

# ANGEWANDTE CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

68. Jahrgang · Nr. 16 · Seite 505–532 · 21. August 1956

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

## Ursprung und Entwicklung in der Chemie der Phosphin-alkylene

Von Prof. Dr. G. WITTIG

Chemisches Institut der Universität Tübingen\*)

Absicht und Zufall führten zur Entdeckung der Phosphin-alkylene und ihrer Olefin-bildenden Eigen-schaften. Die präparative Bedeutung der neuen Stoffklasse wird an einer Reihe von Beispielen dar-gelegt.

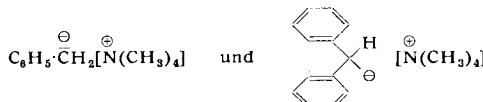
### Ursprung

Der Name *H. Staudingers* ist untrennbar mit der makromolekularen Chemie verbunden. Man darf aber nicht ver-gessen, daß er die ersten zwanzig Jahre seiner Forscher-tätigkeit der mikromolekularen Chemie gewidmet hat. Auch diese Schaffensperiode war fruchtbar und bereicherte die Wissenschaft um Neuartiges und Grundsätzliches. Es sei nur an die von ihm erschlossene Stoffklasse der Ketene erinnert und an die Entdeckung der Phosphin-alkylene in seinem ehemaligen Zürcher Arbeitskreis.

Seine erste Publikation hierüber<sup>1)</sup> aus dem Jahre 1919 beginnt mit den Sätzen: „Nach der Wernerschen Auffas-sung hat der Stickstoff die Koordinationszahl 4; nur 4 Atome oder Atomgruppen können direkt an Stickstoff gebunden sein; die fünfte Valenz ist prinzipiell von den anderen Valenzen verschieden. Es ist deshalb eine theoretisch interessante Frage, ob man nicht doch Stickstoffverbindungen kann, bei denen 5 Atome oder Atomgruppen gleichartig an Stickstoffgruppen gebunden sind; derartige Verbindungen sollten besonders stabil sein, wenn Stickstoff an 5 C-Atome gelagert ist, weil das Kohlenstoffatom indifferent ist und weil es sich mit dem Stickstoffatom besonders fest bindet.“

Diese Einleitung kennzeichnet den Autor. Die Frage-stellung ist — auch in der Welt der kleinen Molekülen — kühn und originell. Aber er beläßt es nicht bei der Problematik, sondern er experimentiert — entgegen der inzwischen zum Dogma erhobenen Theorie.

Heute — sagen wir vorsichtig — glauben wir zu wissen, daß das Gesetz der Oktette streng für die Elemente der ersten Achterperiode gilt und es dem Stickstoff verbietet, einen fünften Liganden homöopolar zu binden. Tatsächlich sind alle Versuche gescheitert, Derivate mit fünfbindigem Stickstoff herzustellen. Das von *W. Schlenk* und *J. Holtz*<sup>2)</sup> synthetisierte Benzyl-tetramethyl-ammonium und das von uns<sup>3)</sup> gewonnene Fluorenyl-tetramethyl-ammonium:



widersprechen dem Gesetz nicht, da der fünfte Ligand Benzyl, bzw. Fluorenyl dem Zentralatombereich ionogen zugeord-

\* Nach einem Vortrag anlässlich des 75. Geburtstages von Prof. Dr. H. Staudinger am 23. März 1956 in Freiburg/Br.

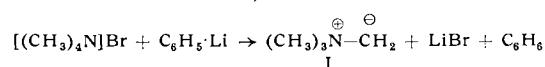
<sup>1)</sup> H. Staudinger u. J. Meyer, Helv. chim. Acta 2, 608, 612, 619, 635 [1919].

<sup>2)</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. 50, 274 [1917].

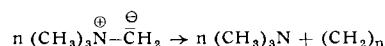
<sup>3)</sup> G. Wittig u. Mitarb., Liebigs Ann. Chem. 557, 201 [1947].

net ist, worauf die Äther-Unlöslichkeit und die dem Ben-zyl- und Fluorenyl-Anion eigentümliche orange Farbe hin-wiesen.

