

Zur toxikologischen Thallium-Bestimmung Mikrotitration von Thallium(I)-jodid

Von Dr. P. H. SCHULTZ

Aus der chemisch-physiologischen Abteilung des Allgemeinen
Krankenhauses Barmbek in Hamburg

Der toxikologische Thallium-Nachweis in Harn oder Organen führt über die Zerstörung des organischen Materials, Befreiung von störenden Substanzen und weitgehende Einengung der Endlösung (0,25–0,5 cm³) zur Fällung des Metalls mit Kaliumjodid als Thallium(I)-jodid, dessen Identität spektroskopisch gesichert werden kann. Kleine Thallium-Mengen können derart nur annähernd quantitativ geschätzt werden.

Wir benötigen ein quantitatives Verfahren für kleine Thallium-(I)-jodid-Mengen, das auch bei Vergiftungen exakte Angaben ermöglicht. Die bisher bekannten gravimetrischen oder titrimetrischen Methoden setzen zu große Thallium-Mengen voraus.

Es gelang uns, das Thallium(I)-jodid in Anlehnung an eine von uns angegebene Mikrotitration* von Quecksilber(II)-jodid titrimetrisch zu bestimmen (Fehlergrenze bei etwa 100 $\gamma \pm < 2\%$). Dabei wird das Thallium(I)-jodid mit Jodmonochlorid umgesetzt und das frei werdende Jod mit Kaliumjodat titriert. Zu diesem Zweck wird das zentrifugierte Thalliumjodid zur Entfernung von überschüssigem Kaliumjodid nach Abgießen der überstehenden Lösung mit 80proz. Alkohol aufgewirbelt und erneut zentrifugiert (Vorgang wiederholen). Auf das Thallium(I)-jodid läßt man ein Gemisch von 1 cm³ Jodmonochlorid und 1 cm³ 38proz. Salzsäure einwirken und überführt das Reaktionsgemisch quantitativ in ein mit Glasstopfen verschlossenes Reagenzglas, das 0,5 cm³ Tetrachlorkohlenstoff enthält. Beim Schütteln löst sich eine dem Thallium entsprechende Menge Jod mit rotvioletter Farbe in Tetrachlorkohlenstoff. Je nach Tiefe der Färbung titriert man mit n/100 oder n/400 KJO₃ auf Farblosigkeit.

1 cm³ n/100 KJO₃ \approx 0,341 mg Tl.

0,1 cm³ n/400 KJO₃ \approx 8,5 γ Tl.

Einzelheiten der Methode werden anderenorts mitgeteilt werden.

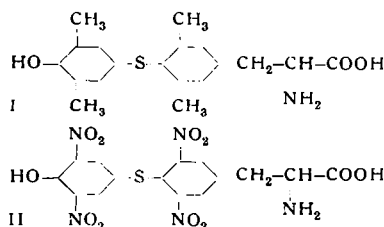
Eingeg. am 26. Oktober 1953 [Z 93]

Synthese des Tetramethyl- und des Tetranitro-thiothyronins

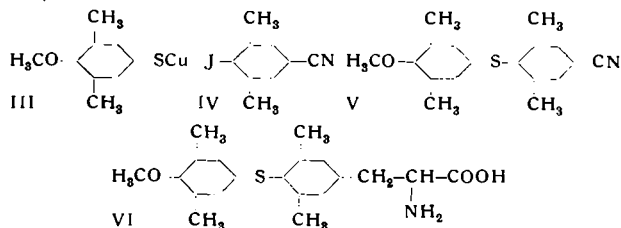
Von Privatdoz. Dr. HANS-JOACHIM BIELIG, ARNO
REIDIES und KARL SCHRÖDER

Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung Heidelberg,
Institut für Chemie

Als Analoga des von Harington¹⁾ synthetisierten Thiothyroxins wurden D,L-3,5,3',5'-Tetramethyl-thiothyronin (I) und L-3,5,3',5'-Tetranitro-thiothyronin (II) dargestellt.



a) I erhält man über 20 Stufen:



