



JUSTUS LIEBIGS  
ANNALEN  
DER CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON  
HEINRICH WIELAND  
ADOLF WINDAUS · RICHARD KUHN

BAND 561 · HEFT 3

VERLAG CHEMIE · GMBH · WEINHEIM/BERGSTR.



# Inhalt

Wilhelm Treibs und Hilmar Bast, Über acylierende Oxydation von Cycloolefinen und -ketonen mit Mercurisalzen . . . . .	165
Hans Heinrich Schlüßbach und Ilse Huchting, Untersuchungen über Fructoseanhydride XXV. Über das Pyrosin . . . . .	173
Hans Heinrich Schlüßbach und Erwin Rathje, Untersuchungen über Fructoseanhydride XXVI. Über das Kritesin . . . . .	180
Karl Winterfeld und Melanie Rink, Über die Konstitution des Viscotoxins . . . . .	186
Rolf Huisgen, Heinrich Wieland und Heinz Eder, Abbauversuche an quartären Salzen des Vomitins und Desoxyvomitins. Über Strychnos-Alkaloide XXXIII . . . . .	193
Johann Heinrich Helberger, Seyit Ulubay und Halidun Civelekoglu, Ein einfaches Verfahren zur Gewinnung von $\alpha$ -Angelicalacton und über die hydrierende Spaltung sauerstoffhaltiger Ringe . . . . .	215
E. Pfeil, Über die Sandmeyersche Reaktion I. Die Bildung von Phenolen und Halogenbenzolen bei der Zersetzung der Diazoniumhalogenide. (Mit 2 Figuren im Text) . . . . .	220
Carl Martius, Über die Unterbrechung des Citronensäure-Cyklus durch Fluoressigsäure . . . . .	227
Friedrich Kiermeier, Zur manometrischen Bestimmungsmethode der Pektase. (Mit 4 Figuren im Text) . . . . .	232

---

## Für die Herren Mitarbeiter zur Beachtung

Eine wissenschaftliche Zeitschrift kann bei gleichen Herstellungskosten ihren Lesern um so mehr bringen, je knapper die einzelnen Beiträge in der Abfassung gehalten sind. Kürze der Darstellung ist dem Verständnis förderlicher als ungehemmte Weitschweifigkeit. Auf lange historische Einleitungen, wiederholte Beschreibung schon geschilderter Operationen, auf die liebevolle Charakterisierung an sich nebensächlicher Substanzen aus parallelen Reihen sollte verzichtet werden. Hier ist gedrängte Zusammenfassung im Lapidarstil am Platze.

Die Redaktion behält sich vor, Manuskripte, die den angedeuteten Grundsätzen entgegenlaufen, dem Autor zur Kürzung zurückzusenden.

Abhandlungen, deren Inhalt, wenn auch nur teilweise, schon an anderer Stelle veröffentlicht worden ist oder veröffentlicht werden soll, werden nicht aufgenommen.

Es wird besonders gebeten, die Korrekturen rasch zu erledigen. Nur dann ist das schnelle Erscheinen der Abhandlungen gewährleistet. Verzögerte Korrekturen führen zur Zurückstellung des betr. Beitrages.

Zusammengesetzte Namen sollen der Übersichtlichkeit wegen schon im Manuskript unter Anwendung von Trennungsstrichen wiedergegeben werden, z. B. Methyl-naphthyl-keton, nicht „Methylnaphthylketon“.

Formeln, die wiederkehren, werden zweckmäßig mit römischen Ziffern numeriert, die einen einfachen Hinweis gestatten.

Bei der Wiedergabe der Analysen ist im allgemeinen von der Ausführung der Belegzahlen Abstand zu nehmen.

Zitate von Zeitschriften werden nach dem jetzt allgemein eingeführten Brauch abgekürzt.

**Die Redaktion**

---

Liebigs Annalen erscheinen in Bänden zu je drei Heften. Die Redaktion besorgt Prof. Heinrich Wieland, (13b) Starnberg, Obb., Schießstättstraße 12.

50 Sonderabzüge werden den Verfassern umsonst geliefert; eine größere Zahl kann zur Zeit wegen Papiermangels nur in Ausnahmefällen geliefert werden.

Abonnementspreis je Band 15,— DM. zuzügl. Versandkosten.

Copyright 1948 by Verlag Chemie, GmbH, (Geschäftsführer: Eduard Kreuzhage) Weinheim/Bergstr. — Printed in Germany — Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, vorbehalten.





# JUSTUS LIEBIGS ANNALEN DER CHEMIE

561. Band

## Über acylierende Oxydation von Cyclo-olefinen und -ketonen mit Mercurisalzen

Von *Wilhelm Treibs* und *Hilmar Bast*

(Aus dem Chemischen Laboratorium der Universität Leipzig)

[Eingelaufen am 4. Oktober 1948]

*Mercurierungen*, d. h. Herstellung von metallorganischen C-Hg-Bindungen durch Einwirkung von Mercurisalzen auf Olefine und Aromaten sind seit langem bekannt. Dimroth<sup>1)</sup>, der die Mercurierung von Aromaten eingehend untersuchte, stellte fest, daß die Umsetzungen umso bereitwilliger erfolgen, je besser die Mercurisalze hydrolytisch spaltbar sind. Als gut wirksam erwiesen sich Mercuri-acetat, -nitrat und -sulfat. Geringe Umsetzung zeigte Mercuri-chlorid, während Mercuri-cyanid überhaupt nicht reagierte. 1947 gelang J. Romeyn und G. F. Wright<sup>2)</sup> die Methoxy-mercurierung von Cyclohexen mittels Mercuri-acetats in Methanol. Alle diese Substitutionen und Anlagerungen greifen direkt an der Doppelbindung bzw. am aromatischen Rest an und wurden in wäßriger Lösung oder in organischen Lösungsmitteln, meist bei niedrigen Temperaturen, durchgeführt.

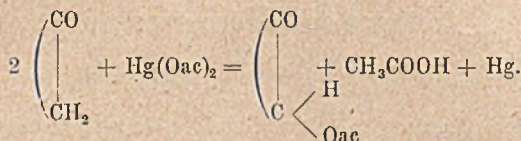
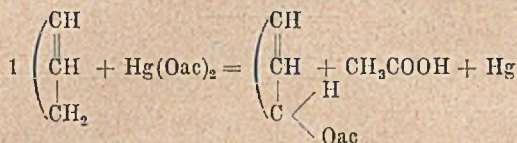
Nachdem der eine von uns (W. Treibs) festgestellt hatte, daß Cyclo-olefine und Ketone beim Erhitzen mit Mercuri-acetat ohne Verdünnungsmittel unter Entwicklung von Essigsäure metallisches Quecksilber ausschieden, wurde diese neuartige Reaktion zunächst an den beiden erwähnten Körperklassen eingehend untersucht. Grundsätzlich wurde festgestellt, daß die Umsetzungen von 1 Mol Cyclo-olefin oder -keton mit 1 Mol Mercuri-acetat unter Bildung von je 1 Mol Essigsäure und 1 Atom metallischem Quecksilber verlaufen, und daß dabei der 2. Essigsäurerest des Mercuri-acetats als Estergruppe an das Ringmolekül angefügt wird. Es entstehen also aus den *Cycloolefinen* die *Essigsäure-ester von Olefin-alkoholen* (Gl. 1), aus den *Ketonen* *Ketol-acetate* (Gl. 2). Zum Unterschied von den bisher untersuchten zahlreichen Mercurierungen

<sup>1)</sup> Vgl. Houben-Weyl: Die Methoden der org. Chemie, 2. Aufl., Leipzig 1924, 4. B., S. 929–945.

<sup>2)</sup> Chem. Abstr. 41, 4111 (1947).

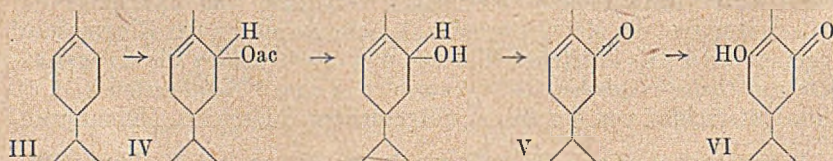


gen findet der Angriff hier an den aktivierten Methylengruppen neben der Doppelbindung bzw. Ketongruppe statt:



Die *präparative Ausführung* der acylierenden Oxydation mittels Mercurisalzen ist die denkbar einfachste: 1 Mol Cycloolefin bzw. Keton wird mit 1 Mol Mercuri-acetat auf dem Ölbad auf 130—150° Außentemperatur erhitzt. Die freiwerdende Essigsäure regelt die Umsetzungstemperatur und destilliert ab. Das metallische Quecksilber scheidet sich zumeist als zusammenhängender Tropfen am Boden des Kolbens aus und gestattet durch sein Gewicht den Grad der Umsetzung festzustellen. Das Reaktionsprodukt wird ohne jede Vorbehandlung durch Fraktionieren gereinigt. Die leicht siedenden cyclischen Anfangsglieder (Cyclopenten, Cyclohexen, Cyclopentanon) müssen zum Erreichen der Umsetzungstemperatur im Bombenrohr erhitzt werden.

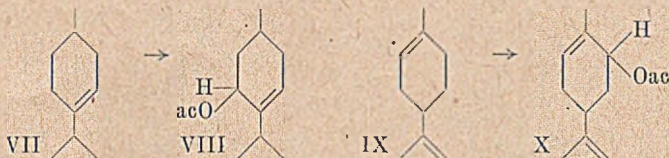
Bei *Cycloolefinen* üben ähnlich wie bei anderen Oxydationsprozessen ( $\text{SeO}_2$ ,  $\text{CrO}_3$ , molekularer Sauerstoff) vorhandene Seitenketten einen richtenden Einfluß auf die Substitutionsstelle aus. Aus *Cyclohexen* (I) wurde der Essigsäureester des  $\Delta_1$ -Cyclohexenols (II) erhalten, dessen chemischer Bau durch Permanganatoxydation zur Glutarsäure bestätigt werden konnte. Recht gute Acetatausbeuten lieferten die Menthene.  $\Delta_1$ -*Menthen* (III) wurde in den Essigsäureester des Carvotanacetols (IV) übergeführt, der freie Alkohol durch  $\text{CrO}_3$ -Oxydation zum Carvotanacetone (V) und anschließende  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Oxydation zum festen Oxycarvotanacetone<sup>3)</sup> (VI) charakterisiert.



<sup>3)</sup> W. Treibs, B. 66, 1484 (1933).



Ganz analog reagierte das  $\Delta_3$ -Menthen (VII) mit Mercuri-acetat zum entsprechenden Ester (VIII).



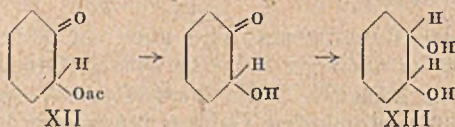
Beim *Limonen* (IX) war ähnlich wie bei der  $\text{SeO}_2$ -Oxydation die Ausbeute an Carveolacetat (X) viel schlechter, da durch Dehydrierung viel Cymol neben Diterpen entstand.

Orientierende Versuche zeigten, daß auch cyclische konjugierte *Diensysteme* (Phellandren) und *Sesquiterpene* (Cedren, Caryophyllen, Aromadendren) der acylierenden Oxydation zugänglich sind.

Über die interessanten *sterischen Verhältnisse* der acetylierenden Oxydation, d. h. die *cis*- oder *trans*-Stellung der neueintretenden Essigsäuregruppe zu den Alkylgruppen des Cycloolefins müssen besondere Versuchsreihen mit sterisch einheitlichen Ausgangskohlenwasserstoffen entscheiden.

Partiell hydrierte kondensierte aromatische Systeme wie *Hydrinden* und *Tetralin* werden merkwürdigerweise im Gegensatz zur Wirkung von anderen Oxydationsmitteln wie  $\text{CrO}_3$ ,  $\text{SeO}_2$ ,  $\text{O}_2$ , sogar beim Sdp., von Mercuriacetat überhaupt nicht angegriffen, so daß sie bei der acetylierenden Oxydation als Lösungsmittel Verwendung finden können.

Auch bei den *Ringketonen* sind etwaige Seitenketten für die Angriffspunkte der acetylierenden Oxydation maßgebend. Erwartungsgemäß findet die Substitution an der sterisch am wenigsten behinderten Nachbarmethylengruppe des Carbonyls statt. *Cyclohexanon* wurde in das  $\alpha$ -Cyclohexanonol-acetat (XII) übergeführt, das bei der Natriumreduktion ein Glykolgemisch (XIII) ergab und durch Permanganat zur Adipinsäure oxydiert wurde. Der Angriff findet also im Gegensatz zur katalysierten  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Oxydation<sup>4)</sup> nur in  $\alpha$ -Stellung zur CO-Gruppe statt.



Beim *1-Methyl-cyclohexanon-3* (XIV) erfolgte die Substitution ausschließlich an der sterisch weniger behinderten Methylengruppe, da bei

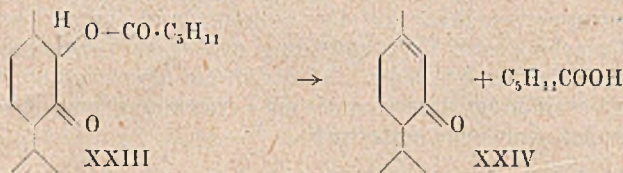
<sup>4)</sup> W. Treibs, B. 72, 1195 (1939).



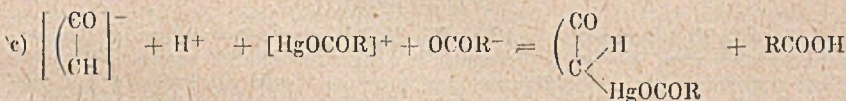
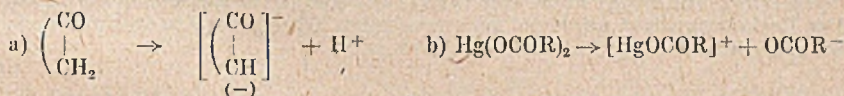




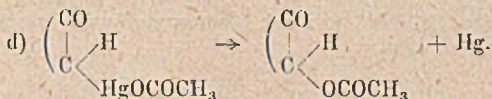
nat über den Capronsäureester des Menthanolons (XXIII) Piperiton (XXIV) synthetisch erhalten werden.



Was die *Kinetik der acylierenden Oxydation* angeht, so gibt das Auftreten thermisch unbeständiger mercurierter Zwischenprodukte, deren Zersetzung zu den Endkörpern führt, und die Tatsache, daß wenig oder nicht dissoziierende Quecksilbersalze wie  $\text{HgCl}_2$  und  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  sich nicht analog umsetzen lassen, den Schlüssel zum Reaktionsablauf. Man wird annehmen müssen, daß an der durch die Doppelbindung bzw. Keto-Gruppe aktivierten Methylengruppe ein Proton abdissoziiert unter Bildung eines Carbeniatanions (a), und daß sich an letzteres Anion ein Mercuriacetatkation (b) anlagert (c).



Die entstehende Mercuriverbindung wird dann thermisch gespalten (d). Für einen Radikalcharakter dieses Reaktionsteils spricht die Tatsache, daß die Reaktion in einzelnen Fällen einen äußerst stürmischen Verlauf nahm und die häufige Racemisierung optisch aktiver Ausgangsmaterialien.



Was nun den Geltungsbereich dieser neuartigen Abwandlung angeht, so liegt ein Vergleich mit der Bleitetraacetat-Oxydation nach Criegee<sup>5)</sup> und der  $\text{SeO}_2$ -Oxydation nach Riley<sup>6)</sup> nahe. Während die Criegee'sche Umsetzung an Olefinen gleichzeitig als Addition an und als Substitution neben der Doppelbindung angreift, wirkt die acylierende

<sup>5)</sup> Verlag Chemie: Neuere Methoden d. präp. org. Chemie (Berlin 1943), 25–30.

<sup>6)</sup> loc. cit. 4–16.



Oxydation mit Mercurisalzen nach den bisherigen Erfahrungen nur substituierend. Von der Rileyschen Reaktion unterscheidet sie sich durch größere Spezifität, da sie beim Vorliegen nur einer Doppelbindung oder Ketogruppe scheinbar auf Cyclo-olefine und -ketone beschränkt ist. Die Ursache dieser Vorzugsstellung cyclischer Verbindungen und die Ringgliederzahlen, bei denen sie eintritt, die Übertragung auf andere organische Verbindungsklassen, sowie die Verwendung von Verdünnungsmitteln werden eingehend untersucht.

Der Firma Schimmel & Co. in Miltitz danken wir für Überlassung von Versuchsmaterial.

Die Mikroanalysen wurden von R. Martin vom chemischen Institut der Universität Leipzig ausgeführt.

## Beschreibung der Versuche

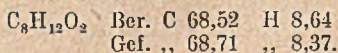
### Präparative Ausführung

Je  $\frac{1}{10}$  Mol Cyclo-olefin oder -keton wurden mit  $\frac{1}{10}$  Mol (32 g) Mercuriacetat im Ölbad auf 130–150° erhitzt. Oft schieden sich zunächst vorübergehend Kristalle aus, dann setzte sich metallisches Quecksilber als Kugel am Boden ab. Nach einstündigem schwachem Sieden wurde vom Quecksilber abgegossen und letzteres gewogen. Das Reaktionsprodukt wurde bei niedrigsiedenden Körpern bei Atmosphärendruck, bei höhersiedenden i. V. fraktioniert.

### Cyclohexen (I)

17 g ( $\frac{2}{10}$  Mol) Cyclohexen und 64 g ( $\frac{2}{10}$  Mol) Mercuriacetat wurden im Bombenrohr 2 Stunden auf 150° erhitzt, wonach 40 g Hg ausgeschieden waren. Neben viel Harz und etwas durch Dehydrierung entstandenem Benzol wurden 6,5 g  $\Delta_1$ -Cyclohexenyl-(3)-acetat (II) erhalten, das bei 69–70° (15 mm) siedete und mit conc. Schwefelsäure eine blaue Färbung gab.

$$d_{\frac{20}{4}}^{20} 1,006, n_D^{20} 1,4673.$$

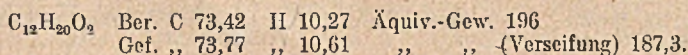


Durch Oxydation mit  $KMnO_4$  in alkal. Lösung wurde nur Glutarsäure vom Schmp. 97,5° (Mischschmp.) erhalten.

### $\Delta_1$ -Menthen (III)

a) Aus 12,8 g ( $\frac{1}{10}$  Mol)  $\Delta_1$ -Menthen ( $d_{\frac{20}{4}}^{20} 0,8286, \alpha_D^{20} - 25^\circ, n_D^{20} 1,4596$ ) und 32 g ( $\frac{1}{10}$  Mol) Mercuriacetat wurden 18 g metallisches Quecksilber und nach zweimaligen Fraktionieren 10,5 g Essigsäureester (IV) erhalten, der bei 115° (14 mm) siedete.

$$d_{\frac{20}{4}}^{20} 0,9519; n_D^{20} 1,45829$$





b) Durch heiße alkoholische Verseifung des Esters wurde der Alkohol  $C_{10}H_{18}O$  erhalten, der bei  $112^{\circ}$  (14 mm) siedete.

$$d_{\frac{20}{4}}^{20} 0,9284; \alpha_D^{20} + 0^{\circ} 36'; n_D^{20} 1,47067.$$

$C_{10}H_{18}O$  (154) Ber. C 77,86 H 11,76 akt. H 1,0  
Gef. ,, 77,52 ,, 11,88 ,, ,, 0,988.

c) 5 g Alkohol wurden mittels 3 g  $CrO_3$  in 30 ccm Eisessig oxydiert. Das Rohketon (V) ( $d_{\frac{20}{4}}^{20} 0,9349; \alpha_D^{20} 0,0^{\circ}; n_D^{20} 1,47204$ ) roch carvonartig und wurde in das kristallisierte Semicarbazon vom Schmp.  $178^{\circ}$  übergeführt, das im Gemisch mit Carvotanaceton-semicarbazon vom Schmp.  $178-179^{\circ}$  keine Depression ergab.

d) Das Keton wurde in alkohol. KOH mittels  $H_2O_2$  in das krist. Enolketon (Oxy-Carvotanaceton VI) vom Schmp.  $181^{\circ}$  übergeführt.

### $\Delta_3$ -Menthen (VII)

a) Aus 12,8 g  $\Delta_3$ -Menthen ( $d_{\frac{20}{4}}^{20} 0,8161; \alpha_D^{20} + 10,25; n_D^{20} 1,44375$ ) und 32 g Mercuriacetat wurden 19 g Hg und nach zweimaligem Fraktionieren 8,6 g Ester (VIII) erhalten, der von  $112-114^{\circ}$  (14 mm) siedete.  $d_{\frac{20}{4}}^{20} 0,9489; \alpha_D^{20} - 4,20; n_D^{20} 1,45912$ .

$C_{12}H_{20}O_2$  Ber. Äquiv.-Gew. (Verseifung) 196 Gef. 204,7.

### Limonen (IX)

Aus 13,6 g Limonen ( $d_{\frac{20}{4}}^{20} 0,8489; \alpha_D^{20} + 115; n_D^{20} 1,4730$ ) und 32 g Mercuriacetat wurden 17 g Hg und neben wiedergewonnenem Limonen, Cymol und Diterpen 4,3 g Essigsäureester (X) erhalten, der von  $128-132^{\circ}$  (14 mm) siedete.  $d_{\frac{20}{4}}^{20} 1,0038; \alpha_D^{20} + 4^{\circ} 54'; n_D^{20} 1,48486$ ; Äquiv.-Gew. Ber. 199,8; Gef. 194,0.

### Cyclohexanon (XI)

a) Aus 10 g Cyclohexanon ( $d_{\frac{20}{4}}^{20} 0,9459, n_D^{20} 1,44639$ ) und 32 g Mercuriacetat wurden neben 3,2 g Harz und 2 g durch Dehydrierung entstandenem Phenylacetat 3 g Kestolester (XII) erhalten, der von  $222-226^{\circ}$  (760 mm) siedete.  $d_{\frac{20}{4}}^{20} 1,0811; n_D^{20} 1,45989$ .

$C_8H_{12}O_3$  Ber. C 61,55 H 7,70 Äquiv.-Gew. 156  
Gef. ,, 61,25 ,, 7,50 ,, ,, 163,2  
,, ,, 157,4 (CO-Titration).

Das freie Keton (Adipoin) schmolz bei  $113^{\circ}$ .

b) Durch Reduktion von 3 g Ester mit metall. Natrium in abs. Alkohol wurde das 1,2-Cyclohexandiol (XIII) erhalten, das bei  $74^{\circ}$  (14 mm) siedete.  $d_{\frac{20}{4}}^{20} 0,9482; n_D^{20} 1,45849$ ; aktiver H 99,6%.

c) Durch Oxydation mit alkal.  $KMnO_4$  wurde der Kestolester in Adipinsäure vom Schmp.  $151^{\circ}$  (Mischschmp.) übergeführt.



## 1,3-Methyl-cyclohexanon (XIV)

Aus 11,5 g 1,3-Methylcyclohexanon ( $d_{4}^{20}$  0,9025;  $n_{D}^{20}$  1,44522), aus Pulegon und konz. Ameisensäure dargestellt, und 32 g Mercuriacetat wurden 20 g Hg und neben 1,65 g Harz 5,7 g *Ketolester* (XV) erhalten.  $d_{4}^{20}$  1,0683;  $a_{D}^{20}$   $-2^{\circ} 30'$ ;  $n_{D}^{20}$  1,46257.

$C_9H_{14}O_3$	Ber. C 63,51	H 8,29	Äquiv.-Gew. 170
	Gef. „ 63,50	„ 8,71	„ „ 170,0
			„ „ 177,3 (CO-Titration).

Alkalische Permanganatoxydation ergab nur  $\beta$ -Methyladipinsäure (vom Schmp. 85,5° [Mischschmp.]).

## Menthon (XVI)

a) Am Menthon wurde der Reaktionsablauf in Eisessiglösung eingehend untersucht. Beim allmählichen Erwärmen von 15 g Menthon mit 32 g Mercuriacetat und 20 g Eisessig schied sich aus der bei 80° klaren Lösung bei 100° eine kristallisierte Verbindung ab. Bei 130° erfolgte fast augenblicklich Hg-Ausscheidung. Neben 4,2 g unverändertem Menthon und 4,0 g Harz wurden 9,6 g *Ester* (XVII) (87% berechnet auf umgesetztes Menthon) erhalten, der bei 134° (14 mm) siedete.  $d_{4}^{20}$  1,0190;  $a_{D}^{20}$   $-31,34^{\circ}$ ;  $n_{D}^{20}$  1,45829.

$C_{12}H_{20}O_3$	Ber. C 67,89	H 9,47	Äquiv.-Gew. 212
	Gef. „ 68,31	„ 9,76	„ „ 210,2
			„ „ 202,3 (CO-Titration).

b) Aus dem Ester wurde durch Verseifung mit 10proz. alkohol. KOH das freie *Menthanolon* (XVIII) gewonnen, das bei 111–112° (14 mm) siedete.  $d_{4}^{20}$  0,9883,  $a_{D}^{20}$   $+1,10^{\circ}$ ;  $n_{D}^{20}$  1,46356.

Ber. Äquiv.-Gew. 170 Gef. aus CO-Titration 168,5.

c) Durch Reduktion von 10 g Ketol in 100 cem Alkohol mit 5 g Natrium wurde ein *Glykolgemisch* erhalten, das bei 140–143° (14 mm) siedete.  $d_{4}^{20}$  0,9933,  $a_{D}^{20}$   $-2^{\circ} 44'$ ;  $n_{D}^{20}$  1,46978; aktiver Wasserstoff 98,8%. Das Gemisch schied beim Abkühlen ein festes Glykol vom Schmp. 92° aus<sup>7)</sup>.

## Carvomenthon (XIX)

a) Aus 15 g Carvomenthon ( $d_{4}^{20}$  0,9078;  $a_{D}^{20}$   $-22,6^{\circ}$ ;  $n_{D}^{20}$  1,45710), das durch Hydrierung von Carvon dargestellt war, und 32 g Mercuriacetat wurden neben 3,5 g wiedergewonnenem Keton und 4,2 g Harz 9 g *Ketolester* (XX) (76% berechnet auf umgesetztes Keton) erhalten, der von 143–146° (14 mm) siedete.  $d_{4}^{20}$  1,0150;  $a_{D}^{20}$   $+1,17^{\circ}$ ;  $n_{D}^{20}$  1,45129.

Ber. Äquiv.-Gew. 212 Gef. 212; 196,7 (CO-Titration).

<sup>7)</sup> Vgl. Kondakow u. Bachtschiew, J. pr. Chem. (2) 63, 63.



b) Durch Verseifen des Esters mit 10proz. alkohol. KOH wurde das freie *Menthanol* gewonnen, das bei 118° (14 mm) siedete.  $d_{4}^{20}$  0,9845;  $\alpha_{D}^{20}$  - 42°18';  $n_{D}^{20}$  1,45639.

Ber. Äquiv.-Gew. 170 Gef. 176,2 (CO-Titration).

#### *Pulegon* (XXI)

Aus 15 g *Pulegon* ( $d_{4}^{20}$  0,9319;  $\alpha_{D}^{20}$  + 25,47;  $n_{D}^{20}$  1,4699) und 32 g *Mercuri-acetat* wurden neben 10,7 g wiedergewonnenem Keton und 5 g Harz 2,5 g *Ketolester* (XXII) erhalten, der bei 151—153° (16 mm) siedete.  $d_{4}^{20}$  1,0430;  $n_{D}^{20}$  1,48553.

Ber. Äquiv.-Gew. 210 Gef. 205,3; 216,1 (CO-Titration).

#### *Piperiton aus Menthon* (XVI)

a) *Menthonyl-capronat*. Aus 15 g *Menthon* und 44 g *Mercuricapronat* (aus HgO und *Capronsäure* dargestellt) wurden 11 g *Ketolester* (XXIII) erhalten, der bei 180 bis 190° (16 mm) siedete.  $d_{4}^{20}$  0,9807;  $\alpha_{D}^{20}$  - 5,54°;  $n_{D}^{20}$  1,46356.

$C_{16}H_{28}O_3$  Ber. Äquiv.-Gew. 268 Gef. 252,3; 262,3 (CO-Titration).

b) *Piperiton*. 8 g *Ketolester* wurden 2 Stunden am Rückfluß zum Sieden erhitzt. Das Keton (XXIV) wurde aus alkalischer Lösung mit Wasserdampf destilliert. Es zeigte den typischen Geruch des *Piperitons* und siedete von 105—110° (14 mm).  $d_{4}^{20}$  0,9336;  $\alpha_{D}^{20}$  - 18°45';  $n_{D}^{20}$  1,47922.

$C_{10}H_{16}O$  Ber. C 78,89 H 10,59  
- Gef. „ 78,84 „ 10,79.

Das Semicarbazon schmolz bei 221°.

## Untersuchungen über Fructoseanhydride XXV<sup>1)</sup>

### Über das Pyrosin

von Hans Heinrich Schlubach und Ilse Huchting.

[Eingelaufen am 5. Oktober 1948]

Im Verhältnis zu der überragenden Bedeutung des reifen Weizenkornes für die menschliche Ernährung sind die Kohlenhydrate, die während der Entwicklung der Weizenpflanze gebildet werden und dem Aufbau des Kornes dienen, nur wenig untersucht worden.

<sup>1)</sup> A. 544, 111 (1940).



A. Müntz<sup>2)</sup>, der sich als erster mit dieser Frage beschäftigt hat, nahm zunächst an, daß als Vorstufe der Stärke des reifen Kornes ausschließlich Rohrzucker anzusehen sei. Ch. Tanret<sup>3)</sup> entdeckte jedoch im Weizenmehl, also im reifen Korn, geringe Mengen eines Fructosans, das er mit dem von ihm aus Roggenmehl isolierten „lévosine“ für identisch hielt. Dieser Ansicht haben sich H. Colin und H. Belval<sup>4)</sup> angeschlossen, als sie die Bildung von Fructosanen in der Weizenpflanze während verschiedener Wachstumsperioden näher verfolgten. C. J. Kruisheer<sup>5)</sup> hat im Gegensatz hierzu die Vermutung geäußert, daß die Fructosane im Roggen und Weizen verschieden sein könnten. Ebensovienig wie H. R. Barnell<sup>6)</sup>, der die Verteilung sämtlicher Kohlenhydrate in der Weizenpflanze in den verschiedenen Wachstumsperioden und Organen sehr sorgfältig verfolgt hat, hat er aber den Nachweis einer tatsächlichen Verschiedenheit erbringen können.

Die Möglichkeit einer sicheren Unterscheidung wurde erst gegeben, nachdem durch die Arbeiten von H. H. Schlubach und K. König<sup>7)</sup> das Graminin aus dem Roggenkorn und von H. H. Schlubach und Chr. Bandmann<sup>8)</sup> das Secalin aus dem Roggenhalm isoliert und in ihrer Konstitution aufgeklärt waren. Die Feststellung, daß in den Halmen und Körnern ein und derselben Getreideart in ihrem Bau vollständig verschiedene Polyfructosane gebildet werden, machte es nicht unwahrscheinlich, daß (das oder) die Polyfructosane der Weizenpflanze ebenfalls verschieden sind.

