalle etwa achtmal soviel Cholsäure wie Desoxycholsäure enthält, wurde in dieser Arbeit versucht, erstere für Synthesen nutzbar zu machen. Zwar gelang es in letzter Zeit, Cholsäure mit guter Ausbeute in Desoxycholsäure überzuführen<sup>5-9)</sup>, doch wäre es noch verlockender, aus Cholsäure Derivate mit einer Oxygruppe in 6-Stellung zu bereiten, da sich diese leicht in  $\Delta^5$ -ungesättigte Verbindungen überführen lassen<sup>10)11)h)12)</sup>, die ihrerseits als Ausgangs- oder Zwischenprodukte für die Bereitung biologisch wirksamer Stoffe besondere Vorteile besitzen. Im folgenden wird über eine ausgedehnte Untersuchung der Ätio-cholsäure (IX) berichtet. Diese Säure bietet mit ihren drei Hydroxylgruppen sehr zahlreiche Möglichkeiten für Umformungen aller Art. Es wird gezeigt, wie sich diese HO-Gruppen einzeln oder in allen möglichen Kombinationen verestern, zu Ketogruppen oxydieren oder sich ganz eliminieren lassen. Ferner gelang es auf einem Umweg durch Verschiebung der 7-ständigen HO-Gruppe in die 6-Stellung aus Ätio-cholsäure (IX) eine  $3\alpha,6,12\alpha$ -Trioxy-ätio-cholansäure (entsprechend XXIII) und daraus die kürzlich beschriebene  $3\beta,12\alpha$ -Dioxy-ätio-cholen-(5)-säure (entsprechend XXX)<sup>h)</sup> zu bereiten.

Der stufenweise Abbau von Cholsäure zu  $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -Trioxypregnan-on-(20) ist von *Morsmann* und Mitarb.<sup>13)</sup> bereits früher durch-

<sup>1)</sup> 42. Mitteilung vgl. *R. Jeanloz, D. A. Prins, J. von Euw*, *Helv.* **30**, 374 (1947).

<sup>2)</sup> Formulierung der räumlichen Lage der Substituenten an den Ringen C und D nach *M. Sorkin, T. Reichstein*, *Helv.* **29**, 1918 (1946).

<sup>3)</sup> *A. Lardon, T. Reichstein*, *Helv.* **26**, 747 (1943).

<sup>4)</sup> *J. von Euw, A. Lardon, T. Reichstein*, *Helv.* **27**, 1287 (1944).

<sup>5)</sup> *G. A. D. Haslewood*, *Nature* **150**, 211 (1942).

<sup>6)</sup> *T. F. Gallagher, W. P. Long*, *J. Biol. Chem.* **147**, 131 (1943).

<sup>7)</sup> *A. W. Schneider, W. M. Hoehn*, *Am. Soc.* **65**, 485 (1943).

<sup>8)</sup> *G. A. D. Haslewood*, *Biochem. J.* **37**, 109 (1943); **38**, 108 (1944).

<sup>9)</sup> *W. M. Hoehn, J. Linsk*, *Am. Soc.* **67**, 312 (1945).

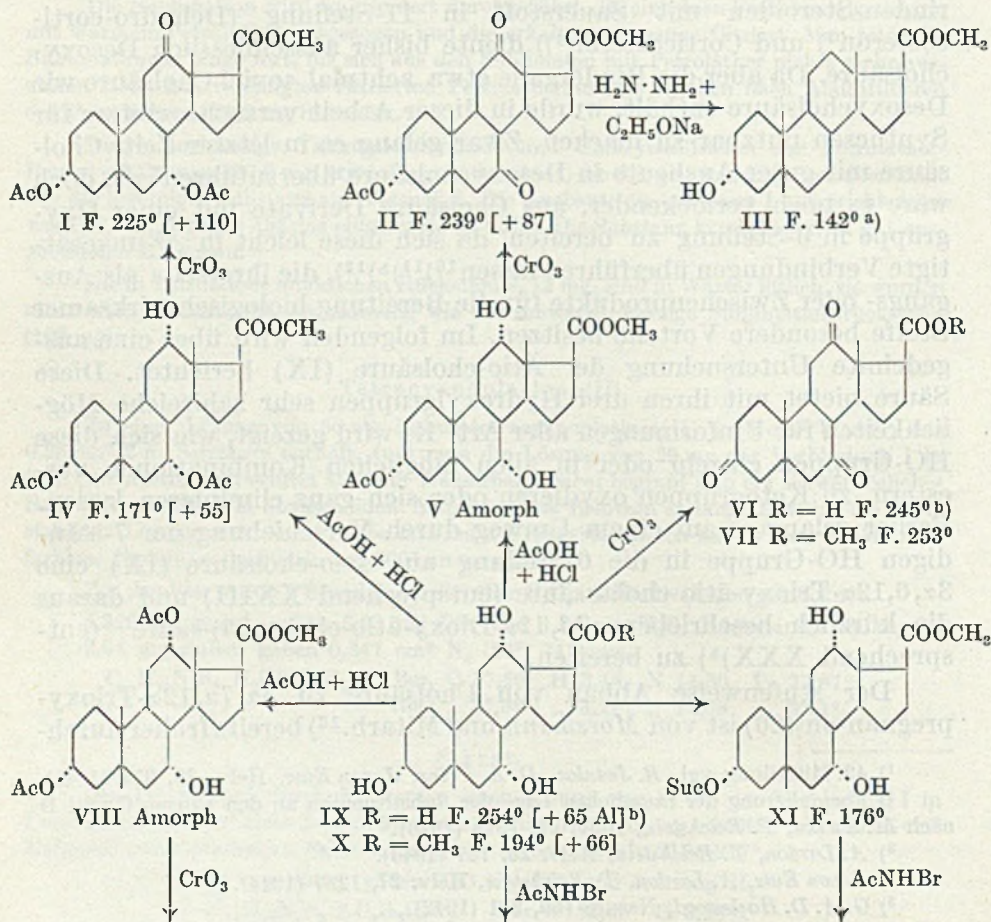
<sup>10)</sup> *H. Reich, A. Lardon*, *Helv.* **29**, 671 (1946).

<sup>11)</sup> *J. von Euw, T. Reichstein*, *Helv.* **29**, 1913 (1946).

<sup>12)</sup> Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe S. 600.

<sup>13)</sup> *H. Morsmann, M. Steiger, T. Reichstein*, *Helv.* **20**, 3 (1937).

geführt worden. Unter etwas anderen Versuchsbedingungen erhielten *Ehrenstein* und *Stevens*<sup>b)</sup> neben dem Pregnanderivat auch wenig Ätio-cholsäure (IX). Nach einer neuen, von *Meystre* und *Miescher*<sup>1)</sup> ausgearbeiteten Methode lässt sich das Pregnanderivat in einer Ausbeute von etwa 30% gewinnen. Für die präparative Bereitung der Ätio-cholsäure (IX) aus diesem Keton wurde die von *Hoehn* und *Mason*<sup>2)</sup> beim Abbau des 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-pregnan-ons-(20) ausgearbeitete Methode in der Variante von *Marker* und *Wittle*<sup>3)</sup> benützt. Das 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Trioxy-pregnan-on-(20) oder sein 7-Monoacetat (I)<sup>b)</sup><sup>4)</sup><sup>5)</sup> wurde mit Benzaldehyd kondensiert, das amorphe



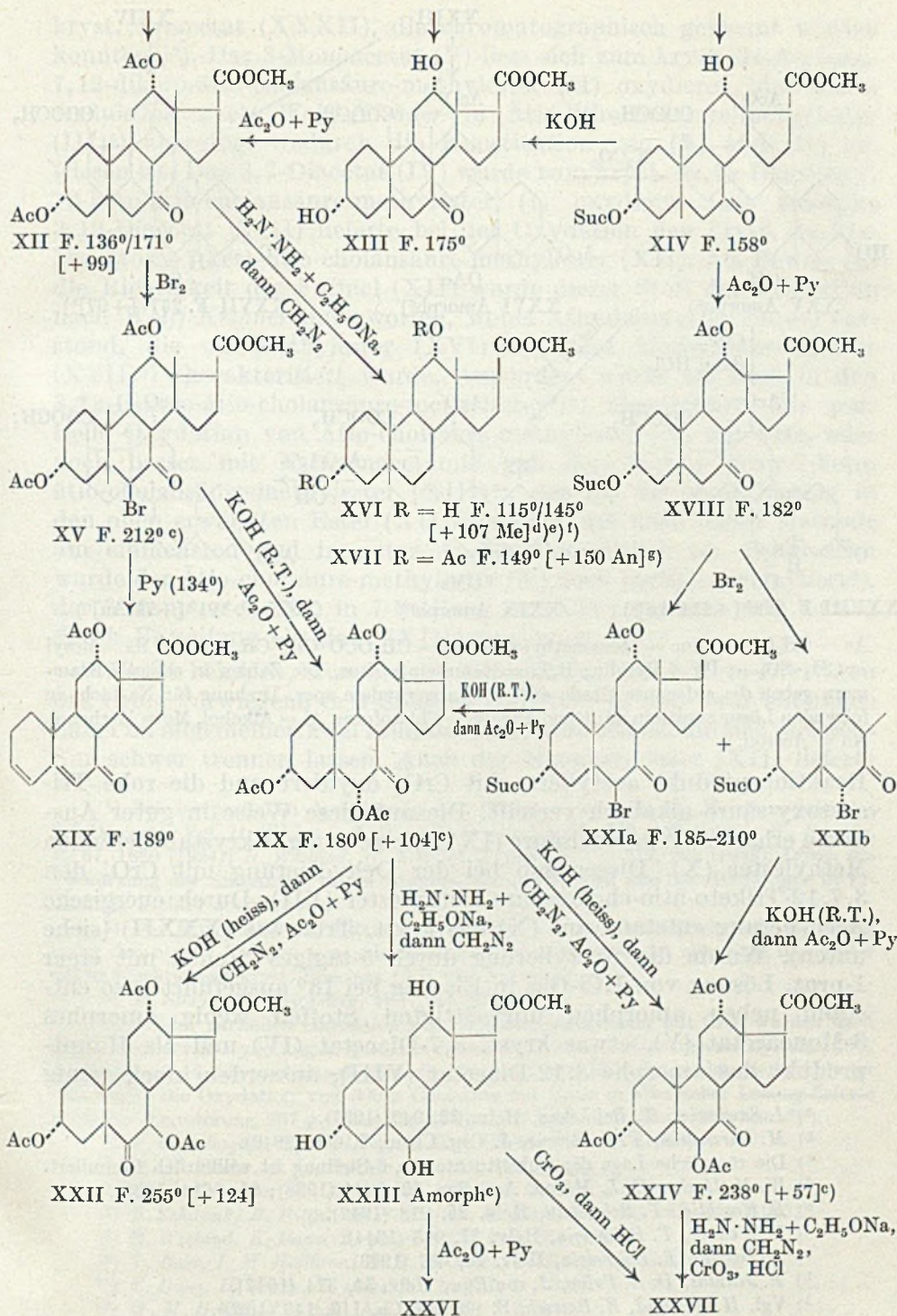
1) *Ch. Meystre, K. Miescher, Helv.* **28**, 1497 (1945); vgl. auch *Helv.* **29**, 627 (1946).

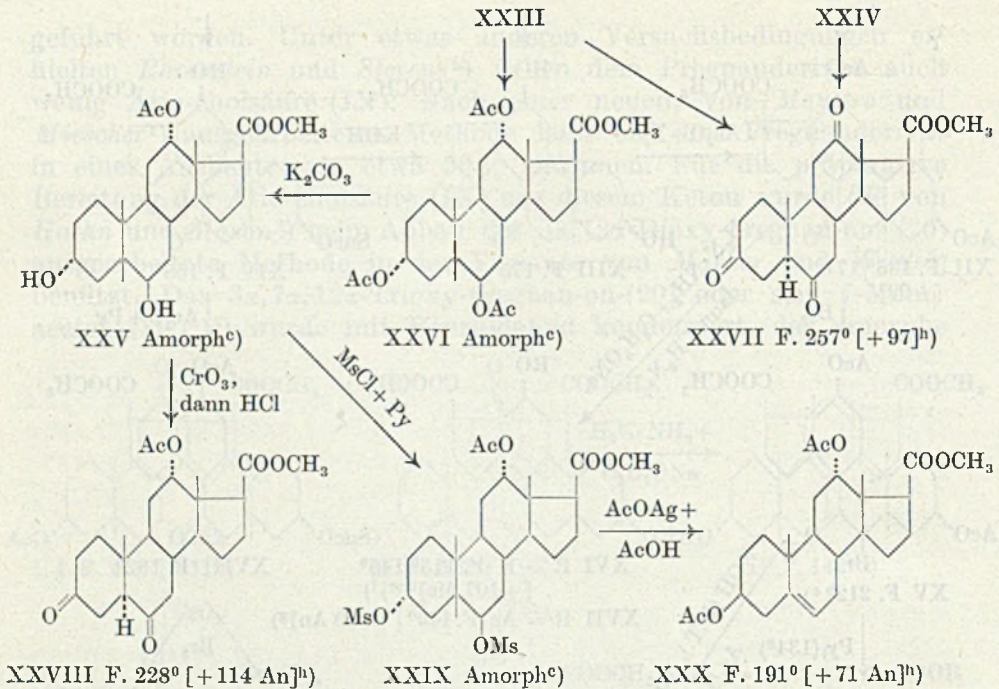
2) *W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc.* **60**, 1493 (1938).

3) *R. E. Marker, E. L. Wittle, Am. Soc.* **61**, 1329 (1939).

4) *Ch. Meystre, K. Miescher, l. c.*

5) Diesem Monoacetat wurde die Konstitution eines 12-Monoacetats zugeschrieben. Nach den Ergebnissen der partiellen Verseifung des Triacetats (XXXII) ist jedoch zu vermuten, dass ein 7-Monoacetat vorliegt.





Ac =  $CH_3CO-$ ; Suc = Monomethyl-succinyl =  $CH_3OCO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO-$ ; Ms = Mesyl =  $CH_3 \cdot SO_2-$ ; Py = Pyridin; R.T. = Raumtemperatur. 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, Al = Alkohol, Me = Methanol, An = Aceton.

Reaktionsprodukt acetyliert, mit  $CrO_3$  oxydiert und die rohe Triacetoxy-säure alkalisch verseift. Die auf diese Weise in guter Ausbeute erhaltene Ätio-cholsäure (IX) lieferte den gut krystallisierenden Methylester (X). Dieser gab bei der Dehydrierung mit  $CrO_3$  den 3,7,12-Triketo-ätio-cholansäure-methylester (VII). Durch energische Acetylierung entstand aus (X) das kryst. Triacetat (XXXII) (siehe unten). Wurde die Acetylierung durch 5-tägiges Stehen mit einer 1-proz. Lösung von HCl-Gas in Eisessig bei 18° ausgeführt<sup>1)</sup>, so entstand neben amorphen ungesättigten Stoffen wenig amorphes 3-Monoacetat (V), etwas kryst. 3,7-Diacetat (IV) und als Hauptprodukt das amorphe 3,12-Diacetat (VIII), ausserdem noch wenig

<sup>a)</sup> J. Sawlewicz, T. Reichstein, Helv. 20, 949 (1937).

<sup>b)</sup> M. Ehrenstein, T. O. Stevens, J. Org. Chem. 5, 660 (1940).

<sup>c)</sup> Die räumliche Lage der Substituenten in 6-Stellung ist willkürlich formuliert.

<sup>d)</sup> W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. 60, 2824 (1938); 61, 1614 (1939).

<sup>e)</sup> B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942).

<sup>f)</sup> V. Wenner, T. Reichstein, Helv. 27, 965 (1944).

<sup>g)</sup> A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 26, 607 (1943).

<sup>h)</sup> R. Jeanloz, D. A. Prins, J. von Euw, Helv. 30, 374 (1947).

<sup>1)</sup> Vgl. H. Wieland, E. Boersch, Z. physiol. Ch. 110, 143 (1920).

kryst. Triacetat (XXXII), die chromatographisch getrennt werden konnten<sup>1)2)</sup>. Das 3-Monoacetat (V) liess sich zum kryst. 3 $\alpha$ -Acetoxy-7,12-diketo-ätio-cholansäure-methylester (II) oxydieren, der durch Reduktion nach *Wolff-Kishner* in Ätio-lithocholsäure-methylester (III)<sup>3)</sup> überging, wodurch die Konstitution von (V) und (II) bewiesen ist. Das 3,7-Diacetat (IV) wurde zum kryst. 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -Diacetoxy-12-keto-ätio-cholansäure-methylester (I) oxydiert. Das amorphe 3,12-Diacetat (VIII) lieferte bei der Oxydation den kryst. 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Diacetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XII). Als Beweis für die Richtigkeit der Formel (XII) wurde dieser Stoff der Reduktion nach *Wolff-Kishner* unterworfen, wobei Ätio-desoxycholsäure<sup>4)</sup> entstand, die als Methylester (XVI)<sup>4)e)</sup> und Methylester-diacetat (XVII)<sup>5)</sup> charakterisiert wurde. Ausserdem wurde sie noch in den 3,12-Diketo-ätio-cholansäure-methylester<sup>3)4)</sup> übergeführt. Die partielle Oxydation von Ätio-cholsäure-methylester (X) mit CrO<sub>3</sub> oder noch besser mit N-Bromacetamid gab den 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XIII)<sup>4)</sup>, der bei der Acetylierung in den oben erwähnten Ester (XII) überging, der nach dieser Methode am einfachsten und in guter Ausbeute erhältlich ist. Schliesslich wurde der Ätio-cholsäure-methylester (X) noch partiell succinyliert<sup>8)</sup>, der 3-Mono-ester (XI) in 7-Stellung zu (XIV) oxydiert und daraus durch Verseifung ebenfalls (XIII) gewonnen.

Es ist bekannt, dass bei der Bromierung von 7-Keto-Derivaten das Brom vorwiegend in 6-Stellung eintritt<sup>9-12)</sup>, und zwar entstehen dabei im allgemeinen zwei raumisomere Bromketone, die sich meistens nur schwer trennen lassen. Auch der Monoketo-ester (XII) lieferte

<sup>1)</sup> Bei der partiellen Acetylierung von Cholsäure entsteht als Hauptprodukt das 3,7-Diacetat. Vgl. *H. Wieland, E. Boersch, Z. physiol. Ch.* **110**, 143 (1920); *W. Borsche, B.* **57**, 1620 (1924); *H. Wieland, W. Kapitel, Z. physiol. Ch.* **212**, 269 (1932). Durch die Verkürzung der Seitenkette in der Ätio-cholsäure (IX) wird also die HO-Gruppe in 12-Stellung leichter acetylierbar.

<sup>2)</sup> Das Monoacetat (V) entsteht in besserer Ausbeute bei nur eintägigem Stehen unter den obigen Bedingungen. Als Monosubstitutionsprodukt ist allerdings das weiter unten beschriebene kryst. Succinat (XI) viel bequemer.

<sup>3)</sup> *M. Steiger, T. Reichstein, Helv.* **21**, 828 (1938).

<sup>4)</sup> Bei der partiellen Oxydation von Cholsäure-methylester mit CrO<sub>3</sub> wurden nach anschliessender Acetylierung 40% 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Diacetoxy-7-keto-cholansäure-methylester, 40% 3 $\alpha$ -Acetoxy-7,12-diketo-cholansäure-methylester und 20% Dehydro-cholsäure-methylester erhalten<sup>5)</sup>. Die Oxydation von 500 g Cholsäure mit Brom in alkalischer Lösung lieferte nach der Veresterung 287 g rohen 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-7-keto-cholansäure-äthylester<sup>6)7)</sup>.

<sup>5)</sup> *T. F. Gallagher, W. P. Long, J. Biol. Chem.* **147**, 131 (1943).

<sup>6)</sup> *W. M. Hoehn, J. Linsk, Am. Soc.* **67**, 312 (1945).

<sup>7)</sup> *A. W. Schneider, W. M. Hoehn, Am. Soc.* **65**, 485 (1943).

<sup>8)</sup> *E. Schwenk, B. Riegel, R. B. Moffett, E. Stahl, Am. Soc.* **65**, 549 (1943).

<sup>9)</sup> *H. Wieland, E. Dane, Z. physiol. Ch.* **210**, 268 (1932).

<sup>10)</sup> *T. Barr, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones, F. S. Spring, Soc.* **1938**, 334.

<sup>11)</sup> *E. Dane, H. Wulle, Z. physiol. Ch.* **267**, 1 (1941).

<sup>12)</sup> *W. M. Hoehn, J. Linsk, Am. Soc.* **67**, 312 (1945).

bei der Bromierung in Eisessig (unter Zusatz von wenig HBr) ein kryst. Bromketon (XV), das vielleicht ebenfalls ein Isomeren-Gemisch darstellte. Das entsprechende 6-Brom-7-keto-cholestanol-acetat liefert nach *Barr* und Mitarb.<sup>1)</sup> beim Kochen mit Pyridin oder Pyridin + AgNO<sub>3</sub> 7-Keto-cholesterin neben 7-Keto-cholestadien-(3,5). *Dane* und *Wulle*<sup>2)</sup> fanden dagegen, dass 6-Brom-7-keto-cholansäure beim Kochen mit Pyridin unverändert bleibt, jedoch bei der Einwirkung von Pyridin + AgNO<sub>3</sub> in guter Ausbeute 7-Keto-cholen-(5)-säure liefert. Beim 6-Brom-3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -diacetoxy-7-keto-cholansäure-methylester gelang die HBr-Abspaltung bisher nicht<sup>3)</sup>, ebensowenig bei einem Bromketon aus 3 $\alpha$ -Acetoxy-7,12-diketo-cholansäure-methylester<sup>4)</sup>. Das aus (XII) erhaltene Bromketon (XV) gab sowohl beim Kochen mit Pyridin + AgNO<sub>3</sub> als auch beim Erhitzen mit Pyridin allein auf 134° nur 7-Keto-12 $\alpha$ -acetoxy-ätio-choladien-(3,5)-säure-methylester (XIX), dessen U.V.-Absorptionsspektrum ein Maximum bei 278 m $\mu$  (log  $\epsilon$  = 4,43) aufwies. Aus diesem Grunde wurde das Bromketon (XV) alkalisch verseift und die entstandene Säure methyliert und acetyliert. Führt man die Verseifung durch Kochen mit methylalkoholischer Kalilauge aus<sup>1)2)</sup>, so gelangt man zu einem Gemisch von zwei isomeren Triacetoxy-monoketo-estern, von denen der eine sicher den zu erwartenden Ester (XX) darstellt, während der andere ein Umlagerungsprodukt (XXII) sein dürfte. Nimmt man dagegen die Verseifung des Bromketons (XV) mit methylalkoholischer Kalilauge in der Kälte vor, wie sie von *Gallagher* und *Long*<sup>5)</sup> und *Gallagher* und *Hollander*<sup>6)</sup> bei 11-Brom-12-keto-Verbindungen durchgeführt wurde, so wird in guter Ausbeute fast nur (XX) erhalten, woraus zu schliessen ist, dass das verwendete Bromketon (XV) doch ziemlich einheitlich gewesen sein muss. Kocht man (XX) energisch mit 6-proz. methylalkoholischer Kalilauge, so entsteht das schon oben erwähnte Umlagerungsprodukt (XXII) neben einem weiteren Triacetoxy-monoketo-ester, dem die Formel (XXIV) zukommen dürfte<sup>7)</sup>. In Analogie zur Umwandlung von 11-Oxy-12-keto-Verbindungen in 11-Keto-12-oxy-Verbindungen bei der Einwirkung von Alkali<sup>8)</sup> wurde (XXII) als 6-Keto-Verbindung formuliert, doch konnte die Konstitution dieses Stoffes bisher nicht eindeutig bewiesen werden. Dagegen ergibt sich die Konstitution von (XX) und (XXIV) durch die folgenden Abbaureaktionen. Reduziert man (XX)

1) *T. Barr, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones, F. S. Spring, Soc. 1938, 334.*

2) *E. Dane, H. Wulle, Z. physiol. Ch. 267, 1 (1941).*

3) *W. M. Hoehn, J. Linsk, Am. Soc. 67, 312 (1945).*

4) *R. Grand, T. Reichstein, Helv. 28, 344 (1945).*

5) *T. F. Gallagher, W. P. Long, J. Biol. Chem. 162, 521 (1946).*

6) *T. F. Gallagher, V. P. Hollander, J. Biol. Chem. 162, 533 (1946).*

7) Die Zuordnung der Formeln (XX) und (XXIV) in bezug auf die Isomerie in 6-Stellung ist willkürlich.

8) *T. F. Gallagher, J. Biol. Chem. 162, 539 (1946).*

nach *Wolff-Kishner* und methyliert das Reaktionsprodukt, so entsteht ein Gemisch von Stoffen, in dem zu einem beträchtlichen Teil ein 3 $\alpha$ , 6, 12 $\alpha$ -Trioxy-ätio-*cholansäure-methylester* (XXIII) enthalten sein muss, denn nach Oxydation mit CrO<sub>3</sub> und Erhitzen mit Säure zur Umlagerung an C-5<sup>1)</sup> entstand etwas 3, 6, 12-Triketo-ätio-*allocholansäure-methylester* (XXVII), der sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe mit einem auf anderem Wege bereiteten Vergleichspräparat<sup>h)</sup> als identisch erwies. Durch chromatographische Trennung wurden daneben noch andere Substanzen isoliert, die aber nicht identifiziert werden konnten. Ebenso lieferte (XXIV) bei der Reduktion nach *Wolff-Kishner* nach anschliessender Methylierung, Oxydation und Umlagerung den 3, 6, 12-Triketo-ester (XXVII), woraus hervorgeht, dass sich (XX) und (XXIV) wahrscheinlich nur durch die räumliche Anordnung der Acetoxy-Gruppe in 6-Stellung unterscheiden. Wurde das nach der Reduktion von (XX) erhaltene Rohprodukt (XXIII) acetyliert, so entstand ein Gemisch, aus dem sich auch nach Chromatographie das Triacetat (XXVI) nicht in krystallisierter Form isolieren liess. Dagegen enthielten die ersten Fraktionen einen ungesättigten Stoff (Tetranitromethanprobe positiv), von dem wenigstens festgestellt werden konnte, dass er die Doppelbindung nicht in 5, 6-Stellung enthält. Zu diesem Zwecke wurden die öligen, ungesättigten Fraktionen partiell verseift (in 3-Stellung!) und nach Schutz der Doppelbindung oxydiert. Aus dem Reaktionsprodukt konnte jedoch kein 3-Keto-12 $\alpha$ -acetoxy-ätio-*cholen-(4)-säure-methylester* gewonnen werden. Demnach könnte sich die Doppelbindung vielleicht in 6, 7- oder in 7, 8-Stellung befinden haben<sup>3)</sup>. Die öligen gesättigten Anteile, also das rohe Triacetat (XXVI), wurden ebenfalls mit Pottasche und Kaliumhydrogencarbonat partiell verseift. Es zeigte sich dabei, dass die 3- und die 6-ständige Acetylgruppe ungefähr mit gleicher Leichtigkeit abgespalten werden. Das rohe Verseifungsprodukt (XXV) krystallisierte bisher nicht und wurde daher mit CrO<sub>3</sub> oxydiert und das Dehydrierungsprodukt mit HCl in Eisessig umgelagert. Dabei entstand der gut krystallisierte 3, 6-Diketo-12 $\alpha$ -acetoxy-ätio-*allocholansäure-methylester* (XXVIII), der sich mit einem auf anderem Wege bereiteten Präparat<sup>h)</sup> als identisch erwies, wodurch die Konstitution

1) *A. Windaus, A. 447, 233* (1926).

2) *V. Prelog, E. Tagmann, Helv. 27, 1880* (1944).

3) Bei der Reduktion von 11-Oxy-12-keto- und 11-Keto-12-oxy-Verbindungen nach *Wolff-Kishner* entstehen ebenfalls ungesättigte Nebenprodukte mit einer Doppelbindung in 11, 12-Stellung<sup>4-8)</sup>.

4) *T. F. Gallagher, W. P. Long, J. Biol. Chem. 162, 521* (1946).

5) *T. F. Gallagher, V. P. Hollander, J. Biol. Chem. 162, 533* (1946).

6) *T. F. Gallagher, J. Biol. Chem. 162, 539* (1946).

7) *O. Wintersteiner, M. Moore, K. Reinhardt, J. Biol. Chem. 162, 707* (1946).

8) *E. Berner, T. Reichstein, Helv. 29, 1374* (1946).



des Monoacetats (XXV) gesichert ist<sup>1)</sup>. Schliesslich wurde noch dieses Monoacetat mit Mesylchlorid und Pyridin in das Dimesylat (XXIX) übergeführt und dieses mit Silberacetat in Eisessig gekocht, wobei der  $3\beta,12\alpha$ -Diacetoxy-ätio-cholen-(5)-säure-methylester (XXX) entstand, der wiederum mit einem auf anderem Wege bereiteten Präparat<sup>h)</sup> identisch war. Interessant ist, dass bei dieser Reaktion Umkehrung der Konfiguration an C-3 eintritt, während derselbe Ester (XXX) aus dem  $3\beta,6\beta$ -Dimesyloxy- $12\alpha$ -acetoxy-ätio-allocholansäure-methylester<sup>h)</sup> unter denselben Bedingungen ohne Umkehrung in 3-Stellung entsteht. Isomerisierungen wurden aber öfters beim Erhitzen von 3-Tosyloxy-Derivaten mit Natriumacetat in Eisessig beobachtet<sup>2)3)4)</sup>.

Zur Herstellung der beiden Triacetoxy-monoketo-ester (XX) und (XXIV) erwies sich noch ein anderer Weg als gangbar. Der oben beschriebene Monobernsteinsäure-dimethylester (XIV) wurde zu (XVIII) acetyliert und dieses bromiert. Das Reaktionsprodukt, das wahrscheinlich aus den beiden Bromketonen (XXIa) und (XXIb) bestand, lieferte nach kalter alkalischer Verseifung, Methylierung und Acetylierung die beiden Ester (XX) und (XXIV).

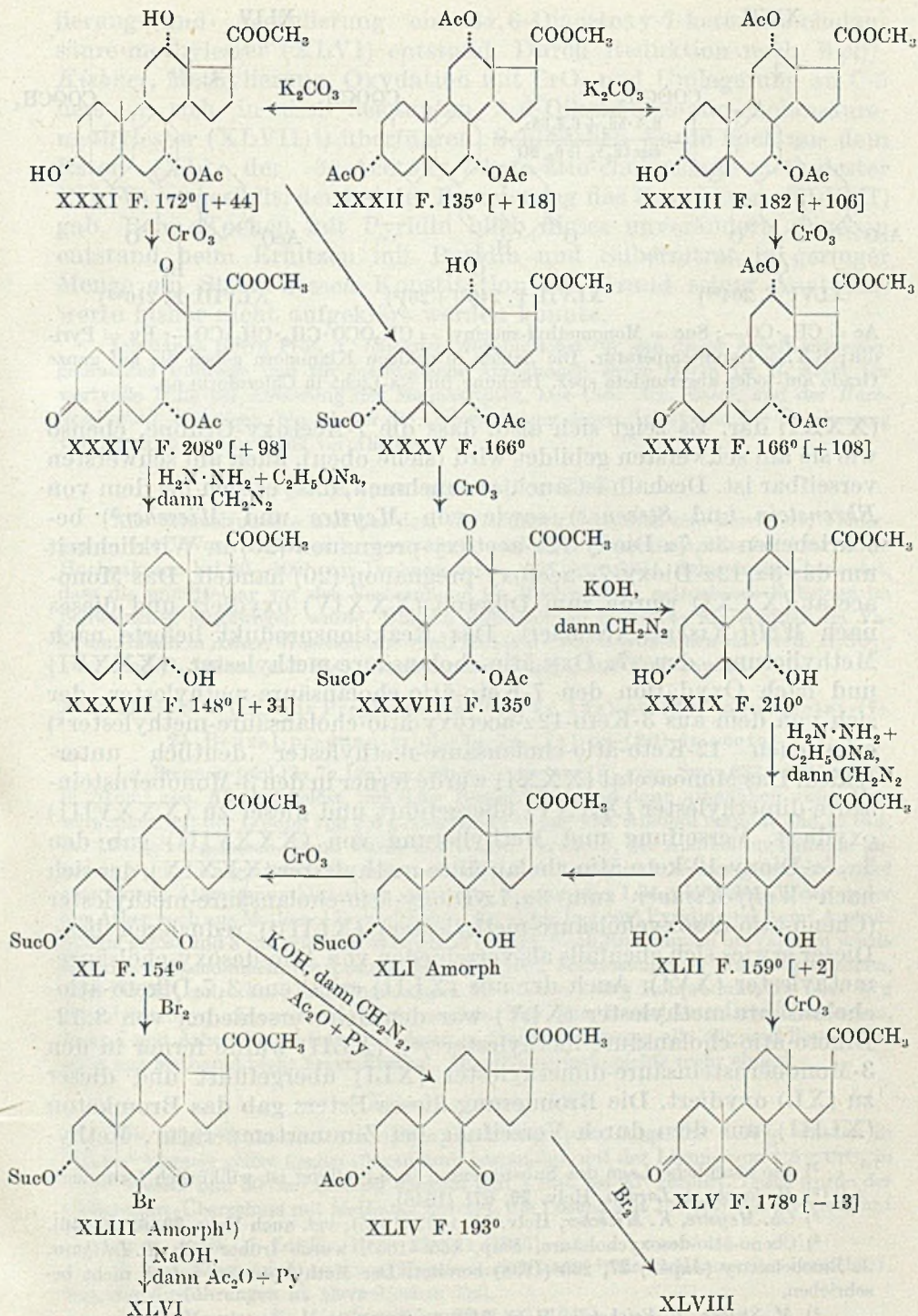
Für eine weitere Reihe von Abbauprodukten diente das oben beschriebene Ätio-cholsäure-methylester-triacetat (XXXII) als Ausgangsmaterial. Bei der partiellen Verseifung mit Pottasche entstand aus diesem Stoff je nach den angewandten Bedingungen entweder nur ein Diacetat oder ein Gemisch dieses Diacetats mit einem Monoacetat. Das Diacetat, bei dem es sich zweifellos um das 7,12-Diacetat (XXXIII) handelt, wurde zu 3-Keto-7 $\alpha,12\alpha$ -diacetoxy-ätio-cholansäure-methylester (XXXVI) oxydiert. Wie aus den folgenden Reaktionen hervorgeht, stellt das Monoacetat sicher das 7-Monoacetat

<sup>1)</sup> Hydesoxycholsäure wird von *W. M. Hoehn, J. Linsk, R. B. Moffett*, *Am. Soc.* **68**, 1855 (1946) als  $3\alpha,6\beta$ -Dioxy-cholansäure formuliert. Sie fanden, dass sich ihr Methylesterdiacetat (*A. Windaus, A.* **447**, 233 (1926)) mit wenig Alkali in 3-Stellung partiell verseifen lässt. Der Unterschied in der Verseifungsgeschwindigkeit der zwei Acetoxygruppen ist jedoch nach *T. F. Gallagher* und *J. R. Xenos, J. Biol. Chem.* **165**, 365 (1946) sehr klein. Die isomere  $3\alpha,6\alpha$ -Dioxy-cholansäure ist bereits von *M. Takamoto, J. Biochemistry (Japan)* **32**, 451 (1940) bereitet worden, der sie aber als  $3\alpha,6\beta$ -Dioxy-cholansäure bezeichnet. Das durch Abbau von Hydesoxycholsäure erhältliche 3,6-Dioxy-pregnanon (*T. Kimura, G. Sugiyama, J. Biochemistry (Japan)* **29**, 409 (1939); *R. E. Marker, J. Krueger, Am. Soc.* **62**, 81 (1940); *R. E. Marker, U.S. Patents* 2 337 563, 2 337 564 und 2 366 204), dessen Diacetat sich nach *Marker* ebenfalls in 3-Stellung partiell verseifen lassen soll, wird daher von *Hoehn* und Mitarb. (l. c.), sowie von *R. B. Moffett, J. E. Stafford, J. Linsk, W. M. Hoehn, Am. Soc.* **68**, 1857 (1946) als  $3\alpha,6\beta$ -Dioxy-pregnanon-(20) bezeichnet. Die letzteren Autoren geben eine verbesserte Vorschrift zu seiner Bereitung, fanden aber, dass aus dem Diacetat, für das sie einen erheblich höheren Schmelzpunkt als den von *Marker* und *Krueger* (l. c.) angegebenen ermittelten, bei der alkalischen Verseifung beide Acetylgruppen ungefähr gleich schnell abgespalten werden.

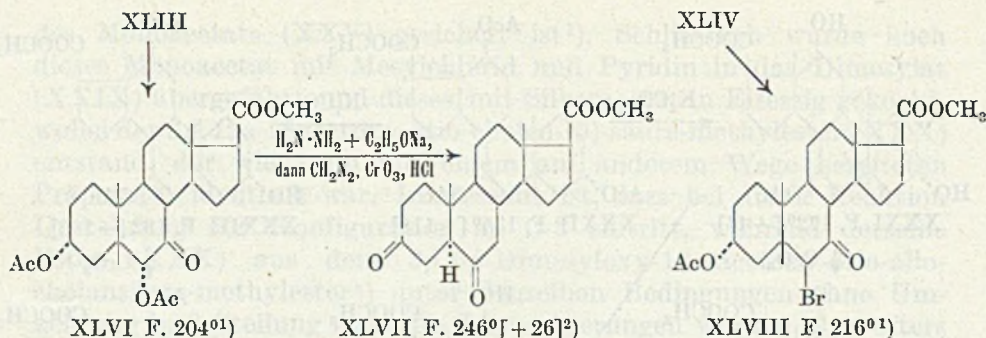
<sup>2)</sup> *Pl. A. Plattner, A. Fürst, Helv.* **26**, 2266 (1943).

<sup>3)</sup> *V. Prelog, S. Szpilfogel, Helv.* **27**, 390 (1944).

<sup>4)</sup> *Pl. A. Plattner, W. Lang, Helv.* **27**, 1872 (1944).



<sup>1)</sup> Die räumliche Lage des Substituenten in 6-Stellung ist willkürlich formuliert.



Ac =  $\text{CH}_3 \cdot \text{CO}-$ ; Suc = Monomethyl-succinyl =  $\text{CH}_3\text{OCO} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}-$ ; Py = Pyridin; R.T. = Raumtemperatur. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in Chloroform an.

(XXXI) dar. Es zeigt sich also, dass die 7-Acetoxy-Gruppe, ebenso wie sie am schwersten gebildet wird (siehe oben), auch am schwersten verseifbar ist. Deshalb ist auch anzunehmen, dass es sich bei dem von *Ehrenstein* und *Stevens*<sup>b)</sup> sowie von *Meystre* und *Miescher*<sup>3)</sup> beschriebenen 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -Dioxy-12 $\alpha$ -acetoxy-pregnanon-(20) in Wirklichkeit um das 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-7 $\alpha$ -acetoxy-pregnanon-(20) handelt. Das Monoacetat (XXXI) wurde zum Diketon (XXXIV) oxydiert und dieses nach *Wolff-Kishner* reduziert. Das Reaktionsprodukt lieferte nach Methylierung den 7 $\alpha$ -Oxy-ätio-cholansäure-methylester (XXXVI) und nach Oxydation den 7-Keto-ätio-cholansäure-methylester, der sich von dem aus 3-Keto-12 $\alpha$ -acetoxy-ätio-cholansäure-methylester<sup>c)</sup> erhaltenen 12-Keto-ätio-cholansäure-methylester deutlich unterschied. Das Monoacetat (XXXI) wurde ferner in den 3-Monobernsteinsäure-dimethylester (XXXV) übergeführt und dieser zu (XXXVIII) oxydiert. Verseifung und Methylierung von (XXXVIII) gab den 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -Dioxy-12-keto-ätio-cholansäure-methylester (XXXIX), der sich nach *Wolff-Kishner* zum 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -Dioxy-ätio-cholansäure-methylester (Cheno-ätio-desoxycholsäure-methylester) (XLII)<sup>4)</sup> reduzieren liess. Dieser erwies sich ebenfalls als verschieden von Ätio-desoxy-cholsäure-methylester (XVI). Auch der aus (XLII) erhaltene 3,7-Diketo-ätio-cholansäure-methylester (XLV) war deutlich verschieden von 3,12-Diketo-ätio-cholansäure-methylester<sup>5)</sup> d). (XLII) wurde ferner in den 3-Monobernsteinsäure-dimethylester (XLI) übergeführt und dieser zu (XL) oxydiert. Die Bromierung dieses Esters gab das Bromketon (XLIII), aus dem durch Verseifung bei Zimmertemperatur, Methy-

<sup>1)</sup> Die räumliche Lage des Substituenten in 6-Stellung ist willkürlich formuliert.  
<sup>2)</sup> *H. Reich, A. Lardon, Helv. 29, 671 (1946).*

<sup>3)</sup> *Ch. Meystre, K. Miescher, Helv. 28, 1497 (1945); vgl. auch Helv. 29, 627 (1946).*

<sup>4)</sup> Cheno-ätio-desoxycholsäure, Smp. 165–166°, wurde früher von *T. Ishihara, J. Biochemistry (Japan) 27, 265 (1938)* bereitet. Der Methylester ist jedoch nicht beschrieben.

<sup>5)</sup> *M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 21, 828 (1938).*

lierung und Acetylierung ein  $3\alpha,6$ -Diacetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XLVI) entstand. Durch Reduktion nach *Wolff-Kishner*, Methylierung, Oxydation mit  $\text{CrO}_3$  und Umlagerung an C-5 liess er sich in den bekannten  $3,6$ -Diketo-ätio-allo-cholansäure-methylester (XLVII)<sup>1)</sup> überführen. Schliesslich wurde noch aus dem Ester (XL) der  $3\alpha$ -Acetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XLIV) hergestellt, der bei der Bromierung das Bromketon (XLVIII) gab. Beim Kochen mit Pyridin blieb dieses unverändert, dagegen entstand beim Erhitzen mit Pyridin und Silbernitrat in geringer Menge ein Stoff, dessen Konstitution auf Grund seiner Analysenwerte bisher nicht aufgeklärt werden konnte.

Ich danke Herrn Prof. *T. Reichstein* verbindlichst für sein dieser Arbeit entgegengebrachtes Interesse und für mannigfache Anregungen sowie Herrn Dr. *H. Reich* für wertvolle Hilfe bei Abfassung des Manuskriptes. Der *Ciba AG.*, Basel, und der *Haco-Gesellschaft*, Gümligen, bin ich für die Unterstützung dieser Arbeit und für Überlassung von Material sehr zu Dank verpflichtet.

### Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ . Wenn nichts anderes erwähnt, wurden die Substanzproben zur Analyse im Hochvakuum bei  $80$ — $100^\circ$ , zur Drehung bei ca.  $60^\circ$  getrocknet. Schweinchen bedeutet, dass die unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum getrocknete Substanz im Schweinchen eingewogen wurde. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Lösen in Äther, Waschen mit verd. HCl (für  $\text{CrO}_3$ -Oxydationen mit verd.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), verd.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung und  $\text{H}_2\text{O}$ , Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen.

Ätio-cholsäure (IX) aus Pregnan-triol-( $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ )-on-(20)-monoacetat-(7).

21-Benzal-pregnan-triol-( $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ )-on-(20)-triacetat.

1 g Pregnan-triol-( $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ )-on-(20)-monoacetat-(7)<sup>2)</sup> vom Smp.  $232$ — $234^\circ$  wurde in  $20 \text{ cm}^3$  abs. Alkohol gelöst, mit 0,6 g Benzaldehyd und dann allmählich unter Umschwenken mit der Lösung von 0,6 g Natrium in  $14 \text{ cm}^3$  abs. Alkohol versetzt und  $16 \text{ Std.}$  bei  $19^\circ$  stehen gelassen. Dann wurde mit Wasser verdünnt, der Alkohol im Vakuum abgedampft und ausgeäthert. Die mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser gewaschene und getrocknete Ätherlösung hinterliess nach dem Eindampfen  $1,34 \text{ g}$  Rückstand, der weder aus Äther noch aus Methanol krystallisierte. Er wurde in  $4 \text{ cm}^3$  Pyridin und  $3 \text{ cm}^3$  Acetanhydrid gelöst und  $3 \text{ Std.}$  auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Eindampfen im Vakuum wurde in Äther aufgenommen, die Lösung mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Es blieben  $1,43 \text{ g}$  Rohprodukt, die über  $40 \text{ g}$  Aluminiumoxyd chromatographiert wurden. Die mit Benzol-Petroläther-Gemischen, Benzol und Äther-Benzol (bis 1:1) eluierten Fraktionen waren alle ölig und liessen sich auch aus Methanol nicht krystallisieren. Mit Äther wurde nichts mehr eluiert.

### Ätio-cholsäure (IX).

Die öligen Fraktionen der obigen Chromatographie, insgesamt  $1,35 \text{ g}$ , wurden in  $100 \text{ cm}^3$  Eisessig gelöst (gegen Chromsäure beständig), mit der Lösung von  $1,5 \text{ g}$   $\text{CrO}_3$  in  $5 \text{ cm}^3$  Wasser und  $50 \text{ cm}^3$  Eisessig versetzt und  $5 \text{ Std.}$  bei  $55^\circ$  gerührt. Dann wurde der Chromsäure-Überschuss mit Methanol zerstört, die Lösung mit  $150 \text{ cm}^3$  Wasser verdünnt

<sup>1)</sup> *H. Reich, A. Lardon, Helv. 29 671 (1946).*

<sup>2)</sup> Von *Ehrenstein*<sup>b)</sup> und von *Meystre* und *Miescher*<sup>3)</sup> als 12-Monoacetat bezeichnet. Vgl. die Ausführungen im theoretischen Teil.

<sup>3)</sup> *Ch. Meystre, K. Miescher, Helv. 28, 1497 (1945).*

und im Vakuum eingengt. Nach nochmaligem Zusatz von Wasser wurde wieder im Vakuum eingengt, mit Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösungen mit Wasser gewaschen, dann mit 2-n. NaOH bei 0° ausgeschüttelt. Neutralprodukt 280 mg, die nicht weiter untersucht wurden. Die alkalischen Auszüge wurden mit HCl angesäuert, ausgeäthert, die Ätherlösungen mit wenig Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde zur Entfernung von Essigsäure dreimal mit wenig Benzol abgedampft, worauf er noch 645 mg wog. Er liess sich weder aus Äther noch aus Methanol krystallisieren und wurde deshalb in 25 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit der Lösung von 2,5 g KOH in 2 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 2 Std. gekocht. Dann wurde mit Wasser verdünnt, das Methanol im Vakuum entfernt, mit HCl angesäuert und ausgeäthert. Die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Ätherlösungen hinterliessen beim Eindampfen 520 mg rohe Säure. Aus Aceton-Äther umkrystallisiert, wurden 330 mg Ätio-cholsäure (IX)<sup>b</sup>) vom Smp. 266—270° erhalten.

#### Ätio-cholsäure-methylester (X).

330 mg Ätio-cholsäure (IX) wurden in üblicher Weise mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert. Das Rohprodukt gab aus Aceton-Äther Krystalle, die bei 110—125° schmolzen (Hydrat?), bei 135—140° wieder erstarrten und definitiv bei 190—194° schmolzen. Diese Krystalle wurden durch zweimaliges Abdampfen mit Benzol getrocknet, in wenig Benzol gelöst und mit der höher schmelzenden (wasserfreien) Krystallform angeimpft. Der so erhaltene Methylester (X) schmolz bei 194—195°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{14} = +66,0^\circ \pm 1^\circ$  (c = 0,984 in Chloroform).