1.) Mercaptid-Komponente(III): Frisch destilliertes 2,6-Dimethylanilin²⁾ (Kp₁₃ 94–95 °C, n_D²⁰ = 1,560) wird als Sulfat diazotiert und mit 3proz. Schwefelsäure zum 2,6-Dimethylphenol verköcht (kaum gelbe Nadeln, Fp 46–47 °C nach Dest.; Kp₁₈

89–91 °C³⁾). Man methyliert mit Dimethylsulfat — 10proz. Natronlauge zum farblosen 2,6-Dimethyl-anisol (Kp₁₃ 73–77 °C, n_D²⁰ = 1,510), das in einem siedenden Gemisch von Eisessig — Acetanhydrid (2:1) beim Zutropfen von Salpetersäure (d = 1,49) und Fällung mit Eiswasser das 2,6-Dimethyl-4-nitroanisol liefert (farbl. Nadeln, Fp 89–90 °C aus Methanol). Direkte Nitrierung von 2,6-Dimethylphenol und nachfolgende Methylierung ergibt wesentlich geringere Ausbeuten^{4,5)}. Katalytische Hydrierung mit PtO₂ in warmem Äthanol führt in 4 h zum 2,6-Dimethyl-4-amino-anisol (schneeweiße Nadeln, Fp 58–60 °C aus Benzin). Als Sulfat diazotiert und mit Kalium-xanthogenat der Leuckardsehen Reaktion⁶⁾ unterworfen, erhält man bei alkoholisch-alkalischer Verseifung des rohen Xanthogensäureesters nach Ansäuern mit 2n H₂SO₄ und Wasserdampfdestillation in Gegenwart von Zinkstaub 2,6-Dimethyl-4-mercapto-anisol (gelbliches, intensiv Mercaptan-artig riechendes Öl, Kp₁₄ 125–128 °C, n_D²⁰ = 1,561). Wird dies in Äthanol gelöst und unter Stickstoff zu einer wässrigen Lösung von Diammin-kupfer(I)-chlorid gegeben, so fällt Cu(I)-mercaptid, III, aus (gelbe Blättchen aus Pyridin).

2.) Halogen-Komponente(IV). 2,4-Dimethylanilin²⁾ wird mit Acetanhydrid in die N-Acetyl-Vorbindung (Fp 122–124 °C) übergeführt, durch Eintragen in Salpetersäure (d = 1,40) unterhalb 30 °C zum 2,4-Dimethyl-6-nitro-N-acetanilid nitriert (hellgelbe Prismen, Fp 172–174 °C aus Methanol) und dieses durch Entacetylierung mittels siedender Salzsäure (d = 1,19) in das freie 2,6-Dimethyl-6-nitro-anilin (ziegelrote, dünne Prismen vom Fp 69 °C aus Methanol) verwandelt⁷⁾. Die Amino-Gruppe eliminiert man nach Diazotierung in alkoholisch-schwefelsaurer Lösung durch 20 min Erwärmen auf dem Wasserbad und treibt das 3,5-Dimethyl-nitrobenzol mit Wasserdampf ab (hellgelbe Prismen, Fp 68–70 °C aus Methanol⁸⁾). Es läßt sich direkt in p-Stellung zur Nitro-Gruppe mit Jodchlorid in Anwesenheit von wasserfreiem Eisen(III)-chlorid und siedendem CCl₄ als Lösungsmittel innerhalb 12 h zum 3,5-Dimethyl-4-jod-nitrobenzol jodieren (fast farbl. Nadeln, Fp 132–134 °C aus Methanol). Katalytische Hydrierung mit PtO₂ in warmem Alkohol ergibt das an Luft unbeständige 3,5-Dimethyl-4-jod-anilin (farbl. Nadeln aus Methanol, Fp 115–117 °C), welches direkt durch Einleiten von HCl-Gas als farbloses, beständiges Chlorhydrat gefällt wird (Fp 229–231 °C aus Methanol). Zur Umwandlung in das 3,5-Dimethyl-4-jod-benzonitril IV (dünne, ockergelbe Prismen, Fp 136–138 °C aus Ligroin) wird das Chlorhydrat in Eisessig mit Amylnitrit diazotiert, mit frischbereiteter wässriger Lösung von Kupfer(I)-doppeyanid zunächst unterhalb 13 °C, dann bei 70 °C behandelt und das Reaktionsprodukt mit Benzol extrahiert.