Die zunächst durchgeführte Untersuchung des in den Halmen der Weizenpflanze gebildeten Polyfructosans hat diese Vermutung bestätigt. Es ist sowohl von den beiden in der Roggenpflanze angebotenen als auch von den zahlreichen anderen, bisher genauer untersuchten<sup>9)</sup> verschieden. Wir schlagen für dieses Polysaccharid den Namen *Pyrosin* (von *πυρός* = Weizen) vor, da der Name *Triticin* (von *triticum vulgare*) bereits für das aus der Quecke (*agropyrum repens*) isolierte Polyfructosan verwandt ist, das zweckmäßiger *Agropyrin*<sup>10)</sup> genannt worden wäre.

Das Pyrosin wurde etwa 14 Tage nach der Blüte der Weizenpflanze aus den von den Ähren befreiten Halmen durch Extraction mit siedendem Alkohol gewonnen. Wegen der großen Mengen der zugleich in Lösung gegangenen Eiweißstoffe von der Art des Gliadins gestaltete sich die Isolierung recht mühsam und verlustreich. Nach 30 Alkoholfällungen der wässerigen Lösungen wurde ein Polysaccharid mit einer konstanten Drehung von  $[\alpha]_D^{20} = -30,0^\circ$  (Wasser,  $c = 1$ ) erhalten.

Weit besser ließ sich die Reinigung über die Acetylverbindung

<sup>2)</sup> C. r. 87, 682 (1878).

<sup>3)</sup> Bul. Soc. [3], 5, 724 (1891).

<sup>4)</sup> C. r. 175, 1441 (1922); 177, 343 (1923).

<sup>5)</sup> Rec. 50, 153 (1931).

<sup>6)</sup> New. Phytol. 37, 85 (1938).

<sup>7)</sup> A. 514, 182 (1934).

<sup>8)</sup> A. 540, 285 (1939).

<sup>9)</sup> Zusammenfassung: A. 544, 111 (1940).

<sup>10)</sup> Mit „*Agropyren*“ ist inzwischen ein von W. Treibs (B. 80, 97 [1947] aus Queckenwurzeln isolierter Kohlenwasserstoff benannt worden.



erreichen. Nach 40 Ausfällungen ihrer benzolischen Lösungen mit Petroläther wurde eine Triacetylverbindung mit einem konstanten Drehwert von  $[\alpha]_D^{20} = +8,5^\circ$  (Chloroform,  $c = 1$ ) erhalten, aus der nach der Verseifung ein Polyfructosan von der Drehung  $[\alpha]_D^{20} = -30,0^\circ$  (Wasser,  $c = 1$ ) hervorging. Die Identität der auf beiden Wegen erhaltenen Polyfructosane ergab sich außer aus den Drehungen auch aus den Halbumsatzzeiten ihrer Säurehydrolyse unter Normalbedingungen (234 und 237 Minuten). Das Pyrosin ist nur aus Fructoseeinheiten aufgebaut. Es reduziert Fehlingsche Lösung nicht. Für die Teilchengröße ergaben sich nach der kryoskopischen und der osmotrischen Methode stark abweichende Werte. Während die erstere zu einer Größe von 2—5 Fructoseeinheiten führte, errechnete sich nach der letzteren eine solche von 205—225 Einheiten. Nach dem analytischen Befund sind mindestens 5 Einheiten anzunehmen. In Anbetracht der leichten Löslichkeit und der transitorischen Funktion des Pyrosins erscheint eine Teilchengröße von mehr als 200 Einheiten zu hoch.

Die Konstitution wurde in der üblichen Weise durch Hydrolyse der Trimethylverbindung ermittelt. Es wurden eine Tetra-methyl-, eine Trimethyl- und eine Dimethyl-fructose im Verhältnis 1,4:3:1 erhalten. Der Überschuß an Tetramethyl-fructose ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß bei der Methylierung des Pyrosins eine teilweise Aufspaltung zu Fructose erfolgt ist.

Die Tetramethyl-fructose erwies sich als die bekannte 1.3.4.6-Tetramethyl-fructose.

Nach der von H. H. Schlubach und Q. Ketu Sinh<sup>11)</sup> aufgestellten Regel, daß diejenigen Polyfructosane, deren Acetylverbindungen eine positive Drehung aufweisen, dem Phleintypus angehören, stand zu erwarten, daß die Hydrolyse des Pyrosins die 1.3.4-Trimethyl-fructose ergeben würde. Sie wurde in der Tat erhalten und zwar, wie durch eine sorgfältige Suche festgestellt wurde, diese Trimethyl-fructose allein.

Für eine sichere Konstitutionsbestimmung der Dimethyl-fructose reichte die zur Verfügung stehende Menge nicht aus. Nach den Drehwerten handelt es sich wahrscheinlich um die gleiche 1.3-Dimethyl-fructose, wie sie aus dem Secalin und Sinistrin erhalten wurde.

Das Pyrosin gehört also dem Phleintypus an. Es besteht entweder aus einem viergliedrigen Ring von Fructoseeinheiten, der an einem Glied eine eingliedrige Fructose-Seitenkette am 4. Kohlenstoffatom gebunden enthält oder, weniger wahrscheinlich, aus einem Ring von Fructose-Einheiten, in dem an jedem Glied eine viergliedrige Seitenkette angefügt ist.

<sup>11)</sup> A. 544, 114 (1940).



Es steht dem Secalin aus Roggenhalmen im Bau sehr nahe, unterscheidet sich aber von ihm deutlich:

$[\alpha]_D^{20}$	Polyfructosan	Acetyl-Verb.	Methyl-Verb.	Di: Tri: Tetra
Pyrosin . . . .	-30.0	+8,5	-29,5	1:3:1
Secalin . . . .	-37.6	+3,0	-45	1:2:1

In der Drehung kommt es dem Asphodelin ( $-30,5$ )<sup>12)</sup> sowie dem Asparagosin ( $-32,4$ )<sup>13)</sup> nahe, unterscheidet sich aber nach den Spaltprodukten der Methylverbindungen von den beiden in seinem Bau. Alle übrigen bekannten Polyfrustosane drehen tiefer.

Nach einer von H. H. Schlubach und Q. Ketu-Sinh aufgestellten Regel ist die Differenz der Drehungswerte zwischen den Polyfructosanen und ihren Acetylverbindungen eine umso größere, je größer der Gehalt an Trimethyl-fructose ist. Da das Pyrosin einen höheren Anteil an 1.3.4-Trimethyl-fructose liefert (60%) als das Secalin (50%), sollte die Differenz bei der ersteren Verbindung (39) größer sein als bei der letzteren (41). Wie ersichtlich, fügt sich das Pyrosin dieser Regel nicht ein.

Die bisher aus den Halmen von Getreidearten isolierten Polyfructosane: *Secalin* aus Roggen, *Pyrosin* aus Weizen und das von K. H. Archbold und A. M. Barter<sup>14)</sup> aus Gerste gewonnene *Polysaccharid* gehören zum Phleintypus, die bisher aus den Ähren erhaltenen: *Graminin* aus Roggen und das *Kritesin*<sup>15)</sup> aus Gerste gehören dem Inulintypus an. Man gewinnt daher den Eindruck, als ob der letztere mit seinen 1.2-Bindungen eine geeignetere Vorstufe für die Stärke bildet als der erstere mit seinen 2.6-Bindungen.

## Beschreibung der Versuche

### Gewinnung und Reinigung des Pyrosins

Die Weizenhalme (Karstens Diekkopf V) wurden am 9. Juli 1944 und 4. Juli 1946 gerernt. Wenige Stunden nach dem Schmitt wurden die von den Ähren befreiten und feingehäckselten Halme 20 Min. mit 96proz. Alkohol ausgekocht, der abfiltrierte und abgepreßte Rückstand 20 Min. mit 50proz. Alkohol bei 100° extrahiert. Die i. V. eingeeengten Auszüge wurden bei 55–60° mit basischem Bleiacetat behandelt, die vollständige Entfernung des Eiweißes durch N-Bestimmungen kontrolliert. Im Vergleich mit den beim Roggen angewandten Mengen war bedeutend mehr Bleiacetat zur vollständigen Enteiweißung erforderlich. Aus 36,5 kg Halmen mit 49,1% Trockensubstanz wurden insgesamt 850 g Rohpyrosin = 4 $\frac{3}{4}$ % erhalten. Die Fraktionierung erfolgte durch Ausfällung der wäßrigen Lösungen mit Alkohol, der Fortschritt der Reinigung wurde hierbei durch die Drehung verfolgt. Die hierzu erforderliche Trock-

<sup>12)</sup> A. 532, 200 (1937).

<sup>13)</sup> A. 532, 191 (1937).

<sup>14)</sup> Biochem. J. 29, 2689 (1935).

<sup>15)</sup> Vgl. die folgende Arbeit.



nung wurde durch 3–4stündiges Erwärmen auf 70–80° bei 0,1 mm vorgenommen. Bei 100° tritt Karamelisierung ein. Die am schwersten lösliche Fraktion wurde hartnäckig von dunkel gefärbten Stoffen begleitet. Nach 30 Umfällungen blieb die Drehung bei  $[\alpha]_D^{20} = -30^\circ$  (Wasser,  $c = 1$ ) konstant. Von 400 g Rohprodukt waren 11 g übrig geblieben.

*Acetyl-pyrosin.* 10 g eines durch Alkohol-fällungen auf  $[\alpha]_D = -17^\circ$  vorgereinigten Pyrosins wurden in 13 ccm Wasser gelöst und bis zur beginnenden Ausfällung mit Pyridin versetzt. Innerhalb von 6 Std. wurden unter lebhaftem Rühren 90 ccm frisch destilliertes Essigsäureanhydrid zugegeben, darauf innerhalb einer Stunde weitere 80 ccm und über Nacht stehen gelassen. Die klare Lösung wurde in 3 l Eiswasser gegossen, der Niederschlag gut mit Wasser gewaschen und über Ätzkali getrocknet. Ausbeute: 15 g = 90%. 15 g der anacetylierten Verbindung wurden in 150 ccm scharf getrocknetem Pyridin gelöst und mit 90 ccm Acetanhydrid durchacetyliert.  $[\alpha]_D^{20} = +9,3^\circ$  (Chloroform,  $c = 1$ ). Da eine Acetylbestimmung nach R. Kuhn und Roth ergab, daß der theoretische Wert noch nicht erreicht war, wurde noch einmal nachacetyliert. Die weitere Reinigung erfolgte durch fraktionierte Fällung einer etwa 35proz. benzolischen Lösung mit Petroläther (35–55°). Die Drehung sank langsam bis auf +8,5°. Da die Drehungsunterschiede nur sehr geringe waren, wurden zur Kontrolle mehrfach Proben nach Zemplén entacetyliert. Nach 35 Umfällungen war keine weitere Änderung zu erreichen. Auch hier wurde die am schwersten lösliche Fraktion hartnäckig von Farbstoffen begleitet, die sich auch durch Wechsel des Lösungsmittels nicht abtrennen ließen.

Halbumsatzzeiten der Säurehydrolyse unter den von H. Knoop angegebenen Normalbedingungen.

Je 810,1 mg direkt (A) und über die Acetylverbindung gereinigte (B) Substanz wurden zu 50 ccm n/1-Schwefelsäure gelöst, bei 20° aufbewahrt und Proben von je 5 ccm entnommen:

A. Min.	175	225	260	300
g Cu	0,0634	0,0781	0,0874	0,0942
% Spaltung	39	48	54	58
B. Min.	165	205	235	270
g Cu	0,0608	0,0753	0,0817	0,0900
% Spaltung	37	46	50	55

Halbumsatzzeit nach graphischer Interpolation: A: 237; B: 234.

Aldosegehalt nach Auerbach-Bodländer. Während der Säurehydrolyse wurde der Aldosewert gemessen und mit demjenigen einer unter gleichen Bedingungen behandelten Fructoselösung verglichen. Er blieb 5 Std. hindurch unmeßbar und stieg nach 24 Std. auf 1,5 % an.

#### Drehungsänderung während der Hydrolyse

Minuten	$[\alpha]_D^{20}$	% Spaltung	Minuten	$[\alpha]_D^{20}$	% Spaltung
338	-56,8	37	1840	-86,4	78
483	-67,9	52	2640	-86,4	78
1345	-84,0	74			



## Bestimmungen der Teilchengröße.

## A. Kryoskopisch in Wasser.

	% Conc.	$\Delta t$	M
A.	0,24	0,017	305
	0,46	0,027	319
	0,71	0,044	308
B.	0,35	0,020	337
	0,55	0,030	341
	0,90	0,040	330

Mittelwert für A: M = 311; B: M = 336

## B. Osmometrisch in Wasser.

Die Bestimmungen wurden in einem Osmometer nach G. V. Schulz durchgeführt. Als Membrane waren „Ultra-fein-Filter-mittel“ zu durchlässig, es mußten „Ultra-cellula-Filter-feinst“ angewandt werden.  $t = 30^\circ$ .

	c in g/L	Steighöhe in cm	p/c
A.	10,032	12,55	1,22
	5,164	5,80	1,09
	2,568	2,00	0,75

Durch graphische Extrapolation ergibt sich für  $\lim_{c \rightarrow 0} \frac{p}{c}$  0,68 und

$$M = \frac{R \cdot T}{\lim_{c \rightarrow 0} \frac{p}{c}} = \frac{24890}{0,68} = 36603 = 226 \text{ Fructose-Einheiten.}$$

	c in g/L	Steighöhe in cm	p/c
B.	9,344	9,83	1,03
	4,980	5,22	1,02
	2,540	2,10	0,80

Graphische Extrapolation ergibt für  $\lim_{c \rightarrow 0} \frac{p}{c}$  0,75;  $M = \frac{24890}{0,75} = 33186 = 205 \text{ Fructose-Einheiten.}$

## C. Acetylverbindung kryoskopisch in Benzol

	% Conc.	$\Delta t$	M
	0,27	0,010	1357
	0,70	0,027	1311
	0,97	0,038	1289

Der Mittelwert 1319 liegt zwischen 4 (1152) und 5 (1440) Fructose-Einheiten.



## Methyl-pyrosin

10 g Triacetyl-pyrosin in 150 ccm Aceton wurden unter Stickstoff bei 55° innerhalb von 2 Std. mit 50 ccm frisch dest. Dimethylsulfat und 135 ccm einer 30proz. Natronlauge versetzt und in der üblichen Weise aufgearbeitet.

Die Benzolextraktion des anmethylierten Pyrosins wurde solange fortgesetzt, bis die Mutterlaugen keine Aktivität zeigten.  $[\alpha]_D^{20} = -29^\circ$  (Chloroform); 39,3proz.  $\text{OCH}_3$ , Ausbeute 90%. Da der Methoxylgehalt durch Nachmethylierung mit Dimethylsulfat nicht auf den für ein Trimethyl-pyrosin berechneten gebracht werden konnte, wurde zunächst versucht, dieses Ziel durch Behandlung mit Kalium und Jodmethyl in flüssigem Ammoniak nach dem Vorgange von K. Freudenberg<sup>16)</sup> zu erreichen. Da aber auch diese Methode keine wesentlichen Fortschritte brachte, wurde die Permethylierung mit Silberoxyd und Jodmethyl durchgeführt. Nach vollständiger Entfernung der anhaftenden Lösungsmittel durch mehrstündiges Erwärmen auf 56° bei 1–2 mm und in Gegenwart von Silikagel und Paraffin konnte ein Methoxylgehalt von 45,9% festgestellt werden.

## Hydrolyse des Methyl-pyrosins.

17,5 g Methyl-pyrosin wurden in 1196proz. Äthanol gelöst, eine Lösung von 10 g Oxalsäure in 300 ccm Wasser zugegeben und bis zu der nach 26 Std. eingetretenen Drehungskonstanz auf 85° gehalten. Nach Neutralisation mit prim. Natriumcarbonat wurde die Lösung i. V. eingedampft, der Rückstand durch zweistündige Behandlung mit 200 ccm einer 0,25proz. wäßrigen Salzsäure bei 85° nachgespalten, erneut neutralisiert und eingedampft. Durch zweimaliges Abdampfen des Rückstandes mit einem Gemisch gleicher Teile Äthanol und Benzol wurde die Hauptmenge des Wassers entfernt, der Rückstand erschöpfend mit Aceton und Chloroform ausgezogen. Das Gemisch der Spaltprodukte wurde durch 20stündige Behandlung der 2proz. Lösung in 0,25 Proz.  $\text{HCl}$  enthaltendem abs. Methanol vollständig glykosidifiziert. 15 g des erhaltenen Glykosidgemisches wurden in 8,1 g abs. Pyridin gelöst und mit 13,2 g Benzoylchlorid benzyliert.

23,5 g des auf diese Weise erhaltenen Gemisches der Spaltprodukte wurden bei etwa 0,003 mm Druck unter Vorschaltung einer auf  $-78^\circ$  gekühlten Vorlage destilliert:

Fraktion	Bad-Temp.	Sdp.	$n_D^{20}$	% $\text{OCH}_3$	g
I . . . . .	130–150°	40– 50°	1,465	43,2	3,1
II . . . . .	165–180°	55– 63°	1,447	57,7	2,3
III . . . . .	190–220°	122–138°	1,484	36,2	8,8
Rückstand. . .	—	—	—	23,2	3,6

Der Inhalt der Vorlage, 5,3 g, bestand aus Resten der Lösungsmittel, denen Tetramethyl-methylfructosid beigemischt war. Nach dem Methoxylgehalt berechnet sich dessen Anteil auf 0,2 g.

Aus den vereinigten Fraktionen I und II konnten durch zweimalige Destillation 3,8 g mit einem Gehalt von 59,0proz.  $\text{OCH}_3$  und  $n_D = 1,450$  abgetrennt werden. Wie aus dem Auftreten geringer Mengen Benzoesäure zu erkennen war, hatte im Verlaufe der vorangehenden Operationen eine teilweise Entbenzylierung stattgefunden, das Tetramethyl-methylfructosid war daher mit geringen Mengen Trimethyl-methylfructosid vermischt, von dem es sich durch Destillation nur sehr unvollkommen trennen läßt. Nach dem Methoxylgehalt errechnet sich ein Anteil von 2,6 g Tetramethyl-

<sup>16)</sup> B. 69, 2041 (1936); 70, 1542 (1937).



methylfructosid, mit dem Inhalt der Vorlage und einem geringen Vorlauf der Fraktion III insgesamt 3,3 g.

Aus der Fraktion III ließ sich durch erneute Destillation 7,2 g reines Trimethylbenzoyl-methylfructosid gewinnen. Sdp. 134°, 0,004 mm;  $n_D^{20}$  1,499;  $\text{OCH}_3$  36,2. Zusammen mit den nach ihren Methoxylgehalten errechneten Anteilen anderer Fraktionen ergaben sich 10,2 g.

Der Rückstand bestand nach dem Methoxylgehalt aus fast reinem Dimethyl-dibenzoyl-methylfructosid. Etwa 0,5 g gingen durch einen Brand verloren.

Bei Umrechnung der drei Komponenten auf Fructose-Anteile ergibt sich ein Verhältnis von 1,4 : 3 : 1.

Aus dem Tetramethyl-methylfructosid wurde durch Säurehydrolyse eine *Tetramethyl-fructose* mit den folgenden Eigenschaften erhalten:  $n_D^{20} = 1,4518$ ;  $[\alpha]_D^{20} = +31,4^\circ$  (Wasser,  $c = 1,9$ );  $+21,4^\circ \rightarrow 17,5^\circ$  (Chloroform,  $c = 1$ );  $\text{OCH}_3$ : 52,0.

Das Trimethyl-benzoyl-methylfructosid ergab die folgende *Trimethyl-fructose*: Schmp. 75°;  $n_D = 1,4660$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -51^\circ \rightarrow -57,6^\circ$  (Wasser,  $c = 0,8$ );  $+3,4^\circ \rightarrow -26,0^\circ$  (Methanol,  $c = 0,6$ );  $+10,0^\circ \rightarrow +16,5^\circ$  (Chloroform,  $c = 0,9$ ).

Das Dimethyl-dibenzoyl-methylfructosid lieferte die folgende *Dimethyl-fructose*:  $[\alpha]_D^{20} = -10,7^\circ \rightarrow -19,0^\circ$  (Methanol,  $c = 0,6$ );  $-5,1^\circ \rightarrow 7,3^\circ$  (Chloroform,  $c = 0,9$ ).

## Untersuchungen über Fructoseanhydride XXVI<sup>17)</sup>

### Über das Kritesin

Von Hans Heinrich Schlubach und Erwin Rathje.

Schon frühzeitig ist das Vorkommen linksdrehender Polysaccharide in der Gerste beobachtet worden. So berichtet G. Kühnemann<sup>18)</sup>, daß er aus ungekeimten Gerstenkörnern eine derartige Verbindung erhalten habe, die er Sinistrin nannte. A. Müntz<sup>19)</sup>, nachdem er anfänglich das Vorkommen der von ihm im Roggen festgestellten „Synanthrose“ in der Gerste verneint hatte, berichtete sich später<sup>20)</sup> dahingehend, daß sie nur vor der Reife im Gerstenkorn angetroffen würde. Ch. Tanret<sup>21)</sup> hat dann gezeigt, daß der Gehalt an dem von ihm „lévosine“ genannten Polysaccharid bei der Gerste in noch höherem Maße als beim Roggen und Weizen vom Reifezustand abhängig ist und daß sich auch im reifen Gerstenkorn ein wenn auch nur geringer Gehalt an „lévosine“ nachweisen läßt. H. Colin und H. Belval<sup>22)</sup> haben sich dieser Ansicht angeschlossen, indem sie zu dem Ergebnis gelangten, daß die Verteilung der Lävulosane im Roggen, Weizen und der Gerste grundsätzlich die gleiche ist, nur in den Mengenverhältnissen Unterschiede bestehen.

<sup>17)</sup> XXV. Mitt.: A. 561, 173 (1948).

<sup>18)</sup> B. 8, 387 (1875).

<sup>19)</sup> C. r. 87, 679 (1878).

<sup>20)</sup> Ann. Soc. nat. bot. (7), 1886, 45.

<sup>21)</sup> C. r. 112, 295 (1891).

<sup>22)</sup> C. r. 177, 973 (1923).



Keiner der erwähnten Forscher hat sich aber mit der Frage beschäftigt, ob denn das in der Gerste angetroffene Polysaccharid wirklich mit den in den anderen Getreidearten angetroffenen identisch sei, noch weniger wurde die Frage aufgeworfen, ob es das gleiche Polysaccharid sei, das in den verschiedenen Organen einer Gerstenpflanze festgestellt wurde. Eine Beantwortung der erstgenannten ist erst durch die von H. H. Schlubach und Mitarbeitern am Roggen und Weizen<sup>23)</sup> durchgeführten Untersuchungen möglich geworden, für die letztere ist eine Grundlage durch die von H. K. Archbold und A. M. Barter<sup>23)</sup> erfolgte Isolierung eines Polyfructosans aus Gerstenblättern und die von W. N. Haworth, E. L. Hirst und R. R. Lyne<sup>24)</sup> durchgeführte analytische Untersuchung dieses Materials gewonnen. Da beim Roggen festgestellt wurde, daß das in den Halmen gebildete Secalin von dem in den unreifen Körnern auftretenden Graminin verschieden ist, war mit der Möglichkeit zu rechnen, daß auch bei der Gerste das in den Ähren enthaltene Polyfructosan von dem in den Halmen oder Blättern angetroffenen verschieden sein könnte. Das ist in der Tat der Fall. Das aus Gerstenähren gewonnene Polyfructosan hat sich weder mit dem aus Gerstenblättern isolierten noch mit irgend einem der bisher aus Getreidearten erhaltenen Polyfructosane als identisch erwiesen. Da der von der lateinischen Bezeichnung der Gerste (*hordeum sativum*) abgeleitete Name schon eine andere Verwendung (Hordein) gefunden hat, schlagen wir für das neue Polysaccharid den Namen *Kritesin* (von *κρίτη* = Gerste) vor.

Das Rohmaterial wurde aus Gerstenähren im Zustande der Milchreife in der üblichen Weise durch Behandlung mit kochendem Alkohol in einer Ausbeute von 3% erhalten. Die weitere Reinigung nach der Barytmethode von Ch. Tanret<sup>25)</sup> ergab zwar nach wenigen Umfällungen eine Verbindung von der Drehung  $[\alpha]_{D^{20}} = -37,5^{\circ}$  (Wasser,  $c = 1$ ). Sie gestaltete sich aber so verlustreich, daß die Reinigung weiterer Ansätze über die Acetylverbindung durchgeführt wurde. Nach 90 Ausfällungen der benzolischen Lösungen der Acetylverbindung mit Petroläther erreichte ihre Drehung einen konstanten Wert von  $[\alpha]_{D^{20}} = -4,8^{\circ}$  (Chloroform,  $c = 1$ ), und es konnte aus ihr durch Entacetylierung eine Verbindung von  $[\alpha]_{D^{20}} = -37,2^{\circ}$  zurückerhalten werden. Die Identität der auf den beiden verschiedenen Wegen erhaltenen Polysaccharide konnte durch die Halbumsatzzeiten der Säurehydrolyse unter Normalbedingungen (218 und 216 Minuten) bestätigt werden. Das Kritesin reduziert Fehlingsche Lösung nicht und gibt bei der Hydrolyse keinen Aldosewert, ist also nur aus Fructose aufgebaut. Für die Teilchengröße ergaben sich nach der kryoskopischen Methode 4–5 Fructoseeinheiten, nach der osmometrischen dagegen,

<sup>23)</sup> Biochem. J. 29, 2689 (1935).

<sup>24)</sup> Biochem. J. 31, 786 (1937).

<sup>25)</sup> Bull. Soc. (3), 5, 724 (1891).



ähnlich wie beim Pyrosin, weit höhere Werte. Nach dem analytischen Befund müssen mindestens 4 Einheiten angenommen werden.

Die Hydrolyse der Methylverbindung ( $[\alpha]_D^{20} = -32^\circ$  (Chloroform,  $c=0,4$ ) ergab eine Tetra-, Tri- und Dimethyl-fructose im Verhältnis von 1,12:2,02:1, also nahezu 1:2:1. Der Überschuß an Tetramethyl-fructose ist möglicherweise wie bei dem Pyrosin dadurch entstanden, daß schon während der Methylierung ein Teil des Kritesins aufgespalten und zum Tetramethyl-methylfructosid permethyliert wurde.

Die erhaltene *Tetramethyl-fructose* erwies sich als die bekannte 1.3.4.6-Tetramethyl-fructose.

Die *Trimethyl-fructose* kristallisierte auch nach Animpfung mit reiner 1.3.4-Trimethyl-fructose und längerem Stehen bei  $0^\circ$  nicht. Sie unterscheidet sich von dieser auch durch ihre Drehung. Sie ist aber auch nicht identisch mit der 3.4.6-Trimethyl-fructose, wie sie aus den Polyfructosanen vom Inulintypus erhalten wurde.

$[\alpha]_D^{20}$	Wasser	Methanol	Chloroform
1.3.4-Trimethyl-fructose . . . . .	- 57,6	- 26,0	+ 16,5
desgl. aus Kritesin . . . . .	- 23,0	+ 10,5	+ 23,0
3.4.6-Trimethyl-fructose . . . . .	+ 28,3	+ 14,9	+ 23,0

Nach dem Ergebnis der Osazonbildung liegt ein Gemisch von zwei Trimethyl-fructosen vor, von dem die eine die 3.4.6-Trimethyl-fructose sein kann. Denn es wurde ein Osazon ohne Abspaltung einer Methoxygruppe erhalten. Daneben aber ein zweites Osazon, bei dessen Bildung mindestens eine Methoxygruppe abgestoßen war. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß es sich um die 3.4.6-Trimethyl-fructose handelt, der eine andere Trimethyl-fructose beigemengt ist. Auf jeden Fall liegt nicht die 1.3.4-Trimethyl-fructose vor, die von W. N. Haworth und Mitarbeitern aus den aus Gerstenblättern isolierten Polyfructosan erhalten wurde. Das Kritesin gehört daher nicht zum Phleintyp, sondern wahrscheinlich zur Inulingruppe.

Die *Dimethyl-fructose* ist nach ihren Drehwerten identisch mit der 3.6-Dimethyl-fructose, wie sie aus Asparagosin und Graminin erhalten wurde und sicher verschieden von der 1.3-Dimethyl-fructose aus Pyrosin und Secalin.

$[\alpha]_D^{20}$	Wasser	Methanol	Chloroform
Dimethylfructose aus			
Asparagosin . . . . .	+ 11,6°	+ 12,5°	+ 21,0°
Kritesin . . . . .	+ 15°	+ 10,2°	+ 19,5°
Pyrosin . . . . .	—	- 19,0°	- 7,3°



Da Asparagosin und Graminin dem Inulintypus, Pyrosin und Secalin aber dem Phleintypus angehören, bestätigen die Eigenschaften der Dimethyl-fructose die Annahme, daß das Kritesin der erstgenannten Reihe zuzurechnen ist.

Das Kritesin nähert sich in seinen Eigenschaften am meisten dem Secalin:

	$[\alpha]_D^{20}$	H. U. Z.	$[\alpha]_D^{20}$ Acetyl	% Trimethyl-fructose	Trimethyl-fructose
Kritesin . . . . .	-37,5	218	-4,8	50	3.4.6.
Secalin . . . . .	-37,6	225	+3,0	50	1.3.4.

unterscheidet sich aber von diesem im Bautypus.

Für die Zuordnung des Kritesins zur Inulinreihe spricht auch die Möglichkeit, es unter Einhaltung der von H. H. Schlubach und Q. Ketu-Sinh aufgestellten Regeln<sup>26)</sup> in diese Reihe einfügen zu können:

Polyfructosan	A-K	% Tri	H. U. Z.	Teilchengröße
Inulin . . . . .	3	100	360	30
Asparagosin . . . . .	12	80	300	(20)
Sinistrin . . . . .	21	60	269	15
Graminin . . . . .	33	50	222	10
Kritesin . . . . .	33	50	217	4
Secalin . . . . .	41	50	225	4
Pyrosin . . . . .	39	60	235	5
aus Gerstenblättern . .	49	—	—	10
Poain . . . . .	63	—	—	10
Lävan . . . . .	66	80	—	10
Phlein . . . . .	71	100	235	16

Wie aus der unteren Hälfte der Tabelle ersichtlich ist, läßt sich umgekehrt das aus Gerstenblättern isolierte Poly-fructosan recht gut in die Phleinreihe einfügen.

Es fällt auf, daß in beiden Reihen es gerade die Glieder mit der niedrigsten Teilchengröße, der stärksten Verzweigung und der leichtesten Hydrolysierbarkeit sind, die in den Halmen und Ähren der Getreidearten gebildet werden. Der transitorische Charakter dieser Polyfructosane, in dem sie sich dem Rohrzucker nähern, tritt deutlich hervor.

<sup>26)</sup> A. 544, 114 (1940).



