

Tableau III. Test *t* de Student

Comparaison effectuée <sup>a</sup>	<i>t</i> calculé	<i>t</i> 0,05	<i>t</i> 0,01
Arginine-vasotocine / Isotocine (hypophyse)	13,09	2,02	2,70
Arginine-vasotocine / Isotocine (noyau préoptique)	18,36	2,02	2,70
Arginine-vasotocine hypophysaire / Arginine-vasotocine noyau préoptique	17,34	2,02	2,70
Isotocine hypophysaire / Isotocine noyau préoptique	26,95	2,02	2,70

<sup>a</sup> Les comparaisons sont effectuées à partir des moyennes de concentrations représentées en Tableau II.

En conclusion, la chromatographie en couche mince d'extraits hypophysaires et préoptiques d'Anguilles pêchées en Mer du Nord permet de mettre en évidence, et ce pour les deux territoires considérés, la présence de deux substances à effet ocytocique qui migrent de la même façon que l'arginine-vasotocine de synthèse et l'isotocine. Les dosages montrent qu'au niveau du noyau préoptique le taux moyen d'arginine-vasotocine est supérieur à celui de l'isotocine, fait que l'on retrouve également au niveau de l'hypophyse<sup>10</sup>.

**Summary.** Thin-layer chromatographic separation and bioassay of arginin-vasotocin and ichthyotocin of hypophysal and preoptic nucleus extracts from North Sea eels show that the hypophysis is much richer in arginin-

vasotocin than in ichthyotocin. Analogous results have been observed in the preoptic nucleus fractions.

F. C. HOLDER<sup>11</sup>

Groupe de Laboratoires de Strasbourg-Cronenbourg,  
Laboratoire des Applications Biologiques,  
23, rue du Loess, F-67 Strasbourg 3 (France),  
21 Mai 1970.

<sup>10</sup> Nous tenons à remercier ici M. le Professeur BARGMANN qui nous a facilité le travail à l'Institut d'Anatomie de Kiel, ainsi que son Assistant, le Docteur WELSCH, et les différents membres du personnel technique.

<sup>11</sup> Avec la collaboration technique de M. G. HOELTZEL.

## Quantitative Untersuchung der Chelatbildung zwischen Rutin und Aluminium-III-chlorid

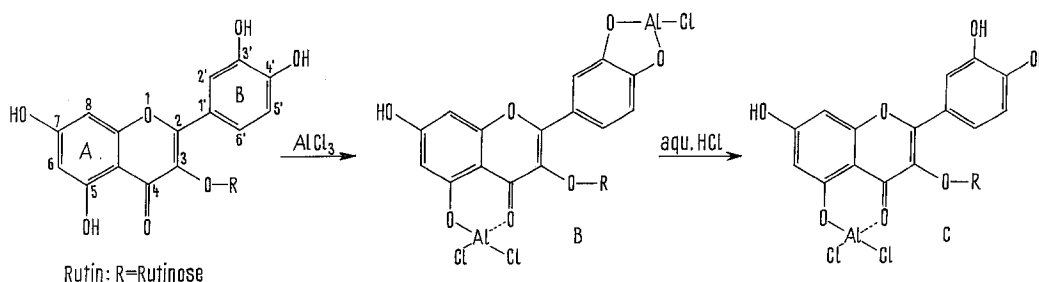
Die im UV-Bereich bei Zugabe von  $\text{AlCl}_3$  auftretende bathochrome Verschiebung der Absorptionsmaxima von Flavonen und Flavonolen, welche am Kohlenstoffatom C-3 oder C-5 freie Hydroxylgruppen tragen, stellt ein wichtiges Indiz für die Analytik der Flavonoide dar<sup>1-3</sup>. Unter der Annahme einer Chelatbildung lässt sich die bathochrome Verschiebung zwanglos verstehen. Die Verschiebung der langwelligen Absorptionsbande wird besonders gross, wenn zusätzlich zu den Hydroxylgruppen an C-3 oder C-5 noch *ortho*-ständige Hydroxylgruppen am B-Ring vorhanden sind<sup>4</sup>.