3.) Verätherungsreaktion und Aufbau der Seitenkette: Versuche, das 2,6-Dimethyl-4-mercapto-anisol wie üblich als Natriumsalz mit der Halogenkomponente zum aromatischen Thioäther zu verknüpfen, waren erfolglos. Die Verätherung gelingt aber glatt mit dem Kupfer(I)-mercaptid III und dem 3,5-Dimethyl-4-jod-benzonitril IV in siedendem Phenol, wenn das Verdünnungsmittel während der Reaktion abdestilliert (2 h) und noch 2 h bei 235 °C gehalten wird. Nach Extraktion mit Äther, Kristallisieren aus Methanol und Waschen mit Benzin hinterbleibt das 3,5-Dimethyl-4-(3',5'-dimethyl-4'-methoxy)-phenylsulfido-benzylecyanid V (farbl. Prismen vom Fp 112–114 °C aus Benzin). Die Umsetzung der Kupfer(I)-mercaptide hat sich uns noch in weiteren Fällen zur Darstellung sonst schwer zugänglicher aromatischer Sulfide als geeignet erwiesen.

Das in Chloroform gelöste Nitril V führt man durch 12 h Einwirkung von Zinn(II)-chlorid in HCl-haltigem Äther bei Raumtemperatur und nachfolgende Zersetzung mit verd. Salzsäure in den entspr. Benzaldehyd über (farbl. Prismen, Fp 107–108 °C aus Eisessig oder Methanol). Reduziert wird, nach Meerwein-Ponndorf⁹⁾, mit Aluminium-isopropylat zum Benzylalkohol (farbl. Nadeln, Fp 80–82 °C aus Benzin); chloriert, nach Harington¹⁾, mit PCl₅ in Chloroform zum Benzylechlorid, das mit Petroläther extrahiert wird (farbl. Prismen, Fp 99–100 °C aus Benzin). Zur Darstellung des 3,5-Dimethyl-4-(3',5'-dimethyl-4'-methoxy)-phenylsulfido-phenylacetamino-benzylecyanessigsäure-methylesters (rein weißes Nadeln, Fp 170–172 °C aus Methanol) wird in der von Ehrhart¹⁰⁾ angegebenen Weise mit dem Natrium-

¹⁾ E. Bamberger, Ber. dtsch. chem. Ges. 36, 2036 [1903].

²⁾ K. Auwers u. T. Markovits, ebenda 41, 2332 [1908].

³⁾ Th. C. Bruice, N. Kharasch u. R. J. Winzler, J. organ. Chem. 18, 83 [1953].

⁴⁾ R. Leuckard, J. prakt. Chem. (2) 41, 179 [1890].

⁵⁾ S. Gabriel u. R. Stelzner, Ber. dtsch. chem. Ges. 29, 303 [1896].

⁶⁾ P. Jacobson, Liebigs Ann. Chem. 427, 142 [1922].

⁷⁾ Th. Bersin, diese Ztschr. 53, 266 [1940].

⁸⁾ G. Ehrhart, Chem. Ber. 82, 60 [1949].

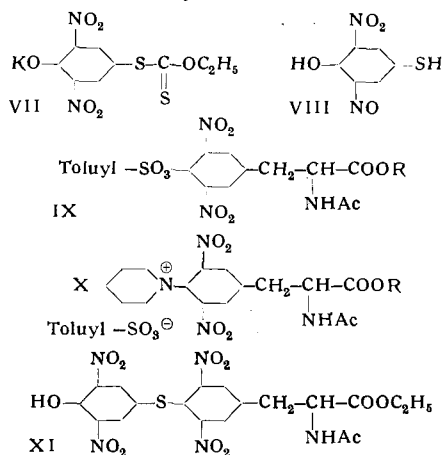
* Arch. Pharmazie u. Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., erscheint demnächst.