## Beschreibung der Versuche

## Gewinnung und Reinigung des Kritesins.

Die Gerstenähren (Ackermanns Isaria) wurden am 14. Juli 1939 im Stadium der „Milchreife“ geerntet, unter Zusatz von Calciumcarbonat im Eisenmörser zerstampft und sofort mit 96proz. Alkohol 20 Min. ausgekocht. Die abfiltrierten Rückstände wurden weitere 20 Min. mit 50proz. Alkohol siedend ausgezogen, die vereinigten Auszüge bei 40° i. V. eingedampft. Aus 45 kg Gerstenähren wurden so mit 96proz. Alkohol 1122 g = 2,4%, mit 50proz. Alkohol 290 g = 0,6 %, zusammen 3% Rohprodukt gewonnen. Da nach zweimaliger Behandlung mit basischem Bleiacetat noch ein Stickstoffgehalt von 0,8% gefunden wurde, wurde die Reinigung unter Benutzung der Barytmethode von Ch. Tanret fortgesetzt. Schon nach zwei Umfällungen war die Substanz stickstofffrei, nach zwei weiteren änderte sich die Drehung nicht mehr und blieb bei  $[\alpha]_D^{20} = -37,0^\circ$  konstant. Aus 100 g Rohprodukt wurden so nur 3,5 g Polyfructosan erhalten, das noch einen Aschegehalt von 0,5% hatte. Durch zwei weitere Umfällungen mit Alkohol konnte er auf 0,2% gesenkt werden.

## Acetyl-kritesin

10 g durch Alkoholfällungen auf  $[\alpha]_D = -28^\circ$  vorgereinigtes Rohprodukt wurden in 10 g Wasser gelöst, mit 90 ccm Pyridin versetzt, von braunen Flocken abfiltriert und bei 20° während 24 Std. unter starkem Rühren 200 ccm Essigsäureanhydrid eingetropt. Die durch Eingießen in Eiswasser ausgefällte Acetylverbindung wurde nach scharfer Trocknung in der zehnfachen Menge trocknen Pyridins gelöst und mit der zehnfachen Menge Essigsäureanhydrid nachacetyliert. Acetylbestimmungen nach R. Kuhn und Roth ergaben im Mittel einen Acetylgehalt von 44,6% (Ber. 44,8). Die Reinigung wurde durch Ausfällung der benzolischen Lösungen mit Petroläther (Sdp. 35–55°) durchgeführt. Die Drehung sank von +9,5° auf -4,8° (Chloroform, c = 1) und blieb zwischen der 80. und 90. Ausfällung konstant. Die Verseifung erfolgte ähnlich wie beim Phlein durch Schütteln mit n/1-Natronlauge. Die Drehung des scharf getrockneten Präparates betrug:  $[\alpha]_D^{20} = -37,2^\circ$  (Wasser, c = 1).

## Kritesin

Die Halbumsatzzeiten der Säurehydrolyse unter Normalbedingungen nach H. Knoop wurden an dem nach der Barytmethode (A) und über die Acetylverbindung gereinigten Kritesin verglichen.

Je 0,8104 g A und B wurden zu 50 ccm n/1-Schwefelsäure gelöst, bei 20° aufbewahrt und Proben von je 5 ccm entnommen.

A. Min. . . .	117	150	183	210	240	270	300
mg Cu . . .	46,0	58,5	76,0	78,2	84,5	94,8	102,7
% Spaltung	28,8	36,1	43,1	48,0	51,9	58,3	63,2
B. Min. . . .	110	132	160	193	220	247	270
mg Cu . . .	43,0	52,8	61,7	73,1	82,2	89,0	95,8
% Spaltung	26,4	32,4	37,8	44,8	50,5	54,6	58,8

Halbumsatzzeit nach graphischer Interpolation: A: 218 Min., B: 216 Min.

Aldosegehalt nach Auerbach-Bodländer. Während der Säurehydrolyse von A wurde der Aldosewert bestimmt und mit dem einer gleichartig behandelten Fructoselösung verglichen. Er betrug anfänglich 0 und wurde erst nach 24 Std. merklich.



Drehungsänderung während der Hydrolyse

Min.	$[\alpha]_D^{20}$	% Spaltung	Min.	$[\alpha]_D^{20}$	% Spaltung
62	-38,0	0,8	482	-72,0	53,0
121	-41,5	6,1	610	-75,3	58,1
185	-45,5	12,3	1265	-85,5	73,8
242	-53,3	21,2	1535	-86,0	74,6
305	-62,0	37,8	2885	-86,5	75,4

Bestimmung der Teilehengröße

*Kryoskopisch*

g Subst. in 20 g Wasser	t	M
A.	0,0839	0,010
	0,2059	0,022
	0,3371	0,038
B.	0,3252	0,047
	0,5785	0,079
	0,7982	0,111

Mittelwert für A: M = 829; B: M = 665

*Osmometrisch*

Im Osmometer nach G. V. Schulz mit „Ultracella-Filter-feinst“.

Wasser. t = 30°

c in g/L	Steighöhe in cm	p/c
19,600	13,2	0,65
9,968	6,6	0,60
4,728	3,3	0,58
2,854	2,4	0,56

Durch graphische Extrapolation erhalten:  $\lim_{c \rightarrow 0} \frac{p}{c} = 0,53$ ;  $M = \frac{R \cdot T}{\lim_{c \rightarrow 0} \frac{p}{c}} = \frac{24890}{0,53} = 49000$ .

*Methyl-kritesin*

Acetyl-kritesin wurde in der üblichen Weise in Aceton methyliert und durch Nachmethylierung mit Silberoxyd und Jodmethyl der Methoxylgehalt auf 45,2% gebracht.  $[\alpha]_D^{20} = -32^\circ$  (Chloroform, c = 0,47).

Hydrolyse des Methyl-kritesins

Methyl-kritesin wurde wie bei dem Methyl-pyrosin beschrieben durch Erwärmen mit äthanolischer Oxalsäure bei 85° während 20 Stdn. hydrolysiert, mit 0,25 proc. wässriger Salzsäure nachgespalten und nach Trocknung mit Methanol glykosidifiziert, endlich in Pyridin bei



80° benzoyliert. Durch wiederholte fraktionierte Destillation konnten 32,46 g des erhaltenen Gemisches zerlegt werden in: 6,41 g *Tetramethyl-methylfructosid*, 16,0 g *Trimethyl-benzoyl-methylfructosid* und 10,0 g *Dimethyl-dibenzoyl-methylfructosid*, entspr. 4,16, 7,52 und 3,72 *Fructose* und einem Verhältnis der Komponenten von 1,12 : 2,02 : 1.

Die aus dem Tetramethyl-methylfructosid erhaltene *Tetramethylfructose* zeigte die folgenden Werte:

$[\alpha]_D^{20} = +30,5^\circ$  (Wasser,  $c = 1,2$ );  $+18,5^\circ$  (Methanol,  $c = 1,5$ );  $+16,5^\circ$  (Chloroform,  $c = 1,1$ );  $n_D^{20} = 1,4500$ ; 52proz.  $\text{OCH}_3$ .

Die aus dem Trimethyl-benzoyl-methylfructosid erhaltene *Trimethylfructose* hatte die folgenden Konstanten:

$[\alpha]_D^{20} = -23^\circ$  (Wasser,  $c = 1,3$ );  $+10,5^\circ$  (Methanol,  $c = 0,9$ );  $+23^\circ$  (Chloroform,  $c = 1,2$ );  $n_D^{20} = 1,4665$ .

1 g *Trimethylfructose* wurden in 50 cem 20proz. Essigsäure gelöst und mit 2 g frisch destilliertem Phenylhydrazin 1 Std. auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Abkühlung wurde von dem ausgeschiedenen dunkelroten Öl abgessen, dieses mehrfach mit Wasser gewaschen, in wenig Alkohol gelöst und bis zur bleibenden Trübung mit Wasser versetzt, das ausgeschiedene Öl erneut mit Alkohol-Wasser ausgefällt. Nach zwei Tagen hatten sich bei 0° dunkelgelbe Kristalle abgeschieden. Sie wurden abgetrennt, mit verd. Alkohol gewaschen und bei 40° i. V. getrocknet. Schmp. 120 bis 130°;  $\text{OCH}_3$ : 10,0% (*Monomethylfructosazon*, Ber. 8,3%). Aus den eingeeengten Mutterlaugen wurde ein weiteres Osazon erhalten, das nach Trocknung 23,5%  $\text{OCH}_3$  ergab (Ber. *Trimethylfructosazon* 23,3%).

Aus dem *Dimethyl-dibenzoyl-methylfructosid* wurde eine *Dimethylfructose* mit den folgenden Eigenschaften erhalten:

$[\alpha]_D^{20} = +15^\circ$  (Wasser,  $c = 0,06$ );  $+10,2^\circ$  (Methanol,  $c = 0,08$ );  $+19,5^\circ$  (Chloroform,  $c = 0,08$ );  $n_D^{20} = 1,4830$ .

## Über die Konstitution des Viscotoxins

Von Karl Winterfeld und Melanie Rink

(Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn)

[Eingelaufen am 14. Oktober 1948]

Dem mit Viscotoxin bezeichneten Inhaltsstoff der Mistel wurde auf Grund der Elementaranalysen die Summenformel  $\text{C}_{34}\text{H}_{68}\text{O}_{18}\text{N}_{10}\text{S}$  zuerkannt.

Damit steht in Übereinstimmung das Molekulargewicht, das im Mittel zu 925 gefunden wurde. Der Aschengehalt von 0,7%, den auch sorgfältig gereinigtes Viscotoxin immer noch aufweist, läßt voraussehen, daß bei der Aufstellung der Konstitutionsformel sich noch eine geringe Verschiebung der Kohlenstoff- und Sauerstoffwerte ergeben wird.



Unsere Untersuchungen<sup>1)</sup> ergaben, daß Viscotoxin außer einer peptidartig aufgebauten  $\alpha$ -Aminosäurekette noch ein wahrscheinlich *hydriertes Naphthalin* und als weiteren Baustein *Glucuronsäure* aufweist. Den Beweis für den Naphthalinring erbrachte die Selendehydrierung, die einen Kohlenwasserstoff lieferte, der bei 264°, bei 12 mm Hg bei 141° siedete. Der Siedepunkt stimmt mit dem des von Freund und Mai<sup>2)</sup> aus Artemisin durch Zinkstaubdestillation erhaltenen Dimethylnaphthalins überein. Das Pikrat besitzt den gleichen Schmelzpunkt wie das aus Artemisin erhaltene Dimethylnaphthalin-pikrat und bildet wie dieses orangefarbene Nadeln. Ein Dimethylnaphthalin von gleichem Sdp., von gleichem Schmp. und Aussehen des Pikrates hatten schon früher Emmert und Reingruber<sup>3)</sup> aus Teer gewonnen.

Als weiteres Produkt der Selendehydrierung isolierten wir eine Base, die zwischen 110—115° destillierte und die wir als Pyridin identifizierten. Darüber hinaus konnten wir noch ein Phenolderivat nachweisen. Der Ätherauszug, dem alle basischen Anteile entzogen waren, zeigte eine deutlich violette Fluoreszenz, die sich beim Stehen an der Luft erheblich vertiefte und auf einen  $\alpha$ -Naphtholabkömmling (wahrscheinlich ein Dimethyl- $\alpha$ -naphthol) hinweist.

Bei den Bemühungen, die verschiedenen Spalt- und Dehydrierungsprodukte zu einer Konstitutionsformel zusammenzufügen, bereitete vor allem die Unterbringung des Pyridins Schwierigkeiten. Wir kamen zur Deutung auf folgendem Wege:

Wir spalteten aus dem Viscotoxin Glucuronsäure ab und versetzten das Hydrolysat mit Phosphorwolframsäure. Die Phosphorwolframsäure-Fällung zerlegten wir und überließen den scharf getrockneten Rückstand mehrere Tage der Einwirkung einer benzolischen Diazomethanlösung und gleich anschließend der von Essigsäureanhydrid. Es verblieb ein zäher Sirup, der im Gegensatz zu Viscotoxin ätherlöslich war. Die mit der Ätherlösung durchgeführte chromatographische Adsorption ergab, daß eine Spaltung eingetreten war. Ein stickstofffreier Anteil passierte die Aluminiumoxydsäule glatt, während ein stickstoffhaltiger darin haften blieb. Ersterer bildet nach längerem Stehen über  $P_2O_5$  eine glasig erstarrte, durchsichtige Masse, die bei 141° und 0,6 mm Hg unzer setzt destilliert. Ihr Molekulargewicht beträgt kryoskopisch bestimmt im Mittel 336. Die Bestimmung der Acetylzahl nach Kuhn und Roth<sup>4)</sup> (25,82 % Acetyl) entspricht zwei alkoholischen Hydroxylgruppen, von denen wahrscheinlich die eine esterartig mit der Glucuronsäure, die andere mit dem Peptidanteil verknüpft sein dürfte. Die Bestimmung der Methoxylzahl nach Pregl ergab 8,18 %  $OCH_3$ . Da freie Carboxylgruppen nicht nachweisbar sind, muß auf eine phenolische bzw. enolische Hy-

<sup>1)</sup> K. Winterfeld und L. H. Bijl, A 561 (1948).

<sup>2)</sup> B. 34, 3719 (1901).

<sup>3)</sup> A. 211, 368 (1882).

<sup>4)</sup> B. 66, 1274 (1933).



droxylgruppe geschlossen werden. Für letztere spricht der ungesättigte Charakter des stickstofffreien Spaltproduktes, das in Aceton gelöst Kaliumpermanganat rasch entfärbt.

Eine mit Kaliumpermanganat in siedendem Aceton durchgeführte Oxydation lieferte unter Öffnung der Doppelbindung ein Keton, das in 50proz. Essigsäure mit p-Nitrophenylhydrazin ein gelbrotes Nitrophenylhydrazon vom Schmp. 207° ergab.

Beim Erhitzen des stickstofffreien Anteils mit 33proz. Salpetersäure trat ein schneller Abbau unter reichlicher Entwicklung von Stickoxyden ein. Aus den Oxydationsprodukten isolierten wir zwei Säuren, die sich durch die verschiedene Löslichkeit ihrer Calciumsalze unterschieden. Aus dem schwerer löslichen Salz gewannen wir *Bernsteinsäure*. Infolge zu geringer Menge gelang es nicht, die dem leichter löslichen Calciumsalz zugehörige Säure zu identifizieren.

Die Bernsteinsäure weist auf eine  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ Gruppierung in dem Naphthalinring hin. Der glatte und rasche Abbau des methylierten und acetylierten Spaltproduktes erklärt sich aus der Anwesenheit einer Doppelbindung und der Entstehung eines ringförmigen Ketons bei der Oxydation. Ein Laktoring muß ebenfalls vorliegen. Dies folgern wir aus der leichten Löslichkeit des Viscotoxins in wäßrigen Alkalien, wobei dieses analog dem Santonin seine Wirksamkeit einbüßt, beim Ansäuern aber wieder zurückgewinnt.

Die Haftstelle der an dem Laktoring beteiligten Säure ergibt sich aus dem Schmp. und den Eigenschaften des erhaltenen Dimethylnaphthalinpikrates, das nach den Literaturangaben einem 1,3-Dimethylnaphthalin entspricht. Die große Beständigkeit veranlaßt uns, einen  $\gamma$ -Laktoring anzunehmen.

Im Gegensatz zum stickstofffreien Spaltprodukt bleibt ein stickstoffhaltiger Anteil quantitativ deutlich abgegrenzt in der  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Zone haften, läßt sich aber leicht durch Methanol bzw. Wasser eluieren. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels und nach scharfem Trocknen bleibt ein gelbbraunes Pulver zurück, dessen Molekulargewicht wir kryoskopisch annähernd zu 510 ermittelten. In Anbetracht dessen, daß der stickstoffhaltige Anteil sehr hygroskopisch ist, dürfte das Molekulargewicht zu niedrig ausgefallen sein. Die angestellten Proteinreaktionen (Biuretreaktion, Xanthoproteinreaktion), verliefen positiv und bewiesen das Vorliegen eines Proteins. Von den darin enthaltenen Aminosäuren war eine schon früher (l. c.) durch den positiven Ausfall der Schwefelbleireaktion als Cystein erkannt worden, dagegen lagen bezüglich der anderen keinerlei Anhaltspunkte vor.

Auffallend war der hohe Stickstoffgehalt des Viscotoxins ( $\text{C}_{34}\text{H}_{68}\text{O}_{18}\text{N}_{10}\text{S}$ ).

Da die gefundenen Spaltstücke mit Ausnahme des bei der Selenhydrierung gewonnenen Pyridins stickstofffrei sind, ist der hohe N-Gehalt dem Proteinanteil zuzuschreiben. Es müssen also stickstoff-



reiche Aminosäuren am Aufbau der Peptidkette beteiligt sein. Es war naheliegend, an das stickstoffreiche *Arginin* zu denken. Diese Annahme war richtig, denn es gelang, Arginin durch charakteristische Farbreaktionen nachzuweisen, und zwar mit Hilfe

1. der Harden-Norrisschen Reaktion<sup>5)</sup>, die darauf beruht, daß eine alkalische Argininlösung auf Zusatz von einem Tropfen einer 1proz. Diacetylösung intensiv rotviolett gefärbt wird,
2. der von Sakaguchi<sup>6)</sup> angegebenen Reaktion, nach der in Proteinen enthaltenes Arginin sich in alkalischer Lösung bei der Einwirkung von Natriumhypochlorit und  $\alpha$ -Naphthol durch eine Rotfärbung zu erkennen gibt.

Die Reaktion von Sakaguchi benutzten wir zur colorimetrischen Bestimmung des Arginins, indem wir die Farbintensität des Spaltstückes mit der gleichen Menge einer Mischung aus zwei Mol Arginin, einem Mol Cystein und einem Mol Serin und ferner einer solchen aus einem Mol Arginin, einem Mol Cystein und zwei Mol Serin verglichen. Das Ergebnis sprach für zwei Mol Arginin.

Als vierte Aminosäure kommt *Serin* in Betracht, da die wäßrige Lösung des stickstoffhaltigen Spaltstückes sich auf Zusatz von Eisenchloridlösung deutlich rot färbt.

Wie die Bestimmung der Acetylzahl nach Kuhn und Roth (l. c.) ergab, hat bei der Behandlung mit Essigsäureanhydrid auch in der Peptidkette Acetylierung stattgefunden unter gleichzeitiger Spaltung des Arginins in Ornithin und Harnstoff. Wie die gefundene Acetylzahl (29,53%) zu erkennen gibt, sind außer der primären Alkoholgruppe des Serins auch die freien  $\text{NH}_2$ -Gruppen der Aminosäuren acetyliert worden. Für ein vierfach acetyliertes Tetrapeptid aus Cystein, Serin und zwei Molekeln Ornithin berechnen sich 28,47% Acetyl.

Der Nachweis des Arginins gibt die Erklärung für die Auffindung des Pyridins bei der Selendehydrierung. Arginin spaltet sich bei der Selendehydrierung in Harnstoff und Ornithin, wobei letzteres Ringschluß zum Aminopiperidon erfährt, das unter  $\text{NH}_3$ - und Wasserabspaltung in Pyridin übergeht unter gleichzeitiger Zersetzung des Harnstoffs in  $\text{NH}_3$  und  $\text{CO}_2$ , die bei Gegenwart von Wasser sich zu Ammoncarbonat vereinigen, das sich im Kühlrohr der Selendehydrierungsapparatur festsetzt. Eine unter den gleichen Bedingungen durchgeführte Selendehydrierung von l-Arginin führte zu reichlicher Bildung von Pyridin, wobei gleichfalls im Kühlrohr der Dehydrierungsapparatur ein kristalliner Anflug von Ammoncarbonat festzustellen war.

Der anorganische Rückstand des Rohviscotoxins betrug 11–12% und der des reinen Viscotoxins 0,7–0,8%. Dieser besteht aus Phosphorsäure-, aus Kalium- und wenig Magnesium-Ionen. Die Phosphorsäure

<sup>5)</sup> Journ. of Physiology 42. 332.

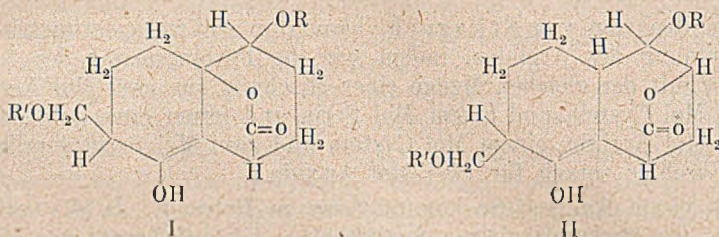
<sup>6)</sup> J. Biochem. Tokyo 5. 25, 134, 140.



ist allem Anschein nach teils esterartig mit der primären Alkoholgruppe des Serins verknüpft, teils dürfte sie entsprechend den Befunden von Meyerhof und Lohmann<sup>7)</sup>, ferner von M. D. Needham, J. Needham, Baldwin und Yudkin<sup>8)</sup> als Argininphosphorsäure vorliegen.

Diese Art der Phosphorsäurebindung macht sowohl den hohen anorganischen Rückstand des Rohviscotoxins verständlich als auch die unvollkommene Abspaltung bei den zur Reindarstellung unternommenen Dialysiersversuchen.

Auf Grund dieser Ergebnisse kommen wir zur Aufstellung der Strukturformeln I oder II für das Viscotoxin.



R = Peptidkette bestehend aus einem Cystein-, einem Serin- und zwei Arginin-Resten.  
R' = Glucuronsäurerest.

Die Haftstelle der primären Alkoholgruppe am Ring leiten wir aus dem bei der Selendehydrierung entstandenen 1,3-Dimethylnaphthalin ab. Beide Formeln erklären die Entstehung eines Ringketons bei der unter schonenden Bedingungen durchgeführten Oxydation mit Kaliumpermanganat unter gleichzeitiger Bildung einer Oxysäure (C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>). Für die oben angegebenen Strukturformeln berechnet sich die Summenformel C<sub>36</sub>H<sub>68</sub>O<sub>16</sub>N<sub>10</sub>S und ein Molekulargewicht von 919.

Die Stellung der CHOH-Gruppe im Ring steht nicht fest; sie wäre auch an anderer Stelle denkbar.

In einer vor einiger Zeit erschienenen Arbeit berichtet Fr. E. Koch<sup>9)</sup> über eine nekroseerzeugende Wirkung von Mistelextrakten bei intrakutaner Injektion. Nach den Befunden von Koch ist diese Wirkung nicht auf den herztoxischen Inhaltsstoff der Mistel zurückzuführen, „da es gelingt, einen der beiden Stoffe fast völlig zu entfernen bei Erhaltung des anderen.“

Wir konnten nun den Nachweis erbringen, daß diese Annahme irrig ist, denn Viscotoxin war zwar auf Grund der bisherigen Untersuchungen nur als herztoxischer Stoff bekannt (l. c.), ruft aber, wie wir nunmehr

<sup>7)</sup> Bio. Z. **196**, 22 (1928).

<sup>8)</sup> Proc. Roy. Soc. London; B. **110**, 260 (1932).

<sup>9)</sup> Ztschr. f. exp. Med. **103**, 744 (1938).



fanden, bei intrakutaner Injektion in die enthaarte Rückenhaul von weißen Ratten deutlich wahrnehmbare Hautnekrosen hervor, und zwar schon bei der Injektion von 0,1 cem einer Viscotoxinlösung 1 : 40000.

Der Verlauf der Nekrosenbildung ist folgender: Zuerst entsteht ein dunkler Fleck, nach 1—2 Stunden verfärbt sich dieser gelblich durch Abheben der Haut infolge flacher Blasenbildung, die Blase ist von einem blauroten, mit Blutungen durchsetzten schmalen Rand umgeben. Dieser Zustand hält etwa 4—5 Tage an, dann bricht die Blase auf, so daß eine flache, trockene, braunrote, scharfrandige (wie gestanzte) Hautnekrose sichtbar wird. Um Säurenekrosen auszuschalten (das  $p_{II}$  des Viscotoxins in wäßriger Lösung beträgt 5,2), wurde der Wirkstoff in phosphatgepufferter Lösung ( $p_{II} = 6,7$ ) injiziert.

Für die Ausführung der Versuche sind wir Herrn Dozent Dr. H. Fr. Zipf vom Pharmakologischen Institut der Universität Bonn zu Dank verpflichtet.

### Versuchsteil

5 g Viscotoxin wurden in Wasser gelöst, mit 0,5proz. Salzsäure versetzt und zwei Stunden im Wasserbad erhitzt. Das Hydrolysat reduzierte deutlich Fehlingsche Lösung. Auf Zugabe von Phosphorwolframsäure im Überschuß entstand eine starke Fällung, von der abfiltriert wurde. Durch Zugabe von Barytflauge wurde aus dem Filtrat die Glucuronsäure als Bariumsalz abgeschieden, in Wasser aufgeschwemmt, mit Schwefelsäure bis zur schwach sauren Reaktion versetzt und das Filtrat i. V. eingengt. Der sirupöse Rückstand gab die für Glucuronsäure charakteristische Orcinreaktion nach Naumann<sup>10</sup>).

### Aufarbeitung der Phosphorwolframsäurefällung

Diese erfolgte einmal in der Weise, daß wir den Niederschlag mit überschüssiger Barytflauge zur Umsetzung brachten und den Überschuß an Bariumionen durch Einleiten von  $CO_2$  beseitigten, zum anderen, daß wir den Phosphorwolframsäureniederschlag nach dem von F. Lynen und U. Wieland<sup>11</sup>) angegebenen Verfahren aufarbeiteten. Der in beiden Fällen nach vorsichtigem Verdampfen erhaltene braune, zähe Sirup wurde im Vakuumexsikkator scharf getrocknet und erstarrte alsdann zu einer festen Masse. Diese wurde mit abs. Alkohol aufgenommen, mit einer benzolischen Diazomethanolösung im Überschuß versetzt und vier Tage im Eisschrank der Diazomethaneinwirkung überlassen. Schon beim Zugeben der Diazomethanolösung trat deutliche Stickstoffentwicklung ein. Am Boden des Gefäßes hatte sich ein weißer Niederschlag ausgeschieden, der Kaliumionen enthielt. Vom Niederschlag wurde abfiltriert, das Lösungsmittel abdestilliert, der zähe sirupöse Rückstand i. V. zur Trockne gebracht und anschließend 48 Stunden mit Essigsäureanhydrid auf dem Wasserbad erwärmt. Das überschüssige Essigsäureanhydrid wurde i. V. abgedunstet, das Reaktionsprodukt mit Äther aufgenommen und filtriert.

Die Ätherlösung hinterließ ein langsam erstarrendes, in Wasser nicht lösliches Öl, das in Äther gelöst der Adsorption an  $Al_2O_3$  unterworfen wurde. Nach dem Passieren der 30 cm hohen und 2 cm breiten  $Al_2O_3$ -Säule blieb in der Ätherphase ein stickstofffreier Anteil, der nach dem Abdunsten des Lösungsmittels im Exsikkator zu einer glasigen, spröden Masse erstarrte. In der  $Al_2O_3$ -Säule blieb eine stickstoffhaltige Substanz, die sowohl mit Methanol als auch mit Wasser leicht ablösbar war.

a) Das stickstofffreie Spaltprodukt läßt sich im Hochvakuum bei  $141^\circ$  und 0,6 mm Hg ohne Zersetzung destillieren und erstarrt im Exsikkator zu einer glasigen, durchsichtigen Masse.

Molgew.: 0,0991 g Sbst. in 25 g Benzol.  $A = 0,06^\circ$ .

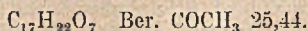
$C_{17}H_{22}O_7$ , Ber.: M. 338,5 Gef.: M 337.

<sup>10</sup>) Biol. Ztschr. 1, 383 (1906).

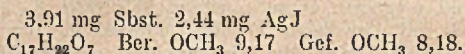
<sup>11</sup>) A. 533, 93 (1937).



*Acetylzahl* nach Kuhn und Roth. 0,022 g Substanz wurden in 3 cem 50proz. Schwefelsäure eine halbe Stunde am Rückflußkühler gekocht, die abgespaltene Essigsäure im Wasserstoffstrom abdestilliert und mit n/30-Natronlauge titriert. Zur Neutralisation wurden 3,979 cem benötigt, entsprechend einem Gehalt von 25,87%  $\text{COCH}_3$ .



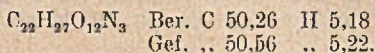
*Methoxylzahl (Mikro-Zeisel).*



### Oxydation mit Kaliumpermanganat

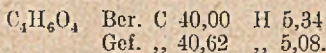
2 g des acetylierten und methylierten Spaltproduktes wurden in Aceton gelöst und zu der am Rückflußkühler erwärmten Lösung langsam eine 2proz. Kaliumpermanganatlösung getropft, wobei sich die Lösung nach kurzer Zeit entfärbte. Nachdem keine alsbaldige Entfärbung mehr eintrat, wurde die Operation unterbrochen. Vom abgeschiedenen Braunstein wurde abfiltriert, das Lösungsmittel abgedunstet und der Rückstand mit Äther extrahiert. Nach dem Verdunsten des Äthers blieb ein gelbes Öl zurück, das positive Ketonreaktionen gab.

0,5 g des Öles in 50proz. Essigsäure mit 0,5 g Nitrophenylhydrazin am Rückflußkühler gekocht, schieden beim Erkalten ein Nitrophenylhydrazon in gelbroten Flocken aus. Aus heißem Wasser umgelöst besaß dieses den Schmp. 207°.



### Oxydativer Abbau des stickstofffreien Spaltproduktes

2 g des Spaltproduktes wurden mit 10 cem Salpetersäure (1 + 1) eine Stunde am Rückflußkühler auf dem Babobloch erhitzt, wobei reichliche Stickoxyd-Entwicklung eintrat. Nach einstündiger Behandlung war die Einwirkung beendet. Das Reaktionsprodukt wurde auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft. Es hinterließ ein weißgelber Rückstand, der mit Wasser aufgenommen und mit Aktivkohle geschüttelt wurde. Aus dem eingeeengten Filtrat kristallisierten beim Stehen weiße Nadelchen, die zwei verschiedene Kristallformen aufwiesen. Zur Trennung wurde der kristalline Anteil mit verd. Alkohol in Lösung gebracht und in das Ammoniumsalz übergeführt. Auf Zugabe von Calciumchlorid schied sich aus der wäßrigen Lösung des Ammoniumsalzes ein Calciumsalz aus, das größtenteils schwer löslich war, während ein geringerer Teil sich als leicht löslich erwies. Die Zerlegung des schwer löslichen Calciumsalzes mit Schwefelsäure führte zu einer mit Äther ausschüttelbaren Säure, die beim Abdunsten in rein weißen Kristallen vom Schmp. 185° zurückblieb. Der Mischschmelzpunkt mit *Bernsteinsäure* zeigte keine Depression. Das aus dieser Säure erhaltene Ammoniumsalz färbte beim Erhitzen einen mit Salzsäure getränkten Fichtenspan intensiv rot. Dieses Verhalten und die Ergebnisse der Elementaranalyse beweisen das Vorliegen von Bernsteinsäure.



Die Identifizierung der zweiten Säure, deren Calciumsalz leicht löslich war, gelang nicht. Die Säure war ebenfalls mit Äther ausschüttelbar und blieb als weißlicher Rückstand beim Abdunsten zurück. Schmp. 174°.

b) Das stickstoffhaltige Spaltprodukt des Viscotoxins konnte mit Hilfe von Methanol bzw. Wasser leicht aus der  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Säule gelöst werden. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels und Trocknen im Exsikkator blieb ein gelbbraunes, sehr hygroskopisches Pulver zurück.

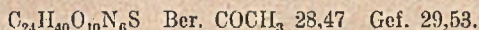
Molgew.: 0,717 g Subst. in 25 g Benzol  $\lambda = 0,035^\circ$  Gef. M. 510.



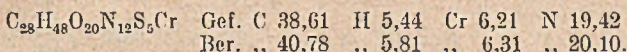
Für ein vierfach acetyliertes Tetrapeptid der im allgemeinen Teil angegebenen Zusammensetzung berechnet sich ein Molekulargewicht von 604.