9,987 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{14} = +0,65^\circ \pm 0,01^\circ$

Zur Analyse 3 Std. im Hochvakuum bei 110° getrocknet (Schweinchen).

3,608 mg Subst. gaben 9,090 mg CO<sub>2</sub> und 2,999 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub> (366,47)	Ber. C 68,82	H 9,35%
	Gef. „ 68,81	„ 9,30%

#### 3,7,12-Triketo-ätio-cholansäure-methylester (VII).

30 mg Ätio-cholsäure-methylester (X), Smp. 194—195°, wurden in 1,25 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 1,25 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 4 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung lieferte nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther und Aceton-Äther 16 mg Triketo-ester (VII) in feinen Nadeln vom Smp. 253—257°.

#### Ätio-cholsäure-methylester-triacetat (XXXII).

500 mg Ätio-cholsäure-methylester (X), Smp. 194—195°, wurden mit 2 cm<sup>3</sup> Pyridin und 1,5 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 2 Std. auf dem Wasserbad erhitzt. Nach üblicher Aufarbeitung wurde das Reaktionsprodukt als schwach gelblicher Sirup erhalten, der aus Äther-Petroläther spontan nicht krystallisierte. Erst beim Animpfen mit kryst. Triacetoxy-ester, der bei der partiellen Acetylierung von (X) gewonnen war (siehe unten), trat sofort Krystallisation ein. Die Krystalle schmolzen bei 133—135° (Analyse siehe unten).

3(α),12(α)-Diacetoxy-7(α)-oxy-,3(α),7(α)-Diacetoxy-12(α)-oxy- und 3(α)-Acetoxy-7(α),12(α)-dioxy-ätio-cholansäure-methylester (VIII), (IV) und (V) aus (X).

5,2 g Ätio-cholsäure-methylester (X), Smp. 194—195°, wurden 5 Tage mit 60 cm<sup>3</sup> einer 1-proz. Lösung von HCl-Gas in Eisessig bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft, in Äther aufgenommen, neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Das Rohprodukt wurde über 120 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die ersten mit Petroläther-Benzol 10:1 eluierten Fraktionen krystallisierten

nach längerem Stehen mit Äther-Petroläther und lieferten 120 mg Körner vom Smp. 135—137°, die das Triacetat (XXXII) darstellten. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{14} = +117,6 \pm 1^\circ$  ( $c = 1,334$  in Chloroform).

13,532 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{14} = +1,57^\circ \pm 0,01^\circ$

Zur Analyse wurde 2 Std. im Hochvakuum getrocknet und kurz bei 142° geschmolzen (Schweinechen).

3,820 mg Subst. gaben 9,21 mg CO<sub>2</sub> und 2,81 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>O<sub>8</sub> (492,59) Ber. C 65,82 H 8,10%  
Gef. „ 65,80 „ 8,23%

Die weiteren mit Petroläther-Benzol-Gemischen eluierten Fraktionen wogen 2,4 g, waren amorph und stellten das 3,12-Diacetat (VIII) dar. Die folgenden mit Benzol eluierten Fraktionen erwiesen sich bei der Prüfung mit Tetranitromethan als ungesättigt. Sie waren ebenfalls amorph und wurden nicht weiter untersucht. Aus den mit Benzol-Äther bis 5:1 eluierten Fraktionen liessen sich durch Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 305 mg 3,7-Diacetat (IV) in Form langer Nadeln vom Smp. 171—172° isolieren. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{18} = +55,3 \pm 1^\circ$  ( $c = 1,139$  in Chloroform).

11,555 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = +0,63^\circ \pm 0,01^\circ$

3,802 mg Subst. gaben 9,26 mg CO<sub>2</sub> und 2,93 mg H<sub>2</sub>O (Schweinechen) (F.W.)

C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>O<sub>7</sub> (450,55) Ber. C 66,64 H 8,50%  
Gef. „ 66,47 „ 8,62%

Es folgten nun mit weiteren Benzol-Äther-Gemischen wieder amorphe Fraktionen, die zum Teil ungesättigt waren. Die gesättigten wogen 1,1 g und erwiesen sich als 3-Monoacetat (V). Die ungesättigten Fraktionen wurden nicht weiter untersucht. Mit Äther-Methanol 10:1 wurde noch etwas unveränderter Ätio-cholsäure-methylester (X) eluiert.

### 3( $\alpha$ )-Acetoxy-7,12-diketo-ätio-cholansäure-methylester (II).

114 mg amorphes 3-Monoacetat (V) wurden in 1 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 2,5 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 6 Stunden stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab aus Äther 70 mg Prismen vom Smp. 239—244°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{17} = +86,5 \pm 1^\circ$  ( $c = 1,387$  in Chloroform).

14,070 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +1,20^\circ \pm 0,01^\circ$

3,712 mg Subst. gaben 9,27 mg CO<sub>2</sub> und 2,64 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub> (404,48) Ber. C 68,29 H 7,97%  
Gef. „ 68,15 „ 7,96%

### Ätio-lithocholsäure-methylester (III) aus (II).

45 mg Diketon (II) wurden im offenen Bombenrohr mit 0,5 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol und 0,3 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat 1 Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wurden 60 mg Natrium in 1,5 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol zugegeben, zugeschmolzen und 16 Stunden auf 170—180° erhitzt. Nach Zusatz von Wasser wurde der Alkohol im Vakuum abgedampft, der Rückstand mit HCl angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Lösung gab nach dem Eindampfen 40 mg Säure, die mit Diazomethan methyliert wurde. Der Methylester krystallisierte aus Äther-Petroläther in feinen Nadeln vom Smp. 142—146° und war nach Mischprobe identisch mit Ätio-lithocholsäure-methylester<sup>a)</sup>. Eine kleine Probe wurde mit CrO<sub>3</sub> oxydiert und lieferte den 3-Keto-ätio-cholansäure-methylester<sup>1)</sup>, der bei 149—151° schmolz; Mischprobe ebenso.

<sup>1)</sup> M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 20, 1040 (1937).

3( $\alpha$ ),7( $\alpha$ )-Diacetoxy-12-keto-ätio-cholansäure-methylester (I).

240 mg 3,7-Diacetat (IV) vom Smp. 171—172° wurden in 2 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 2,5 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 5 Stunden stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther gab 180 mg Diacetoxy-keton (I). Aus Aceton-Äther wurden grosse Nadeln erhalten, die sich bei ca. 220° in feine Nadeln umwandeln, die bei 225—227° schmolzen. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{18} = +110,4^{\circ} \pm 1^{\circ}$  ( $c = 1,204$  in Chloroform).

12,213 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = +1,33^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$

3,700 mg Subst. gaben 9,073 mg CO<sub>2</sub> und 2,677 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>O<sub>7</sub> (448,54) Ber. C 66,94 H 8,09%

Gef. „ 66,92 „ 8,11%

3( $\alpha$ ),12( $\alpha$ )-Diacetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XII) aus (VIII).

2,4 g amorphes 3,12-Diacetat (VIII) wurden in 10 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 16 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 5 Stunden stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung lieferte nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 890 mg Prismen, die zuerst bei 136—139° schmolzen, wieder erstarrten und endgültig bei 171—173° schmolzen. Aus der Mutterlauge wurden durch chromatographische Reinigung noch 510 mg Krystalle derselben Reinheit erhalten. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{18} = +98,9^{\circ} \pm 1^{\circ}$  ( $c = 0,990$  in Chloroform).

10,041 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = +0,98^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$

3,711 mg Subst. gaben 9,109 mg CO<sub>2</sub> und 2,692 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>O<sub>7</sub> (448,54) Ber. C 66,94 H 8,09%

Gef. „ 67,00 „ 8,13%

## Ätio-desoxycholsäure-methylester (XVI) aus (XII).

60 mg Diacetoxy-keton (XII) vom Smp. 171—173° wurden mit 0,25 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und 50 mg Natrium in 1,5 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol 18 Stunden im Bombenrohr auf 170—180° erhitzt. Die Aufarbeitung und Methylierung wie bei (III) gab Krystalle, die bei 110—120° schmolzen (Hydrat). Die Mischprobe mit wasserfreiem Ätio-desoxycholsäure-methylester (XVI) vom Smp. 144—145<sup>od</sup>)<sup>1</sup>) gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Eine Probe wurde energisch acetyliert und lieferte das Ätio-desoxycholsäure-methylester-diacetat (XVII) vom Smp. 149—150<sup>oe</sup>). Eine andere Probe wurde mit CrO<sub>3</sub> oxydiert und gab den 3,12-Diketo-ätio-cholansäure-methylester vom Smp. 170—171<sup>o</sup>)<sup>d</sup>). Die Mischproben mit authentischen Präparaten schmolzen ebenso.

3( $\alpha$ ),12( $\alpha$ )-Dioxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XIII) aus (X).

3 g Ätio-cholsäure-methylester (X) vom Smp. 194—195° wurden in 20 cm<sup>3</sup> Aceton gelöst und bei 5° portionsweise innerhalb von 3 Stunden mit der Lösung von 1,2 g Bromacetamid in 15 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt. Die Mischung blieb noch eine Stunde stehen, wurde dann mit Wasser verdünnt, das Aceton im Vakuum entfernt, ausgeäthert und die Ätherlösungen mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Aus Äther-Petroläther wurden Körner erhalten, die bei 110—120° schmolzen (Hydrat), wieder erstarrten und schliesslich bei 165—175° schmolzen. Nach erneutem Umkrystallisieren zeigten die Krystalle einen Smp. von 175—176°. Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum geschmolzen.

3,657 mg Subst. gaben 9,28 mg CO<sub>2</sub> und 2,93 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub> (364,46) Ber. C 69,20 H 8,85%

Gef. „ 69,25 „ 8,98%

<sup>1</sup>) M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 21, 828 (1938).

3( $\alpha$ ),12( $\alpha$ )-Diacetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XII) aus (XIII).

Die Hauptmenge des oben erhaltenen Dioxy-ketons (XIII) einschliesslich der Mutterlaugen wurde in 3 cm<sup>3</sup> Pyridin und 4 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid gelöst und 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Die übliche Aufarbeitung gab nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 1,4 g Diacetoxy-keton (XII) vom Smp. 171—173°. Mischprobe mit dem aus (VIII) erhaltenen Präparat ebenso. Die Mutterlauge (1,93 g) wurde über 50 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol eluierten Fraktionen lieferten noch 705 mg Krystalle (XII) derselben Reinheit. Mit Benzol-Äther liessen sich 410 mg 3,7-Diacetoxy-keton (I) eluieren, ferner mit dem gleichen Gemisch noch 12 mg Diketon (II).

3( $\alpha$ )-Succinoxy-7( $\alpha$ ),12( $\alpha$ )-dioxy-ätio-cholansäure-dimethylester (XI).

200 mg Ätio-cholsäure-methylester (X), Smp. 194—195°, wurden mit 300 mg Bernsteinsäure-anhydrid in 2 cm<sup>3</sup> Pyridin 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in viel Äther gelöst und die Lösung neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Es blieben nur Spuren Neutralprodukt (Ausgangssubstanz) zurück. Die Sodauszüge wurden mit HCl angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösungen mit wenig Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Nach Methylierung des Rückstandes mit Diazomethan wurden 375 mg Rohprodukt erhalten, die aus Äther-Petroläther umkrystallisiert 160 mg Prismen vom Smp. 176—178° lieferten.

3,720 mg Subst. gaben 8,874 mg CO<sub>2</sub> und 2,786 mg H<sub>2</sub>O (Schweinchen) (E.T.H.)

C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>O<sub>8</sub> (480,58) Ber. C 64,98 H 8,39%

Gef. ,, 65,10 ,, 8,40%

3( $\alpha$ )-Succinoxy-12( $\alpha$ )-oxy-7-keto-ätio-cholansäure-dimethylester (XIV).

100 mg 3-Succinoxy-dimethylester (XI) vom Smp. 176—178° wurden mit 30 mg Bromacetamid in 4 cm<sup>3</sup> Aceton und 2 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst. Nach Zusatz von 2 Tropfen Eisessig wurde 1 ½ Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde mit Wasser verdünnt, das Aceton im Vakuum entfernt, ausgeäthert und die Ätherlösungen mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 96 mg und gab aus Äther-Petroläther umkrystallisiert 79 mg Nadeln vom Smp. 158—161°.

3,834 mg Subst. gaben 9,25 mg CO<sub>2</sub> und 2,84 mg H<sub>2</sub>O (Schweinchen) (F.W.)

C<sub>26</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub> (478,56) Ber. C 65,25 H 8,00%

Gef. ,, 65,84 ,, 8,29%

3( $\alpha$ ),12( $\alpha$ )-Diacetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XII) aus (XIV).

40 mg Ester (XIV) vom Smp. 158—161° wurden mit 70 mg KOH in 3 cm<sup>3</sup> Methanol 1 Stunde auf dem Wasserbad gekocht. Nach Zusatz von Wasser wurde das Methanol im Vakuum entfernt, mit Essigester ausgeschüttelt und die Lösungen neutral gewaschen. Aus den alkalischen Auszügen wurden 27 mg rohe Säure gewonnen, die mit Diazomethan methyliert wurden. Der Methylester wurde mit 0,2 cm<sup>3</sup> Pyridin und 0,2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Die übliche Aufarbeitung lieferte Prismen vom Smp. 170—172°, die bei der Mischprobe mit dem Diacetoxy-keton (XII) keine Schmelzpunktserniedrigung gaben.

6-Brom-3( $\alpha$ ),12( $\alpha$ )-diacetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XV).

510 mg Diacetoxy-keton (XII) vom Smp. 171—173° wurden in 2,5 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit 2,4 cm<sup>3</sup> einer Eisessiglösung, die pro cm<sup>3</sup> 80 mg Brom enthält, und 1 Tropfen HBr-Eisessig-Lösung versetzt. Nach 24-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand durch zweimaliges Abdampfen mit abs. Benzol getrocknet und aus Äther-Petroläther umkrystallisiert. Es wurden 155 mg Krystalle vom Smp. 195—205° erhalten. Eine kleine Probe wurde chromatographisch gereinigt und schmolz dann bei 212—214°. Daneben wurden noch einige Krystalle vom Smp. 132—134° (isomeres Bromid?) isoliert.



12( $\alpha$ )-Acetoxy-7-keto-ätio-choladien-(3,5)-säure-methylester (XIX) aus (XV).

a) 350 mg Bromid (XV) vom Smp. 195—205° wurden mit 1 g Silbernitrat in 10 cm<sup>3</sup> Pyridin 12 Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit Äther und Wasser aufgenommen, die Ätherlösungen neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Reaktionsprodukt wurde über 8 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol eluierten Fraktionen gaben aus Äther-Petroläther 125 mg Körner, die bei 189—191° schmolzen.

3,282 mg Subst. gaben 8,590 mg CO<sub>2</sub> und 2,270 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> (386,47) Ber. C 71,48 H 7,82%

Gef. „ 71,43 „ 7,74%

Die Substanz zeigte im U.V.-Absorptionsspektrum (in Alkohol) ein Maximum bei 278 m $\mu$  und log  $\epsilon$  = 4,43.

b) 98 mg Bromid (XV) vom Smp. 195—205° wurden mit 1 cm<sup>3</sup> Pyridin in eine Ampulle im Vakuum eingeschmolzen und 8 Stunden im Xylobad (134°) erhitzt. Die Aufarbeitung wie unter a) und Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther gab 18 mg Körner vom Smp. 189—191°. Die chromatographische Reinigung der Mutterlauge lieferte noch 35 mg Krystalle derselben Reinheit sowie etwas unverändertes Bromid (XV). Die Mischprobe mit dem Analysenpräparat zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung.

3( $\alpha$ ),6,12( $\alpha$ )-Triacetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XX) aus (XV).

325 mg Bromid (XV) vom Smp. 195—205° wurden in 35 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit der Lösung von 1,2 g KOH in 5 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 20 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurde mit wenig Wasser verdünnt, mit CO<sub>2</sub> neutralisiert, das Methanol im Vakuum abgedampft, mit Essigester ausgeschüttelt, die Lösung mit wenig Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der amorphe Rückstand wurde mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert und der Methylester mit 1 cm<sup>3</sup> Pyridin und 1 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Die übliche Aufarbeitung lieferte 302 mg Rohprodukt, die über 6 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurden. Die mit Petroläther-Benzol und Benzol eluierten Fraktionen lieferten nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 118 mg Körner, die bei 180—182° schmolzen. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{22} = +103,6^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 2,161$  in Chloroform).

21,924 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{22} = +2,24^\circ \pm 0,01^\circ$

3,783 mg Subst. gaben 8,872 mg CO<sub>2</sub> und 2,546 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>O<sub>9</sub> (506,57) Ber. C 64,01 H 7,56%

Gef. „ 64,00 „ 7,53%

Die folgenden mit Benzol-Äther eluierten Fraktionen gaben sehr wenig Krystalle vom Smp. 222—225°, die nicht weiter untersucht wurden.

Wurde die Verseifung unter den von *Dane* und *Wulle*<sup>1)</sup> angegebenen Bedingungen in der Hitze durchgeführt und das Reaktionsprodukt ebenso methyliert und acetyliert, so lieferte die Chromatographie zwei Stoffe. Der erste, mit Petroläther-Benzol und Benzol eluierbare erwies sich wiederum als das obige Triacetoxy-keton (XX) (Smp. 180—182°), der zweite, mit Benzol-Äther eluierbare stellte den unten beschriebenen 3( $\alpha$ ),7,12( $\alpha$ )-Triacetoxy-6-keto-ätio-cholansäure-methylester (XXII) vom Smp. 255—260° dar. Dieser wurde allerdings nur in geringer Menge erhalten.

Isomeres 3( $\alpha$ ),6,12( $\alpha$ )-Triacetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XXIV) und 3( $\alpha$ ),7,12( $\alpha$ )-Triacetoxy-6-keto-ätio-cholansäure-methylester (XXII) aus (XX).

850 mg Triacetoxy-keton (XX) vom Smp. 180—182° wurden mit der Lösung von 1,5 g KOH in 25 cm<sup>3</sup> Methanol und 5 cm<sup>3</sup> Wasser 2 Stunden auf dem Wasserbad gekocht.

<sup>1)</sup> *E. Dane, H. Wulle, Z. physiol. Ch.* 267, 1 (1941).

Die Aufarbeitung erfolgte wie bei (XX), ebenso die Nachmethylierung der Säure. Zur Acetylierung wurde mit 2 cm<sup>3</sup> Pyridin und 2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Die übliche Aufarbeitung gab 850 mg Rohprodukt, die über 20 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurden. Die mit Benzol eluierten Fraktionen lieferten 290 mg rohes isomeres Triacetoxy-keton (XXIV). Aus Äther-Petroläther wurden 185 mg Körner vom Smp. 238—242° erhalten. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{18} = +57,2^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1,293$  in Chloroform).

13,119 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = +0,74^\circ \pm 0,01^\circ$

3,720 mg Subst. gaben 8,75 mg CO<sub>2</sub> und 2,46 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>O<sub>9</sub> (506,57) Ber. C 64,01 H 7,56%  
Gef. „ 64,19 „ 7,40%

Mit Benzol-Äther (9:1 bis 5:1) liessen sich 375 mg rohes Triacetoxy-keton (XXII) eluieren, die aus Aceton-Äther 230 mg Nadeln vom Smp. 255—260° gaben. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{18} = +124,2^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1,143$  in Chloroform).

11,491 mg Subst. zu 1,0052 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = +1,42^\circ \pm 0,01^\circ$

3,768 mg Subst. gaben 8,814 mg CO<sub>2</sub> und 2,510 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>O<sub>9</sub> (506,57) Ber. C 64,01 H 7,56%  
Gef. „ 63,84 „ 7,45%

Die folgenden mit Benzol-Äther eluierten Fraktionen lieferten aus Äther-Petroläther einige mg Krystalle vom Smp. 258—268°, die mit (XXII) eine Schmelzpunktserniedrigung gaben. Sie wurden nicht weiter untersucht.

### 3(α),6,12(α)-Trioxy-ätio-cholansäure-methylester (XXIII).

500 mg Triacetoxy-keton (XX) vom Smp. 180—182° wurden mit 1,6 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und 3 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol 1 Stunde im offenen Bombenrohr auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wurde die Lösung von 500 mg Natrium in 7 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol zugegeben, zugeschmolzen und 16 Stunden auf 170—180° erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei (III), nur wurde zum Ansschütteln Essigester anstatt Äther verwendet. Es wurden 315 mg rohe Säuren erhalten, die mit Diazomethan methyliert wurden. Der entstandene Trioxyster (XXIII) liess sich nicht zur Krystallisation bringen.

### 3,6,12-Triketo-ätio-allo-cholansäure-methylester (XXVII).

a) Aus (XXIII).

46 mg amorpher Trioxyster (XXIII) wurden in 1 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 1,5 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 5 Stunden stehen gelassen. Das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Reaktionsprodukt wurde mit 1 cm<sup>3</sup> Eisessig und 1 Tropfen konz. HCl 1 Stunde gekocht. Dann wurde im Vakuum zur Trockne gedampft, der Rückstand mit Diazomethan methyliert und das Rohprodukt über 1,5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol und Benzol eluierten Fraktionen gaben unscharf schmelzende Krystalle vom Smp. 170—210°. Die folgenden mit Benzol-Äther eluierten Fraktionen lieferten nach Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 4 mg Nadeln vom Smp. 257—264°, die bei der Mischprobe mit auf anderem Wege bereitetem 3,6,12-Triketo-ätio-allo-cholansäure-methylester (XXVII) vom Smp. 262—265°<sup>b)</sup> keine Schmelzpunktserniedrigung gaben.

b) Aus (XXIV).

72 mg isomeres Triacetoxy-keton (XXIV) vom Smp. 238—242° wurden, wie bei (XXIII) beschrieben, mit 0,3 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und 80 mg Natrium in 3 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol nach *Wolff-Kishner* reduziert, die entstandene Säure mit Diazomethan methyliert und der rohe Ester (52 mg) mit 1,4 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung oxydiert. Nach Umlagerung durch 1-stündiges Kochen mit 1 cm<sup>3</sup> Eisessig und 1 Tropfen konz. HCl

wurde im Vakuum eingedampft und mit Diazomethan methyliert. Die chromatographische Trennung wie unter a) gab 5 mg Nadeln vom Smp. 259—263°, die nach Mischprobe ebenfalls mit 3,6,12-Triketo-ätio-allo-cholansäure-methylester (XXVII) identisch waren.

3( $\alpha$ ),6,12( $\alpha$ )-Triacetoxy-ätio-cholansäure-methylester (XXVI) und ungesättigtes Nebenprodukt aus (XXIII).

310 mg amorpher Trioxy-ester (XXIII) wurden mit 1 cm<sup>3</sup> Pyridin und 1 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Die übliche Aufarbeitung gab 410 mg Rohprodukt, die über 5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurden. Die mit Petroläther-Benzol (1:1) eluierten Fraktionen wogen 105 mg, waren amorph und gaben eine positive Tetranitromethanprobe, waren also ungesättigt. Die folgenden mit Petroläther-Benzol und Benzol eluierten Fraktionen wogen 222 mg und enthielten den amorphen Triacetoxy-ester (XXVI), dessen Weiterverarbeitung unten beschrieben wird.

Die ungesättigten Fraktionen wurden, wie im folgenden Versuch beschrieben, mit Pottasche kalt verseift, das entstandene 12-Monoacetat nachmethyliert und chromatographisch gereinigt und das amorphe Reaktionsprodukt nach Schutz der Doppelbindung mit Brom wie üblich mit CrO<sub>3</sub> oxydiert. Die Entbromung erfolgte mit Zinkstaub in Eisessig. Die Aufarbeitung lieferte nach erneuter Chromatographie nur wenige mg Krystalle vom Smp. 150—154°. Anscheinend handelt es sich um 3-Keto-12( $\alpha$ )-acetoxy-ätio-cholen-(6)-säure-methylester, da 3-Keto-12( $\alpha$ )-acetoxy-ätio-cholen-(4)-säure-methylester bei 208° schmilzt<sup>1)</sup>.

3( $\alpha$ ),6-Dioxy-12( $\alpha$ )-acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (XXV).

170 mg amorpher Triacetoxy-ester (XXVI) wurden in 1 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit der Lösung von 80 mg Pottasche und 20 mg Natriumhydrogencarbonat in 0,75 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 40 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurde mit Wasser verdünnt, das Methanol im Vakuum abgedampft, mit Essigester ausgeschüttelt und die Lösung mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Nach Methylierung mit Diazomethan wurde das Rohprodukt (145 mg) über 4 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die mit Benzol eluierten Fraktionen waren amorph und gaben auch nach Oxydation mit 2 Mol CrO<sub>3</sub> und Umlagerung mit Säure keine krystallisierende Substanz. Dasselbe war bei den mit Benzol-Äther eluierten Fraktionen der Fall. Dagegen lieferten die Äther-Methanol(9:1)-Fraktionen (72 mg), wie aus dem folgenden Versuch hervorgeht, den Diketo-ester (XXVIII), stellten also den gesuchten 3,6-Dioxy-12-acetoxy-ester (XXV) dar.

3,6-Diketo-12( $\alpha$ )-acetoxy-ätio-allo-cholansäure-methylester (XXVIII).

17 mg amorphes 12-Monoacetat (XXV) wurden in 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 0,35 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 5 Stunden stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther lieferte 12 mg Nadeln vom Smp. 152—155°. Sie wurden mit 1 cm<sup>3</sup> Eisessig und 1 Tropfen konz. HCl 1 Stunde gekocht, die Lösung im Vakuum eingedampft und der Rückstand gut getrocknet. Durch Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther wurden wenig Krystalle vom Smp. 228—230° erhalten. Authentisches Diketon (XXVIII)<sup>b)</sup>, sowie die Mischprobe schmolzen gleich.

3( $\alpha$ ),6-Dimesyloxy-12( $\alpha$ )-acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (XXIX) und 3( $\beta$ ),12( $\alpha$ )-Diacetoxy-ätio-cholen-(5)-säure-methylester (XXX).

55 mg amorphes 12-Monoacetat (XXV) wurden durch zweimaliges Abdampfen mit abs. Benzol getrocknet, in 0,8 cm<sup>3</sup> Pyridin gelöst, bei 0° mit 0,05 cm<sup>3</sup> Mesitylchlorid versetzt und über Nacht bei 0° stehen gelassen. Nach Zugabe von Eis blieb die Mischung nochmals 1 Stunde stehen. Dann wurde ausgeäthert und die Ätherlösung neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Es blieben 76 mg amorphes Dimesylat (XXIX) zurück, die mit 90 mg Silberacetat in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig 1 Stunde gekocht wurden. Nach Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand mit Äther ausgezogen und die Ätherlösungen

<sup>1)</sup> J. von Euw, T. Reichstein, Helv. 29, 654 (1946).

neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Die 51 mg Rohprodukt wurden aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und lieferten 6 mg feine Nadeln vom Smp. 191—194°, die nach Mischprobe mit (3 $\beta$ ,12 $\alpha$ )-Diacetoxy-ätio-cholen-(5)-säure-methylester (XXX)<sup>b</sup>) identisch waren. Die Mutterlauge (45 mg) wurde über 1,5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert und gab noch 12 mg Krystalle derselben Reinheit.

3( $\alpha$ )-Succinoxy-12( $\alpha$ )-acetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-dimethylester (XVIII).

420 mg Ester (XIV) vom Smp. 158—161° wurden mit 2 cm<sup>3</sup> Pyridin und 2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Die übliche Aufarbeitung gab nach Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 380 mg Nadeln vom Smp. 182—184°.

3,715 mg Subst. gaben 8,797 mg CO<sub>2</sub> und 2,594 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C <sub>28</sub> H <sub>40</sub> O <sub>9</sub> (520,60)	Ber. C 64,59	H 7,74%
	Gef. „ 64,62	„ 7,82%

3( $\alpha$ ),6,12( $\alpha$ )-Triacetoxy-7-keto- und isomerer 3( $\alpha$ ),6,12( $\alpha$ )-Triacetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XX) und (XXIV) aus (XVIII).

334 mg Ester (XVIII) vom Smp. 182—184° wurden in 2 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 1,45 cm<sup>3</sup> einer Eisessig-Lösung, die pro cm<sup>3</sup> 80 mg Brom enthielt, und 1 Tropfen HBr-Eisessig-Lösung versetzt und 20 Stunden bei 20° stehen gelassen. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei (XV). Aus dem Rohprodukt liessen sich durch Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther wenig Krystalle (Bromketone XXIa und b) isolieren, die unscharf bei 185—210° schmolzen.

390 mg des Rohprodukts wurden in 20 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit der Lösung von 1 g KOH in 4 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 2 Tage bei 20° stehen gelassen. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei (XX), ebenso die Methylierung mit Diazomethan und die Acetylierung. Das Reaktionsprodukt wog roh 240 mg und wurde über 7 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Mit Benzol-Petroläther wurden 84 mg rohes Triacetat (XX) eluiert, die nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther bei 179—182° schmolzen (Mischprobe mit dem Analysenpräparat ebenso). Die mit Benzol eluierten Fraktionen wogen 36 mg und gaben aus Äther-Petroläther Krystalle vom Smp. 238—242°, die nach Mischprobe mit dem isomeren Triacetat (XXIV) identisch waren.

3( $\alpha$ )-Oxy-7( $\alpha$ ),12( $\alpha$ )-diacetoxy-ätio-cholansäure-methylester (XXXIII).

255 mg amorphes Ätio-cholsäure-methylester-triacetat (Rohprodukt) (XXXII) wurden mit der Lösung von 250 mg Pottasche in 5 cm<sup>3</sup> Methanol und 2 cm<sup>3</sup> Wasser 24 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurde mit Wasser verdünnt, das Methanol im Vakuum abgedampft, ausgeäthert und die Ätherlösungen mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Es blieben 216 mg Rohprodukt zurück, die mit Diazomethan methyliert wurden. Durch Umkrystallisieren aus Äther wurden 66 mg Körner erhalten, die bei 182—184° schmolzen. Die Mutterlauge wurde über 4,5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert und gab neben wenig Ausgangsmaterial noch 108 mg Diacetat (XXXIII) vom gleichen Smp. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{15} = +106,5^{\circ} \pm 1^{\circ}$  (c = 1,633 in Chloroform).

16,560 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{15} = +1,74^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$

3,726 mg Subst. gaben 9,078 mg CO<sub>2</sub> und 2,847 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C <sub>25</sub> H <sub>38</sub> O <sub>7</sub> (450,55)	Ber. C 66,64	H 8,50%
	Gef. „ 66,49	„ 8,55%

3( $\alpha$ ),12( $\alpha$ )-Dioxy-7( $\alpha$ )-acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (XXXI).

196 mg Ätio-cholsäure-methylester-triacetat (Rohprodukt) (XXXII) wurden mit der Lösung von 250 mg Pottasche in 3 cm<sup>3</sup> Methanol und 1 cm<sup>3</sup> Wasser 2 Stunden auf dem Wasserbad gekocht. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei (XXXIII), ebenso die

Methylierung mit Diazomethan. Es blieben 168 mg Rohprodukt, die über 6 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert wurden. Mit Benzol-Äther 1:1 wurden 24 mg Diacetat (XXXIII) vom Smp. 182—184° eluiert (Mischprobe). Die mit Äther-Methanol 9:1 eluierten Fraktionen (90 mg) wurden aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und lieferten 66 mg Nadeln (Monoacetat [XXXI]) vom Smp. 172—174°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +44,4^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1,328$  in Chloroform).

13,474 mg Subst. zu 1,0141  $\text{cm}^3$ ;  $l = 1$  dm;  $\alpha_{\text{D}}^{18} = +0,59^\circ \pm 0,01^\circ$

Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum bei 120° getrocknet (Schweinchen).

3,714 mg Subst. gaben 9,18 mg  $\text{CO}_2$  und 2,90 mg  $\text{H}_2\text{O}$  (F.W.)

$\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_6$  (408,52) Ber. C 67,62 H 8,88%  
Gef. „ 67,45 „ 8,71%

Mit Äther-Methanol 5:1 wurde noch etwas Ätio-cholsäure-methylester (X) vom Smp. 194—195° eluiert.

### 3-Keto-7( $\alpha$ ),12( $\alpha$ )-diacetoxy-ätio-cholansäure-methylester (XXXVI).

70 mg Diacetat (XXXIII) vom Smp. 182—184° wurden in 1  $\text{cm}^3$  Eisessig gelöst, mit 0,8  $\text{cm}^3$  2-proz.  $\text{CrO}_3$ -Eisessig-Lösung versetzt und über Nacht stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 41 mg Körner vom Smp. 166—168°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +107,8^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 2,968$  in Chloroform).

30,104 mg Subst. zu 1,0141  $\text{cm}^3$ ;  $l = 1$  dm;  $\alpha_{\text{D}}^{18} = +3,20^\circ \pm 0,02^\circ$

3,860 mg Subst. gaben 9,188 mg  $\text{CO}_2$  und 2,744 mg  $\text{H}_2\text{O}$  (E.T.H.)

$\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_7$  (448,54) Ber. C 66,93 H 8,09%  
Gef. „ 66,69 „ 8,17%

### 3,12-Diketo-7( $\alpha$ )-acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (XXXIV).

50 mg Monoacetat (XXXI) vom Smp. 172—174° wurden in 0,5  $\text{cm}^3$  Eisessig gelöst, mit 1,2  $\text{cm}^3$  2-proz.  $\text{CrO}_3$ -Eisessig-Lösung versetzt und über Nacht stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 35 mg Nadeln vom Smp. 208—212°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +97,8^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1,083$  in Chloroform).

10,992 mg Subst. zu 1,0141  $\text{cm}^3$ ;  $l = 1$  dm;  $\alpha_{\text{D}}^{17} = +1,06^\circ \pm 0,01^\circ$

3,659 mg Subst. gaben 9,145 mg  $\text{CO}_2$  und 2,583 mg  $\text{H}_2\text{O}$  (E.T.H.)

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_6$  (404,48) Ber. C 68,29 H 7,97%  
Gef. „ 68,21 „ 7,90%

### 7( $\alpha$ )-Oxy-ätio-cholansäure-methylester (XXXVII) aus (XXXIV).

200 mg Diketo-ester (XXXIV) vom Smp. 208—212° wurden mit 1,1  $\text{cm}^3$  abs. Alkohol und 1  $\text{cm}^3$  Hydrazinhydrat im offenen Bombenrohr 1 Stunde auf dem Wasserbad erhitzt, nach dem Abkühlen mit der Lösung von 200 mg Natrium in 5  $\text{cm}^3$  abs. Alkohol versetzt, eingeschmolzen und über Nacht auf 170—180° erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei (III), ebenso die Methylierung mit Diazomethan. Das Reaktionsprodukt (190 mg) gab nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 45 mg dicke Körner vom Smp. 148—152°, die von dem weiter unten beschriebenen 12( $\alpha$ )-Oxy-ätio-cholansäure-methylester deutlich verschieden waren. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_{\text{D}}^{15} = +30,7^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 2,274$  in Chloroform).

23,065 mg Subst. zu 1,0141  $\text{cm}^3$ ;  $l = 1$  dm;  $\alpha_{\text{D}}^{15} = +0,70^\circ \pm 0,01^\circ$

Vor der Verbrennung wurde im Hochvakuum geschmolzen (Schweinchen).

3,411 mg Subst. gaben 9,41 mg  $\text{CO}_2$  und 3,08 mg  $\text{H}_2\text{O}$  (F.W.)

$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_3$  (334,48) Ber. C 75,40 H 10,25%  
Gef. „ 75,29 „ 10,10%

## 7-Keto-ätio-cholansäure-methylester aus (XXXVII).

27 mg 7( $\alpha$ )-Oxy-ätio-cholansäure-methylester (XXXVII) vom Smp. 148—152° wurden in 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 0,4 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 1 Stunde stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Petroläther gab 19 mg dicke Nadeln vom Smp. 122—123°, die sich von dem unten beschriebenen 12-Keto-ätio-cholansäure-methylester deutlich unterschieden. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{15} = -38,6^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 0,926$  in Chloroform).

9,393 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{15} = -0,36^\circ \pm 0,01^\circ$

Vor der Verbrennung wurde kurz im Hochvakuum geschmolzen.

3,684 mg Subst. gaben 10,25 mg CO<sub>2</sub> und 3,16 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub> (332,46) Ber. C 75,86 H 9,70%  
Gef. „ 75,93 „ 9,60%

12( $\alpha$ )-Oxy- und 12-Keto-ätio-cholansäure-methylester.

110 mg 3-Keto-12( $\alpha$ )-oxy-ätio-cholansäure-methylester vom Smp. 144—145°<sup>1)</sup> wurden mit 0,5 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und der Lösung von 0,1 g Natrium in 2,5 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol im Bombenrohr 18 Stunden auf 170—180° erhitzt. Nach Zusatz von Wasser wurde der Alkohol im Vakuum entfernt, mit HCl angesäuert und ausgeäthert. Die neutral gewaschene und getrocknete Ätherlösung wurde eingengt und mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Der so erhaltene Methylester wog 154 (?) mg und gab durch Umkrystallisieren aus wenig Methanol bei -10° 60 mg Krystalle. Sie wandelten sich bei 112—114° in lange Nadeln um, die bei 122—123° schmolzen. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{15} = +83,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,914$  in Chloroform).

9,272 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{15} = +0,76^\circ \pm 0,01^\circ$

3,738 mg Subst. gaben 10,281 mg CO<sub>2</sub> und 3,343 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub> (334,48) Ber. C 75,40 H 10,25%  
Gef. „ 75,06 „ 10,01%

49 mg 12( $\alpha$ )-Oxy-ätio-cholansäure-methylester vom Smp. 122—123° wurden in 1 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 0,7 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 4 Stunden stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther gab 22 mg Blättchen vom Smp. 159—163°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{14} = +141,6^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 0,995$  in Chloroform).

10,097 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{14} = +1,41^\circ \pm 0,01^\circ$

3,314 mg Subst. gaben 9,205 mg CO<sub>2</sub> und 2,883 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub> (332,46) Ber. C 75,86 H 9,70%  
Gef. „ 75,80 „ 9,73%

3( $\alpha$ )-Succinoxy-7( $\alpha$ )-acetoxy-12( $\alpha$ )-oxy-ätio-cholansäure-dimethylester (XXXV).

430 mg 7-Monoacetat (XXXI) vom Smp. 172—174° wurden durch Abdampfen mit abs. Benzol getrocknet und mit 600 mg Bernsteinsäure-anhydrid in 4 cm<sup>3</sup> Pyridin 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wurde im Vakuum eingedampft. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie bei (XI). Die neutralen Anteile stellten 15 mg Ausgangsmaterial dar. Die Sodauszüge gaben nach dem Ansäuern 590 mg Säure, die mit Diazomethan methyliert wurden. Aus Äther-Petroläther krystallisierten 495 mg lange Nadeln vom Smp. 166—167°.

3,586 mg Subst. gaben 8,442 mg CO<sub>2</sub> und 2,620 mg H<sub>2</sub>O (Schweinchen) (E.T.H.)

C<sub>28</sub>H<sub>42</sub>O<sub>9</sub> (486,62) Ber. C 64,35 H 8,10%  
Gef. „ 64,25 „ 8,17%

<sup>1)</sup> A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 26, 607 (1943).

3( $\alpha$ )-Succinoxy-7( $\alpha$ )-acetoxy-12-keto-ätio-cholansäure-dimethylester (XXXVIII).

415 mg Ester (XXXV) vom Smp. 166—167° wurden in 6 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 1,6 cm<sup>3</sup> 5-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 3 Stunden stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 325 mg Krystalle. Durch Umkrystallisieren aus Äther wurden lange Nadeln vom Smp. 135—136° erhalten.

3,810 mg Subst. gaben 9,014 mg CO<sub>2</sub> und 2,618 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>O<sub>9</sub> (484,60) Ber. C 64,59 H 7,74%  
Gef. ,, 64,56 ,, 7,69%

3( $\alpha$ ),7( $\alpha$ )-Dioxy-12-keto-ätio-cholansäure-methylester (XXXIX).

290 mg Ester (XXXVIII) vom Smp. 135—136° wurden mit 500 mg KOH in 5 cm<sup>3</sup> Methanol und 1 cm<sup>3</sup> Wasser 2 Stunden auf dem Wasserbad gekocht. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei der Verseifung von (XIV). Nach Methylierung der erhaltenen Säure wurde der Methylester (195 mg) aus Äther-Petroläther umkrystallisiert. Es wurden 160 mg Nadeln vom Smp. 210—212° erhalten.

3,609 mg Subst. gaben 9,18 mg CO<sub>2</sub> und 2,67 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub> (364,46) Ber. C 69,20 H 8,84%  
Gef. ,, 69,42 ,, 8,28%

3( $\alpha$ ),7( $\alpha$ )-Dioxy-ätio-cholansäure-methylester (Cheno-ätio-desoxycholsäure-methylester) (XLII).

210 mg Dioxy-ester (XXXIX) vom Smp. 210—212° wurden mit 1 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und 0,2 g Natrium in 5 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol im Bombenrohr eingeschmolzen und über Nacht auf 170—180° erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei (III), ebenso die Methylierung mit Diazomethan. Das Reaktionsprodukt wurde durch zweimaliges Abdampfen mit abs. Benzol getrocknet und aus wenig Benzol mit viel Petroläther umkrystallisiert. Die Krystalle schmolzen bei 156—162°. Durch nochmaliges Umkrystallisieren wurden aus Äther-Petroläther feine Nadeln vom Smp. 159—163° erhalten. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{16} = +2,0^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,487$  in CHCl<sub>3</sub>).

15,081 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +0,03^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,809 mg Subst. gaben 10,05 mg CO<sub>2</sub> und 3,29 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub> (350,48) Ber. C 71,96 H 9,78%  
Gef. ,, 72,01 ,, 9,67%

3,7-Diketo-ätio-cholansäure-methylester (XLV).

70 mg Cheno-ätio-desoxycholsäure-methylester (XLII) (Rohprodukt) wurden wie üblich mit 1,5 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung oxydiert. Das Reaktionsprodukt wurde mehrmals aus Aceton-Äther umkrystallisiert und lieferte Nadeln vom Smp. 178—181°. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{14} = -13,4^{\circ} \pm 1^{\circ}$  ( $c = 1,117$  in CHCl<sub>3</sub>).

11,334 mg Subst. zu 1,0141 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{14} = -0,15^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$

3,718 mg Subst. gaben 9,94 mg CO<sub>2</sub> und 2,91 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> (346,45) Ber. C 72,80 H 8,73%  
Gef. ,, 72,96 ,, 8,76%

3( $\alpha$ )-Succinoxy-7( $\alpha$ )-oxy-ätio-cholansäure-dimethylester (XLI).

850 mg Cheno-ätio-desoxycholsäure-methylester (XLII) (Rohprodukt) wurden durch Abdampfen mit abs. Benzol getrocknet und mit 800 mg Bernsteinsäure-anhydrid in 5 cm<sup>3</sup> Pyridin 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei (XI). Die neutralen Anteile wogen 65 mg und stellten unverändertes Ausgangsmaterial dar. Die Säuren wurden mit Diazomethan methyliert und lieferten 1,12 g Methylester (XLI), der nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte.

3( $\alpha$ )-Succinoxy-7-keto-ätio-cholansäure-dimethylester (XL).

1,12 g amorpher Ester (XLI) wurden in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 5,5 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>2</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 1 Stunde stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Aceton-Äther gab 390 mg Nadeln vom Smp. 154—155°.

3,802 mg Subst. gaben 9,390 mg CO<sub>2</sub> und 2,830 mg H<sub>2</sub>O (Schweinchen) (E.T.H.)

C<sub>26</sub>H<sub>38</sub>O<sub>7</sub> (462,56) Ber. C 67,51 H 8,28%  
Gef. „ 67,40 „ 8,34%

3( $\alpha$ ),6-Diacetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XLVI).

250 mg Ester (XL) vom Smp. 154—155° wurden in 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 1,1 cm<sup>3</sup> einer Eisessig-Lösung, die pro cm<sup>3</sup> 80 mg Br<sub>2</sub> enthielt, und 1 Tropfen HBr-Eisessig-Lösung versetzt und über Nacht stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei 30° eingedampft und der Rückstand durch zweimaliges Abdampfen mit abs. Benzol getrocknet. Da beim Stehen mit Äther-Petroläther keine Krystallisation eintrat, wurde das Rohprodukt (XLIII) mit der Lösung von 150 mg NaOH in 7 cm<sup>3</sup> Methanol 1 Stunde auf dem Wasserbad gekocht. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei (XX) aus (XV). Dann wurde mit Diazomethan methyliert und durch 2-stündiges Erwärmen mit 0,5 cm<sup>3</sup> Pyridin und 0,5 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid auf dem Wasserbad acetyliert. Die übliche Aufarbeitung gab nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther Körner vom Smp. 204—209°.

3,722 mg gaben 9,070 mg CO<sub>2</sub> und 2,630 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>O<sub>7</sub> (448,54) Ber. C 66,94 H 8,09%  
Gef. „ 66,39 „ 7,89%

## 3,6-Diketo-ätio-allo-cholansäure-methylester (XLVII) aus (XLVI).

88 mg Diacetat (XLVI) vom Smp. 204—209° wurden mit 0,5 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und der Lösung von 100 mg Natrium in 2,5 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol im Bombenrohr eingeschmolzen und über Nacht auf 170—180° erhitzt. Die Aufarbeitung wie bei (III) gab 63 mg Säuren, die mit Diazomethan methyliert und mit 1,5 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>2</sub>-Eisessig-Lösung wie üblich oxydiert wurden. Das Reaktionsprodukt wog 48 mg und wurde zur Umlagerung mit 1 cm<sup>3</sup> Eisessig und 1 Tropfen konz. HCl 1 Stunde gekocht. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand wieder mit Diazomethan methyliert und das Rohprodukt über 2 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die mit Benzol eluierten Fraktionen gaben wenig unscharf bei 160—185° schmelzende Krystalle. Die mit Benzol-Äther eluierten Fraktionen lieferten nach Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther 7 mg Krystalle vom Smp. 237—245°, die nach Mischprobe mit 3,6-Diketo-ätio-allo-cholansäure-methylester (XLVII) (Smp. 246—252°)<sup>1)</sup> identisch waren.

3( $\alpha$ )-Acetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XLIV).

130 mg Ester (XL) vom Smp. 154—155° wurden mit 100 mg KOH in 5 cm<sup>3</sup> Methanol 1 Stunde auf dem Wasserbad gekocht. Dann wurde mit wenig Wasser verdünnt, das Methanol im Vakuum entfernt und mit Äther ausgeschüttelt. Der nach Eindampfen der mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Ätherlösung erhaltene Rückstand wurde mit Diazomethan methyliert, dann mit 0,5 cm<sup>3</sup> Pyridin und 0,5 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid über Nacht stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 102 mg Krystalle vom Smp. 193—200°.

6-Brom-3( $\alpha$ )-acetoxy-7-keto-ätio-cholansäure-methylester (XLVIII).

102 mg Acetat (XLIV) vom Smp. 193—200° wurden in 1 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 1,1 cm<sup>3</sup> einer Eisessig-Lösung, die pro cm<sup>3</sup> 80 mg Br<sub>2</sub> enthielt, versetzt, 1 Tropfen HBr-Eisessig-Lösung zugegeben und über Nacht stehen gelassen. Der durch Eindampfen im Vakuum erhaltene Rückstand gab aus Äther-Petroläther Krystalle vom Smp. 216—225°.