¹⁾ C. R. Harington, Biochemic. J. 43, 434 [1948].

²⁾ Präparat der Farbenfabriken Bayer, Leverkusen.

salz des Phenacetyl-amino-cyanessigsäure-methylesters¹¹⁾ in Isopropanol umgesetzt, wobei sich hier ein Zusatz von Natriumjodid empfiehlt. Nach 6 h Hydrolyse mit konz. Salzsäure – Eisessig (1:1) unter Rückfluß und Kühlung mit Eis kristallisiert das 3,5-Dimethyl-4-(3',5'-dimethyl-4'-methoxy)-phenylsulfido-phenylalanin VI als Chlorhydrat (farbl. Prismen, Zersp. 246–248 °C aus Eisessig; Ber.: C 60,67, H 6,65, N 3,55, S 8,10, Cl 9,02, OCH₃ 7,84; Gef.: C 60,63, H 6,51, N 3,46, S 8,56, Cl 9,08, OCH₃ 6,79). Aus dem Rohkristallat wird die abgespaltene Phenyllessigsäure mit Äther entfernt. Die Spaltung des Methyläthers geschieht mit 66proz. Bromwasserstoffsäure – Eisessig (1:2) in 3 h bei Siedetemperatur. Aus dem in Wasser gelösten Abdampfdruckstand fällt I nach Zusatz gesättigter, wässriger Natriumacetat-Lösung bei pH 5 in voluminösen Flocken an. Rötliche Beimengungen entfernt man durch Ausziehen der getrockneten Substanz mit Äther. Nach mehrmaligem Umfällen aus Salzsäure mit Natriumacetat bildet das 3,5,3',5'-Tetramethyl-thiothyronin (I) prismatische Kristalle vom Zersp. 223–225 °C (Monohydrat: Ber.: C 62,78, H 6,93, N 3,85, S 8,82; Gef.: C 62,33, H 6,64, N 4,04, S 9,36). Gesamtausbeute, bezogen auf 2,6- und 2,4-Dimethylanilin, 0,6 % der Theorie.

b) II wird in 14 Stufen synthetisiert:



1.) Thiolische Komponente (VIII): Technisches 4-Aminophenol wird unmittelbar mit Acetanhydrid – Eisessig (1:1) auf dem Dampfbad in die N-Acetyl-Verbindung (Fp 165–167 °C aus Eisessig) verwandelt. Mit Salpetersäure (d = 1,52) erhält man in Eisessig unterhalb 5 °C das 2,6-Dinitro-4-acetamino-phenol (orange-gelbe Prismen, Fp 175–177 °C aus 66proz. Essigsäure). Die Abspaltung der Acetyl-Gruppe geschieht mit siedender halbkonz. Salzsäure bis zur vollständigen Lösung. Ohne das freie 2,6-Dinitro-4-aminophenol (goldglänzende Blättchen, Fp 164 bis 165 °C aus Äthanol) zu isolieren, wird die salzsaure Lösung des Chlorhydrates mit einer konz. Lösung von Natriumnitrit unterhalb 10 °C diazotiert, wobei sich das farblose, aus siedendem Wasser umkristallisierbare 2,6-Dinitro-4-diazophenol gut kristallisiert abscheidet. Zur Leuckardschen Reaktion⁶⁾ mit Kalium-xanthenat, das durch Umfällen aus alkoholischer Lösung mit Äther gereinigt werden muß, wird dieses innere Diazoniumsalz abgesaugt, mit Wasser säurefrei gewaschen und mit Methanol angereicht. Die Bildung des Diazo-xanthogenesters und dessen Zerfall zum Kaliumsalz des 4-Äthylxanthogensäure-2,6-dinitrophenols VII (quadratische, hellrote Blättchen aus Wasser) geschieht in wässriger Lösung bei Raumtemperatur. Aus dem Kaliumsalz erhält man das 4,4'-Dioxy-3,5,3',5'-tetranitro-diphenyl-disulfid (gelbe Prismen, Fp 142–143 °C aus Eisessig oder wässrigem Dioxan) durch 3 h Kochen mit Bromwasserstoffsäure (d = 1,9) und Eisessig (2:1) unter Belüftung, wobei das Reaktionsprodukt auskristallisiert. Das Disulfid wird mit Arsen(III)-oxyd in 1 n Natronlauge bei 90 °C zum 2,6-Dinitro-4-mercapto-phenol VIII reduzierend gespalten (orange-gelbe Nadelchen, Fp 143–144 °C aus Benzol-Benzin). Auf ähnlichem oder anderem Wege waren bereits die obengenannte N-Acetyl-Verbindung¹²⁾, 2,6-Dinitro-4-acetaminophenol, 2,6-Dinitro-4-aminophenol und 2,6-Dinitro-4-diazophenol¹³⁾ dargestellt worden.