Bestimmung der Acetylzahl nach Kuhn und Roth.

0,0246 g Subst. wurden mit 3 ccm 50proz. Schwefelsäure eine halbe Stunde am Rückflußkühler gekocht, die Essigsäure im Wasserstoffstrom abdestilliert und mit n/30-Natronlauge titriert. Es wurden 5,54 ccm bis zur Neutralisation verbraucht.



Reineckat. 0,5 g wurden in wenig Alkohol gelöst, schwach mit Salzsäure angesäuert und mit einer konz. frisch bereiteten Reineckesalzlösung gefällt. Es schieden sich dunkelrote Flocken aus, die beim Verreiben fest wurden. I. V. getrocknet besaß das Reineckat den Zersetzungspunkt 169–170°.



Die Ergebnisse der Elementaranalyse zeigen an, daß ein vierfach acetyliertes Tetrapeptid vorliegt, aus dem durch die Essigsäureeinwirkung die beiden Guanidino-reste eliminiert sind unter Übergang des Arginins in Ornithin.

## Abbauversuche an quartären Salzen des Vomicins und Desoxyvomicins

### Über Strychnos-Alkaloide XXXIII

Von *Rolf Huisgen, Heinrich Wieland* und *Heinz Eder*

(Aus dem Chem. Universitätslaboratorium München, Zweigstelle Weilheim)

[Eingelaufen am 26. Oktober 1948]

Die Frage nach der Bindung des vierten Sauerstoffatoms in der Vomicinmolekel hat eine indirekte Lösung erfahren. A. S. Bailey und R. Robinson<sup>1)</sup> konnten das N-Methyl-sec-pseudostrychnin sowie das analoge Brucinderivat mit Chromsäure zu einer Säure  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{N}_2$  abbauen, die mit dem Oxydationsprodukt des Vomicins<sup>2)</sup> identisch ist. Da dieser Abbau sich auf den aromatischen Kern des Alkaloids beschränkt, läßt der Befund an der strukturellen Übereinstimmung des Vomicins mit dem genannten Strychninderivat keinen Zweifel. Vomicin ist somit ein *Bz-Oxy-N-methyl-sec-pseudostrychnin* (I), womit auch der biogenetische Zusammenhang mit dem Stammalkaloid vorgezeichnet erscheint.

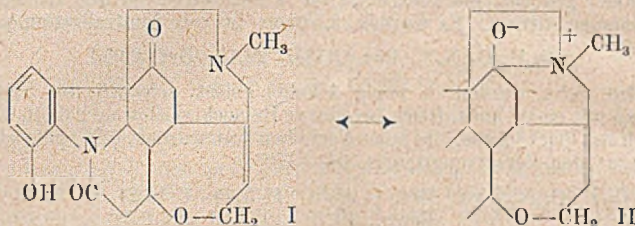
Die Reaktionen am basischen Stickstoff des Vomicins sind von einer ausgeprägten, beispiellosen Eigenart, die auch in den evtl. verwandt erscheinenden Protopinbasen keine weitreichende Analogie findet. Die beträchtlichen Strukturänderungen des Ringgerüsts, deren innere

<sup>1)</sup> Nature **161**, 433 (1948).

<sup>2)</sup> H. Wieland und G. Oertel, A. **469**, 193 (1929).



Zwangsläufigkeit zuweilen nicht ganz einleuchtet, nehmen den im folgenden beschriebenen Abbauversuchen am quartären Stickstoff des Vomicins und Desoxyvomicins weitgehend die Beweiskraft für das neue Formelbild I. Charakteristisch ist, daß I weniger aus den Reaktionen



des Vomicins als aus einer Spekulation über seine biogenetische Beziehung zum Strychnin erschlossen und von den englischen Autoren auf indirektem Wege bewiesen wurde.

Tertiären Aminen pflegt man die Neigung zur Reaktion mit Aldehyden und Ketonen abzuspreehen. In der Vomicinreihe wird die Wechselwirkung zwischen tertiärem Stickstoff und Carbonylgruppe durch deren räumliche Nachbarschaft so weit verstärkt, daß die zwitterionische Struktur II, eine Keton-Ammoniak-Gruppierung mit quartärem Stickstoff, zu einer für die Reaktivität maßgebenden mesomeren Grenzformel wird. Die Beteiligung einer solchen Struktur am Grundzustand dürfte einerseits für das Ausbleiben der normalen Carbonylreaktionen, andererseits für die auch in der Reihe des N-Methyl-sec-pseudostrychnins zu beobachtende Basizitätsverminderung<sup>3)</sup> des Stickstoffs verantwortlich sein.

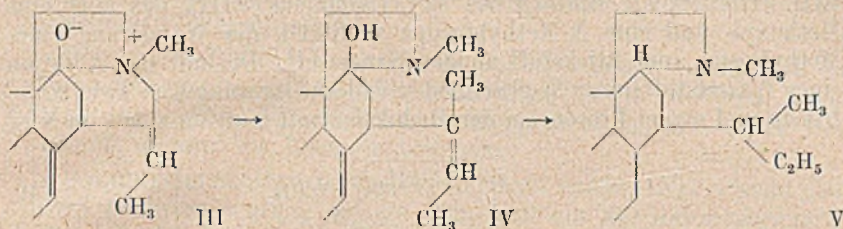
Einen Schlüssel zum Verständnis der Reaktionen am basischen Stickstoff des Vomicins bietet das unterschiedliche Verhalten von  $\alpha$ -Aminocarbinolen mit tertiärem und quartärem Stickstoff. Die so typische leichte Reduzierbarkeit des Hydroxyls von  $\alpha$ -Amino-carbinolen bei der Behandlung mit nascierendem, katalytisch erregtem oder chemisch gebundenem (Formaldehyd, Ameisensäure) Wasserstoff verschwindet, sobald der Stickstoff quartär wird. Die Methylierung des Ammonchlorids mit Formaldehyd erreicht bekanntlich im Trimethylammonium-chlorid ihr Endprodukt.

Bei der katalytischen Hydrierung tritt die Bereitschaft der Vomicinbasen, in der Betainformel II zu reagieren, in Erscheinung. Für die vier Mol Wasserstoff benötigende katalytische Hydrierung des farblosen Desoxyvomicins ergibt sich jetzt folgende Deutung. Die tertiäre Base unterliegt in der Ammoniumstruktur III einem Emde-Abbau, der wie bei einem echten quartären Salz unter Ringsprengung zu IV führt.

<sup>3)</sup> Keine Addition von Methyljodid bei 42°; Vomicin reagiert nicht mit Jodmethyl bei 100°, addiert Dimethylsulfat in sied. benzolischer Lösung nur langsam.



Die entstehende Ketonammoniak-Gruppierung wird in bekannter Reaktion (Skita, Knoop) reduziert; die Absättigung der Doppelbindung



gen führt schließlich zur Base  $C_{22}H_{30}O_2N_2$ <sup>4)</sup> (V). Die Einwirkung katalytisch erregten Wasserstoffs wird damit von einem Übergang des Pseudostrychnintypus in den der Emde-Abbau-Basen der quartären Strychniniumsals begleitet. Diese Reaktionsfolge entspricht viel weniger dem Prinzip der möglichst geringen Strukturänderung als unsere frühere Interpretation<sup>5)</sup>, deren Grundlage, die N-Methylen-oxidobrücke im Vomocin, wir in ihrer Fragwürdigkeit nie verkannt haben. Die frühere Deutung sah übrigens für die Hydro-Base ebenfalls die Konstitution V vor.

Daß im Vomocin selbst die katalytische Hydrierung sich auf die Doppelbindung beschränkt, hat seine Ursache in der geringeren Basizität des Vomocins, das in verdünnter Essigsäure in Gegenwart von Natriumacetat unlöslich ist. Basizitätsverminderung bedeutet nicht nur Einbuße an Protonenaffinität, sondern auch verringerte Additionsbereitschaft des Stickstoffs mit seinem freien Elektronenpaar an die Carbonylgruppe gemäß II; Vomocin selbst reagiert daher nach I. Das stärker basische Produkt des oxydativen Abbaus des Vomocins, die Base  $C_{16}H_{22}O_3N_2$  verbraucht wie Desoxyvomocin 4 Mol katal. erregten Wasserstoff und liefert die V analoge Base  $C_{16}H_{26}O_2N_2$ <sup>6)</sup> (VI). Zeigt auch schon das Vomocidin das Phänomen einer für die Dihydrostufe zu hohen Wasserstoffaufnahme, so sind bei dessen Abbaubase  $C_{16}H_{24}O_2N_2$  die beiden Produkte der Hydrierung mit und ohne Emde-spaltung isolierbar<sup>7)</sup>. Auch Isovomocin ist auf katalytischem Weg zur Base  $C_{22}H_{30}O_2N_2$  (V) hydrierbar<sup>8)</sup>, im Einklang mit seiner gegenüber Vomocin stärkeren Basizität. Diese Interpretation der Hydrierung der tertiären Basen wurde vorangestellt, weil sie Licht auf die Bedeutung der zwitterionischen Grenzformel wirft und dem Verständnis der Abbaureaktionen der quartären Salze förderlich ist.

<sup>4)</sup> H. Wieland und G. Varvoglis, A. 507, 52 (1933).

<sup>5)</sup> H. Wieland, R. Huisgen und R. Bubenik, A. 559, 191 (1948); dort Formel XII.

<sup>6)</sup> H. Wieland, F. Hölscher und F. Cortese, A. 491, 133 (1931).

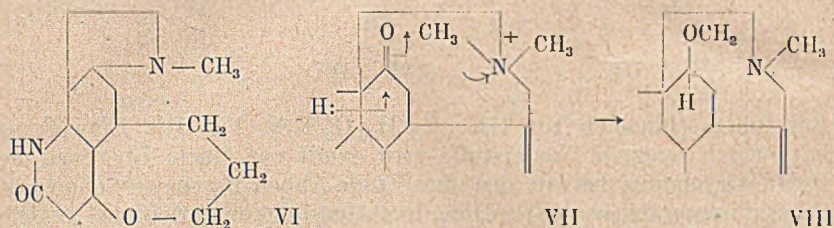
<sup>7)</sup> H. Wieland und L. Horner, A. 545, 116 (1940).

<sup>8)</sup> H. Wieland und M. Thiel, A. 550, 294 (1942).



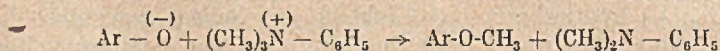
## Der Emde-Abbau des Methyl-vomicinium-Salzes

Da das quartäre Methyl-vomicinium-Salz 2 Methylimidgruppen besitzt, erfordert die Bildung des Methylvomiceins (VIII), das über eine Methoxyl- und eine N-Methylgruppe verfügt<sup>9)</sup>, die Wanderung eines Methylrestes vom Stickstoff an den Sauerstoff. Die mit der Addition eines Wasserstoffanions<sup>10)</sup> gleichbedeutende Anlagerung von zwei Elektronen und einem Proton bei der Reduktion mit Natriumamalgam wird



anschaulich durch die in VII angegebenen Elektronenverschiebungen. Die Methylgruppe „wandert“ demnach nicht, sondern wechselt nur ihre Bindungsverhältnisse. Die Loslösung vom Stickstoff unter Zurücklassung der Bindungselektronen erfolgt gleichzeitig mit der Anheftung an den Sauerstoff der aufgerichteten Carbonylgruppe. Methyl-dihydrovomicinium-Salz ist dem Emde-Abbau nicht zugänglich; maßgebend für die Reduktion zur tertiären Base ist somit die Auflockerung der N-Methyl-Bindung durch die Kohlenstoffdoppelbindung. Eine solche Beeinflussung der Bindungsverhältnisse durch einen ungesättigten Substituenten über dessen eigene Bindung an den Stickstoff hinaus ist nicht neu; quartäre Tetrahydro-chinoliniumsalze als Beispiel<sup>11)</sup> stoßen bei der Amalgamreduktion bevorzugt eine N-Methylgruppe ab.

Eine Analogie für die Methylwanderung vom Stickstoff an den Sauerstoff unter vergleichbar milden Bedingungen dürfte nicht leicht zu finden sein. Voraussetzung ist jedenfalls die optimale sterische Anordnung der benachbarten Gruppen. Ein verwandter Reaktionstyp findet sich in der Methylierung von Phenolen mit Phenyl-trimethyl-ammoniumhydroxyd gemäß



nach W. Rodionow<sup>12)</sup>; eine Reaktion, die Morphin in Codein überzuführen gestattet. Auch für den Umkehrprozeß, die Wanderung des

<sup>9)</sup> H. Wieland und O. Müller, A. 545, 59 (1940).

<sup>10)</sup> Für die Bouveault-Blancsche Reduktion von Estern und Ketonen zu Alkoholen mit Natrium nahm Darzens intermediär entstehendes Natriumhydrid als Reduktionsmittel an; die Reduzierbarkeit der Carbonylverbindungen mit NaH spricht für die Richtigkeit dieser Annahme. Siehe Chem. Eng. News 25, 2524 (1947).

<sup>11)</sup> H. Emde, A. 391, 88 (1912); J. v. Braun, A. 382, 3 (1911).

<sup>12)</sup> Bl. [4] 39, 305 (1926).

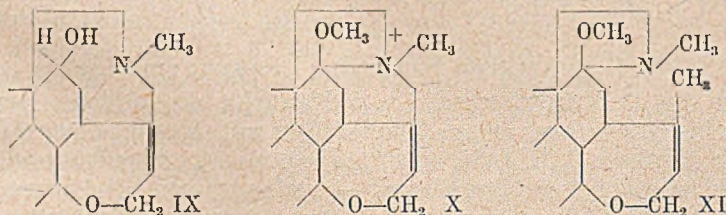


Methyls vom Sauerstoff an den Stickstoff bietet die Pseudostrychnin-Reihe ein Beispiel. Nach H. Leuchs<sup>13)</sup> führt die Einwirkung von Methyljodid auf Pseudostrychnin-methyläther zum methoxylfreien N-Dimethyl-*sec*-pseudostrychninium-jodid.

Den beiden Isomeren<sup>14)</sup> des Methylvomicins kommt vermutlich das gleiche Ringgerüst zu; beide sind nämlich einem weiteren Emde-Abbau zugänglich. Verschiebung der Doppelbindung, evtl. in die Neo-Stellung, könnte die Isomerie bedingen.

Das am Sauerstoff entmethylierte Methylvomicin (IX) erscheint nach dieser Reaktionsdeutung als der dem Vomicin als Keton zugehörige sekundäre Alkohol. Allen Versuchen zur wechselseitigen Überführung mit Hilfe der Oppenauer-Oxydation und der Reduktion nach Meerwein-Ponndorf war der gewünschte Erfolg leider nicht beschieden.

Die katalytische Hydrierung des Methyl-vomicinium-methylsulfats führt nicht, wie früher mitgeteilt<sup>9)</sup>, ausschließlich zur quartären Dihydrostufe, sondern liefert einen gewissen Anteil an tertiärem Material, der sich bei Wahl geeigneter Reaktionsbedingungen auf 75% d. Th. steigern läßt. Aus dem Reaktionsgemisch sind zwei isomere Basen  $C_{22}H_{28}O_3N_2$  isolierbar, die methoxylfrei sind und nur mehr ein N-Methyl besitzen. Der gleichzeitige Verlust eines Methylkohlenstoffs und eines Sauerstoffatoms führt zwangsläufig wieder zur Annahme einer Methylwanderung, die aber in diesem Fall nicht die Koordinationszahl des Stickstoffs vermindert, sondern zusätzlich zur Emdespaltung erfolgt. Das quartäre



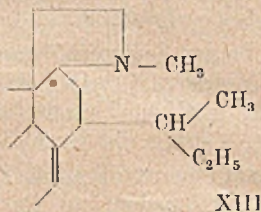
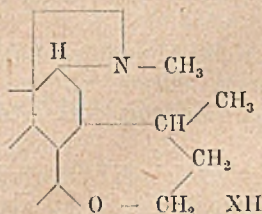
Salz reagiert mit katalytisch erregtem Wasserstoff als Äther der quartären  $\alpha$ -Ammonium-carbinol-form (X), der einem normalen Emde-Abbau zu XI unterliegt an der durch die  $\beta, \gamma$ -ständige Doppelbindung aktivierten Stelle. Der Übergang des N-Dimethyl-Salzes in X erfolgt nicht vor, sondern während der hydrierenden Spaltung. VII und X unterscheiden sich im wesentlichen in der Anordnung der Bindungselektronen; die beiden Strukturen sind aber nicht mesomer, da der Übergang einer konfigurativen Umkehr an der Methylgruppe bedarf. Aus dem Amino-carbinol-Äther XI wird im weiteren Verlauf der Hydrierung die Methoxyl-

<sup>13)</sup> B. 70, 2455 (1937); desgl. in der Brucinreihe: H. Leuchs und H. G. Boit, B. 73, 885 (1940).

<sup>14)</sup> H. Wieland und W. Weißkopf, A. 553, 1 (1943).



Gruppe reaktiv eliminiert; sie findet sich als *Methanol* zu 85% d. Th. (bezogen auf tertiäres Material) in der Hydrierlösung.



Der zu den stereoisomeren Basen  $C_{22}H_{28}O_3N_2$  (XII) führende Reaktionsverlauf besitzt große Ähnlichkeit mit der oben skizzierten katalytischen Hydrierung des Desoxyvomocins zu V. Durch Überführung von XII in V sollte diese formale Übereinstimmung gesichert werden. Mit Bromwasserstoffsäure gelang die Öffnung des unteren Ätherringes; jedoch widerstand der entbromte Körper XIII der katal. Hydrierung<sup>15)</sup>. Für die Lage der Doppelbindung in XIII beweisend ist die gelbe Farbe des Kondensationsproduktes mit Benzaldehyd; die gesättigten Basen mit geöffnetem Ätherring geben farblose Benzalderivate, wie das Tetrahydrodesoxyvomocin sowie die Base  $C_{22}H_{30}O_2N_2$  (V) zeigen. In allen bislang untersuchten Fällen nimmt der Emde-Abbau in der Vomocinreihe in Abhängigkeit vom Reduktionsmittel einen *verschiedenartigen* Verlauf.

#### Die quartären Salze des Desoxyvomocins

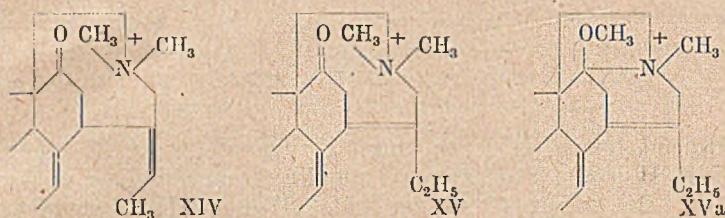
In der 23. Mitt.<sup>15a)</sup> wurde ein Jodmethylat des farblosen Desoxyvomocins beschrieben, dessen Emde-Abbau mit Natriumamalgam eine N-Dimethylbase  $C_{23}H_{30}O_3N_2$  ergab<sup>9)</sup>. Diese Base beansprucht Interesse sowohl im Hinblick auf ihre Bildung — Verbrauch von 4 H-Atomen beim Emde-Abbau — als auch wegen ihrer Eignung zur Eliminierung des basischen Stickstoffs. Die Anlagerung von Methyljodid an Desoxyvomocin ist präparativ sehr unbefriedigend und liefert selten mehr als 40 Proz. des krist. quartären Jodids. Die glatte und quantitative Addition von Dimethylsulfat in siedender benzolischer Lösung führt nun wider Erwarten in eine isomere Reihe von Methyl-desoxyvomocinium-Salzen, wie der Vergleich der Bromide, Jodide und Pikrate, vor allem aber der hydrierende Abbau lehrt. Es ergab sich, daß sich die Anlagerung von Dimethylsulfat ohne strukturelle Änderung der Molekel des farblosen

<sup>15)</sup> Selbst ein Pt-Kontakt, der das schwer hydrierbare Dihydrodesoxyvomocin in analoger Reaktion in die Tetrahydro-Verbindung (R. Huisgen und H. Wieland, A. 555, 10 [1943]) überführte, vermochte XIII nicht zur Wasserstoffaufnahme zu bewegen.

<sup>15a)</sup> H. Wieland und O. Schmauss, A. 545, 72 (1940).



Desoxyvomicins<sup>16)</sup> zu XIV vollzieht, während die von Methyljodid von einer Isomerisierung begleitet ist. Die Vertreter der ersten Salzreihe sind stabil gegen saure Mittel, werden aber durch Erwärmen mit einer katalytischen Menge Jod im organischen Lösungsmittel - bei der direkten Bildung des Jodmethylats aus den Komponenten im Einschlußrohr ist stets Jod vorhanden - in die isomere Salzreihe übergeführt. Da eine bloße konfigurative Änderung von XIV dem verschiedenen Verhalten



der quartären Salze gegenüber hydrierenden Agentien nicht Rechnung trägt, kommt nur Doppelbindungsisomerie in Frage, zumal beide Salzreihen zwei Methylimid- und keine Methoxyl-Gruppe besitzen.

Der Emde-Abbau der primären Salzreihe (XIV) verrät die gleichen charakteristischen Beziehungen von quartärem Stickstoff und Carbonylgruppe, wie sie im Vomiciniumsalz vorhanden sind. Beim Abbau der quartären Salze der isomeren Reihe vermißt man diese Wechselwirkung der beiden Gruppen völlig. Man kann darin ein gewichtiges Argument für eine Lage der Doppelbindungen gemäß XV erblicken. Die  $\beta,\gamma$ -ständige Doppelbindung in XV macht den quartären Stickstoff weiterhin einem Emde-Abbau geneigt, verbietet aber aus sterischen Gründen (Bredtsche Regel) eine Reaktionsweise nach der Ammonium-carbinol-Struktur XV a. Der große Ring in XV ist auch mit Doppelbindung am Brückenkopf spannungsfrei; für diese Gültigkeitsgrenze der Bredtschen Regel wurde kürzlich der experimentelle Nachweis<sup>17)</sup> erbracht.

Aus dem tertiären Anteil, der sich neben dem isomeren quartären Jodid im Reaktionsprodukt von Desoxyvomicin und Methyljodid findet, gelang die Isolierung des *Neodesoxyvomicins* in bescheidener Menge, identisch mit der früher aus Vomicin mit Kaliumjodid und Phosphorsäure erhaltenen Desoxy-Base<sup>18)</sup>. Der geringen Basizität dieses dritten Isomeren des Desoxyvomicins, das weder Methyljodid noch Dimethylsulfat zu addieren vermag und im Gegensatz zu den beiden anderen Isomeren in *n*/10-Essigsäure unlöslich ist, wird die Vinylamin-Gruppierung der Formel XVI am besten gerecht. Damit würde das Neodes-

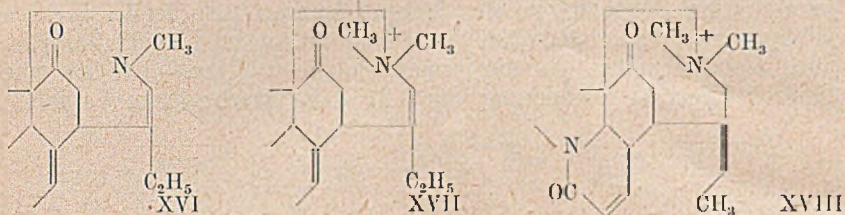
<sup>16)</sup> Die Lage der Doppelbindungen ist streng bewiesen. Siehe R. Huisgen und H. Wieland, A. 555, 10 (1943).

<sup>17)</sup> V. Prelog, L. Ruzicka, P. Barmann und L. Frenkiel, Helv. 31, 92 (1948).

<sup>18)</sup> H. Wieland und M. Thiel, A. 550, 287 (1942).



oxyvomycin, was seinerzeit bei der Namengebung keineswegs beabsichtigt war, in strukturelle Beziehung zu den Neo-Basen des Strychnins



und Brucins treten, in denen jüngst Robinson<sup>19)</sup> und Woodward<sup>20)</sup> eine zum basischen Stickstoff  $\alpha,\beta$ -ständige Doppelbindung nachweisen konnten. Im Gegensatz zu der 4 Mol Wasserstoff beanspruchenden katal. Hydrierung des farblosen Desoxyvomycins bildet das Neo-Isomere lediglich ein Dihydroderivat<sup>18)</sup>. Ob dabei die schwer hydrierbare Doppelbindung des Lactamrings oder die Neo-Doppelbindung erhalten bleibt, ist unsicher; auch die letztere fanden die englischen Autoren reaktionsträge<sup>21)</sup>. Die fehlende Einbeziehung der Carbonylgruppe in den Reduktionsprozeß stützt nicht nur die Formulierung des Neo-Isomeren gemäß XVI, sondern sichert auch den konstitutionellen Zusammenhang des Neodesoxyvomycins mit dem isomeren quartären Salz des Desoxyvomycins, obwohl ein unmittelbarer Beweis nicht möglich ist<sup>22)</sup>. Letzteres Salz wird im folgenden, ohne daß Formel XV widerlegt wäre, als Methyl-neodesoxyvomycinium-Salz (XVII) weiter diskutiert.

Unter besonderen Bedingungen läßt sich auch das gelbe Desoxyvomycin, das man bei der Reaktion von Vomycin mit Jodwasserstoff zunächst erhält, zur Addition von Dimethylsulfat bewegen. Wie bei den freien Basen, so ermöglicht auch in der Reihe der quartären Salze die milde Alkaliwirkung den Übergang des gelben in das farblose Isomere; das quartäre Methylsalz des gelben Desoxyvomycins (XVIII)<sup>23)</sup> gibt bei der Behandlung mit Natriumamalgam vorwiegend die Abbauprodukte des farblosen Isomeren, dessen Salze (XIV) hinfort einfach Methyl-desoxyvomycinium-Salze genannt seien.

Über die unsichere Existenz eines vierten Isomeren unter den quartären Salzen des Desoxyvomycins, das früher aus Methyl-vomicinium-

<sup>19)</sup> R. Robinson und Chakravarti, *Nature* **160**, 18 (1947).

<sup>20)</sup> R. B. Woodward und W. J. Brehm, *Am.* **70**, 2107 (1948).

<sup>21)</sup> O. Achmatowicz, G. R. Clemons, W. H. Perkin und R. Robinson, *Soc.* **1932**, 767.

<sup>22)</sup> Die Bildung des Salzes XVII erfolgt nicht über die Neobase, die ihr Auftreten einer Isomerisierung des farb. Desoxyvomycins vor der Quartärsalz-Bildung verdankt.

<sup>23)</sup> Bezüglich der Formel des gelben Isomeren vgl. eine demnächst erscheinende Abhandlung.



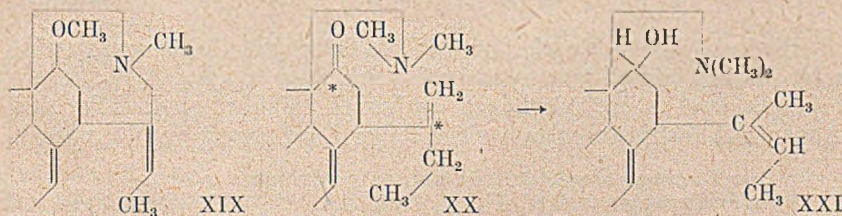
bromid mit Bromwasserstoffsäure und nachfolgender Entbromung erhalten wurde<sup>21)</sup>, vergl. den Versuchsteil.

Der Emde-Abbau des Methyl-desoxyvomicinium-Salzes verläuft dem Abbau des Methyl-vomiciniumsalzes analog, bedingt durch die gleiche Lage der aktivierenden Doppelbindung. Mit Natriumamalgam wird in „anomal“ Abbau eine dem Methylvomicin entsprechende Base  $C_{23}H_{28}O_3N_2$  (XIX) mit Methoxyl- und Methylimid-Gruppe erhalten.

Die Einwirkung katalytisch erregten Wasserstoffs ist von einer quantitativen Emde-Spaltung begleitet. Unter Verbrauch von 4 Mol Wasserstoff entstehen die gleichen stereoisomeren Basen  $C_{22}H_{30}O_2N_2$  (V), die von der Hydrierung des Desoxyvomicins her bekannt sind. Diese bemerkenswerte Bildung des gleichen Hydrierungsproduktes aus Base und quartärem Methylsalz findet in einer Wanderung der Methylgruppe vom Stickstoff an den Sauerstoff mit nachfolgender, reduktiver Entfernung der Methoxylgruppe ihre Erklärung; auch hier ist in der Hydrierlösung eine äquivalente Menge Methanol nachweisbar. Das Ergebnis eines normalen Emde-Abbaus, eine N-Dimethylbase, ist im Gemisch der Hydrierbasen nicht vorhanden.

#### Der Emde-Abbau des Methyl-neodesoxyvomicinium-Salzes

Wie schon S. 198 erwähnt, werden bei der Natriumamalgam-Behandlung des Neo-Salzes (XVII), seinerzeit irrtümlich als Abkömmling des farblosen Desoxyvomicins aufgefaßt, 2 Wasserstoffatome über den Bedarf einer einfachen Ringöffnung hinaus aufgenommen. Die Spaltung eines Ringes ergibt sich aus dem Gehalt an zwei analytisch nachweisbaren Methylimid-Gruppen in der schon beschriebenen tertiären Base  $C_{23}H_{30}O_3N_2$ <sup>9)</sup>. Unter den flüchtigen Spaltstücken bei der Ozonisation dieser Base läßt sich Acetaldehyd fassen, was für eine Verschiebung der Doppelbindung im Zuge des Abbaus spricht. Die Base  $C_{23}H_{30}O_3N_2$  verfügt über zwei intakte Doppelbindungen, wie die Überführung in zwei isomere Tetrahydroderivate bei der katalytischen Hydrierung lehrt. Für die erwähnte zusätzliche Wasserstoffaufnahme bei der Amalgambehandlung kann daher nur die Carbonylgruppe verantwortlich sein, womit sich Formel XXI als befriedigender Strukturausdruck für die



<sup>21)</sup> H. Wieland und R. G. Jennen, A. 545, 99 (1940).

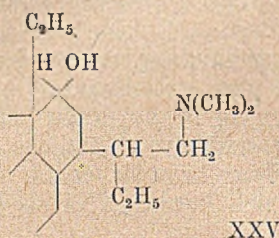
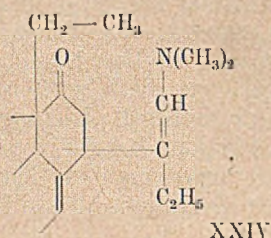
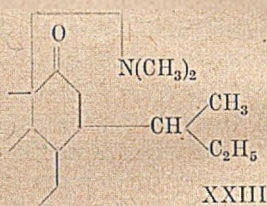
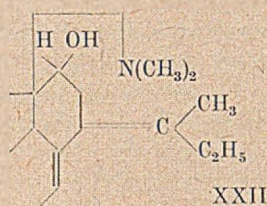


Abbaubase ergibt. Die Darstellung einer krist. Diacetylverbindung mag als Beweis für die Reduktion des Carbonyls gelten<sup>25)</sup>.

Eine Analogie für die Emde-Spaltung eines Salzes vom Vinyl-ammonium-Typ bietet das Verhalten der Aniliniumsalze, bei denen die aktivierende Doppelbindung in ein aromatisches System einbezogen ist; N-Trimethyl-anilinium-Salze werden sowohl mit Natriumamalgam<sup>26)</sup> als auch mit katalytisch erregtem Wasserstoff<sup>27)</sup> an der Kern-Stickstoff-Bindung aufgespalten.