Ohne Kenntnis der damaligen Konzeption von *Stau-dinger* griffen wir das gleiche Problem um 1941 im Freiburger Laboratorium auf und setzten Phenyl-lithium mit Tetramethyl-ammoniumbromid um — mit dem Ziele, Phenyl-tetramethyl-ammonium zu gewinnen. Anders als erwartet, holte sich das Phenyl-Anion der metall-organischen Verbindung in einer Ausweichreaktion ein Proton aus einer Methyl-Gruppe und stabilisierte sich zu Benzol; gleichzeitig entstand das Betain I, das wir auf Grund seiner reellen oder virtuellen N—C-Bindung als „Ylid“ bezeichnen haben<sup>4)</sup>:

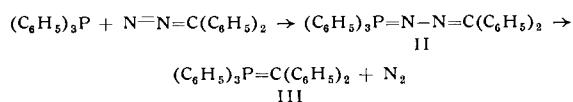


Allerdings ist das Trimethyl-ammonium-methyliid (I), die Muttersubstanz der Ylide; ohne Bindung an das mitentstandene Lithiumbromid nicht existenzfähig<sup>5)</sup>; salz-frei zerfällt es in Trimethylamin und Polymethylen:



Aber man kennt auch salzfreie Derivate, die stabil sind<sup>6)</sup>. Außerdem reagieren die nicht isolierbaren Ylide so, als ob sie semipolarer Natur wären, und dieses „als ob“ gestattet, die Mannigfaltigkeit ihrer Reaktionen ökonomisch zu deu-ten und heuristisch neue Wege zu weisen, die inzwischen erfolgreich begangen sind<sup>7)</sup>.

Daß Verbindungen mit fünfbindigem Stickstoff nicht ge-winnbar sind, schloß nicht aus, analoge Versuche auf Deri-vate des Phosphors zu übertragen. Hier gelang *Staudinger* und *Jules Meyer* folgende Umsetzung<sup>8)</sup>:



Aus Triphenyl-phosphin mit Diphenyl-diazomethan er-hielten sie das Phosphazin II, das beim Erhitzen un-ter Stickstoff-Entwicklung in Triphenylphosphin-di-phenylmethylen (III) überging. Der Name dieser rot kristallisierenden Verbindung stammt von den beiden

<sup>4)</sup> G. Wittig u. M.-H. Wetterling, Liebigs Ann. Chem. 557, 193 [1947].

<sup>5)</sup> G. Wittig u. R. Polster, Liebigs Ann. Chem., im Druck.

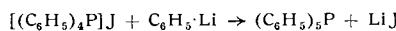
<sup>6)</sup> G. Wittig u. G. Felletschin, Liebigs Ann. Chem. 555, 133 [1944].

<sup>7)</sup> Vgl. G. Wittig, diese Ztschr. 63, 15 [1951]; Experientia [Basel] 12/2, 41 [1956].

<sup>8)</sup> Helv. chim. Acta 2, 619, 635 [1919].

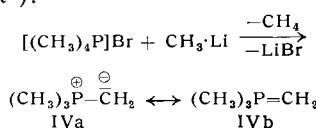
Autoren und ebenso die hier reproduzierte Formulierung, die zum Ausdruck bringt, daß der Phosphor fünfwertig fungiert – auch in dem so erstmalig dargestellten Vertreter der Phosphin-methylene III.

Nach 1945 versuchten wir<sup>9)</sup> — noch ohne Kenntnis der Befunde von Staudinger und Meyer — ebenfalls Derivate mit fünfbindigem Phosphor zu erhalten. Tatsächlich ließ sich durch Umsetzung von Tetraphenyl-phosphonium-jodid mit Phenyl-lithium der bislang unbekannte Penta-phenyl-phosphor gewinnen:



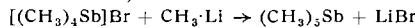
Dessen tiefer Schmelzpunkt (121 °C) und die Löslichkeitseigenschaften in polaren sowie unpolaren Solventien zeugen von dem homöopolaren Charakter der Verbindung.