<sup>1)</sup> H. Reich, A. Lardon, Helv. 29, 671 (1946).



## Versuch zur Abspaltung von HBr.

a) 95 mg Bromketon (XLVIII) vom Smp. 216—225° wurden mit 1 cm<sup>3</sup> Pyridin in eine Ampulle im Vakuum eingeschmolzen und 5 Stunden im Xylobad (134°) erhitzt. Die übliche Aufarbeitung gab nach chromatographischer Reinigung einige mg Krystalle vom Smp. 199—202°.

b) 70 mg Bromketon (XLVIII) wurden mit 200 mg Silbernitrat in 3 cm<sup>3</sup> Pyridin 12 Stunden gekocht. Die übliche Aufarbeitung gab nach chromatographischer Reinigung 18 mg der obigen Substanz vom Smp. 199—202°.

3,666 mg Subst. gaben 9,306 mg CO<sub>2</sub> und 2,908 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

Gef. C 69,27 H 8,88%

Die Analysenwerte stimmen weder auf eine  $\Delta^5$ -3-Acetoxy-7-keto- noch auf eine  $\Delta^{3,5}$ -7-Keto- noch auf eine 3-Acetoxy-6,7-diketo<sup>1)</sup>-Verbindung.

Die Mikroanalysen wurden teils im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung W. Manser) (E.T.H.), teils von Herrn F. Weiser, Basel (F. W.) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

## 79. Contribution à l'étude des dibenzofluorènes: le dibenzo-2, 3, 5, 6-fluorène

par R. H. Martin.

(11 II 47)

Dans un article précédent<sup>2)</sup> nous avons émis l'hypothèse que l'hydrocarbure C<sub>21</sub>H<sub>14</sub> (p. de f. 190° corr.) et la cétone correspondante C<sub>21</sub>H<sub>12</sub>O (p. de f. 163—165° corr.), isolées par *Schmidlin* et *Huber*<sup>3)</sup>, étaient respectivement le dibenzo-2,3,5,6-fluorène et la dibenzo-2,3,5,6-fluorénone (IXa). Cette structure était la seule possible, les six autres dibenzofluorénones ayant été décrites et parfaitement caractérisées.

Or, depuis cette époque, *Lothrop* et *Goodwin*<sup>4)</sup> ont décrit une nouvelle méthode générale de synthèse de dérivés fluoréniques, qui leur a permis de préparer, par cyclisation de (XI), ce qu'ils estiment être la dibenzo-2,3,5,6-fluorénone (p. de f. 185°). Ces auteurs pensent que l'hydrocarbure de *Schmidlin* et *Huber* n'est autre que le di-2-naphtyle et que son produit d'oxydation (p. de f. 163—165°) est un échantillon impur de di-2-naphtylquinone-1,4, vue à laquelle *Cook* et *Preston*<sup>5)</sup> ont souscrit par la suite.

Nous avons répété la synthèse de *Schmidlin* et *Huber* et nous avons obtenu, non pas l'hydrocarbure décrit par eux, mais bien le di-2-naphtyle, ce qui semble confirmer l'idée de *Lothrop* et *Goodwin*.

<sup>1)</sup> Vgl. *T. Barr, I. M. Heilbron, E. R. Jones, F. S. Spring*, Soc. 1938, 334.

<sup>2)</sup> *R. H. Martin*, Soc. 1941, 679.

<sup>4)</sup> *Am. Soc.* 65, 363 (1943).

<sup>3)</sup> *B.* 43, 2824 (1910).

<sup>5)</sup> *Soc.* 1944, 553.

Signalons également que nous n'avons pas réussi à préparer un dibenzo-fluorène par cyclisation du di-2-naphtylcarbinol<sup>1</sup>).

Deux considérations nous ont cependant incité à reprendre le problème de la dibenzo-2,3,5,6-fluorénone:

1. *Lothrop* et *Goodwin* n'ont pas pu réduire leur dibenzofluorénone en dibenzofluorène.

2. Le rendement global qu'ils ont obtenu est extrêmement faible (env. 0,2 %).

Nous avons mis au point une nouvelle synthèse de la dibenzo-2,3,5,6-fluorénone. A cet effet, nous avons condensé le dialdéhyde phtalique avec la benzo-4,5-hydrindone-1 (VIIIa)<sup>2</sup>). Or, notre cétone (p. de f. 206°), obtenue avec un bon rendement, ne correspond pas à celle des auteurs américains (p. de f. 185°). Par réduction de notre cétone au moyen de l'hydrate d'hydrazine à 50 %, en tube scellé, nous avons obtenu un hydrocarbure C<sub>21</sub>H<sub>14</sub> (p. de f. 208°). Traitée par l'hydroxyde de potassium à 260°, la cétone donne un mélange d'acides qui, chauffés avec de la poudre de cuivre dans la quinoléine, fournissent le di-2-naphtyle (IXa → X). Toutes ces réactions semblent indiquer que nous sommes bien en présence de la dibenzo-2,3,5,6-fluorénone (IXa).

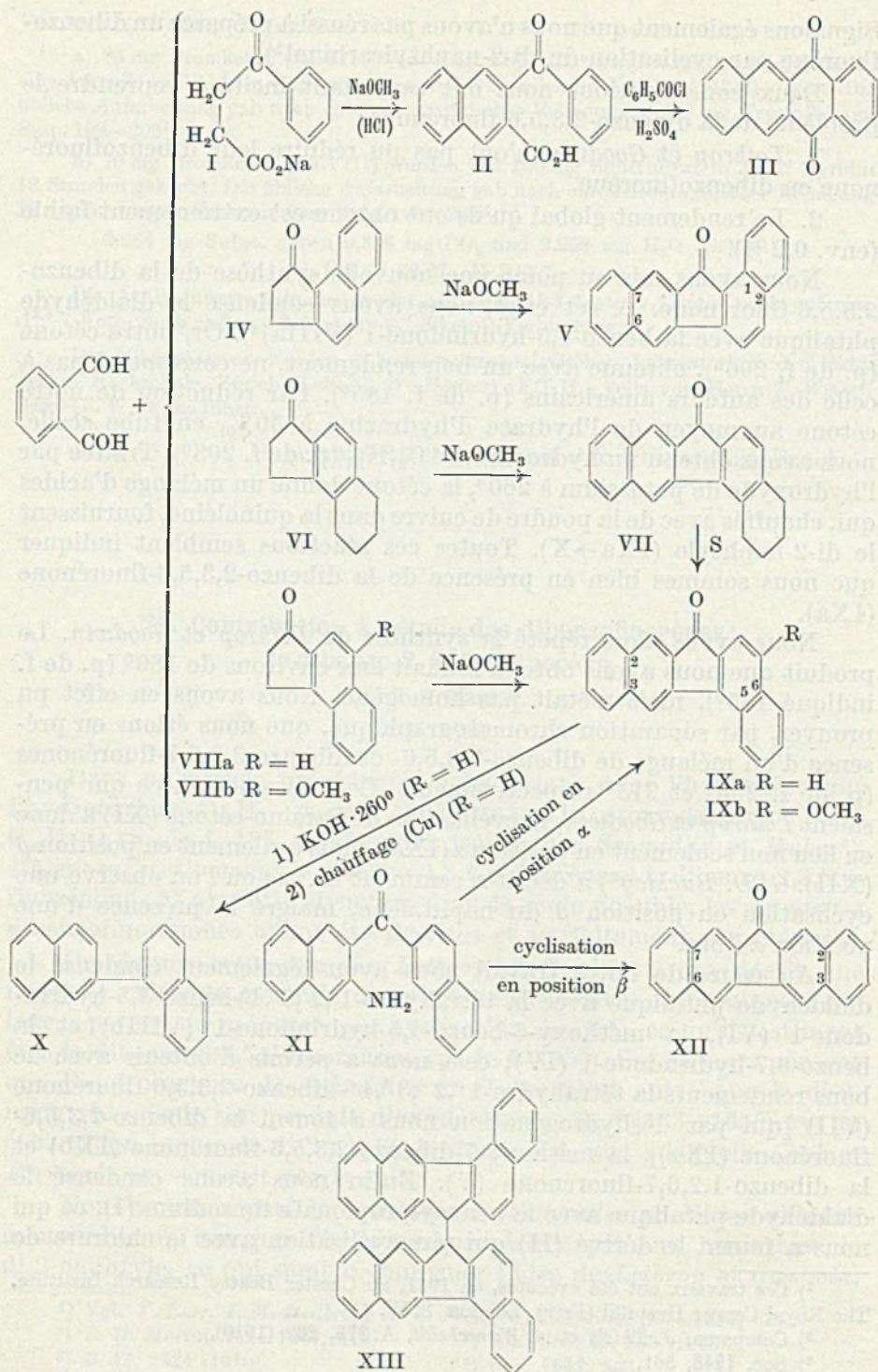
Nous avons alors répété la synthèse de *Lothrop* et *Goodwin*. Le produit que nous avons obtenu fondait aux environs de 180° (p. de f. indiqué 185°), mais n'était pas homogène. Nous avons en effet pu prouver, par séparation chromatographique, que nous étions en présence d'un mélange de dibenzo-2,3,5,6- et dibenzo-2,3,6,7-fluorénone (p. de f. 206° et 273° respectivement). Contrairement à ce que pensaient *Lothrop* et *Goodwin*, la cyclisation de l'amino-cétone (XI) a donc eu lieu non seulement en position  $\alpha$  (IXa), mais également en position  $\beta$  (XII). *G. D. Buckley*<sup>3</sup>) a décrit récemment un cas où l'on observe une cyclisation en position  $\beta$  du naphthalène, malgré la présence d'une position  $\alpha$  libre.

Au cours de notre travail nous avons également condensé le dialdéhyde phtalique avec la tétrahydro-1',2',3',4'-benzo-4,5-hydrindone-1 (VI), la méthoxy-6-benzo-4,5-hydrindone-1 (VIIIb) et la benzo-6,7-hydrindone-1 (IV); cela nous a permis d'obtenir avec de bons rendements la tétrahydro-1'',2'',3'',4''-dibenzo-2,3,5,6-fluorénone (VII) [qui par déshydrogénation nous a fourni la dibenzo-2,3,5,6-fluorénone (IXa)], la méthoxy-7-dibenzo-2,3,5,6-fluorénone (IXb) et la dibenzo-1,2,6,7-fluorénone (V). Enfin nous avons condensé le dialdéhyde phtalique avec le benzoylpropionate de sodium (I), ce qui nous a fourni le dérivé (II) qui par cyclisation avec le chlorure de

<sup>1</sup>) Ces travaux ont été exécutés, en 1941, au Chester Beatty Research Institute, The Royal Cancer Hospital (Free), London S. W. 3.

<sup>2</sup>) Comparer: *J. Thiele* et *A. Wanscheidt*, A. 376, 269 (1910).

<sup>3</sup>) Soc. 1945, 561.



benzoylé, en présence de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, a donné la benzo-2,3-anthraquinone (III). Par contre, nous n'avons pas réussi, dans un essai préliminaire, à condenser le dialdéhyde phtalique avec le succinate de sodium. Nous espérons reprendre, un jour, cette étude d'une façon plus systématique.

La littérature concernant les sept dibenzofluorénones et dibenzofluorénones théoriquement possibles étant extrêmement confuse, nous pensons utile de donner, ci-joint, un tableau des points de fusion de ces corps avec références aux articles originaux les décrivant.

Dibenzo-	-Fluorénone		-Fluorène	
	P. de f.	Autres références	P. de f.	Autres références
1,2,3,4-	186—187° <sup>1)</sup>		158—159° <sup>2)</sup>	
1,2,5,6-	164—165° <sup>4)</sup>	3)	174—175° <sup>3)</sup>	5) 6) 12)
1,2,6,7-	213—214° <sup>11)</sup>	5) 13)	204—205° <sup>12)</sup>	
1,2,7,8-	265—266° <sup>3)</sup>	5) 7) 8) 9)	234° <sup>7)</sup>	3) 5) 10) 14)
2,3,5,6-	206—207° <sup>13)</sup>		208—209° <sup>13)</sup>	
2,3,6,7-	272—273° <sup>13)</sup>	5)	282,5—283,5° <sup>5)</sup>	12)
3,4,5,6-	222—223° <sup>5)</sup>	3)	152—152,5° <sup>5)</sup>	

## Partie expérimentale.

### Dialdéhyde phtalique.

Nous avons préparé ce dérivé à partir de l'o-xylène<sup>15)</sup> selon les indications de *R. De-lucht*<sup>16)</sup>. Le dialdéhyde cristallise très bien dans le cyclohexane.

### Dibenzo-1,2,6,7-fluorénone (V).

On chauffe à reflux pendant une heure le mélange de 0,5 gr. de dialdéhyde phtalique, de 0,6 gr. de benzo-6,7-hydrindone-1 (IV)<sup>17)</sup> et de 15 cm<sup>3</sup> de méthanol. On introduit

<sup>1)</sup> *F. Koelsch*, Am. Soc. **56**, 480 (1934).

<sup>2)</sup> *E. et F. Bergmann*, Am. Soc. **60**, 1805 (1938).

<sup>3)</sup> *G. Swain et A. R. Todd*, Soc. **1941**, 674.

<sup>4)</sup> *G. M. Badger*, Soc. **1941**, 535.

<sup>5)</sup> *R. H. Martin*, Soc. **1941**, 679.

<sup>6)</sup> *J. W. Cook, A. Dansi, C. L. Hewett, J. Iball, W. V. Mayneord et (Miss) E. Roe*, Soc. **1935**, 1319.

<sup>7)</sup> *A. E. Tschitschibabin et O. J. Magidson*, J. pr. [2] **90**, 168 (1914).

<sup>8)</sup> *J. Schmidlin et M. Huber*, B. **43**, 2824 (1910).

<sup>9)</sup> *A. Wanscheidt*, B. **59**, 2092 (1926).

<sup>10)</sup> *J. Schmidlin et P. Massini*, B. **42**, 2377 (1909).

<sup>11)</sup> *G. D. Buckley*, Soc. **1945**, 561.

<sup>12)</sup> *J. W. Cook et W. G. Preston*, Soc. **1944**, 553.

<sup>13)</sup> *R. H. Martin*, Helv. **30**, 620 (1947).

<sup>14)</sup> *Buu-Hoï et P. Cagniant*, C. r. **216**, 299 (1943).

<sup>15)</sup> Nous remercions très vivement la *CIBA Société Anonyme* à Bâle qui nous a fourni gracieusement ce dérivé.

<sup>16)</sup> *Ann. chim.* [11] **1**, 181 (1934).

<sup>17)</sup> *J. W. Cook et C. L. Hewett*, Soc. **1933**, 1098.

ensuite, par petites portions, 3,5 cm<sup>3</sup> d'une solution de 0,3 gr. de sodium dans 5 cm<sup>3</sup> de méthanol. Un précipité jaune se sépare peu après l'adjonction du méthylate de sodium. On chauffe encore une demi-heure, puis on refroidit et on essore le produit de réaction (0,6 gr.; p. de f. 210—212°). Après cristallisation dans l'acide acétique glacial, puis dans le xylène, la dibenzo-1,2,6,7-fluorénone, qui se présente sous forme de prismes jaune-orange, fond à 213—213,5°. Le point de fusion n'est pas abaissé par mélange avec un échantillon de dibenzo-1,2,6,7-fluorénone synthétisée par une méthode totalement différente<sup>1</sup>). Les deux échantillons donnent, en outre, une coloration absolument identique, avec l'acide sulfurique concentré.

*Tétrahydro-1', 2', 3', 4'-benzo-4, 5-hydrindone-1* (VI).

Nous avons préparé ce dérivé par cyclisation du chlorure de tétrahydro-5,6,7,8-naphtalène-1- $\beta$ -propionyle<sup>2</sup>) en présence de chlorure d'aluminium dans le benzène anhydre (18 heures à la température de la chambre et une demi-heure à 35°). Le produit de réaction cristallise dans l'éther de pétrole (p. d'éb. 55—75°) sous forme d'aiguilles incolores fondant à 62—63°. Rendement: 70%. *Seijo* a obtenu un rendement supérieur en employant le chlorure d'étain(IV) au lieu du chlorure d'aluminium. (Communication personnelle.)

*Tétrahydro-1'', 2'', 3'', 4''-dibenzo-2, 3, 5, 6-fluorénone* (VII).

On chauffe à reflux pendant une heure le mélange de 0,2 gr. de dialdéhyde phtalique, 0,2 gr. de tétrahydro-1', 2', 3', 4'-benzo-4,5-hydrindone-1 et de 2,5 cm<sup>3</sup> de méthanol. On ajoute ensuite, par petites portions, 1,4 cm<sup>3</sup> d'une solution de 0,3 gr. de sodium dans 5,2 cm<sup>3</sup> de méthanol. On chauffe encore trois heures, puis on refroidit et l'on essore le produit de réaction (0,25 gr.; p. de f. env. 165°). Les eaux-mères sont diluées avec de l'eau et le solide qui se sépare, est essoré. La fluorénone ainsi obtenue cristallise dans un mélange benzène-méthanol sous forme de fines aiguilles jaunes fondant à 171,5—172,5°.

C <sub>21</sub> H <sub>16</sub> O	Calculé C	88,7	H	5,6%
	Trouvé	88,55	5,6%	5,6%

*Dibenzo-2, 3, 5, 6-fluorénone* (IXa).

(1) *Par déshydrogénation de* (VII).

On chauffe pendant 20 min. à 240° le mélange de 50 mgr. de (VII) et de 10 mgr. de soufre. La solution benzénique du produit de réaction est passée à travers une colonne d'oxyde d'aluminium. La fluorénone forme une bande rouge foncé, fortement adsorbée. Lorsqu'on élue le produit par l'éther pur, la couleur vire au saumon. La solution étherée de la fluorénone est jaune. La dibenzo-2,3,5,6-fluorénone cristallise dans l'acide acétique glacial sous forme d'aiguilles jaunes fondant à 206—207° (20 mgr.). Le point de fusion n'est pas abaissé par mélange avec l'échantillon obtenu selon la méthode (2). En outre, les deux échantillons donnent la même coloration brun-rouge avec l'acide sulfurique concentré.

(2) *Par condensation du dialdéhyde phtalique avec* (VIIIa).

Nous avons préparé la benzo-4,5-hydrindone-1 (VIIIa) avec un assez mauvais rendement (20%), par déshydrogénation de (VI) au moyen de soufre. Le point de fusion

<sup>1</sup>) *R. H. Martin*, Soc. 1941, 679. Le point de fusion (non corr.) indiqué dans cet article est de 210°. *G. D. Buckley* [Soc. 1945, 561] qui a simplifié un peu notre synthèse, donne comme point de fusion 213—214°. Nous trouvons maintenant comme point de fusion de notre échantillon original 213—213,5°. Le point de fusion de la dibenzo-2,3,6,7-fluorénone indiqué dans le premier article semble également un peu trop bas: 279—280° au lieu 282—283,5°.

<sup>2</sup>) Nous remercions le Dr. *Seijo* (Oxford) de nous avoir fourni l'acide correspondant qu'il avait préparé par hydrogénation catalytique, sous pression, de l'acide naphtalène-1- $\beta$ -propionique.

(120°) et les propriétés générales du produit de réaction correspondent exactement aux données de la littérature<sup>1</sup>).

La condensation de (VIIIa) avec le dialdéhyde phtalique se fait dans des conditions identiques à celles employées pour la préparation de (VII). On obtient à partir de 0,9 gr. de benzo-4,5-hydrindone-1 et de 0,8 gr. de dialdéhyde phtalique, 1,1 gr. de produit fondant à 203—204°. La dibenzo-2,3,5,6-fluorénone cristallise dans l'acide acétique glacial sous forme de fines aiguilles jaunes fondant à 206,5—207,5°.

$C_{21}H_{12}O$	Calculé C 90,0	H 4,3%
	Trouvé „ 90,1	„ 4,4%

*Synthèse de Lothrop et Goodwin<sup>2</sup>: purification du produit final.*

Le produit (p. de f. 180°) obtenu par cyclisation de l'amino-cétone (XI) est dissous dans le benzène. On fait passer cette solution à travers une colonne d'oxyde d'aluminium et on élue les produits adsorbés d'abord avec un mélange benzène-éther (1:1) puis avec de l'éther pur. On obtient ainsi quatre fractions distinctes:

1. Une fraction jaune pâle, présentant en lumière ultra-violette une faible fluorescence bleue en solution;
  2. Une fraction orange-jaune présentant une fluorescence verte en solution (U.V.);
  3. Une fraction jaune présentant une fluorescence bleue en solution (U.V.);
  4. Une fraction orange présentant une fluorescence verte en solution (U.V.).
1. Après évaporation du solvant, il ne reste qu'un résidu insignifiant.
2. La solution est évaporée et le résidu cristallisé dans l'acide acétique glacial. Le produit cristallise sous forme d'aiguilles jaunes fondant à 207°. Ce point de fusion n'est pas abaissé par mélange avec un échantillon de dibenzo-2,3,5,6-fluorénone de p. de f. 206,5—207,5° (voir ci-dessus). Les deux échantillons donnent une coloration brun-rouge, absolument identique, avec l'acide sulfurique concentré.
- 3 et 4. La séparation de ces deux fractions n'ayant pas été très nette, on les réunit et on les chromatographie à nouveau comme précédemment.

La fraction principale, présentant une fluorescence verte en solution (U.V.), donne par évaporation et cristallisation dans l'acide acétique glacial de fines aiguilles jaunecanari fondant à 267—269°. Le mélange de ce corps avec un échantillon de dibenzo-2,3,6,7-fluorénone de p. de f. 273—274° (voir note <sup>1</sup>), p. 624) fond à 272—273°. Les deux échantillons donnent une coloration brun foncé identique, avec l'acide sulfurique concentré.

*Dibenzo-2,3,5,6-fluorène.*

On chauffe à 220° dans un tube scellé 0,12 gr. de (IXa) avec 0,5 cm<sup>3</sup> d'hydrate d'hydrazine à 50% pendant sept heures. Le produit de réaction est extrait au benzène. Le solide (a), qui ne se dissout pas, est filtré. La solution benzénique est lavée à l'eau et séchée. Le solvant est évaporé et le résidu sublimé à 200°/0,3 mm. Le produit de la sublimation, légèrement jaune, est dissous dans le benzène. La solution benzénique est passée à travers une colonne d'oxyde d'aluminium. La fraction, présentant une forte fluorescence bleue (U.V.), est recueillie séparément. La majeure partie du benzène est distillée. On ajoute du méthanol à la solution chaude et on laisse cristalliser. L'hydrocarbure est essoré et cristallisé encore deux fois dans un mélange benzène-méthanol. Le dibenzo-2,3,5,6-fluorène se présente sous forme de fines aiguilles blanches fondant à 208—209°.

$C_{21}H_{14}$	Calculé C 94,7	H 5,3%
	Trouvé „ 94,85	„ 5,2%

<sup>1</sup>) J. W. Cook et C. L. Hewett, Soc. 1934, 365; L. F. Fieser et M. D. Gates, Am. Soc. 62, 2335 (1940); W. S. et H. C. E. Johnson et J. W. Peterson, Am. Soc. 67, 1360 (1945); K. Meyer et T. Reichstein, Pharm. acta Helv. 19, 127 (1944).

<sup>2</sup>) Am. Soc. 65, 363 (1943).

Solide (a). Le produit incolore, insoluble dans le benzène, est cristallisé dans le xylène. Il se sépare sous forme d'une poudre micro-cristalline blanche, fondant avec décomposition, au bloc, à 300—302°. Ce dérivé ne donne pas de coloration avec l'acide sulfurique concentré.

$C_{91}H_{14}$	Calculé C	94,7	H	5,3	%
$C_{42}H_{28}$	,,	,,	95,1	,,	4,9
	Trouvé	,,	94,6	,,	5,25

Par analogie avec les résultats obtenus par Cook et Preston<sup>1)</sup> dans le cas de la réduction de la dibenzo-2,3,6,7-fluorénone, nous pensons que ce produit est le tétrabenzo-2,3,5,6,2',3',5',6'-di-9,9'-fluorényle (XIII).

*Dégradation de la dibenzo-2,3,5,6-fluorénone (IXa → X).*

*Fusion potassique.*

Au cours d'une demi-heure, on ajoute 0,5 gr. de dibenzo-2,3,5,6-fluorénone en poudre à 3 gr. d'hydroxyde de potassium à 260—270°. On chauffe encore une demi-heure à cette température, en remuant bien. Le mélange d'acides est purifié par dissolution dans une solution aqueuse de carbonate de sodium, traitement par le noir animal et cristallisation dans l'acide acétique glacial. On obtient un mélange de deux formes de cristaux, qui fond aux environs de 160—162°.

*Décarboxylation.*

Le mélange d'acides ci-dessus perd une molécule d'anhydride carbonique lorsqu'on le chauffe avec 10 parties de quinoléine et 0,5 partie de poudre de cuivre pendant une heure à 240—250°. Le produit de réaction est adsorbé sur une colonne d'aluminium, en solution dans un mélange benzène-éther de pétrole. On fait ensuite passer du benzène pur et l'on recueille séparément la fraction présentant une forte fluorescence bleue (U.V.). Le produit, obtenu après distillation du benzène, cristallise par frottement. Il fond à 75—76°. C'est du di-1,2'-naphtyle. Cristallisé dans l'éther de pétrole (p. d'éb. 40—60°), il se sépare sous forme de prismes blancs, fondant à 75—76°<sup>2)</sup>. Le dipicrate préparé dans l'alcool, en présence d'un excès d'acide picrique, fond à 125—126°<sup>2)</sup>.

*Méthoxy-7-dibenzo-2,3,5,6-fluorénone (IXb).*

La condensation de la méthoxy-6-benzo-4,5-hydrindone-1 (VIIIb)<sup>3)</sup> avec le dialdéhyde phtalique donne un rendement presque quantitatif. La fluorénone (IXb) cristallise dans le xylène sous forme d'aiguilles rouge-orange, fondant, au bloc, à 273—274°. Cette cétone donne une coloration rouge-bordeau avec l'acide sulfurique concentré.

$C_{22}H_{14}O_2$	Calculé C	85,15	H	4,5	%
	Trouvé	,,	84,9	,,	4,4

*Acide benzoyl-3-naphtoïque-2 (II).*

On chauffe à reflux le mélange de 0,4 gr. de dialdéhyde phtalique, de 0,5 gr. d'acide benzoyl-β-propionique, de 3 cm<sup>3</sup> de méthanol et de 1,6 cm<sup>3</sup> d'une solution de 0,4 gr. de sodium dans 10 cm<sup>3</sup> de méthanol. Après une demi-heure on ajoute, par petites portions, 3,3 cm<sup>3</sup> de la solution de méthylate de sodium. On continue à chauffer pendant trois heures. La solution froide est diluée avec de l'eau et extraite à l'éther. On traite la solution alcaline à chaud par le noir animal. L'acide benzoyl-3-naphtoïque-2, précipité par l'acide chlorhydrique, est essoré et cristallisé une fois dans le xylène. Rendement: 0,3 gr.; p. de f. 200—205°<sup>4)</sup>. Cet acide donne une coloration rouge avec l'acide sulfurique concentré.

<sup>1)</sup> Soc. 1944, 553.

<sup>2)</sup> S. C. Hooker et L. F. Fieser, Am. Soc. 58, 1216 (1936).

<sup>3)</sup> R. H. Martin et (Sir) R. Robinson, Soc. 1943, 497.

<sup>4)</sup> C. Wermann et E. et F. Bergmann, Soc. 1935, 1367.

*Benzo-2,3-anthraquinone* (III).

On chauffe l'acide ci-dessus, dissous dans du chlorure de benzoyle, contenant une goutte d'acide sulfurique concentré, pendant une demi-heure à 130—150°<sup>1</sup>). Le produit de réaction neutre cristallise dans l'alcool amylique sous forme d'aiguilles jaune paille, fondant, au bloc, à 285°<sup>2</sup>). Cette benzanthraquinone donne une coloration violet foncé avec l'acide sulfurique concentré.

Ces travaux ont été exécutés grâce à une bourse de la «*Fondation pour des recherches scientifiques dans le domaine de la chimie*». Nous remercions très vivement le comité de cette fondation pour l'appui généreux qu'elle nous a donné.

Nous exprimons également notre reconnaissance à Monsieur le Professeur *E. Cherbuliez* pour l'intérêt qu'il nous a témoigné.

## RÉSUMÉ.

1. La dibenzo-2,3,5,6-fluorénone a été synthétisée par condensation du dialdéhyde phtalique avec la benzo-4,5-hydrindone-1. La réduction de ce dérivé a fourni le dibenzo-2,3,5,6-fluorène. La structure de la cétone a été confirmée par dégradation.

2. Le mode de synthèse ci-dessus a permis de préparer d'autres dibenzofluorénone ainsi que la benzo-3,4-anthraquinone.

Laboratoire de Chimie organique et pharmaceutique de  
l'Université de Genève.

### 80. Stoffwechselprodukte des Mikroorganismus *Phycomyces Blakesleeanus* in glucosehaltiger Nährlösung und Untersuchungen über das Wachstum dieses Schimmelpilzes bei verschiedenen Stickstoffquellen<sup>3</sup>)

von Karl Bernhard und Hans Albrecht.

(11. II. 47.)

Nach Untersuchungen von *Schopfer*<sup>4</sup>) gehört der Schimmelpilz *Phycomyces Blakesleeanus* zu den auxo-heterotrophen Organismen: er benötigt als wichtigsten Wuchsstoff das Aneurin oder an dessen Stelle äquimolekulare Mengen Thiazol und Pyrimidin.

Wir züchteten diesen Mikroorganismus in einer Nährlösung, enthaltend 50 g Glucose, 2 g *l*-Asparagin, 1 g Hefeextrakt, 0,5 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 1,5 g  $KH_2PO_4$  und 50  $\gamma$  Aneurin pro 1 Liter Wasser, und versuchten, in der Kulturflüssigkeit auftretende Stoffwechselprodukte nachzuweisen.

<sup>1</sup>) *H. Waldmann*, J. pr. [2] 150, 121 (1938).

<sup>2</sup>) *C. Wermann* et *E. et F. Bergmann*, Soc. 1935, 1367.

<sup>3</sup>) Teilweise vorgetragen an der 27. Tagung des Schweiz. Vereins der Physiologen und Pharmakologen am 30. Juni 1945 in Bern.

<sup>4</sup>) *W. H. Schopfer*, Arch. Mikrobiol. 5, 511 (1934).



Nach beendigtem Wachstum trennten wir die Pilze von der Nährlösung. Letztere war gelb bis braun-gelb, wurde mit Eisen(III)-chlorid blau-violett und schliesslich schwarz. Beim Schütteln mit verdünnter Lauge färbte sie sich rotbraun. Wir haben einen Teil nach Ansäuern ausgeäthert. Die eingeeengten Extrakte ergaben einen dunkelbraunen Rückstand. Durch Behandlung mit Hydrogencarbonatlösung daraus abgetrennte saure Anteile wurden in ätherischer Lösung mit Diazomethan versetzt. Es bildete sich eine zähflüssige, schwach gelbliche Verbindung, welche wir vorsichtig mit Kalilauge erwärmten. Das Verseifungsprodukt reinigten wir durch Sublimation und mehrmaliges Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol. Es schmolz bei 247° und erwies sich identisch mit 3-Oxy-4-methoxybenzoesäure. Die Isolierung reiner Protocatechusäure oder 3,4-Dioxybenzoesäure gelang nur in sehr kleinen Mengen.

Ferner fällten wir zur *Phycomyces*-Züchtung benützte Nährlösung mit Bleiacetat und erhielten nach Ausäthern des mit Säure zersetzten Niederschlages einen braunen Rückstand, den wir in wässriger Lösung mit Tierkohle behandelten. Es ergaben sich braune Krystalle, die aus Alkohol, dann aus absolutem Methanol und Chloroform umkrystallisiert, reine Gallussäure darstellten. Einen Teil führten wir zur Identifizierung in 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure und eine kleine Menge in den *p*-Phenylphenacyl-ester der 3,4,5-Trioxybenzoesäure über.

Ketosäuren konnten mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin aus der Nährlösung nicht isoliert werden. Ebensowenig liess sich Citronensäure nach der Methode von *Stahre*<sup>1)</sup> nachweisen.

Protocatechusäure und Gallussäure sind somit Glucose-Stoffwechselprodukte des Schimmelpilzes *Phycomyces Blakesleeanus*. Weitere Oxybenzoesäuren, die Gentsinsäure und die 2-Oxy-6-methylbenzoesäure, haben *Raistrick* und *Simonart*<sup>2)</sup> aus der *Czapek-Dox*-Nährlösung nach Züchtung von *Penicillium griseo-fulvum* *Dierckx* isoliert.

Es schien uns interessant, das Pilzwachstum in seiner Abhängigkeit von verschiedenen Stickstoffquellen zu verfolgen. Von *Schopfer*<sup>3)</sup> liegen Befunde über die Ausnützung von Pepton, Harnstoff, Ammoniak, Ammoniumsulfat, Glykokoll, Alanin und Valin als N-Donatoren vor. Uracil, Alloxan und Alloxanthin werden als ungeeignet, Purine als teilweise sehr gut geeignet bezeichnet<sup>4)</sup>. *Leonian* und *Lilly*<sup>5)</sup> beobachteten unter Verwendung von Arginin schlechtes, von *d,l*-

<sup>1)</sup> *Stahre*, cit. nach *H. Meyer*, Nachweis und Bestimmung organischer Verbindungen, Berlin 1933, Fussnote S. 162.

<sup>2)</sup> *H. Raistrick* and *P. Simonart*, *Biochem. J.* **27**, 628 (1933); *W. K. Anslow* and *H. Raistrick*, *Biochem. J.* **25**, 39 (1931).

<sup>3)</sup> *W. H. Schopfer*, *C. r.* **203**, 201 (1936).

<sup>4)</sup> *W. H. Schopfer*, *Protoplasma* **28**, 381 (1937).

<sup>5)</sup> *L. H. Leonian* and *V. G. Lilly*, *Am. J. Botany* **27**, 18 (1940).

Alanin mässiges, von Asparaginsäure, Glutaminsäure oder Glykokoll gutes Wachstum. In Nährlösungen, die 2,5% Dextrose und 0,25% Ammoniumnitrat enthielten, konnte nach Zugabe von Fumar-, Citronen- oder Bernsteinsäure gleichfalls gutes Wachstum erzielt werden. Etwas weniger vorteilhaft erwiesen sich Glutar-, Wein- und Essigsäure. Versuche mit Ammoniumnitrat und den Natriumsalzen organischer Säuren (Natrium-acetat, -tartrat, -succinat und -fumarat) liegen von *Burkholder* und *McVeigh* vor<sup>1)</sup>.

Phycomyces-Wachstum in Nährlösungen enthaltend Ammoniumsalze biologisch wichtiger Di- und Tricarbonsäuren usw.

Verbindung	pH der Nährlösung nach Pilzwachstum		mittleres Gewicht der Pilze mg		Wachstum bezogen auf <i>l</i> -Asparagin = 100	
	Versuch		Versuch		Versuch	
	I	II	I	II	I	II
<i>l</i> -Asparagin . . . . .	2,5	2,6	192	191	100	100
<i>d</i> , <i>l</i> -Asparagin . . . . .	2,6	2,7	172	169	90	88
Asparaginsäure + NH <sub>3</sub> . . . . .	2,6	2,6	176	168	92	88
<i>d</i> -Alanin . . . . .	—	2,6	—	157	—	82
Ammoniumsalz der						
Fumarsäure . . . . .	2,4	2,6	154	159	80	83
Bernsteinsäure . . . . .	2,3	2,2	141	146	74	76
Äpfelsäure . . . . .	2,3	2,5	141	150	74	78
Glutaminsäure . . . . .	2,6	2,8	144	145	75	76
Weinsäure . . . . .	2,3	2,3	143	143	75	75
Citronensäure . . . . .	2,5	2,5	123	130	64	68
Milchsäure . . . . .	2,5	2,7	119	125	62	65
Essigsäure . . . . .	2,7	2,8	120	116	62	61
Aconitsäure, trans. . . . .	—	2,5	—	109	—	57
Glutarsäure . . . . .	2,5	2,7	105	106	55	55
Adipinsäure . . . . .	2,8	2,8	89	94	46	49
Brenztraubensäure . . . . .	ca. 3	—	81	—	42	—
Malonsäure . . . . .	2,7	2,7	79	93	41	48
Propionsäure . . . . .	—	2,6	—	83	—	43
Maleinsäure . . . . .	2,7	2,5	65	77	34	40
Citraconsäure . . . . .	—	2,8	—	44	—	23
Oxalsäure . . . . .	3,4	3,3	34	35	18	18
<i>d</i> , <i>l</i> -Leucin . . . . .	—	2,9	—	49	—	26
<i>d</i> , <i>l</i> -Phenylalanin . . . . .	—	3,4	—	29	—	15
Ammoniumcarbonat . . . . .	2,6	—	44	—	23	—
Ammoniumsulfat . . . . .	ca. 3	—	28	—	15	—

Wir prüften, ob auch die Ammoniumsalze biologisch wichtiger Di- und Tricarbonsäuren oder diejenigen von Oxy-

<sup>1)</sup> P. R. Burkholder and I. McVeigh, Am. J. Botany 27, 634 (1940).

säuren das *l*-Asparagin zu ersetzen vermögen, und haben daher an seiner Stelle je 2 g einer in der Tabelle genannten Verbindungen der eingangs erwähnten Nährlösung zugefügt. Von diesen verschiedenen Nährlösungen impften wir je 10 Proben nach vorangegangener Sterilisation mit frischen Sporen. Das Wachstum der 190 Kulturen der ersten Versuchsreihe erfolgte während 6 Tagen bei 19—21° und anschliessend während 5 Tagen bei 14—16°. Für die 220 Kulturen des zweiten Versuches betrug die Raumtemperatur 10 Tage einheitlich 20°. Die  $p_H$ -Werte hielten sich im Zeitpunkt der Impfung in den Grenzen von 4,8—5,1; nach beendetem Pilzwachstum waren alle Nährlösungen stärker sauer (vgl. Tabelle).

Die erhaltenen Pilze wurden auf der Nutsche abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und im Exsikkator bzw. im Trockenschrank zur Gewichtskonstanz gebracht. Sie wogen bei den Kontrollversuchen mit *l*-Asparagin durchschnittlich 192 bzw. 191 mg. Diese Werte benützten wir als Vergleichsbasis für das *Phycomyces*-Wachstum in den übrigen Nährlösungen. Letzteres ist bei Verwendung von *d,l*-Asparagin oder des Ammoniumsalzes der Asparaginsäure nur wenig geringer. Von weiteren Aminosäuren zeigen *d*-Alanin und Glutaminsäure als Ammoniumsalz günstige, *d,l*-Phenylalanin und *d,l*-Leucin ungünstige Wirkung. Bei den Ammoniumsalzen der Dicarbonsäuren erzielten wir mit der Bernsteinsäure die besten Erfolge, dann folgen Glutar-, Adipin- und Malonsäure, während Citracon- und Oxalsäure ungeeignet sind. Oxy-dicarbonsäuren wie Weinsäure und Äpfelsäure verhalten sich etwa wie die Bernsteinsäure, desgleichen von den ungesättigten Dicarbonsäuren die Fumarsäure, nicht aber das Ammoniumsalz der Maleinsäure. Von den Tricarbonsäuren ermöglicht die Citronensäure etwas besseres Wachstum als die *trans*-Aconitsäure. Die Ammoniumsalze der Essig- und Milchsäure verhalten sich untereinander etwa gleich, ebenso diejenigen der Propion- und Brenztraubensäure. Nur schlechtes Wachstum erzielten wir mit Ammoniumcarbonat und Ammoniumsulfat als Stickstoffquellen.

### Experimentelles.

Eine grössere Menge Nährlösung (70 l) wurde nach beendetem Pilzwachstum im Vakuum auf 3,5 l eingeengt, mit Salzsäure angesäuert und erschöpfend mit Äther extrahiert. Letzterer hinterliess 9,64 g dunkelbraune, feste Masse. Zur Abtrennung saurer Anteile behandelten wir diesen wieder in Äther aufgenommenen Rückstand mit einer wässrigen Lösung von Natriumhydrogencarbonat und schüttelten nach erfolgtem Ansäuern diese Auszüge mit Äther aus. Ein kleiner Teil dieses Extraktes wurde vom Lösungsmittel befreit und in Wasser aufgenommen. Nach Zugabe von Eisen(III)-chlorid trat grün-blaue, mit Soda blaue, dann violette und schliesslich rote Färbung ein in Übereinstimmung mit dem Verhalten aus Chinasäure synthetisierter Protocatechusäure. Die Hauptmenge der ätherischen Lösung haben wir mit Natriumsulfat gut getrocknet und mit einer ätherischen Lösung von Diazomethan versetzt. Nach 20-stündigem Aufenthalt im Eisschrank und 4-stündigem Stehen bei 20° dampften wir das überschüssige Diazomethan ab. Das Methylderivat, welches mit Eisen(III)-chlorid keine charakteristische Fär-

bung ergab, erwies sich als in Wasser unlöslich und gegen Luftsauerstoff beständig. Es liess sich im Vakuum (0,01 mm Hg) bei 100—120° destillieren, ohne fest zu werden. Nach Behandlung mit 3-proz. methanolischer Kalilauge zur Verseifung eventuell vorhandenen Methylesters wurde ein festes Produkt erhalten, das im Hochvakuum bei 100—130° sublimierte, in Wasser löslich war und keine Eisen(III)-chlorid-Reaktion gab. Nach wiederholtem Umkrystallisieren aus absolutem Äther lag der Schmelzpunkt bei 246—247°.

3,763 mg Subst. gaben 7,89 mg CO<sub>2</sub> und 1,64 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 57,12 H 4,80% Äquiv.-Gew. 168,1  
Gef. „ 57,19 „ 4,87% „ „ 167,4

Wir haben zum Vergleich aus Chinasäure hergestellte Protocatechusäure in analoger Weise mit Diazomethan methyliert. Die erhaltene 3-Oxy-4-methoxy-benzoessäure schmolz bei 245—247°.

4,274 mg Subst. gaben 8,97 mg CO<sub>2</sub> und 1,86 mg H<sub>2</sub>O

Gef. C 57,25 H 4,86%

Im Mischschmelzpunkt trat mit der aus der Nährlösung erhaltenen Verbindung keine Erniedrigung ein. Das aufgearbeitete Kulturfiltrat mochte etwa 2 g Protocatechusäure enthalten.

Nach Zugabe von 75 cm<sup>3</sup> konz. Bleiacetatlösung zu 16,5 l von den Pilzen befreiter Nährlösung erhielten wir eine Fällung, die abfiltriert, in Wasser suspendiert mit Salzsäure zersetzt wurde. Die saure Lösung haben wir zusammen mit dem ausgefallenen Bleichlorid in einem Extraktionsapparat während 30 Stunden mit Äther ausgezogen und nach Eindampfen des Lösungsmittels 2,67 g braunen, festen Rückstand bekommen. Wir haben ihn in wässriger Lösung mit Tierkohle erwärmt und erzielten damit eine geringe Reinigung. Es ergaben sich braune Krystalle, die in Äthanol nochmals mit Kohle gereinigt und dann zweimal aus absolutem Methanol und Chloroform umkrystallisiert wurden. Vor der Analyse haben wir die Verbindung 5 Stunden in der Wasserpistole über Phosphorpentoxyd getrocknet. Feine Nadelchen, Fließpunkt 235—240° unter Zersetzung, im Mischschmelzpunkt mit Gallussäure keine Erniedrigung.

3,824 mg Subst. gaben 6,95 mg CO<sub>2</sub> und 1,27 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 49,40 H 3,56%  
Gef. „ 49,56 „ 3,71%

Ausbeute an Gallussäure ca. 2 g.

Methylderivat: 1,8 g Rohprodukt wurden in 16,4 cm<sup>3</sup> 10-proz. Natronlauge gelöst, mit 5,9 g Dimethylsulfat versetzt und auf dem Wasserbad im Stickstoffstrom 3 Stunden erhitzt. Zur Zersetzung überschüssigen Dimethylsulfates fügten wir nochmals Natronlauge zu und erwärmten während einer weiteren Stunde. Nach Abkühlen schüttelten wir die alkalische Lösung mit Äther aus, säuerten mit Schwefelsäure an und extrahierten erneut mit Äther. Diese ätherische Lösung wurde mit verdünnter Säure und dann mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Den erhaltenen braunen Rückstand krystallisierten wir aus Wasser um und sublimierten die braunen Krystalle bei 130—138° und 12 mm Hg. Schmelzpunkt des Sublimates (farblose, grosse Nadeln) 145—148°, nach Umkrystallisieren aus Wasser 160—163°, aus Äther 167—168°.

Vor der Analyse wurde die Verbindung aus Chloroform-Petroläther umkrystallisiert:

4,061 mg Subst. gaben 8,42 mg CO<sub>2</sub> und 2,02 mg H<sub>2</sub>O

4,511 mg Subst. gaben 14,38 mg AgJ

8,94 mg Subst. in 7 cm<sup>3</sup> heiss neutralisiertem Wasser gelöst und bei Siedehitze titriert, verbrauchten 0,426 cm<sup>3</sup> 0,01-n. NaOH.

C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 56,57 H 5,70 OCH<sub>3</sub> 43,8% Äquiv.-Gew. 212,1  
Gef. „ 56,54 „ 5,56 „ 42,1% „ „ 209,9

Schmelzpunkt der 3,4,5-Trimethoxy-benzoessäure: 169—170°<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> *Beilstein*, Ergbd. 10, 240.

## p-Phenyl-phenacylester der Gallussäure.

64 mg der erhaltenen Säure wurden mit 3,5 cm<sup>3</sup> 0,1-n. Natronlauge neutralisiert, eingedampft und im Vakuum bei 100° getrocknet. Wir fügten eine Lösung von 120 mg p-Phenyl-phenacylbromid in 15 cm<sup>3</sup> 90-proz. Alkohol (das Natriumgallat ist in absolutem Alkohol unlöslich) hinzu und erwärmten 2 Stunden am Rückflusskühler. Das Reaktionsgemisch wurde mit Tierkohle kurz aufgekocht und heiss filtriert. Zum Filtrat gaben wir bis zu leichter Trübung Wasser und liessen es im Eisschrank einige Stunden stehen. Zuerst erhielten wir eine amorphe Fällung; nach weiterer Wasserzugabe und längerem Aufenthalt im Eisschrank bildete sich ein krystallischer Niederschlag. Er konnte von der amorphen Fällung getrennt werden. Schmelzpunkt 191—193°, unter Zersetzung. Aus 85-proz. Alkohol umkrystallisiert, schmolzen die Krystalle bei 192—194° (korr. 196—198°). *Drake* und *Sweeney*<sup>1)</sup> fanden 195—198°.

Der der Nährlösung zugefügte Hefetrockenextrakt enthielt pro 1 g rund 700 mg Wasserlösliches. Zugabe von Eisen(III)-chlorid oder Lauge zur gelben Lösung bewirkte keine Farbänderung, ebensowenig das Aufkochen mit 20-proz. Salzsäure und anschliessende Versetzen mit Lauge. Damit dürfte eine Herkunft der aufgefundenen Oxybenzoesäuren aus dem verwendeten Hefeextrakt auszuschliessen sein.

Wachstumsversuche: Die *Phycomyces*-Reinkulturen wurden uns in liebenswürdiger Weise vom Direktor des Botan. Gartens Bern, Herrn Prof. Dr. W. H. Schopfer, zur Verfügung gestellt. Wir haben sie nach seinen Angaben auf Malzextrakt-haltigem Agar-Agar gezüchtet. Zur Anlegung unserer Kulturen verwendeten wir die in Wasser suspendierten Sporen. Die Züchtung erfolgte in *Erlenmeyer*-Kolben, enthaltend 25 cm<sup>3</sup> Nährlösung. Die Ammoniumsalze haben wir durch sorgfältige Pufferung der organischen Säuren mit Ammoniak erhalten.