Verwunderlich erscheint die glatte Reduktion der Carbonylgruppe mit naszierendem Wasserstoff in Anbetracht der völligen Resistenz dieses Strukturelements im Vomycin und Desoxyvomycin. Die Aufhebung der Blockierung der Carbonyl-Reaktionen bringen wir in Zusammenhang mit der *freien Beweglichkeit* der beim Emde-Abbau entstehenden Dimethylamino-äthyl-Seitenkette. Mit dem Verlust der starren Fixierung von Carbonylgruppe und Stickstoff in räumlicher Nachbarschaft verringert sich die Beteiligung der Betainstruktur, die die Maskierung der Carbonyl-Reaktionen verursacht.

In den Mutterlaugen der Base  $C_{23}H_{30}O_3N_2$  findet sich eine isomere Base von geringerem Drehwert; ihre Resistenz gegenüber katalytisch erregtem Wasserstoff läßt ein konjugiertes System gemäß XXII vermuten.



Die katalytische Hydrierung des Neo-Salzes mit Platinoxid in wäßriger Lösung ergibt fast quantitativ eine Base  $C_{23}H_{32}O_3N_2$ , in der ebenfalls zwei N-Methylgruppen analytisch erfaßbar sind. Eine dem Abbau mit Natriumamalgam gleichartige Ringöffnung zu XX mit an-

<sup>25)</sup> Das Phenol-hydroxyl trägt die zweite Acetylgruppe.

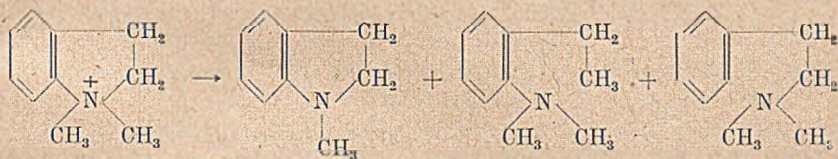
<sup>26)</sup> R. Willstätter und W. Khan, B. 37, 1859 (1904); P. Groenewald und R. Robinson, Soc. 1934, 1692.

<sup>27)</sup> H. Emde und H. Kull, Arch. Pharm. 274, 176 (1936).



schließender Absättigung der Doppelbindungen sollte mit XXIII eine Base dieser Bruttoformel erreichen. Bei der anschließenden Behandlung mit Natriumamalgam nimmt die Base  $C_{23}H_{32}O_3N_2$  zwei weitere Wasserstoffatome auf, die nur der Reduktion der Carbonylgruppe zum Carbinol dienen können. Überraschenderweise ist das Reduktionsprodukt  $C_{23}H_{34}O_3N_2$  mit keiner der beiden stereoisomeren Basen gleicher Bruttoformel identisch, die bei der katalytischen Hydrierung der Base  $C_{23}H_{30}O_3N_2$  (XXI) entstehen.

Für eine neue Raumisomerie käme wohl nur eine Epimerie an den beiden mit \* bezeichneten C-Atomen des gemeinsamen Zwischenproduktes XX in Frage. Die Beschreibung konfigurativer verschiedener Wege bei der abwechselnden Reihenfolge der Reduktionsmittel — einmal zuerst naszierender, dann katal. erregter Wasserstoff, beim zweiten Mal die umgekehrte Folge — erscheint so wenig einleuchtend, daß man auch eine Strukturisomerie der Basen  $C_{23}H_{34}O_3N_2$  diskutieren muß, was allerdings Verzicht auf das gemeinsame Zwischenprodukt XX der beiden Abbaureihen bedeutet. Formel XXIV gibt eine zweite Möglichkeit der hydrierenden Ringöffnung des Neosalzes wieder, die nach Einwirkung beider Reduktionsmittel zu einer Alkoholbase der Formel XXV führen sollte. Die prinzipielle Möglichkeit einer verschiedenartigen Ringöffnung beim Emde-Abbau ist durch Modellversuche gesichert, wie etwa der Verlauf der Reduktion von N-Dimethyl-dihydro-indolinium-Salz<sup>28)</sup> zeigt:



Daß der Abbau des Neo-Salzes mit Natriumamalgam über XX und nicht über XXIV verläuft, ergibt sich aus der katalytischen Hydrierung des Jodmethylats von XXI, die kein tertiäres Material liefert, sich also ohne Emde-Spaltung vollzieht.

### Eliminierung des basischen Stickstoffs. Desaza-desoxyvomicin

Frühere Versuche, das Dimethylvomicin, die zweite Stufe des Emde-Abbaus von Vomicin, dem Hofmannschen Abbau zu unterwerfen, hatten zur Abspaltung von Trimethylamin geführt, ohne daß die Isolierung des nicht mehr basischen Spaltstückes gelungen wäre<sup>9)14)</sup>.

Bei den quartären Salzen der Base  $C_{23}H_{30}O_3N_2$  (XXI), dem höherschmelzenden Abbauprodukt des Neodesoxyvomicins, ist die Tendenz zur Trimethylamin-Abspaltung wesentlich ausgeprägter als in der Reihe des Dimethylvomicins. Die mit Natronlauge versetzte wäßrige Lösung des Jodmethylats von XXI zeigt schon bei Raumtemperatur den charakteristischen Geruch der flüchtigen Base. Der nichtbasische Molekülrest konnte erst gefaßt werden, als wir uns einer anderen Methode, des thermischen Abbaus des Jodmethylats bedienten. Gegen 270° geht im Hoch-

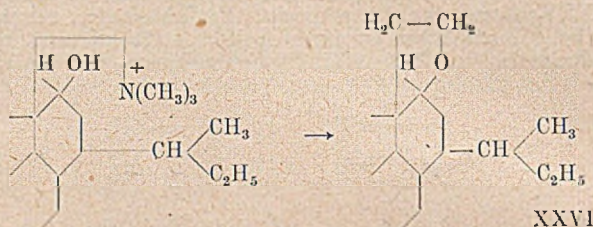
<sup>28)</sup> J. v. Braun und L. Neumann, B. 49, 1283 (1916).



vakuüm neben Trimethylamin-Jodhydrat der Desazakörper über, der aus Alkohol kristallisiert und der erwarteten Formel  $C_{21}H_{23}O_3N$  entspricht.

Noch glatter vollzieht sich die thermische Amin-Abspaltung bei den Jodmethylenen der beiden stereoisomeren Tetrahydro-derivate der genannten Base  $C_{23}H_{30}O_3N_2$ ; die Ausbeuten an kristallisiertem *Tetrahydro-desaza-desoxy-vomicin* überschreiten in beiden Fällen 40 Proz. d. Th.

Die Konstitution der selbst in konz. Salzsäure nicht mehr löslichen Tetrahydro-desaza-Körper ergibt sich aus drei negativen Versuchen, die jeweils das Material unverändert zurückgaben: Dem Versuch der Acetylierung mit Acetanhydrid bei  $100^\circ$ , der Hydrazonbildung mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin und der katalytischen Hydrierung mit  $PtO_2$  in Alkohol. Das gleichzeitige Verschwinden der zu erwartenden Vinyl-



Seitenkette und der alkoholischen Hydroxylgruppe spricht für Formel XXVI. Die Schließung des Tetrahydrofuranringes entspricht völlig dem „Thebenol“-Ringschluß in der Thebainreihe, bekannt durch die Arbeiten von Freund<sup>29)</sup>, Wieland<sup>30)</sup> und Schöpf<sup>31)</sup>. Die vinylierte Alkoholbase ist nicht hypothetisches Zwischenprodukt. Schließung des Ätheringens und Abstoßung des Trimethylamins dürften sich als bimolekulare Substitution an dem den quartären Stickstoff tragenden Kohlenstoffatom vollziehen, ein Mechanismus, der für die anomale Leichtigkeit<sup>32)</sup> des Hofmann-Abbaus in diesen Fällen verantwortlich ist. In der Konstitution dieser Desazakörper sehen wir einen eindrucksvollen Beweis für die Richtigkeit der Deutung des recht komplizierten Abbauweges.

<sup>29)</sup> M. Freund, B. 38, 3234 (1905); M. Freund und E. Speyer, B. 49, 1287 (1916).

<sup>30)</sup> H. Wieland und M. Kotake, A. 444, 75 (1925).

<sup>31)</sup> C. Schöpf und F. Borkowsky, A. 452, 249 (1927).

<sup>32)</sup> M. Freund (B. 38, 3234) erwähnt die besondere Leichtigkeit, mit der cyclische Äther unter Amin-Abspaltung gebildet werden; Methoxygruppen stoßen ihr Methyl ab, um den Ringschluß zu ermöglichen.



## Versuchsteil

## Versuch zur Meerwein-Ponndorf-Reduktion von Vomicin

1 g Aluminiumgrieß wird in 35 ccm siedendem Isopropylalkohol gelöst. Nach Zugabe von 0,5 g Vomicin wird unter Wasserabschluß 16 Stunden zum Sieden erhitzt. Rückflußkochen und anschließendes Abkühlen unter Stickstoff. Nach Klärung durch Filtrieren wird i. V. eingengt, der Rückstand mit verd. Salzsäure ausgezogen und mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet. Nach dem Abdampfen des Chloroforms aus Methanol 70% des eingesetzten Vomicins zurück. Da der Nachweis kleiner Mengen des erwarteten Reduktionsproduktes, des entmethylierten Methylvomicins neben Vomicin sehr schwierig ist, wurde das zurückgewonnene Material mit Methyljodid im Rohr erhitzt; nach der Aufarbeitung fand sich kein Quartärsalz-Anteil.

Ebenso erfolglos war ein Versuch der Reduktion mit Na-isopropylat in siedendem Xylol<sup>33)</sup>.

## Versuche zur Oppenauer-Oxydation des entmethylierten Methylvomicins (IX)

Reihenversuche mit Aluminium-phenolat oder Kalium-tert.-butylat als Katalysator, Aceton, Cyclohexanon oder Benzophenon als Oxydationsmittel, Xylol oder tert. Butanol als Lösungsmittel gaben lediglich unverändertes Ausgangsmaterial zurück. Nach Baker und Adkins<sup>34)</sup> kommt dem Fluorenol als Oxydans eine gewisse Überlegenheit zu. Das Kochen von Base IX mit Kalium-t-butylat und Fluorenol in tert. Butylalkohol war jedoch mit totaler Verschmierung verbunden; das Reaktionsprodukt enthielt keine in verd. Säure lösliche Substanz mehr.

## Emde-Abbau von Methyl-vomiciniumsalz durch katalytische Hydrierung

Methyl-vomicinium-chlorid nimmt bei der katalytischen Hydrierung in wäßriger Lösung etwa 1,3 Mol Wasserstoff auf. Die Hydrierlösung wird leicht ammoniakalisch gemacht, mit Chloroform die flockige Fällung ausgezogen. Beim Abdampfen des Chloroforms hinterbleibt ein mit Kristallen durchsetztes Öl, dessen Menge einem 8–10proz. Emde-Abbau entspricht. Die wäßrige Mutterlauge wurde mit Essigsäure angesäuert, i. V. eingengt bis zur Kristallisation des hydrierten quartären Salzes. Der Vergleich dieses quartären Methylsulfats wie auch des daraus bereiteten Perchlorats mit den aus Dihydrovomicin hergestellten quartären Salzen ergab Übereinstimmung in Schmp. (Zers.), Mischschmp. und Löslichkeit.

Durch systematische Änderung der Hydrierbedingungen gelang es, das Verfahren bezüglich des Tertiäranteils zu verbessern. Methanol als Lösungsmittel lieferte 20% d. Th. Ein Zusatz von Ammoniak verminderte stark die Hydriergeschwindigkeit, erhöhte aber die Gesamt-Wasserstoffaufnahme und die Ausbeute an Emde-Abbauprodukt. 1 g Vomicin-chlormethylat in 25 ccm Methanol liefern auf Zusatz von 0,04 ccm konz. wäßrigem Ammoniak mit Pt aus  $PtO_2$  als Katalysator 0,385 g tertiäre Base = 45% d. Th. Vergrößerung des Ammoniakzusatzes auf 0,15 ccm bzw. 0,5 ccm steigerte die Ausbeute an Abbaubase auf 61 bzw. 72% d. Th.

70 mg  $PtO_2$  werden in 240 ccm Methanol vorreduziert; alsdann werden 10 g Methyl-vomicinium-methylsulfat gelöst und nach Zusatz von 5 ccm konz. wäßrigem Ammoniak unter Wasserstoff geschüttelt. Nach 8 Stunden ist die Wasserstoffaufnahme mit 1100 ccm beendet

<sup>33)</sup> R. B. Woodward, N. L. Wandler und F. J. Brutshy, Am. **67**, 1425 (1946).

<sup>34)</sup> Am. **62**, 3305 (1940); vgl. W. E. Doering, G. Cortes und L. H. Knox, Am. **69**, 1700 (1947).



(=2,4 Mol). Nach Entfernung des Platins wird die Methanollösung nach Zusatz von 2 cem Eisessig auf dem Wasserbad vom Lsm. befreit, der Rückstand mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet. Die getrocknete Chloroformlösung wird an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  entfärbt und hinterläßt beim Eindampfen 5,2 g eines nahezu farblosen Lacks, einem Emde-Abbau von 76 Proz. d. Th. entsprechend. Nach Lösen in 10 cem Chloroform scheiden sich auf Alkoholzusatz 2,98 g Kristalle vom Schmp. 187—194° aus. Aus den Mutterlaugen weitere 1,09 g Kristallinat vom Schmp. 122—140° und noch 0,61 g vom Schmp. 110—115°.

Nach sechsmaligem Umlösen abwechselnd aus Alkohol und Aceton erhält man eine scharf bei 204° schmelzende, in farblosen Nadeln kristallisierende Spitzenfraktion, deren Löslichkeit 12,5 mg pro cem Methanol bei 25° beträgt.

Zur Analyse gelangen aus Alkohol umkristallisierte, bei 100° i. V. getrocknete Präparate:

$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{N}_2$ (368.24)	Ber. C 71,70	H 7,66	N 7,61	$\text{NCH}_3$ 7,88
	Gef. ,, 72,37	71,74	,, 7,69	7,94
			,, 7,72	7,62
				,, 7,55

Optische Drehung:  $[\alpha]_D^{15} = +89^\circ$  (Chloroform).

Die Fraktionierung der leichter löslichen, in der Mutterlauge verbliebenen Anteile ist außerordentlich mühsam. In bescheidener Menge konnte eine Fraktion vom scharfen Schmp. 131° gefaßt werden, die nach Trocknen bei 80° i. V. folgende Analysenresultate zeigte:

Gef. C 72,20 H 7,38 N 7,56.

Es dürfte sich somit um eine isomere Base  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{N}_2$  handeln.

Für die Einheitlichkeit eines dritten Präparats vom Schmp. 180—181°, das ebenfalls auf die gleiche Bruttoformel stimmt, können wir nicht einsehen.

Mit geringerer Mühe läßt sich ein Präparat der das Hauptprodukt darstellenden hochschmelzenden Base erhalten, wenn man das quartäre Salz in wäßriger Lösung ohne Zusatz hydriert und den erhaltenen tertiären Anteil einmal umkristallisiert; man muß allerdings die sehr geringe Ausbeute in Kauf nehmen.

*Quantitative Bestimmung des bei der Hydrierung in Freiheit gesetzten Methanols:* 1 g reines Chlormethylat wird in 25 cem Wasser gelöst und mit  $\text{PtO}_2$  hydriert. Von der Hydrierlösung werden zwei Drittel abdestilliert. Die Denigès-Probe gestattet einen leichten Nachweis des Methylalkohols im Destillat. Die v. Fellenberg'sche Methode<sup>35)</sup> gestattet die quant. colorimetrische Bestimmung auf der Grundlage der Denigès-Reaktion. Mit dem Filter S57 des Zeiß-Pulfrich-Photometers wird die Eichkurve aufgenommen. Mehrere Proben ergaben 78—90% der aus der Lackausbeute an tertiärem Material zu erwartenden Methanolvmenge.

*Reaktion mit Bromwasserstoffsäure:* 600 mg der Base  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{N}_2$  vom Schmp. 204° werden in 3,6 cem Eisessig und 1,2 cem rauchender Bromwasserstoffsäure (d 1,78) in Anwesenheit von 0,3 g rotem Phosphor fünf Stunden unter Rückfluß gekocht. Aufarbeitung mit Ammoniak-Chloroform liefert den Brom-dihydrodesoxy-Körper als in Alkohol schwer lösliches Kristallinat vom Schmp. 154—156°. Ausbeute 60% d. Th.

$\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{N}_2\text{Br}$ (431.15)	Ber. C 61,25	H 6,31	N 6,49
	Gef. ,, 61,85	.. 5,94	.. 6,53.

<sup>35)</sup> Bioch. Ztschr. 85, 45 (1918).



Base  $C_{22}H_{28}O_2N_2$  (XIII)

Die Entbromung wird unmittelbar mit dem Rohprodukt des Bromkörpers vorgenommen. Dazu wird die heiße Bromwasserstoff-Lösung vom Phosphor abfiltriert, das Filtrat i. V. eingedampft, der zurückbleibende Lack in Methanol in Gegenwart einiger Tropfen Eisessig mit Zinkstaub entbromt. Nach drei- bis vierstündigem Kochen wird vom Zinkstaub abgesaugt, mit wäbrigem Ammoniak und Chloroform aufgearbeitet. Nach mehrfachem Umkristallisieren aus Methanol erhält man aus 600 mg 204-Base 140 mg eines bei 153° schmelzenden, einheitlichen Kristallisats. Zur Analyse wird bei 100° i. V. getrocknet:

$C_{22}H_{28}O_2N_2$ (352,26)	Ber. C 74,96	H 8,00	N 7,95
	Gef. ,, 75,14	,, 7,80	,, 7,72.

Das in Wasser schwer lösliche Chlorhydrat ist auch zur Reinigung der Base geeignet. Wichtig ist die Verwendung reinen Ausgangsmaterials.

Versuchen zur katalytischen Hydrierung der Base, auch mit sehr aktiven Kontakten, war kein Erfolg beschieden.

*Benzalverbindung.* 100 mg Base  $C_{22}H_{28}O_2N_2$  werden in 3 cem. abs. Alkohol gelöst, mit 0,1 cem frisch dest. Benzaldehyd und 2 Tropfen 20proz. alkoholischer Kalilauge versetzt und 15 Stunden gekocht. Beim Abkühlen kristallisieren 60 mg gelbe Nadeln, die nach Umlösen aus Chloroform-Methanol bei 185° schmelzen.

$C_{22}H_{28}O_2N_2$ (440,28)	Ber. C 79,06	H 7,32
	Gef. ,, 79,02	,, 7,03.

*Methyl-desoxyvomocinium-methylsulfat*

20 g farbloses Desoxyvomocin, aus Benzol-Methanol umkristallisiert, bei 130° im Hochvakuum getrocknet, werden in 100 cem abs. Benzol gelöst und mit 15 cem frisch destilliertem Dimethylsulfat (eine Probe darf beim Schütteln mit Wasser keine saure Reaktion geben) auf dem Wasserbad unter peinlichem Feuchtigkeitsabschluß am Rückflußkühler gekocht. Nach 20 Min. beginnen sich aus der klaren Lösung Kristallkrusten abzuschneiden; nach einer Stunde ist der Kolbeninhalt zum Kristallbrei erstarrt. Nach weiteren drei Stunden Erwärmen läßt man erkalten, saugt ab, verreibt die Krusten in der Reibschale mit Benzol, saugt ab, läßt trocknen. Ausbeute an fast farblosem Material quantitativ. Beim Versetzen der wäßrigen Lösung mit Alkali darf keine Trübung auftreten, wenn die Reagentien völlig wasserfrei waren.

Das Methyl-desoxyvomocinium-methylsulfat ist sehr leicht löslich in Wasser; aus kleinem Volumen Alkohol kristallisiert es in farblosen Stäbchen, die gegen 230° sintern und sich gegen 240° unter Aufschäumen zersetzen.

Beim Vergleich mit den quartären Salzen der Neodesoxyvomocinium-Reihe stellte sich heraus, daß die Zersetzungspunkte kein geeignetes Reinheitskriterium darstellen, in der Mischung keine Depression zeigen. Umkristallisieren der Salze bis zur Konstanz der Löslichkeit erwies sich als viel sicherer Hinweis auf Reinheit und Einheitlichkeit.

Das rohe Methyl-desoxyvomocinium-methylsulfat enthält schwankende Mengen des Salzes der Neoreihe, meist zwischen 10 und 20 % beigemischt, wie die ersten orientierenden Versuche zum Ende-Abbau ergaben. Fraktionierte Kristallisation des aus dem Methylsulfat mit Kaliumjodid in wäßriger Lösung bereiteten quartären Jodids aus Methanol gestattet die Trennung; das Neosalz ist der am schwersten lösliche Anteil.

*Methyl-desoxyvomocinium-Salze*

*Pikrat.* Leicht löslich in Aceton, schwer in Methanol. Gegen 85° beginnende Rotfärbung, langsames Erweichen bis zum bei 170° liegenden Schmp.



*Jodid.* Aus Methanol in Prismen, die sich an der Luft oberflächlich grün färben. Bei 215–220° beginnende Verfärbung, gegen 260° Schmp. (Zers.). Löslichkeit bei 19°: 30,8 mg pro cem Methanol. Analysiert wird ein bei 100° i. V. getrocknetes Präparat.

$C_{20}H_{27}O_3N_2J$  (506,16) Ber. C 54,53 H 5,38 N 5,53  
Gef. „ 54,92 „ 5,60 „ 5,38.

*Methylimidbestimmung:* 4,510 mg quart. Jodid, 3,875 mg AgJ.

Ber. für 2 (N)CH<sub>3</sub> 5,9 Gef. (N)CH<sub>3</sub> 5,5.

*Methoxybestimmung* ergab Nullwert.

*Bromid.* Scheidet sich aus der wäßrigen Lösung des Methylsulfats auf Zusatz von Natriumbromid in speckig glänzenden Blättchen aus, die aus sehr wenig Wasser umgelöst werden. Verfärbung beginnt bei 207°, bei 300° ist Subst. schwarz ohne Schmelzerscheinung. Löslichkeit bei 20° in Wasser: 124 mg pro cem.

### Überführung in Neodesoxyvomicinium-Salz

1 g reines Methyl-desoxyvomicinium-jodid (aus Methylsulfat) werden in 30 cem Methanol unter Zusatz eines kleinen Jodkristalls 2 Tage rückfließend gekocht. Einengen und fraktionierte Kristallisation liefern insgesamt 640 mg reines Ausgangsmaterial zurück; als am schwersten löslicher Anteil werden 215 mg eines quartären Jodids erhalten, dessen Löslichkeit in Methanol bei 20° zu 6,0 mg pro cem gefunden wird. Auch die erst oberhalb 240° beginnende Verfärbung entspricht den Daten des Neo-jodids.

Um die Bedingungen der Darstellung des Neo-jodids aus Desoxyvomicin und Methyljodid im Einschlußrohr nachzuahmen, wurde folgender Versuch durchgeführt: 0,3 g Methyl-desoxyvomicinium-jodid werden mit 1 cem Methyljodid im Rohr 3 Stunden auf 100° erhitzt. Der mit Schmier durchsetzte hellbraune Kristallbrei wird mit warmem Methanol digeriert. 200 mg bleiben ungelöst zurück und erweisen sich nach Umkristallisieren als reines Neodesoxyvomicin-jodmethylat. Chloroform ist ungeeignet als Lösungsmittel für die Umlagerung; es findet völlige Verschmierung statt.

### Methyl-neodesoxyvomicinium-Salze

Die Darstellung des Jodids aus farb. Desoxyvomicin und Methyljodid<sup>15a</sup>) ist präparativ sehr wenig befriedigend; die Auffindung einer brauchbaren Ersatzreaktion ist nicht gelungen. Sowohl Desoxyvomicin als auch das Methyl-neo-jodid sind praktisch unlöslich in Methyljodid. Der Versuch, durch Methanol als Lösungsmittel den Prozeß rationeller zu gestalten, führte in einer modifizierten Williamson-Synthese zu Desoxyvomicin-jodhydrat und Dimethyläther, der über die Schwefelsäureverbindung nachgewiesen wurde.

Wegen des heterogenen Reaktionsverlaufs wurden jeweils nur 1–2 g Desoxyvomicin in einem Röhrchen umgesetzt; die Base war feinst gepulvert und bei 120° im Hochvakuum getrocknet. Nach 6 stündigem Erhitzen mit 3–4 cem Methyljodid auf 100° wird abgedampft, nach Digerieren mit Methanol — mehrere Stunden stehen lassen — abgesaugt, mit Methanol-Chloroform 1:1 ausgewaschen. Das in 30–50 proz. Ausb. erhaltene Jodmethylat ist für die Abbaureaktionen genügend rein.

Aufarbeitung der Mutterlaugen: Nach Abdampfen des Lsm. i. V. wird mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet, die getrocknete Chloroformlösung an Aluminiumoxyd entfärbt, eingengt, mit Alkohol versetzt. Fraktionieren des Kristallsats aus Alkohol liefert neben farblosem Desoxyvomicin (Schmp. 206°) zu 2,5% des



Einsatzes feine farblose Nadeln, die gegen 310° unter Zers. schmelzen und mit *Neodesoxyvomycin* im Schmp. keine Depression geben. Das bei 100° i. V. getrocknete Präparat gelangt zur Analyse.

$C_{22}H_{24}O_3N_2$  (364,21) Ber. C 72,49 H 6,64  
Gef. „ 72,55 H 6,50.

*Methyl-neodesoxyvomycinium-jodid*. Mehrfach aus viel Methanol umkristallisiert farblos, gegen 245° beginnende Rötung, oberhalb 270° Zers. unter Schwärzung. Löslichkeit in Methanol bei 19°: 6,4 mg pro cem.

Methylimid-Bestimmung des Methyl-neodesoxyvomycinium-jodids:

5,341 mg Subst., 3,570 mg AgJ

$C_{23}H_{27}O_3N_2J$  (506,16) Ber. für 2 (N)CH<sub>3</sub> 5,9  
Gef. 4,3

Kein Methoxygehalt.

*Bromid*. In derben Kristallen aus Wasser. Oberhalb 240° Verfärbung und Zers. ohne Sinter- und Schmp. Löslichkeit in Wasser bei 20°: 22 mg pro cem. Die Löslichkeiten der Brom- und Jodmethylate von Desoxyvomycin und der Neobase verhalten sich also wie 5:1.

*Pikrat*. Aus Methanol in gelben Nadeln. Rötung beginnt bei 110°; langsames Erweichen bis zum Zers.-Punkt bei 190°.

### *Neodesoxyvomycin*

Die katalytische Hydrierung wird wiederholt, da das Ergebnis der früheren Analyse<sup>18)</sup> nicht eindeutig ist. Der schwer lösliche Anteil des Hydrierungsproduktes stellt die Dihydroverbindung dar, die nach mehrfachem Umkristallisieren aus Alkohol bei 327° (Block) schmilzt.

$C_{22}H_{26}O_3N_2$  (366,23) Ber. C 72,10 H 7,15  
Gef. „ 72,15 „ 6,87

*Acetylierung*: Der negative Erfolg des früheren Versuches bei 100° hat seine Ursache in der außerordentlich geringen Löslichkeit der Neobase. 250 mg Neobase werden mit 5 cem Acetanhydrid und etwas Natriumacetat gekocht, wobei die Base im Laufe von fünf Stunden in Lösung geht. Nach weiteren drei Stunden Kochen wird der Anhydridüberschuß i. V. abdestilliert, der Rückstand mit Ammoniak-Chloroform digeriert. Nach Reinigung an  $Al_2O_3$  wird eingedampft. Aus Methanol 180 mg farblose Nadelchen, die aus Essigester, dann aus Methanol umkristallisiert werden und bei 233–234° schmelzen.

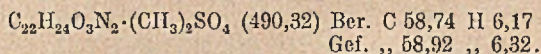
$C_{24}H_{26}O_4N_2$  (406,23) Ber. C 70,91 H 6,59 Acetyl 10,58  
Gef. „ 71,00 „ 6,26 „ 11,16  
11,52

### Gelbes Desoxyvomycin und Dimethylsulfat

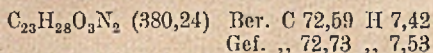
Mit 80 cem abs. Benzol und 5 cem trockenem Dimethylsulfat, die auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt werden, extrahiert man 5 g gelbes Desoxyvomycin unter strengstem Wasserabschluß aus der Hülse. Da die Bildung des quartären Salzes sehr langsam erfolgt, soll die Extraktion der Base etwa 2 Tage in Anspruch nehmen, um eine Abscheidung der gelben Base aus der benzolischen Lösung zu verhindern. Das quartäre Methylsulfat setzt sich in schwach gefärbten mikrokrist. Krusten ab, die abgesaugt und mit Benzol ausgewaschen werden. Das quartäre Salz ist sehr leicht löslich in Wasser und den Alkoholen. Umkristallisiert wird durch Lösen in wenig warmem Äthanol, tropfenweisem Zusatz von Aceton bis zur Trübung und Animpfen.



Zu Büscheln vereinigte Nadeln, die auch nach häufigem Umlösen noch blaßgelb sind und gegen 249° (Zers.) schmelzen.



Der Emde-Abbau mit Natriumamalgam liefert in 20-proz. Ausbeute die Base  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{N}_2$  vom Schmp. 178°, die das Abbauprodukt der quartären Salze des farblosen Desoxyvomycinins darstellt.

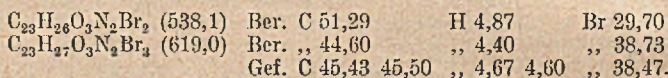


### Methyl-vomicinium-bromid und Bromwasserstoff

H. Wieland und O. Müller<sup>36)</sup> öffnen den Äthering des quartären Salzes durch Kochen mit Bromwasserstoff-Eisessig, entbromen das isolierte Brom-desoxy-vomicin-brommethylat mit Zinkstaub in Methanol-Eisessig. Da das erhaltene Desoxyvomicin-brommethylat seiner Beschreibung nach mit keiner der drei oben angegebenen quartären Salzreihen des Desoxyvomycinins übereinstimmt, wiederholten wir die Darstellung.

Die Aufarbeitung des bromierten Zwischenprodukts wurde etwas variiert. Ohne Verdünnen wurde vom Phosphor abfiltriert, das Filtrat i. V. bis zur Hälfte eingengt. Beim Abkühlen reichliche Kristallabscheidung; nach Trocknen über KOH 6 g aus 20 g Vomicin-brommethylat. Mehrfaches Umkristallisieren aus viel Methanol liefert 4 g eines einheitlichen Materials von der konstanten Löslichkeit von 7,6 mg pro ccm Methanol bei 12°. Aus den Mutterlaugen-Kristallisaten von wesentlich höherer Löslichkeit konnte kein definierter Körper erhalten werden.

