

rasch heraus, daß das «spektralreine» Handelsgas noch merkliche Mengen Helium und Stickstoff enthielt, die von der technischen Reinigung und Analyse nicht erfaßt worden waren. Diese Verunreinigungen machten sich durch die veränderte Wärmeleitung des Trenngases bemerkbar und wurden durch je ein Endtrennrohr von 150 cm Länge am schweren bzw. leichten Ende ausgeschieden. Den Heliumgehalt des Ausgangsgases konnten wir durch eine Dichtmessung des am leichten Ende angesammelten  $^{20}\text{Ne}$ -He-Gemisches mit der Gaswaage bei Berücksichtigung der Volumverhältnisse sehr genau zu 1,9% He ermitteln, während der  $\text{N}_2$ -Gehalt schätzungsweise etwas unter 0,5% lag.

Wir danken der Stiftung für wissenschaftliche Forschung an der Universität Zürich für einen Kredit zur Beschaffung des Neons.

KLAUS CLUSIUS und MAX HUBER

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Zürich, den 25. April 1950.

### Summary

From 6,65 litres of ordinary neon 3,5 litres helium-free  $^{20}\text{Ne}$  with an isotopic purity of 99,95% were obtained in a thermal diffusion column of 5 units of 2,85 m length each. The so-called "spectroscopically" pure neon of trade quality delivered in glass tubes contained 1,9% helium and about 0,5% nitrogen which could be easily detected and separated from the crude neon during the process.

### Bestimmung der magnetischen Suszeptibilität von Vitamin $\text{B}_{12}$

Vitamin  $\text{B}_{12}$  ist seit einiger Zeit in kristallisierter Form<sup>1</sup> zugänglich; über seine chemische Struktur ist aber bis heute erst wenig bekanntgeworden. Man kennt lediglich die ungefähre Bruttoformel der Verbindung ( $\text{C}_{62}\text{H}_{88}\text{N}_{14}\text{O}_{13}\text{P}$  Co oder  $\text{C}_{63}\text{H}_{90}\text{N}_{14}\text{O}_{13}\text{P}$  Co) sowie die Struktur kleiner Bruchstücke des  $\text{B}_{12}$ -Moleküls. – Auf Veranlassung von Herrn Prof. T. REICHSTEIN haben wir versucht, durch magnetische Messungen – unter Ausnutzung des Umstandes, daß Vitamin  $\text{B}_{12}$  eine Kobaltverbindung ist – etwas weiteres über seine Struktur in Erfahrung zu bringen, ähnlich wie dies in anderen Fällen durch die magnetische Untersuchung entsprechender Metallsalze, insbesondere bei Porphyrinen und Phthalocyaninen möglich gewesen ist<sup>2</sup>. Die Grundlage der Methode<sup>3</sup> bildet die Tatsache, daß das magnetische Moment gewisser Ionen (der sogenannten Übergangselemente) meist in charakteristischer Weise davon abhängt, ob das betreffende Ion in der zu untersuchenden Substanz elektrostatisch gebunden enthalten ist, oder ob, und vor allem wie es durch homöopolare Bindungen in ein größeres Molekül, in den erwähnten Fällen in ein Porphyrin- bzw. Phthalocyaninmolekül eingebaut ist. Es lag nahe, in dieser Weise gerade Vitamin  $\text{B}_{12}$  zu untersuchen, da dessen Molekül bereits ein in diesem Sinne als Indikator des Bindungszustandes geeignetes Metallatom enthält.

<sup>1</sup> E. L. RICKES, N. G. BRINK, F. R. KONIUSZY, T. R. WOOD, and K. FOLKERS, Science 107, 396 (1948). – E. LESTER SMITH, Nature 161, 638 (1948).

<sup>2</sup> Zahlreiche Arbeiten von L. PAULING und Mitarbeitern, zitiert z. B. in 3. – W. KLEMM und L. KLEMM, J. prakt. Chemie 143, 82 (1935).

<sup>3</sup> Siehe z. B. P. W. SELWOOD, *Magnetochemistry* (New York 1943).

Die hierzu nötigen Suszeptibilitätsmessungen führten wir nach einer Art «Steighöhenmethode»<sup>1</sup> an Lösungen von  $\text{B}_{12}$  in einem «unmagnetischen»<sup>2</sup> Lösungsmittel durch; es war derart möglich, mit kleinen Substanzmengen (10–20 mg) auszukommen. Die verwendete Methode geht davon aus, daß die Suszeptibilität einer solchen Lösung (wegen der Temperaturabhängigkeit der Suszeptibilität des paramagnetischen Lösungsbestandteils) bei einer bestimmten Temperatur genau gleich Null wird, und daß dementsprechend bei dieser Temperatur die von einem inhomogenen Magnetfeld auf die Lösung ausgeübte Kraft verschwindet<sup>3</sup>. Man kann diese Temperatur als «Schwebetemperatur» (S.-T.) bezeichnen, weil die in ihrem «Steigrohr» an sich bewegliche Lösung dann auch beim Einschalten des Magnetfeldes in Ruhe bleibt<sup>4</sup>, während sie bei allen anderen Temperaturen dabei entweder steigt oder fällt.