Da also der Phosphor zum Unterschied vom Stickstoff seine äußere Elektronenschale zu einem Decett ausweiten kann, versuchten wir, auch Pentamethyl-phosphor herzustellen. Aber nach Einwirkung von Methyl-lithium auf Tetramethyl-phosphonium-bromid wurde statt der erwarteten Verbindung Trimethyl-phosphonium-methyliid IV isoliert<sup>9)</sup>:



Auffallenderweise gibt bei der Ylid-Bildung Methyl am Phosphor leichter ein Proton her als Methyl am Stickstoff, obwohl die abstoßenden Coulomb-Kräfte beim Phosphonium-Salz mit dem größeren Abstand ( $P-C = 1,87 \text{ \AA}$ ) gegenüber  $N-C = 1,47 \text{ \AA}$ ) und mit der stärkeren Abschirmung durch die hinzutretenden Elektronen der M-Schale schwächer als beim Ammonium-Salz sind. Diese unterschiedliche Protonenbeweglichkeit läßt sich zwanglos so deuten, daß Phosphor zum Unterschied vom Stickstoff mit dem benachbarten Kohlenstoff ein mesomeres System zwischen der Ylid-Form IVa und der Ylen-Form IVb ausbildet, was einen Energiegewinn zur Folge hat. Im Stickstoff-ylid I ist dieser partielle Ladungsausgleich am Bindungsplatz im Hinblick auf das Oktettgesetz unmöglich.

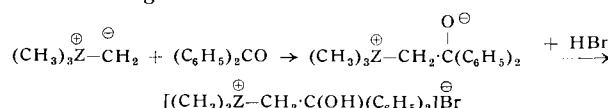
Erst beim Tetramethyl-stiboniumbromid vermindert der jetzt zu große Abstand zwischen Zentralatom und Methyl-Kohlenstoff die Protonenbeweglichkeit so stark, daß hier mit Methyl-lithium in glatter Reaktion Pentamethyl-antimon entsteht<sup>10</sup>):



Die rein homöopolare Verbindung ist eine Flüssigkeit vom Kp 127 °C. Hier wie beim Pentaphenyl-phosphor ist also das von Staudinger gewiesene Ziel erreicht, Verbindungen mit fünf Kohlenwasserstoff-Gruppen zu synthetisieren, die gleichwertig nicht-ionogen mit dem Zentralatom verknüpft sind.

Entwicklung

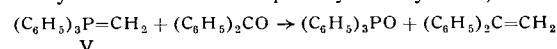
Die Ylid-Struktur der Stickstoff-Verbindungen und der Ylid-Ylen-Charakter der Phosphor-Derivate wurden u. a. so nachgewiesen, daß man die fraglichen Stoffe mit Benzophenon zu wohldefinierten Addukten ( $Z = N$  oder  $P$ ) umsetzte. Die bei nachfolgender Behandlung der Betaine mit HBr entstehenden Ammonium- und Phosphonium-Salze sind beständig:



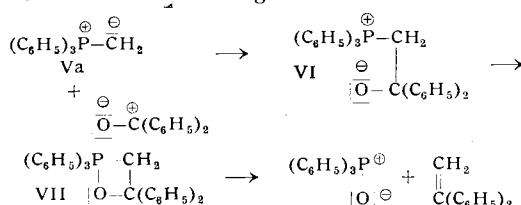
<sup>9)</sup> G. Wittig u. M. Rieber, Liebigs Ann. Chem. 562, 187 [1949].

<sup>10)</sup> G. Wittig u. K. Torssell, Acta chem. Scand. 7, 1293 [1953].