Das schwer lösliche quartäre Salz wird zur Analyse bei 100° i. V. getrocknet:



Insbesondere der Bromwert läßt keinen Zweifel daran, daß nicht das Brom-desoxy-vomicin-brommethylat vorliegt, sondern dessen Hydrobromid. Zur Aufnahme der zusätzlichen Molekel HBr kommen zwei Doppelbindungen in Frage. Das farblose Desoxyvomycin addiert Bromwasserstoff an der semicyclischen Doppelbindung<sup>16)</sup>. Dennoch möchten wir annehmen, daß der vorliegende Tribromkörper den Bromwasserstoff im Lactamring aufgenommen hat. Der hydrierende Abbau zeigt nämlich, daß die zum basischen Stickstoff allylständige Doppelbindung vorhanden ist. 600 mg quartärer Tribromkörper liefern bei der Reduktion in Essigsäure mit Natriumamalgam 103 mg tertiäres Material (Rohausbeute). Beim Anreiben mit Methanol Kristalle, die auch nach häufigem Umkristallisieren keinen scharfen Schmp. besitzen und sich in ihrem Analysenergebnis keiner Formel fügen. Die katalytische Hydrierung des quartären Tribromkörpers in Wasser gibt bescheidene Mengen an tertiärem Material. Arbeiten in Methanol mit Ammoniakzusatz erhöht wie beim Vomiciniumsalz die Chance des Emde-Abbaus; aus 400 mg Salz werden 230 mg nicht krist. tertiärer Basen erhalten.

So wenig wie der hydrierende Abbau verlief auch der Versuch der Entbromung des quartären Tribromkörpers zufriedenstellend. Sowohl unter milden wie unter scharfen Bedingungen der Zinkstaubhalogenierung wird eine Substanz erhalten, deren Löslichkeit 8,5 mg pro ccm Methanol beträgt. Zers. gegen 202°. Die Analysen stimmen auf keine Formel (C 54,40 und 54,96, H 5,78 und 5,78). Desoxyvomicin-brommethylat würde C 60,13, H 5,88 erfordern. Auch die früher für das Entbromungsprodukt gegebene Analyse weicht um 5% im Kohlenstoffgehalt, allerdings nach oben, ab.

<sup>36)</sup> A. 545, 108 (1940).



## Emde-Abbau von Methyl-desoxyvomocinium-Salz

Mit Natriumamalgam. Base  $C_{23}H_{28}O_3N_2$  (XXI)

5 g reines quartäres Jodid (frei von Neo-Salz) werden in siedendem Wasser mit Silberchlorid digeriert. Das 80 ccm betragende Filtrat incl. Washwasser wird mit 10 ccm Eisessig und 15 ccm 40-proz. Natriumacetatlösung versetzt und auf siedendem Wasserbad im  $CO_2$ -Strom erwärmt. In kleinen Anteilen werden insgesamt 120 g 5-proz. Natriumamalgam unter energischem Schütteln eingetragen. So oft eine Trübung die Annäherung an den Neutralpunkt anzeigt, wird 1 ccm Eisessig zugegeben. Zum Schluß wird mit Salzsäure kongosauer gemacht und noch eine Stunde auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Eingießen in Ammoniak wird in Chloroform aufgenommen, der gewaschene und getrocknete Auszug an  $Al_2O_3$  entfärbt und auf dem Wasserbad eingedampft. Beim Anreiben des Rückstandes mit kaltem Methanol 0,9 g Kristalle. Nach mehrfachem Umlösen aus Methanol erhält man 650 mg farblose Tafeln vom konstanten Schmp. 177—178°.

Analysiert wird das bei 100° i. V. getrocknete Präparat.

$C_{23}H_{28}O_3N_2$ (380,24)	Ber. C 72,59	H 7,42	N 7,37	OCH <sub>3</sub> 8,15	NCH <sub>3</sub> 7,64
	Gef. „ 72,84	„ 7,37	„ 7,14	„ 8,57	„ 9,87

Löslichkeit in Methanol bei 17°: 6,2 mg pro ccm.

$$\alpha_D^{20} = +4,54 \quad [\alpha]_D^{20} = +190^\circ \text{ (Chloroform)}$$

Mit katalytisch erregtem Wasserstoff. Basen  $C_{22}H_{30}O_2N_2$ 

Das verwendete Methyl-desoxyvomocinium-methylsulfat war das aus den Komponenten erhaltene Rohmaterial, das, wie sich später herausstellte, 15—18% des Salzes der Neo-Reihe enthielt.

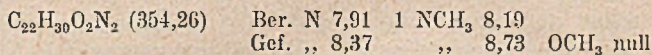
5 g quartäres Salz werden in 40 ccm Wasser gelöst und mit 0,1 g Platinoxid unter Wasserstoff geschüttelt. Nach 4 Stunden ist mit 895 ccm (3,5 Mol) die Wasserstoffaufnahme beendet. Der mit Ammoniak gefällte voluminöse Niederschlag wird abgesaugt, gut mit Wasser gewaschen und scharf getrocknet: 3,53 g. Diese nahezu der Theorie entsprechende Ausbeute an tertiärer Base sowie die Tatsache, daß im wäßrigen Filtrat keinerlei quartäres Material nachweisbar ist, deuten auf einen quantitativen Emde-Abbau.

Das tertiäre Material wird in 80 ccm heißem Methanol gelöst, nach Aufkochen mit Tierkohle auf 20 ccm eingeengt. Die schon in der Hitze beginnende Kristallausscheidung ist nach 4-stündigem Stehen bei Raumtemp. beendet: 1,59 g vom Schmp. 160—200°. Fraktionierte Kristallisation aus Chloroform-Methanol ergibt, daß es sich um ein Gemisch gleicher Teile der isomeren Hydrierbasen des Desoxyvomocins handelt.

Der schwerer lösliche Anteil, von dem etwa 0,45 g in reinem Zustand erhalten werden können, ist die Base vom Schmp. 210—212°, identisch

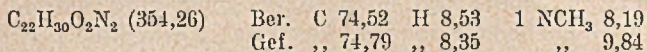


in Schmp., Misch-Schmp., Drehwert, Kristallform und Löslichkeit. In farblosen Prismen aus Alkohol.



$$[\alpha]_D^{20} = +74^\circ \text{ (Chloroform); frühere Angabe}^{15a)}: +73^\circ$$

Aus dem leichter löslichen Kristallisat werden 380 mg der isomeren Base in reinstem Zustand erhalten. Aus Alkohol farblose, glasklare Polyeder vom Schmp. 179—180°. Keine Depression mit einem Präparat aus Desoxyvomycin.



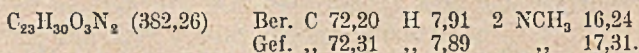
$$\text{Drehwert in Chloroform: } [\alpha]_D^{20} = -101^\circ.$$

Die methanolische Mutterlauge des Mischkristallisats hinterläßt beim Eindampfen einen Lack, der in Chloroform aufgenommen, an Aluminiumoxyd gereinigt wird. Der Eindampfrückstand kristallisiert nach längerem Stehen aus Aceton. Nach mehrfachem Umlösen erhält man 135 mg verfilzte, seidige Nadeln vom Schmp. 177°. Es handelt sich um das Emde-Abbauprodukt des als Verunreinigung dem Ausgangsmaterial beigemengten Neo-Salzes.

Bestimmung des Methanols in der Hydrierlösung. Das mehrfach umkristallisierte quartäre Jodid wird mit Silberbromid in das Brommethylat übergeführt. 1 g quartäres Bromid wird in 35 ccm Wasser gelöst und mit Platin hydriert. Unbeschadet des gegen Ende der Wasserstoffabsorption sich ausscheidenden Bromhydrats wird in Destillationsapparatur übergeführt. Von dem mit dem Waschwasser 45 ccm betragenden Volumen werden 25 ccm abdestilliert. Mit dem S. 206 erwähnten Verfahren wird die Methanolmenge zu 52 mg bestimmt, was einer Abspaltung von 0,75 Äquivalenten Methylalkohol bei der Hydrierung entspricht.

### Der Emde-Abbau des Methyl-neodesoxyvomycinium-Salzes mit Natriumamalgam

Die früher gegebene Vorschrift<sup>9)</sup> kann durch Arbeiten in konzentrierterer Lösung und Verwendung eines größeren Überschusses an Natriumamalgam erheblich verbessert werden. 4,1 g Neodesoxyvomycin-chlormethylat werden wie oben mit insgesamt 110 g 5proz. Natriumamalgam unter Stickstoff behandelt. Es wird mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet, die gewaschene, getrocknete und an einer Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Säule entfärbte Chloroformlösung eingedampft und mit Alkohol versetzt. Unter Aufarbeitung der Mutterlauge beträgt die Gesamtausbeute an krist. Rohprodukt 2,33 g (62% d. Th.). Etwa die Hälfte davon wird bei der Fraktionierung aus Methanol oder Essigester als Spitzenfraktion vom Schmp. 217° erhalten. Dieser Anteil ist die früher beschriebene Base C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> (frühere Schmp.-Angabe 220°). Diese Base sei als Base I gekennzeichnet, da aus ihren Mutterlauge eine Base C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> II nach langwieriger frakt. Kristallisation aus Äthanol und Essigester isoliert werden konnte. Aus Essigester klare Polyeder, die an der Luft verwittern und bei 206° schmelzen. Mischung mit farblosem Desoxyvomycin (Schmp. 206°) schmilzt bei 174—179°. Zur Analyse gelangt ein bei 100° i. V. getrocknetes Präparat.



$$\text{Optische Drehung in Chloroform: } [\alpha]_D^{20} = +34^\circ.$$

Für die Base I wurde die Drehung zu +99° bestimmt. Die Ausbeute am Isomeren II ist gering. Während die Base I sehr leicht 2 Mol katalytisch erregten Wasser-



stoffs aufnimmt, wird die Base II unter den Bedingungen der Mikrohydrierung mit  $\text{PtO}_2$  in Eisessig unverändert zurückgewonnen.

*Jodmethylat der Base  $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{N}_2$  I:* 1 g Base wird mit 4 ccm Methanol und 1 ccm Methyljodid gekocht. Nach kurzer Zeit ist die Base in Lösung gegangen, und schon in der Hitze scheidet sich das schwer lösliche quartäre Salz ab. Nach zweimaligem Umlösen aus Methanol prismatische Stäbchen vom Schmp. 294°.

*Jodmethylat der Base  $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{N}_2$  II* wird analog erhalten. Das leicht lösliche Salz schmilzt nach Umkristallisieren aus Methanol bei 280° (Zers.).

#### Acetylierung der Base $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{N}_2$ I

250 mg Substanz werden mit 5 ccm Essigsäureanhydrid drei Stunden gekocht, das überschüssige Anhydrid nach dem Erkalten mit Wasser zerstört. Aufarbeitung mit Ammoniak-Chloroform. Der Abdampfückstand wird mehrfach mit warmem Petroläther-digiert. Nach Einengen der Auszüge und kurzem Stehen Kristallisation in zu Büscheln vereinigten Nadeln. Nach dreimaligem Umlösen aus Petroläther Schmp. 137—138°. Analysenpräparat bei 100° i. V. getrocknet.

$\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_2$ (424,28)	Ber. C 70,71	H 7,60
$\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_5\text{N}_2$ (466,29)	Ber. „ 69,48	„ 7,35
	Gef. „ 69,68	„ 7,22.

Acetylbestimmung: 23,9 mg Substanz; Verbrauch an  $n/30\text{-NaOH}$  entspricht 4,501 mg  $\text{COCH}_3$ .

Ber. für 2	— $\text{COCH}_3$ 18,45
Gef.	— $\text{COCH}_3$ 18,84.

#### Emde-Abbau von Methyl-neodesoxyvomicinium-chlorid durch katalytische Hydrierung

Aus 1 g quartärem Jodid wird mit frisch gefälltem Silberchlorid das Chlormethylat bereitet, das in 20 ccm Wasser gelöst unter Zusatz eines Tropfens 2n-Salzsäure mit  $\text{PtO}_2$  unter Wasserstoff geschüttelt wird. Nach 7 Stunden ist die Gasaufnahme mit 150 ccm (3,3 Mol) beendet. Die übliche Aufarbeitung liefert als gesamten Tertiäranteil 750 mg, was einem quantitativen Emdeabbau entspricht. Es bedarf fünfmaligen Umkristallisierens aus wenig Methanol, bis mit 177° der konstante Schmp. erreicht ist. Farblose, verfilzte seidige Nadeln, die zur Analyse bei 100° i. V. getrocknet werden.

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{N}_2$ (384,28)			
Ber. C 71,82	H 8,40	N 7,29	2 $\text{NCH}_3$ 15,1
Gef. „ 72,12; 72,15	„ 8,57; 8,39	„ 6,90; 7,10	„ 18,1.

#### Reduktion mit Natriumamalgam

150 mg der vorstehenden Base vom Schmp. 177° werden in Essigsäure-Natriumacetat mit 10 g 5-proz. Natriumamalgam behandelt. Die übliche Aufarbeitung ergibt nach Vorreinigung an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  aus Methanol mit 30—35% Ausbeute Kristalle, die bei 181—187° schmelzen. Nach dreimaligem Umlösen, zuerst aus Aceton, dann aus Methanol erhält man farblose Oktaeder vom konstanten Schmp. 194—195°.



Nach Trocknen bei 100° i. V. wird analysiert.

$C_{23}H_{34}O_3N_2$ (386,30)	Ber. C 71,45	H 8,87	N 7,26
	Gef. „ 71,14	„ 8,99	„ 7,64.

Die vermutete Identität mit dem hochschmelzenden Tetrahydroderivat (Schmp. 214°)<sup>9)</sup> der Base  $C_{23}H_{28}O_3N_2$  (Schmp. 217°) erwies sich als unzutreffend; der Mischschmp. liegt bei 175—181°.

### Die Eliminierung des basischen Stickstoffs aus den Emde-Abbauprodukten des Methyl-neodesoxyvomiciniumsalses

Setzt man aus den Jodmethylaten der Base  $C_{23}H_{30}O_3N_2$  I (Schmp. 217°) sowie ihrer Tetrahydroderivate die quartären Basen in Freiheit, tritt sofort Trimethylamin-geruch auf. Die quant. Verfolgung der Spaltung mit methylalkoholischer Kalilauge im Rohr ergibt nach W. Weißkopf<sup>37)</sup> 70% d. Th. an flüchtiger Base. Das Fehlschlagen der Isolierungsversuche des nichtbasischen Reststücks dürfte mit der Alkaliempfindlichkeit der genannten Basen zusammenhängen. Die bei der Base  $C_{23}H_{30}O_3N_2$  zu beobachtenden irreversiblen Veränderungen bei der Behandlung mit milden Alkalien beruhen übrigens nicht auf der Öffnung des Lactamringes, wie die fehlende Autoxydabilität zeigt.

### *Desaza-desoxy-vomicin*

106 mg Jodmethylat der Base  $C_{23}H_{30}O_3N_2$  I werden in einer kleinen Retorte im Metallbad im Hochvakuum erhitzt. Gegen 270—280° Badtemperatur geht ein hellgelbes Öl über, im Kolben verbleibt keinerlei Rückstand. Das lackartig erstarrte Destillat wird in Chloroform aufgenommen. Nach Waschen mit Wasser, verd. Salzsäure und wieder Wasser wird die Chloroformlösung getrocknet und eingedampft. Aus wenig Äther nach kurzem Stehen 15,6 mg farblose Polyeder des Desazakörpers, einer Ausbeute von 23 Proz. d. Th. entsprechend. Umkristallisieren aus wenig Alkohol führt zu zarten Nadeln, die bei 186° schmelzen.

3,181 mg Substanz (bei 100° i. V. getr.): 8,755 mg  $CO_2$ , 1,908 mg  $H_2O$ ; 3,310 mg Subst., 0,128 ccm  $N_2$  (21°, 724 mm).

$C_{21}H_{23}O_3N$ (337,19)	Ber. C 74,74	H 6,87	N 4,16
	Gef. „ 75,05	„ 6,71	„ 4,28.

Desaza-desoxy-vomicin ist auch in konz. wäßrigen Säuren unlöslich. Beim Versuch der Mikro-hydrierung mit  $PtO_2$  in Alkohol werden 2,3 Mol Wasserstoff aufgenommen; das Hydrierungsprodukt krist. nicht.

Auch die thermische Zersetzung des bei 219° schmelzenden Chlormethylats ist präparativ verwendbar; schon Erhitzen des Chlormethylats im Reagenzglas über freier Flamme ergibt eine kleine Menge des krist. Desazakörpers. Die thermische Zersetzung im Hochvakuum muß schnell vor sich gehen, was den Kleinmaßstab vorteilhaft erscheinen läßt. Bei größeren Ansätzen, schon bei 500 mg Jodmethylat, wird aus dem schmierigen Reaktionsprodukt viel weniger Desazakörper isoliert.

### *Tetrahydro-desaza-desoxy-vomicin A*

Bei der katalytischen Hydrierung der Base  $C_{23}H_{30}O_3N_2$  I entstehen zwei isomere Tetrahydrobasen<sup>9)</sup>. Das Hauptprodukt schmilzt bei 150—151° und sei mit A ge-

<sup>37)</sup> Dissertation München 1942.



kennzeichnet; das in minderer Menge auftretende Isomere B hat den Schmp. 212 bis 214°.

Das Jodmethylat der Base A, aus den Komponenten bei Raumtemperatur erhalten, kristallisiert aus Methanol in Nadeln, die bei 265° schmelzen. 300 mg Jodmethylat werden wie oben thermisch zersetzt. Bei 240–250° im Hochvakuum destilliert hellgelbes Öl, in das Kristalle des sublimierten Trimethyl-ammonium-jodids eingebettet sind. Aufarbeitung wie oben. Aus Äther 80 mg derbe Blöckchen, die aus Äther oder Alkohol umkristallisiert werden zu quadratischen Prismen vom Schmp. 246°.

$C_{21}H_{27}O_3N$ (341,23)	Ber. C 73,85	H 7,98	N 4,11
	Gef. „ 74,07	„ 8,62	„ 4,38.

*Acetylierungsversuch.* Einige cg Desazakörper werden mit 0,5 cem Acetanhydrid mehrere Stunden auf sied. Wasserbad erhitzt. Nach Abdestillieren des Überschusses Anhydrid i. V. wird in Methanol aufgenommen, dessen Rückstand zur Reinigung bei 260° im HV. destilliert. Aus wenig Alkohol Kristalle, die mit dem Ausgangsmaterial in Schmp. und Mischschmp. identisch sind.

*Versuch der Hydrazonbildung.* 15 mg Desazakörper werden in 2 cem Alkohol gelöst und mit 6 cem kaltesätt. Lösung von 2,4-Dinitro-phenylhydrazin in *n*/HCl drei Stunden auf siedendem Wasserbad erwärmt, wobei der Alkohol langsam abdestilliert. Nach fünfständigem Stehen bei Raumtemperatur wird von der amorphen Fällung dekantiert, diese mit Methanol angerieben. Nach kurzem Stehen schwach gefärbte, derbe Prismen, identisch mit dem Ausgangsmaterial.

Beim *Versuch der katalytischen Hydrierung* wird keine Wasserstoffaufnahme erzielt, der Desazakörper unverändert zurückgewonnen.

#### *Tetrahydro-desaza-desoxy-vomicin B*

Das farblose Jodmethylat der Base B ist in Methanol leicht löslich und schmilzt gegen 260° u. Zers.

98 mg Jodmethylat werden wie oben thermisch gespalten. Aus Aceton-Wasser erhält man 25 mg verfilzte Nadeln, die nach Umlösen aus Äther bei 182° schmelzen. Aus dem salzsauren Auszug können 10 mg der Base  $C_{23}H_{31}O_3N_2$  B zurückgewonnen werden; neben der Eliminierung des Stickstoffs findet also auch eine Abspaltung von Methyljodid statt. Die Ausbeute an Desazakörper beträgt unter Berücksichtigung des wiedergewonnenen Ausgangsmaterials 46% d. Th.

$C_{21}H_{27}O_3N$ (341,23)	Ber. C 73,85	H 7,98
	Gef. „ 74,11	„ 7,75.

Auch hier gibt der Versuch der Acetylierung das Material unverändert zurück.

## Ein einfaches Verfahren zur Gewinnung von $\alpha$ -Angelicalacton und über die hydrierende Spaltung sauerstoffhaltiger Ringe

Von *Johann Heinrich Helberger, Seyit Ulubay und Halidun Civelekoglu*

[Eingelaufen am 26. November 1946]

Destilliert man Lävulinsäure unter Normaldruck, so erfolgt, wie zuerst L. Wolff<sup>1)</sup> beobachtete, stets in mehr oder minder großem Umfang

<sup>1)</sup> A. 229 249 (1885).





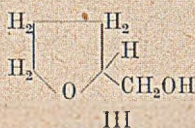




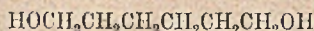
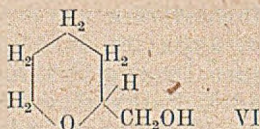
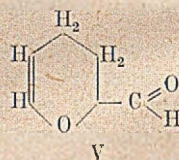


Bei der spaltenden Hydrierung des *Tetrahydrofurfuralkohols* (III), des bei der erschöpfenden Hydrierung des Furfurols entstehenden Produktes, in Gegenwart der von H. Adkins und Connor<sup>8)</sup> zuerst beschriebenen Kupfer-Chromit-Kontakte bei Temperaturen oberhalb 200° entsteht nach Connor und Adkins<sup>9)</sup> ausschließlich 1,5-Pentandiol (IV). Natta und Mitarb.<sup>10)</sup> kamen zu dem gleichen Befund, und eigene Versuche bestätigten ebenfalls diese Ergebnisse. Unter den im Versuchsteil angegebenen Bedingungen erzielten wir gegen 45% Ausbeute an 1,5-Pentandiol, der Rest war im wesentlichen unveränderter Tetrahydrofurfuralkohol.

In diesem Zusammenhang interessierte die Frage, wie sich 2-Oxy-methyl-tetrahydropyran (VI) bei der spaltenden Hydrierung unter analogen Bedingungen verhalten würde. Durch katalytische Hydrierung des von Scherlin, Berlin, Sserebrennikowa und Rabinowitsch<sup>11)</sup> zuerst dargestellten, von K. Alder und E. Rüden<sup>12)</sup> in seiner Konstitution als 2-Formyl-dihydropyran (V) sichergestellten dimeren Acroleins unter milden Bedingungen in Gegenwart von Raney-Nickel gewannen wir den gesättigten Alkohol (VI); dieser nahm in Gegenwart eines nach den Angaben von Adkins und Connor<sup>9)</sup> dargestellten bariumhaltigen Kupfer-Chromit-Kontaktes erst bei etwa 300° Wasserstoff auf. Aus dem Hydrierungsprodukt gewannen wir, neben Hexylalkohol und unverändertem Tetrahydropyran-Alkohol, in etwa 26-proz. Ausbeute 1,6-*Hexamethylendiol* (VII) in besonders reiner Form; die Verbindung wurde durch Schmp. (42°) und durch Oxydation zu Adipinsäure identifiziert.



IV



VII

Demnach verläuft auch hier die hydrierende Spaltung in gleichem Sinn wie bei Tetrahydrofurfuralkohol; die offenbar größere Stabilität des sauerstoffhaltigen Sechsrings erfordert allerdings höhere Temperaturen, die dafür verantwortlich zu machen sind, daß ein Teil des Diols bereits weiter bis zum Hexanol hydriert wird.

<sup>8)</sup> Am. Soc. 53, 1091 (1931); vgl. Z. ang. Ch. 1941, 470.

<sup>9)</sup> Am. Soc. 54, 4678 (1932).

<sup>10)</sup> La Chimica e l'Industria 1941.

<sup>11)</sup> C. 1939, II, 1971.

<sup>12)</sup> B. 74, 905 (1941).



Den Herren Dr. Scheuing (C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim), Dr. Hentrich (Deutsche Hydrierwerke, Rodleben) und Dr. Schulz (Degussa, Frankfurt a. M.) sprechen wir für die Überlassung von Lävulinsäure, Tetrahydrofurfuralkohol und Acrolein unseren ergebensten Dank aus.

## Beschreibung der Versuche

### Darstellung des $\alpha$ -Angelicalactons

500 g Lävulinsäure wurden mit 5 g techn. sirrpöser Phosphorsäure versetzt. Das Gemisch wurde in einem 1 l-Rundkolben, mit Kapillare und einer 20 cm langen Widmerspirale versehen, in einem Heizbad vorsichtig erhitzt. An die Widmerspirale schloß ein absteigender Kühler und eine Vorlage an. Während des Versuches wurde ein Druck von 15 mm aufrecht erhalten. Nachdem das Heizbad auf etwa 150–160° erhitzt war, begann das gebildete Lacton mit Wasser überzugehen. Nach Beendigung der Destillation waren in dem Kolben 17,5 g harziger Rückstand verblieben. Der Inhalt der Vorlage, bestehend aus zwei Schichten, wurde nach Abtrennung des Wassers nochmals i. V. destilliert. Das  $\alpha$ -Angelicalacton ging bei 55–56°/13 mm als farblose Flüssigkeit über; beim Einstellen in Eiswasser erstarrte sie sofort unter Ausbildung schöner großer Kristalle, die bei 17–18° wieder schmolzen. Die Ausbeute betrug 400 g, entsprechend fast 95% d. Th.

*Lävulinsäureamid.* 100 g Methanol wurden bei 0° mit Ammoniak gesättigt; Aufnahme 34 g. Unter Eiskühlung und gutem Rühren ließ man 49 g =  $\frac{1}{2}$  Mol  $\alpha$ -Angelicalacton zutropfen und, nachdem alles zugegeben war, noch eine halbe Stunde weiter rühren. Dann wurde i. V. völlig eingedampft, wobei das Amid zuerst als Öl, das jedoch bald durchkristallisierte, in praktisch quantitativer Ausbeute erhalten wurde. Durch Umkristallisieren aus Chloroform-Alkohol wurden 30 g reines Amid erhalten, entsprechend etwa 70% d. Th. Schmp. 107–108°.

*Lävulinsäureanilid.* 9,3 g Anilin wurden unter Rühren und Kühlung mit Eis mit 9,8 g  $\alpha$ -Angelicalacton versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde noch zwei Stunden stehen gelassen und dann durch Reiben der Kolbenwand der Inhalt zur Kristallisation gebracht. Das rohe Anilid wurde zerkleinert, mit Äther gewaschen und getrocknet. Rohausbeute 14 g. Aus Alkohol oder Wasser wurde das Anilid in Form langer, bei 99–100° schmelzender Nadeln erhalten.

### Katalytische Hydrierung des $\alpha$ -Angelicalactons mit Kupfer-Chromit

250 g frisch destilliertes  $\alpha$ -Angelicalacton wurden in einem 1 l-Schüttelautoklaven zusammen mit 25 g bariumhaltigem Kupfer-Chromit-Kontakt zuerst bei 150° hydriert, bis kein Wasserstoff mehr aufgenommen wurde, was nach wenigen Minuten bereits der Fall war. Dann wurde nochmals Wasserstoff aufgepreßt und auf 240° erhitzt, wobei wieder so lange gehalten wurde, bis der Wasserstoffdruck nicht mehr merklich zurückging. Nach dem Erkalten wurde in der üblichen Weise, nach Abtrennen des Kontaktes durch Filtration, durch fraktionierte Destillation i. V. aufgearbeitet. Nach einem ziemlich erheblichen Vorlauf, bestehend vornehmlich aus Valerolacton, ging das 1,4-Pentandiol bei 136°/12 mm über. Die Ausbeute betrug 177 g, entspr. 68% d. Th.

### Spaltende Hydrierung des Tetrahydrofurfuralkohols

600 g Tetrahydrofurfuralkohol wurden mit dem vorstehend verwendeten Katalysator in einer Menge von 50 g in einem 2 l fassenden, aus V4A-Stahl konstruierten Schüttelautoklav der Firma Andreas Hofer, Mülheim-Ruhr, unter einem Wasserstoffanfangedruck von 150 atü erhitzt. Bei einer Temperatur von 267°, bei der der Druck 265 atü erreicht war, begann die Wasserstoffaufnahme, die nach acht Stunden



praktisch aufhörte; der Druck betrug bei der gleichen Temperatur noch 177 atü. Nach dem Erkalten wurde der Kontakt abgesaugt und das Filtrat fraktioniert destilliert. Nach einem Vorlauf von unverändertem Tetrahydrofurfuralkohol ging das 1,5-Pentamethylenglykol konstant bei 130°/14 mm in einer Menge von 270 g = 45% d. Th. über.

*2-Oxymethyl-tetrahydropyran (VI)*. Das für die Hydrierung verwendete dimere Acrolein (V) wurde nach den Angaben von Alder und Rüden<sup>12)</sup> gewonnen. 387 g (3,49 Mol) wurden in 400 ccm Methanol gelöst und, nach dem Versetzen mit genügender Menge Raney-Nickel, bei 100–125° unter einem Wasserstoffdruck von 100–200 atü bis zur Beendigung der Wasserstoffaufnahme hydriert. Die Aufarbeitung geschah nach dem Abtrennen des Katalysators durch fraktionierte Destillation. Der Tetrahydropyranalkohol ging bei 70–72°/12 mm als farblose Flüssigkeit über und wurde mit einer Ausbeute von fast 70% d. Th. gewonnen.

### Spaltende Hydrierung des 2-Oxymethyl-tetrahydropyrans

252 g Substanz wurden in einem 1 l fassenden, aus V4A-Stahl konstruierten Schüttelautoklaven der Firma Andreas Hofer mit 25 g eines nach Adkins gewonnenen bariumhaltigen Kupferchromit-Katalysators unter einem Wasserstoffanfangedruck von 170 atü auf 300° erhitzt. Der Druck betrug jetzt 300 atü und begann langsam im Verlauf von 7½ Stunden bis auf 254 atü abzusinken. Nach dieser Zeit wurde abgebrochen und in üblicher Weise aufgearbeitet. Bei der Destillation gingen zunächst etwa 10% d. Th. Hexylalkohol und etwa 25% d. Th. des Tetrahydropyranalkohols als Vorlauf, dann das 1,6-Hexandiol in einer Ausbeute von etwa 26% d. Th. bei 142°/13 mm als farbloses, bald kristallin erstarrendes Öl über. Nach dem Abpressen auf Ton hatte das Diol den in der Literatur angegebenen Schmp. 42°.

### Oxydation des 1,6-Hexandiols zu Adipinsäure

In einem Becherglas wurden 71 g 50proz. Salpetersäure zum Sieden erhitzt und eine kleine Menge des Diols eingetragen. Nachdem die Oxydation in Gang gekommen war, wurde gekühlt und unter gutem Rühren wurden im ganzen 20 g Diol langsam eingetragen; die Temperatur überschritt nicht 55–60°. Nach Beendigung der Reaktion wurde auf 0° abgekühlt und die auskristallisierte Adipinsäure isoliert. Nach dem Umkristallisieren hatte die Säure den richtigen Schmp. von 148° und gab mit käuflicher Adipinsäure keine Depression.

## Über die Sandmeyersche Reaktion I

### Die Bildung von Phenolen und Halogenbenzolen bei der Zersetzung der Diazoniumhalogenide

Von E. Pfeil

Mit 2 Figuren im Text

[Eingelaufen am 6. November 1948]

Es ist bekannt, daß die Diazoniumhalogenide bei der Verkoehung in wässriger Lösung neben Phenolen mehr oder weniger große Mengen von Halogenbenzolen liefern<sup>1)</sup>. Dabei kann deren Anteil recht beträchtlich

<sup>1)</sup> Crossley, Kientle und Benbroock, Amer. Chem. Soc. **62**, 1400 (1940).