Da die S.-T. ihrerseits durch die Zusammensetzung der Lösung und durch die Suszeptibilitäten der einzelnen Lösungsbestandteile eindeutig bestimmt ist, kann man bei Lösungen bekannter Zusammensetzung aus Schwebetemperaturen auf Suszeptibilitäten schließen.

### Unsere Versuche ergaben:

Eichung: Ein Zusatz von 1 bzw. 1,5% Wasser zu einer Lösung mit einer S.-T. von  $18,6^\circ$  erniedrigte die S.-T. dieser Lösung auf  $15,6^\circ$  bzw.  $13,9^\circ$ ; daraus folgt, daß im Mittel eine S.-T.-Erniedrigung von  $1^\circ$  einer Suszeptibilitätserniedrigung der Lösung um  $2,4 \cdot 10^{-6}$  entspricht<sup>5</sup>.

Eigentliche Messung: Ein Zusatz von 1,8; 1,1; 1,0; 0,9% Vitamin  $\text{B}_{12}$  zu der gleichen Lösung ergab eine Erniedrigung der S.-T. um 4,8; 2,3; 2,4; 2,2°; daraus folgt für Vitamin  $\text{B}_{12}$  unter Verwendung des angegebenen Eichwertes eine Grammuszeptibilität von  $(-0,58 \pm 0,08) \cdot 10^{-6}$  bzw. eine Molsuszeptibilität von  $(-750 \pm 100) \cdot 10^{-6}$ .

Das für diese Versuche benutzte kristallisierte Vitamin  $\text{B}_{12}$  wurde von Herrn Dr. O. SCHINDLER an der Pharmazeutischen Anstalt Basel teilweise aus Leberextrakt<sup>7</sup>, teilweise aus Nebenprodukten der Streptomycinfabrikation<sup>8</sup> isoliert. Die Präparate waren nach Spektrum und biologischer Prüfung identisch.

An dem für die Suszeptibilität gefundenen Wert erscheint zunächst bemerkenswert, daß die *kobalthaltige* Substanz Vitamin  $\text{B}_{12}$  *diamagnetisch* ist. Dadurch unterscheidet sich diese Verbindung deutlich von den gewöhnlichen Salzen des zwei- oder des dreiwertigen Kobalts sowie von den Komplexsalzen des zweiwertigen

<sup>1</sup> G. QUINCKE, Ann. Phys. 24, 347 (1885).

<sup>2</sup> Im konkreten Falle wurde eine ca. 2%ige Lösung von Kobalsulfat in Wasser verwendet, nachdem festgestellt war, daß sich in einer solchen Lösung Vitamin  $\text{B}_{12}$  unverändert löst.

<sup>3</sup> Genauer gesagt ist die Suszeptibilität dann gleich der des über der Lösung befindlichen Gases. Die Methode wurde ursprünglich gerade zur Messung der Suszeptibilität von Gasen entwickelt; s. A. P. WILLS und L. G. HECTOR, Phys. Rev. 23, 209 (1924).

<sup>4</sup> Wird das QUINCKESCHE Verfahren in dieser Form – als Nullmethode – zur Messung benutzt, so spielen die sonst so störenden «Benzetzungsschwierigkeiten» keine Rolle.

<sup>5</sup> Da in unseren Versuchen der Flüssigkeitsmeniskus an Luft grenzt, müssen wir für die Suszeptibilität des Wassers einen Wert von  $-0,75 \cdot 10^{-6}$  einsetzen. Von den durch die Zusätze verursachten Volumenänderungen der Lösung, ebenso von der Temperaturabhängigkeit der Suszeptibilität des Wassers, sehen wir ab.

<sup>6</sup> Der gefundene Wert besitzt demnach noch sehr weite Fehlergrenzen. Die Meßmethode – es ist uns nicht bekannt, ob sie bereits anderweitig beschrieben wurde – muß im einzelnen noch ausgearbeitet und verbessert werden. Im speziellen sollte man die Lösung nicht an Luft von veränderlichem Druck grenzen lassen.

<sup>7</sup> Von der N.V. Organon, Oss (Holland) freundlichst zur Verfügung gestellt.