Als man nun das aus Triphenyl-methyl-phosphonium-bromid und Lithium-organischen Verbindungen hergestellte Triphenyl-phosphin-methylen (V) ebenfalls mit den Keton vereinigte, erhielt man nicht das erwartete Addukt VI, sondern ausschließlich Triphenyl-phosphinoxyd und asymmetrisches Diphenyl-äthylen<sup>11</sup>):

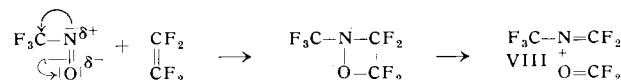


Der überraschende Vorgang läßt sich einleuchtend so erklären, daß sich zunächst normal V in seiner mesomeren Ylid-Form Va an die polar aufgerichtete C=O-Bindung des Ketons zum Betain VI anlagert:



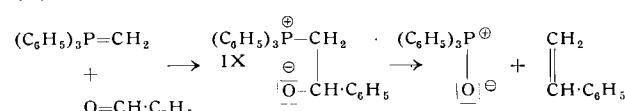
Dem Streben des Phosphors zur Decett-Bildung entgegenkommend, wird nun eines der freien Dublette am Sauerstoff mit dem Zentralatom anteilig, was durch die Resonanzmöglichkeiten der drei Phenyle am Phosphor erleichtert wird, und es schließt sich der Vierring VII. Über dieses nicht isolierbare Gebilde hinweg verläuft dann der Zerfall zu Triphenylphosphinoxid und Diphenyl-äthylen.

Interessant in diesem Zusammenhang ist die Beobachtung von D. A. Barr und R. N. Haszeldine<sup>12</sup>), daß sich Nitroso-fluoroform mit Tetrafluoräthylen zur Schiffschen Base VIII und Difluor-formaldehyd umsetzt:



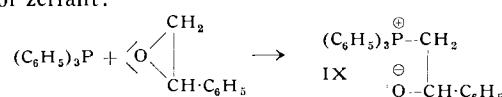
Unserer und dieser Abwandlungsreaktion gemeinsam ist die Addition betont polar-ungesättigter Verbindungen zu instabilen Vierringen, über welche die neuen ungesättigten Produkte gebildet werden; kennzeichnend ist jedoch der Unterschied, daß in unserem Falle der Sauerstoff zum Phosphor hinzogen wird, während er im zweiten Beispiel vom Stickstoff als Zentralatom abgelöst wird.

Daß aus V mit Benzophenon zunächst das Betain VI entsteht, ließ sich beweisen, als man an Stelle des Ketons Benzaldehyd an das Phosphor-ylén anlagerte. Hierbei ließ sich das Zwitterion IX isolieren und über sein Hydrobromid charakterisieren:



Das aus dem Phosphoniumbromid mit Basen wieder regenerierbare Betain IX ist also bei Raumtemperatur beständig; es zerfiel erst bei 60–70 °C in Triphenyl-phosphinoxid und Styrol<sup>13).</sup>

Zu den gleichen Endprodukten gelangte man, als man Triphenyl-phosphin mit Styroloxyd auf 165 °C erhitzte<sup>14)</sup>. Offenbar fügen sich beide Komponenten unter Sprengung des Dreirings zum vorher genannten Betain IX zusammen, das dann zu Triphenyl-phosphinoxyd und Styrol zerfällt:



<sup>11)</sup> G. Wittig u. G. Geißler, Liebigs Ann. Chem. 580, 44 [1953].

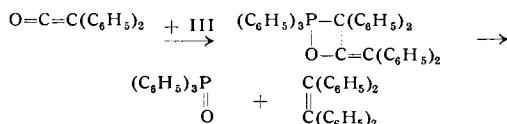
<sup>12)</sup> G. Wittig u. J. Schöller, Liebigs Ann. Chem. 580, 44 [1935].  
 J. chem. Soc. [London] 1955, 1881, 2532; vgl. R. Huisgen u. L. Krause, Liebigs Ann. Chem. 574, 159 [1951].

<sup>13)</sup> G. Wittig u. U. Schöllkopf, Chem. Ber. 87, 1318 [1954].  
<sup>14)</sup> G. Wittig u. W. Haag, Chem. Ber. 88, 1654 [1955].

