

Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Die polarographische Untersuchung von Chalkonen und Flavanonen

Die synthetischen und natürlichen Derivate der Chalkon- und Flavanonreihe sind schon Gegenstand zahlreicher Arbeiten gewesen. In chemischer Hinsicht wurden diese Verbindungsklassen besonders von ST. V. KOSTANECKI und Mitarbeiter¹ und von A. G. PERKIN² untersucht. In neuerer Zeit haben L. REICHEL und Mitarbeiter³ die Synthese von Chalkonen und Flavanonen unter physiologischen Bedingungen durchgeführt. Bei eigenen Untersuchungen⁴ über Chalkone und Flavanone war es von besonderem Interesse, eine eindeutige Unterscheidungsmöglichkeit zwischen der Chalkon- und Flavanonform aufzufinden, mit der es eventuell auch möglich ist, beide Verbindungen nebeneinander nachzuweisen. Ferner sollte die Bildungsgeschwindigkeit von Chalkonen festgestellt werden.

Das Chalkon wurde bereits von R. PASTERNAK und H. v. HALBAN⁵ polarographisch untersucht. Es zeigte bei $-1,19$ und bei $-1,68$ V Stufen. Die erste Stufe beruht auf der Hydrierung der Doppelbindung, während die zweite Stufe auf die Reduktion der Ketogruppe zurückzuführen ist. In eigenen Versuchen ergaben alle untersuchten Chalkone sowohl in neutraler als auch in alkalischer Grundlösung ausgeprägte Doppelstufen.

Verbindung	Grundlösung			
	0,4 n (NH ₄) ₂ SO ₄ in 40%ig. Isopropanol.		0,1 n NaOH in 50%ig. Isopropanol.	
Chalkon	-1,18	-1,48	—	—
2'-Oxychalkon . . .	-1,28	-1,50	-1,18	-1,50
2-Oxychalkon . . .	-1,27	-1,46	—	—
2,2'-Dioxychalkon .	-1,36	-1,50	—	—
2,2'-Dioxy-5-bromchalkon	-1,27	-1,46	-1,26	-1,50
Furfuryliden-2-oxyazeto-phenon . .	-1,32	-1,60	—	—
Cinnamyliden-2-oxyazetophenon . .	—	—	-1,07	-1,45
2'-Oxy-5'-brombenzyliden-2-oxy-1-azetonaphthon . .	-1,30	-1,90	—	—

Die angegebenen Werte (in Volt) entsprechen dem Halbstufenpotential nach der Definition von J. HEYROVSKÝ⁶.

¹ ST. V. KOSTANECKI und Mitarbeiter, Ber. dtsh. Chem. Ges. **29**, 1192 (1896); **32**, 1923 (1899); **37**, 2635 (1904).

² A. G. PERKIN, Proc. Chem. Soc. **20**, 169 (1904). – A. G. PERKIN und J. J. HUMMEL, J. Chem. Soc. **85**, 1459 (1904).

³ L. REICHEL und Mitarbeiter, Ber. dtsh. Chem. Ges. **76**, 1132, 1134 (1943); **74**, 1741, 1802 (1941); Liebigs Ann. Chem. **553**, 83, 98 (1942).

⁴ E. SCHRAUFSTÄTTER und S. DEUTSCH, Chemische Berichte, im Druck.

⁵ R. PASTERNAK und H. v. HALBAN, Helv. chim. acta **29**, 190 (1946).

⁶ J. HEYROVSKÝ, Polarographie (Springer, Berlin 1943).

Als die geeignetste Grundlösung für die Bestimmung der Chalkone erwies sich 0,1 n NaOH in 50%igem Isopropanol, da bei Pufferlösungen und selbst auch bei Neutralsallösungen häufig eine dritte kleine Stufe zwischen $-1,80$ und $-1,96$ V zu bemerken war. Diese Erscheinung dürfte wahrscheinlich darauf zurückzuführen sein, daß in Pufferlösung ein geringer Prozentsatz des Chalkons als Flavanon vorliegt. Durch die weiteren Ergebnisse wurde diese Vermutung sehr wahrscheinlich gemacht, da die polarographischen Reduktionspotentiale der Flavanone meist in der Größenordnung von $-1,8$ V liegen und diese Potentiale bei Mischungen mit Chalkonen zu negativeren Werten verschoben werden.