<sup>8</sup> Ein Konzentrat aus Streptomycinabfällen wurde dafür von der Firma Armour Laboratories, Chicago, zur Verfügung gestellt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

Kobalts<sup>1</sup>. Diamagnetisch wie Vitamin B<sub>12</sub> sind dagegen, mit Ausnahme von K<sub>3</sub>CoF<sub>6</sub>, die vielen Komplexsalze des dreiwertigen Kobalts (insonderheit die Kobaltitake<sup>2</sup>). Ebenfalls sind diamagnetisch hier nicht zu betrachtende mehrkernige Kobaltkomplexe sowie ver einzelte Nitroso- bzw. Kohlenoxyd-Verbindungen des Kobalts.

Theoretisch läßt sich andererseits voraussagen<sup>3</sup>, daß in Verbindungen des dreiwertigen Kobalts mit 6 oktaedrisch angeordneten und kovalent gebundenen Liganden (in «Durchdringungskomplexen») das Kobaltion die Magnetonenzahl Null besitzen muß und diese Verbindungen infolgedessen (in Übereinstimmung mit der Erfahrung) diamagnetisch sein müssen. Dagegen sind für in anderer Weise gebundene dreiwertige oder zweiwertige Kobaltionen (wieder in Übereinstimmung mit der Erfahrung) Magnetonenzahlen von 1,73, 2,83, unter Umständen auch höhere zu erwarten.

Auf Grund der erwähnten experimentellen Erfahrungen an anderen Kobaltverbindungen sowie auf Grund der Aussagen der Theorie dürfen wir somit allein schon aus der Tatsache, daß Vitamin B<sub>12</sub> diamagnetisch ist, den Schluß ziehen, daß das Kobaltion im B<sub>12</sub>-Molekül dreiwertig ist, daß es 6 oktaedrisch angeordnete Liganden besitzt und daß es in einem Durchdringungskomplex fest gebunden ist<sup>4</sup>. (Letztere Feststellung wird durch die bisherigen chemischen Befunde völlig bestätigt.)

Der für die Molsuszeptibilität gefundene Zahlenwert von  $(-750 \pm 100) \cdot 10^{-6}$  gibt – da das Kobaltion mit der Magnetonenzahl Null keinen nennenswerten Beitrag dazu liefert – im wesentlichen die Suszeptibilität des organischen Teils des B<sub>12</sub>-Moleküls wieder. Theoretisch läßt sich auf Grund der Bruttoformel der Verbindung (durch Addition der Pascalschen Atominkremente) die Größenordnung dieses Wertes in befriedigender Übereinstimmung mit dem experimentellen Befund zu ca.  $-750 \cdot 10^{-6}$  angeben<sup>5</sup>. Eine genauere Diskussion dieser Zahlen, aus der man über das eingangs gegebene Programm hinausgehend, weitere Schlüsse auf die Konstitution der Verbindung ziehen könnte, ist vor allem schon wegen der großen Fehlergrenzen des experimentellen Werts vorderhand nicht möglich.

Wir danken Herrn Prof. Dr. T. REICHSTEIN für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Zurverfügungstellung der Substanzproben; Herrn Prof. Dr. W. KUHN danken wir für die Erlaubnis zur Benützung der Institutsmittel.

F. GRÜN und R. MENASSÉ

Physikalisch-chemische Anstalt der Universität Basel,  
17. Mai 1950.

### Summary

The magnetic susceptibility of vitamin B<sub>12</sub> has been measured, and the substance is found to be diamagnetic. This fact has been used to draw some conclusions about its structure.

<sup>1</sup> Siehe P. W. SELWOOD, I. c. – Eine (theoretisch bis jetzt nicht verständliche) Ausnahme bildet K<sub>4</sub>Co(CN)<sub>6</sub>, das (vgl. D. M. BOSE Z. Phys. 65, 677 [1930], sowie L. SZEGÖ und P. OSTINELLI, Gazz. 60, 946 (1930)) diamagnetisch ist.

<sup>2</sup> Siehe insbesondere R. W. ASMUSSEN, Diss. Kopenhagen (1944).

<sup>3</sup> Siehe insbesondere L. PAULING, zitiert z. B. bei W. KLEMM, *Magnetochemie* (Leipzig 1936), p. 190.

<sup>4</sup> Diese Aussage bezieht sich natürlich zunächst auf Vitamin B<sub>12</sub> in Lösung.

<sup>5</sup> Für die Berechnung eines genaueren Wertes müßte man noch die vorderhand unbekannten Konstitutionsinkremente sowie den Suszeptibilitätsbeitrag des Kobaltions berücksichtigen. Der oben angegebene Wert könnte sich dadurch u.U. auf ca.  $-650 \cdot 10^{-6}$  vergrößern (vor allem, wenn das B<sub>12</sub>-Molekül stark ungesättigt sein sollte) oder auf ca.  $-800 \cdot 10^{-6}$  verkleinern (wenn es aromatische Ringe enthält).