<sup>14)</sup> G. Witting u. W. Haag, Chem. Ber. 88, 1654 [1955].

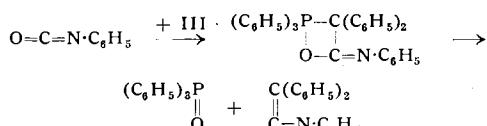
Wie an anderen Äthylenoxyden gezeigt wurde, lassen sich die Zersetzungstemperaturen erheblich erniedrigen, wenn man der Mischung mit Triphenyl-phosphin etwas Hydrochinon zufügt, das gleichzeitig als Säure die Äthylenoxyd-Ringsprengung begünstigt und als Inhibitor die Polymerisation des entstehenden Olefins unterdrückt.

*Staudinger* hat nicht nur den ersten Vertreter der Phosphin-alkylene dargestellt, sondern darüber hinaus mit III als Reagens dasselbe angestrebt, was uns unerwartet in den Schoß gefallen ist. Er versuchte bereits 1919<sup>15)</sup>, aus Triphenyl-phosphin-diphenylmethylen (III) und Thiobenzophenon Tetraphenyl-äthylen zu gewinnen. Doch mißlang dieses Vorhaben, und ebenso die Reaktion:



Dies ist auf die Reaktionsträgkeit seines Phosphorylens III zurückzuführen, das wegen der Massierung von Phenyl-Gruppen resonanzstabilisiert und daher einer Addition von Carbonyl-Derivaten unzugänglich ist.

Aber mit dem besonders aktiven Phenylisocyanat erreichte er sein Ziel. Bei dessen Umsetzung mit III:



erhielt er Triphenyl-phosphinoxyd und das Phenylimid des Diphenylketens. Die Vorgänge sind in der Originalschreibweise formuliert, aus der hervorgeht, daß *Staudinger* bereits damals einen intermediären Vierring annahm.

Während also sein Phosphinmethylen III nur in besonderen Fällen in der gewünschten Richtung reagiert, stießen wir mit Hilfe der inzwischen vervollkommenen metallorganischen Technik auf den reaktionsfähigsten Vertreter V, der sich als ein hervorragendes Olefinierungsmittel erwiesen hat<sup>13, 14)</sup>. Es war uns von vorneherein bewußt, daß wir insbes. in den vom Triphenyl-phosphin abgeleiteten Methylen-Derivaten Reagentien in der Hand hatten, mit deren Hilfe man ungesättigte Verbindungen, darunter auch solche der Vitamin A- und der Carotinoid-Reihe aufbauen konnte. Zur Verwirklichung der vielen sich bietenden Möglichkeiten waren allerdings noch entsprechende Zwischenprodukte einerseits von organischen Halogeniden, die mit tertiären Phosphinen zu quartären Phosphonium-Salzen umgesetzt werden konnten, und andererseits Aldehyde oder Ketone zu synthetisieren, die in die Phosphorylene überzuführen waren.

Die Realisierung der Vorhaben wurde in Zusammenarbeit mit dem Hauptlaboratorium der BASF-Ludwigshafen/Rh., insbes. mit Herrn Dr. H. Pommer, in Angriff genommen<sup>16)</sup>, da dort eine Reihe von Zwischenprodukten aus der „Reppe-Chemie“ zur Verfügung standen und Erfahrungen auf diesem Gebiet vorlagen.

Hier seien nur einige

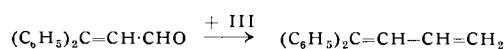
charakteristische Beispiele  
unter vielen herausgegrif-



<sup>15)</sup> H. Staudinger u. J. Meyer, Helv. chim. Acta 2, 639 [1919]; J. Meyer, Chem. Ber. 89, 842 [1956].