Das Flavanon wurde schon von H. ADKINS und F. W. COX¹ polarographisch untersucht. In (CH₃)₄N · OH als Grundlösung zeigte es zwei Stufen, nämlich bei $-1,12$ V und $-1,89$, während in NH₄Cl das Reduktionspotential bei $-1,47$ V lag. Eigene Bestimmungen in 0,4 n (NH₄)₂SO₄ in 40%igem Isopropanol ergaben folgende Werte:

Flavanon	-1,80 V
2'-Oxy-5,6-benzoflavanon	-1,74 V
2'-Oxy-5'-brom-5,6-benzoflavanon	-1,74 V

Es kann daher bei Verwendung einer schwachsauren oder einer neutralen Grundlösung schon am Vorhandensein einer oder zweier Stufen festgestellt werden, ob ein Chalkon oder ein Flavanon vorliegt. Die Untersuchung von Flavanon in 0,1 n NaOH in 50%igem Isopropanol lieferte Reduktionspotentiale bei $-1,18$ und $-1,49$ V. Es sind dies die gleichen Werte, wie sie beim 2'-Oxychalkon erhalten worden sind. Durch Zugabe einer Lösung von 2'-Oxychalkon konnte die Identität der Stufen festgestellt werden. Auch nach Ansäuern der alkalischen Flavanonlösung mit Essigsäure wurde dasselbe polarographische Ergebnis, wie bei einer unter gleichen Bedingungen untersuchten 2'-Oxychalkonlösung, erzielt. Aus diesen Resultaten ist ersichtlich, daß das Flavanon durch 0,1 n NaOH in 50%igem Isopropanol sofort und irreversibel in 2'-Oxychalkon umgewandelt wird. Die Überführung von Chalkon in das Flavanon ist nach L. REICHEL und W. BURKART² in Zitrat-HCl-Puffer möglich. Diese Übergänge zwischen Flavanon und Chalkon und umgekehrt, wie sie bei den natürlichen Vertretern dieser Verbindungsklassen in der Pflanze angenommen werden müssen, können, wie sich aus weiteren Versuchen ergab, polarographisch verfolgt werden. In 0,1 n NH₄Cl in 50%igem Isopropanol gelang es, das 2'-Oxychalkon neben dem Flavanon nachzuweisen, wenn auch die Genauigkeit dieser Untersuchung durch das Vorhandensein einer kleinen dritten Stufe des 2'-Oxychalkons etwas leidet. Bei der Prüfung weiterer Grundlösungen auf ihre Brauchbarkeit würden sich sicherlich noch bessere Bedingungen finden lassen. Die polarographische Bestimmung von Chalkonen und Flavanonen wird gegenüber der chemischen Identifizierung immer dann von Vorteil sein, wenn für die letztere Nachweis-

¹ H. ADKINS und F. W. COX, J. Am. Chem. Soc. **60**, 1151 (1938).

² L. REICHEL und W. BURKART, Ber. dtsh. Chem. Ges. **74**, 1802 (1941).

methode p_H -Änderungen oder gar chemische Reaktionen erforderlich sind, da das Verhältnis zwischen Chalkon und Flavanon schon durch geringe physikalische oder chemische Einflüsse verändert wird.

Die Bildungsgeschwindigkeit eines Chalkons aus einem Azetophenon und einem Aldehyd ließ sich polarographisch gut verfolgen. Als Beispiel wurde das 2,2'-Dioxy-5-bromchalkon gewählt, da sich bei dieser Verbindung sowohl der Aldehyd, als auch das Azetophenon neben dem Chalkon eindeutig nachweisen ließen. Die erhaltenen Werte stimmen gut mit dem Ablauf einer Reaktion zweiter Ordnung überein. Nach 8 Stunden waren 79% des betreffenden Chalkons gebildet.

Die polarographische Bestimmung von Chalkonen und Flavanonen im Pflanzenmaterial wird derzeit durchgeführt.

E. SCHRAUFSTÄTTER

Erlangen, den 9. Januar 1948.

Summary

It has been found by polarographic analysis in neutral or acid solution that chalcones show two reduction potentials, while flavanones show only one.

It was possible to determine 2'-hydroxy-chalcone beside flavanone with a polarograph.

The formation rate of a chalcone from an aldehyde and a ketone could be followed polarographically.

Existence de sels biliaires et de cérébrosides associés à des protéines chez *Moniezia expansa*

(Recherches biochimiques sur les Cestodes)

Nous avons déjà montré¹ que des acides biliaires accompagnaient certaines fractions protéiques extraites des vers. Nous poursuivons ici l'étude de la fraction la plus riche en sels biliaires.

Rappelons comment fut obtenue cette fraction: les *Moniezia* fraîchement récoltés à l'abattoir dès la mort des moutons, sont rapidement lavés par de l'eau salée isotonique, puis congelés et broyés à froid. On les délipide par de l'alcool absolu froid (au-dessous de 0° C), puis par de l'éther froid. La poudre délipidée est épuisée par de l'eau distillée (dans une glacière). On obtient de grands volumes de solution que l'on dialyse sous pression contre de l'eau distillée. La dialyse enlève des substances diffusibles. De plus, grâce à la pression (1 atm.); il se produit une considérable exosmose qui concentre les substances non diffusibles. On arrête la dialyse après huit jours, alors que le volume n'est plus que 0,6 ml par g de ver.