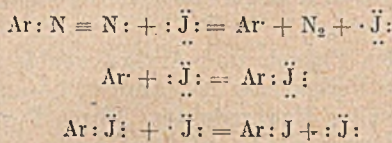


werden. So wurde aus Benzol-diazoniumchlorid in starker Salzsäure 40% der theoretischen Ausbeute an Chlorbenzol erhalten<sup>2)</sup>; Hantzsch<sup>3)</sup> fand sogar über 50%, wenn er festes Benzol-diazoniumchlorid in der gleichen Gewichtsmenge Wasser zersetzte.

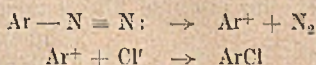
Der Ablauf der Umsetzungen in Wasser wurde von den verschiedenen Beobachtern in unterschiedlicher Weise formuliert. Waters<sup>4)</sup> vertritt die Ansicht, daß die Phenole aus Arylionen entstehen, die primär im Reaktionsknäuel auftreten und sich dann mit dem Wasser umsetzen sollen.



Für die Aryljodide schlägt Waters einen Mechanismus vor, bei welchem zwei Jodionen im Spiel sind:



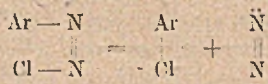
Nach Hodgson kann auch die Bildung der Halogenbenzole über eine primäre Arylionenstufe ablaufen<sup>5)</sup>:



Die Phenole sollen dagegen durch Zerfall der Diazohalogenide gebildet werden<sup>6)</sup>.

Eistert<sup>7)</sup> betrachtet den wirklichen Reaktionsweg als einen Grenzmechanismus, der zwischen der ionischen und der radikalischen Formulierung liegen soll.

Hantzsch<sup>8)</sup> hatte schon früher die Diazohalogenide als Zwischenprodukte der Arylhalogenid-Synthese betrachtet:



<sup>2)</sup> Gasiorowsky und Wayss, Ber. 18, 337 (1885).

<sup>3)</sup> Ebenda 33, 2527 (1910).

<sup>4)</sup> Chem. Soc. 1942, 266.

<sup>5)</sup> Chem. Soc. 1944, 393; 1945, 819.

<sup>6)</sup> Hodgson und Marsden, Journ. Soc. Dyers Color. 60, 16 (1944); 61, 20 (1945).

<sup>7)</sup> In Holzach: Die aromatischen Diazoverbindungen, 1947, S. 212.

<sup>8)</sup> Ber. 33, 2517 (1900).



Den Weg über die Arylionen lehnt Hantzsch ausdrücklich ab, und zwar mit folgender Begründung: Wenn ein spontaner Zerfall des Diazoniumions möglich wäre, so müßte diese erste Reaktionsstufe zugleich die Geschwindigkeit der Gesamtreaktion bestimmen, da sich in der Folge nur Ionenreaktionen anschließen. Damit müßten alle Diazoniumsalze mit gleichem Kation ungefähr gleich schnell zerfallen bzw. gleichmäßig stabil sein. Das ist erfahrungsgemäß durchaus nicht der Fall; bei gleichem Kation zeigen die Diazoniumsalze teilweise enorme Unterschiede in ihrer Stabilität.

Es ist aus diesem Grunde wahrscheinlich, daß Hantzsch Recht hat und daß alle Zersetzungen der Diazoniumsalze in Umsetzungen mit irgendwelchen Partnern bestehen. Vielleicht müssen hier die Reaktionen unter Lichteinwirkung ausgenommen werden. Die oben genannten Theorien von Waters bzw. Hodgson, welche einen spontanen Zerfall des Diazoniumions zur Grundlage haben, dürften damit wohl nicht der Wirklichkeit entsprechen.

Bekanntlich bilden Phenole und Arylhalogenide den weitaus größten Teil des bei der Verkoehung in wäßriger Lösung aus Diazoniumhalogeniden entstehenden Endproduktes. Durch Bestimmung des Phenols, etwa mittels Bromtitration, erfaßt man also als Differenz zu 100 zugleich das Halogenbenzol. Das Titrationsverfahren ist der präparativen Aufarbeitung des Ansatzes an Geschwindigkeit und Genauigkeit überlegen. Ich habe jedoch, um sicher zu sein, einzelne Versuche präparativ aufgearbeitet, um mich zu überzeugen, daß beide Methoden

innerhalb der Fehlergrenzen gleiche Resultate ergeben.

Alle Messungen wurden mit *p*-Nitrobenzol-diazoniumchlorid ausgeführt, welches in wäßriger Lösung wechselnden Gehaltes an Salzsäure bei 100° zersetzt wurde. Dabei zeigte es sich zunächst, daß die Ausbeute an Halogenbenzol durch die Salzsäurekonzentration in der Lösung bestimmt wurde. Die Ergebnisse sind in Fig. 1 dargestellt.

Man sieht, daß bei hohen Konzentrationen an Salzsäure die Ausbeuten 60% d. Th. übersteigen können. Die Salzsäure läßt sich

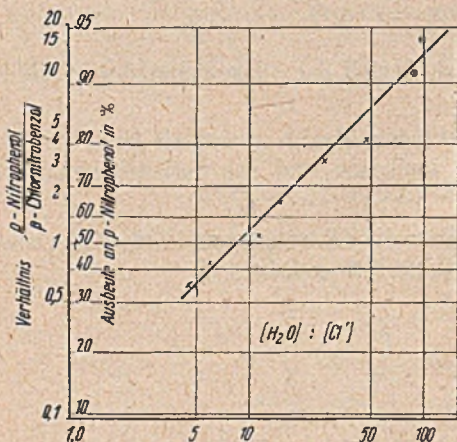


Fig. 1

Die mit  $\odot$  bezeichneten Punkte sind durch Bestimmung der Abnahme des titrierbaren  $Cl'$  gefunden



übrigens weitgehend durch neutrale Chloride ersetzen. In der folgenden Versuchsreihe, die in Fig. 2 dargestellt wird, blieb die Chlorionen-Konzentration in Lösung konstant, es wurde aber ein Teil der Salzsäure durch die äquivalente Menge Kaliumchlorid ersetzt, ohne daß eine wesentliche Änderung in der Ausbeute an p-Chlornitrobenzol eingetreten wäre. Wenn sich auch die Reaktion in weitem Maße als unabhängig von der Wasserstoffionen-Konzentration erweist, so scheint doch ein völliger Ersatz der Säure nicht möglich, da — wenigstens im Falle des p-Nitrobenzol-diazoniumchlorids — Nebenreaktionen das Bild der Hauptreaktion verwischen.

Fig. 2 beweist, daß das p-Chlor-nitrobenzol durch Umsetzung mit dem Chlorion gebildet wird. Außerdem folgt noch aus der Unabhängigkeit der Phenolausbeute von der Wasserstoffionen- bzw. Hydroxylionenkonzentration, daß letzteres Ion bei der Bildung des p-Nitrophenols keine Rolle spielt.

Die Auswertung der Kurve in Fig. 1 ergibt folgendes Bild: die gefundene Gerade entspricht einem Gleichgewicht, d. h. die in einer an sich irreversiblen Reaktion erhaltenen Endausbeuten verhalten sich so zu einander, als ob sie die Reaktionsprodukte eines sich in dynamischem Gleichgewicht befindenden Systems seien. Da es selbstverständlich zwischen den Endprodukten Phenol und Halogenbenzol kein reversibles Gleichgewicht gibt, muß das die Ausbeute bestimmende Gleichgewicht, an welchem Wasser und Chlorion beteiligt sind, am Anfang der Reaktion stehen. Gleichsam als Scheideweg reguliert es die Verteilung der Diazoniumionen zwischen Wasser und Chlorion. Die Einstellung dieses Gleichgewichtes muß sehr schnell vor sich gehen, während die Folge-

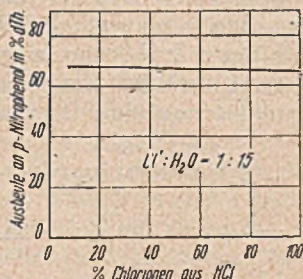


Fig. 2

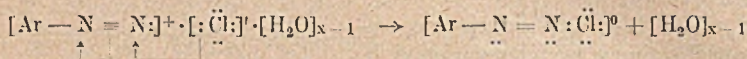
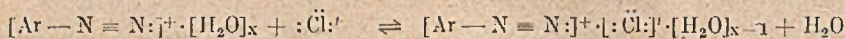
reaktionen vergleichsweise langsam ablaufen und irreversibel sein müssen. Es ist aber wichtig, daß diese Feststellung nur unter der Voraussetzung gültig sein kann, daß allen Messungen nicht die Konzentration der Reaktionsteilnehmer, sondern — wie in der Darstellung der Fig. 1 geschehen — das Verhältnis dieser Konzentrationen zugrunde gelegt wird. Nur unter dieser Voraussetzung bleibt das Massenwirkungsgesetz in Kraft, da sich zwar die Aktivitäten aller Ionen und Moleküle mit ihrer Konzentration ändern, das Verhältnis der Aktivitäten wegen des gleichen Ganges der Veränderung praktisch gleich dem Verhältnis der analytisch bestimmbar Konzentrationen bleibt.

Am besten erklärt die Vorstellung von Hantzsch alle aufgeworfenen Fragen. Es ist nur notwendig, sie zu erweitern und der heutigen Anschauung anzupassen. Danach muß die Reaktion bei dem völlig hydra-



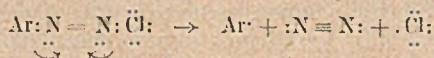
tierten Diazoniumion einsetzen. Unter Verdrängung eines Wassermoleküls aus dieser Hydrathülle kann sich ein Halogenion dem Diazoniumion nähern. Die Existenz solcher Komplexe, welche als nicht ionisierte Salzmoleküle anzusprechen sind, dürfte in allen praktisch vorkommenden Verdünnungen als gesichert anzusehen sein. Diese Verdrängung eines Hydratwassermoleküls ist die Stufe, welche als Gleichgewichtsreaktion das Aussehen der Ausbeutekurve bestimmt. Sie verläuft sicherlich mit hoher Geschwindigkeit, so daß die Einstellung des Gleichgewichtes genügend rasch erfolgt.

Unter Übergang in die Azoform kann das Diazoniumion in der zweiten Reaktionsstufe das Chlorion aufnehmen. Diese Umwandlung in die Azoform muß Energie verbrauchen und als die langsamste Reaktionsstufe geschwindigkeitsbestimmend sein. Alle echten Diazoniumsalze liegen in Lösung in der Diazoniumform vor, welche mithin unter diesen Umständen die stabilste Form darstellt, weshalb zu ihrer Umwandlung zunächst Energieaufwand benötigt wird.

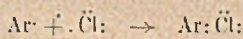


Wenn man mit Hantzsch annimmt, daß das Diazoniumion als solches stabil ist, so bedeutet dieses, daß der Stickstoff die zu seiner Entwicklung notwendigen beiden Elektronen nicht zusammen vom Kohlenstoff ablösen kann. Wenn es ihm im Laufe einer Reaktion trotzdem gelingt, sich vom Kohlenstoff zu trennen, so muß er die benötigten Elektronen von Stellen entnommen haben, von denen sie leichter abzulösen sind. Selbstverständlich muß der Ablösung von Elektronen eine Annäherung der Reaktionspartner auf atomare Dimensionen vorausgehen. Beides ist bei den Diazohalogeniden der Fall. Sie sind deshalb auch nur dort stabil, wo der eintretende Rest festgebundene Elektronen enthält.

Der durch Eintritt von Halogen gebildete Komplex zerfällt daher bald unter Entwicklung von Stickstoff.

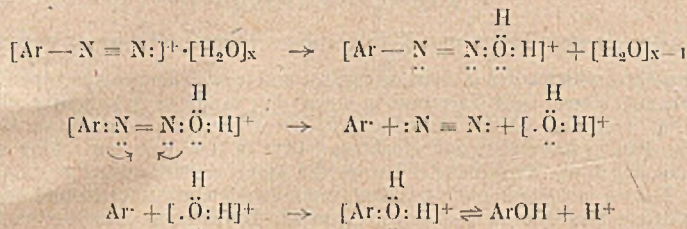


Wahrscheinlich stammt eins der dazu benötigten Elektronen vom Kohlenstoff des Benzolringes und eins vom Halogen. Die so entstehenden Radikale sind nicht frei zu denken, sondern bleiben innerhalb der Dimensionen der molekularen Anziehung. Sie vereinigen sich sofort zu Halogenbenzol.



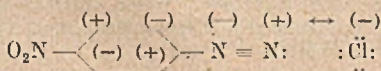


In grundsätzlich dem gleichen Mechanismus kann bei Abwesenheit von anderen Ionen in der Hydrathülle auch Wasser in das Diazoniumion eintreten:



Der Eintritt in das Diazoniumion deformiert auch die Elektronenhülle des eintretenden Atoms. Es muß also auch auf dieser Seite Arbeit geleistet werden. Der Eintritt gelingt deshalb um so leichter, je deformierbarer das aufgenommene Teilchen ist. Deshalb reagieren die Halogene leichter mit steigendem Atomgewicht. Wasser reagiert an sich wesentlich langsamer als Chlorion mit p-Nitrobenzol-diazoniumion, wie man aus Fig. 1 entnehmen kann. Es werden nämlich in der Endausbeute gleiche Teile Phenol und Halogenbenzol gebildet, wenn in der Lösung auf 8 Wassermoleküle 1 Chlorion enthalten ist. Nur der erhebliche molekulare Überschuß, in dem sich Wasser wegen seines kleinen Molekulargewichtes befindet, bewirkt in den meisten Fällen ein Überwiegen der Phenolbildung.

Substituenten im Benzolkern, die wie -NO<sub>2</sub> oder -Cl die Umwandlung der Diazoniumform in die Azoform begünstigen, erleichtern die Reaktion mit dem Halogenion auch dadurch, daß sie das tertiäre Stickstoffatom der Diazoniumgruppe durch Induktion weniger stark negativ geladen erscheinen lassen.



Ebenso wie Wasser oder Halogenion können andere Gruppen mit genügend lockeren Elektronen in das Diazoniumion eintreten. Es besteht die Möglichkeit, daß auch die Einwirkung der Alkohole, Äther und anderer Verbindungen auf Diazoniumsalze vielleicht dem gleichen Schema gehorcht, wie es oben für Wasser entwickelt wurde.

Bildung der Diazoharze. Wie man aus Fig. 1 ersieht, fallen die durch Phenolbestimmung gefundenen Werte bei geringen Säuregraden aus der Kurve heraus. Diejenigen Punkte jedoch, welche durch direkte Messung der Abnahme des titrierbaren Chlorgehaltes gefunden wurden, zeigen unverändert die richtigen Werte. Daraus muß geschlossen werden, daß eine Nebenreaktion gleichzeitig auf Kosten des Phenols oder aber der Phenolreaktion abläuft, welche die Bildung von Halogenbenzol nicht beeinträchtigt. Es kann dies nach Lage der Dinge nur die Bildung der Diazoharze sein, welche mit abnehmendem Säuregrad der Lösung immer stärker wird.



## Versuchsteil

## 1. Zersetzung von p-Nitrobenzol-diazonium-chlorid in wäßriger Lösung

Bei allen Zersetzungen wurde folgender allgemeiner Ansatz verwendet:

3,5 g p-Nitranilin werden in Salzsäure gelöst und je nach der gewünschten Endkonzentration mit Wasser oder Salzsäure in einen dickwandigen Erlenmeyerkolben gespült. Die berechnete Menge Natriumnitrit wiegt man auf einem Rundfilter ab, knüllt das Papier zusammen und steckt es locker in den Hals des schräg gelegten Kolbens, ohne daß das Nitrit mit der Lösung des Amins in Berührung kommt. Danach wird der Kolben mit einem gut sitzenden Gummistopfen verschlossen und das Nitrit durch kräftiges Schütteln in die Lösung gebracht. Die anfangs entwickelten nitrosen Gase verschwinden bald wieder; in diesem Zeitpunkt ist die Diazotierung beendet. Die Ausbeuten bewegen sich, wie durch Bestimmung des durch CuCl abspaltbaren Stickstoffs bestätigt wurde, zwischen 95 und 98% d. Th. Unter schwierigen Bedingungen, sehr hohe oder sehr geringe Säuregehalte, sinken die Ausbeuten etwas ab. Das Verfahren ist außerordentlich bequem, wenn man schnell kleinere Mengen Diazoniumlösung herstellen will.

Nach Beendigung der Reaktion wurde auf deren vollständigen Verlauf mit KJ-Stärkepapier geprüft, von den Filterfasern abfiltriert und je nach der gewünschten Konzentration mit der berechneten Menge Wasser oder Salzsäure auf 100 cm<sup>3</sup> aufgefüllt. Der Gehalt der Lösung wurde durch Zersetzung mit Kupfer-(I)-chloridlösung bestimmt. Das Verfahren ist im Falle negativierender Substitution des Benzolkerns brauchbar, da die Stickstoffverluste durch Bildung von Azokörpern nicht ins Gewicht fallen. Durch Titration nach Volhard wurde der Gehalt der Lösung an Halogen bestimmt und das spezifische Gewicht durch das Gesamtgewicht der 100 cm festgelegt. Je 5 cm dieser Lösung — im allgemeinen wurden 5—6 Parallelsätze geführt — bringt man in Reagenzgläser 20×2 cm, setzt einen Gummistopfen mit zweimal rechtwinklig abgobogenem Ableitungsrohr auf, welches zur Vermeidung von Verlusten an Salzsäure ein kleines mit Wasser gefülltes Reagenzglas als Vorlage erhält.

Nur bei den stärksten Säurekonzentrationen konnte in der Vorlage Salzsäure nachgewiesen werden, deren Menge durch Titration mit Lauge bestimmt und zur Hälfte von der in Lösung gefundenen Konzentration abgezogen wurde. Nitrophenol ging niemals in nachweisbarer Menge über. Die so vorbereiteten Röhren wurden darauf in ein lebhaft siedendes Wasserbad eingetaucht, zusammen mit einer unverstopften, aber sonst gleich beschickten Kontrolle. Wenn durch Kupplung mit alkalischer  $\beta$ -Naphthollösung in der Kontrolle kein Diazoniumsalz mehr nachzuweisen war, wurde der Versuch nach weiteren 5 Minuten beendet.

Die Bestimmung des entstandenen Phenols geschah durch die übliche Bromtitration. Als kein Jodid mehr zur Verfügung stand, wurde das Verfahren dahingehend abgeändert, daß der Bromüberschuß durch Zugabe von 1/10 n-Arsenitlösung aufgenommen und der nicht verbrauchte Anteil des Arsens durch Titration mit n/10-Bromid-Bromatlösung in der Wärme bestimmt wurde. (Indikator Methylrot.) Das Verfahren hat den Vorteil, auch in Gegenwart von Eisen-(III)- und Kupfer-(II)-salzen brauchbar zu sein. Bei der Reaktion entstehen immer geringe Mengen Harze, welche aber zum größten Teil beim Kochen mit starker Lauge in Lösung gehen und Brom verbrauchen. Sie wurden daher als Phenol mitbestimmt. Auf jeden Fall muß wiederholt mit 30-proz. Lauge gekocht werden, um alle titrierbare Substanz aufzuschließen.

Das für die Ausbeute wichtige Verhältnis von Halogenionen zu Wasser wurde rechnerisch bestimmt, indem vom Gesamtgewicht der Lösung das Gewicht der darin befindlichen Diazoniumionen, Natriumionen und Chlorionen abgezogen wurde.

Einzelne Punkte wurden durch präparative Aufarbeitung des doppelten Ansatzes erhärtet, wobei sich die titrimetrische Methode als überlegen erwies.



Bei geringen Gehalten an Chlorionen konnte die Ausbeute an Halogenid direkt aus der Menge des verschwundenen titrierbaren Halogens bestimmt werden, da durch starke Harzbildung die Phenolausbeute stark abgesunken war.

Diese Werte sind besonders gekennzeichnet.

Chlorionen Wasser	% Ausbeute an Phenol	Bemerkungen
1: 4,5	37	Bromtitrat.
1: 6	45	„
1: 10	57	„
1: 11	55	„
1: 15	65	„
1: 27	76	„
1: 47	81	„
1: 80	85	„
1: 90	82	„
1: 90	91	Bestg. des
1: 100	94	Verlustes an Cl'

#### Zersetzung in Kaliumchloridlösung

Versuchsordnung wie vorher, Bestimmung der Ausbeute durch Phenoltitration. Verhältnis von Chlorion zu Wasser in allen Versuchen wie 1: 15.

Prozentualer Anteil der Chlorionen aus Salzsäure	Ausbeute an Phenol	Bemerkungen
100 %	65%	kein Harz
43,5%	67%	wenig Harz
8 %	68%	wenig Harz

## Über die Unterbrechung des Citronensäure-Cyklus durch Fluoressigsäure

Von *Carl Martius*

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Tübingen)

[Eingelaufen am 23. Oktober 1948<sup>1)</sup>

Vor einiger Zeit berichteten amerikanische<sup>2,3)</sup> und englische Autoren<sup>4)</sup> auf Grund von Untersuchungen, die während des Krieges durchgeführt worden waren, über die Giftigkeit der Fluoressigsäure und

<sup>1)</sup> Nach einem Vortrag vor der Chemischen Gesellschaft in München am 18. 6. 48.

<sup>2)</sup> G. R. Bartlett, E. S. G. Barron, Journ. biol. Chem. **169**, 67 (1947).

<sup>3)</sup> G. Kalnitzky, E. S. G. Barron, Journ. biol. Chem. **169**, 83 (1947).

<sup>4)</sup> B. C. Saunders, Nature **1947** S. 179. Dort weitere Literaturangaben.



homologer  $\omega$ -fluorierter Fettsäuren sowie über deren Einfluß auf den Stoffwechsel tierischer Gewebe, von Hefe und von Bakterien. Das Erstaunliche an der von Ihnen gefundenen starken Wirksamkeit der Fluoressigsäure als Stoffwechselfgift — die Wirkung der höheren fluorierten Fettsäuren wird auf die Bildung von Fluoressigsäure bei deren Abbau zurückgeführt — ist, daß sie einem einfachen und im Gegensatz zu den anderen Halogenessigsäuren sehr reaktionsträgen Molekül zukommt, das selbst mit Sulphydrylgruppen kaum in Reaktion zu bringen ist. In ihren Untersuchungen über den Reaktionsmechanismus der Fluoracetat-Wirkung *in vivo* und *in vitro* kommen Bartlett und Barron zu dem Schluß, daß diese durch Hemmung des oxydativen Abbaus der Essigsäure zustande käme, da sich in ihren Versuchen mit tierischen Geweben sowie mit Hefe der Abbau der Essigsäure, und zwar sowohl zugesetzter wie aus Pyruvat oder Fettsäuren gebildeter stets als zu nahezu 100 % gehemmt erwies. Aus der Tatsache, daß keines der einzelnen untersuchten Teilenzyme des Citronensäurecyklus sich durch Fluoressigsäure hemmen ließ, hatten sie geschlossen, daß der Angriffspunkt der Fluoressigsäure nicht auf diesem Abbauweg liegen könne, sondern durch kompetitive Hemmung der Umsatz der Essigsäure direkt betroffen werde. Sie hatten daher weiter gefolgert, daß beim Abbau der Essigsäure und somit auch der Brenztraubensäure und der Fettsäuren in Anbetracht der starken mit Fluoressigsäure erzielbaren Hemmung der Citronensäurecyklus nur eine untergeordnete Rolle spielen könne.

Eine solche im Widerspruch mit wesentlichen im Laufe der letzten Jahre gewonnenen Erkenntnissen über den Verlauf des aeroben Stoffwechsels stehende Behauptung hätte, falls sie zuträfe, zu einer Umwälzung bisher als gültig angesehener Anschauungen über die Rolle der Citronensäure wie der Essigsäure führen müssen.

Eine Nachprüfung der Versuche führte indessen zu einer anderen Auffassung vom Wesen der Fluoracetatwirkung.

Tab. 1

A. Je Ansatz 5 g Herzmuskelbrei (Rind), 25 mg Citronensäure. 1,1%  $\text{NaHCO}_3$ . Flüssigkeitsvolumen: 16 ml. 120 Min. unter  $\text{O}_2$  geschüttelt

Fluoracetat	Citronensäure:	
	Wiedergefunden	Kontrolle
0,04 m	26,5; 26,6 mg	0,8; 1,0 mg
0,01 m	29,0 mg	7,0 mg
0,001 m	28,75 mg	6,5 mg

B. 0,04 m Fluoracetat	0,001 m $\text{As}_2\text{O}_3$	0,04 m F.acetat + 0,001 m $\text{As}_2\text{O}_3$	Kontrolle
23,6; 23,7 mg	6,4; -- mg	7,7; 8,8 mg	5,4; 9,5 mg



Wie Tab. 1 zeigt, verhindert 0,001 m—0,04 m Fluoressigsäure den Abbau von Citronensäure durch Herzmuskelbrei über das Maß von etwa 10% hinaus, welches auf Rechnung der durch Umlagerung gebildeten cis-Aconitsäure und Isocitronensäure kommt, bzw. es findet sogar auf Kosten zelleigener Ausgangsstoffe eine leichte Vermehrung der Citronensäure statt. Da die Umwandlung Citronensäure—cis-Aconitsäure—Isocitronensäure durch Fluoressigsäure nicht beeinflusst wird, wie besondere Versuche zeigten, muß die Isocitricodehydrase selbst durch die Vergiftung ausgeschaltet worden sein. Nach den Versuchen von Bartlett und Barron<sup>2)</sup> wird die isolierte Dehydrase aber durch Fluoressigsäure nicht gehemmt. Eine Lösung dieses offenbaren Widerstandes ergibt sich, wenn man annimmt, daß in den Versuchen mit Gewebe die als solche wahrscheinlich gänzlich ungiftige Fluoressigsäure erst in das eigentliche Enzymgift umgewandelt wird, das Eintreten der Giftwirkung somit an intakte Zellen oder Zellstrukturen gebunden ist. Obwohl der direkte, d. h. präparative Nachweis dieses Stoffes bisher noch nicht geführt werden konnte, glaube ich mit Bestimmtheit sagen zu können, daß es sich bei diesem um eine *Fluorcitronensäure* (oder Isocitronensäure) handelt, über deren Entstehung folgendes angenommen werden kann: Die Kleinheit und Reaktionsträgheit des Fluoratoms bedingt eine ziemlich große Ähnlichkeit der Moleküle der Essigsäure und Fluoressigsäure. Diese führt nun aber nicht, wie Bartlett und Barron annahmen, zu einer kompetitiven Hemmung des Essigsäureabbaus, sondern zu einer Konkurrenz beider Säuren in dem Sinne, daß sie beide in gleicher Weise in den Stoffwechsel einbezogen werden, d. h. über die vermutliche Zwischenstufe einer Acet- bzw. Fluoracet-essigsäure in Citronensäure bzw. Fluorcitronensäure übergehen. Letztere bewirkt dann eine kompetitive Hemmung an der Isocitricodehydrase, was bei der Festigkeit der Ferment-Substrat-Bindung gerade dieses Enzymes offenbar schon bei sehr niedrigen Giftkonzentrationen möglich ist.

Beweisend für diese Auffassung scheinen mir die unter B in Tab. 1 angeführten Versuche zu sein, bei denen das Citronensäure bildende Fermentsystem durch einen Zusatz von arseniger Säure ausgeschaltet wurde. Unter diesen Umständen kann auch keine Fluorcitronensäure gebildet werden, und der Abbau der Citronensäure muß auch in den durch Fluoracetat vergifteten Ansätzen ungehemmt stattfinden können, wie die Versuche in der Tat ergeben.

Mit der Blockierung des Citratabbaus durch intermediär gebildete Fluorcitronensäure lassen sich nun, wenn man den Citronensäurecyclus als Hauptweg des aeroben Brenztraubensäure- und Fettsäureabbaus zu Grunde legt sämtliche von Barron, Bartlett und Kalnitski an tierischem Gewebe und Hefe gemachten Befunde einwandfrei erklären. Wenn die im Gewebe vorhandenen C<sub>4</sub>-Dicarbonsäuren in Form von Fluorcitronensäure und Citronensäure festgelegt sind, muß wegen Mangels an diesen für den Ablauf des Citronensäurecyclus und damit



für die Gewebsatmung unbedingt erforderlichen Substanzen der weitere Abbau der Brenztraubensäure und der Fettsäuren sistieren. Daß sich dabei aus Brenztraubensäure in größerem Umfang Essigsäure bildet, beweist an sich noch nicht, daß der Pyruvatabbau obligat über Essigsäure verläuft, sondern besagt nur, daß diese in tierischem Gewebe sonst wohl nur einen Nebenweg darstellende Reaktion zur allein noch nachweisbaren Umsetzung werden kann, wenn der normale Abbauweg versperrt ist. Andererseits stellt der Nachweis der Bildung von Fluorcitronensäure aus Fluoressigsäure einen neuen Beweis dafür dar, daß auch Essigsäure im Tierkörper in Citronensäure übergeht und ihr Abbau somit über den Citronensäurecyclus führt.

Auch der von Barron und Mitarbeitern erhobene Befund, daß Acetylierungsprozesse durch Fluoressigsäure nicht gehemmt werden, findet nunmehr seine einfache Erklärung. Durch die Hemmung des acroben Pyruvat- und Acetat-Abbaus scheinen sie sogar begünstigt zu werden, worauf neben dem Befund, daß in mit Fluoressigsäure vergiftetem Gehirnbrei vermehrt Acetylcholin gebildet wird<sup>2)</sup>, auch Beobachtungen in vivo an Tieren zu sprechen scheinen, bei denen man im Stadium der Vergiftung fibrilläre Muskelzuckungen (beim Frosch) oder verstärkte Darmperistaltik (bei der Ratte) beobachtet.

Neben der Wirkung auf den Citratabbau läßt sich schließlich auch noch eine gewisse direkte Wirkung auf die Citronensäure-Synthese feststellen. Bei kurzer Reaktionsdauer und gleichzeitiger Zugabe von Fluoressigsäure und den zur Citronensäure-Synthese nötigen Komponenten kommt es stets zu einer Erhöhung der Ausbeute an Citronensäure, d. h. bei nichtbeeinflusster Synthese wird der Abbau gehemmt. Die dann erhaltenen Werte stellen somit das wahre Maß der Ausbeute an Citronensäure dar, das ohne Fluoressigsäure wegen des ja stets neben der Synthese einhergehenden Abbaus nie erreicht werden kann. Es liegt bis zu  $\frac{1}{3}$  über dem Wert ohne Fluoracetat. Schüttelt man jedoch schon vor Zugabe des Citronensäure bildenden Säurepaares zunächst 60' nur mit Fluoressigsäure, sind dann Hemmungen der Citronensäuresynthese zu beobachten, die in der Regel mit Fumar- oder Bernsteinsäure als Ausgangsmaterial größer sind als mit Oxalessigsäure und darauf schließen lassen, daß dann eine Hemmung auch der Reaktionen eintritt, die von der Bernstein- bzw. Fumarsäure bis zur Oxalessigsäure führen und vielleicht die Maliccodehydrase betreffen.

### Wirkung von Fluoracetat auf die Citronensäuresynthese

Je 5 g Herzmuskelbrei (Rind) wurden in 100 ml Erlemmeyern nach Zusatz der Substrate (0,02 m-Brenztraubensäure + 0,02 m-Dicarbonensäure als Na-Salze) 30 Min. unter  $O_2$  bei 37° geschüttelt. Medium 1,1%  $NaHCO_3$ ,  $ph = 8,1$ . Volumen ohne Gewebe = 25 ml. Bei den Versuchen unter A wurde das Fluoracetat gleichzeitig mit den Citronensäurebildnern zugesetzt, bei den Versuchen unter B wurde zunächst 60 Min. nur mit Fluoracetat bzw. die Kontrolle ohne Zusatz unter  $O_2$  geschüttelt.