2.) Pyridiniumsalz-Komponente (X). L-Tyrosin wird in Kombination der Methoden von Waser¹⁴⁾ und Chalmers¹⁵⁾ und

Mitarbeitern durch Eintragen in ein Gemisch aus 65proz. Salpetersäure – konz. Schwefelsäure (1:7) bei 0 °C nitriert. Nach Zufügen von 2/3 der zur Neutralisation erforderlichen Menge tiefgekühlter 30proz. Natronlauge scheidet sich die Hauptmenge an 3,5-Dinitro-L-tyrosin in goldgelben Blättchen mit 1 Mol Kristallwasser ab; den Rest isoliert man über das bei vollständiger Neutralisation ausfallende Mono-natriumsalz. Die Acetylierung in 2 n NaOH mit Acetanhydrid bei Raumtemperatur zur N-Acetylverbindung (gelbe Kristalle, Fp 189 °C aus Äthanol); die durch p-Toluolsulfosäure katalysierte Veresterung der Carboxyl-Gruppe mit Äthanol in Chloroform zum Äthylester (hellgelbe, zu Drusen vereinigte Nadeln, Fp 115–116 °C aus Essigester-Petroläther); die Darstellung des 4-Toluolsulfosäure-esters, IX (farblose, glasartige Lamellen), mittels Toluolsulfochlorid und 2 n NaOH in Aceton sowie die beim Erwärmen mit Pyridin eintretende Bildung des Pyridiniumsalzes, X (zähe, gelbbraune Masse), entsprechen der Literatur^{15, 16)}.

3.) Verätherungsreaktion und Hydrolyse. Zum Umsatz des Thiols VIII mit dem quarternären Salz X braucht letzteres nicht isoliert zu werden. Man erhält in 10 min mit IX in siedendem Pyridin, vorteilhaft unter Stickstoff, den beim Ansäuern mit verd. Salzsäure auskristallisierenden 3,5-Dinitro-4-(3',5'-dinitro-4'-oxy)-phenylsulfido-N-acetyl-phenylalanin-äthylester XI (schwach gelbe, verfilzte Nadeln aus Methanol oder quadratische Blättchen aus halbkonz. Essigsäure; Fp 177–179 °C). Hydrolysiert wird durch 2 h Kochen mit Salzsäure (d = 1,19) und Eisessig (1:1) zum in der Kälte auskristallisierenden Chlorhydrat des 3,5-Dinitro-4-(3',5'-dinitro-4'-oxy)-phenylsulfido-phenylalanin. Aus diesem entsteht beim Behandeln mit 30proz. Essigsäure das freie 3,5,3',5'-Tetranitro-thiothyronin II (orange-gelbe, glänzende, intensiv bittere Blättchen, Zersp. 240 °C; $[\alpha]_{D}^{25} = -18 \pm 1^\circ$ in Dimethylformamid; Ber.: C 38,30, H 2,35, N 14,91, S 6,81; Gef.: C 38,06, H 2,81, N 14,99, S 6,68). Gesamtausbeute an I, bezogen auf 4-Aminophenol und L-Tyrosin, 2,5 % der Theorie.