Der *Stiftung für wissenschaftliche Forschung* an der Universität Zürich danken wir für eine erhaltene Subvention.

Zürich, Physiol.-chemisches Institut der Universität.

### 81. Versuche zur Herstellung von 3,4-Diacetyl-*d*-chinovosan- $\alpha\langle 1,2\rangle\beta\langle 1,5\rangle$

von E. Hardegger und R. M. Montavon.

(11. II. 47.)

Vor 25 Jahren beschrieb *Percy Brigl*<sup>2)</sup> ein aus verschiedenen Gründen interessantes Anhydrid der *d*-Glucose, das 3,4,6-Triacetyl-*d*-glucosan  $\alpha\langle 1,2\rangle\beta\langle 1,5\rangle$  (VIIIa). Dieses sogenannte „*Brigl*-Anhydrid“ (VIIIa) ist eines der wenigen Zucker-anhydride<sup>3)</sup> mit einem Äthylenoxyd-ring. Bemerkenswert ist die aussergewöhnliche Leichtigkeit, mit der das *Brigl*-Anhydrid mit primären und sekundären Carbinolen unter Bildung von Glucosiden reagiert<sup>2)4)</sup>. Die von *Brigl*

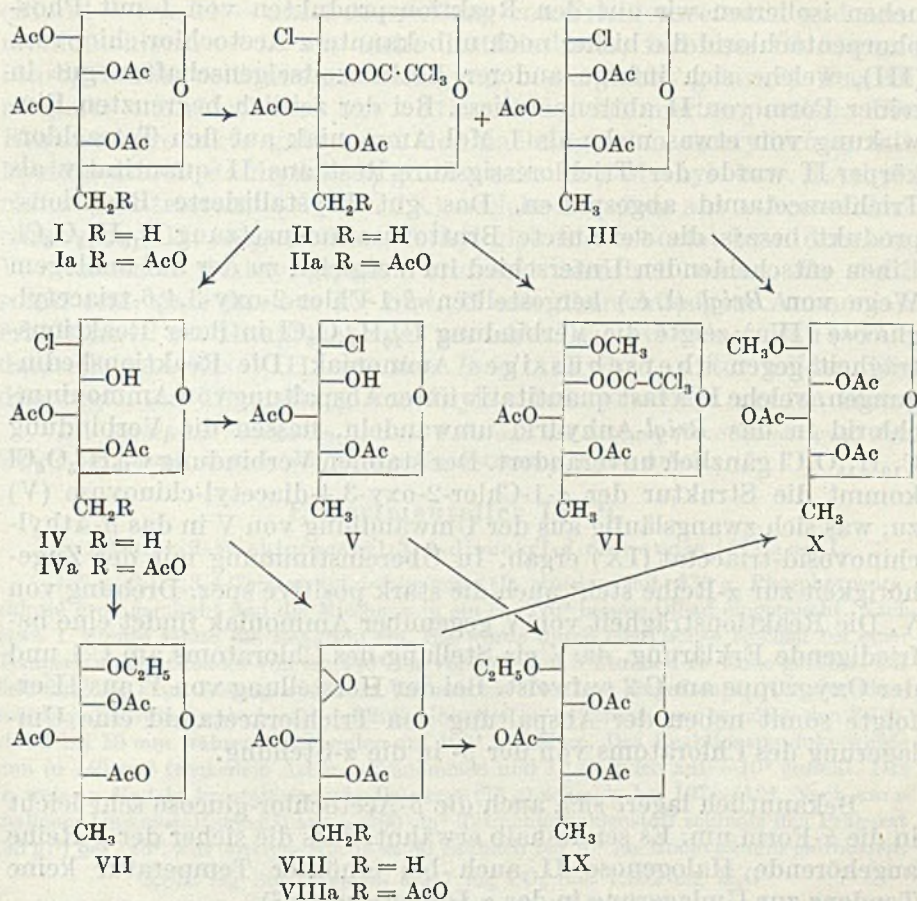
1) *N. L. Drake* and *J. P. Sweeney*, *Am. Soc.* **54**, 2060 (1932).

2) *Z. physiol. Ch.* **116**, 1 (1921); **122**, 245 (1922).

3) Nicht zu verwechseln mit den Anhydro-zuckern!

4) Vgl. *W. J. Hickinbottom*, *Soc.* **1928**, 3140; *W. N. Haworth* und *W. J. Hickinbottom*, *Soc.* **1931**, 2847.

angegebene Reaktionsfolge zur Herstellung von VIIIa aus  $\beta$ -Tetraacetyl-glucose (Ia)<sup>1</sup> scheint für die Herstellung weiterer Zuckeranhydride mit Äthylenoxyd-Ringen aus Zucker-acetaten der  $\beta$ -Reihe gangbar zu sein<sup>2</sup>).



Das 3,4-Diacetyl-*d*-chinovosan  $\alpha$  <1,2>  $\beta$  <1,5> (VIII) unterscheidet sich formelmässig vom *Brigl*-Anhydrid (VIIIa) nur am C-Atom 6 durch das Fehlen der Acetoxygruppe, an deren Stelle VIII ein Wasserstoffatom trägt. Dieser geringfügige Unterschied liess es aussichtsreich erscheinen, die Herstellung von VIII nach dem gleichen Verfahren zu versuchen, nach dem das *Brigl*-Anhydrid erhalten worden war<sup>1</sup>), und auch VIII auf die Eignung zur Herstellung von Glykosiden zu prüfen.

Als Ausgangsmaterial für die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen diente die  $\beta$ -Tetraacetyl-*d*-chinovose (I), welche in grösseren Mengen, nach den von uns kürzlich publizierten Angaben her-

<sup>1</sup>) Z. physiol. Ch. 116, 1 (1921); 122, 245 (1922).

<sup>2</sup>) Z. B. P. *Brigl* und P. *Mistele*, Z. physiol. Ch. 126, 120 (1923).

gestellt<sup>1)</sup>, verfügbar war. Die Umsetzung von I mit Phosphorpentachlorid führte, wie zu erwarten war, zu einer gut krystallisierenden Verbindung  $C_{12}H_{14}O_7Cl_4$ , der auf Grund der Untersuchungen *Brigl's* (l. c.) in der Glucose-Reihe die Konstitution II zuerteilt wurde. Daneben isolierten wir aus den Reaktionsprodukten von I mit Phosphorpentachlorid die bisher noch unbekannte  $\alpha$ -Acetochlor-chinovose (III), welche sich infolge anderer Löslichkeitseigenschaften gut in reiner Form von II abtrennen liess. Bei der zeitlich begrenzten Einwirkung von etwas mehr als 1 Mol Ammoniak auf den Tetrachlorkörper II wurde der Trichloressigsäure-Rest aus II quantitativ als Trichloracetamid abgespalten. Das gut krystallisierte Reaktionsprodukt besass die vermutete Bruttozusammensetzung  $C_{10}H_{15}O_6Cl$ . Einen entscheidenden Unterschied im Vergleich zu der auf analogem Wege von *Brigl* (l. c.) hergestellten  $\beta$ -1-Chlor-2-oxy-3,4,6-triacetylglucose (IVa) zeigte die Verbindung  $C_{10}H_{15}O_6Cl$  in ihrer Reaktions-trägheit gegen überschüssiges Ammoniak. Die Reaktionsbedingungen, welche IVa fast quantitativ unter Abspaltung von Ammoniumchlorid in das *Brigl*-Anhydrid umwandeln, liessen die Verbindung  $C_{10}H_{15}O_6Cl$  gänzlich unverändert. Der stabilen Verbindung  $C_{10}H_{15}O_6Cl$  kommt die Struktur der  $\alpha$ -1-Chlor-2-oxy-3,4-diacetyl-chinovose (V) zu, was sich zwangsläufig aus der Umwandlung von V in das  $\beta$ -Äthylchinovosid-triacetat (IX) ergab. In Übereinstimmung mit der Zugehörigkeit zur  $\alpha$ -Reihe steht auch die stark positive spez. Drehung von V. Die Reaktionsträgheit von V gegenüber Ammoniak findet eine befriedigende Erklärung, da V cis-Stellung des Chloratoms am C 1 und der Oxygruppe am C 2 aufweist. Bei der Herstellung von V aus II erfolgte somit neben der Abspaltung von Trichloracetamid eine Umlagerung des Chloratoms von der  $\beta$ - in die  $\alpha$ -Stellung.

Bekanntlich lagert sich auch die  $\beta$ -Acetochlor-glucose sehr leicht in die  $\alpha$ -Form um. Es sei deshalb erwähnt, dass die sicher der  $\beta$ -Reihe angehörende Halogenose II auch bei erhöhter Temperatur keine Tendenz zur Umlagerung in das  $\alpha$ -Isomere zeigte<sup>2)</sup>.

Bei vorsichtigem Arbeiten gelang es, aus II die Trichloracetyl-Gruppe abzuspalten, ohne die Konfiguration am C-Atom 1 zu ändern. Die in langen, etwas verfilzten Nadeln krystallisierende 1- $\beta$ -Chlor-2-oxy-3,4-diacetyl-chinovose (IV) war derart instabil, dass sie sich im Hochvakuum bei 20° innert 2 Stunden unter Verflüssigung aber ohne Verfärbung zersetzte und demzufolge nicht zur C, H-Bestimmung gebracht werden konnte. Beweisend für die Struktur von IV ist die Überführung in das schon bekannte  $\alpha$ -Äthylchinovosid-triacetat

<sup>1)</sup> E. Hardegger und R. M. Montavon, *Helv.* **29**, 1199 (1946).

<sup>2)</sup> In Analogie dazu steht die Stabilität von IIa; vgl. z. B. W. J. Hickinbottom, *Soc.* **1930**, 1338.

(VII)<sup>1)</sup> unter den von *H. H. Schlubach* und *G. A. Schröter*<sup>2)</sup> zur Herstellung von  $\alpha$ -Glykosiden aus  $\beta$ -Halogenosen erprobten Bedingungen.

Bei längerer Einwirkung von überschüssigem Ammoniak in Benzol wurden sowohl IV — unter Abspaltung von Ammoniumchlorid — wie II — unter Abspaltung von Trichloracetamid und Ammoniumchlorid — in ein nicht destillierbares, farbloses Öl übergeführt, dessen vollständige Reinigung bisher nicht gelang<sup>3)</sup>. Das Öl reagierte mit Methanol bzw. Äthanol bei Zimmertemperatur. Die Reaktionsprodukte gaben bei der nachfolgenden Acetylierung mit Pyridin und Acetanhydrid in guter Ausbeute  $\beta$ -Methyl- bzw.  $\beta$ -Äthylchinovosid-triacetat (X bzw. IX), welche mit dem aus  $\alpha$ -Acetochlorchinovose (III) hergestellten Methyl-glykosid-triacetat bzw. dem aus V erhaltenen  $\beta$ -Äthyl-glykosid-triacetat identisch waren. Es steht somit fest, dass das aus IV bzw. II mit überschüssigem Ammoniak erhaltene Öl zur Hauptsache das gesuchte Diacetylchinovosan (VIII) darstellt und das VIII, wie das *Brigl*-Anhydrid, unter milden Bedingungen zur Herstellung von Glykosiden verwendet werden kann.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie* danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

#### Experimenteller Teil<sup>4)</sup>.

$\beta$ -1-Chlor-2-trichloroacetyl-3,4-diacetyl-*d*-chinovose (II) aus I.

107 g  $\beta$ -1,2,3,4-Tetraacetyl-*d*-chinovose (I) wurden mit 330 g Phosphorpentachlorid grob gemischt und die Mischung in ein ca. 170° heisses Ölbad eingetaucht. Nach etwa 1 Minute setzte die Reaktion ein. Sie wurde durch energisches Kochen bei einer Temperatur des Ölbadetes von ca. 140° im Verlaufe von 3 Stunden zu Ende geführt. Die fast farblose, klare Lösung wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft. Um das überschüssige Phosphorpentachlorid durch Sublimation zu entfernen, war es nötig, den Rückstand bei 10 mm während 2 Stunden auf 100° zu halten. Das Reaktionsprodukt wurde nun in 140 cm<sup>3</sup> trockenem Äther aufgenommen und 12 Stunden auf -10° gestellt. Das in weissen Nadeln krystallisierende Präparat (75 g) schmolz bei 107—110°. Nach zweimaligem Umkrystallisieren<sup>5)</sup> aus je 100 cm<sup>3</sup> Tetrachlorkohlenstoff schmolz das Präparat (35 g)<sup>6)</sup> bei 148°. Zur Analyse wurde es 30 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

3,872 mg Subst. gaben 4,947 mg CO<sub>2</sub> und 1,202 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>Cl<sub>4</sub> Ber. C 34,95 H 3,40%  
Gef. „ 34,87 „ 3,47%

$[\alpha]_D = +7^\circ$  (c = 0,9 in Chloroform)

Der Tetrachlor-Körper (II) ist in den niederen Alkoholen in der Wärme löslich; besser löslich ist er in warmem Tetrachlorkohlenstoff oder Äther, sehr gut in Benzol und Chloroform. Aus warmem Äthylalkohol kann II ohne merkliche Veränderung umkrystallisiert werden. Bei längerem Kochen einer konz. Lösung von II in Tetrachlorkohlenstoff

<sup>1)</sup> *C. Liebermann* und *F. Giesel*, B. 16, 935 (1883); 17, 872 (1884).

<sup>2)</sup> B. 61, 1216 (1928).

<sup>3)</sup> Beim Animpfen mit IV und V erfolgte keine Krystallisation.

<sup>4)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>5)</sup> Die keimfreien Lösungen wurden mit reinem II angeimpft.

<sup>6)</sup> Durch längeres Stehen und weiteres Krystallisieren der Mutterlaugen (auch der ätherischen) aus Benzol bzw. Tetrachlorkohlenstoff lassen sich nochmals grössere Mengen an reinem II und III gewinnen.



konnte keine Änderung der spez. Drehung, d. h. keine Umlagerung in die  $\alpha$ -Form, beobachtet werden.

$\alpha$ -Acetochlor-chinovose (III) als Nebenprodukt aus der Herstellung von II. Die beim Umkrystallisieren von II anfallenden Mutterlaugen wurden zur Trockne eingedampft und zweimal aus Benzol krystallisiert. Dabei wurden 6 g reine, bei 136° schmelzende  $\alpha$ -Acetochlor-chinovose erhalten<sup>1)</sup>. Das nochmals aus Benzol kryst. Analysenpräparat wurde 20 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

3,930 mg Subst. gaben 6,681 mg CO<sub>2</sub> und 1,887 mg H<sub>2</sub>O

4,450 mg Subst. gaben 2,083 mg AgCl

C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>O<sub>7</sub>Cl Ber. C 46,68 H 5,50 Cl 11,49%

Gef. „ 46,39 „ 5,37 „ 11,58%

$[\alpha]_D = +204^\circ$  (c = 0,8 in Chloroform)

III ist beim Aufbewahren in offenen Gefäßen bei Zimmertemperatur fast ohne Zersetzung haltbar.

#### 2, 3, 4-Triacetyl- $\beta$ -methyl-chinovosid (X) aus III.

100 mg  $\alpha$ -Acetochlor-chinovose (III) wurden mit 100 mg Silbercarbonat in 5 cm<sup>3</sup> absolutem Methanol 10 Minuten zum Sieden erwärmt. Die Silbersalze wurden nach dem Erkalten abfiltriert. Aus dem eingeeengten Filtrat krystallisierten 50 mg X vom Smp. 100°. Das aus Methanol umkrystallisierte Präparat wurde zur Analyse 20 Stunden bei 50° im Hochvakuum getrocknet.

3,876 mg Subst. gaben 7,330 mg CO<sub>2</sub> und 2,204 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>8</sub> Ber. C 51,31 H 6,57%

Gef. „ 51,61 „ 6,36%

$[\alpha]_D = -19^\circ$  (c = 1,6 in Alkohol); ca.  $-7^\circ$  (c = 1 in Chloroform)

#### 2-Trichloracetyl-3, 4-diacetyl- $\alpha$ -methyl-chinovosid (VI) aus II.

100 mg Tetrachlor-Körper (II) wurden mit 100 mg Silbercarbonat in 5 cm<sup>3</sup> absolutem Methanol 15 Minuten zum Sieden erhitzt. Nach dem Abfiltrieren der Silbersalze wurde das Filtrat zur Trockne eingedampft und dann aus 5 cm<sup>3</sup> Äther krystallisiert. Die Substanz schmolz bei 125°. Sie wurde zur Analyse aus Methanol umkrystallisiert und 20 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

3,874 mg Subst. gaben 5,408 mg CO<sub>2</sub> und 1,505 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>O<sub>8</sub>Cl<sub>3</sub> Ber. C 38,30 H 4,20%

Gef. „ 38,10 „ 4,34%

$[\alpha]_D = +42^\circ$  <sup>2)</sup> (c = 0,9 in Chloroform)

#### $\alpha$ -1-Chlor-2-oxy-3, 4-diacetyl-chinovose (V) aus II.

4,5 g  $\beta$ -1-Chlor-2-trichloracetyl-3,4-diacetyl-chinovose (II) wurden bei 0° in 50 cm<sup>3</sup> Äther, der vorher mit Ammoniak bei 16° gesättigt war, gelöst und 2 Stunden stehen gelassen. Nach dem Abfiltrieren von dem in Spuren abgeschiedenen Ammoniumchlorid wurde die Lösung zur Trockne eingedampft und in 60 cm<sup>3</sup> Tetrachlorkohlenstoff warm gelöst. Bei 0° krystallisierten 1,2 g Trichloracetamid. Aus der auf 10 cm<sup>3</sup> eingeeengten Lösung krystallisierten bei  $-10^\circ$  2 g einer bei 96° schmelzenden Substanz. Das Präparat wurde zur Analyse mehrmals aus Tetrachlorkohlenstoff umkrystallisiert und bei 40° 40 Stunden im Hochvakuum getrocknet. Smp. 119°.

3,806 mg Subst. gaben 6,253 mg CO<sub>2</sub> und 1,965 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>O<sub>6</sub>Cl Ber. C 45,04 H 5,67%

Gef. „ 44,84 „ 5,78%

$[\alpha]_D = +222^\circ$  (c = 1 in Chloroform)

1) Vgl. Fussnote 6) auf S. 635.

2) Das Präparat enthielt wahrscheinlich als Verunreinigung etwas  $\beta$ -Methylglykosid.

Die Verbindung V ist in Äther und Benzol löslich; unlöslich in Petroläther. Aus Benzol-Petroläther fällt sie meist als Öl aus, das sehr langsam bei  $-10^{\circ}$  krystallisiert. Das Präparat zersetzt sich bei längerem Aufbewahren bei Zimmertemperatur.

#### $\beta$ -1-Chlor-2-oxy-3,4-diacetyl-chinovose (IV) aus II.

4 g Tetrachlor-Körper (II) wurden bei  $-10^{\circ}$  in  $50\text{ cm}^3$  Äther, der bei  $+10^{\circ}$  mit Ammoniak gesättigt war, gelöst. Nach 2 Stunden bei  $0^{\circ}$  wurde die Lösung filtriert, ohne Erwärmen im Vakuum zur Trockne eingedampft und in  $10\text{ cm}^3$  trockenem Äther kalt gelöst. Nach Zugabe von  $20\text{ cm}^3$  Tetrachlorkohlenstoff<sup>1)</sup> wurde auf  $0^{\circ}$  gestellt. Das auskrystallisierte Produkt bestand zur Hauptsache aus Trichloracetamid. Die vom Krystallisat befreite Lösung wurde auf  $-10^{\circ}$  gestellt. Im Verlaufe von 10 Stunden krystallisierte das  $\beta$ -Chlor-Derivat (ca. 1 g) in gut ausgebildeten, langen, etwas verfilzten Nadeln. Das Präparat wurde noch zweimal in Äther aufgenommen und durch Zugabe von Tetrachlorkohlenstoff in der Kälte umkrystallisiert. Smp. ca.  $68^{\circ}$ . Das Präparat zersetzte sich<sup>2)</sup> schon nach einer Stunde beim Trocknen im Hochvakuum bei  $20^{\circ}$ . Eine C,H-Bestimmung war infolge der ausserordentlichen Unbeständigkeit von IV nicht durchführbar. Die Konstitution von IV ergab sich aus den weiteren Umsetzungen.

#### 2,3,4-Triacetyl- $\alpha$ -äthyl-chinovosid (VII) aus IV.

100 mg  $\beta$ -Chlor-2-oxy-3,4-diacetyl-chinovose (IV) wurden in  $1\text{ cm}^3$  abs. Äther gelöst und zu einer Lösung von 120 mg Silbernitrat in  $4\text{ cm}^3$  abs. Alkohol und 100 mg Pyridin gegeben. Nach dem Abfiltrieren der Silbersalze wurde das Filtrat eingeeengt, in Äther aufgenommen und gründlich mit Wasser gewaschen. Die mit Pyridin-Acetanhydrid völlig acetylierte Verbindung VII wurde zur Analyse im Hochvakuum bei  $80^{\circ}$  destilliert. Das spontan krystallisierende Destillat schmolz bei  $45^{\circ}$ .

3,635 mg Subst. gaben 7,041 mg  $\text{CO}_2$  und 2,269 mg  $\text{H}_2\text{O}$

$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_8$	Ber. C 52,82	H 6,97%
	Gef. „ 52,86	„ 6,98%

$[\alpha]_{\text{D}} = +77^{\circ}$  (c = 0,5 in Alkohol)

#### 3,4-Diacetyl-chinovosan $\alpha < 1, 2 > \beta < 1, 5 >$ (VIII).

7 g Tetrachlor-Körper (II) wurden in  $70\text{ cm}^3$  Benzol gelöst. Während 3 Stunden wurde unter Kühlung<sup>3)</sup> ein Ammoniakstrom durch die Lösung geleitet. Nach 15 Stunden Stehen bei  $20^{\circ}$  wurden das ausgefallene Ammoniumchlorid und Trichloracetamid abfiltriert, das Filtrat im Wasserstrahlvakuum bei  $20^{\circ}$  auf  $40\text{--}50\text{ cm}^3$  eingeeengt und nochmals vom ausgefallenen Trichloracetamid befreit. Nun wurde die Lösung mit  $200\text{ cm}^3$  Petroläther versetzt, nach 16 Stunden von der teils krystallisierten, teils öligen Ausscheidung dekantiert und zur Trockne eingedampft. Der ölige Rückstand ( $1,2\text{ g}$ ) wurde in  $5\text{ cm}^3$  Benzol aufgenommen, nach Zugabe von  $20\text{ cm}^3$  Petroläther nochmals wie oben beschrieben, teilweise ausgefällt und die in Lösung bleibenden Anteile zur Trockne eingedampft. Dieses Reinigungsverfahren wurde noch einige Male wiederholt. Das während 3 Tagen bei  $20^{\circ}$  im Hochvakuum getrocknete Präparat enthielt immer noch ca. 10% Trichloracetamid. Wegen der geringen Substanzmenge war eine weitere Reinigung nicht mehr durchführbar. Ein aus IV hergestelltes und wie oben gereinigtes Präparat konnte ebenfalls nicht zur Krystallisation gebracht werden.

<sup>1)</sup> Die Krystallisation sollte erst nach vollendeter Zugabe des Tetrachlorkohlenstoffs einsetzen.

<sup>2)</sup> Verflüssigung, zunächst ohne Verfärbung.

<sup>3)</sup> Ohne Kühlung wird V erhalten.

2, 3, 4-Triacetyl- $\beta$ -äthyl-chinovosid (IX) aus V.

200 mg  $\alpha$ -1-Chlor-2-oxy-3,4-diacetoxy-chinovose (V) wurden mit 150 mg Silbercarbonat in 5 cm<sup>3</sup> Äthylalkohol 10 Minuten zum Sieden erhitzt. Nach dem Abfiltrieren der Silbersalze wurde das Filtrat zur Trockne eingedampft, mit 0,5 cm<sup>3</sup> Pyridin und 0,5 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid acetyliert und wie üblich aufgearbeitet. Das mehrmals aus Methanol krystallisierte Glykosid (IX) schmolz bei 110°. Das Analysenpräparat wurde bei 70° 20 Stunden im Hochvakuum getrocknet.

3,740 mg Subst. gaben 7,229 mg CO<sub>2</sub> und 2,325 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub> Ber. C 52,82 H 6,97%

Gef. „ 52,75 „ 6,96%

$[\alpha]_D = -27^\circ$  (c = 0,9 in Chloroform)

2, 3, 4-Triacetyl- $\beta$ -äthyl-chinovosid (IX) aus VIII.

100 mg rohes VIII wurden in 2 cm<sup>3</sup> abs. Äthylalkohol aufgenommen und 24 Stunden stehen gelassen. Da das Reaktionsprodukt nicht zum Krystallisieren gebracht werden konnte, wurde es mit 2 Tropfen Pyridin und 0,5 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid acetyliert und wie üblich aufgearbeitet. Nach zweimaligem Sublimieren bei 100° im Hochvakuum und zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol schmolz das Präparat bei 110°. Das Analysenpräparat wurde 20 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

3,730 mg Subst. gaben 7,214 mg CO<sub>2</sub> und 2,331 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub> Ber. C 52,82 H 6,97%

Gef. „ 52,79 „ 6,99%

IX erwies sich nach Schmelzpunkt, Mischprobe und spez. Drehung identisch mit dem aus V hergestellten Äthyl-glykosid-triacetat gleicher Bruttozusammensetzung.

2, 3, 4-Triacetyl- $\beta$ -methyl-chinovosid (X) aus VIII.

100 mg rohes VIII wurden in 5 cm<sup>3</sup> abs. Methanol gelöst und 20 Stunden stehen gelassen. Da beim Eindunsten des Lösungsmittels keine Krystalle erhalten werden konnten, wurde die Substanz mit 2 Tropfen Pyridin und 0,5 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid acetyliert. Aus Methanol krystallisierte das Glykosid-triacetat (X) in dicken Nadeln vom Smp. 100°. Das Analysenpräparat wurde 20 Stunden bei 50° im Hochvakuum getrocknet.

3,755 mg Subst. gaben 7,088 mg CO<sub>2</sub> und 2,232 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>8</sub> Ber. C 51,31 H 6,63%

Gef. „ 51,47 „ 6,64%

Nach Schmelzpunkt, Mischprobe, spez. Drehung und Analyse ist das Präparat identisch mit jenem, welches aus  $\alpha$ -Acetochlor-chinovose erhalten wurde.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der  
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

## 82. Über die Genauigkeit der Aufzeichnung von Elektrophorese-Diagrammen nach der Methode von *Philpot-Svensson* bei Anwendung des Kleinbildverfahrens

von E. Wiedemann.

(11. II. 47)

Bei der Elektrophorese-Untersuchung handelt es sich in der großen Mehrzahl der Fälle um eine möglichst genaue Bestimmung der relativen Mengen und apparenten Beweglichkeiten mehr oder weniger farbloser, meist hochmolekularer Stoffe, die, in passenden Puffergemischen gelöst, der Wanderung im elektrischen Felde unterworfen werden. Die zur Registrierung dieses Vorganges fast ausschliesslich benützte Grenzflächen-Methode beruht auf dem Umstand, dass die Grenzen wandernder Lösungsschichten gegen das reine Lösungsmittel durch eine Brechungsindex-Variation charakterisiert sind und dass es auf verschiedene Weise möglich ist, diese Brechungsindex-Änderung zur Erzeugung eines Bildes heranzuziehen. Von den drei Methoden der Bilderzeugung von Brechungsindex-Gradienten, nämlich der Skalenmethode von *O. Lamm*<sup>1)</sup>, der Schlieren Scanning Method von *L. G. Longsworth*<sup>2)</sup> und der direkten Diagrammaufzeichnung nach *Philpot-Svensson*<sup>3)4)5)</sup> kommt den beiden letztgenannten infolge der wesentlich leichteren Auswertbarkeit der Aufnahmen eine erhebliche praktische Bedeutung zu, während man für Präzisionsmessungen der Skalenmethode den Vorzug zu geben pflegt, da diese Messpunkte aufzunehmen erlaubt.

Der praktische Vorteil der Schlieren Scanning Method und der direkten Diagrammaufzeichnung nach *Philpot-Svensson*, die beide zu direkt auswertbaren Kurvenzügen führen, ist indessen so erheblich, dass es nicht an Versuchen gefehlt hat, die Präzision der Bildwiedergabe bei diesen Methoden dahin zu bringen, dass sie auch hohen Ansprüchen zu genügen vermag.

Die in Amerika entwickelte und dort fast ausschliesslich in Anwendung stehende Schlieren Scanning Method von *L. G. Longsworth*<sup>6)</sup>, die den Verlauf von Brechungsindex-Gradienten als Hell-Dunkel-Grenze aufzuzeichnen gestattet, weist hinsichtlich der Wiedergabegenauigkeit insofern einen Vorzug auf, als ihre optische Anordnung

<sup>1)</sup> Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis 10, Nr. 6 (1937).

<sup>2)</sup> Ann. N. Y. Acad. Sci. 39, 105 (1939).

<sup>3)</sup> J. St. L. *Philpot*, Nature 141, 283 (1938).

<sup>4)</sup> H. *Svensson*, Koll. Z. 87, 181 (1939).

<sup>5)</sup> H. *Svensson*, Koll. Z. 90, 141 (1940).

<sup>6)</sup> L. G. *Longsworth* and D. A. *McInnes*, Chem. Rev. 24, 271 (1939).

mit nur einer Schlierenlinse vor dem Thermostat zwischen dem Gradienten (der Zelle) und der photographischen Schicht (Platte) bloss ein dioptrisches Element, nämlich das abbildende Objektiv, besitzt. Seine hinreichende Korrektur allein verbürgt also eine genaue Wiedergabe des Verlaufs der Gradienten. In Kauf genommen wird dabei für die über bzw. unter der optischen Achse liegenden Gradienten eine mit wachsendem Abstand davon schräger werdende Durchstrahlung, die theoretisch ungünstig ist, praktisch aber der Kleinheit der Neigungswinkel wegen kaum zu einer Verminderung der Schärfe am Bildrand führen kann. Umstritten ist, ob sich die Auswertung der Schlieren-Scanning-Aufnahmen, bei der die Linie 50-proz. Schwärzung auszuziehen ist, mit gleicher Genauigkeit<sup>1)</sup> und vor allem ebenso einfach<sup>2)</sup> wie bei Aufnahmen nach *Philpot-Svensson* durchführen lässt.

Die Methode der direkten Diagrammaufzeichnung nach *Philpot-Svensson*<sup>3)</sup>, bei welcher der Verlauf von Brechungsindex-Gradienten direkt als helle Linie auf dunklem Grunde wiedergegeben wird, weist zunächst als Vorteil gegenüber der Schlieren Scanning Method die ständige Sichtbarkeit des Bildes auf<sup>4)</sup>. Ferner kann die Mitte einer hellen Linie im allgemeinen viel einfacher und teilweise auch genauer als die Linie 50-proz. Schwärzung des Schlieren-Scanning-Bildes bestimmt werden; dieser Umstand ist einer höheren Messgenauigkeit günstig. Dem gegenüber standen zunächst verschiedene Nachteile, wie die recht unerwünschte Verbreiterung horizontal<sup>5)</sup> verlaufender Kurventeile, die indessen für einzelne Gradienten gänzlich<sup>6)</sup> 7) und für den praktisch wichtigeren Fall mehrerer ungleich hoher Gradienten im gleichen Bilde teilweise<sup>3)</sup> 8) behoben werden kann; ferner die Anordnung mehrerer optisch wirksamer Systeme zwischen Gradient und photographischer Schicht, die diese Abbildungsmethode erfordert. Sowohl in der zuletzt von *H. Svensson* bevorzugten Anordnung<sup>8)</sup>, wie in derjenigen des Verfassers<sup>2)</sup> 3) befinden sich zwischen Gradient und photographischer Schicht drei Linsensysteme, nämlich eine Hälfte der Schlierenoptik, das abbildende Objektiv und eine Zylinderoptik. Wenn diese Anordnung (vgl. Fig. 1) auch eine achsenparallele, also günstigste Durchstrahlung von Gradienten beliebiger Höhenlage verbürgt, so garantiert sie noch keineswegs eine fehlerfreie Abbildung

<sup>1)</sup> *H. Svensson*, Koll. Z. **90**, 141 (1940).

<sup>2)</sup> *E. Wiedemann*, Schweiz. med. Wschr. **75**, 229 (1945).

<sup>3)</sup> Eine perspektivische Darstellung des Strahlenganges findet sich bei: *E. Wiedemann*, Schweiz. med. Wschr. **76**, 241 (1946).

<sup>4)</sup> Bei der Schlieren Scanning Method muss zur visuellen Beobachtung des Bildes zusätzlich die Abbildungsmethode nach *Philpot-Svensson* benützt werden.

<sup>5)</sup> Horizontal im üblicherweise um 90° gedrehten Bilde.

<sup>6)</sup> *H. Svensson*, Koll. Z. **87**, 181 (1939).

<sup>7)</sup> *J. W. Burns* and *L. K. Henke*, Rev. Sci. Instr. **12**, 401 (1941).

<sup>8)</sup> *H. Svensson*, Ark. Kemi **22**, A, Nr. 10, 1 (1946).

derselben über das ganze nutzbare Bildfeld. Besonders das Zylinderlinsen-System kann, da es bisher noch nicht als korrigiertes System zur Verfügung steht, bei unzuweckmässiger Anordnung und Dimensionierung erhebliche Abbildungsfehler verursachen. Die Empfindlichkeit der optischen Anordnung nach *Philpot-Svensson* für Abbildungsfehler scheint bisher der Hauptgrund dafür gewesen zu sein, dass diese an sich eleganteste Methode zur Aufzeichnung von Brechungsindex-Gradienten in Form direkt und quantitativ auswertbarer Kurvenzüge in Amerika kaum und im übrigen nur zögernd zur Anwendung gebracht wurde.

Es erscheint daher angezeigt, kurz die wichtigsten Bedingungen für eine möglichst fehlerfreie Wiedergabe von Brechungsindex-Gradienten nach dieser Methode zu erörtern, wobei gezeigt werden wird, dass die vom Verfasser vorgeschlagene Anwendung des Kleinbildverfahrens<sup>1)2)</sup>, obschon sie zunächst aus ganz anderen Gründen erfolgte, dem Bestreben nach einer guten optischen Lösung besonders entgegenkommt. Die damit bisher erreichte Messgenauigkeit wird an Hand von Testaufnahmen und ihren Auswertungen diskutiert werden.

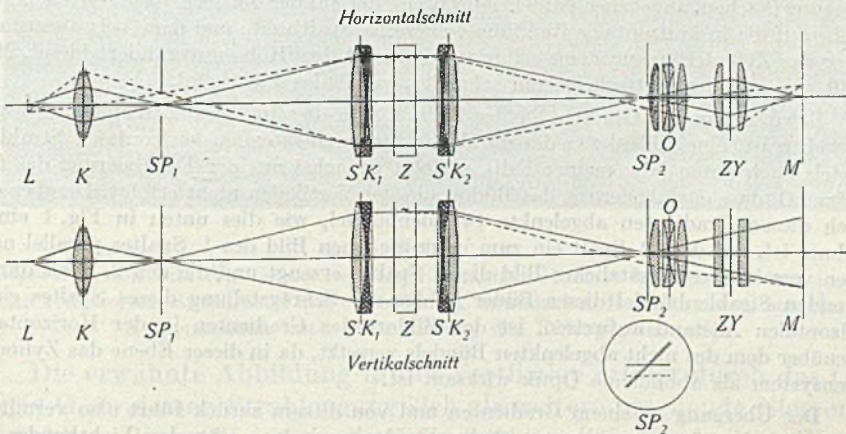


Fig. 1.

Optische Anordnung im Horizontal- und Vertikalschnitt zur direkten Diagrammaufzeichnung von Brechungsindex-Gradienten nach *Philpot-Svensson* (schematisch).

L = Lichtquelle; K = Kondensator;  $SP_1 = 1.$ , waagrecht liegender Spalt;  $SK_1$  und  $SK_2$  = Schlierenlinsen (zweiteilige Fernrohrobjektive hoher axialer Korrektur), dazwischen Z = Zelle (U-Rohr mit rechteckigem Querschnitt, in dem sich Brechungsindex-Gradienten ausbilden);  $SP_2 = 2.$ , drehbarer Spalt; O = abbildendes Objektiv (Anastigmat); ZY = Zylinderlinsen-System; M = Mattscheibe bzw. photographische Schicht.

Die Wirkungsweise dieser optischen Anordnung sei an Hand der beiden Schnitte der Fig. 1 wie folgt beschrieben:

<sup>1)</sup> *E. Wiedemann*, Schweiz. med. Wschr. 75, 229 (1945).

<sup>2)</sup> Eine perspektivische Darstellung des Strahlenganges findet sich bei: *E. Wiedemann*, Schweiz. med. Wschr. 76, 241 (1946).

Das waagrechte Lichtband einer Wolframbandlampe oder einer Gasentladungslampe *L* wird vermittels eines (asphärischen) Kondensors geeigneter Brennweite auf die Öffnung eines horizontalen Spaltes  $SP_1$  ein wenig vergrößert abgebildet, so dass dieser Spalt in einer Breite von ca. 25 mm ausgeleuchtet wird. Die Schlierenlinsen, deren freie Öffnung nicht kleiner als die nutzbare Fläche der Zelle sein darf, werden symmetrisch zu dieser so angeordnet, dass die Zelle von achsenparallelem Licht durchstrahlt und die ausgeleuchtete Fläche des 1. Spaltes in natürlicher Grösse auf dem 2. Spalt abgebildet wird. Unmittelbar hinter dem 2. Spalt befindet sich das Objektiv *O*, das die Mitte der Zelle scharf auf die Mattscheibe *M* bzw. die photographische Schicht abbildet. Zwischen diesem Objektiv und der Mattscheibe ist ferner ein Zylinderlinsensystem angeordnet, das den 2. Spalt zusätzlich auf die Mattscheibe scharf abbildet. Da die Achsen der Zylinderlinsen senkrecht stehen, wirken diese Linsen nur in der Horizontalebene als abbildendes System, während sie in der Vertikalebene die Eigenschaften planparalleler Platten besitzen.

Es sei zunächst angenommen, der 2. Spalt befinde sich wie der 1. Spalt in horizontaler Lage. Dann wird das den 2. Spalt durchtretende Lichtstrahlenbündel in seiner Horizontalebene durch das Zylinderlinsensystem, wie in Fig. 1 oben angegeben, gebrochen und die ausgeleuchtete Fläche des 2. Spaltes durch die Zylinderoptik auf die Mattscheibe abgebildet; die Breite der auf der Mattscheibe ausgeleuchteten Fläche ist also (bei gegebener Breite der Ausleuchtung des 2. Spaltes) von der Brennweite und Stellung des Zylinderlinsensystems abhängig, während ihre Höhe davon unabhängig und eine Funktion der Brennweite des Objektivs *O* bleibt.

Durch Schrägstellen des 2. Spaltes, wie dies unten in Fig. 1, in Richtung der Lichtbewegung geschehen, angegeben ist, wird die Breite der auf der Mattscheibe ausgeleuchteten Fläche auf die in horizontaler Richtung gemessene Spaltbreite mal dem Vergrößerungsfaktor des Zylinderlinsensystems reduziert, während ihre Höhe unverändert bleibt. Man erhält also auf der Mattscheibe ein schmales, vertikales Lichtband.

Bewirkt nun ein Gradient in der Zelle *Z*, wie dies im Vertikalschnitt der Fig. 1 angegeben ist, eine Ablenkung des durch ihn hindurchtretenden horizontalen Strahlenbündels nach unten (allgemeiner Fall), so folgt zunächst aus der Fokussierung des Objektivs *O*, dass eine Änderung des Bildorts in der Vertikalen nicht erfolgt. Da aber das durch diesen Gradienten abgelenkte Strahlenbündel, wie dies unten in Fig. 1 eingezeichnet ist, auf dem 2. Spalt ein zum ursprünglichen Bild des 1. Spaltes parallel nach unten verschobenes zusätzliches Bild dieses Spaltes erzeugt und die den 2. Spalt durchtretenden Strahlenbündel dieser Bilder infolge der Schrägstellung dieses Spaltes einen horizontalen Abstand aufweisen, ist der Bildort des Gradienten in der Horizontalen gegenüber dem des nicht abgelenkten Bündels versetzt, da in dieser Ebene das Zylinderlinsensystem als abbildende Optik wirksam ist.

Der Übergang zu einem Gradienten und von diesem zurück führt also vermittels dieser optischen Anordnung zur seitlichen Auslenkung eines schmalen Lichtbandes auf der Mattscheibe. Dies werde durch die Fig. 2 illustriert, die eine Aufnahme der Gradienten eines der Elektrophorese unterworfenen humanen Plasmas darstellt.

Bilder dieser Art werden üblicherweise mit der Basislinie unten wiedergegeben, also um  $90^\circ$  gegen ihre natürliche Lage gedreht. Für die Bestimmung der apparenten Beweglichkeiten *u* ist die Lage der senkrechten Flächenhalbierenden der einzelnen Kurven nach deren Extrapolation gegenüber ihrer Ausgangslage zu messen, während der relative Mengenanteil der Komponenten bei gleichen Brechungs-exponenten ihrer Einheitskonzentrationen den entsprechenden, mit der Basis eingeschlossenen Flächen direkt proportional ist.

Eine genaue Bestimmung dieser Werte setzt also eine streng orthoskopische (auch möglichst Zonenfehler-freie) Abbildung der

mittleren Zellen-Vertikalebene auf der Mattscheibe sowie eine ebensolche Abbildung der durchstrahlten Fläche des 2. Spaltes im Horizontalschnitt voraus. Die erstere orthoskopische Abbildung verbürgt richtige Beweglichkeitswerte, die letztere den richtigen Kurvenverlauf und damit richtige Flächenwerte. Bei Kleinbildaufnahmen kommt hinzu, dass durch die stets erforderliche Vergrößerung der nur  $24 \times 36$  mm grossen Originale keine orthoskopischen Fehler eingeführt werden dürfen.

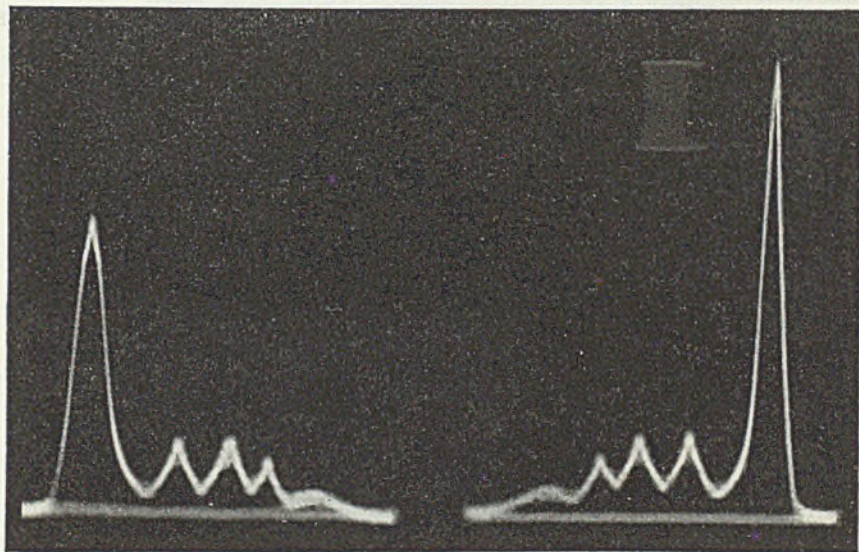


Fig. 2.

*Philpot-Svensson*-Bild der Gradienten eines humanen Plasmas mit zusätzlicher, in der Breite reduzierter Basislinie. Links: descending boundaries. Rechts: rising boundaries. Aufgenommen unter Eliminierung der Extragradien<sup>1)</sup>.

Die erwähnte Abbildung in der Vertikalen erfolgt durch das Objektiv O, in dessen Strahlengang sich als weitere brechende Elemente die Schlierenlinse  $SK_2$  sowie die Zylinderlinsen ZY, hier in ihrer Eigenschaft als planparallele Platten, befinden. Die in dieser Anordnung als schwache Lupe wirksame Schlierenlinse  $SK_2$  kann etwas (kissenförmige) Verzeichnung bewirken, wenn ihr Abstand von der Mitte der Zelle zu gross gewählt wird. Dieser Abstand ist deshalb nicht grösser als nötig zu halten. Der Einfluss der Zylinderlinsen als planparallele Platten auf die Orthoskopie der Anordnung ist dagegen als belanglos anzusehen.

Bei einer ungefähren Brennweite der Schlierenlinsen von je 1000 mm, wie sie für analytische Elektrophorese-Apparaturen zweckmässig ist, erfordert die Abbildung der 86 mm hohen Zelle auf das 36 mm hohe Kleinbildformat eine Brennweite des Objektivs O von etwa 250 mm. Die Abbildung der Zelle im ungefähren Massstab 1:2

<sup>1)</sup> Versuchsbedingungen vgl. E. Wiedemann, *Helv.* 30, 168 (1947).



ermöglicht es bereits, mit guten, handelsüblichen, auf unendlichen Objektstand korrigierten Systemen auszukommen. Eine relative Öffnung von 1:4,5, sehr gute orthoskopische Korrektur und eine Hebung der axialen wie ausseraxialen Bildfehler ist zu verlangen, da das *Philpot-Svensson*-Bild, wie ein Blick auf den schräggestellten 2. Spalt lehrt, hauptsächlich durch zur Systemachse (wenn auch mit geringer Neigung) windschief einfallende Strahlen erzeugt wird, auch wenn man es üblicherweise so einrichtet, dass Gradienten mittlerer Stärke durch Strahlen abgebildet werden, die die Systemachse schneiden.

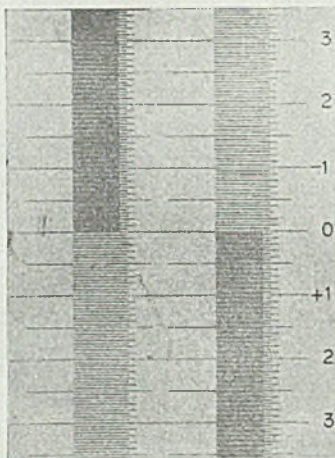


Fig. 3.

Verkleinerte Wiedergabe einer Vergrößerung  $180 \times 240$  mm der Kleinbildaufnahme einer Präzisionsglasskala mit der abbildenden Optik der 1940 gebauten Elektrophorese-Apparatur<sup>1)</sup> des Verfassers in der beschriebenen Anordnung. Objektiv: Leitz Dimar 1:4,5,  $f = 250$  mm. Kamera: Leica IIIa, Nr. 312964. Kleinbildfilm: Agfa Isopan F. Feinkornentwicklung. Lichtart: weiss. Expositionszeit:  $\frac{1}{20}$  Sekunde.

Als Test für eine genügend genaue Wiedergabe von Objektlinien in der Vertikalen (wie sie bei ideal scharfen Gradienten vorliegen würden), dient im Laboratorium des Verfassers eine Präzisionsglasskala<sup>2)</sup> mit zwei Strichreihen, deren Lage derjenigen der beiden Schenkel des U-Rohres (der Zelle) entspricht. Die kleinsten Strichabstände betragen 0,25 mm und 0,50 mm. Diese Glasskala wird an der Stelle der Zellenmitte eingesetzt und bei waagrecht gestelltem 2. Spalt mit dem zu prüfenden Objektiv photographiert. Die Zylinderlinsen können dabei entfernt werden. Vom  $24 \times 36$  mm grossen Negativ wird dann, gleich wie von entsprechenden Versuchsaufnahmen, eine Vergrößerung im Format  $180 \times 240$  mm angefertigt.