<sup>16)</sup> Die Ergebnisse der Zusammenarbeit sind in einer Reihe von Patentanmeldungen der BASF niedergelegt, von denen einige inzwischen bekannt gemacht wurden; DBP-Anm. der BASF, B 32741 IVb/120 vom 25. Sept. 1954; B 33052 VIc/120 vom 19. Okt. 1954; B 33053 IVc/120 vom 19. Okt. 1954; B 34276 IVc/120 vom 26. Jan. 1955 und das DBP. 943648; Erfinder jeweils G. Wittig und H. Pommer.

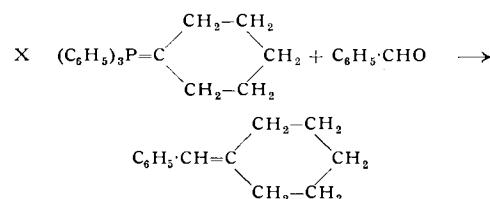
III bildete mit p-Nitro-benzophenon p-Nitro-diphenyl-äthylen, wobei die Nitro-Gruppe intakt blieb; bei seiner Umsetzung mit  $\beta,\beta$ -Diphenyl-acrolein entstand das bislang unbekannte Diphenyl-butadien<sup>17)</sup>:



Cyclohexanon lieferte bei Einwirkung von III das Isomeren-freie Cyclohexyliden-methan.

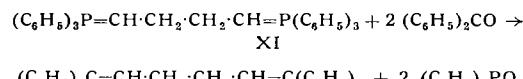
Bei der üblichen Synthese dieses ungesättigten Kohlenwasserstoffes, den man durch Addition von Methylmagnesium-halogenid an die Keto-Gruppe und durch nachfolgende Dehydrierung zu gewinnen versuchte, entstand überwiegend Methyl-cyclohexen. Es wandert also hier wie auch bei analogen Olefinierungen die C=C-Bindung vorzugsweise zu sekundären und tertiären Kohlenstoff-Atomen. Diese als *Saytzeff*-Regel bekannte Erfahrung verliert bei Umsetzung der Phosphin-alkylene mit Aldehyden und Ketonen ihre Gültigkeit. Dabei erscheint die C=C-Bindung dort, wo ursprünglich die Carbonyl-Gruppe saß.

X lieferte bei seiner Umsetzung mit Benzaldehyd das einheitliche Benzyliden-cyclohexan<sup>18)</sup>:

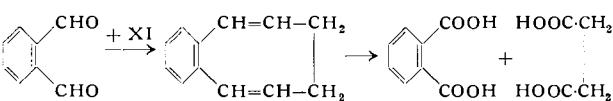


und Triphenyl-phosphin-isopropenyl mit Benzophenon 1,1-Diphenyl-2,2-dimethyl-äthylen<sup>18)</sup>.

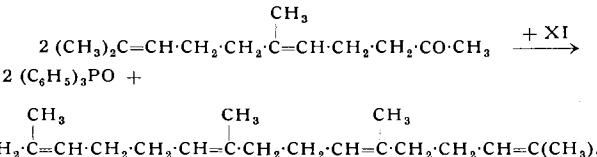
Auch bifunktionelle Phosphinalkylene lassen sich aus den zugehörigen Dihalogeniden über die entsprechenden Diphosphonium-Salze mit Lithium-organischen Verbindungen herstellen, z. B. das Diyen XI, das sich bei der Reaktion mit zwei Mol Benzophenon in das 1,1,6,6-Tetraphenyl-hexadien verwandelte<sup>19)</sup>:



Beim Umsetzen von XI mit Phthalodialdehyd schloß sich der Ring zu dem noch unbekannten Benzo-cyclooctatrien, das wir durch Ozonisieren und nachfolgendes Behandeln mit Peressigsäure zu Phthalsäure und Bernsteinäure abbauten<sup>19)</sup>:



Durch Einwirkung von XI auf zwei Mol Geranyl-aceton konnte S. Trippett<sup>20)</sup> das Squalen erhalten, das bereits von P. Karrer auf ganz anderem Wege synthetisiert war:



Wie wir wissen, erhält man diese Verbindung einfacher und in besserer Ausbeute.

