

Tabelle V: 1-Chlormercuri-2,5-dichlor-benzol.

Mechan. Rühren, Reihenfolge A, Diazoniumdoppelsalz 15 g, Kupferpulver 6.1 g, Lösungsmittel 75 ccm.

Reaktionsmedium...	Aceton	Aceton	Äthyl-acetat	Äthyl-acetat	Petrol-äther	Wasser	Chloroform
Temperatur	—10°	+20°	—20 —10°	+20°	+30 +40°	+20°	+20°
Ausbeute in g	3.83	3.07	1.2	0.3	0.4	3.0	1.2
Ausbeute in %	32	26	10	2.5	3.4	25	10

Tabelle VI: *p*-Hydrosulfatmercuri-benzol-sulfonsäure.

Mechan. Rühren, Reihenfolge A, Diazobenzol-sulfonsäure 5 g, Quecksilberchlorid 7.3 g, Lösungsmittel 65 ccm, Kupferpulver 4.7 g.

Reaktionsmedium...	Aceton	Aceton	Aceton	Äthyl-acetat	Äthyl-acetat	Äthyl-acetat	Wasser
Temperatur	—70°	—20°	+20°	—20°	+20°	+50°	+20°
Ausbeute in g	0.5	3.8	1.9	0	0	0	0.5
Ausbeute in %	4	30	1.5	0	0	0	4

Tabelle VII: *o*-Chlormercuri-benzoesäure.

Mechan. Rühren, Reihenfolge A, *o*-Diazo-benzoesäure 5.0 g, Quecksilberchlorid 9.1 g, Kupferpulver 5.7 g, Lösungsmittel 65 ccm.

Reaktionsmedium	Aceton	Aceton	Aceton	Äthyl-acetat	Äthyl-acetat	Wasser
Temperatur	—70°	—20°	+20°	—20°	+20°	+20°
Ausbeute in g	4.7	1.56	1.05	0.95	0.6	0.4
Ausbeute in %	39	13	8.7	8	5	3

28. Igor Remesow: Mikro-heterogene Hydroperoxyd-Katalyse durch Cholesterin-Sole.

[Aus d. Abteil. für physikal. Chemie u. Elektrochemie d. Staats-Instituts für experim. Medizin d. U. S. S. R. in Leningrad.]

(Eingegangen am 15. September 1933.)

Beim Studium der katalytischen Eigenschaften des kolloidalen Cholesterins gelang es (Remesow und Sepalowa¹⁾) die Tatsache einer Hydroperoxyd-Zerlegung durch konz. Cholesterin-Sole festzustellen. In der vorliegenden Arbeit interessierte es mich, den Mechanismus bzw. die Kinetik dieser Katalyse näher zu untersuchen. Dabei schien es lohnend, auch die prinzipielle Frage nochmals zu prüfen, ob es sich tatsächlich um eine katalytische Hydroperoxyd-Zerlegung handelt. Denn, wie die Arbeiten von Pickard und Yates²⁾ gezeigt haben, läßt sich molekular-disperses Cholesterin durch Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd bis zu

¹⁾ Remesow u. Sepalowa, Biochem. Ztschr. **266**, 330 [1933].

²⁾ Pickard u. Yates, Journ. chem. Soc. London **93**, 1679 [1908].

Cholestantriol oxydieren. Man kann also auch im vorliegenden Fall eine ähnliche Reaktion erwarten, welche natürlich keinen katalytischen Vorgang darstellt. Eine Reihe von Versuchen, die ich zur Lösung dieser Fragen anstellte, lieferten Ergebnisse, die, wie mir scheint, eine gewisse Klarheit bringen dürften.

Zuerst wurde molekular-disperses Cholesterin auf seine katalytische Fähigkeit untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß weder eine Hydroperoxyd-Zerlegung, noch irgendwelche chemische Cholesterin-Umwandlung eintritt. Allerdings sind die Versuchs-Bedingungen von Pickard und Yates ganz andere, so daß hier eine Oxydation des Cholesterins auch kaum zu erwarten war. Man darf demnach wohl behaupten, daß das molekular-disperse Cholesterin keine katalytische Hydroperoxyd-Spaltung hervorruft.

Die Versuche mit Cholesterin-Solen zeigten dagegen, daß eine Hydroperoxyd-Zerlegung, wie sie zuerst von Remesow und Sepalowa beobachtet wurde, tatsächlich eintritt. Dabei blieb die Konzentration des Cholesterins in der dispersen Phase, sowie sein chemischer Zustand unverändert (Tabelle 1). Daraus folgt, daß das Cholesterin in seinem kolloidalen Zustand sich tatsächlich wie ein Katalysator verhält. Es handelt sich mithin hier um eine mikro-heterogene Wasserstoffsperoxyd-Zerlegung.