<sup>1)</sup> Über eine neue, 1946 gebaute Elektrophorese-Apparatur wird demnächst berichtet werden.

<sup>2)</sup> Hersteller: *Verkaufs-A.G. H. Wilds Geodätische Instrumente, Heerbrugg.*

worauf eine Auswahl von Strichabständen dieses Bildes auf 0,01 mm genau ausgemessen wird. Die Fig. 3 ist von einer solchen Vergrößerung hergestellt; es ist ihr kaum anzusehen, dass sie über ein nur  $24 \times 36$  mm grosses Zwischenbild erhalten wurde.

Die Ausmessung der auf der Skala selbst 5,00 mm betragenden Strichabstände am linken und rechten Bildrand von oben nach unten ergab die folgenden Zahlenwerte und Differenzen in Millimetern:

Links	$\Delta$	Rechts	$\Delta$
16,32	0,00	16,27	0,08
16,32	0,04	16,35	0,06
16,36	0,00	16,29	0,04
16,36	0,03	16,33	0,01
16,33	0,01	16,32	0,00
16,34	0,01	16,32	0,00
16,33	0,02	16,32	0,03
16,35	0,03	16,35	0,03
16,32	0,01	16,32	0,06
16,33	0,05	16,35	0,05
16,37	0,02	16,33	0,03
16,35	0,02	16,30	0,02
16,37	0,06	16,28	0,05
16,31		16,23	

Auf Grund dieser Zahlenwerte ergibt sich eine mittlere Unsicherheit von  $\pm 0,035$  mm der Lage der Striche im Bilde. Da dieses rund 3mal vergrössert ist, beträgt die Unsicherheit bei Messungen in vertikaler Richtung im Mittel  $\pm 0,012$  mm. Mit dieser Genauigkeit können bei Anwendung des Kleinbildverfahrens die für die Bestimmung der elektrophoretischen Beweglichkeitswerte u erforderlichen Wege  $s$  gemessen werden. Eine Weglänge von 30 mm wird somit auf  $\pm 0,04\%$  genau bestimmt.

Vergleichsweise sei erwähnt, dass die zur Berechnung der elektrophoretischen Beweglichkeitswerte ebenfalls erforderliche Zeitmessung bei einer Versuchsdauer von 2 Stunden mit einer mittleren Abweichung von nur  $\pm 2,88$  Sekunden vorzunehmen ist, wenn sie mit der gleichen Genauigkeit erfolgen soll.

Die Bildentstehung in der Horizontalebene, wie sie zur Erzeugung des Kurvenverlaufs durch Gradienten erforderlich ist, wird durch die Zylinderoptik ZY (vgl. Fig. 1) bewirkt, die den 2. Spalt auf die Mattscheibe abzubilden hat. Die Verhältnisse bei der Abbildung in der Horizontalen liegen aus verschiedenen Gründen ungünstiger als bei derjenigen in der Vertikalen: Die Zylinderoptik ist bisher nicht als korrigiertes System verfügbar, und zudem befindet sich im Strahlengang das Objektiv O mit relativ kurzer Brennweite,

das als Lupe wirkt und (kissenförmige) Verzeichnung verursachen kann. Um diese hintanzuhalten, muss das Objektiv O möglichst nahe am 2. Spalt stehen. Da bei der Verwendung unkorrigierter Zylinderoptik in keinem Falle mit einem gestochen scharfen Bilde gerechnet werden kann, gibt man ihr am besten die Form, bei welcher die Verzeichnung praktisch beseitigt ist und die übrigen Bildfehler innerhalb des nutzbaren Bildfeldes erträglich bleiben. Diese Form ist diejenige des periskopischen Doppelobjektives, das hier infolge der relativen Kleinheit des benützten Bildwinkels auch aus zwei gleichen, plankonvexen Linsen bestehen kann (vgl. Fig. 1). Für diese Linsen-anordnung bringt die Anwendung des Kleinbildverfahrens einen besonderen Vorteil, nämlich den, sie auf günstigste Weise bei einem Abbildungsmaßstab 1:1 benützen zu können, für den sie vollkommen verzeichnungsfrei ist. Beträgt die Breite des auf den 2. Spalt fallenden Lichtbandes, was leicht zu bewerkstelligen ist, etwa 25 mm, so wird bei einer Abbildung dieses Bandes im Maßstab 1:1 das Kleinbildformat bereits voll ausgeleuchtet und damit die erwünschte Kurvenhöhe ermöglicht.

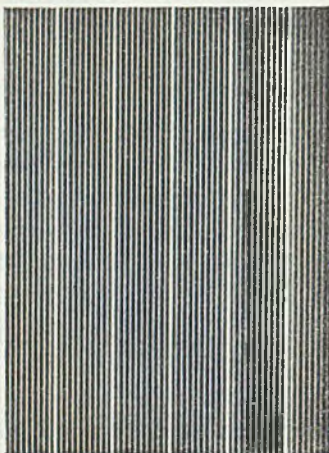


Fig. 4.

Verkleinerte Wiedergabe einer Vergrößerung  $180 \times 240$  mm der Kleinbildaufnahme einer Skala mit 0,50 mm Strichabstand auf Film mit der Zylinderoptik der Elektrophoresis-Apparatur von 1940 des Verfassers in der beschriebenen Anordnung. Zylinderoptik: 2 einfache, plankonvexe Linsen, Planflächen einander zugekehrt. Relative Öffnung: 1:4, Brennweite des Systems ca. 70 mm. Kamera: Leica IIIa, Nr. 312964. Kleinbildfilm: Agfa Isopan F. Feinkornentwicklung. Lichtart: weiss. Expositionszeit:  $\frac{1}{20}$  Sekunde.

Zur Prüfung der Wiedergabe des 2. Spaltes durch die Zylinderoptik werden im Laboratorium des Verfassers Kleinbild-Testfilme benützt, die durch photographische Aufnahme entsprechend präzise ausgeführter Skalen hergestellt werden. Diese Testfilme weisen auf einer Länge von 25 mm 50 oder 100 Linien mit gleichen Abständen

auf. Für den Testversuch werden sie direkt an die Schneiden des waagrecht gestellten 2. Spaltes so angelegt, dass die Linien die Spaltöffnung genau senkrecht schneiden (und damit parallel zu den Zylinderachsen stehen). Das sich mittels dieser Anordnung ergebende Bild wird photographiert, worauf vom  $24 \times 36$  mm grossen Negativ eine Vergrösserung im Format  $180 \times 240$  mm hergestellt und am grossen Bilde eine Auswahl von Strichabständen auf 0,01 mm genau ausgemessen wird. Die Fig. 4 stellt ein solches, für die Reproduktion passend verkleinertes Bild dar, das also in prinzipiell gleicher Weise wie dasjenige der Fig. 3 entstanden ist.

Bei der Ausmessung wurden je 15 mm vom oberen und unteren Bildrand entfernt, von links nach rechts die Abstände von Mitte zu Mitte einer dünnen Linie zur jeweils nächstfolgenden 5. Linie bestimmt. Hierbei wurden die folgenden Zahlenwerte und Differenzen in Millimetern erhalten:

Oben	$\Delta$	Unten	$\Delta$
14,74	0,02	14,71	0,06
14,72	0,01	14,65	0,06
14,71	0,07	14,71	0,03
14,78	0,01	14,74	0,01
14,77	0,04	14,75	0,05
14,73	0,05	14,70	0,08
14,78	0,00	14,78	0,05
14,78	0,02	14,73	0,02
14,80	0,05	14,75	0,01
14,75		14,74	

Hieraus ergibt sich eine mittlere Unsicherheit von  $\pm 0,035$  mm der Mittellage der Linien im Bilde. Reduziert man die Bildgrösse in gleicher Weise wie diejenige des Vertikaltests, also 3 mal, so beträgt die Unsicherheit bei Messungen in der Horizontalebene im Mittel  $\pm 0,012$  mm. Dies ist die Genauigkeit, mit welcher bei Anwendung des Kleinbildverfahrens unter Verwendung von unkorrigierter, aber zweckmässig verwendeter Zylinderoptik die Höhenwerte der den Gradienten entsprechenden Kurvenzüge wiedergegeben werden. Bei einer Kurvenhöhe von 25 mm im Bilde natürlicher Grösse (also bei Wiedergabe der durchlaufenen Wege im Maßstab 1:1) entspricht diese bis auf  $\pm 0,05\%$  dem theoretischen Wert. Es ist bemerkenswert, dass diese Genauigkeit diejenige der Wiedergabe in der Vertikalebene erreicht.

Da die Bestimmung von relativen Prozentwerten der Komponenten eines Gemisches mittels der Elektrophorese aus den Flächenwerten von Gradientenkurven, die diese unter Einbeziehung des entsprechenden Teiles der Basislinie ergeben, zunehmend an Be-

deutung gewinnt, sei noch angegeben, mit welcher Genauigkeit eine mittlere, von einem Kurvenzug mit der Basislinie eingeschlossene Fläche abgebildet wird.

Zur Vereinfachung sei die über einer Basis von approximativ 10 mm stehende, ideale Verteilungskurve nach *Gauss* durch ein gleichschenkliges Dreieck entsprechender Basis und Höhe substituiert. Da die Basis von 10 mm auf  $\pm 0,12\%$  und die Höhe von 25 mm auf  $\pm 0,05\%$  genau definiert ist, wird der gefundene Flächenwert  $\frac{1}{2} g h$  zwischen 124,788 mm<sup>2</sup> und 125,213 mm<sup>2</sup> liegen. Der Fehler, mit dem diese Fläche wiedergegeben wird, beträgt somit  $\pm 0,17\%$  oder  $\pm 1,7/1000$  ihrer Grösse.

Aus dem Vorstehenden ist ersichtlich, dass die Genauigkeit der Aufzeichnung von Elektrophorese-Diagrammen nach *Philpot-Svensson* bei passend gewählter Dimensionierung und Anordnung der gegenwärtig verfügbaren dioptrischen Elemente bereits so hoch sein kann, dass sie keinen die allgemeine Messgenauigkeit limitierenden Faktor bildet<sup>1)</sup>. In welchem Masse andere Einzelheiten der Apparatur oder des Verfahrens dafür verantwortlich zu machen sind, soll bei späterer Gelegenheit diskutiert werden.

Der Autor dankt Herrn Prof. *A. Stoll* herzlich für die grosszügige Unterstützung bei seinen Elektrophorese-Arbeiten.

Chemisch-pharmazeutisches Laboratorium  
(Prof. Dr. *A. Stoll*) „Sandoz“, Basel.

### 83. Ein neuer Spalt für die Aufnahme von Elektrophorese-Diagrammen nach *Philpot-Svensson*

von *E. Wiedemann*.

(11. II. 47.)

Bei der Aufnahme von Elektrophorese-Diagrammen nach der Methode von *Philpot-Svensson* wird ein schräg gestellter (zweiter) Spalt<sup>2)</sup> benützt, der durch eine sammelnde Zylinderlinse mit vertikaler Achse auf die Mattscheibe bzw. photographische Schicht abgebildet wird. Durch einen Brechungsindexgradienten abgelenkte Lichtstrahlenbündel werden auf diese Weise entsprechend der Grösse ihrer Ablenkung seitlich versetzt zur Abbildung herangezogen, so dass die Brechungsindexänderung über einen Gradienten hinweg direkt als helle Linie auf dunklem Grunde sichtbar gemacht und aufgezeichnet werden kann.

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu: *L. G. Longworth*, Ind. Eng. Chem. Anal. **18**, 219 (1946).

<sup>2)</sup> *H. Svensson*, Koll. Z. **87**, 181 (1939).

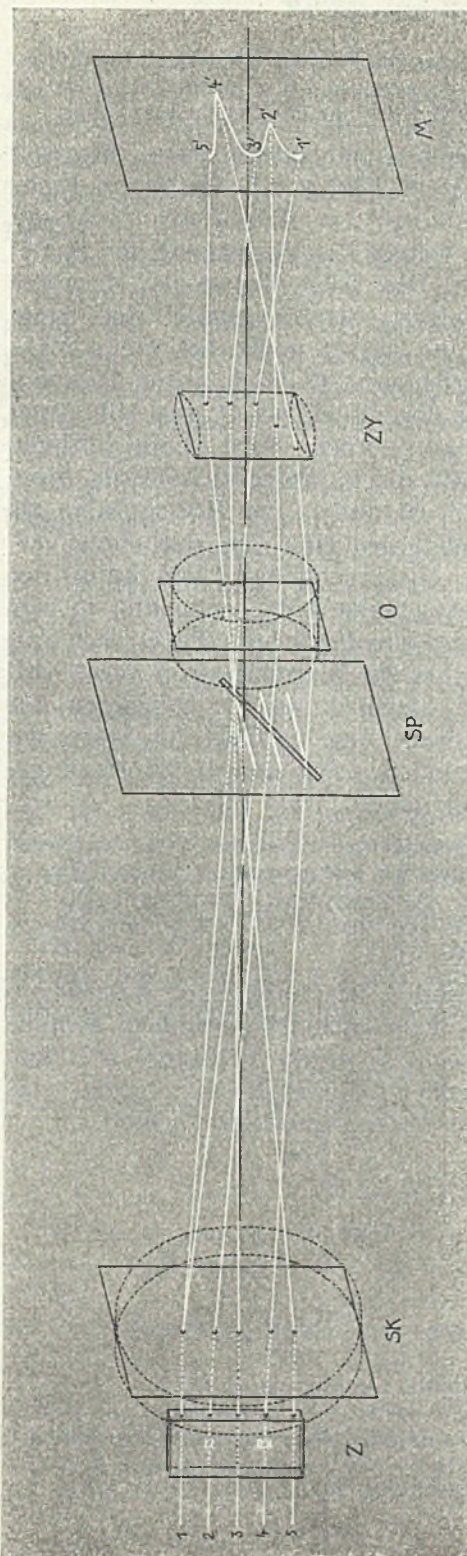


Fig. 1.

Der Strahlengang bei diesem Abbildungsverfahren von der Elektrophorese-Zelle bis zur Mattscheibe ist in Fig. 1<sup>1)</sup> in Schrägansicht schematisch dargestellt: Z ist die Zelle, SK eine 2. Schlierenlinse, die das von einem horizontalen 1. Spalt herkommende und durch eine 1. Schlierenlinse parallel gerichtete Licht zu einem scharfen Bilde des 1. Spaltes auf dem schräggestellten 2. Spalt SP sammelt. Unmittelbar hinter diesem 2. Spalt SP befindet sich das Objektiv O, das die Zelle Z scharf auf die Mattscheibe M abbildet und zwischen diesem Objektiv O und der Mattscheibe M ist die sammelnde Zylinderlinse ZY angeordnet, die gleichzeitig ein Bild des schrägen Spaltes SP auf der Mattscheibe M entwirft.

Modifikationen dieser Anordnung sind möglich; beispielsweise kann die Schlierenlinse SK vor der Zelle Z und das Objektiv O vor dem schrägen Spalt SP verwendet werden, doch ist im allgemeinen die abgebildete Reihenfolge der Einzelteile die günstigste.

Die Wirkungsweise dieser Anordnung ist die folgende: Licht, das ohne Ablenkung durch einen Brechungsindexgradienten die Zelle Z passiert, wie dies für die Strahlenbündel 1, 3 und 5 angenommen ist, erzeugt auf dem schrägen Spalt SP ein Bild des 1. Spaltes, wie es dort durch die oberste helle Linie angedeutet ist. Orientiert man den schrägen Spalt zu dieser obersten hellen Linie so, wie es Fig. 1 zeigt, so kann ein Teil dieser Strahlenbündel den schrägen Spalt und dann das Objektiv O oben rückwärts durchtreten und fällt, durch die Zylinderlinse nach vorne gebrochen, vorne auf die Mattscheibe M. Da zufolge der simultanen Fokussierungen des Objektivs O und der Zylinderlinse ZY auf die Mattscheibe M die Zelle Z in der Vertikalen und der schräge Spalt in der Horizontalen dorthin abgebildet werden, erzeugen die Lichtstrahlenbündel 1, 3 und 5 die Bildpunkte 1', 3' und 5' auf der Mattscheibe M. Von einer von Gradienten freien Zelle Z entsteht so eine im Bilde vorne liegende, helle, vertikale Linie, deren Höhe durch diejenige der Zelle sowie den Abbildungsmaßstab,

<sup>1)</sup> E. Wiedemann, Schweiz. med. Wschr. 76, 241 (1946).

wie er durch das Objektiv O und seine Anordnung gegeben ist, bestimmt wird und deren Breite eine Funktion der Breite und Neigung des schrägen Spaltes sowie des Abbildungsmaßstabes ist, wie er sich aus der Brechkraft und Stellung der Zylinderlinse ergibt.

Lichtablenkungen durch Brechungsindexgradienten versetzen das auf dem schrägen Spalt entworfene Bild des 1. Spaltes in Richtung der Lage des dichteren Mediums. Da sich dieses praktisch immer unten in der Zelle befindet, erfolgt die Versetzung des Spaltbildes sozusagen stets nach unten. Die Folge davon ist, dass die Durchtrittspunkte derart abgelenkter Strahlenbündel auf dem schrägen Spalt sich weiter unten und weiter vorne befinden. Während die Versetzung eines Durchtrittspunktes nach unten lediglich zur Folge hat, dass andere Zonen des Objektivs O die Abbildung entsprechender Zellenabschnitte übernehmen, wird seine seitliche Versetzung von der Zylinderlinse ZY direkt aufgezeichnet, da diese ja auf den schrägen Spalt fokussiert ist und in der Horizontalen als abbildendes System wirkt. Es findet also eine den seitlichen Versetzungen der Durchtrittspunkte entsprechende Auslenkung der hellen vertikalen Linie auf der Mattscheibe statt, wenn die sie verursachende Brechungsindexänderung, wie dies in praxi stets der Fall ist, kontinuierlich vom Wert Null über ein Maximum zum Wert Null zurück verläuft. Die Grösse dieser Auslenkung ist derjenigen der Lichtablenkung auf dem schrägen Spalt, dem tg-Wert des Neigungswinkels dieses Spaltes mit der Vertikalen, sowie dem Vergrößerungsfaktor der Zylinderlinse ZY proportional.

In Fig. 1 sind zwei verschieden grosse Auslenkungen, wie sie durch zwei verschieden starke Brechungsindexgradienten verursacht werden, eingezeichnet, wobei der Figur zu entnehmen ist, auf welche Weise die kleinere Ablenkung des Lichtstrahlenbündels 2 zu einem niederen und die grössere Ablenkung des Lichtstrahlenbündels 4 zu einem höheren Kurvenscheitel (Bildpunkte 2' bzw. 4') führt.

Da die in der Zelle Z auftretenden Brechungsindexänderungen den ihnen zugrunde liegenden Konzentrationsänderungen proportional sind, kann die Konzentration C einer Substanz aus dem *Philpot-Svensson*-Bilde der Grenzfläche ihrer Lösung gegen das Lösungsmittel nach der von *H. Svensson* gegebenen Formel<sup>1)</sup>

$$C = \frac{1}{F G K a b \operatorname{tg} \Theta} \int y \cdot dx$$

berechnet werden, worin

F = die Horizontalvergrößerung,

G = die Vertikalvergrößerung,

K = das spezifische Brechungsinkrement der zu untersuchenden Substanz,

a = die wirksame Dicke der Zelle,

b = den optischen Abstand von der Zellenmitte zum schrägen Spalt,

tg  $\Theta$  = den tg-Wert des Winkels des schrägen Spaltes mit der Vertikalen und

$\int y \cdot dx$  die von der Kurve mit der zugehörigen Basislinie eingeschlossene Fläche bedeutet.

<sup>1)</sup> *H. Svensson*, Koll. Z. **90**, 141 (1940).

Ihre häufigste (partielle) Anwendung findet diese Formel bei der relativen Konzentrationsbestimmung der Komponenten eines Gemisches. Darf bei diesen ein gleicher Brechungsexponent für die Einheitskonzentrationen angenommen werden, so sind die relativen Konzentrationen den einzelnen Flächenwerten  $\int y \cdot dx$  direkt proportional.

Da die Bestimmung dieser Flächenwerte (z. B. durch Planimetrierung) um so exakter möglich ist, je kleinere Fehler beim Ausziehen der Mittellinie des passend und streng orthoskopisch vergrösserten Kurvenzuges mitsamt der Basislinie eines *Philpot-Svensson*-Bildes unterlaufen, ist eine möglichst gute und gleichmässige Schärfe der Linien dieses Bildes von erheblicher Bedeutung. In welcher Weise Form und Anwendung des schrägen Spaltes hierzu beitragen kann, ist von *H. Svensson*<sup>1)</sup> im Prinzip angegeben und vom Verfasser<sup>2)</sup> beschrieben und dargestellt worden.

Der Verbesserung der Schärfe durch Verkleinerung der Spaltbreiten ist durch das Auftreten von Beugungserscheinungen bald eine Grenze gesetzt; lässt man keine Beugungsschärfe zu, was Spaltbreiten von etwa 0,2 bis 0,1 mm bedingt, so befriedigt das Bild deshalb nicht, weil dann die mehr oder weniger horizontal<sup>3)</sup> verlaufenden Kurventeile, insbesondere die Basislinie, im Vergleich mit den steilen<sup>3)</sup> Kurvenabschnitten zu breit wiedergegeben werden. Besonders deutlich und deshalb störend wird diese Erscheinung bei grösseren Winkeln ( $\theta > 60^\circ$ ) des 2. Spaltes gegen die Vertikale, wie sie bei relativ verdünnten Untersuchungslösungen ( $C < 1\%$ ) zur Erzielung einer ausreichenden Kurvenhöhe erforderlich werden können.

Dies rührt daher, dass mit zunehmendem Winkel gegen die Vertikale der einem horizontalen Lichtband freigegebene Querschnitt des schrägen Spaltes immer mehr die Form eines langgezogenen Parallelogramms annimmt, wie es die Fig. 2 veranschaulicht.

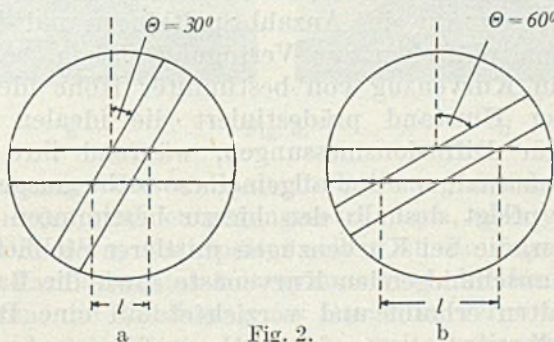


Fig. 2.

<sup>1)</sup> *H. Svensson*, Koll. Z. 87, 181 (1939).

<sup>2)</sup> *E. Wiedemann*, Schweiz. med. Wschr. 76, 241 (1946).

<sup>3)</sup> Im üblicherweise um  $90^\circ$  gedrehten Bilde.



Aus der Fig. 2 geht auch hervor, dass mit zunehmendem Spaltwinkel die seitliche Begrenzung horizontal verlaufender Kurventeile unschärfer werden muss.

Bei Verwendung eines gewöhnlichen Parallelspaltes ist eine Verengerung der Breite horizontal verlaufender Kurventeile nur unter Inkaufnahme von Beugungsunschärfe steiler Kurvenzüge möglich. Es wäre deshalb erwünscht, den schrägen Spalt nur an jenen Stellen, an welchen er die Abbildung horizontal verlaufender Kurventeile vermittelt, verengen zu können. Dies ist aber für ein komplizierteres Elektrophoresbild schon deshalb unmöglich, weil darin in gleicher Höhe über der Basis steile und flache Kurventeile vorzukommen pflegen. Bestenfalls kann man es nach *H. Svensson*<sup>1)</sup> so einrichten, dass die Basislinie und der höchste Kurvenscheitel in ihrer Breite reduziert werden. Man begrenzt hierzu den schrägen Spalt beidseits keil- oder spindelförmig und trägt dafür Sorge, dass diese Spaltbegrenzungen mit dem Ort des Durchtritts der entsprechenden Strahlenbündel zusammenfallen.

Da die Kurvenzüge, wie sie von Brechungsindexgradienten gebildet werden, im Falle der Diffusion reiner Substanzen sehr weitgehend und im Falle der Elektrophorese unter zweckmässigen Versuchsbedingungen immerhin näherungsweise dem Verlauf der idealen Verteilung nach der Funktion von *C. F. Gauss*<sup>2)</sup> entsprechen, ist es möglich, für gegebene Längen und Breiten des schrägen Spaltes jene Formen desselben zu berechnen, womit ein in seinem Verlauf der *Gauss*'schen Verteilungsfunktion genau entsprechender Kurvenzug mit konstanter Breite, also auf bestmögliche Weise, abgebildet würde. Diese Berechnung ist neuerdings von *H. Svensson*<sup>3)</sup> ausgeführt worden. Die Form eines solchen idealen Spaltes erweist sich indessen, wie leicht einzusehen ist, als so kompliziert, dass seine Herstellung für den praktischen Gebrauch nur nach einer gross gezeichneten Vorlage, nach *H. Svensson* vielleicht durch Ätzung, als möglich erscheint.

Aber auch wenn für eine Anzahl Spaltlängen und -breiten derart hergestellte Spaltplättchen zur Verfügung stehen, so kann damit jeweils nur ein Kurvenzug von bestimmter Höhe ideal abgebildet werden. Dieser Umstand prädestiniert die idealen Spalte nach *H. Svensson* für Diffusionsmessungen, während ihre Vorteile bei Elektrophoreseaufnahmen im allgemeinen nicht ausgenützt werden können. Man pflegt deshalb den hierzu bestimmten Spalten eine Form zu geben, die bei Kurvenzügen mittlerer Steilheit die sich an die Basislinie anschmiegenden Kurvenäste sowie die Basislinie selbst schmal zu halten erlaubt und verzichtet auf eine Reduktion der Kurvenscheitelbreite.

<sup>1)</sup> *H. Svensson*, Koll. Z. **87**, 1813 (199).

<sup>2)</sup> Vgl. hierzu: *K. Pearson*, Phil. Trans. Roy. Soc. London [A] **185**, 107 (1894).

<sup>3)</sup> *H. Svensson*, Ark. Kem. **22**, A, Nr. 10, 1 (1946).

In praxi heisst das, einen gewöhnlichen, drehbaren Parallelschlitz einseitig, und zwar an seinem oberen Ende, symmetrisch keilförmig zu begrenzen. Da ein derartiger Schlitz in erster Annäherung dem idealen Schlitz von *H. Svensson* entspricht, sind mit ihm schon ziemlich befriedigende Aufnahmen möglich; Spalte dieser Art sind denn auch schon von mehreren Autoren, so von *J. W. Burns* und *L. K. Henke*<sup>1)</sup>, dem Verfasser<sup>2)</sup> und *L. G. Longworth*<sup>3)</sup> beschrieben worden. Die dabei gewählten Konstruktionen sind verschieden. Da eine Weiterentwicklung möglich und vorteilhaft erschien, benützte der Verfasser die Gelegenheit der Herstellung einer neuen Elektrophorese-Apparatur für das physikalisch-chemische Laboratorium der *Sandoz A.G.* in Basel, um auch deren Spalte neu zu entwerfen und ausführen zu lassen; der drehbare Schlitz dieser Apparatur für *Philpot-Svensson*-Aufnahmen soll im folgenden beschrieben werden.

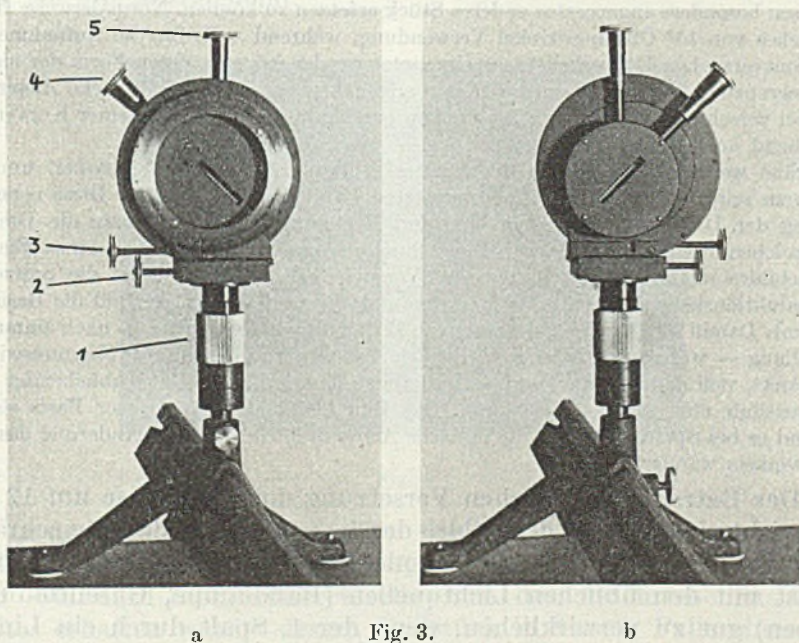


Fig. 3.

Die Fig. 3 zeigt diesen Schlitz in Richtung der Lichtbewegung, also von vorne (a) und entgegengesetzt dazu, also von rückwärts gesehen (b). Die Form des Schlitzes selbst ist die eines symmetrisch schliessenden Parallelschlitzes mit symmetrisch keilförmiger Begrenzung des oberen, die Abbildung des Basislinie vermittelnden Schlitzendes. Während er in dieser Hinsicht bereits bekannten Konstruk-

<sup>1)</sup> *J. W. Burns* und *L. K. Henke*, *Rev. Sci. Instr.* **12**, 401 (1941).

<sup>2)</sup> *E. Wiedemann*, *Schweiz. med. Wschr.* **76**, 241 (1946).

<sup>3)</sup> *L. G. Longworth*, *Ind. Eng. Chem. Anal.* **18**, 219 (1946).

tionen entspricht, weist er darüber hinaus eine Reihe von neuen Details auf, die kurz erläutert werden sollen.

Der Spalt weist fünf Einstellmöglichkeiten auf: 1 ist die Höhenverstellung, 2 die Seitenverstellung, 3 der Trieb zur Drehung des Spaltes um auf  $1/10^\circ$  direkt ablesbare Winkel, wobei von der Senkrechten aus nach beiden Seiten  $90^\circ$  bestrichen werden können, 4 ist der Trieb zur Einstellung der auf  $1/100$  mm ablesbaren Spaltbreite und 5 der Trieb zur Einstellung der symmetrisch-keilförmigen Begrenzung des oberen Spaltendes, der sogenannte Basisreduktionstrieb. Alle fünf Bewegungen erfolgen über spielfrei gehaltene Spindeltriebe, wodurch eine ausserordentlich feine Einstellung ermöglicht wird.

Der zwischen 0,00 und 5,00 mm breit einstellbare Spalt von 40 mm Länge ist gegen Überdrehen gesichert und kann durch die Basisreduktionseinrichtung, also durch das zu ihm symmetrische Keilstück, auf seine halbe Länge reduziert werden. Da die Führungen des Keilstücks zu jenen der Spaltschneiden mit besonderer Präzision senkrecht stehen, bleibt dieses bei allen Spaltbreiten und Lagen genau symmetrisch zum Spalt, so dass die in der Breite reduzierte Basislinie stets genau am richtigen Ort wiedergegeben wird. Hierzu trägt bei, dass die Schneiden des Spaltes und des Keilstücks einander zugewendet sind und dass ihr Abstand voneinander nur etwa  $1/20$  mm beträgt, so dass keine Fokusdifferenz besteht. Das Keilstück ist auswechselbar, um es für spezielle Fälle durch ein dieses besonders angepasstes anderes Stück ersetzen zu können. Normalerweise findet ein solches von  $15^\circ$  Öffnungswinkel Verwendung, während z. B. für die Aufnahme von Diffusionsversuchen Doppelkeilstücke eingesetzt werden können, deren Form der idealen Spaltbegrenzung nach *H. Svensson* besser angenähert ist. Doppelkeilstücke dieser Art mit zwei verschiedenen Keilwinkeln erlauben bereits die Aufnahme einzelner Kurven mit weitgehend konstanter Linienbreite.

Eine weitere Verbesserung des Spaltes<sup>1)</sup> besteht in seiner Drehbarkeit um eine 12 mm zu seiner Mittelachse seitlich versetzten Parallele (vgl. Fig. 3b). Diese neue Anordnung der Drehachse trägt dem Umstand Rechnung, dass im Prinzip die Drehung eines solchen Spaltes, wie sie zur Einstellung passender Kurvenhöhen eines Elektrophoresebildes mit dem Fortschreiten des Versuchs erforderlich ist, um die Spitze des Basisreduktionskeils erfolgen muss, wenn man als Bezugslinie für das Bild die Basislinie annimmt. Damit wird erreicht, dass sich die Bedienung dieses Spaltes — nach einmaliger Einstellung — während des Versuchs im Prinzip auf die Änderung des Neigungswinkels beschränkt, weil dadurch die jeweils erforderliche Kurvenhöhe bei gleichbleibender Lage der Basislinie eingestellt werden kann. Das Bild bleibt also über seiner Basis stehen, während es bei Spalten, die um die optische Achse drehbar sind, mit Änderung des Neigungswinkels wandert.

Der Betrag der seitlichen Versetzung der Drehachse um 12 mm entspricht einer Breite des Bildes des 1. Spaltes auf dem 2., schrägen Spalt von 24 mm, die möglichst nicht unterschritten werden sollte. Sie ist mit den üblichen Lichtquellen (Bandlampe, Gasentladungslampen) gut zu verwirklichen, wenn der 1. Spalt durch ein Linsensystem passender Brennweite (ca. 80 mm) ausgeleuchtet wird und seine Abbildung auf den 2. Spalt, wie meistens üblich, mittels zweier Schlierenlinsen unter achsenparalleler Durchstrahlung der Zelle in natürlicher Grösse erfolgt. Die Breite des Bildes des 1. Spaltes von 24 mm ist speziell für das vom Verfasser vorgeschlagene Kleinbild-Aufnahmeverfahren auf Leica-Film (Bildgrösse  $24 \times 36$  mm)<sup>2)</sup> pas-

<sup>1)</sup> Der bei Horizontalstellung natürlich auch für gewöhnliche Schlierenaufnahmen verwendet werden kann, wobei die Höhenverstellung (1) zur Einstellung der gewünschten Empfindlichkeit dient.

<sup>2)</sup> *E. Wiedemann*, Schweiz. med. Wschr. 75, 229 (1945).

send, das sich nicht nur wegen der Verringerung der Baulänge der Apparatur und der Abkürzung der Belichtungszeiten, sondern auch zufolge der bemerkenswert hohen, damit erreichbaren Messgenauigkeit<sup>1)</sup> einzuführen scheint. Bei diesem Aufnahmeverfahren hat das Teilbild eines Standard-Elektrophoresezellen-Abschnitts von 40 mm Höhe die Grösse von  $17 \times 24$  mm, so dass über einer Basis von 17 mm Länge maximal 24 mm hohe Kurven möglich sind. Bildet man unter Verwendung zweier periskopisch angeordneter, plankonvexer Zylinderlinsen passender Brennweite den schrägen Spalt im Maßstab 1:1 ab, so wird nicht nur das zur Verfügung stehende Bildformat voll ausgenützt, sondern auch eine streng zeichnungs-freie Abbildung durch dieses System erreicht.

Auch bei der Verwendung von Elektrophorese-Zellen mit Abschnitten von 86 mm Höhe, deren Bild dann eine Basislänge von 36 mm aufweist, erscheint die maximale Kurvenhöhe von 24 mm noch als gut ausreichend.

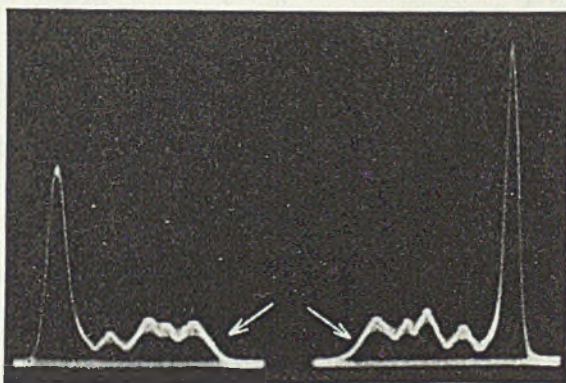


Fig. 4.

In der Fig. 4 ist die Aufnahme der beiden Teilbilder eines pathologischen humanen Plasmas wiedergegeben, wie sie unter Verwendung einer Standard-Elektrophoresezelle und des beschriebenen neuen Spaltes erhalten wurde, dessen Keilstück in diesem Falle einen Öffnungswinkel von  $15^\circ$  aufwies. Die Figur zeigt, dass die Übergänge der Kurvenzüge in die Basislinie ( $\surd$ ) erwartungsgemäss gut und mit relativ konstanter Linienbreite wiedergegeben werden. Zur Aufnahme diente weisses Licht einer Bandlampe, so dass im Hinblick auf die Verwendung nicht chromatisch korrigierter Zylinderoptik die Schärfe der Linien nicht derjenigen gleichkommt, wie sie unter Verwendung monochromatischer Strahlung möglich gewesen wäre. Es sei darauf hingewiesen, dass die Aufnahme der Fig. 4 von Extragradienten frei

<sup>1)</sup> Vgl. die voranstehende Mitteilung.

ist. Eine allgemein anwendbare Massnahme zur Eliminierung der  $\delta$ - und  $\varepsilon$ -boundaries der beiden Teilbilder unter Angleichung der Beweglichkeitswerte der korrespondierenden Gradienten wurde vom Verfasser kürzlich<sup>1)</sup> beschrieben.

Der Verfasser dankt auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. A. Stoll herzlich für die grosszügige Unterstützung seiner Elektrophorese-Arbeiten.

Chemisch-pharmazeutisches Laboratorium  
(Prof. Dr. A. Stoll) „Sandoz“, Basel.

#### 84. Die bromometrische Bestimmung des Enolgehaltes mit Hilfe der Strömungsapparatur

von G. Schwarzenbach und Ch. Wittwer.

(11. II. 47.)

Zusammen mit E. Felder wurde eine Methode zur bromometrischen Bestimmung des Enolgehaltes von sich rasch enolisierenden Ketonen beschrieben, deren Prinzip darin besteht, dass in einer kleinen Mischkammer M die Lösungen A und B mit einer Trägerflüssigkeit C (meist Wasser) zusammenfliessen und das Gemisch kurz darauf an einer Platinelektrode P vorbeiströmt<sup>2)</sup>.

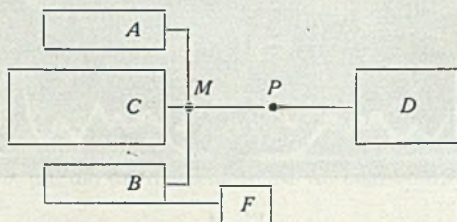


Fig. 1.

A enthält ein enolisierbares Keton von der Konzentration  $[S]_A$  neben etwas Kaliumchlorid von der Konzentration  $[Cl']_A$  und B ein Bromid-Bromat-Gemisch von solcher Acidität, dass sich darin elementares Brom mit der gewünschten Geschwindigkeit entwickelt. Der Zeitpunkt (Äquivalenzpunkt), bei welchem die Lösung B dem Gemisch ebenso viele Mole Brom zuführt, wie die Lösung A ihm Enol zuführt, ist durch einen scharfen Potentialanstieg gekennzeichnet. In diesem Moment muss das Mischungsverhältnis von A zu B sowie der Bromgehalt in B ermittelt werden. Aus diesen Zahlen lässt sich sodann der Enolgehalt berechnen.

<sup>1)</sup> Helv. 30, 168 (1947).

<sup>2)</sup> G. Schwarzenbach und E. Felder, Helv. 27, 1044 (1944); siehe auch Fig. 1, Helv. 23, 1148 (1940).

Zu diesen Daten kommen wir dadurch, dass wir im Äquivalenzpunkt die Flüssigkeit B in das Gefäss F absaugen, wo sie mit Natriumacetat in Berührung kommt. Dabei wird das  $p_H$  des Bromid-Bromat-Brom-Gemisches sprunghaft erhöht und eine weitere Bromentwicklung unterbunden. In der dabei entstandenen Lösung wird nun der Gehalt an elementarem Brom  $[\text{Br}_2]_F$  und, nach kräftigem Ansäuern und Entfernen des elementaren Broms mit Aceton, der Bromidgehalt  $[\text{Br}' ]_F$  ermittelt. Weiter wird in der endgültigen Mischung (Gefäss D) der Gehalt an Chlorid  $[\text{Cl}' ]_D$  und, wiederum nach Ansäuern und Entfernen des dabei entstehenden elementaren Broms, der Bromidgehalt  $[\text{Br}' ]_D$  bestimmt. Der Gehalt an Cl' in D und A liefert uns die Verdünnung  $V_A$ , welche die Flüssigkeit A und der Gehalt an Br' in D und F die Verdünnung  $V_F$ , welche die Flüssigkeit B erfahren hat. Aus diesen Daten erfolgt die Berechnung nach den folgenden Gleichungen:

$$V_A = \frac{[\text{Cl}' ]_A}{[\text{Cl}' ]_D}, \quad V_F = \frac{[\text{Br}' ]_F}{[\text{Br}' ]_D}, \quad \% \text{Enol} = 100 \cdot \frac{[\text{Br}_2]_F \cdot V_A}{V_F \cdot [\text{S}]_A}$$

Bei der weitem Anwendung dieser Methode sind immer wieder zum Teil sehr grosse Ungenauigkeiten aufgetreten. Wir haben nun weiteres Erfahrungsmaterial gesammelt und möchten hier auf zwei Schwierigkeiten hinweisen, die beachtet werden müssen, wenn die Methode sicher arbeiten soll. Es handelt sich um: 1. die gleichzeitige Ermittlung von Cl' und Br' in D und 2. um die Beschaffenheit und Menge des Natriumacetates, welches in F mit der Flüssigkeit B gemischt wird.

1. Wir haben Cl' und Br' mit einer Silberelektrode als Indikator und  $\text{AgNO}_3$  als Massflüssigkeit nebeneinander titriert. Es ist bekannt<sup>1)</sup>, dass dieses Verfahren seine Schwierigkeiten hat, indem der erste Potentialsprung zu spät erscheint und man somit zuviel Br' und zu wenig Cl' findet. Eine Unzahl von Titrationsen hat uns nun zu der Überzeugung gebracht, dass man genau richtige Resultate erhält, wenn man in Gegenwart eines grossen Überschusses an Schwefelsäure titriert und die Bromid-Chlorid-Menge klein bleibt. Wir halten die Konzentration der Schwefelsäure zwischen 0,5 und 1-n., während diejenige der Summe von Br' und Cl' etwa 0,005-n. beträgt. Zudem ist energisches Rühren notwendig und die Silberelektrode — ein dicker Draht eignet sich gut — muss vor jeder Titration mechanisch blankgerieben werden. Auch ist es vorteilhaft, die Masslösung in der Gegend des Äquivalenzpunktes stets in denselben kleinen Anteilen zuzugeben und nach jeder Zugabe dem Potential etwa eine Minute Zeit zum Einstellen zu lassen.

An Stelle von Cl' haben wir auch versucht, das Ion  $[\text{Co}(\text{CN})_6]^{-3}$  als Indikator zu verwenden. In der Tat macht die gleichzeitige Titration von Bromid und Hexacyanocobaltat(III) mit Ag- weniger Schwierigkeiten als die gleichzeitige Bestimmung von Cl' und Br'. Es erwies sich jedoch als schwierig, grössere Mengen des Salzes  $\{ \text{K}_3[\text{Co}(\text{CN})_6] \}$  in völliger Reinheit darzustellen. Handelsprodukte erwiesen sich als stark verunreinigt, und die völlige Abtrennung von Cyanid ist mühsam, da das Komplexsalz schlecht kristallisiert.

<sup>1)</sup> H. Flood und E. Sletten, Z. anal. Ch. 115, 30 (1938); H. Schütza, Angew. Ch. 51, 55 (1938).

Wir haben jedoch das Hexacyanokobalt(III)-ion mit Erfolg bei der Bestimmung des Enolgehaltes in konz. Schwefelsäure als Lösungsmittel<sup>1)</sup> angewandt. In diesem Lösungsmittel wird Cl' in HCl verwandelt, was wegen dessen Flüchtigkeit Schwierigkeiten macht.

2. Die grösste Gefahr, zu falschen Werten zu gelangen, liegt darin, dass beim Mischen der Lösung B mit Natriumacetat in F elementares Brom verschwinden kann und dann zu kleine Enolgehalte resultieren. Es erwies sich, dass die handelsüblichen Präparate von angeblich reinstem Natriumacetat stets kleine Mengen von Brom aufnehmen. Auch wenn die Verunreinigungen des Salzes sehr gering sind, so bedingen die Bromverluste doch erhebliche Fehler, da die benötigte Menge Natriumacetat etwa das hundertfache der vorhandenen Brommenge beträgt. Die Methode stellt also recht hohe Anforderungen an die Reinheit des verwendeten Natriumacetates.

Wir haben uns das Salz schliesslich stets selbst hergestellt. Der dazu verwendete Eisessig wurde über Chromsäure abdestilliert, dann mit Brom stehen gelassen und schliesslich noch über  $\text{KMnO}_4$  destilliert. Weiter wurde reinstes Natriumcarbonat aus einer Hypobromit-haltigen Lösung mehrmals umkristallisiert. Schliesslich wurde das aus diesen Materialien bereitete Natriumacetat nochmals der fraktionierten Kristallisation unterworfen.

Aber auch mit einem derart bereiteten Salz kann man zu fehlerhaften Resultaten gelangen, wenn zu grosse Mengen davon in F verwendet werden. Bei den dabei entstehenden ziemlich hohen  $p_{\text{H}}$ -Werten kann ein Teil des Broms durch Bromatbildung verschwinden<sup>2)</sup>. Wir haben aber Hinweise dafür, dass Brom auch anderweitig verschwinden kann, wahrscheinlich durch immer noch vorhandene Verunreinigungen, die erst bei höheren  $p_{\text{H}}$ -Werten das Brom aufnehmen.

Durch zahlreiche Versuche haben wir aber festgestellt, dass keine Bromverluste eintreten, wenn man die Lösung nur auf etwa  $p_{\text{H}}$  4—5 abpuffert, was vollkommen genügt, um die Bromentwicklung zu unterbinden. Die in F vorzuliegende Natriumacetatmenge berechnen wir deshalb heute aus der Konzentration der Schwefelsäure in B und dem Fassungsvermögen des Gefässes F, indem wir sie nicht ganz doppelt so gross machen, wie die abpuffernde Säure.

Wenn man diese Punkte berücksichtigt, arbeitet die Methode mit grosser Sicherheit. Wir haben sie dadurch geprüft, dass wir die Lösung A statt mit einem enolisierenden Keton mit verschiedenen Mengen Arsenit beschickten. Es zeigte sich, dass man den Arsenitgehalt mit einer Genauigkeit von etwa  $\pm 1\%$  finden kann, ziemlich unabhängig von dessen absoluter Menge. Deshalb darf der Fehler bei der Enolbestimmung ebenfalls mit  $\pm 1\%$  des Enolgehaltes angegeben werden. Die Genauigkeit der Methode ist also bei kleinen Enolgehalten recht gross. Wie in einer folgenden Arbeit gezeigt werden wird, kann man mit der Strömungsapparatur noch Enolgehalte bis hinunter zu  $10^{-5}\%$  erfassen<sup>3)</sup>.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

<sup>1)</sup> G. Schwarzenbach und Ch. Wittwer, Helv. 30, 659 (1947).