Au cours de la dialyse, il se forme progressivement un précipité blanc que l'on recueille et lave par de l'eau. La matière lavée est la fraction qui nous intéresse ici. Elle est insoluble dans l'eau, même si l'on ajoute du chlorure de sodium et même si l'on ramène le p_H à 7 par un peu de soude (pour dissoudre, il faudrait atteindre p_H 9). La précipitation pendant la dialyse n'est donc pas simplement due à la baisse de concentration saline, ni à l'évolution du p_H vers l'isotonique moyen des protéines.

Dans cette fraction, nous avons déjà décelé des sels biliaires et des protéines. Pour les séparer, il avait été nécessaire de pratiquer une longue alcoolyse par de l'alcool absolu bouillant. Après cette opération, nous avons laissé refroidir et recueilli la solution alcoolique dans la-

quelle nous avons décelé les sels biliaires. La partie insoluble dans l'alcool était riche en protéines, mais sa teneur en azote était seulement 8,6%. Nous avons donc conclu qu'il ne s'agissait pas d'une protéine, pure mais nous n'en avons pas poussé l'étude. Nous avons pu reprendre cette étude en opérant sur de copieux échantillons de vers qui nous ont fourni une masse importante de la fraction. Donnons immédiatement nos conclusions principales, il nous sera plus facile ensuite d'exposer la technique de séparation: la fraction se scinde par alcoolyse en 1° des protéines; 2° des acides biliaires; 3° des cérébrosides; 4° du glycogène.

L'alcoolyse doit être effectuée par de l'alcool très fort et l'ébullition doit être maintenue une quarantaine d'heures. On filtre à chaud, puis on lave par de l'alcool bouillant. Nous reviendrons plus loin sur l'étude du résidu insoluble (il contient protéines et glycogène). Les solutions alcooliques sont placées dans une glacière, il s'y forme lentement un précipité N° 1 que l'on recueille. La solution mère est concentrée au quart de son volume par distillation sous vide, puis refroidie à la glacière; il y apparaît un précipité N° 2 dont la solution mère est encore une fois concentrée puis refroidie pour faire déposer le précipité N° 3 que l'on sépare. Un traitement méthodique des précipités par l'alcool en élimine les parties les plus solubles qui viennent rejoindre les solutions mères. On finit par obtenir d'une part la partie la plus soluble à froid qui est constituée par des sels biliaires typiques et d'autre part la partie la moins soluble à froid qu'il fallut identifier.

Il s'agit de substances blanches solubles dans l'alcool à chaud mais très peu solubles à froid, solubles dans la pyridine à froid et dans l'acétone à chaud, insolubles dans l'eau et très peu solubles dans l'éther. Elles contiennent 2,7% d'azote et pas de phosphore. Elles ne donnent plus les réactions des sels biliaires; la réaction de PETENKOFER conduit à un anneau brun rougeâtre sans trace de violet. Pour identifier cette substance, nous l'avons soumise à une hydrolyse acide qui libéra lentement un ose et des acides gras. Nous avons donc pensé avoir affaire à des cérébrosides et nous avons pratiqué leur décomposition en milieu alcoolique par de l'acide sulfurique à 10% dans de l'alcool absolu. Après chauffage pendant cinq heures, on refroidit à la glacière. Il se forme un précipité constitué par des esters éthyliques d'acides gras. La solution mère contient un ose et de la sphingosine. On lui ajoute un volume égal d'eau et l'on concentre sous vide jusqu'au tiers afin d'éliminer l'alcool. Le résidu est refroidi à la glacière, la sphingosine précipite à l'état de sulfate. Le liquide surnageant contient l'ose que nous avons identifié par microchromatographie sur papier¹. Il s'agit de galactose. Ayant ainsi déterminé les constituants du cérébroside, nous les avons dosés: 32 mg du cérébroside ont donné 14 mg d'esters d'acides gras (47% d'esters, donc 44% d'acide gras) 9,8 mg de sphingosine (32%) et 6,5 mg de galactose (21,7%). Les teneurs calculées pour un cérébroside tel que la cérasine seraient: acide gras 45,3%; sphingosine 36,8% et galactose 22,1%, ce qui correspond bien à nos résultats, étant donné que le sulfate de sphingosine n'est pas rigoureusement insoluble donc que notre dosage de sphingosine est entaché d'une erreur par défaut.

Nous avons ensuite étudié les constituants plus solubles dans l'alcool froid. Dans les solutions alcooliques, avant l'élimination du cérébroside, les réactions qualitatives des sels biliaires étaient troublées. Maintenant que les fractionnements par l'alcool ont éliminé la presque totalité du cérébroside, les réactions des sels

¹ N. KENT et M. MACHEBŒUF, C. R. Acad. Sci. 225, 539 (1947); XI^e Congrès international de chimie (17 juillet 1947, Londres); Rev. suisse Bact. Pathol. 10, 464 (1947).

¹ S. M. PARTRIDGE, Nature 158, 270 (1946).