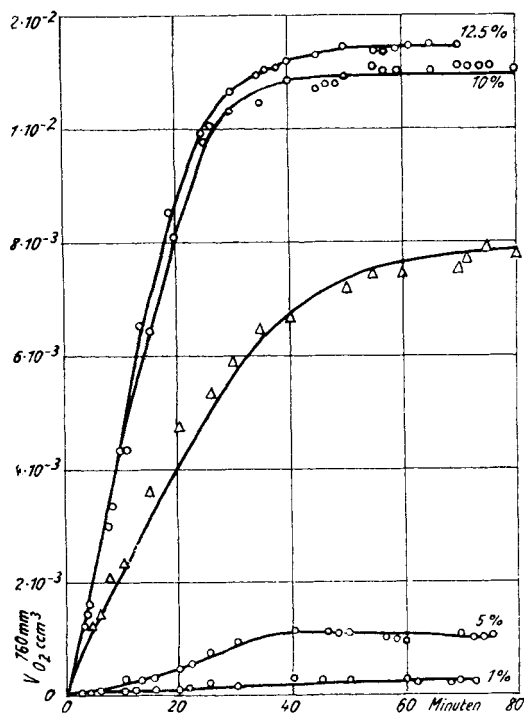
Tabelle 1.

Substanz	Gehalt an reinem Cholesterin v = 10 ccm		Schmelz- punkt		Opt. Drehung [α] _D in äth. Lösg.		Reaktionen von Lieber- mann- Bourchard; Salkowski:
	vor d. Reaktion	nach d. Reaktion	vor d. Reaktion	nach d. Reaktion	vor d. Reaktion	nach d. Reaktion	
Molek.-dispers. Cholesterin, in gasfreiem Wasser suspendiert	0.7745	0.7800	148.8	148.6	—31.2	—32.0	positiv
	0.4502	0.4524	148.8	148.8	—31.2	—31.4	„
Cholesterin-Sole [12.5—10.0—5.0—1.0—0.1 %]	1.245	1.240	148.8	148.2	—31.2	—31.2	positiv
	1.004	0.997	148.8	148.8	—31.2	—31.6	„
	0.510	0.504	148.8	148.9	—31.2	—30.9	„
	0.102	0.099	148.8	149.0	—31.2	—	„
	0.014	0.010	148.8	148.7	—31.2	—	„

Daß diese Kontakt-Wirkung des Cholesterins nicht anderen Lipoiden oder Fettsäure-Radikalen zugeschrieben werden darf, zeigen die Versuche, welche mit anderen organischen Solen ähnlicher Dispersität durchgeführt wurden. Man kann dabei feststellen, daß die Cholesterin-ester, auch Lecithin, in kolloidalem Zustand wirkungslos sind. Die erhaltenen Zahlen-Schwankungen (Tabelle 2) liegen im Bereiche der Empfindlichkeit der angewandten Methodik. Die Versuche mit den anderen Lipoiden und vor allem mit den Cholesterin-Isomeren und Derivaten der Sterin-Reihe sind in Angriff genommen. Ich hoffe, hierüber bald ausführlicher berichten zu können.

Tabelle 2.

Zeit in Min.	Niveau-Differenz am Manometer (korr.) (t = 16.5° Konst. p _H = 7.2; 10-proz. H ₂ O ₂ -Lösung.)					Be- merkungen
	Molekul.- dispers. Cholesterin	Lecithin- Sol	Ester-Sol (Palmitat)	Ester-Sol (Stearat)	Ester-Sol (Oleat)	
0	0	0	0	0	0	Die Zahlen: sind korri- giert; Blindver- suchs- werte sind berück- sichtigt und abge- zogen.
5	0	0.05	0.1	0.05	0.1	
10	0	0.05	0.1	0.1	0.9	
15	0.1	0.05	0.6	0.1	0.9	
20	0.1	0.1	0.4	0.3	1.1	
25	0.2	0.25	0.45	0.3	1.0	
30	0.2	0.2	0.4	0.35	1.1	
35	0.1	0.4	0.3	0.35	1.2	
40	0.2	0.4	0.4	0.4	1.0	
45	0.2	0.35	0.45	0.4	1.0	
60	0.1	0.4	0.6	0.4	1.2	



Abbild. 1. Die o-o-o-Kurven entsprechen den Solen von Remesow, die Δ-Kurve entspricht den Präparaten von Heyden.