<sup>2)</sup> Über die Kinetik der Bromatbildung siehe A. Skrabal, M. 71, 251 (1938).

<sup>3)</sup> G. Schwarzenbach und Ch. Wittwer, Helv. 30, 669 (1947).

## 85. Über den Zustand enolisierbarer Ketone in übersauren Lösungsmitteln

von G. Schwarzenbach und Ch. Wittwer.

(11. II. 47.)

Die bromometrische Enolbestimmungsmethode mit der Strömungsapparatur<sup>1)</sup> ermöglicht es, das Keto-Enol-Gleichgewicht in starker Säure als Lösungsmittel zu messen. Wir haben derartige Bestimmungen mit Acetylaceton in starker Schwefelsäure ausgeführt. Die Arbeitsweise war dabei genau die früher beschriebene. Die stark saure Lösung fließt aus dem Gefäß A (siehe Fig. 1, S. 656) in die Mischkammer M, wo sie stark verdünnt wird und gleichzeitig mit dem Brom aus dem Gefäß B zusammentrifft. Das Gemisch strömt dann an der Indikatorelektrode P vorbei, welche den Äquivalenzpunkt anzeigt.

Gegenüber den Messungen mit verdünnt-wässrigen Lösungen des enolisierbaren Ketons treten folgende zwei Schwierigkeiten auf:

1. Die Viskosität der Lösungen in starker Schwefelsäure ist wesentlich grösser als diejenige verdünnter Lösungen. Dadurch wird die Ausflussgeschwindigkeit durch die Kapillare in die Mischkammer um so mehr herabgesetzt, je höher die Säurekonzentration ist. Damit erhält man auch immer grösser werdende Verdünnungsgrade  $V_A$ , welches die Genauigkeit ungünstig beeinflusst. Aus diesem Grunde werden unsere Messwerte um so ungenauer, je höher die Schwefelsäurekonzentration ist, was aus der Tabelle 1 und der Fig. 2 deutlich hervorgeht.

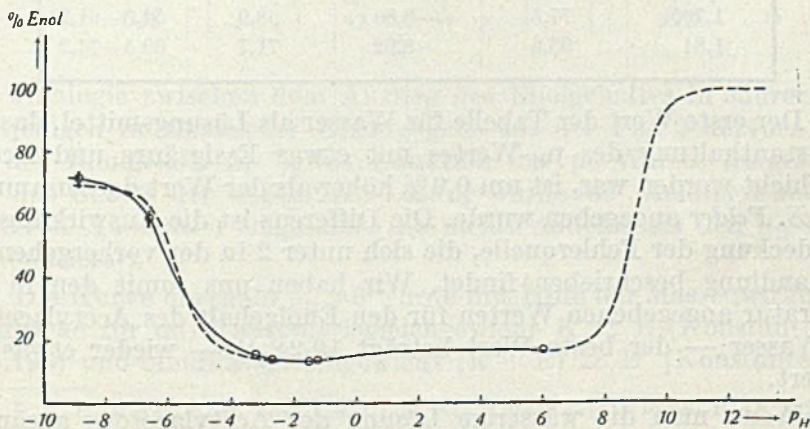


Fig. 2.

2. Die Lösung A hat neben dem enolisierbaren Keton noch einen Indikator zu enthalten, aus dessen Konzentration in der Endlösung (Gefäß D) die Verdünnung  $V_A$  erhalten werden kann. Als Indikator diente bisher stets Chlorion. { KCl } ist auch für die Versuche

<sup>1)</sup> Siehe vorhergehende Abhandlung.



in Schwefelsäure ein geeigneter Indikator, solange die Säurekonzentration nicht zu gross ist. In sehr starker Schwefelsäure wird  $\text{Cl}'$  aber in  $\text{HCl}$  verwandelt, welches durch seine Flüchtigkeit Schwierigkeiten verursacht. Für den Versuch in 95,6-proz. Schwefelsäure haben wir deshalb als Indikator das Salz  $\{\text{K}_3[\text{Co}(\text{CN})_6]\}$  an Stelle von  $\{\text{KCl}\}$  verwendet. Das Hexacyanokobalt(III)-ion hält sich in dieser starken Säure während vieler Stunden nahezu unverändert. Erst im Laufe von Wochen tritt völlige Zersetzung ein.

Die nachfolgende Tabelle 1 enthält die Messwerte. Die Konzentration des Acetylacetons im übersauren Lösungsmittel betrug dabei zwischen 0,01 und 0,03 Mole/Liter. Für die Konzentration  $[\text{Br}_2]_F$  des elementaren Broms beim Äquivalenzpunkt wurden Werte zwischen 0,001 und 0,003 Mole/Liter gefunden. Die Verdünnung  $V_F$  der Bromid-Bromat-Lösung betrug zwischen 9 und 15, während die Verdünnung  $V_A$  von 16 (Wasser als Lösungsmittel) auf 122 (konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) anstieg. In der Tabelle 1 steht für %-Enol ein Mittelwert aus drei Einzelmessungen, während die letzte Kolonne über die Grenzen Aufschluss gibt, innerhalb welcher sich diese Einzelwerte bewegten.

Tabelle 1.  
(20°).

Dichte	Lösungsmittel		$p_{\text{H}}$	%-Enol	Streuung
	% $\text{H}_2\text{SO}_4$				
	Wasser		+ 6	16,4	16,3—16,5
1,193	26,4		- 1,34	13,8	13,7—13,8
1,208	28,4		- 1,51	13,4	13,3—13,4
1,350	45,0		- 2,72	14,6	14,5—14,6
1,395	49,5		- 3,17	16,8	16,7—16,9
1,565	66,5		- 5,36	32,6	32,2—32,9
1,705	77,5		- 6,60	58,9	54,9—61,2
1,84	95,6		- 8,92	71,7	69,5—74,2

Der erste Wert der Tabelle für Wasser als Lösungsmittel, das zur Konstanthaltung des  $p_{\text{H}}$ -Wertes mit etwas Essigsäure und Acetat beschickt worden war, ist um 0,9% höher als der Wert der zusammen mit *E. Felder* angegeben wurde. Die Differenz ist die Auswirkung der Entdeckung der Fehlerquelle, die sich unter 2 in der vorhergehenden Abhandlung beschrieben findet. Wir haben uns somit den in der Literatur angegebenen Werten für den Enolgehalt des Acetylacetons in Wasser — der beste Wert beträgt 19,2%<sup>1)</sup> — wieder etwas genähert.

Wenn man die wässrige Lösung des Acetylacetons ansäuert, so nimmt der Enolgehalt zunächst langsam ab, ein Effekt, den schon *Nachod* beobachtet hat<sup>1)</sup>. Dieses Absinken ist wohl auf eine verschiedene Beeinflussung der Aktivitätskoeffizienten von Keto- und Enolform durch den Elektrolyten zurückzuführen, und ist der

<sup>1)</sup> *F. C. Nachod*, Z. physikal. Ch. [A] **182**, 193 (1938).



=  $1,19 \times 10^{-9}$  bei  $25^\circ$ ) berechnet, welche zu folgendem Ausdruck führen:

$$\frac{\% \text{Enol}}{\% \text{Keto}} = \frac{E + E'}{K} = \frac{K_{ac}}{H} + K_T \left( 1 + \frac{K_{ac}}{H} \right) \quad (I)$$

K, E, E' und H bedeuten dabei die Aktivitäten von Keton, Enol, Enolat und Wasserstoffion. Über den Verlauf des Enolgehaltes im  $p_H$ -Gebiet um 9, über den man ja nicht im Zweifel sein kann (Gleichung I), liegen nun auch experimentelle Messungen vor<sup>1)</sup>.

Der Anstieg des Enolgehaltes im übersauren Gebiet gehorcht keiner so einfachen Gesetzmässigkeit. Er wird einmal dadurch kompliziert, dass sich ja im Gebiet negativer  $p_H$ -Werte nicht nur die Acidität, sondern auch das Lösungsmittel ändert, was eine Veränderung der Aktivitätskoeffizienten für alle an den Gleichgewichten teilnehmenden Partikel zur Folge hat. Über den dadurch bewirkten Rückgang des Enolgehaltes bis in die Gegend von  $p_H = -2$  ist schon gesprochen worden. Auch bei den stärker aciden Lösungen werden derartige Effekte nicht ausbleiben. Sie können aber den allgemeinen Verlauf der Kurve nicht verwischen. Man erkennt deutlich, dass der Enolgehalt bei immer negativer werdenden  $p_H$ -Werten nicht gegen 100% strebt, sondern vielleicht gegen 70 oder 80. Das beweist, dass nicht nur die Enolform als Base fungiert, sondern auch die Ketoform ein Salz bildet, wobei K' entsteht. Die in Fig. 2 in diesen  $p_H$ -Gebieten eingezeichnete gestrichelte Kurve ist unter einer derartigen Annahme berechnet worden, wobei die Gleichung II benutzt wurde:

$$\frac{\% \text{Enol}}{\% \text{Keto}} = \frac{E + E'}{K + K'} = \frac{A \cdot B \cdot K_T + B \cdot K_T \cdot H}{A \cdot B + A \cdot H} \quad (II)$$

A und B stehen dabei für die Gleichgewichtskonstanten der beiden Aciditätsgleichgewichte  $E + H \rightleftharpoons E'$  (Konstante A) und  $K + H \rightleftharpoons K'$  (Konstante B). H bedeutet wieder  $10^{-p_H}$  und kann mit Protonenaktivität bezeichnet werden. Gleichung II ist lediglich eine Kombination der drei Massenwirkungsausdrücke mit den Gleichgewichtskonstanten A, B und  $K_T$ . Es wurden diejenigen Werte für A und B gesucht, welche den experimentellen Werten am besten genügten und damit die gestrichelte Kurve der Fig. 2 konstruiert. Diese entspricht den Werten  $A = 1,09 \times 10^5$  und  $B = 1,36 \times 10^6$ . Die Enolform des Acetylacetons und seine Diketonform werden also bei  $p_H$ -Werten von  $-5,04$  bzw.  $-6,13$  in Salze verwandelt. Man kann diese Zahlen die  $p_K$ -Werte dieser Stoffe nennen:

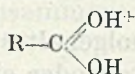
$$\text{Enolform: } p_K^* = -5,0$$

$$\text{Ketoform: } p_K^* = -6,1$$

Dass Ketone in der Tat in der Gegend von  $p_H = -6$  Salze bilden, ist auch von *Hammett* und seinen Schülern gezeigt worden, welche z. B.

<sup>1)</sup> *Eidinoff*, Am. Soc. 67, 2072, 2073 (1945).

für Acetophenon den  $p_K^*$ -Wert  $-6,03$  angeben<sup>1</sup>). Hingegen ist die Enolform eines  $\beta$ -Diketons wesentlich basischer als eine Carboxylsäure, da Carbonsäuren erst bei  $p_H$ -Werten zwischen  $-7$  und  $-8$  ein Proton aufnehmen<sup>1</sup>). Dieser wesentliche Unterschied zwischen dem sonst so verwandten Elektronensystem der beiden Gruppen<sup>2</sup>) ist wohl darauf zurückzuführen, dass an der Mesomerie von E<sup>-</sup> Carbeniumstrukturen schon wesentlich beteiligt sind. Bei der Enolform des Acetylacetons sind es zwei C-Atome, welche die positive Ladung aufnehmen können. Bei der mit Säure ein Salz bildenden Carboxylgruppe



muss ein einziges C-Atom die ganze positive Ladung tragen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

## 86. Über das Keto-Enol-Gleichgewicht bei cyclischen $\alpha$ -Diketonen

von G. Schwarzenbach und Ch. Wittwer.

(11. II. 47.)

Es ist schon lange bekannt, dass ausser den  $\beta$ -Diketonen auch eine Anzahl cyclischer  $\alpha$ -Diketone messbare Mengen Enol enthalten können<sup>3</sup>). Wir haben versucht, das Gleichgewicht der Tautomeren für einige dieser Fälle zu messen. Als Lösungsmittel fand wieder Wasser Verwendung, und wir benutzten unsere bromometrische Methode mit der Strömungsapparatur<sup>4</sup>). Es hat sich dann allerdings herausgestellt, dass es nicht notwendig gewesen wäre, dieses etwas komplizierte Messverfahren anzuwenden, da sich das Keto-Enol-Gleichgewicht bei den  $\alpha$ -Diketonen sehr langsam einstellt, so dass man die gewöhnliche Bromtitration nach *K. H. Meyer* verwenden könnte. Immerhin hat die Anwendung der Strömungsapparatur gezeigt, dass der von uns durch Bromierung gemessene und als Enolform bezeichnete Stoff mit sehr grosser Geschwindigkeit mit dem Halogen reagiert, wie es erfahrungsgemäss nur bei echten Enolen der Fall ist.

### 1. Cyclohexadion-1, 2.

Wird reines, krystallisiertes Cyclohexadion (Smp.  $38^0$ )<sup>5</sup>) in Wasser gelöst, so findet man bei der frisch bereiteten Lösung einen Enol-

<sup>1</sup>) *Flexser, Hammett, Dingwall*, Am. Soc. **57**, 2103 (1935); *Flexser und Hammett*, Am. Soc. **60**, 885 (1938); *Hammett und Zucker*, Am. Soc. **61**, 2785 (1939).

<sup>2</sup>) *G. Schwarzenbach und K. Lutz*, Helv. **23**, 1162 (1940).

<sup>3</sup>) S. z. B. *W. Hückel*, „Theoretische Grundlagen der Org. Chemie“, I, S. 215 (1940), 3. Auflage.

<sup>4</sup>) *G. Schwarzenbach und Ch. Wittwer*, Helv. **30**, 656 (1947).

<sup>5</sup>) Die Herstellung erfolgte nach *Riley*, Soc. **1932**, 1878.

gehalt von etwa 100%. Beim Stehen der Lösung nimmt der Enolgehalt langsam ab, wie es die folgende Messreihe zeigt:

Tabelle I.

Abnahme des Enolgehaltes in reinem Wasser Konzentration des Diketons = $8,2 \times 10^{-3}$ . Temp. ca. 20°						
Zeit nach Bereiten der Lösung .	24 h	28,1 h	48 h	190 h	360 h	1080 h
% Enol . . . . .	93,7	92,1	86,2	75,6	61,5	34,7

Dieser Rückgang des Enolgehaltes kann entweder einen langsamen Übergang in das Diketon oder einen irreversiblen Zerfall bedeuten. Wir fanden nun weiter zunächst, dass die Abnahme des Enolgehaltes in saurer Lösung schneller erfolgt:

Tabelle II.

Abnahme des Enolgehaltes in verd. Schwefelsäure von der Konzentration 0,067-n. Diketon = 7,0. Temp. ca. 20°						
Zeit nach Bereiten der Lösung.	2 ½ h	24 h	25 h	49 h	50 h	216 h
% Enol . . . . .	98,7	94,5	91,4	88,4	86,8	64,15

Die Zahlen der Tabellen I und II sind in der Fig. 3 (Kurven I und II) dargestellt. Man erkennt aus den Kurven deutlich, dass die Säure katalysierend auf die Reaktion gewirkt hat. Schon diese Tatsache deutet darauf hin, dass es sich kaum um eine Zerfallsreaktion handeln wird. Als solche kommt ja vor allem ein Übergang des Cyclohexadions in 1-Oxy-cyclopentan-1-carbonsäure in Frage, eine der Benzilsäureumlagerung analoge Reaktion, die in saurer Lösung langsamer erfolgen sollte<sup>1)</sup> als in neutraler oder alkalischer.

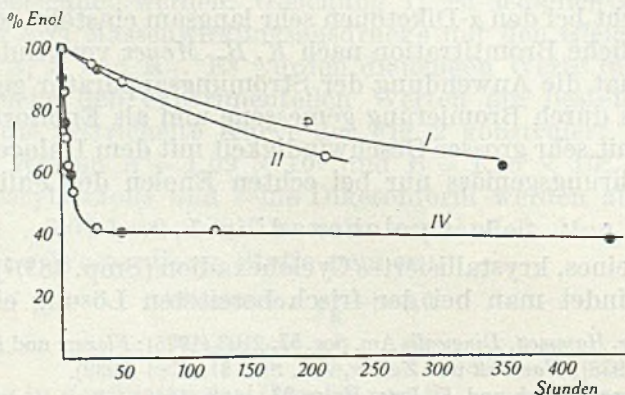


Fig. 3.

<sup>1)</sup> S. Buch W. Hückel, Bd. I, S. 322.

Um nun zu zeigen, dass der Rückgang des Enolgehaltes auf einer Ketonisierung beruht, haben wir saure, längere Zeit gestandene Lösungen alkalisch gemacht. Dabei geht die Enolform in ihr Salz über und aus dem gebildeten Diketon muss sich die Enolform deshalb wieder zurückbilden. Nach erneutem Ansäuern sollte man also wieder einen erhöhten Enolgehalt antreffen. Dass dies wirklich der Fall ist, zeigen die wenigen Zahlen der Tabelle III. Um den Übergang des Diketons in die Cyclopentan-carbonsäure nicht zu stark zu fördern, haben wir die Lösung nur auf  $p_H$  12 gebracht und einige Zeit stehen lassen. Die ursprüngliche Zusammensetzung der Lösung ist dieselbe wie in Tabelle II.

Tabelle III.

Alter der sauren Lösung . . .	11 Tage	12 Tage	15 Tage
%Enol der sauren Lösung . .	62	61	56
Bei $p_H = 12$ gehalten für . .	5 Min.	20 Min.	60 Min.
%Enol nach Ansäuern . . . . .	64,5	70,5	78,7

Aus diesen wenigen Versuchen geht mit Gewissheit hervor, dass das reine kryst. Cyclohexadion-1, 2, das wir verwendeten, die 100-proz. Enolform darstellt, welche in wässriger Lösung in sehr langsamer Reaktion zum Teil in die Diketonform übergeht. Die Geschwindigkeit dieser Reaktion wird, wie die Einstellung jedes Keto-Enol-Gleichgewichtes, durch Säuren und Basen katalysiert.

Die Langsamkeit der Reaktion macht es nun aber schwierig, die Gleichgewichtskonstante zu bestimmen, weil nämlich, wie wir ebenfalls eindeutig feststellen konnten, in wässriger Lösung auch ein irreversibler Zersetzungsprozess stattfindet. Die Zahlen der Tabellen I und II zeigen, dass der Gleichgewichtszustand in neutraler oder schwach saurer Lösung nach Tagen noch keineswegs erreicht ist. Um die Reaktion zu beschleunigen, haben wir noch eine Messung in ca. 7-n. Schwefelsäure ausgeführt (Tabellen IV und V) und gefunden, dass in diesem stark sauren Lösungsmittel der Enolgehalt bereits nach 25 Stunden praktisch den Endwert erreicht hat. Später sinkt der Wert nur noch sehr langsam und offensichtlich nach einem prinzipiell andern Gesetz (Kurve IV):

Tabelle IV.

Abnahme des Enolgehaltes in 7,15-n. $H_2SO_4$ bei etwa 20° Konz. des Cyclohexadions = 0,0092					
Zeit nach Bereiten der Lösung.	1 h	8 ½ h	25 h	48 h	430 h
%Enol . . . . .	89,7	58,5	41,8	40,3	36,6

Tabelle V.

Dieselben Bedingungen wie Tabelle IV. Ketonkonz. = 0,0078							
Zeit . . . . .	1 h	3 h	4 h	6 ½ h	9 h	26 h	122 h
% Enol . . . . .	85,3	75,1	70,5	61,4	53,3	41,3	40,8

In diesem stark sauren Lösungsmittel vom  $p_H$ -Wert ca.  $-1,5$  liegt das Gleichgewicht somit bei einem Enolgehalt von 42%. Nach den Erfahrungen, die wir mit Acetylaceton machten<sup>1)</sup>, ist es wahrscheinlich, dass der Gleichgewichtswert für reines Wasser als Lösungsmittel nicht wesentlich anders sein wird. Die gleichzeitig vor sich gehende Zerfallsreaktion macht eine exakte Bestimmung in neutralem Lösungsmittel wegen der Langsamkeit der Einstellung schwierig. Es gelingt jedoch, die irreversibel zerfallene Menge acidimetrisch ungefähr zu messen (siehe unten) und damit zu zeigen, dass auch bei mittleren  $p_H$ -Gebieten der Enolgehalt etwa 40% beträgt.

Die acidimetrische Titration des Cyclohexadions hat ergeben, in Übereinstimmung mit den bromometrischen Messungen, dass man frisch bereitete Lösungen zu 100% als Säure mit einem  $p_K$ -Wert von 10,301 (20%) titrieren kann. Die Einstellung des Keto-Enol-Gleichgewichtes erfolgt in alkalischer Lösung rascher als in neutraler, ist aber immer noch derart langsam, dass es leicht gelingt, die Enolform neben der Ketoform auch acidimetrisch zu titrieren<sup>2)</sup>. Wir zeigten dies mit einer Lösung, welche angesäuert worden war (Cyclohexadion = 0,029 Mole/Liter, HCl = 0,0225) und dann erst nach vier Wochen mit NaOH titriert wurde. Wir fanden dabei, dass sich nur 47% des Stoffes als Enol titrieren liessen. Nach Erreichen des Äquivalenzpunktes ( $p_H = 11$ ) wurde die Lösung stehen gelassen und beobachtet, wie das Potential der Wasserstoffelektrode langsam wieder positiver wurde, so dass nach 12 Minuten weitere 7% Enol titriert werden konnten. Diese Rückbildung der Enolform in ihrem Puffergebiet kann sehr schön verfolgt werden. Sie betrug nach ½ Stunde weitere 12 und nach 3 Stunden weitere 17% und war nach einem Tag praktisch beendet. Die Änderung des Enolgehaltes war bei diesen Versuchen natürlich keine einfache Funktion der Zeit, da der  $p_H$ -Wert ja dabei nicht konstant blieb. Die Zahlen vermitteln aber trotzdem einen ersten Begriff von der Enolisierungsgeschwindigkeit.

Diese Titrationsversuche von angesäuerten und dann lange gestandenen Lösungen zeigten ferner, dass sich beim Stehen eine Carbonsäure bildet, deren Puffergebiet bei etwa  $p_H$  5 überschritten wird. Bei der irreversiblen Zerfallsreaktion kann es sich also sehr wohl um den Übergang in die 1-Oxy-cyclopentan-1-carbonsäure handeln. Es ist also möglich, bei lange gestandenen Lösungen, bei denen das Keto-Enol-Gleichgewicht erreicht worden ist, zugleich die irreversibel zerfallene Menge grob aus der Grösse dieses Puffergebietes zu bestimmen. Die Genauigkeit ist aber nicht gross, weil das Puffergebiet tief liegt und dessen Beginn nicht scharf genug festzustellen ist. Einige in dieser Richtung angestellte Versuche zeigten, dass von dem nicht irreversibel zerfallenen Cyclohexadion auch in neutralen Lösungen etwa 40% als Enol vorliegen.

<sup>1)</sup> S. vorhergehende Abhandlung.

<sup>2)</sup> Über die Möglichkeit der alkalimetrischen Titration der Enolform bei  $\beta$ -Diketonen s. *Schwarzenbach und Lutz, Helv. 23, 1151 (1940)*.

2. Weitere cyclische  $\alpha$ -Diketone.

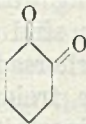
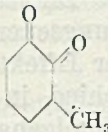

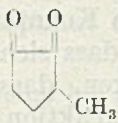
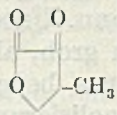
In gleicher Weise wie Cyclohexadion, wenn auch etwas weniger gründlich, wurde auch das 1-Methyl-cyclohexadion-2,3 (vom Smp.  $64^{\circ}$ )<sup>1)</sup> untersucht und dabei gefunden, dass bei diesem Stoff das Gleichgewicht in wässriger Lösung bei etwa 60% Enol liegt. Auch hier weisen frisch bereitete Lösungen 100% Enol auf, und auch hier verläuft die Ketonisierung sehr langsam.

Demgegenüber liegt das Gleichgewicht bei den  $\alpha$ -Diketonen mit 5 Ringgliedern, nämlich 1-Methyl-cyclopentadion-2,3 (Smp.  $105^{\circ}$ )<sup>2)</sup> und  $\alpha$ -Oxo- $\beta$ -methyl- $\gamma$ -butyrolacton<sup>3)</sup>, bei 100% Enol. Der Enolgehalt in neutraler oder saurer Lösung verändert sich selbst bei mehrtägigem Stehen nicht merklich und zeigt innerhalb der Fehlergrenze ( $\pm 1\%$ ) stets 100% an. Die alkalischen Lösungen dieser Stoffe sind aber wenig stabil. So sank bei Cyclopentadion der Enolgehalt einer alkalisch gemachten Lösung bei  $20^{\circ}$  innerhalb von 40 Minuten von 100% auf 94% ab.

Leider stand uns kein reines Präparat des unsubstituierten 1,2-Cyclopentadions zur Verfügung. Bei dessen Gewinnung durch Oxydation von Cyclopentanon<sup>3)</sup> erhielten wir nur kleine Mengen, deren vollständige Reinigung uns nicht gelang. Das Produkt wies, berechnet auf die Formel  $C_5H_6O_2$ , 90,7% Enol auf, sowohl bei der bromometrischen als auch bei der acidimetrischen Bestimmung. Dieser Gehalt änderte sich beim Stehen der Lösung nicht, so dass geschlossen werden darf, dass auch das unsubstituierte  $\alpha$ -Cyclopentadion im Gleichgewichtszustand in wässriger Lösung zu 100% in der Enolform vorliegt.

Die folgende Tabelle VI enthält eine Zusammenstellung der Versuchsergebnisse.  $p_{KE}$  bedeutet dabei den  $p_K$ -Wert der Enolform.

Tabelle VI.

Substanz					
% Enol . .	40%	60%	100%	100%	100%
$p_{KE}$ . . .	10,30	11,23	9,14	9,60	7,77

<sup>1)</sup> Herstellung erfolgte nach *O. Wallach*, A. 437, 173 (1924).

<sup>2)</sup> Für die Überlassung dieser Substanzen sind wir Herrn Prof. *Pl. A. Plattner* zu Dank verpflichtet.

<sup>3)</sup> *Riley*, Soc. 1932, 1880.



### 3. Schlussfolgerungen.

Wie wir in der folgenden Abhandlung zeigen werden, besitzt das Diacetyl einen etwa 20 mal so grossen Enolgehalt wie das Aceton. Daraus folgt ganz offensichtlich, dass die Nachbarstellung zweier Carbonylgruppen die Ausbildung des Enolsystems begünstigt. Eine theoretische Erklärung dieses Befundes ist nicht so leicht zu finden, da ja bei den  $\alpha$ -Diketonen, im Gegensatz zu den  $\beta$ -Diketonen die Enolisierung keine neuen Resonanzmöglichkeiten schafft, die nicht auch bei einfachen Ketonen vorhanden wären. Die intramolekularen Atomabstände weisen zwar darauf hin, dass zwei benachbarte Carbonylgruppen durch die gegenseitige Einwirkung ihrer Dipole ein stark gespanntes System darstellen<sup>1)</sup>, dessen Spannungszustand durch den Übergang in die Enolform eine Milderung erfahren dürfte.

Eine weitere Erfahrungstatsache besagt, dass cyclische Ketone, bei welchen der Carbonylkohlenstoff Ringatom ist, stets viel weitgehender enolisiert sind als offenkettige Verbindungen. Wir haben seinerzeit den Unterschied darauf zurückgeführt<sup>2)</sup>, dass bei offenkettigen Molekeln die Enolisierung eine grössere Einbusse an freier Drehbarkeit bedingt als bei cyclischen, so dass sie statistisch unwahrscheinlicher wird. Der Einfluss des Ringschlusses müsste sich dann vor allem auf die Entropie des Enolisierungsvorganges auswirken, über die aber experimentell noch sehr wenig bekannt ist. In der folgenden Abhandlung werden wir zeigen, dass der Ringschluss auch bei einfachen Ketonen die Enolisierung stark erhöht. So enthält Cyclohexanon etwa die 100fache Menge Enolform wie Aceton.

Im Hinblick auf diese zwei Erfahrungstatsachen ist es verständlich, dass cyclische  $\alpha$ -Diketone sich stark enolisieren, wie es die Tabelle VI zeigt. Die Verhältnisse sind aber insofern gerade umgekehrt wie bei den cyclischen  $\beta$ -Diketonen, als die 5-Ringverbindung hier mehr Enol enthält als die 6-Ringverbindung. Man kann sich denken, dass das 5-Ring- $\alpha$ -Diketon eine besonders grosse Ringspannung besitzt, welche durch die Enolisierung gemildert werden kann. Unsere Kenntnisse der Bindungsenergien sind aber noch viel zu grob, als dass sich ein derartiger Effekt vorhersagen liesse. Man muss bedenken, dass der Unterschied in der freien Energie der Enolisierungsreaktion bei 50-proz. Enolgehalt einerseits und 99-proz. Enolgehalt andererseits nur wenige kcal. beträgt.

Ein grosser Unterschied zwischen  $\alpha$ -Diketonen und  $\beta$ -Diketonen besteht in der Geschwindigkeit, mit der sich das Keto-Enol-Gleichgewicht einstellt. Das ist natürlich auf einen Aciditätsunterschied des bei der Enolisierung wandernden Protons der Diketonmolekel zurück-

<sup>1)</sup> J. E. L. Valle und V. Schomaker, Am. Soc. 61, 3520 (1939).

<sup>2)</sup> G. Schwarzenbach und E. Felder, Helv. 27, 1706—1707 (1944).

zuführen, welches bei den  $\beta$ -Diketonen durch zwei benachbarte Acetylgruppen beeinflusst wird und deshalb saurer sein muss als bei den  $\alpha$ -Diketonen.

Ebenfalls verständlich ist die geringe Acidität der Enolformen der  $\alpha$ -Diketone, die mit derjenigen von Phenol vergleichbar ist, wie es ja auch der Name Diosphenol ausdrückt<sup>1)</sup>. Die Enolformen der cyclischen  $\beta$ -Diketone sind hingegen fast so stark sauer wie Carbon-säuren<sup>2)</sup>, was sicherlich mit der Ähnlichkeit der Resonanzsysteme von Enolation und Carboxylation zusammenhängt.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

## 87. Über die Enolgehalte einfacher Ketone

von G. Schwarzenbach und Ch. Wittwer.

(11. II. 47.)

Wir haben gefunden, dass sich mit der von uns entwickelten Strömungsapparatur<sup>3)</sup> noch sehr kleine Enolgehalte nachweisen und bestimmen lassen. Diese Leistungsfähigkeit hat ihren Grund im Vermögen einer Platinelektrode, selbst auf äusserst geringe Mengen freien Broms sofort anzusprechen. Die Arbeitsweise bei Substanzen mit sehr kleinen Enolgehalten ist nicht wesentlich anders als diejenige mit stärker enolisierenden Ketonen. Das zu untersuchende Keton wird als Lösung in das Gefäss A (s. Fig. 1, S. 656) eingefüllt und man hat nun nur dafür zu sorgen, dass sich in B das elementare Brom, entsprechend dem kleinen Enolgehalt in A, sehr langsam entwickelt. Die Geschwindigkeit, mit der in B Brom entsteht, lässt sich beliebig durch den  $p_{\text{H}}$ -Wert der Bromid-Bromat-Lösung variieren. Natürlich ist der Anstieg der „Potential-Zeit-Kurven“ nicht so steil, wenn sich das Brom sehr langsam entwickelt. Die Kurven der Figg. 4, 5 und 6 zeigen aber, dass sich der Äquivalenzpunkt trotzdem mit Deutlichkeit abzeichnet.

Kurve I zeigt den Potentialsprung, wie er sich bei stärker enolisierten Ketonen findet, z. B. bei Acetylaceton.

Bei der Aufnahme der Kurve II entstand das Brom in B viel langsamer. Die Flüssigkeit in B besass dabei die in Tabelle I angegebene Zusammensetzung und der Zufluss aus A war unterbrochen. Die erste Potentialablesung war eine halbe Minute nach dem Moment

<sup>1)</sup> O. Wallach, A. 437, 148 (1924).

<sup>2)</sup> G. Schwarzenbach und K. Lutz, Helv. 23, 1162 (1940).

<sup>3)</sup> G. Schwarzenbach und Ch. Wittwer, Helv. 30, 656 (1947).

der Bereitung der Lösung B möglich und zeigte bereits einen Wert von über 700 M.V. (gegen ges. Calomelel.). Lässt man nun gleichzeitig mit der Lösung B eine etwa 0,6-m. Lösung von Cyclopentanon aus Gefäss A in die Mischkammer fließen, so erhält man die Kurve IIa. Es ist deutlich zu sehen, wie das Keton eine gewisse Menge Brom rasch aufnimmt und der Äquivalenzpunkt nach etwa 8–9 Minuten erreicht ist.

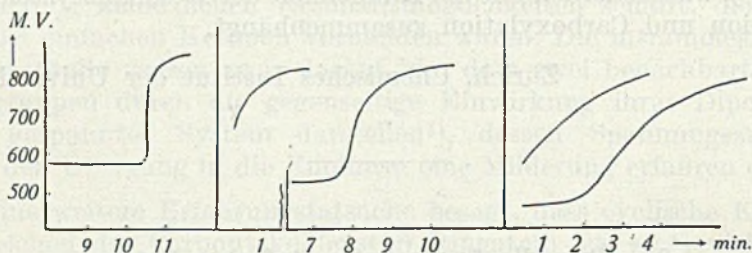


Fig. 4 (Kurve I). Fig. 5 (Kurven II, IIa). Fig. 6 (Kurven III, IIIa).

Die Kurven III und IIIa zeigen die Verhältnisse für Aceton. Hier hat die Bromid-Bromat-Lösung die Zusammensetzung der Tabelle II. Das Brom entwickelt sich entsprechend der geringeren Acidität noch langsamer als bei Aufnahme der Kurven II und IIa, was sich in der noch geringeren Neigung der Zeitkurve auswirkt. III zeigt den Potentialanstieg bei geschlossenem Zufluss aus A und IIIa bei gleichzeitigem Zufließen einer 1,7-m. Lösung von Aceton. Es ist deutlich zu sehen, dass auch Aceton rasch etwas Brom aufnimmt. Allerdings ist der Äquivalenzpunkt hier nicht mehr mit derselben Sicherheit zu ermitteln wie bei Kurve IIa. Er liegt in der Gegend von 3 Minuten.

Nach Ermittlung des Äquivalenzpunktes hat man nun weiter die Aufgabe, die kleinen Mengen elementaren Broms in B im Zeitpunkt der Äquivalenz zu messen. Diese sind derart klein, dass sie sich nicht ohne weiteres titrieren lassen. Wir haben uns nun so geholfen, dass wir das Brom sich weiter ruhig entwickeln liessen, um es erst zu einem viel späteren Zeitpunkt, nach 20 oder 30 Minuten, zu titrieren. Da die Bromentwicklung auch in diesem spätern Zeitpunkt immer noch im Anlaufstadium steht, ist die Brommenge proportional der verflossenen Zeit und man kann aus dem Bromgehalt im Zeitpunkt des Unterbruchs der Entwicklung auf die Menge im Äquivalenzpunkt zurückrechnen. Derart sind die Bromgehalte  $[\text{Br}_2]_F$  zur Zeit des Äquivalenzpunktes ermittelt worden. Natürlich haben wir uns durch spezielle Versuche von der Proportionalität des Bromanstieges mit der Zeit während der ganzen Versuchsdauer überzeugt. Der Unterbruch der Bromentwicklung wurde in diesen Versuchen

nicht durch Zugabe von Natriumacetat, sondern einfach durch genügendes Verdünnen der Lösung B erreicht. Man schaltet so die Fehler, welche das Natriumacetat bewirken kann<sup>1)</sup> und welche bei diesen kleinen Bromgehalten besonders gefährlich wären, aus.

Die Tabellen I bis IV enthalten die Versuchsergebnisse einiger typischer Messungen an Cyclopentanon, Aceton, Cyclohexanon und Diacetyl. Die Lösungen, aus denen sich B zusammensetzt, sind:

[Bromid-Bromat = 0,02-m.  $\text{KBrO}_3$  + 0,5-m.  $\text{KBr}$ ], [Bromid = 0,5-m.  $\text{KBr}$ ], [Puffer = 1-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , gesättigt mit  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ].

$[\text{S}]_A$ ,  $[\text{Br}_2]_F$ ,  $V_A$  und  $V_F$  haben dieselbe Bedeutung wie in der ersten Abhandlung dieser Reihe.

Die verwendeten Ketone wurden natürlich auf das sorgfältigste gereinigt. Aceton wurde vorerst mit Silbernitrat behandelt<sup>2)</sup>, über  $\{\text{CaCl}_2\}$  getrocknet und über frischem  $\{\text{CaCl}_2\}$  abdestilliert. Eine grössere Menge eines solchen Produktes wurde sodann mit Hilfe einer Widmer-Kolonne in einer Schlifffapparat in drei Fraktionen zerlegt und die mittlere, die bei absolut konstantem Siedepunkt (55°) überging, verwendet. Die beiden cyclischen Monoketone wurden mit  $\{\text{Na}_2\text{SO}_4\}$  und  $\{\text{CaCl}_2\}$  getrocknet und dann sorgfältig fraktioniert. (Sdp. für Cyclopentanon 128° und Cyclohexanon 154°). Für Diacetyl wurde aus einem Handelspräparat eine mittlere Fraktion, die konstant bei 88° überging, herausdestilliert.

Tabelle I.  
Cyclopentanon.

Lösung A: 6,7 g Keton in 100 cm <sup>3</sup> Lösung B: 5 cm <sup>3</sup> Bromid-Bromat + 20 cm <sup>3</sup> Bromid + 1 cm <sup>3</sup> Puffer + 90 cm <sup>3</sup> Wasser.					
$[\text{S}]_A$	Äquivalenz	$[\text{Br}_2]_F$	$V_A$	$V_F$	% Enol =
0,80	8,5 Min.	$3,3 \times 10^{-5}$	16,6	14,3	$4,8 \times 10^{-3}$

Bei frisch bereiteten Lösungen von Cyclopentanon wurden in mehreren Messungen stets Werte von etwa  $5 \times 10^{-3}\%$  Enol gefunden. Es ist aber bemerkenswert, dass der Enolgehalt dieser wässrigen Lösungen beim Stehen abnimmt. Zu einer Zeit warmen Sommerwetters sank er innerhalb von 10 Stunden auf  $3,8 \times 10^{-3}$  und innerhalb eines Monats auf  $1,8 \times 10^{-3}$ . Langsamer erfolgte die Abnahme bei einer spätern Wiederholung der Versuche bei kühlerer Witterung, wobei innerhalb von 3 Wochen eine Senkung von  $5 \times 10^{-3}$  auf  $3,6 \times 10^{-3}$  beobachtet wurde.

Tabelle II.  
Aceton.

Lösung A: 10 g Keton in 100 cm <sup>3</sup> . Lösung B: 3 cm <sup>3</sup> Bromid-Bromat + 20 cm <sup>3</sup> Bromid + 0,5 cm <sup>3</sup> Puffer + 90 cm <sup>3</sup> Wasser.					
$[\text{S}]_A$	Äquivalenz	$[\text{Br}_2]_F$	$V_A$	$V_F$	% Enol =
1,7	3,5 Min.	$3,5 \times 10^{-6}$	17,0	14,0	$2,5 \times 10^{-4}$

<sup>1)</sup> G. Schwarzenbach und Ch. Wittwer, Helv. 30, 656 (1947).

<sup>2)</sup> E. A. Werner, Analyst 58, 335 (1933).

Auch hier gilt der angegebene Wert für frisch bereitete Lösungen. Nach einigen Stunden wurden nur noch  $2,0 \times 10^{-4}\%$  gefunden. Mehrere Messungen haben mit Deutlichkeit gezeigt, dass der Enolgehalt auch bei den Acetonlösungen langsam absinkt.

Tabelle III.  
Cyclohexanon.

Lösung A: 12 g Keton in 150 cm <sup>3</sup> Lösung.				
Lösung B: 5 cm <sup>3</sup> Bromid-Bromat + 25 cm <sup>3</sup> Bromid + 2 cm <sup>3</sup> Puffer + 90 cm <sup>3</sup> Wasser.				
[S] <sub>A</sub> = 0,81	[Br <sub>2</sub> ] <sub>F</sub> = $1,4 \times 10^{-4}$	V <sub>A</sub> = 16,5	V <sub>F</sub> = 14,3	% Enol = $2,0 \times 10^{-2}$

Tabelle IV.  
Diacetyl.

Lösung A: 6,8 g Diacetyl in 200 cm <sup>3</sup> Lösung.				
Lösung B: 10 cm <sup>3</sup> Bromid-Bromat + 20 cm <sup>3</sup> Bromid + 2 cm <sup>3</sup> Puffer + 90 cm <sup>3</sup> Wasser.				
[S] <sub>A</sub> = 0,40	[Br <sub>2</sub> ] <sub>F</sub> = $2,0 \times 10^{-5}$	V <sub>A</sub> = 16,0	V <sub>B</sub> = 14,3	% Enol = $5,6 \times 10^{-3}$

Auch die Enolgehalte in den Tabellen III und IV gelten für frisch bereitete Lösungen. Einige rohe orientierende Versuche zeigten, dass auch bei Cyclohexanon und bei Diacetyl der Enolgehalt beim Stehen der wässrigen Lösungen langsam zurückgeht.

Wir haben mit diesen Messungen eindeutig festgestellt, dass unser Aceton, Cyclopentanon, Cyclohexanon und unser Diacetyl kleine Mengen einer rasch bromierbaren Substanz enthalten. Man muss sich nun fragen, ob es sich dabei wirklich um den Enolgehalt der betreffenden Ketone handelt. Es könnten ja auch kleine, rasch bromierbare Verunreinigungen sein, die durch die Reinigungsoperationen nicht abgetrennt werden konnten. Gegen eine solche Interpretation sprechen nun aber die folgenden Punkte:

1. Bei Diacetyl und bei Cyclopentanon sind mehrere Destillationsfraktionen untersucht worden, wobei alle dieselbe Menge Brom verbrauchten.

2. Unter den nur C, H und O enthaltenden Stoffen werden einzig Enole sehr rasch bromiert. Die Verunreinigung, welche uns den Enolgehalt des betreffenden einfachen Ketons vortäuscht, müsste also selbst ein enolisierbares Keton sein, und zwar ein solches, dessen Tautomerengleichgewicht bei mehreren Prozenten Enol liegen müsste. Als derartige Verunreinigung kann aber kein  $\beta$ -Diketon in Frage kommen, da sich ja bei diesen in wässriger Lösung das Keto-Enol-Gleichgewicht rasch einstellt, wogegen der von uns festgestellte Enolgehalt nur sehr langsam absinkt. Als Verunreinigung käme somit nur ein cyclisches  $\alpha$ -Diketon in Frage, denn nur diese sind weitgehend enolisiert und zeigen zugleich eine langsame Einstellung des Gleichgewichtes<sup>1)</sup>. Es ist aber nicht einzusehen, weshalb unser Aceton oder Diacetyl ein derartiges cyclisches Diketon enthalten haben sollte.

<sup>1)</sup> S. vorhergehende Abhandlung.

3. Der von uns bei einfachen Ketonen festgestellte Enolgehalt ist beim 6-Ring-Keton am grössten, beim 5-Ring-Keton kleiner und beim offenen Keton am geringsten. Dies ist bei den von uns früher untersuchten  $\beta$ -Diketonen, nämlich Acetyl-cyclohexanon (29,2% Enol), Acetyl-cyclopentanon (15,1% Enol) und Acetylaceton (16,1% Enol) ähnlich<sup>1)</sup>, und wir glauben, dass das nicht zufällig ist.

4. Bei sämtlichen Substanzen, bei denen der Enolgehalt bisher ermittelt wurde, hat man stets gefunden, dass wässrige Lösungen wesentlich weniger Enol enthalten als die betreffende Verbindung in Substanz<sup>2)</sup>. Diese Regelmässigkeit dürfte auch bei einfachen Ketonen anzutreffen sein, da sie ja nicht mit der Chelatbildung erklärt werden kann. Es ist also zu erwarten, dass der Enolgehalt der einfachen Ketone langsam absinkt, wenn man sie in Wasser auflöst, genau wie wir es gefunden haben. Langsam muss die Reaktion deshalb gehen, weil, ähnlich wie bei den cyclischen  $\alpha$ -Diketonen, das wandernde Proton nur von einem einzigen acidifizierenden Substituenten RCO- beeinflusst wird.

#### Diskussion der Ergebnisse.

Bisher ist es noch nie geglückt, bei einfachen Ketonen Enol nachzuweisen. Bei Cyclopentanon und Cyclohexanon werden unsere Befunde jedoch kaum Verwunderung erregen, da diese Stoffe sich ja mit Essigsäure-anhydrid in Enolacetate überführen lassen<sup>3)</sup>.

Anders steht es beim Aceton, dessen Enolform bisher nur ein hypothetisch angenommenes Zwischenprodukt zur Interpretation der Kinetik der Halogenisierung<sup>4)</sup> gewesen ist. Auf die Menge vorhandenen Acetonenols hat man aus der Wärmetönung der Tautomerisierungsreaktion geschlossen. Diese kann man aus den Bindungsenergien erhalten. Unsere diesbezüglichen Kenntnisse sind aber noch so ungenau, dass selbst für die Wärmetönung die Schätzungen zwischen 10 und 18 kcal. geschwankt haben<sup>5)</sup>. Zudem ist es nicht nur nicht bewiesen, sondern theoretisch auch unwahrscheinlich, dass die Entropieänderung bei der Tautomerisierung vernachlässigbar ist, so dass man die Wärmetönung nicht einfach mit der freien Energie gleichsetzen darf. Gegenüber den bisherigen Schätzungen ist die von uns gefundene Zahl für den Enolgehalt des Acetons erstaunlich gross, berechnet sich doch daraus eine freie Energie von nur etwa 8 kcal.

<sup>1)</sup> G. Schwarzenbach und E. Felder, *Helv.* **27**, 1044 (1944).

<sup>2)</sup> F. Arndt, L. Loewe und R. Ginkök, *Revue Faculté Sci. Université d'Istanbul* **11**, 147 (1946).

<sup>3)</sup> C. Mannich und V. H. Hancu, *B.* **41**, 564 (1908).

<sup>4)</sup> O. Reitz, *Z. physikal. Ch. [A]* **179**, 119 (1937); *Z. El. Ch.* **43**, 659 (1937).

<sup>5)</sup> G. Schwarzenbach und K. Lutz, *Helv.* **23**, 1169 (1940); *Wheland*, *J. chem. Physics* **1**, 731 (1933); *G. Branch und Calvin*, „The Theory of Organic Chemistry“, New York 1944.