### Über die Wirkung des Kohlenoxyds auf Atmung und Ionenaufnahme von Weizenwurzeln

Die Untersuchungen von LUNDEGÅRDH über die Atmung von Weizenwurzeln und deren Zusammenhang mit der Ionenaufnahme machten es wahrscheinlich, daß es sich bei dem für die Ionenaufnahme verantwortlichen Anteil der Wurzelatmung (Anionenatmung) um ein Oxydationssystem vom Typus der Zytochrom/Zytochrom-Oxydase handeln muß<sup>1</sup>. Die eisenhaltigen Oxydationsfermente werden durch HCN, NaN<sub>3</sub> und CO gehemmt, wobei die CO-Hemmung photoreversibel ist. Die kupferhaltigen Phenoloxydasen reagieren auch auf die genannten Atmungsgifte, jedoch ist die CO-Hemmung nicht lichtempfindlich. Die Blockierung der Anionenatmung und Ionenaufnahme durch Cyanid und Azid wurde vielfach untersucht<sup>2</sup>, hingegen liegen über die entsprechende Wirkung von CO bis jetzt noch keine Untersuchungen vor. Die hier angeführten Versuche sollen dazu beitragen, die Natur der Anionenatmung zu klären.

Die Versuche wurden entsprechend der von LUNDEGÅRDH angegebenen Methode ausgeführt<sup>3</sup>. Es wurden die abgetrennten, 6–8 cm langen Wurzeln von ca. 10 Tage alten, in Nährösung aufgezogenen Weizenpflanzen verwendet. In der Regel betrug das Trockengewicht 10–15 mg pro Versuchskolben von 50 ml Inhalt. Für die CO-Versuche wurde eine mit CO gesättigte Lösung im gewünschten Verhältnis mit O<sub>2</sub> gesättigter Lösung gemischt und in den Kontrollversuchen die CO-Lösung durch N<sub>2</sub> gesättigte ersetzt. Um eine ständige Durchmischung der Lösung während der Versuche zu gewährleisten und eine Temperaturerhöhung durch die Beleuchtung zu verhindern, ließen wir die Kolben in einem temperaturkonstanten Wasserbad (20° C) unter einem Winkel von 45° rotieren. Als Lichtquelle wurde eine 1000-Watt-Lampe benutzt, die Lichtstärke betrug in der Höhe der Versuchskolben ca. 14 000 Lux. Versuche zeigten, daß mindestens 4000 Lux notwendig sind, um die CO-Wirkung aufzuheben. Die Atmung wurde durch Bestimmung des O<sub>2</sub>-Verbrauches aus der Lösung nach der Methode von WINKLER bestimmt, die Cl-Aufnahme durch elektrometrische Titration der Versuchslösung.

Es wurde jeweils in Parallelversuchen die normale Atmung und Cl-Aufnahme in 0,0005 mol KCl-Lösung, die Grundatmung in derselben Salzlösung mit Zusatz von 0,001 mol KCN und die Wirkung von CO in belichteten und verdunkelten Versuchen, ebenfalls in 0,0005 mol KCl-Lösung, bestimmt. Bei der verwendeten KCN-Konzentration wird sicher die gesamte Anionenatmung gehemmt, so daß sich aus der Differenz der Totalatmung (reines KCl) und der Grundatmung (0,001 mol KCN) die Anionenatmung ergibt. Vorversuche zeigten auch, daß das Licht Atmung und Ionenaufnahme weder in reiner KCl-Lösung noch in KCN beeinflußt.

In der Tabelle sind die Versuchsergebnisse über die CO-Wirkung bei variierendem CO-Gehalt der Lösung zusammengestellt. Obwohl das CO in Wasser sehr schwer löslich ist und die Konzentration nicht über 0,95 mmol/l betrug, wurde die Atmung bei den höheren CO-Konzentrationen im Dunkeln eindeutig gehemmt, während sie im Licht ungefähr denselben Wert erreichte wie die Kontrolle ohne CO. Da die Atmungswerte oft stark

<sup>1</sup> H. LUNDEGÅRDH, Ark. Bot. K. Svenska Vet. Akad. 32 A, No. 12 (1945).

<sup>2</sup> L. MACHLIS, Amer. J. Bot. 31, 183 (1944). – H. LUNDEGÅRDH, Ann. Agric. Coll. Sweden 16, 339 (1949).

<sup>3</sup> H. LUNDEGÅRDH, Ann. Agric. Coll. Sweden 16, 372 (1949).