R. K. MARKHAM und T. I. MABRY<sup>5</sup> konnten zeigen, dass die angenommenen Chelate sich durch ihre Stabilität gegenüber Säuren unterscheiden lassen. Sie fanden, dass die Hydroxylgruppen an C-3 oder C-5 säurestabile Chelate bilden, während die *ortho*-ständigen Hydroxylgruppen am B-Ring dazu nicht in der Lage sind. Die Instabilität des Chelates am B-Ring äussert sich darin, dass das bislang nur durch die bathochrome Verschiebung nach-

gewiesene Chelat nach Säurezugabe unter hypsochromer Verschiebung der Absorptionsbande zerfällt.

Einen Strukturvorschlag dieser Chelate, der mit den vorher genannten experimentellen Befunden übereinstimmt, hat T. I. MABRY<sup>6</sup> gemacht.

Wir konnten, wie im folgenden dargestellt wird, den Strukturvorschlag von T. I. MABRY<sup>6</sup> durch eine quantitative Untersuchung der Chelatbildung absichern.



<sup>1</sup> L. HÖRHAMMER, R. HAENSEL und R. STRASSER, Arch. Pharmac. 285, 438 (1952).

<sup>2</sup> L. JURD, in *The Chemistry of Flavonoid Compounds* (Ed. T. A. GEISSMAN; Pergamon Press, Oxford 1962), p. 107.

<sup>3</sup> L. JURD und T. A. GEISSMAN, J. org. Chem. 21, 395 (1956).

<sup>4</sup> L. JURD, Phytochemistry 8, 445 (1969).

<sup>5</sup> R. K. MARKHAM und T. I. MABRY, Phytochemistry 7, 1197 (1968).

<sup>6</sup> T. I. MABRY, in *Perspectives in Phytochemistry* (Academic Press, London, New York 1969), p. 1-44.

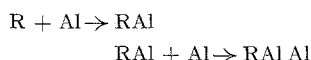
Tabelle I

V	0,1	0,2	0,25	0,3	0,33	0,4	0,45	0,5	0,6	0,7	0,8
E	0,065	0,110	0,140	0,156	0,160	0,155	0,148	0,142	0,125	0,105	0,072

Tabelle II

t (min)	4	7	10	15	20	30	60	120	25 h	30 h
E	0,060	0,110	0,122	0,147	0,170	0,180	0,200	0,215	0,250	0,250

Um die Zusammensetzung des Chelates B in Lösung zu bestimmen, haben wir das von P. JOB<sup>7,8</sup> eingeführte kolorimetrische Verfahren der kontinuierlichen Variation benutzt. Das Rutinmolekül kann an der C-5-Hydroxylgruppe und an den Hydroxylgruppen C-3' und C-4' des B-Ringes komplexiert werden. Da das gleichzeitige Zusammentreffen von einem Rutinmolekül mit zwei AlCl<sub>3</sub>-Molekülen sicher nur selten stattfindet, ist eine stufenweise Komplexierungsreaktion anzunehmen; wir haben es demnach mit zwei Reaktionen 2. Ordnung zu tun (R = Rutin):



Die Absorptionsmaxima von Rutin ( $4 \times 10^{-5} M$ ) in methanolischer Lösung lagen bei  $\lambda_{max}$ : 356 nm ( $\epsilon = 19\,500$ ) (Bande I) und 257 nm ( $\epsilon = 23\,500$ ) (Bande II). Bei Zugabe eines Überschusses an methanolischer AlCl<sub>3</sub>-Lösung erfolgt die Komplexierungsreaktion sehr schnell unter gleichzeitiger bathochromer Verschiebung der Absorptionsmaxima zu  $\lambda_{max}$ : 430 nm ( $\epsilon = 22\,800$ ) (Bande I) und 273 nm ( $\epsilon = 28\,300$ ) (Bande II).