Von *Arndt* und seinen Mitarbeitern<sup>1)</sup> ist das Vorhandensein eines gewissen nennenswerten Enolgehaltes beim Aceton überhaupt verneint worden. Zu dieser Ansicht führte die Überlegung der folgenden Art: Die Enolisierung bedeutet für das Proton eine Wanderung von einer basischeren an eine weniger basische Stelle, also die Umkehr einer Neutralisation. Die freie Energie dieser endergonischen Reaktion lässt sich für einfache Ketone auf etwa +25 kcal<sup>2)</sup> schätzen. Bei sich freiwillig enolisierenden Stoffen muss diesem „prototropen Arbeitsaufwand“ eine Energie gegenüberstehen, die beim Übergang des Bindungssystems des Ketonations in dasjenige des Enolations erhalten werden kann. Dieser sog. „entropische Effekt“ soll aber nach *Arndt* bei einfachen Ketonen, wie dem Aceton, fehlen, da durch die Enolisierung keine Konjugation erreicht werden kann. Aceton müsste also so wenig Enol enthalten, dass nicht einmal die Halogenisierung über das Enol verlaufen könnte. Demgegenüber haben wir die Ansicht geäußert, dass ein sehr grosser „elektromerer Effekt“ stets vorhanden sei und diese durch eine Untersuchung des Einflusses acidifizierender Substituenten auf das Keto-Enol-Gleichgewicht gestützt. Wir geben aber gerne zu, dass derartige Substituenteneinflüsse verschiedenartig gedeutet werden können, und *Arndt* hat sich von der Richtigkeit unserer Ansicht deshalb nicht überzeugen lassen<sup>3)</sup>. Nach dem Auffinden des Enols im Aceton ist nun aber an der prinzipiellen Richtigkeit unserer damaligen Überlegungen kaum noch zu zweifeln. Da die freie Energie der Enolisierung beim Aceton etwa +8 und der „prototrope Arbeitsaufwand“ etwa +25 kcal beträgt, muss der „entropische Effekt“ die Grösse von etwa -17 kcal haben. Er ist somit auch beim Aceton von derselben Grössenordnung wie der „prototrope Arbeitsaufwand“. Bei den freiwillig sich enolisierenden  $\beta$ -Diketonen spielt der durch die Konjugation bedingte Betrag des „elektromeren Effektes“ lediglich das Zünglein an der Waage, indem die kleine Differenz der beiden stets grossen Beträge „prototroper Arbeitsaufwand — elektromerer Effekt“ negativ wird.

*Branch* und *Calvin* geben in ihrem Buch „The Theory of Organic Chemistry“<sup>4)</sup> eine Aciditätskonstante ( $p_K = 14,8$ ) für das Aceton an, deren Ursprung wir nicht ausfindig machen konnten. Diese Acidität wird der Hydratform zugeschrieben. Da aber nach *Urey*<sup>5)</sup> der Sauerstoff im Aceton nur langsam durch ein Sauerstoffisotop ausgetauscht wird, darf man nicht annehmen, das Aceton sei in wässriger Lösung als Dihydroxyverbindung vorhanden. Es scheint uns wahrscheinlich, dass die Acidität auf die Enolform zurückzuführen ist, für die sich mit Hilfe des oben angegebenen Enolgehaltes eine Acidität von  $p_K = 9,2$  berechnet, also von ähnlicher Grösse wie bei den Enolformen der Diosphenole.

Dass Diacetyl wesentlich stärker enolisiert ist als Aceton kann vielleicht auf den Spannungszustand dieser Molekel zurückgeführt werden, der sich auch in den intramolekularen Atomabständen äussert<sup>6)</sup> und wahrscheinlich die gegenseitige Beeinflussung der beiden grossen Bindungsdipole der CO-Gruppen zur Ursache hat.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

<sup>1)</sup> *F. Arndt*, B. 74, 438 (1941); A. 521, 99 (1936).

<sup>2)</sup> Für das H am C wurde ein  $p_K$ -Wert von 30 und für das H am O ein solcher von 10 eingesetzt. Der  $p_K$ -Wert von Methan beträgt nämlich etwa 34 (*G. Schwarzenbach*, Z. physikal. Chem. [A] 176, 133 (1936)). Derjenige der Methylgruppe des Acetons muss wegen der acidifizierenden Wirkung von CO kleiner sein.

<sup>3)</sup> *F. Arndt*, *L. Loewe* und *R. Ginkök*, l. c., Fussnote S. 18, S. 156.

<sup>4)</sup> New York 1944.

<sup>5)</sup> *Cohn* und *Urey*, Am. Soc. 60, 679 (1938).

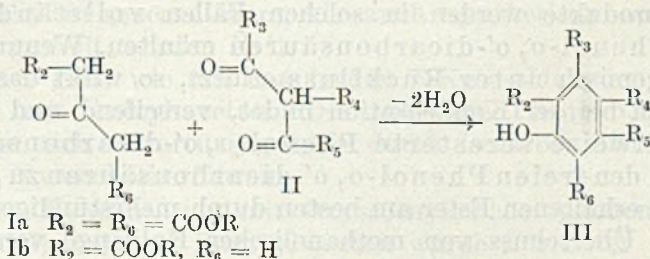
<sup>6)</sup> *J. E. LaValle* und *V. Schomaker*, Am. Soc. 61, 3520 (1939).

## 88. Über eine Synthese von substituierten Phenolen

von V. Prelog, O. Metzler und O. Jeger.

(11. II. 47.)

Die nach dem Schema



verlaufende Kondensation zwischen  $\beta$ -Keto-säure-estern Ia und b und  $\beta$ -Dicarbonyl-Verbindungen II, welche zu substituierten Phenol-carbonsäuren III führt, wurde schon einige Male beobachtet. Da die Wahl der verwendeten  $\beta$ -Dicarbonyl-Verbindungen jedoch auf bestimmte spezielle Verbindungsgruppen beschränkt blieb<sup>1)</sup>, hat die Reaktion keine allgemeinere Bedeutung erlangt.

Nach unseren Erfahrungen lässt sich eine Reihe von  $\beta$ -Ketoaldehyden und  $\beta$ -Diketonen mit Aceton-dicarbon-säure-diäthylester mit guter Ausbeute unter Bildung von Phenol-o, o'-dicarbon-säure-estern kondensieren. Da diese letzteren ebenfalls mit guter Ausbeute verseift und decarboxyliert werden können, so sind auf diesem Wege verschiedene substituierte Phenole synthetisch leicht zugänglich.

Als Kondensationsmittel für die Reaktion zwischen  $\beta$ -Keto-estern und  $\beta$ -Dicarbonyl-Verbindungen hat sich Natriumäthylat in absolut alkoholischer Lösung gut bewährt. Wenn man jedoch statt der  $\beta$ -Dicarbonyl-Verbindungen ihre Alkalisalze verwendet, so ist die Zugabe eines besonderen Kondensationsmittels nicht nötig. Das Arbeiten mit Alkalisalzen ist besonders dann empfehlenswert,

<sup>1)</sup> Als Beispiele können folgende Reaktionen dienen: Acetessigester mit Äthoxymethylen-acetessigester: *L. Claisen*, A. 297, 41 (1897); Acetessigester mit  $\alpha$ -Methoxymethylen-cyclohexanon: *R. Robinson* und *J. Walker*, Soc. 1935, 1530; Aceton-dicarbon-säure-ester mit Nitro-malon-dialdehyd: *E. Ch. S. Jones* und *J. Kenner*, Soc. 1931, 1851; Aceton-dicarbon-säure-ester mit Acetessigester: *G. Koller* und *E. Krakauer*, M. 53—54, 937 (1929); Aceton-dicarbon-säure-ester mit Aceton-dicarbon-säure-ester: *H. Cornelius* und *H. v. Pechmann*, B. 19, 1448 (1886); Aceton-dicarbon-säure-ester mit Äthoxymethylen-acetessigester: *G. Errera*, B. 32, 2776 (1899); Aceton-dicarbon-säure-ester mit Äthoxymethylen-malonester: *G. Errera*, B. 32, 2792 (1899); Acet-brenztraubensäure-ester mit Acet-brenztraubensäure-ester: *L. Claisen*, B. 22, 3271 (1889).



wenn die freien  $\beta$ -Dicarbonyl-Verbindungen unbeständig sind, wie z. B. manche  $\beta$ -Keto-aldehyde. Da bei der Herstellung der  $\beta$ -Dicarbonyl-Verbindungen oft ihre schwer löslichen Alkalisalze als Zwischenprodukte gewonnen werden, so wird dadurch auch der Arbeitsgang bedeutend vereinfacht.

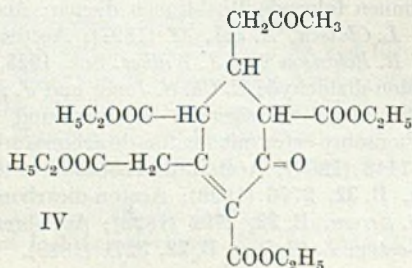
Die Kondensation zwischen dem Aceton-dicarbonsäure-diäthylester und den  $\beta$ -Dicarbonyl-Verbindungen verläuft meistens schon bei Zimmertemperatur und oft unter Selbsterwärmung. Als Reaktionsprodukte werden in solchen Fällen vollständig veresterte Phenol-o, o'-dicarbonsäuren erhalten. Wenn man das Reaktionsgemisch unter Rückfluss erhitzt, so wirkt das Wasser, welches sich bei der Kondensation bildet, verseifend und man bekommt teilweise veresterte Phenol-o, o'-dicarbonsäuren.

Um zu den freien Phenol-o, o'-dicarbonsäuren zu gelangen, werden die erhaltenen Ester am besten durch mehrstündiges Kochen mit einem Überschuss von methanolischer Kalilauge verseift. Die Decarboxylierung der Säuren wird durch Erhitzen mit Chinolin durchgeführt. Man kann diese Reaktionsstufe besonders schonend durchführen, wenn man die Kohlendioxyd-Abspaltung mit einem Blasenfühler verfolgt und das Reaktionsgemisch nur so lange und so hoch erhitzt, als für die Decarboxylierung wirklich erforderlich ist.

Es ist weiter möglich, die Ester der Phenol-o, o'-dicarbonsäuren durch Erhitzen mit konz. Salzsäure im Einschlussrohr auf  $180^\circ$  gleichzeitig zu verseifen und zu decarboxylieren; doch geht dabei oft ein Teil des Materials durch Nebenreaktionen verloren, so dass im allgemeinen die alkalische Verseifung und Decarboxylierung mit Chinolin bessere Ausbeute gibt.

Im experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit sind folgende Reaktionen beschrieben, bei welchen der Aceton-dicarbonsäure-diäthylester mit einer  $\beta$ -Dicarbonyl-Verbindung kondensiert wurde:

Oxymethylen-aceton (Acetyl-acetaldehyd) gab als Hauptprodukt den Ester der 2-Oxy-4-methyl-isophthalsäure, welche sich durch Decarboxylieren in das m-Kresol überführen liess. Als Nebenprodukt haben wir eine Verbindung  $C_{22}H_{30}O_{10}$  isoliert, welche offenbar durch Kondensation von 2 Mol Aceton-dicarbonsäure-diäthylester mit 1 Mol  $\beta$ -Keto-aldehyd entstanden ist, und der wahrscheinlich die Konstitution IV zukommt.



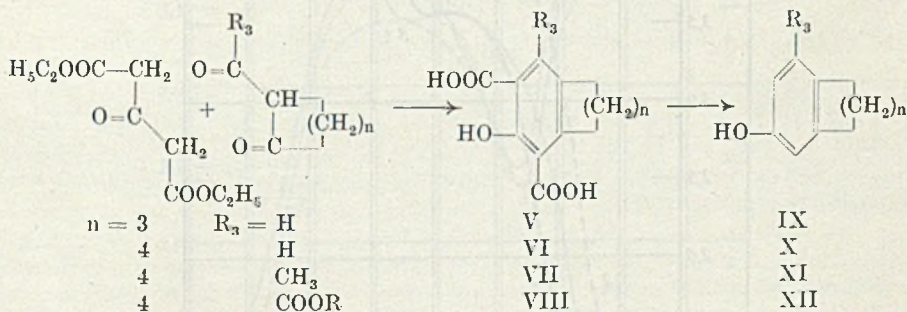
Die Verbindung  $C_{22}H_{30}O_{10}$  enthält 4 Äthoxy-Gruppen und besitzt ein Absorptionsspektrum im U.V. mit einem Maximum bei 2470 Å,  $\log \epsilon = 4,2$ . Durch Kochen mit Salzsäure und Eisessig entsteht daraus durch Verseifung und Abspaltung der vier Carbäthoxy-Gruppen eine neutrale Verbindung  $C_{10}H_{14}O_2$ , welche ein Bis-2,4-dinitro-phenyl-hydrazon gibt, jedoch kein charakteristisches Absorptionsspektrum im U.V. besitzt.

Aus dem bisher unbekanntem  $\alpha$ -Oxymethylen-methyl-n-pentadecyl-keton erhielten wir den Diäthylester der 2-Oxy-4-n-pentadecylisophthalsäure. Durch Decarboxylierung dieser Säure entstand das 3-n-Pentadecyl-phenol, welches schon früher sowohl durch Abbau der Tetrahydro-anacard-säure, als auch synthetisch auf anderem Wege hergestellt worden ist<sup>1)</sup>.

Ebenso glatt wie mit den beiden  $\beta$ -Keto-aldehyden verlief die Reaktion mit Acetyl-aceton. Die gebildete Phenol-o, o'-dicarbonsäure liess sich erwartungsgemäss durch Decarboxylierung in das symm. m-Xylenol überführen.

Durch Kondensation mit Oxymethylen-acetophenon (Benzoyl-acetaldehyd) und mit Benzoyl-aceton wurde der Ester der 3-Oxy-diphenyl-dicarbonsäure-(2,4) bzw. sein 5-Methyl-Derivat und daraus durch Verseifung und Decarboxylierung das 3-Oxy-diphenyl und das 5-Oxy-3-methyl-diphenyl hergestellt. Die bisher unbekanntem 2-(Oxymethylen-acetyl)-thiophen und 3-(Oxymethylen-acetyl)-pyridin gaben die analogen heterocyclisch substituierten Phenol-o, o'-dicarbonsäuren und Phenole.

Von besonderem Interesse waren für uns solche Reaktionen, bei welchen die aus Cyclanonen leicht zugänglichen  $\alpha$ -Oxymethylenketone und  $\alpha$ -Acyl-ketone als Ausgangsmaterialien dienen. Durch Kondensation mit Aceton-dicarbonsäure-diäthylester, Verseifung und Decarboxylierung erhält man daraus Produkte, in welchen ein Benzol-Ring an den alicyclischen Ring angebaut ist mit der Hydroxyl-Gruppe in derjenigen Stellung, in der sie z. B. in oestrogenen Hormonen sitzt. Als Beispiele für solche Reaktionen, die sich durch die Formeln



darstellen lassen, beschreiben wir in dieser Abhandlung die Umsetzungen von Aceton-dicarbonsäure-diäthylester mit  $\alpha$ -Oxymethylen-

<sup>1)</sup> H. J. Backer und N. H. Haack, R. 60, 661 (1941).

cyclopentanon,  $\alpha$ -Oxymethylen-cyclohexanon,  $\alpha$ -Acetyl-cyclohexanon und Cyclohexanon-(2)-yl-glyoxylsäure-äthylester.

Durch Verseifung der erhaltenen Ester und Decarboxylierung wurden Indanol-(5) (IX), Tetralol-(6) (X), 8-Methyl-tetralol-(6) (XI) und Tetralol-(6)-carbonsäure-(8) (XII) hergestellt. Über weitere analoge Synthesen werden wir in einem anderen Zusammenhang berichten.

Die Kondensation von  $\alpha$ -Oxymethylen-cyclohexanon mit Acetondicarbonsäure-diäthylester führte bei Zimmertemperatur zu dem Diäthyl-ester der Tetralol-(6)-dicarbonäure-(5,7), während in der Hitze als Hauptprodukt ein Monoäthylester derselben Säure entstand. Durch Decarboxylierung dieses Monoäthylesters und Verseifung des Decarboxylierungsproduktes wurde eine bisher unbekannte Tetralol-(6)-carbonsäure gewonnen. Da die Carbonsäure-(7) bekannt ist, sitzt in der neuen Verbindung die Carboxyl-Gruppe am Kohlenstoff 5, woraus man schliessen kann, dass im erwähnten Monoäthylester diese Carboxyl-Gruppe verestert ist.

Die  $\alpha$ -Oxymethylen-cyclanone lassen sich auch mit Acetessigester kondensieren. Die Umsetzungen verlaufen jedoch langsamer und geben schlechtere Ausbeuten als die analogen Kondensationen mit Aceton-dicarbonäure-diäthylester. Da man zur Vervollständigung der Reaktion am Rückfluss erhitzen muss, so werden die primär gebildeten Ester verseift und man erhält als Reaktionsprodukte die freien Phenol-o-carbonsäuren. Aus  $\alpha$ -Oxymethyl-cyclopentanon wurde so die Indanol-(5)-carbonsäure-(6) und aus  $\alpha$ -Oxymethylen-cyclohexanon die bekannte Tetralol-(6)-carbonsäure-(7) hergestellt<sup>1)</sup>.

Die substituierten Phenole und Phenol-carbonsäuren besitzen charakteristische Absorptionsspektren im U.V. Da die Absorption der einfachen Phenole und Phenol-o-carbonsäuren genügend bekannt ist, haben wir in den Figg. 1, 2 und 3 nur einige weniger geäuflige Beispiele dargestellt.

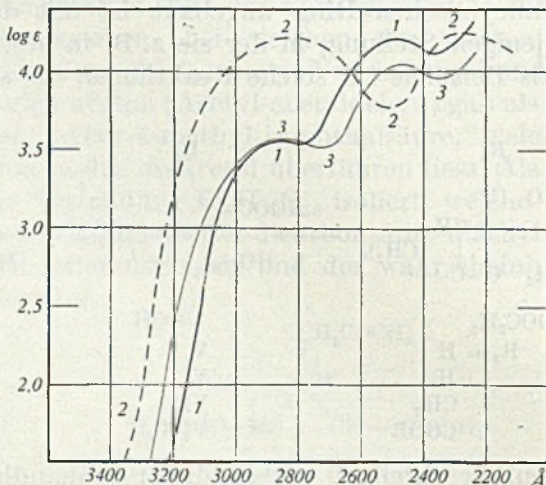


Fig. 1

<sup>1)</sup> R. Robinson und J. Walker, Soc. 1935, 1531.

Während das 3-Oxy-diphenyl (Fig. 1, Kurve 1) und das  $\beta$ -(3-Oxy-phenyl)-pyridin (Fig. 1, Kurve 3) sehr ähnliche Spektren besitzen, zeigt das 3-( $\alpha$ -Thienyl)-phenol (Fig. 1, Kurve 2) erwartungsgemäss eine davon verschiedene Absorption.

Bemerkenswert sind die Unterschiede bei den Spektren der isomeren Tetralol-(6)-carbonsäure-(5) (Fig. 2, Kurve 2), Tetralol-(6)-carbonsäure-(7) (Fig. 2, Kurve 1) und Tetralol-(6)-carbonsäure-(8) (Fig. 2, Kurve 3), welche zusammen mit dem Spektrum des Tetralols(6) (Fig. 2, Kurve 4) gezeichnet sind.

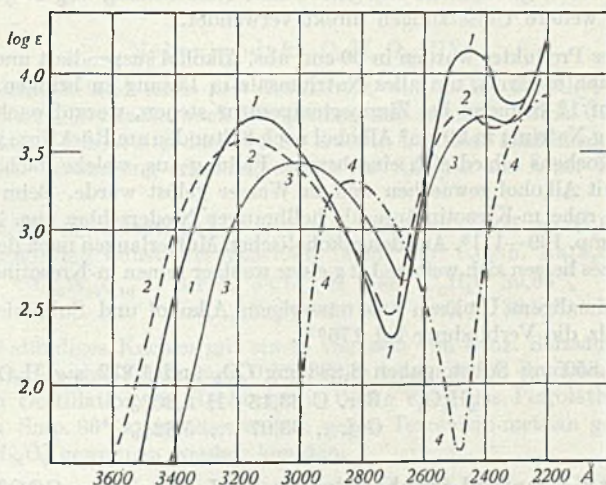


Fig. 2

In Fig. 3 sind schliesslich die Absorptionskurven des Tetralol-(6)-tricarbonsäure-(5,7,8)-triäthylesters (Kurve 1), des Tetralol-(6)-dicarbonsäure-(5,7)-diäthylesters (Kurve 2) und der freien Tetralol-(6)-dicarbonsäure-(5,7) (Kurve 3) wiedergegeben.

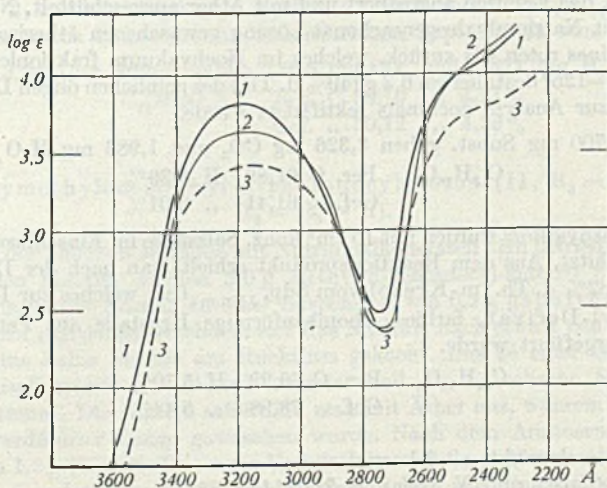


Fig. 3

Wir danken der Ciba Aktiengesellschaft in Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil<sup>1)</sup>.

2-Oxy-4-methyl-benzoessäure (m-Kresotinsäure III,  $R_2 = \text{COOH}$ ;  
 $R_4 = R_5 = R_6 = \text{H}$ ;  $R_3 = \text{CH}_3$ ).

Das Natriumsalz des Oxymethylen-acetons wurde durch 12-stündiges Stehenlassen eines Gemisches von 30 g Aceton und 37 g Äthyl-formiat mit einer äquimolaren Menge Natriummethylat (aus 11,5 g Natrium) in 200 cm<sup>3</sup> abs. Äther erhalten. Der abgenutzte, mit Äther gewaschene und getrocknete Niederschlag wog 47 g (83% d. Th.<sup>2)</sup> und wurde für weitere Umsetzungen direkt verwendet.

5,4 g dieses Produktes wurden in 50 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol suspendiert und mit 7 g Acetessigester schwach erwärmt, um alles Natriumsalz in Lösung zu bringen. Das Gemisch liess man darauf 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, worauf nach Zugabe einer Lösung von 1,2 g Natrium in 20 cm<sup>3</sup> Alkohol noch 8 Stunden am Rückfluss gekocht wurde. Während des Kochens schied sich eine braune Fällung aus, welche nach dem Erkalten abgenutzt, mit Alkohol gewaschen und in Wasser gelöst wurde. Beim Ansäuern der Lösung fiel die rohe m-Kresotinsäure als hellbrauner Niederschlag aus. Ausbeute 4,2 g (55% d. Th.), Smp. 169—171°. Aus den alkoholischen Mutterlaugen nach dem Abnutzen des Natriumsalzes liessen sich weitere 1,2 g einer weniger reinen m-Kresotinsäure erhalten.

Nach zweimaligem Umlösen aus wässrigem Alkohol und Sublimieren im Hochvakuum schmolz die Verbindung bei 176°<sup>3)</sup>.

3,850 mg Subst. gaben 8,898 mg CO<sub>2</sub> und 1,832 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	Ber. C 63,15	H 5,30%
	Gef. „ 63,07	„ 5,32%

2-Oxy-4-methyl-isophthalsäure (III,  $R_2 = R_6 = \text{COOH}$ ;  
 $R_4 = R_5 = \text{H}$ ;  $R_3 = \text{CH}_3$ )

Diäthylester. Zu einer Suspension von 5,4 g feinerriebenem Natrium-oxymethylen-aceton wurden 10,1 g Aceton-dicarbonensäure-diäthylester zugegeben, wobei der Niederschlag unter Erwärmen in Lösung ging. Nach 12-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde der Alkohol im Vakuum grösstenteils abgedampft, der Rückstand mit Wasser versetzt, das Gemisch angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Eindampfen des mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschenen ätherischen Auszuges blieben 10,2 g eines roten Öls zurück, welches im Hochvakuum fraktioniert wurde. Bei 0,2 mm und 120—125° destillierten 6,3 g (49% d. Th.) des gelblichen öligen Dicarbonsäureesters, welcher zur Analyse nochmals rektifiziert wurde.

3,700 mg Subst. gaben 8,326 mg CO<sub>2</sub> und 1,986 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	Ber. C 61,89	H 6,39%
	Gef. „ 61,41	„ 6,01%

2 g des Diäthylesters wurden mit 15 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure im Einschlussrohr 12 Stunden auf 180° erhitzt. Aus dem Reaktionsprodukt erhielt man nach der Destillation im Vakuum 0,7 g (82% d. Th.) m-Kresol vom Sdp.<sub>11 mm</sub> 68°, welches zur Identifizierung in das Benzoyl-Derivat, farblose rhombenförmige Krystalle aus Petroläther vom Smp. 56°<sup>4)</sup>, übergeführt wurde.

C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	Ber. C 79,22	H 5,70%
	Gef. „ 78,98	„ 5,44%

<sup>1)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>2)</sup> Vgl. *L. Claisen* und *N. Stylos*, *B. 21*, 1144 (1888).

<sup>3)</sup> In der Literatur werden für m-Kresotinsäure Schmelzpunkte von 173 bis 177° angegeben.

<sup>4)</sup> *P. Bartolotti*, *G. 30*, II. 224 (1900), gibt den Smp. 56° an.

Die freie Dicarbonsäure erhielt man durch 12-stündiges Kochen von 2,0 g Diäthylester mit 35 cm<sup>3</sup> 15-proz. methanolischer Kalilauge. Das Verseifungsgemisch wurde eingedampft, in Wasser gelöst und mit verdünnter Salzsäure angesäuert, wobei die Dicarbonsäure als flockiger Niederschlag ausfiel (1,45 g, 94% d. Th.). Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Eisessig schmolzen die farblosen Prismen bei 228°.

3,758 mg Subst. gaben 7,594 mg CO<sub>2</sub> und 1,399 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 55,10 H 4,11%  
Gef. „ 55,10 „ 4,17%

Nebenprodukt C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>O<sub>10</sub> (IV).

Der Kolbenrückstand nach der Destillation von 2-Oxy-4-methyl-isophthalsäure-diäthylester erstarrte kristallin nach Erwärmung mit Alkohol. Durch Umkrystallisieren aus heissem Alkohol liess sich daraus 2,1 g einer in farblosen Blättchen vom Smp. 127° krystallisierenden Verbindung erhalten, welche zur Analyse aus Äther-Petroläther umgelöst wurde.

3,768 mg Subst. gaben 8,009 mg CO<sub>2</sub> und 2,200 mg H<sub>2</sub>O

4,651 mg Subst. verbrauchten 12,367 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>O<sub>10</sub> Ber. C 58,14 H 6,65 C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O 39,66%  
Gef. „ 58,00 „ 6,53 „ 39,92%

Durch 12-stündiges Kochen mit einem Gemisch von konz. Salzsäure und Eisessig (1:1) wurden aus 1 g der Verbindung 0,37 g eines honigartigen Produktes erhalten, aus welchem durch Destillation im Hochvakuum 0,17 g einer aus Petroläther in farblosen Blättchen vom Smp. 86° krystallisierenden, gegen Tetranitro-methan gesättigten Verbindung C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> gewonnen werden konnten.

3,768 mg Subst. gaben 9,989 mg CO<sub>2</sub> und 2,850 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 72,26 H 8,49%  
Gef. „ 72,34 „ 8,46%

Die Verbindung C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>O<sub>10</sub> zeigt in alkoholischer Lösung ein Absorptionsmaximum bei 2470 Å, log ε = 4,2, während die Verbindung C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> keine stärkere Absorption bis 2200 Å aufweist.

Das Bis-2,4-dinitro-phenyl-hydraxon der Verbindung C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> schmolz nach Umkrystallisieren aus Chloroform in orangefarbenen Kryställchen vom Smp. 251°.

3,841 mg Subst. gaben 7,055 mg CO<sub>2</sub> und 1,471 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>N<sub>8</sub> Ber. C 50,19 H 4,21%  
Gef. „ 50,12 „ 4,29%

α-Oxymethylen-methyl-n-pentadecyl-ke-ton (II, R<sub>3</sub> = C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>;  
R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = H).

Da nach der üblichen Methode mit Natriumalkoholaten kein befriedigendes Resultat erhalten werden konnte, wurden 2,0 g Methyl-n-pentadecyl-ke-ton<sup>1)</sup> mit 1,0 g Äthylformiat in benzolischer Lösung zu einer Suspension von 0,2 g gepulvertem Natrium in 20 cm<sup>3</sup> Benzol zugegeben. Nachdem sich das Natrium nach etwa 1 Stunde gelöst hatte, wurde noch eine halbe Stunde am Rückfluss gekocht. Das zu einer Gallerte erstarrte Reaktionsgemisch wurde mit Wasser versetzt und die benzolische Schicht von der wässrigen getrennt. Die letztere schüttelte man mit Äther aus, während die benzolische Lösung mit verdünnter Lauge gewaschen wurde. Nach dem Ansäuern der wässrigen Auszüge fielen 1,1 g (50% d. Th.) einer Verbindung vom Smp. 47° aus, die mit dem Ausgangsmaterial eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung gab. Das α-Oxymethylen-ke-ton

<sup>1)</sup> Dargestellt aus Palmitinsäure-chlorid und Dimethyl-cadmium, vgl. H. Gilman und J. F. Nelson, R. 55, 518 (1936).

zeigte eine starke violettrote Eisen(III)-chlorid-Reaktion. Zur Charakterisierung wurde daraus das p-Nitro-anil, gelbe Prismen aus Methanol vom Smp. 102°, hergestellt.

3,738 mg Subst. gaben 9,786 mg CO<sub>2</sub> und 3,133 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> Ber. C 71,60 H 9,52%  
Gef. ,, 71,44 ,, 9,38%

2-Oxy-4-n-pentadecyl-isophthalsäure (III, R<sub>2</sub> = R<sub>6</sub> = COOH;  
R<sub>3</sub> = C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>; R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = H).

Diäthylester. 1,0 g α-Oxymethylen-methyl-n-pentadecyl-keton liess man mit 0,8 g Aceton-dicarbonsäure-diäthylester und einer Lösung von 0,1 g Natrium in 20 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol 48 Stunden stehen. Der Rückstand, welcher nach der üblichen Aufarbeitung des Reaktionsgemisches zurückblieb, wurde zuerst durch Destillation im Hochvakuum vom Aceton-dicarbonsäure-ester befreit und dann in Petroläther gelöst über Aluminiumoxyd (Aktivität II—III) chromatographiert. Die Petroläther-Eluate enthielten 0,16 g Methyl-n-pentadecyl-keton. Aus den Benzol-Eluaten wurden 0,80 g eines sirupartigen Produktes erhalten, welches bald krystallin erstarrte. Nach Umkrystallisieren aus Methanol schmolzen die farblosen Nadeln bei 39°.

3,414 mg Subst. gaben 9,035 mg CO<sub>2</sub> und 2,992 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 72,28 H 9,89%  
Gef. ,, 72,23 ,, 9,81%

Die freie Dicarbonsäure wurde aus dem Ester durch 12-stündiges Verseifen mit methanolischer Kalilauge gewonnen. Nach 3-maligem Umlösen aus Eisessig erhielt man ein Produkt vom Smp. 134°.

3,844 mg Subst. gaben 9,904 mg CO<sub>2</sub> und 3,170 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 70,37 H 9,25%  
Gef. ,, 70,31 ,, 9,23%

### 3-n-Pentadecyl-phenol.

100 mg der Dicarbonsäure wurden mit 0,5 cm<sup>3</sup> Chinolin auf 180—240° erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde in Äther aufgenommen und mit verdünnter Säure ausgeschüttelt. Nach dem Verdampfen des Äthers blieben 65 mg des bräunlich gefärbten krystallinen Phenols, welches zur Analyse bei tiefer Temperatur (Trockeneis-Aceton) aus Methanol umkrystallisiert und dann im Hochvakuum destilliert wurde, Smp. 51—52°<sup>1)</sup>.

3,372 mg Subst. gaben 10,228 mg CO<sub>2</sub> und 3,554 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>O Ber. C 82,83 H 11,92%  
Gef. ,, 82,78 ,, 11,79%

2-Oxy-4,6-dimethyl-isophthalsäure (III, R<sub>2</sub> = R<sub>6</sub> = COOH;  
R<sub>3</sub> = R<sub>5</sub> = CH<sub>3</sub>; R<sub>4</sub> = H).

5 g Acetyl-aceton und 10 g Aceton-dicarbonsäure-diäthylester wurden mit einer Natriumäthylat-Lösung (aus 1,2 g Natrium in 30 cm<sup>3</sup> Alkohol) 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Aufarbeitung ergab 12,2 g (92% d. Th.) eines krystallinen Esters vom Smp. 38—41°, welcher nach Umlösen aus Äther-Petroläther in Nadeln vom Smp. 44° schmolz.

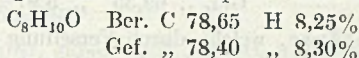
Der Ester wurde mit methanolischer Kalilauge 12 Stunden unter Rückfluss verseift und die freie Dicarbonsäure aus wässriger Essigsäure umkrystallisiert. Sie schmolz bei 226° und gab mit Eisen(III)-chlorid eine weinrote Farbenreaktion.

3,651 mg Subst. gaben 7,657 mg CO<sub>2</sub> und 1,601 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 57,14 H 4,80%  
Gef. ,, 57,24 ,, 4,91%

<sup>1)</sup> H. J. Backer und N. H. Haack, R. 60, 666 (1941) geben den Smp. 51,5—52,5° an.

1,0 g der rohen Dicarbonsäure wurden durch Erhitzen mit 3 cm<sup>3</sup> Chinolin decarboxyliert. Die Kohlendioxidabspaltung begann bei 160° und war bei 210° beendet. Die Aufarbeitung ergab 0,56 g (96% d. Th.) eines schwach gefärbten symm. m-Xylenols vom Smp. 58—60°. Nach Umlösen aus Äther-Petroläther und Sublimation im Vakuum wurden daraus farblose lange Nadeln vom Smp. 63° erhalten<sup>1)</sup>.

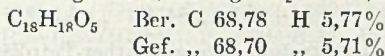


3-Oxy-diphenyl-dicarbonsäure-(2, 4)  
(III, R<sub>2</sub>=R<sub>6</sub>=COOH; R<sub>3</sub>=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; R<sub>4</sub>=R<sub>5</sub>=H).

5 g des feinpulverisierten Natrium-oxymethylen-acetophenons<sup>2)</sup> wurden in 20 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol suspendiert und mit 6 g Aceton-dicarbonsäure-diäthylester versetzt. Das Gemisch, welches sich zuerst stark erwärmte, wurde 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Aufarbeitung ergab 5,4 g (59% d. Th.) eines zähen Öles vom Sdp. 0,3 mm 174—176°, welches sehr langsam zu einer krystallinen Masse erstarrte.

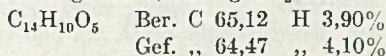
Man kann schneller zu einem reinen Produkt gelangen, indem man das Öl mit wässrig-alkoholischer Kalilauge in das krystalline, schwerlösliche Kaliumsalz überführt, aus welchem nach dem Abnutzen und Zersetzen mit Säure leichter ein krystalliner Diäthylester zu erhalten ist. Die reine Verbindung schmilzt nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther und Destillation im Hochvakuum bei 48°.

3,711 mg Subst. gaben 9,342 mg CO<sub>2</sub> und 1,895 mg H<sub>2</sub>O

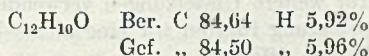


Die Verseifung des Esters mit methanolischer Kalilauge ergab die freie Dicarbonsäure, welche nach Umkrystallisation aus Eisessig bei 224° schmolz.

3,718 mg Subst. gaben 8,783 mg CO<sub>2</sub> und 1,363 mg H<sub>2</sub>O



Sowohl die Verseifung des Esters mit Salzsäure im Einschlußrohr bei 180° als auch die Decarboxylierung mit Chinolin ergab in guter Ausbeute das bekannte 3-Oxy-diphenyl, welches nach Destillation im Hochvakuum und Umlösen aus Äther-Petroläther bei 75° schmolz<sup>3)</sup>.



Absorptionsspektrum im U.V. in alkoholischer Lösung: Fig. 1, Kurve 1.

3-Oxy-5-methyl-diphenyl-dicarbonsäure-(2, 4)  
(III, R<sub>2</sub>=R<sub>6</sub>=COOH; R<sub>3</sub>=CH<sub>3</sub>; R<sub>4</sub>=H; R<sub>5</sub>=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

10 g Benzoyl-aceton<sup>4)</sup> und 12,5 g Aceton-dicarbonsäure-diäthylester wurden 48 Stunden bei Zimmertemperatur mit einer Natriumäthylat-Lösung stehen gelassen, welche durch Auflösen von 1,5 g Natrium in 30 cm<sup>3</sup> Alkohol hergestellt worden war. Nach der Aufarbeitung und Destillation im Hochvakuum erhielt man neben einem Vorlauf 9,4 g (47% d. Th.) eines zähen gelblichen Öls vom Sdp. 0,2 mm 180—188°, welches langsam krystallin erstarrte. Aus dem Vorlauf konnten 3,6 g Benzoyl-aceton durch Ausfrieren regeneriert werden.

<sup>1)</sup> In der Literatur findet man für das symm. m-Xylenol Schmelzpunkte von 62-64°.

<sup>2)</sup> Vgl. *L. Claisen* und *L. Fischer*, B. **20**, 2191 (1887); **21**, 1135 (1888); *O. Mumm* und *G. Münchmeyer*, B. **43**, 3339 (1910) und besonders *C. Bülow* und *W. v. Sicherer*, B. **34**, 3891 (1901).

<sup>3)</sup> In der Literatur sind Schmelzpunkte von 75 bis 78° angegeben.

<sup>4)</sup> *L. Claisen*, B. **38**, 695 (1905).



Der Dicarbonsäure-diäthylester schmolz nach Umlösen aus Alkohol bei 46° und wurde zur Analyse im Hochvakuum destilliert.

2,992 mg Subst. gaben 7,603 mg CO<sub>2</sub> und 1,596 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 69,50 H 6,14%

Gef. ,, 69,35 ,, 5,97%

Die freie Dicarbonsäure, welche durch Verseifung des Esters mit methanolischer Kalilauge hergestellt worden war, schmolz nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Eisessig-Wasser bei 205°.

3,806 mg Subst. gaben 9,189 mg CO<sub>2</sub> und 1,546 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 66,17 H 4,44%

Gef. ,, 65,89 ,, 4,53%

#### 5-Oxy-3-methyl-diphenyl

(III, R<sub>2</sub> = R<sub>4</sub> = R<sub>6</sub> = H; R<sub>3</sub> = CH<sub>3</sub>; R<sub>5</sub> = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

1,5 g der Dicarbonsäure wurden durch Erhitzen mit Chinolin auf 180—230° decarboxyliert. Das Produkt bildete nach der Destillation im Hochvakuum ein gelbliches Öl, welches über Aluminiumoxyd (Aktivität III—IV) chromatographiert wurde. Die Benzol-Eluate krystallisierten bald und liesssen sich aus Petroläther umlösen, Smp. 56°.

3,812 mg Subst. gaben 11,800 mg CO<sub>2</sub> und 2,174 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>O Ber. C 84,75 H 6,57%

Gef. ,, 84,47 ,, 6,38%

Das Benzoyl-Derivat krystallisierte aus Äther-Petroläther in feinen Nadelchen vom Smp. 98°.

3,680 mg Subst. gaben 11,220 mg CO<sub>2</sub> und 1,855 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 83,31 H 5,59%

Gef. ,, 83,20 ,, 5,64%

#### 2-(Oxymethylen-acetyl)-thiophen.

Aus 2,5 g 2-Acetyl-thiophen<sup>1)</sup>, 1,5 g Äthyl-formiat und Natriummethylat (aus 0,46 g Natrium) in Äther hat man auf übliche Weise das Natriumsalz des α-Oxymethylenketons hergestellt, welches für weitere Umsetzungen verwendet wurde. Ausbeute 3,0 g (85% d. Th.). Zur Charakterisierung führten wir eine kleine Menge in das Anil über: gelbe Nadeln aus Methanol, Smp. 107°.

3,826 mg Subst. gaben 9,561 mg CO<sub>2</sub> und 1,609 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>ONS Ber. C 68,09 H 4,84%

Gef. ,, 68,19 ,, 4,71%

#### 2-Oxy-4-(α-thienyl)-isophthalsäure

(III, R<sub>2</sub>=R<sub>6</sub>=COOH; R<sub>3</sub>=α-C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>S; R<sub>4</sub>=R<sub>5</sub>=H).

Aus 3,0 g Natrium-2-(oxymethylen-acetyl)-thiophen und 3,4 g Aceton-dicarbonsäure-diäthylester in 30 cm<sup>3</sup> Alkohol wurden auf analoge Weise wie bei dem entsprechenden Benzol-Derivat 3,3 g (61% d. Th.) des öligen Dicarbonsäure-esters, Sdp. 0,5 mm 196° erhalten. Durch Verseifung mit methanolischer Kalilauge wurde daraus die freie Dicarbonsäure gewonnen, welche aus Eisessig in farblosen Nadeln vom Smp. 239° (Zers.) krystallisierte.

3,801 mg Subst. gaben 7,605 mg CO<sub>2</sub> und 1,083 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O<sub>5</sub>S Ber. C 54,54 H 3,05%

Gef. ,, 54,61 ,, 3,19%

<sup>1)</sup> J. R. Johnson und G. E. May, Organic Syntheses, Coll. Vol. II, 8 (1943).

3-( $\alpha$ -Thienyl)-phenol  
(III,  $R_2=R_4=R_5=R_6=H$ ;  $R_3=\alpha-C_4H_3S$ ).

Aus 0,6 g der Dicarbonsäure erhielten wir nach der Decarboxylierung mit Chinolin bei 220° 0,36 g (90% d. Th.) des krystallinen, rohen Phenols, welches aus Petroläther umkrystallisiert wurde, Smp. 89°.

3,698 mg Subst. gaben 9,218 mg CO<sub>2</sub> und 1,538 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>OS Ber. C 68,16 H 4,58%

Gef. ,, 68,03 ,, 4,65%

Absorptionsspektrum im U.V. in alkoholischer Lösung: Fig. 1, Kurve 2.

3-(Oxymethylen-acetyl)-pyridin.

Aus 7,5 g Acetyl-pyridin<sup>1)</sup>, 5 g Äthyl-formiat und Natriummethylat (aus 1,5 g Natrium) in Äther erhielten wir 8,6 g (81% d. Th.) des graugefärbten Natriumsalzes des  $\alpha$ -Oxymethylen-ketons. Das Anil bildete aus Methanol zitronengelbe Nadeln vom Smp. 134°.

3,709 mg Subst. gaben 10,176 mg CO<sub>2</sub> und 1,759 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>ON<sub>2</sub> Ber. C 74,98 H 5,39%

Gef. ,, 74,87 ,, 5,31%

2-Oxy-4-( $\beta$ -pyridyl)-isophthalsäure  
(III,  $R_2=R_6=COOH$ ,  $R_3=\beta-C_5H_4N$ ;  $R_4=R_5=H$ ).

8,5 g Natrium-3-(oxymethylen-acetyl)-pyridin wurden in ca. 100 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol suspendiert und mit 10 g Aceton-dicarbonsäure-diäthylester versetzt. Um das Natriumsalz in Lösung zu bringen, musste man das Gemisch kurz erwärmen, worauf man es 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen liess. Nach dem Abdampfen des Alkohols wurde schwach angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Aus der salzsauren wässrigen Lösung liess sich der Dicarbonsäure-diäthylester mit Kaliumcarbonat als dickes, gelbrotes Öl ausscheiden, welches in Äther aufgenommen wurde; Ausbeute 11,9 g (76% d. Th.). Zur Charakterisierung wurde daraus das Pikrolonat hergestellt. Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol schmolzen die kanariengelben Krystalle bei 183° (Zers.).

3,776 mg Subst. gaben 7,727 mg CO<sub>2</sub> und 1,447 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub>N<sub>5</sub> Ber. C 55,96 H 4,35%

Gef. ,, 55,84 ,, 4,29%

Die freie Dicarbonsäure wurde durch Verseifung des Diäthylesters mit methanolischer Kalilauge erhalten. Nach dem Ansäuern mit verdünnter Salzsäure fiel sie als farbloser Niederschlag aus, welcher zur Analyse gründlich durch Auskochen mit Wasser von anhaftenden Salzen befreit wurde. Die Verbindung ist sehr schwer löslich in Wasser, Alkohol und Eisessig; sie ist löslich in Natriumhydrogencarbonat-Lösungen und gibt eine braunrote Eisen(III)-chlorid-Reaktion, Smp. 271° (Zers.).

3,726 mg Subst. gaben 8,205 mg CO<sub>2</sub> und 1,133 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>O<sub>5</sub>N Ber. C 60,23 H 3,50%

Gef. ,, 60,09 ,, 3,40%

2-Oxy-6-(oder 4-)( $\beta$ -pyridyl)-benzoesäure.  
(III,  $R_2$  oder  $R_6=COOH$ ;  $R_3=\beta-C_5H_4N$ ;  $R_4=R_6$  oder  $R_2=H$ ).

Die Verseifung des Dicarbonsäure-esters mit Salzsäure im Einschlussrohr bei 180° gab neben viel Harz eine farblose Verbindung vom Smp. 281° (Zers.), welche unlöslich in

<sup>1)</sup> F. M. Strong und S. M. McElvain, Am. Soc. 55, 816 (1933).

Natriumhydrogencarbonat-Lösungen, dagegen löslich in Natriumcarbonat-Lösungen war und eine weinrote Eisen(III)-chlorid-Reaktion zeigte.

3,452 mg Subst. gaben 8,467 mg CO<sub>2</sub> und 1,301 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub> N	Ber. C 66,97	H 4,22%
	Gef. ,, 66,95	,, 4,22%

$\beta$ -(3-Oxy-phenyl)-pyridin  
(III, R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>5</sub>=R<sub>6</sub>=H; R<sub>3</sub>= $\beta$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N).

Nach der Decarboxylierung von 7,8 g Dicarbonsäure in 10 cm<sup>3</sup> Chinolin bei 210 bis 240° wurde das Reaktionsgemisch mit Natronlauge ausgeschüttelt und der alkalische Auszug vorsichtig mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Der bräunlichgefärbte Niederschlag (14,8 g, 93% d. Th.) vom Smp. 134—139° krystallisierte nach zweimaligem Umlösen aus Essigester und nachfolgender Sublimation im Hochvakuum in farblosen Prismen vom Smp. 139°.

3,795 mg Subst. gaben 10,724 mg CO<sub>2</sub> und 1,791 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> ON	Ber. C 77,17	H 5,30%
	Gef. ,, 77,12	,, 5,28%

U.V.-Absorptionsspektrum in alkoholischer Lösung: Fig. 1, Kurve 3.

Indanol-(5)-carbonsäure-(6).

9 g  $\alpha$ -Oxymethylen-cyclopentanon<sup>1)</sup>, 10,5 g Acetessigester und eine Natriumäthylat-Lösung aus 1,9 g Natrium und 40 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol wurden über Nacht stehen gelassen und dann 4 Stunden unter Rückfluss gekocht. Das mit Wasser versetzte Reaktionsgemisch wurde zuerst im Vakuum von Alkohol befreit, dann angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die sauren Reaktionsprodukte, welche sich aus dem ätherischen Auszug durch Ausschütteln mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewinnen liessen, bildeten ein braunes Harz, aus welchem durch Destillation im Hochvakuum 2,6 g (18% d. Th.) der krystallinen Indanol-(5)-carbonsäure-(6) vom Sdp. 1 mm 180—190° erhalten werden konnte. Zur Analyse wurde aus wässriger Essigsäure umkrystallisiert und im Hochvakuum sublimiert, Smp. 195—196°.