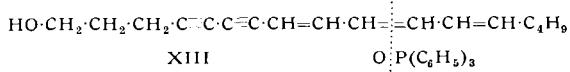
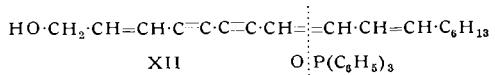
Abschließend seien weitere Synthesen von Naturstoffen aufgeführt, die mit Hilfe der Phosphin-alkylen-Methode

<sup>17)</sup> P. Duffner, Dissertation, Tübingen.

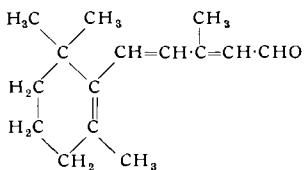
<sup>18)</sup> U. Schölkopf, Dissertation, Tübingen 1956.

<sup>19)</sup> H. Eggers, unveröffentl. <sup>20)</sup> Chem. and Ind. 1956, 80.

gewonnen wurden. So haben F. Bohlmann und H.-G. Viehe<sup>21)</sup> das Oenanthenol (XII) und Cicutol (XIII) dargestellt, deren Aufbau aus den folgenden schematisierten Formulierungen zu erkennen ist:

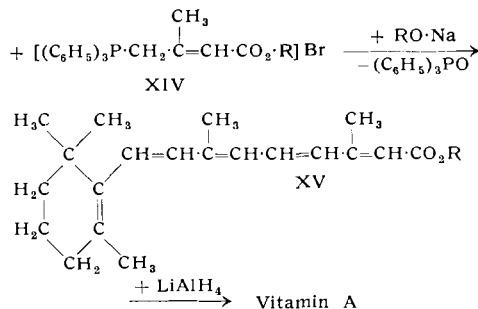


Über einen neuen Weg zum Vitamin A unterrichtet die folgende Reaktionsreihe<sup>22)</sup>:



<sup>21)</sup> Chem. Ber. 88, 1245, 1347 [1955].

<sup>22)</sup> DPB.-Anm. B, 32741 IVb/120 vom 25. Sept. 1954 der BASF-Ludwigshafen (Erfinder: G. Wittig u. H. Pommer).



$\gamma$ -Brom-methyl-crotonsäureester wurde mit Triphenylphosphin zum Phosphonium-Salz XIV vereinigt, das bei seiner Umsetzung mit  $\beta$ -Jonylidens-acetaldehyd in Gegenwart von Natrium-alkoholat Vitamin A-säureester XV lieferte. Das neue Verfahren ist einfacher als die bislang bekannten und führt in zufriedenstellender Ausbeute zum Endprodukt.

Wie hier dargelegt, dürfte die neue Methodik auf der Basis der Phosphin-alkylene, die uns nach mehrjähriger Forschung auf dem Gebiet der organischen Anionochemie zugefallen ist, in ihrer vielseitigen Anwendbarkeit die präparative Chemie bereichern.

Eingegangen am 9. Mai 1956 [A 734]

## Beiträge zur Erforschung des Lignins

Von Prof. Dr. K. FREUDENBERG, Heidelberg

Aus dem Chemischen Institut der Universität und dem Institut für die Chemie des Holzes und der Polysaccharide, Heidelberg\*

Künstliche und natürliche Lignin-Präparate werden verglichen. Die Enzyme des Holzes erzeugen aus Coniferylalkohol dieselben Umwandlungsprodukte wie das Pilzenzym. Das 5-Carboxyl der Isohemipinsäure entstammt dem mittelständigen C-Atom des Coniferylalkohols.