Methanolische Stammlösungen gleicher Molarität ( $4 \times 10^{-5} M$ ) an Rutin und AlCl<sub>3</sub> wurden bei gleichbleibender molarer Gesamtkonzentration in dem Verhältnis V = Rutin/Rutin + AlCl<sub>3</sub> zusammengegeben und die Extinktion (E) bei  $\lambda_{max}$ : 430 nm und  $20,5 \pm 0,5^\circ C$  gemessen (Tabelle I).

Bei der Wellenlänge 430 nm absorbiert Rutin selbst gering. Es konnte somit auf eine Differenzbildung der Extinktionswerte verzichtet werden. Wie aus Tabelle I ersichtlich, liegt die maximale Extinktion bei V = 0,33. Daraus schliessen wir, dass, wie schon T. I. MABRY vermutete, tatsächlich ein Rutin AlCl<sub>3</sub>-Komplex im Ver-

hältnis R = 1 und AlCl<sub>3</sub> = 2 vorliegt. Um festzustellen, nach welcher Zeit die maximale Konzentration an Chelat vorhanden ist, wurde die Zunahme der Extinktion (E) in Abhängigkeit von der Zeit (t) bei V = 0,33 ( $20,5 \pm 0,5^\circ C$ ) gemessen. Aus der Tabelle II ergibt sich, dass die Komplexierungsreaktion langsam verläuft. Erst nach 25 h wurde ein konstanter Extinktionswert gefunden.

Berechnet man für die verschiedenen Zeitpunkte die Geschwindigkeitskonstanten nach der 1. Ordnung, so fallen diese deutlich mit fortschreitendem Umsatz ab. Danach ist eine Reaktion 1. Ordnung auszuschliessen. Eine Berechnung nach 2. Ordnung ergibt hinlänglich konstante Werte und deutet darauf hin, dass die Chelatbildung wohl hauptsächlich über die Zwischenstufe R Al zu R Al Al verläuft. Dies kann auch direkt aus der Verschiebung der Extinktionsmaxima bei langsamer AlCl<sub>3</sub>-Zugabe geschlossen werden, da das langwellige Maximum (Bande I; Ring B) später erreicht wird als das kurzwellige Maximum (Bande II; Ring A).

*Summary.* The hypothesis of T. I. MABRY<sup>6</sup> about the chelatstructure of flavonoids with aluminium-III-chlorid could be confirmed by using JOB's<sup>7</sup> method of continuous variations.

B. JANISTYN

*Pharmakognostisches Institut der Universität,  
Schänzlestrasse 9-11, D-78 Freiburg im Breisgau  
(Deutschland), 30. April 1970.*

<sup>7</sup> P. JOB, Ann Chim. 9, 113 (1928) und 77, 97 (1936).

<sup>8</sup> R. T. FOLEY und R. C. ANDERSON, J. Am. chem. Soc. 70, 1195 (1948) und 77, 909 (1949).

### Isomérisation *cis-trans* des ménaquinones et oxydations phosphorylantes dans les extraits de *Mycobacterium phlei*

GUTNICK et BRODIE<sup>1</sup> ont décrit l'incorporation de tritium dans la phyloquinone par des extraits de *M. phlei* incubés avec un substrat oxydable en présence de <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O. Ces résultats n'ont cependant pu être reproduits dans d'autres laboratoires<sup>2-4</sup>. De plus, HORTH et al.<sup>5</sup> ayant préparé la phyloquinone doublement marquée 2-[<sup>14</sup>C<sup>3</sup>H<sub>8</sub>], n'ont pu observer aucun changement significatif du rap-

port <sup>3</sup>H/<sup>14</sup>C après incubation avec les mêmes extraits. Enfin DI MARI et al.<sup>4</sup> ont observé dans les mêmes conditions une perte de deutérium inférieure à 1% en utilisant la phyloquinone 2-[CD<sub>3</sub>], 3 $\alpha$ -[CD<sub>2</sub>] ou 3 $\beta$ -[CD].

L'ensemble de ces résultats négatifs amenait donc à penser qu'aucun des mécanismes précédemment postulés pour l'intervention des ménaquinones dans les oxydations