3,684 mg Subst. gaben 9,114 mg CO<sub>2</sub> und 1,887 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	Ber. C 67,40	H 5,66%
	Gef. ,, 67,51	,, 5,73%

Indanol-(5)-dicarbonsäure-(4,6) (V).

Aus einem Gemisch von 5,6 g  $\alpha$ -Oxymethylen-cyclopentanon, 10 g Aceton-dicarbonsäure-diäthylester und Natriumäthylat aus 1,3 g Natrium in 30 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol schied sich nach 12-stündigem Stehen das Natriumsalz des Indanol-(5)-dicarbonsäure-(4,6) diäthylesters aus, welches abgesaugt und mit Salzsäure zersetzt wurde. Der gebildete ölige Ester wurde in Äther aufgenommen und destilliert. Bei 0,4 mm und 156—160° ging ein farbloses, zähes Öl über, welches eine rotviolette Eisen(III)-chlorid-Reaktion gab. Ausbeute 9,8 g. Aus der Mutterlauge des Natriumsalzes konnten noch 3,1 g desselben Produktes erhalten werden.

4,250 mg Subst. gaben 10,086 mg CO<sub>2</sub> und 2,490 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	Ber. C 64,73	H 6,52%
	Gef. ,, 64,76	,, 6,56%

Durch Verseifung mit konz. Salzsäure im Einschlussrohr bei 170° wurde aus dem Dicarbonsäure-ester in guter Ausbeute das bekannte Indanol-(5)<sup>2)</sup> erhalten, welches nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Petroläther bei 56° schmolz.

C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O	Ber. C 80,56	H 7,51%
	Gef. ,, 80,49	,, 7,54%

<sup>1)</sup> O. Wallach und A. Steindorff, A. 329, 114 (1909).

<sup>2)</sup> J. Moschner, B. 33, 739 (1900) gibt den Smp. 55° an.

## Tetralol-(6)-carbonsäure-(7).

Zu einer Lösung von 0,73 g Natrium in 20 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol wurden zuerst 4,3 g Acetessigester und nach erfolgter Abkühlung 4,2 g  $\alpha$ -Oxymethylen-cyclohexanon<sup>1)</sup> zugegeben. Nach 10-stündigem Stehen wurde die dunkelrote Lösung mit einer Lösung von 1,5 g Natrium in 30 cm<sup>3</sup> Alkohol versetzt und das Gemisch 4 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung wurden die sauren Reaktionsprodukte im Hochvakuum destilliert. Die Fraktion Sdp. 0,4 mm 170—180°, welche 3,2 g (50% d. Th.) wog, erstarrte zu einer gelblichen Krystallmasse. Durch Umlösen aus verdünnter Essigsäure erhielt man daraus 1,3 g farblose Prismen vom Smp. 178°, welche zur Analyse nochmals umkrystallisiert und dann im Hochvakuum sublimiert wurden, wobei der Schmelzpunkt auf 181° stieg<sup>2)</sup>. Die Verbindung gibt eine blauviolette Eisen(III)-chlorid-Reaktion.

3,786 mg Subst. gaben 9,533 mg CO<sub>2</sub> und 2,136 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 68,73 H 6,29%  
Gef. ,, 68,72 .. 6,31%

U.V.-Absorptionsspektrum in alkoholischer Lösung: Fig. 2, Kurve 1.

Tetralol-(6)-dicarbonsäure-(5,7) (VI).<sup>3)</sup>

Auf übliche Weise (vgl. Indanol-(5)-dicarbonsäure-(4,6)) wurde aus 4,7 g  $\alpha$ -Oxymethylen-cyclohexanon, 7,5 g Aceton-dicarbonsäure-diäthylester und 0,9 g Natrium in 20 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol insgesamt 9,1 g (83% d. Th.) eines hellgelben öligen Diäthylesters vom Sdp. 0,1 mm 150° erhalten.

3,870 mg Subst. gaben 9,302 mg CO<sub>2</sub> und 2,350 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 65,74 H 6,90%  
Gef. ,, 65,59 .. 6,79%

Absorptionsspektrum im U.V. in alkoholischer Lösung: Fig. 3, Kurve 2.

Nach 16-stündigem Erhitzen im Einschlussrohr mit konz. Salzsäure wurden aus 3,3 g Diäthylester 1,2 g (72% d. Th.) Tetralol-(6) vom Sdp. 0,1 mm 86—87° gewonnen. Nach Umlösen aus Petroläther schmolzen die farblosen Nadeln bei 60°<sup>4)</sup>.

C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O Ber. C 81,04 H 8,16%  
Gef. ,, 81,06 .. 8,16%

U.V.-Absorptionsspektrum in alkoholischer Lösung: Fig. 2, Kurve 4.

Das p-Nitro-benzoat krystallisierte aus Methanol in blassgelben Blättchen vom Smp. 113°

3,818 mg Subst. gaben 9,594 mg CO<sub>2</sub> und 1,728 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>O<sub>4</sub>N Ber. C 68,68 H 5,09%  
Gef. ,, 68,58 .. 5,06%

Durch die Verseifung mit methanolischer Kalilauge wurde aus dem Diäthylester die freie Dicarbonsäure erhalten, welche nach Umlösen aus verdünnter Essigsäure bei 205° (Zers.) schmolz.

3,788 mg Subst. gaben 8,460 mg CO<sub>2</sub> und 1,787 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 61,01 H 5,12%  
Gef. ,, 60,95 .. 5,28%

Absorptionsspektrum im U.V. in alkoholischer Lösung: Fig. 3, Kurve 3.

Die Dicarbonsäure lässt sich durch Erhitzen mit Chinolin auf 170—210° leicht zu Tetralol-(6) decarboxylieren.

<sup>1)</sup> O. Wallach und A. Steindorff, A. 329, 117 (1903); vgl. auch W. S. Johnson und W. E. Shelberg, Am. Soc. 67, 1750 (1945).

<sup>2)</sup> R. Robinson und J. Walker, Soc. 1935, 1533 geben den Smp. 178° an.

<sup>3)</sup> Mitbearbeitet von P. Barman.

<sup>4)</sup> In der Literatur wird der Smp. 59—60° angegeben.

5-Monoäthylester. Wenn man bei der Kondensation von  $\alpha$ -Oxymethylen-cyclohexanon mit Aceton-dicarbonssäure-ester nach 10-stündigem Stehen das Reaktionsgemisch noch 6 Stunden am Rückfluss kocht, so kann man aus dem Kondensationsprodukt mit 10-proz. Natriumcarbonat-Lösung etwa 50% der Theorie eines Monoäthylesters der Tetralol-(6)-dicarbonssäure-(5,7) erhalten. Daneben entsteht noch etwa 40% der Theorie an Diäthylester. Der Monoäthylester bildet aus Eisessig-Wasser farblose Krystalle vom Smp. 142°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

3,770 mg Subst. gaben 8,766 mg CO<sub>2</sub> und 2,018 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{14}H_{16}O_5$  Ber. C 63,62 H 6,10%  
 Gef. ,, 63,45 ,, 5,99%

Durch Überführung in die Tetralol-(6)-carbonsäure-(5) liess sich zeigen, dass es sich um den 5-Monoäthylester handelt.

#### Tetralol-(6)-carbonsäure-(5).

1 g Tetralol-(6)-dicarbonssäure-(5,7)-monoäthylester wurde mit 5 cm<sup>3</sup> Chinolin bei 200—240° decarboxyliert. Den entstandenen Ester der Monocarbonssäure verseifte man mit methanolischer Kalilauge und erhielt so die freie Säure, welche zur Analyse aus Eisessig-Wasser umkrystallisiert und im Hochvakuum sublimiert wurde, Smp. 174°. Mit der isomeren Tetralol-(6)-carbonsäure-(7) gab die Verbindung eine starke Schmelzpunkts-erniedrigung.

3,704 mg Subst. gaben 9,315 mg CO<sub>2</sub> und 2,080 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{11}H_{12}O_3$  Ber. C 68,73 H 6,29%  
 Gef. ,, 68,63 ,, 6,28%

U.V.-Absorptionsspektrum in alkoholischer Lösung: Fig. 2, Kurve 2.

#### 8-Methyl-tetralol-(6)-dicarbonssäure-(5,7) (VII).

Das Kondensationsprodukt, welches nach 48-stündigem Stehen aus 5,0 g  $\alpha$ -Acetyl-cyclohexanon<sup>1)</sup>, 6,5 g Aceton-dicarbonssäure-diäthylester und 0,8 g Natrium in 30 cm<sup>3</sup> Alkohol erhalten wurde, gab bei der Destillation 3,9 g (36% d. Th.) des gelblichen öligen Diäthylesters der Dicarbonssäure. Die freie Dicarbonssäure, welche daraus durch alkalische Verseifung hergestellt wurde, krystallisierte aus Eisessig-Wasser in farblosen Prismen vom Smp. 201° (Zers.).

3,889 mg Subst. gaben 8,881 mg CO<sub>2</sub> und 1,937 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{13}H_{14}O_5$  Ber. C 62,39 H 5,64%  
 Gef. ,, 62,32 ,, 5,57%

#### 8-Methyl-tetralol-(6) (XI).

Die durch Erhitzen der Dicarbonssäure mit Chinolin auf 180—200° hergestellte Verbindung schmolz nach Umlösen aus Äther-Petroläther bei 108°.

3,754 mg Subst. gaben 11,196 mg CO<sub>2</sub> und 2,987 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{11}H_{14}O$  Ber. C 81,44 H 8,70%  
 Gef. ,, 81,39 ,, 8,90%

#### Tetralol-(6)-tricarbonssäure-(5,7,8) (VIII).

5,5 g feinzerriebenes Natriumsalz des Cyclohexanon-(2)-yl-glyoxyssäure-äthyl-esters<sup>2)</sup> wurden in 20 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol mit 5,0 g Aceton-dicarbonssäure-diäthylester versetzt,

<sup>1)</sup> W. Borsche, A. 377, 87 (1910).

<sup>2)</sup> H. R. Snyder, L. A. Brooks und S. H. Shapiro, Organic Syntheses, Coll. Vol. II, 531 (1943).

wobei sich das Gemisch stark erwärmte. Nach 24 Stunden wurde aufgearbeitet und das Produkt im Hochvakuum destilliert. Ausbeute 6,6 g des zuerst öligen Triäthyl-esters, welcher nach längerem Stehen erstarrte. Durch Umkrystallisieren aus Alkohol bei niedriger Temperatur (Trockeneis-Aceton) erhielt man farblose Krystalle vom Smp. 52°.

3,804 mg Subst. gaben 8,706 mg CO<sub>2</sub> und 2,206 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>10</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub> Ber. C 62,62 H 6,64%  
Gef. „ 62,46 „ 6,49%

Absorptionsspektrum im U.V. in alkoholischer Lösung: Fig. 3, Kurve 1.

#### Tetralol-(6)-carbonsäure-(8) (XII).

Durch Erhitzen des Tricarbonsäure-triäthylesters mit Salzsäure auf 180° im Einschussrohr erhielt man eine Verbindung, welche aus Eisessig-Wasser in feinen Nadeln vom Smp. 203° krystallisierte.

3,813 mg Subst. gaben 9,591 mg CO<sub>2</sub> und 2,168 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 68,73 H 6,29%  
Gef. „ 68,65 „ 6,36%

U.V.-Absorptionsspektrum in alkoholischer Lösung: Fig. 2, Kurve 3.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der  
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

## 89. Zur Kenntnis der Sesquiterpene.

(75. Mitteilung<sup>1)</sup>).

### 2-Isopropyl-azulen

von Pl. A. Plattner, A. Fürst, J. Wyss und R. Sandrin.

(11. II. 47.)

Das 2-Isopropyl-azulen (V) ist bereits vor längerer Zeit<sup>2)</sup> im Zusammenhang mit einer Diskussion über Farbe und Konstitution der Azulene von uns kurz erwähnt worden. Die Beschreibung der Synthese und der Eigenschaften dieser Verbindung sei im folgenden nachgeholt<sup>3)</sup>.

Das neue Azulen liess sich nach der Diazo-essigester-Methode<sup>4)</sup> aus 2-Isopropyl-indan (IV) bequem herstellen. Es krystallisiert in

<sup>1)</sup> 73. Mitt. Helv. 30, 100 (1947); 74. Mitt. Exper. 3, 70 (1947).

<sup>2)</sup> Pl. A. Plattner, Helv. 24, 292 E (1941).

<sup>3)</sup> Die Verbindung ist bereits in der Promotionsarbeit von J. Wyss (Diss. E.T.H. Zürich, 1941) beschrieben. Von der Substanz standen jedoch damals für eine gründliche Untersuchung nicht genügende Mengen zur Verfügung, sodass wir eine Nacharbeitung der Synthese für notwendig erachteten.

<sup>4)</sup> Vgl. z. B. Pl. A. Plattner, R. Sandrin und J. Wyss, Helv. 29, 1604 (1946).

schönen blauviolettten Schuppen und reiht sich gut in die sog. 2. Spektral-Gruppe der Azulene ein<sup>1)</sup>.

Diesen erwarteten Eigenschaften des neuen Azulens steht ein von den anderen bekannten Vertretern dieser Klasse abweichendes Verhalten bei der Darstellung seines Trinitro-benzolats gegenüber. Die Azulene bilden bekanntlich mit alkoholischen Lösungen von Trinitro-benzol krystallisierte Additionsverbindungen, die zu ihrer Reindarstellung und Charakterisierung dienen. Bis jetzt ist ein abweichendes Verhalten nur beim 2-Phenyl-azulen<sup>2)</sup> beobachtet worden, das unter den normalen Bedingungen kein Trinitro-benzolat bildet. In allen übrigen Fällen krystallisieren je eine Molekel Azulen mit einer Molekel Trinitro-benzol. Wendet man einen Überschuss von Trinitro-benzol an, so fällt je nach Temperatur und Konzentration neben dem Additionsprodukt noch Trinitro-benzol aus.

Im Falle des 2-Isopropyl-azulens verschiebt sich interessanterweise das Verhältnis von Azulen zu Trinitro-benzol im krystallisierten Derivat auf 1:2. Dies liess sich sowohl auf Grund der Mikroanalyse des Trinitro-benzolats, als auch durch kolorimetrische Bestimmungen des Azulens-Gehaltes eindeutig festlegen. Das Additionsprodukt ist viel heller gefärbt als die normalen Azulen-Trinitrobenzolate. Es scheint recht beständig zu sein, da es sich sogar aus reinem Feinsprit umkrystallisieren lässt. Die Zerlegung mit Aluminiumoxyd geht jedoch eher noch leichter vor sich als in anderen Fällen.

Es sei hier darauf hingewiesen, dass das isomere 2-n-Propyl-azulen interessanterweise ein normales Trinitro-benzolat (Molverhältnis 1:1) bildet<sup>3)</sup>.

Das 2-Isopropyl-indan (IV) wurde durch Reduktion des 2-Isopropyl-indanons-(1) (III) nach *Clemmensen* erhalten.

Für die Synthese des Ketons (III) haben wir die beiden folgenden Wege benutzt: a) Ringschluss des Chlorids (Ia) der  $\alpha$ -Isopropyl-dihydrozimtsäure (I)<sup>4)</sup>, b) Hydrierung des 2-Isopropyliden-indanons-(1)<sup>2)</sup> (II).

Bei der Darstellung von II durch alkalische Kondensation von Indanon-(1) mit Aceton nach dem etwas modifizierten Verfahren von *Kipping*<sup>5)</sup> erhielten wir ein bei 155—156° schmelzendes Nebenprodukt, dem nach der Mikroanalyse die Formel  $C_{21}H_{20}O_2$  zukommt. Die Verbindung entsteht also durch Kondensation von 2 Molekeln Indanon-(1) mit einer Molekel Aceton, unter Austritt von einem Mol

<sup>1)</sup> *Pl. A. Plattner*, *Helv.* **24**, 292 E (1941).

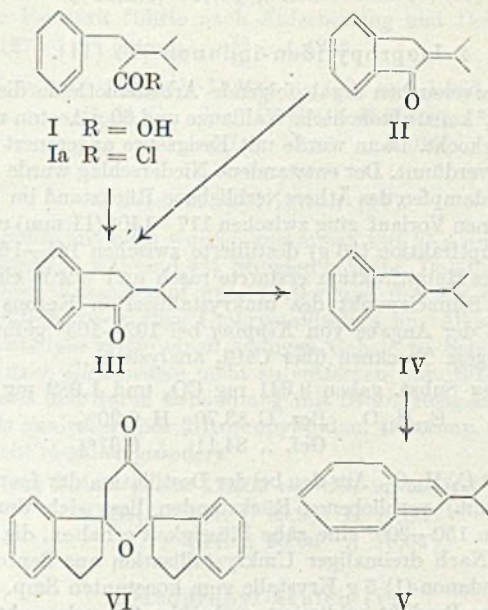
<sup>2)</sup> *Pl. A. Plattner*, *R. Sandrin* und *J. Wyss*, *Helv.* **29**, 1607 (1946).

<sup>3)</sup> *Pl. A. Plattner*, *A. Fürst* und *K. Jirasek*, *Helv.* **29**, 742 (1946).

<sup>4)</sup> Vgl. *A. W. Dox* und *L. Yoder*, *Am. Soc.* **44**, 1141 (1922).

<sup>5)</sup> *F. S. Kipping*, *Soc.* **65**, 500 (1894).

Wasser. Da der neue Körper unter dem Einfluss von kochendem Acetanhydrid unverändert blieb, scheint uns die Konstitution (VI) für denselben wahrscheinlich. Eine nähere Untersuchung dieses Nebenproduktes haben wir jedoch nicht durchgeführt.



### Experimenteller Teil<sup>1)</sup>.

#### $\alpha$ -Isopropyl-hydrozimtsäure (I).

Im wesentlichen wurde die Kondensation von Benzylchlorid mit Isopropyl-malonester nach der Vorschrift von Wallingford und Mitarb.<sup>2)</sup> vorgenommen. Zum trockenen Natriumalkoholat (aus 1,15 g Natrium) liess man 10,1 g Isopropyl-malonester in 23,6 g Diäthylcarbonat gelöst zulaufen. Der gebildete Alkohol wurde durch eine Widmer-Kolonnen abdestilliert. Nun wurde unter gutem Rühren in 15 Minuten tropfenweise 6,3 g Benzylchlorid hinzugefügt, dann die Badtemperatur bis 105° erhöht und 15 Stunden so belassen. Nach dieser Zeit wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser versetzt, mit Essigsäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Nach dem Eindampfen des Lösungsmittels verblieben 13,5 g eines Öls, das in einem Vigreux-Kolben destilliert wurde. Eine Probe der 6,7 g betragenden Hauptfraktion (109–112°, 0,5 mm;  $n_D^{21} = 1,4890$ ) wurde analysiert.

3,871 mg Subst. gaben 9,897 mg CO<sub>2</sub> und 2,842 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	Ber. C 69,83	H 8,27%
Gef. „	69,77	„ 8,22%

9 g des Di-esters wurden durch Kochen mit wässrig-alkoholischer Kalilauge verseift. Die sauren Anteile wurden abgetrennt; die Neutralteile gelangten erneut zur Verseifung. Die Decarboxylierung erfolgte durch 4-stündiges Erhitzen auf 190°. Die bei 117–120°

<sup>1)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>2)</sup> V. H. Wallingford, M. A. Thorpe und A. H. Homeyer, Am. Soc. 64, 580 (1942).



(ca. 0,1 mm) destillierende Säure (4,7 g;  $n_D^{22} = 1,5052$ ) krystallisiert auch beim Abkühlen auf  $-10^\circ$  nicht<sup>1)</sup>.

3,636 mg Subst. gaben 9,938 mg CO<sub>2</sub> und 2,683 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 74,97 H 8,39%

Gef. ,, 74,59 ,, 8,26%

### 2-Isopropyliden-indanon-(1) (II).

Nach einigen Vorversuchen ergab folgende Arbeitsmethode die beste Ausbeute<sup>2)</sup>: 40 g Indanon-(1), 3 cm<sup>3</sup> konz. alkoholische Kalilauge und 60 g Aceton wurden 7½ Stunden auf dem Wasserbad gekocht. Dann wurde mit Essigsäure angesäuert und mit der sechsfachen Menge Wasser verdünnt. Der entstandene Niederschlag wurde in Äther aufgenommen und der nach Verdampfen des Äthers verbliebene Rückstand im Wurstkolben destilliert. Nach einem kleinen Vorlauf ging zwischen 117—140° (11 mm) unverändertes Indanon-(1) über. Die Hauptfraktion (16 g) destillierte zwischen 141—162°. Rückstand: 9 g (vgl. weiter unten). Die Hauptfraktion erstarrte rasch und wurde einmal aus Methanol umkrystallisiert; der Schmelzpunkt des umkrystallisierten Ketons (12,8 g) wurde in Übereinstimmung mit der Angabe von *Kipping* bei 102—103° gefunden. Das Produkt wurde nach 16-stündigem Trocknen über CaCl<sub>2</sub> analysiert.

3,223 mg Subst. gaben 9,941 mg CO<sub>2</sub> und 1,989 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O Ber. C 83,70 H 6,90%

Gef. ,, 84,11 ,, 6,91%

Nebenprodukt C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>. Aus den bei der Destillation des Isopropyliden-indanons (im Wasserstrahlvakuum) verbliebenen Rückständen liess sich durch Destillation im Hochvakuum zwischen 150—200° eine zähe Flüssigkeit erhalten, die beim Erkalten teilweise krystallisierte. Nach dreimaliger Umkrystallisation aus Benzol wurden aus Umsetzungen mit 60 g Indanon-(1) 5 g Krystalle vom konstanten Smp. 155—156° erhalten. Zur Analyse wurde das Produkt sublimiert, wobei der Schmelzpunkt unverändert blieb.

3,721 mg Subst. gaben 11,337 mg CO<sub>2</sub> und 2,188 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 82,89 H 6,57%

Gef. ,, 83,09 ,, 6,58%

2 g dieses Nebenproduktes wurden 10 Stunden lang mit 10 g Acetanhydrid gekocht. Beim Erkalten krystallisierte ein Teil (700 mg) wieder aus. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Benzol ergab sich ein Schmelzpunkt von 153°.

### 2-Isopropyl-indanon-(1) (III).

a) Aus Isopropyl-hydrozimtsäure.

Das Chlorid der Säure (Ia) wurde auf übliche Weise mit Thionylechlorid hergestellt (Sdp. 128°; 11 mm). 20 g Säurechlorid und 20 g AlCl<sub>3</sub> wurden in 100 cm<sup>3</sup> hochsiedendem Petroläther zur Reaktion gebracht. Nach anderthalbstündigem Kochen am Wasserbad wurde zum Reaktionsgemisch Eis zugegeben und wie üblich aufgearbeitet. Es wurden 15,1 g Öl erhalten, das 13 g einer Fraktion mit folgenden Daten lieferte: Sdp. 138° (12 mm);  $n_D^{19} = 1,5395$ .

3,878 mg Subst. gaben 11,707 mg CO<sub>2</sub> und 2,839 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O Ber. C 82,71 H 8,10%

Gef. ,, 82,38 ,, 8,19%

Das 2,4-Dinitro-phenylhydrazon des Ketons (III) schmilzt aus Essigester-Methanol umkrystallisiert bei 170—171°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum während 24 Stunden bei 80° getrocknet.

<sup>1)</sup> Vgl. *A. W. Dox* und *L. Yoder*, *Am. Soc.* **44**, 1141 (1922).

<sup>2)</sup> Vgl. *F. S. Kipping*, *Soc.* **65**, 500 (1894).

3,680 mg Subst. gaben 8,243 mg CO<sub>2</sub> und 1,686 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub>	Ber. C 61,01	H 5,12%
	Gef. ,, 61,13	,, 5,13%

b) durch Hydrierung von II.

Die Hydrierung von 12,6 g 2-Isopropyliden-indanon-(1) (II) mit *Raney*-Nickel (aus 1,2 g Legierung) in Feinsprit führte nach Aufarbeitung und Destillation zum gleichen Keton (III). Sdp. 137—139° (14 mm);  $n_D^{20} = 1,5395$ .

4,572 mg Subst. gaben 13,890 mg CO<sub>2</sub> und 1,989 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O	Ber. C 82,71	H 8,10%
	Gef. ,, 82,85	,, 8,01%

#### 2-Isopropyl-indan (IV).

38 g 2-Isopropyl-indanon-(1) wurden zusammen mit 35 g amalgamierter Zinkwolle in 240 g 24-proz. Salzsäure während 4½ Stunden gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde einer Destillation mit Wasserdampf unterworfen und der aus dem Destillat isolierte Kohlenwasserstoff durch zweimalige Umkrystallisation aus Alkohol gereinigt (Smp. 42 bis 43°). Die Mikroanalyse zeigte einen geringen Gehalt an Sauerstoff, der durch eine weitere Reduktion nach *Clemmensen* nicht zu entfernen war. Ein über Borsäure destilliertes, nachhydriertes und durch Behandlung mit *Girard*-Reagens gereinigtes Präparat erwies sich aber als analysenreines 2-Isopropyl-indan. Der Smp. 42—43° hatte sich bei dieser Reinigung nicht merklich geändert.

3,743 mg Subst. gaben 12,352 mg CO<sub>2</sub> und 3,358 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>12</sub> H <sub>18</sub>	Ber. C 89,94	H 10,06%
	Gef. ,, 90,06	,, 10,04%

#### 2-Isopropyl-azulen (V).

21 g 2-Isopropyl-indan wurden achtmal mit je 2 g Diazo-essigester nach der früher<sup>1)</sup> beschriebenen Methode behandelt. Nach der Destillation des Rohproduktes (20 g) konnten neben 12,5 g unverändertem 2-Isopropyl-indan 12,8 g zwischen 135—200° (0,8 mm) destillierende Produkte erhalten werden. Rückstand 4,2 g.

Die Verseifung des 12,8 g betragenden Destillates erfolgte durch Kochen in 60 cm<sup>3</sup> Alkohol mit 24 g 50-proz. wässriger Kalilauge; sie lieferte 6,7 g Rohsäuren.

Die Rohsäuren wurden nun mit 700 mg 30-proz. Palladiumkohle über freier Flamme bei schwachem Unterdruck dehydriert und destilliert. Rückstand: 2,2 g. Das Destillat wurde fraktioniert. 1) Sdp. 116—190° (11 mm) 2,0 g (azulenhaltig); 2. Sdp. 160—190° (0,5 mm) 2,8 g (farblos); Rückstand 700 mg. Durch erneute Dehydrierung der 2) Fraktion konnten weitere azulenhaltige Anteile gewonnen werden. Die Isolierung des reinen 2-Isopropyl-azulens erfolgte durch Abscheidung als Trinitro-benzolat und Spaltung dieses Derivates an Aluminiumoxyd mit Cyclohexan. Nach Verdampfen des Lösungsmittels verblieb ein violetter, in der Kälte krystallisierender Rückstand von 350 mg. Schmelzpunkt ungefähr 27°. Dieser wurde zweimal aus Alkohol umkrystallisiert und zur Analyse vorsichtig sublimiert. Smp. 31°.

2,709 mg Subst. gaben 9,10 mg CO<sub>2</sub> und 2,01 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	Ber. C 91,71	H 8,29%
	Gef. ,, 91,67	,, 8,30%

Das Spektrum im Sichtbaren (visuelle Messung) steht in bester Übereinstimmung mit dem früher<sup>2)</sup> angegebenen. Absorptionsbanden in  $\mu$ : 676 ff; 663 s; 652 s; 637 s; 625 m; 614 ff; 603 s; 581 s; 571 f; 562 f; 552 ss; 545 ss; 536 ss; 527 ss.

<sup>1)</sup> Vgl. *Helv.* **29**, 1607 (1946).

<sup>2)</sup> *Pl. A. Plattner*, *Helv.* **24**, 226 E (1941).

Zur Analyse wurde ein Präparat des Trinitro-benzolats aus dem reinen Azulen hergestellt (Smp. 113—114°). Es liegt ein Bis-trinitro-benzolat vor.

3,724 mg Subst. gaben 6,922 mg CO<sub>2</sub> und 1,072 mg H<sub>2</sub>O

2,720 mg Subst. gaben 0,344 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (17°, 715 mm)

C<sub>25</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub>N<sub>6</sub> Ber. C 50,34 H 3,37 N 14,09%

Gef. „ 50,73 „ 3,22 „ 14,00%

Kolorimetrische Bestimmung des Verhältnisses von 2-Isopropyl-azulen zu Trinitro-benzol im krystallisierten Trinitro-benzolat (Smp. 113—114°).

5,73 mg Trinitro-benzolat wurden auf einer Säule von Aluminiumoxyd (Aktivität IV—V) mit Benzin zerlegt und die Azulen-Lösung mit Benzin auf 10 cm<sup>3</sup> verdünnt.

Die Konzentration des 2-Isopropyl-azolens in dieser Lösung wurde durch Vergleich mit aus reinem 2-Isopropyl-azulen hergestellten Eich-Lösungen ( $1,32 \times 10^{-3}$ ;  $0,99 \times 10^{-3}$  Mol/L in Benzin), mit einem photoelektrischen „Evelyn“-Kolorimeter bestimmt. Bei Verwendung von Licht der Wellenlängen von 515—570 m $\mu$  („Filter 540“) ergab sich ein linearer Zusammenhang zwischen dem Logarithmus der Transmission und der Konzentration. Die so ermittelte Konzentration des 2-Isopropyl-azolens (aus dem Trinitro-benzolat) ist  $0,98 \times 10^{-3}$  Mol/L, entsprechend 1,67 mg 2-Isopropyl-azulen in 5,73 mg Trinitro-benzolat. Daraus berechnet sich das molare Verhältnis von 2-Isopropyl-azulen zu Trinitro-benzol als 1:1,94.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

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

## 90. Über Steroide und Sexualhormone

(138. Mitteilung<sup>1</sup>).

### Zur Konstitution des $\alpha$ -Anhydro-uzarigenins

von L. Ruzicka, Pl. A. Plattner, A. Fürst und H. Heusser.

(11. II. 47.)

Wie vor längerer Zeit festgestellt wurde<sup>2</sup>), liefert das Acetat (Ia) des  $\Delta^{5;20,22}$ -3  $\beta$ , 21-Dioxy-nor-choladiensäure-lactons(23  $\rightarrow$  21) (I)<sup>3</sup>) bei der katalytischen Hydrierung ein Gemisch der an C 20 isomeren Tetrahydro-lactone (III) und (IIIa). Die physikalischen Eigenschaften (Schmelzpunkte und optisches Drehungsvermögen) dieser gesättigten Lactone stimmten erwartungsgemäss mit denjenigen der von R. Tschesche<sup>4</sup>) hergestellten Acetate von  $\alpha_2$ - bzw.  $\alpha_1$ -Tetrahydro-anhydro-uzarigenin überein.

<sup>1</sup>) 137. Mitt., Helv. 30, 395 (1947).

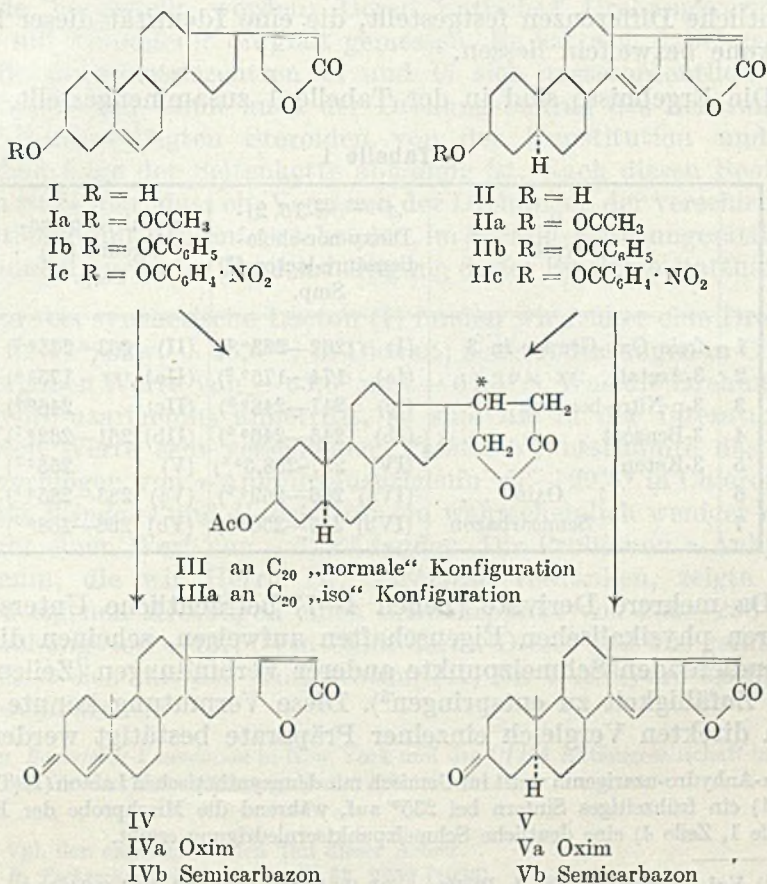
<sup>2</sup>) L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und A. Fürst, Helv. 24, 716 (1941).

<sup>3</sup>) L. Ruzicka, T. Reichstein und A. Fürst, Helv. 24, 76 (1941).

<sup>4</sup>) R. Tschesche, Z. physiol. Ch. 222, 50 (1933); R. Tschesche und K. Bohle, B. 68, 2252 (1935).

In der Zwischenzeit wurden wir nun in die Lage versetzt, diese beiden Isomeren-Paare miteinander zu vergleichen<sup>1)</sup> und durch Mischproben deren Identität zu beweisen. Danach entspricht das  $\alpha_1$ -Tetrahydro-anhydro-uzarigenin-acetat von *Tschesche* unserem 3  $\beta$ -Acetoxy-21-oxy-20-iso-nor-allo-cholansäure-lacton(23  $\rightarrow$  21) (IIIa)<sup>2)</sup>, das  $\alpha_2$ -Isomere dem an C 20 „normale“ Konfiguration aufweisenden gesättigten Lacton (III).

Für  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin selbst stellte *Tschesche*<sup>3)</sup> ursprünglich die Formel I auf, die jedoch später durch die Formel II ersetzt wurde<sup>4)</sup>, da Uzarin, das Glykosid des Uzarigenins, mit Alkali eine Umwandlung erfährt, die als Iso-lacton-Bildung eines an C 14 eine Oxy-Gruppe tragenden digitaloiden Glykosides gedeutet wurde.



<sup>1)</sup> Herrn Dr. *R. Tschesche* sei an dieser Stelle unser Dank für die Überlassung verschiedener Vergleichspräparate ausgesprochen.

<sup>2)</sup> Über die Bestimmung der Konfiguration von an C 20 isomeren Dihydro-lactonen vgl. *Pl. A. Plattner, L. Ruzicka und J. Pataki, Helv. 28, 389 (1945)*.

<sup>3)</sup> *R. Tschesche, B. 68, 7 (1935); R. Tschesche, Z. physiol. Ch. 229, 219 (1934)*.

<sup>4)</sup> *R. Tschesche und K. Bohle, B. 68, 2252 (1935)*.

Nun zeigten aber  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin und einige seiner Derivate<sup>1)</sup> die gleichen Schmelzpunkte wie die entsprechenden Verbindungen des synthetischen Lactons (I), so dass wir eine Identität des  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenins mit unserem synthetischen Lacton (I) für möglich hielten.

Eine Entscheidung zwischen den Formeln I oder II auf Grund der oben angeführten Hydrierungsergebnisse ist nicht möglich, da sowohl (I) wie (II) bei der energischen Hydrierung das Isomerenpaar (III und IIIa) liefern können. Um diese Frage weiter abzuklären, haben wir eine Reihe weiterer Derivate des synthetischen Lactons (I) hergestellt und mit den entsprechenden Verbindungen aus  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin verglichen. Dabei wurden in einigen Fällen wesentliche Differenzen festgestellt, die eine Identität dieser beiden Aglykone bezweifeln liessen.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

	Derivate	$\Delta^5; 20, 22.3\beta, 21$ - Dioxy-nor-chola- diensäure-lacton (I) Smp.	$\alpha$ -Anhydro-uzarigenin (II) Smp.
1	freie Oxy-Gruppe in 3 . . . . .	(I) 262—263 <sup>o 2)</sup>	(II) 263—265 <sup>o 3)</sup>
2	3-Acetat . . . . .	(Ia) 174—175 <sup>o 2)</sup>	(IIa) 175 <sup>o 4)</sup>
3	3-p-Nitro-benzoat . . . . .	(Ic) 247—248 <sup>o 5)</sup>	(IIc) 246 <sup>o 4)</sup>
4	3-Benzoat . . . . .	(Ib) 245—246 <sup>o 6)</sup>	(IIb) 261—262 <sup>o 7)</sup>
5	3-Keton . . . . .	(IV) 237—238,5 <sup>o 6)</sup>	(V) 255 <sup>o 7)</sup>
6	Oxim . . . . .	(IVa) 266—269 <sup>o 6)</sup>	(Va) 283—285 <sup>o 7)</sup>
7	Semicarbazon	(IVb) 255—256 <sup>o 6)</sup>	(Vb) 266—268 <sup>o 7)</sup>

Da mehrere Derivate (Zeilen 4—7) beträchtliche Unterschiede in ihren physikalischen Eigenschaften aufweisen, scheinen die korrespondierenden Schmelzpunkte anderer Verbindungen (Zeilen 1—3) einer Zufälligkeit zu entspringen<sup>5)</sup>. Diese Vermutung konnte durch einen direkten Vergleich einzelner Präparate bestätigt werden.

$\alpha$ -Anhydro-uzarigenin weist im Gemisch mit dem synthetischen Lacton (I) (Tabelle 1, Zeile 1) ein frühzeitiges Sintern bei 235° auf, während die Mischprobe der Benzoate (Tabelle 1, Zeile 4) eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung ergibt.

1) Vgl. *L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und A. Fürst, Helv. 24, 716 (1941)*.

2) *L. Ruzicka, T. Reichstein und A. Fürst, Helv. 24, 76 (1941)*.

3) *R. Tschesche, Z. physiol. Ch. 222, 50 (1933)*.

4) *A. Windaus und E. Haack, B. 63, 1377 (1930)*.

5) *L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und A. Fürst, Helv. 24, 716 (1941)*.

6) Vgl. den experimentellen Teil dieser Arbeit.

7) *R. Tschesche und K. Bohle, B. 68, 2252 (1935)*.

Weiter zeigt das  $\Delta^4; 20, 22$ -3-Keto-nor-choleadiensäure-lacton(23 $\rightarrow$ 21) (IV), welches aus (I) durch Oxydation nach *Oppenauer* gewonnen wurde, ein für  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Ketone typisches U.V.-Absorptionsspektrum<sup>1)</sup>, während bei  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin nach *Tschesche*<sup>2)</sup> keine Absorption, die auf die Konjugation einer Doppelbindung zur Keto-Gruppe hinweist, festzustellen ist.

Bei unserem früheren Vergleich<sup>3)</sup> von  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin mit dem synthetischen Lacton (I) haben wir versucht, an Hand des optischen Drehungsvermögens dieser Verbindungen die Lage der Doppelbindung in  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin zu bestimmen. Zum Vergleich wurden die entsprechenden Cholestenole mit verschiedener Lage der Doppelbindung herangezogen. Inzwischen sind auf synthetischem Wege in unserem Laboratorium zahlreiche 14,15-ungesättigte Steroide hergestellt worden. Deren optisches Drehungsvermögen wurde mit besonderer Sorgfalt gemessen. Es hat sich dabei gezeigt, dass die Asymmetriezentren 14 und 17 sich ausserordentlich stark beeinflussen und somit auch der Drehungsbeitrag des Zentrums 17 in  $\Delta^{14, 15}$ -ungesättigten Steroiden von der Konstitution und der sterischen Lage der Seitenkette abhängig ist. Nach diesen Beobachtungen ist es klar, dass ein Vergleich der Drehungen der verschiedenen Cholestenole mit den entsprechenden, im Steroid-Kern ungesättigten, Butenoliden nur unter Berücksichtigung dieser Einflüsse statthaft ist.

Für das synthetische Lacton (I) fanden wir früher eine Drehung von  $-49,1^{03}$  bzw.  $-46,6^{04}$  in Dioxan; neuere Messungen in Chloroform ergaben Werte von  $-63,6^0$  und  $-64,3^{05}$ . Was die Drehung des  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenins anbetrifft, so sind die in der Literatur angeführten Werte sehr verschieden. *Tschesche*<sup>6)</sup> bestimmte das Drehungsvermögen von  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin zu  $-29,5^0$  in Chloroform, während *Windaus* und *Haack*<sup>7)</sup> für ein wahrscheinlich weniger reines Präparat einen Wert von  $-53,6^0$  fanden. Die Probe von  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin, die wir Herrn Dr. *Tschesche* verdanken, zeigte nach unseren eigenen Messungen einen Schmelzpunkt von  $256-258^0$  und eine Drehung von  $-13,7^{08}$  in Chloroform. Dieser von uns gefundene Wert lässt sich mit der Konstitution (II) für  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin gut vereinbaren<sup>9)</sup>.

Der *Rockefeller-Foundation* in New York und der *CIBA* Aktiengesellschaft in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

1) Vgl. den experimentellen Teil dieser Arbeit.

2) *R. Tschesche* und *K. Bohle*, B. 68, 2252 (1935).

3) *L. Ruzicka*, *Pl. A. Plattner* und *A. Fürst*, Helv. 24, 716 (1941).

4) *L. Ruzicka*, *T. Reichstein* und *A. Fürst*, Helv. 24, 76 (1941).

5)  $c = 0,782; 1,013$ .

6) *R. Tschesche*, Z. physiol. Ch. 222, 50 (1933).

7) *A. Windaus* und *E. Haack*, B. 63, 1377 (1930).

8) Vgl. den experimentellen Teil.

9) Vgl. dazu eine spätere Mitteilung.

Experimenteller Teil<sup>1)</sup>.A5; 20, 22-3  $\beta$ -Benzoxy-21-oxy-nor-choladiensäure-lacton(23  $\rightarrow$  21) (Ib).

300 mg A5; 20, 22-3  $\beta$ , 21-Dioxy-nor-choladiensäure-lacton(23  $\rightarrow$  21) (I) wurden in 5 cm<sup>3</sup> Pyridin gelöst und unter Kühlen mit 2 cm<sup>3</sup> Benzoylchlorid versetzt. Nach 12-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde auf Eis gegossen, das Produkt in Äther aufgenommen, die Äther-Lösung mit verdünnter Salzsäure, eisgekühlter Soda-Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel abgedampft. Durch chromatographische Reinigung und anschließende Krystallisation aus Chloroform-Äthanol wurden 250 mg feine Blättchen vom Smp. 245—246° erhalten. Sechsmaliges Umkrystallisieren änderte den Schmelzpunkt nicht mehr.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -28,5^{\circ}; -27,0^{\circ 2)} \quad (c = 0,735; 0,802 \text{ in Chloroform})$$

3,826 mg Subst. gaben 10,965 mg CO<sub>2</sub> und 2,708 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 78,23 H 7,88%

Gef. ,, 78,21 ,, 7,92%

Die Mischprobe mit  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin-benzoat vom Smp. 260—261° und einem optischen Drehungsvermögen von -11,6°<sup>3)</sup> schmolz nach vorherigem Sintern (221°) bei 231—241°.

A4; 20, 22-3-Keto-21-oxy-nor-choladiensäure-lacton(23  $\rightarrow$  21) (IV).

340 mg A5; 20, 22-3  $\beta$ , 21-Dioxy-nor-choladiensäure-lacton(23  $\rightarrow$  21) (I) wurden mit 2 cm<sup>3</sup> Cyclohexanon und 400 mg Aluminium-tert.-butylat in 15 cm<sup>3</sup> Toluol 4 Stunden am Rückfluss gekocht. Das Rohprodukt wurde in Äther aufgenommen, die ätherische Lösung mit verdünnter Salzsäure, Wasser und Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel abgedampft. Der am Vakuum getrocknete Rückstand wurde an Aluminiumoxyd gereinigt. Die mit Benzol und Äther aus dem Chromatogramm eluierten Anteile (295 mg) wurden aus Aceton-Benzin umkrystallisiert und ergaben 240 mg rautenförmige Krystalle vom Smp. 237—238,5°. Zur Analyse wurde das Präparat noch einmal umkrystallisiert und anschließend im Hochvakuum bei 228° sublimiert. Smp. unverändert.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +119,8^{\circ} \quad (c = 0,885 \text{ in Chloroform})$$

3,685 mg Subst. gaben 10,509 mg CO<sub>2</sub> und 2,787 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 77,93 H 8,53%

Gef. ,, 77,83 ,, 8,46%

Das U.V.-Absorptionsspektrum weist zwei Maxima bei 241 m $\mu$  und 310 m $\mu$  (log  $\epsilon$  = 4,34 bzw. 1,84) auf.

Semicarbazon: Das in üblicher Weise bereitete Semicarbazon schmolz nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Methanol bei 255—256°. Zur Analyse wurde es 24 Stunden bei 90° im Hochvakuum getrocknet.

3,778 mg Subst. gaben 9,663 mg CO<sub>2</sub> und 2,703 mg H<sub>2</sub>O

2,750 mg Subst. gaben 0,254 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (20°, 720 mm)

C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub> Ber. C 70,04 H 8,08 N 10,21%

Gef. ,, 69,83 ,, 8,01 ,, 10,20%

Oxim: Das in gewohnter Weise bereitete Oxim wurde viermal aus Äthanol umkrystallisiert und zur Analyse 24 Stunden bei 75° im Hochvakuum getrocknet. Smp. 266 bis 269°.

1) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrechen bestimmt.

2) Bestimmt von Hrn. E. Angliker.

3) c = 1,970 in Chloroform; bestimmt von Hrn. Kd. Meier.

3,790 mg Subst. gaben 10,363 mg CO<sub>2</sub> und 2,891 mg H<sub>2</sub>O

5,996 mg Subst. gaben 0,231 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (18°, 726 mm)

C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>O<sub>3</sub>N Ber. C 74,76 H 8,46 N 3,79%

Gef. „ 74,62 „ 8,54 „ 4,32%

#### α-Anhydro-uzarigenin.

Eine Probe α-Anhydro-uzarigenin, die uns von Hrn. Dr. *Tschesche* zur Verfügung gestellt wurde, zeigte in annähernder Übereinstimmung mit den Angaben der Literatur einen Schmelzpunkt von 256,5–258,5°. Eine grössere Abweichung zeigte das Präparat in seinem optischen Verhalten.

$$[\alpha]_D^{20} = -13,7^{\circ 1)} \quad (c = 0,725 \text{ in Chloroform})$$

#### α-Anhydro-uzarigenin-benzoat.

Den Schmelzpunkt dieses Präparates bestimmten wir zu 260–261°.

$$[\alpha]_D^{20} = -13,1^{\circ}; -11,6^{\circ 2)} \quad (c = 1,533; 1,970 \text{ in Chloroform})$$

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. *W. Manser* ausgeführt.

### Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

<sup>1)</sup> *Tschesche* fand für ein Produkt derselben Reinheit eine Drehung von  $-29,5^{\circ}$  in Chloroform [Z. physiol. Ch. 222, 50 (1933)], während *Windaus* und *Haack* für ein Präparat vom Smp. 247–248° ein  $[\alpha]_D$  von  $-53,6^{\circ}$  bestimmten [B. 63, 1377 (1933)].

<sup>2)</sup> Bestimmt durch die HH. *Kd. Meier* und *E. Angliker*.