Herr Arno Reidies dankt der Studienstiftung des Deutschen Volkes für die Erteilung eines Stipendiums.

Eingeg. am 21. September 1953 [Z 86]

Die Konstitution des Fluorescyanins

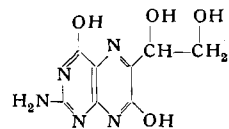
Von Prof. Dr. R. TSCHESCHE und Dr. F. KORTE

Biochemische Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg

Polonovski und Busnel¹⁾ isolierten aus Eiern und Puppen der Seidenraupe (*Bombyx mori*) 1948 eine als ein Pteridin angesehene Verbindung, der sie den Namen Fluorescyanin gaben²⁾. Sie sollte eine charakteristische Mitwirkung bei der Melanin-Bildung zeigen³⁾, die derjenigen von Pyrrol-chrom⁴⁾ aus der Haut des Frosches ähnlich wäre. Fluorescyanin ist nicht identisch mit Ichthyopterin, wie schon Y. Hirata, S. Nawa und H. Kakizawa⁵⁾ fanden, doch wird die Identität beider Pteridine in der Literatur als möglich erachtet. Die UV-Spektren sind sehr ähnlich, die R_F-Werte im Papierechromatogramm weisen deutliche Unterschiede auf.

Wir haben Fluorescyanin mit Perjodsäure abgebaut und konnten 2-Amino-6,9-dioxy-pteridinaldehyd-8 als Phenylhydrazon isolieren. Bei der Weiteroxydation mit Permanganat entsteht aus ihm Isoxanthopterin-carbonsäure. Demnach können Fluorescyanin und Ichthyopterin⁶⁾ sich nur im Aufbau der Seitenkette an C₈ unterscheiden. Fluorescyanin hat sehr wahrscheinlich an diesem C-Atom eine Glycol-Gruppierung, während Ichthyopterin den Rest –CH₂COOH enthält. Dem Fluorescyanin sollte daher die nachfolgende Konstitutionsformel zukommen:

Wir konnten ferner durch direkten Vergleich ermitteln, daß Pyrrol-chrom nicht mit Fluorescyanin oder Ichthyopterin identisch ist⁷⁾. Die papierchromatographische Untersuchung zeigt, daß Pyrrol-chrom ein Gemisch von



¹⁾ J. H. Barnes, R. C. Cookson, G. T. Dickson, J. Elks u. V. D. Poole, ebenda 1953, 1448.

²⁾ M. Polonovski u. R. G. Busnel, C. R. hebdomadaire Séances Acad. Sci. 226, 1047 [1948].

³⁾ Wir danken Prof. Dr. Polonovski und Dr. Busnel vielmals für die Überlassung von Eiern von *Bombyx mori*.

⁴⁾ P. Gonnard u. O. Svinareff, Ann. pharmac. franç. 4, 241 [1951].

⁵⁾ Y. Hirata, S. Nawa u. H. Kakizawa, Experientia 9, 339 [1952].

⁶⁾ R. Tschesche u. F. Korte, Chem. Ber. 84, 801 [1952].

⁷⁾ Dr. T. Fuyii sei auch hier gedankt für die Übersendung einer Probe Pyrrol-chrom.

¹¹⁾ Das Präparat verdanken wir den Farbwerken Hoechst, Frankfurt/M.-Höchst.

¹²⁾ P. Friedlaender, Ber. dtsch. chem. Ges. 26, 172 [1893].

¹³⁾ R. Meldola u. F. S. Stephan, J. Chem. Soc. [London] 87, 1199 [1904].

¹⁴⁾ E. Waser, A. Labouchère u. H. Sommer, Helv. Chim. Acta 8, 773 [1925].

¹⁵⁾ J. R. Chalmers, G. T. Dickson, J. Elks u. B. A. Hems, J. Chem. Soc. [London] 1949, 3424.