Tab. 2

Fluoraacetat	Dicarbonsäure	mg Citronensäure	Kontrolle	%
A. 0,033 m	Oxalessigsäure	43,65	37,95	+11,6
0,033 „	Fumarsäure	38,4	31,0	+12,4
0,02 „	Oxalessigsäure	37,8	31,1	+21,5
0,02 „	Fumarsäure	34,5	32,0	- 8
B. 0,02 „	Oxalessigsäure	14,76	11,5	+28
0,02 „	Fumarsäure	9,45	13,76	-31
0,02 „	Bernsteinsäure	9,36	10,0	- 6,8
0,033 „	Oxalessigsäure	9,4	10,3	- 6
0,033 „	Äpfelsäure	8,26	10,77	-23,5
0,033 „	Fumarsäure	7,0	11,7	-40
0,033 „	Bernsteinsäure	6,0	8,7	-31
C. Ansatz wie unter A.				
0,01 m Fluorbernsteinsäure	Oxalessigsäure	16,0	17,4	
	Fumarsäure	12,2	12,0	
0,01 m Fluor-fumarsäure	Oxalessigsäure	13,7	41,0	
	Fumarsäure	6,1	16,6	

Da diese Versuche sich jedoch mit verschiedenem Gewebsmaterial nicht immer im gleichen Umfange reproduzieren ließen, bleibt es wohl dahingestellt, ob es sich bei diesem Effekt um eine spezifische Wirkung handelt oder nicht, vielmehr Gewebsschädigungen allgemeinerer Art als Folge der gehemmten Atmung dem zu Grunde liegen. Eine dritte Möglichkeit schließlich, daß ein weiterer Abbau der Fluor citronensäure zu fluorierten Dicarbonsäuren erfolgt, die dann ihrerseits neuartige Hemmungseffekte ergeben, erscheint auch nicht sehr wahrscheinlich, da 0,01 m Monofluorbernsteinsäure gar keinen, 0,01 m Monofluorfumarsäure<sup>5)</sup> auch nur einen mittleren Effekt auf die Bildung von Citronensäure aus Oxalessigsäure oder Fumarsäure ausüben, trotzdem die angewandten Konzentrationen der Hemmstoffe hier sicherlich sehr viel höher liegen, als die ev. gebildeter fluorierter Dicarbonsäuren in den Ansätzen mit Fluoresigsäure.

Es liegt somit aller Grund zur Annahme vor, daß der Effekt der Fluoresigsäure auf den Stoffwechsel im wesentlichen durch die Hemmung des Citratabbaus zu erklären ist und wir in dieser Substanz ein neuartiges Enzymgift mit ganz spezifischer Wirkung vor uns haben. *Dieser Befund im Verein mit den von Barron und Mitarbeitern gemachten Beobachtungen beweist somit auf's neue die zentrale Rolle der Citronensäure im intermediären Stoffwechsel.*

Von besonderer Bedeutung erscheint die Tatsache, daß mit der Fluoresigsäure ein Enzymgift gegeben ist, das vor anderen ähnlich wirkenden wie der Malonsäure den Vorteil voraus hat, daß sie als ein-

<sup>5)</sup> Für die Überlassung von Proben dieser Säuren spreche ich Herrn Prof. Theißacker meinen besten Dank aus.



wertiges Ion auch durch schwer permeable Membranen leicht diffundiert. Die Angaben von Bartlett und Barron, daß bereits mit 0,001m Fluoracetat deutlich Hemmungen des Wachstums von Pflanzenkeimlingen zu beobachten sind, deutet eine Anwendungsmöglichkeit an. Weitere dürften sich bei der Untersuchung des Stoffwechsels von Bakterien ergeben, bei denen die Beteiligung des Citronensäurecyclus bisher ja noch wenig geklärt ist. Eine Voraussetzung für die Anwendung der Fluoressigsäure muß freilich in allen Fällen gegeben sein: Ein leistungsfähiges Enzymsystem für die Überführung von (Fluor-) Essigsäure in (Fluor-) Citronensäure. Wo ein solches nicht gegeben ist, kann auch keine Wirkung der Fluoressigsäure auf den Citratabbau erwartet werden.

Dem Universitätsbund Tübingen spreche ich für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit meinen ergebensten Dank aus. Herrn Dr. Jonas, Leverkusen, danke ich für die Überlassung von Fluoressigsäure.

## Zur manometrischen Bestimmungsmethode der Pektase

Von *Friedrich Kiermeier*

(Aus dem Institut für Lebensmitteltechnologie, München)

Mit 4 Figuren im Text

[Eingelaufen am 6. Oktober 1948]

Die demethoxylierende Wirkung der Pektase und die dabei auftretende Gelierung macht sich in pflanzlichen Säften bei längerer Lagerzeit bemerkbar, obwohl nur geringe Mengen des Fermentes vorhanden sind. Diese sind mit den üblichen Methoden, die entweder auf eine alkalimetrische Titration der freierwerdenden Carboxylgruppen oder auf einer Erfassung der Methoxylgruppen beruhen<sup>1)</sup>, nicht oder nur sehr umständlich erfaßbar, vor allem wenn auf Grund technischer Einflüsse bereits eine teilweise Inaktivierung des Fermentes eingetreten ist. Es lag nun nahe, die bei anderen Esterasen bewährte Methode von Rona und Lasnitzky<sup>2)</sup> und die neuerdings für Lezithinasen von Zamecnik, Brewster u. Lipmann vorgeschlagene Arbeitsweise<sup>3)</sup> auch für die Charakterisierung der Pektase-Wirkung heranzuziehen. Hier wie da kann die bei der Esterspaltung freierwerdende Säure durch die äquivalente Menge CO<sub>2</sub>, die aus einer Bikarbonatlösung freigemacht wird, manometrisch nach der Methode von O. Warburg erfaßt werden.

<sup>1)</sup> Zusammenfassende Literatur: Phaff, H. J. u. M. A. Joslyn. Wallerstein Lab. Comm., 10 (1947), 133—148.

<sup>2)</sup> Bio. Z. 152, 504 (1924).

<sup>3)</sup> J. of Exp. Med. 85, 381—394 (1947).



Die von E. Bamann<sup>4)</sup> geäußerten Bedenken, daß Lipasen in bikarbonatgepuffertem Milieu nicht ihre volle Wirksamkeit entfalten, könnten auch für die Pektase zutreffen. Obwohl ein Vergleich der vorgeschlagenen Methode mit der von Mac Donnell, Jansen u. Lineweaver<sup>5)</sup> keine Differenzen bei dem verwendeten Enzymmaterial zeigte, wird es doch für günstiger gehalten, die Beobachtung nur auf die Anfangsgeschwindigkeit zu beschränken, so lange  $\left(\frac{dx}{dt}\right)$  noch konstant ist und weil dadurch die Eigenhydrolyse noch keine meßbaren Werte annimmt. Durch den außerordentlich verschiedenen Gehalt der Pektine an Methoxygruppen entsteht die besondere Schwierigkeit, daß kein standardisiertes Substrat für die Enzymwirkung vorliegt; denn selbst die Vorschrift, daß der Gehalt an Methoxygruppen<sup>5)</sup> mindest 8—11% betragen soll, schließt die Möglichkeit einer Reaktionsbeeinflussung durch die Eigenart des Substrates nicht aus, was für die Einheitlichkeit der Bewertung der Fermentwirkung abträglich ist. Allerdings scheint dadurch ein Einblick in die hochpolymeren Verhältnisse der Pektinstoffe und in die „Wertigkeit“ ihrer Methyloxygruppen gestattet zu sein. Die vorliegende Methode eröffnet uns die Möglichkeit, da für jeden Versuch nur 10 mg Substrat erforderlich ist, einen synthetischen Methyl-ester der Galakturonsäure als Substrat heranzuziehen.

## Versuchsteil

### 1. Arbeitsweise

Zu 2 ccm einer Lösung, die 0,5proz. an Pektin,  $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{100}$  molar an  $\text{NaHCO}_3$  und 0,15 molar an  $\text{NaCl}$  ist, gibt man nach Temperaturlausgleich 0,5 ccm der zu untersuchenden Pektase-Lösung, die gleiche Konzentration an  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{NaCl}$  wie die Substratlösung aufweisen soll. Beide Lösungen sollen vorher mit  $\text{CO}_2$  gesättigt sein (Substratlösung: 30 Min.), wobei die jeweilige Konzentration durch den gewünschten  $p_{\text{H}}$ -Wert bedingt ist. Reaktionstemperatur  $30^\circ$ . Das freigemachte  $\text{CO}_2$  wird nach der manometrischen Methode von Warburg<sup>6)</sup> erfaßt, solange  $\frac{dx}{dt}$  noch konstant ist.

Als Maß der Aktivität wird der Winkelkoeffizient der Geraden betrachtet, wobei es besonders vorteilhaft ist, die Winkelkoeffizienten für die einzelnen Zeitabschnitte nach der graphischen Methode von Lode<sup>7)</sup> auszugleichen. Entsprechend den Vorschlägen von McDonnell, Jansen und Lineweaver<sup>5)</sup> liegt dann eine Pektase-Einheit vor, wenn die Fermentmenge 1 Milli-Äquivalent Ester in 1 Min. bei  $30^\circ$  und optimalem  $p_{\text{H}}$  hydrolysiert (1 ccm  $\text{CO}_2$  entspricht  $0,449 \cdot 10^{-4}$  mval.). In einem Vergleich beider Methoden ergab sich praktisch Übereinstimmung:

alte Methode<sup>5)</sup>:  $2,3 \cdot 10^{-2}$  PE—E

neue Methode :  $2,2 \cdot 10^{-2}$  PE—E.

<sup>4)</sup> Bamann, E. u. K. Myrbäck, Die Methoden der Fermentforschung, 2. Bd., S. 1559 (1941), Leipzig.

<sup>5)</sup> Arch. of Biochem. 6, 389—401 (1945).

<sup>6)</sup> Dickens, Fr. „Die manometrische Methode“ in Bamann-Myrbäck, „Die Methoden der Fermentforschung“, 1. Bd., S. 985—1022 (Leipzig 1941).

<sup>7)</sup> VDI-Ztschr. 90, 89—90 (1948).



## 2. $p_H$ -Einstellung

Während die titrimetrische Verfolgung im ungepufferten Milieu<sup>5)</sup> vor sich geht, ermöglicht der  $\text{NaHCO}_3$ - $\text{CO}_2$ -Puffer ein Konstanthalten der Reaktionsbedingungen. Selbst bei einer Entwicklung von 100 mm  $\text{CO}_2$  wird unter den angegebenen Reaktionsverhältnissen das  $p_H$  nicht verschoben. Nur bei Verwendung von  $n/100$ - $\text{NaHCO}_3$ -Lösungen wird die Einstellung etwas unsicher (vgl. Fig. 1). Besonders günstig scheint die Einstellung des  $p_H$ -Wertes mit  $n/25$ -Lösungen.

Entsprechend der Natur des Puffersystems sind nur  $p_H$ -Werte von 6,0 bis gegen 9,0 verfügbar, die in verschiedener Weise, wie Fig. 1 zeigt, eingestellt werden können.

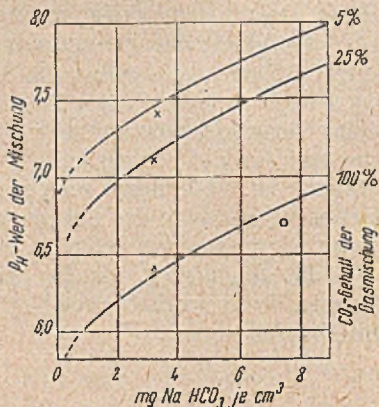


Fig. 1 Abhängigkeit des  $p_H$ -Wertes von  $\text{NaHCO}_3$ -Gehalt und  $\text{CO}_2$ -Conc. (x:  $p_H$ -Werte einer fertigen Mischung, die 0,15 molar an  $\text{NaCl}$  und 0,375proz. an Pektin war. o: der errechnete  $p_H$ -Wert<sup>3)</sup>).



Fig. 2.  $p_H$ -Einstellung mit einem  $\text{NaHCO}_3$ - $\text{CO}_2$ -Puffer.

Es ist vorteilhaft, sich nicht allein auf die Angaben von Hastings und Sendroy<sup>3)</sup> bei der Zusammenstellung des  $\text{NaHCO}_3$ - $\text{CO}_2$ -Puffers zu stützen, sondern diese in der fertigen Mischung nachzuprüfen, weil geringe Verschiebungen durch den meist bei 3 liegenden  $p_H$ -Wert der Pektine zu beobachten sind (vgl. Fig. 1). Die Substratlösung behält den einmal eingestellten  $p_H$ -Wert über mehrere Tage. Es ist jedoch anzuraten, die Mischung nicht auf Vorrat zu halten, sondern die Einzellösungen in doppelter Konzentration vor Versuchsbeginn zu gleichen Teilen zu mischen. Wie Fig. 2 zeigt, ist durchaus eine zufriedenstellende  $p_H$ -Einstellung zu erreichen, so daß die übliche  $p_H$ -Aktivitätskurve bestimmt werden kann, was in Einklang mit den Erfahrungen von Zamecnik u. Mitarb.<sup>3)</sup> steht.

## 3. Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Enzymkonzentration.

Die Reaktionsgeschwindigkeit, ausgedrückt in Pektase-Einheiten, ist der Enzymkonzentration proportional (Fig. 3). Daraus kann gefolgert werden, daß die Milieuänderungen unter den Versuchsbedingungen

<sup>3)</sup> J. Biol. Chem. 65, 445 (1925).



sehr gering sind und daß offenbar eine Inaktivierung des Enzyms im  $\text{NaHCO}_3$ -Puffer im Anfang der Reaktion nicht eintritt.

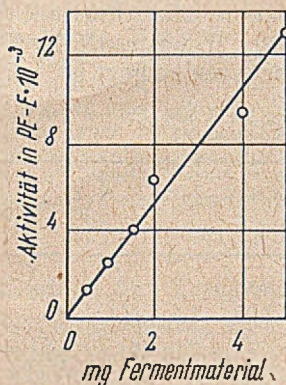


Fig. 3. Beziehung der Enzymmenge zur Enzymaktivität.

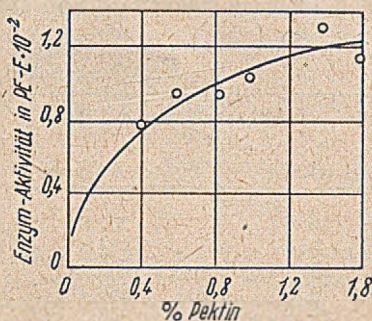


Fig. 4. Einfluß der Substratkonz. auf die Reaktionsgeschwindigkeit (Reaktionszeit 60 Min.; Temp. 30°)

#### 4. Der Einfluß der Substratkonzentration

Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratmenge ist außerordentlich groß (Fig. 4), vor allem in Hinblick darauf, daß die an sich geeigneten höheren Pektinkonzentrationen während der Messung gelieren und dadurch die notwendige Bewegung des Reaktionsansatzes im Warburg-Gefäß unterbinden.

Der von H. Deuel und F. Weber<sup>9)</sup> vorgeschlagene Zusatz von Pyridin und Natriumoxalat vermag zwar die Gelierung zu unterdrücken und beeinflusst die Reaktionsgeschwindigkeit nicht, jedoch muß auch das Fermentmaterial Ca-frei gemacht werden, was für Reihenuntersuchungen sehr hinderlich ist, und weiterhin macht sich der Dampfdruck des Pyridins im Manometer bemerkbar. Der Substrateinfluß kann weitgehend ausgeschaltet werden, wenn lediglich die Anfangsgeschwindigkeiten betrachtet werden, dann war bei verschiedenen Pektinen die Fermentaktivität unabhängig von der Konzentration (z. B. Rübenpektin I: Konz. 0,4–1,6%,  $K \cdot 10^{-2} = 2,16 \pm 0,16^{10}$ ). Selbst bei gut gelierenden Pektinen konnte die Konzentration ohne merklchen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit des Enzyms variiert werden (z. B. Apfelpektin II: Konz. 0,05–0,3%,  $K \cdot 10^{-2} = 1,34 \pm 0,20$ ; Rübenpektin II: Konz. 0,05–0,3%,  $K \cdot 10^{-2} = 0,69 \pm 0,11$ ).

#### 5. Der Einfluß der Substratbeschaffenheit

Weiterhin kann der störende Gelieffekt bei hohen Substratkonzentrationen dadurch ausgeschaltet werden, daß die Pektinlösungen zunächst mit Pektinase (Filtragol) versetzt, dann diese durch Aufkochen inaktiviert und die so gewonnene niedermolekulare Pektinlösung nach

<sup>9)</sup> Helv. 28. 1088–1110 (1945).

<sup>10)</sup>  $\pm 0,16$  bedeutet den Streubereich; vgl. S. Koller, Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen (Dresden 1943), S. 36/7.



der Arbeitsvorschrift weiter verwendet werden. Auf diese Weise konnten selbst 4-proz. Pektinlösungen für die Versuche benutzt werden. Die Pektase-Wirkung war unabhängig vom Grade des Abbaues durch die Pektinase-Wirkung (Tab. 1), während Jansen, Mac Donnel und Lang<sup>11)</sup> eine Steigerung feststellten. Ob dieser Widerspruch durch die gänzlich anderen Reaktions- und Milieubedingungen bedingt ist, müssen

Tab. 1. Der Einfluß des durch Pektinase verschieden stark abgebauten Pektins auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Pektase.

Pektinase-Wirkung bei 20°		Pektase-Wirkung <sup>13)</sup>	Gelierung
Zeit in Std.	Viskosität in sec. <sup>12)</sup>	PE-E · 10 <sup>-4</sup>	
0	207,8	0,55	+
6	124,6	0,55	+
24	69,1	0,56	+
48	58,4	0,59	(+)
72	58,4	0,50	-

weitere Untersuchungen zeigen. Auf jeden Fall sind auf diese Weise optimale Substratkonzentrationen einstellbar. Unter Umständen sind auf diese Weise standardisierte Substrate herstellbar, wenn es nicht gelingen sollte, einheitliche Substrate zu synthetisieren. Gleichzeitig war damit bewiesen, daß der Polymerisationsgrad des Pektins ohne Einfluß auf die Pektasewirkung ist.

Aus diesem Grunde müssen die von uns beobachteten Unterschiede an gereinigten Pektinen<sup>14)</sup> auf der Eigenart der Pektinsubstanzen beruhen (Tab. 2), denn

Tab. 2. Der Einfluß des Substrates auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Pektase<sup>15)</sup>

Substrat	Methoxylgehalt <sup>16)</sup>	PE-E · 10 <sup>-4</sup>
1. <i>Apfelpektin I</i> . . . . . amerikan. Herkunft, Pulver	5,46	0,78
2. <i>Apfelpektin II</i> . . . . . flüssig; mit Alkohol gefällt <sup>17)</sup>	6,00	0,34
3. <i>Rübenpektin I</i> . . . . . Pulver	2,86	0,21
4. <i>Rübenpektin II</i> . . . . . flüssig; mit Alkohol gefällt <sup>17)</sup>	3,80	1,21—0,49

<sup>11)</sup> Arch. of Biochem. 8, 113—118 (1945).

<sup>12)</sup> Wasserwert des Ostwald-Viskosimeters 39,3".

<sup>13)</sup> Reaktionszeit 60 Min.; p<sub>H</sub> = 6,4; Temp. 20°; nicht in NaCl aktiviert; Rübenpektin I 1%; 5 mg Ferment.

<sup>14)</sup> S. Morell, L. Baur u. K. P. Link, J. Biol. Chem. 105, 1 (1934).

<sup>15)</sup> 1 mg Ferment, p<sub>H</sub> = 7,5; mit NaCl aktiviert; Temp. 30° C; Reaktionszeit 18 Min. Pektine: 0,375proz. Mittelwert aus 4 Messungen an verschiedenen Tagen.

<sup>16)</sup> Bestimmt durch Ermittlung des Methylalkoholgehaltes nach Verseifung mit NaOH und kolorimetr. Bestimmung nach v. Fellenberg<sup>23)</sup>.

<sup>17)</sup> R. Ripa, Die Pektinstoffe (Braunschweig 1937) S. 112.



mit Ausnahme des Rübenpektins II war die Fermentaktivität bei den anderen Pektinen als Substrat über mehrere Tage konstant, während sich das Rübenpektin II bereits in der Pufferlösung demethoxylierte, so daß die Fermentaktivität abnahm. Da dieses Substrat überdies die größte Reaktionsgeschwindigkeit des Ferments gleich nach der Herstellung der Substratlösung zuließ, was wiederholt festgestellt werden konnte, könnte dies als verschiedenartiger Einbau der  $\text{CH}_2\text{O}$ -Gruppen gedeutet werden, wofür auch rein praktische Beobachtungen über die Gelierung sprechen<sup>18)</sup>. Vielleicht bietet die fermentative Behandlung verschieden gewonnener Pektine einen Anhalt, in diese Verhältnisse Einblick zu gewinnen. Ein weiterer, nur als Orientierung gedachter Versuch, bei dem Apfelpulver mit Wasser unter  $\text{CO}_2$  ausgekocht wurde, bestärkte uns in dieser Ansicht, denn der 1. Extrakt (Trockensubst. 1,6%) enthielt eine Fermentaktivität von  $0,38 \cdot 10^{-4}$  PE-E gegenüber dem 2. Extrakt (Trockensubst. 0,6%) von  $0,61 \cdot 10^{-4}$  PE-E.

## 6. Einfluß der Temperatur

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Holden<sup>19)</sup> an Tabak-Pektase wurde für Kohlrübenblätter-Pektase ein sehr niedriger Temperaturkoeffizient ( $Q_{10}$ ) von 1,25 zwischen 20 und 30° und von 1,15 zwischen 30 und 40° gefunden.

Die Inaktivierung der Kohlrübenblätter-Pektase geht außerordentlich rasch vor sich; schon 10–20" genügen bei 100° für völlige Inaktivierung, was in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Kertes<sup>20)</sup> an der Tomaten-Pektase steht. 5 Minuten langes Erhitzen hinterläßt bei 50° eine Restaktivität von 87%, bei 60° von 34%, 70° von 38% und bei 80° von 0% [vgl. hierzu<sup>5)</sup>].

## 7. Herstellung der Pektase<sup>21)</sup>

Die Pektase wurde abweichend von der Vorschrift von Mehlitz<sup>22)</sup> aus dem Saft von Kohlrübenblättern (*Brassica napus* var. *Napobrassica*) durch fraktionierte Fällung mit Aceton (bis 30 und bis 50% Gehalt) gewonnen und teilweise durch nachfolgende Ammonsulfatfällung und Dialyse weiter gereinigt. Die Dialyse wirkte sich aber nachteilig auf die Aktivität des Fermentes aus. Aus dem Eluat der zweiten Aceton-Fällung wurde das Ferment durch erneute Fällung mit Aceton abgeschieden. Nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator wurden aus 2 Litern Rohsaft insgesamt 14,7 g (Präparat e) eines in Wasser gut löslichen, schwach grau gefärbten Pektasepulvers erhalten, das noch nach 9 Monaten sehr gute Wirksamkeit zeigte. Für die Untersuchung wurde meist das Präparat e verwendet, das je g Fermentmaterial  $1,06 \cdot 10^{-2}$  PE-Einheiten enthält. Die Ammonsulfatfällung erwies sich aktiver:  $1,44 \cdot 10^{-2}$  PE-E. Die Fermentlösungen bei 20° innerhalb 24 h behalten ihre Fermentaktivität, gleichgültig, ob sie in  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $n/25\text{-NaHCO}_3$ ;  $0,15\text{m-NaCl}$  oder in einer Mischung von  $n/25\text{-NaHCO}_3$  und  $0,15\text{m-NaCl}$  gelöst waren.

Für gewissenhafte Mithilfe bei den Untersuchungen möchte ich auch an dieser Stelle Fräulein Ingeborg Wurmbach danken.

<sup>18)</sup> Vgl. hierzu zusammenfassende Literatur: H. A. Joslyn u. H. J. Phaff, Wallerstein Labor. Comm. 10, 39–56 (1947).

<sup>19)</sup> Biochem. J. 39, 172 (1945); zitiert nach <sup>1)</sup>.

<sup>20)</sup> Food Research 3, 481 (1938).

<sup>21)</sup> Die Herstellung des Pektasepräparates verdanke ich meiner Mitarbeiterin Frau Dr. B. Hottenroth.

<sup>22)</sup> Bio. Z. 221, 217 (1930).

<sup>23)</sup> Bamann-Myrbäck, Methoden Fermentforschung I, 1032 (Leipzig 1941).



## Berichtigungen

- Band 559, S. 92, Überschrift, Zeile 3 muß es heißen:  $\alpha$ -amino- $\beta$ -mercapto-propionsäure.
- Band 559, S. 95, Zeile 10 v. o.: vor „entsteht“ setze (X).
- Band 559, S. 96, Zeile 3 v. o. lies:  $C_7H_{12}O_3S$ .
- Band 559, S. 97, Zeile 12 v. o. lies:  $C_9H_{18}O_5NS$ .
- Band 559, S. 100, Zeile 10 v. o.: statt IX lies X.
- Band 559, S. 101, Zeile 7 v. o. statt VIII lies IX.
- Band 560, S. 195, Zeile 5 v. o. muß es heißen: „Nach dem mehrmaligen Waschen mit kleinen Mengen schwach  $SO_2$ -haltigem Wasser wurden die fermenthaltigen Fällungen durch mehrmalige Behandlung mit Aceton tannin frei gewaschen.“



(Abgeschlossen am 3. Januar 1949)



Ein schnell u. anhaltend wirkendes  
ANTI ASTHMATICUM



## Asthmacoup

Neben pflanzlichen Wirkstoffen enthält jede  
Tablette 0,05 g Ephedrin hydrochloric.

Packung mit 10 Tabletten DM — 90 H. A. T. m. U.  
20 1 55

**Philo-pharm** G. m. b. H.  
CHEM. - PHARM. FABRIK QUEDLINBURG



Höchsten Anforderungen  
an Reinheit und Zuverlässigkeit entsprechen unsere

## Laborchemikalien Analysenpräparate Reagenzien

*E. Merck*

CHEMISCHE FABRIK • DARMSTADT



SOEBEN ERSCIEN

F. A. HENGLEIN

# Grundriß der Chemischen Technik

*Ein Lehrbuch für Studierende der Chemie und des Ingenieurfaches*

*ein Übersichtsbuch für Chemiker und Ingenieure im Beruf*

1. und 5. neu bearbeitete Auflage 1949 — gr. 4 — 636 Seiten  
mit 2 farbigen und 3 einfarbigen Tafeln sowie 300 Abbildungen im Text  
und 70 Tabellen — In Halbleinen DM 34.—

Die Vorzüge des Buches sind der flüssige Stil, die lebendige Darstellung und die klare Anordnung des ungeheuren Stoffes. In einem ersten Teil „Allgemeine Technologie“ werden die chemisch-technischen Reaktionen, Arbeitsmethoden, Apparaturen, Anlagen und Fabriken behandelt. Am Ende dieses Abschnittes wird ein Hinweis auf den Aufbau und die Bedeutung der deutschen chemischen Industrie und die Weltkonzerne der chemischen Industrie gegeben. — In dem zweiten speziellen Teil werden die chemisch-technische Erzeugung von Stoffen, Veredelung von Rohstoffen der leblosen und der lebenden Natur und die Verarbeitung von Erzeugnissen der chemischen Industrie und die Anwendung ihrer Verfahrenstechnik zur Erzeugung von Gebrauchsgütern beschrieben.

Schon gleich nach Erscheinen der 1. Auflage wurde in den Besprechungen der Fachzeitschriften darauf hingewiesen, daß sich das Buch durch seine Vielseitigkeit und durch das Bestreben, immer die allgemeinen Zusammenhänge im Auge zu behalten, vorteilhaft auszeichnete. Wesentliche Änderungen und eine beträchtliche Erweiterung des Umfangs sind die Merkmale dieser neu bearbeiteten Auflage. Dies entspricht der raschen Entwicklung der chemischen Technik in den letzten Jahren. Weniger wichtige oder alte Verfahren wurden kürzer behandelt, die neuesten Verfahren dagegen, über die sich im Schrifttum nur verstreut Mitteilungen finden, eingehend beschrieben. Obwohl neue Abschnitte eingefügt worden sind, konnte doch die frühere bewährte Grundeinteilung beibehalten werden. So wird sicherlich auch diese neue Bearbeitung des Werkes viele Freunde und Leser finden.

VERLAG CHEMIE, GMBH · WEINHEIM/BERGSTR.



## Emulgiermaschine

# „ZENITH“

D. R. P. u. Auslandspat.

3 Typen von ca. 30 bis  
600 Lit. Stundenleistung  
zur Herstellung von Sei-  
fen, Salben, Linimenten,  
Aromen und Weich-  
krem sowie Lebertran-  
u. Lack-Emulsionen usw.

*Einfache Handhabung  
Hohe Qualität*

### Wilhelm Steinhorst

Leipzig N 22

Ehrensteinstr. 49

## Gebrüder Klees

Fabrik für Laboratoriums-  
Einrichtungen

**Düsseldorf**

**Sondergebiete:**

1. elektrische Öfen,  
Trockenschränke,  
Potentiometer
2. glastechnische  
Apparate
3. Laboratoriums-  
Möbel in Holz- u.  
Eisenkonstruktion

## *An unsere Leser!*

Von den Bänden 557 ff. dieser Zeitschrift sind noch  
Restbestände vorhanden. Eine Nachlieferung  
(auch von Einzelheften) ist daher noch möglich.

**Neuerdings können unsere Zeitschriften  
auch ins Ausland geliefert werden.**

Weisen Sie bitte Ihre Freunde und Bekannten  
auf diese Möglichkeit hin.

Nähere Auskünfte werden gern von uns erteilt.

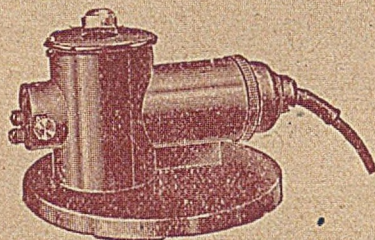
Auf Wunsch können wir Ihren Auslandsfreunden  
auch Probehefte senden.

**VERLAG CHEMIE, GmbH.**

Weinheim an der Bergstraße



# Lichtelektrisches Becherglas- Kolorimeter



mit Reagenzglas-Einsatz

kurzfristig lieferbar

ebenso Photoelemente, Luxmeter und Ultra-Relais

**DR. B. LANCE**



Spezialfabrik lichtelektrischer Zellen und Apparate · Berlin-Zehlendorf, Hermannstr. 14-18 · Tel. 848122

## CHEMIKALIEN

*für Pharmazie und Technik*

## REAGENZIEN

*in höchster Reinheit*

## FIXANAL-SUBSTANZEN

*für die Maßanalyse*

RIEDEL-DE HAËN A.-G.



SEELZE BEI HANNOVER

# SÄURESCHUTZBAU

HOTTELET & CO  
K.-G.

BERLIN-ZEHLENDORF · MÖLLERPfad 5 · TEL. 731429