Die Biosynthese eines Lignin-Präparates (künstliches Lignin), das dem natürlichen Lignin außerordentlich ähnlich ist, gelingt, wenn man die Oxydoreductase des Speisechampignons auf Coniferylalkohol einwirken läßt. In ähnlicher Weise haben bereits 1908 H. Cousin und H. Hérissey das Enzym aus *Russula delica* auf Eugenol, Isoeugenol und andere Phenole einwirken lassen. Sie haben dabei Dimere und höhermolekulare Dehydrierungsprodukte dieser Phenole erhalten. Es ist selbstverständlich, daß Lignin nur aus solchen Substraten aufgebaut werden kann, die im Gewebe bei der Verholzung vorhanden sind. Die Dehydrierung des Eugenols, die unlängst von S. M. Siegel<sup>1)</sup> erneut bearbeitet worden ist, hat Interesse als Modellreaktion für die Lignin-Bildung, steht aber im übrigen nicht mit dem Lignin im Zusammenhang, weil Eugenol oder sein Glucosid im Bereich des Cambiums nicht angetroffen wird.

### I. Das Enzympräparat

Das Enzympräparat aus Champignon<sup>2)</sup> wurde nur so weit angereichert, als es für unsere Zwecke nötig ist<sup>3)</sup>. Der kalt gewonnene wäßrige Presssaft wird mit soviel Methanol versetzt, daß auf 70 Vol. der wäßrigen Lösung 30 Vol. Methanol kommen. Diese und die folgenden Operationen

werden bei 2–4 °C ausgeführt. Nach Entfernung des Niederschlags, der unwirksam ist, wird mit weiteren 133 Vol. Methanol versetzt, so daß jetzt auf 30 Vol. der ursprünglichen wäßrigen Lösung 70 Vol. Methanol kommen. Der dunkel gefärbte Niederschlag enthält die Hauptmenge des Enzyms. Er wird noch feucht mit Wasser ausgelaugt. Aus dem Filtrat wird das Enzym erneut mit Methanol (auf 30 Vol. der Lösung 70 Vol. Methanol) gefällt. Ausziehen mit Wasser und Fällung mit Methanol werden so lange wiederholt, bis eine farblose oder nahezu farblose Lösung erhalten wird. Sie verliert im Eisschrank in der Woche etwa 10% ihrer Wirksamkeit und muß daher alsbald verwendet werden. Zur Messung wird Dihydro-ferulasäure gewählt, deren Sauerstoff-Verbrauch im Meßbereich dem des Coniferylalkohols proportional ist. Eine Enzymeinheit ist diejenige Menge Enzym, die bei pH 5,5 und 25 °C in einer Lösung von 4 cm<sup>3</sup> in 40 min auf 3 mg Dihydro-ferulasäure 120 mm<sup>3</sup> Sauerstoff überträgt. Die Konzentration der Enzymlösung ist so einzustellen, daß dieser Verbrauch in mindestens 35 und höchstens 80 min erreicht wird. In diesen Grenzen ist die erforderliche Zeit umgekehrt proportional der Zahl der Enzymeinheiten. Die Ausbeute an Enzymeinheiten beträgt 20% der Einheiten des Rohextraktes. Der Reinigungsfaktor ist 150, das Gewicht pro Enzymeinheit 0,1 mg. Die Streuung dieser Durchschnittswerte ist groß. Vom rohen Presssaft werden Tyrosin und 3,4-Dioxy-phenylalanin in Melanin verwandelt, vom gereinigten Saft nur das Dioxy-phenylalanin, während zur Schwärzung einer Tyrosin-Lösung der Zusatz einer Spur von Brenzcatechin erforderlich ist. Die Wirkung auf Coni-

\* ) Vorgetragen in der Heidelberger Chemischen Gesellschaft am 3. Juli 1956.

<sup>1)</sup> Physiologia Plantarum 8, 20 [1955]; J. Amer. chem. Soc. 78, 1753 [1956].

<sup>2)</sup> Bearbeitet von M. Reichert u. G. Reuther.

<sup>3)</sup> An Enzymen anderer Herkunft haben D. Keilin u. T. Mann (Proc. Royal Soc. [London] Ser. B, 125, 187 [1938]) sowie F. Kubowitz (Biochem. Z. 292, 227 [1937]) Versuche zu weiterer Reinigung unternommen.