Die peinlichst durchgeführten Versuche unter Anwendung von frisch hergestellten Cholesterin-Solen und die Berechnung des Hydroperoxyd-Umsatzes erlaubten, die kinetischen Kurven (Abbild. 1) für die Cholesterin-Sole von Remesow³⁾ und für die Präparate des kolloidalen Cholesterins von Heyden abzuleiten. Bei Betrachtung dieser Kurven kann man schließen, daß die Hydroperoxyd-Zerlegung nur bei Verwendung von genügend konzentrierten Cholesterin-Solen, bei optimaler Substrat-Konzentration von etwa 10% H₂O₂ eintritt. Die Berechnung der Reaktionsgeschwindigkeits-Konstante ergibt die bekannte Formel:

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$$

³⁾ Remesow, Biochem. Ztschr. **218**, 86 (1930).

Allerdings erhält man bei dem variierenden Mengen-Verhältnis (Katalysator):(H₂O₂) einen komplizierteren Ausdruck:

$$K^1 = \frac{1}{t} \left(\frac{x}{a(a-x)} \right).$$

Auf Grund dieser Daten folgt, daß die katalytische Wasserstoffsuperoxyd-Zerlegung durch Cholesterin-Sole eine monomolekulare Reaktion darstellt, welche der Kinetik von Katalasen und Platin-Solen nahe steht. Dabei scheint nur ein rein quantitativer Unterschied vorhanden zu sein: die Cholesterin-Wirkung ist viel schwächer ausgeprägt

Die Versuche beweisen, daß das Cholesterin in seinem kolloidalen Zustand Wasserstoffsuperoxyd katalytisch zerlegt. Näheres über den möglichen Mechanismus dieser Erscheinung läßt sich nicht sagen, sicher aber ist, daß dabei nicht nur der physikalisch-chemische Zustand dieses Sterins, sondern auch die rein chemische Natur des Cholesterin-Moleküls eine Rolle spielt.

Ich möchte auch die erhaltenen Daten mit der Kinetik der Katalase-Wirkung vergleichen, welche ausführlich durch die Arbeiten von Morgulis⁴⁾ studiert wurde. Man kann dabei eine zweifellose Ähnlichkeit feststellen, so daß, vom biochemischen Standpunkt aus, die beobachtete Cholesterin-Wirkung gewissermaßen auch als eine „katalatische“ bezeichnet werden kann.

Einen wesentlichen Einfluß auf die Kinetik der Cholesterin-Katalyse besitzt der Dispersitätsgrad der verwendeten Sole. Die Ultrafiltrate von Cholesterin-Solen erschienen, entsprechend ihrer Dispersitäts-Erhöhung, viel aktiver im Vergleich mit Stammlösungen, die nicht ultrafiltriert waren. Diese Feststellung ergab natürlich die Frage nach der Natur der durch Cholesterin bewirkten Katalyse. In dieser Beziehung läßt sich wohl eine Analogie mit der Platin-Sol-Wirkung durchführen. Dabei scheint die bekannte Theorie von Nernst und Brunner hier nicht angebracht zu sein, da man bei Berechnung der Dicke der möglichen Diffusions-Schicht viel größere Zahlen im Vergleich mit denjenigen erhält, welche theoretisch angenommen werden müssen (infolge einer lebhaften Brownschen Bewegung in dem Cholesterin-Sol-System). Es handelt sich hier vielmehr um eine schnelle Adsorption von H₂O₂ an den Kolloid-Partikeln des Cholesterins. Dementsprechend gleicht die geringere Geschwindigkeit des chemischen Umsatzes der meßbaren Reaktionsgeschwindigkeit. Für den untersuchten Fall eignet sich die Betrachtungsweise von Mac Innes⁵⁾, ebenso wie bei der bekannten Hydroperoxyd-Katalyse durch Platin-Sole. Setzt man die Reaktionsgeschwindigkeit der adsorbierten H₂O₂-Menge proportional, so erhält man:

$$\frac{dx}{dt} = k(a-x)^{\frac{1}{n}},$$

und durch Integration:

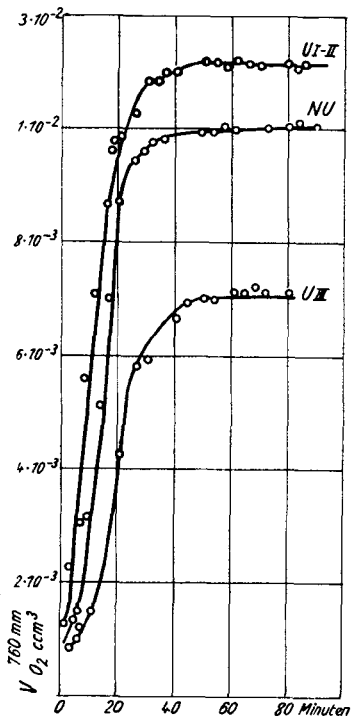
$$k = \frac{n}{t(n-1)} \left[a^{\frac{n-1}{n}} - (a-x)^{\frac{n-1}{n}} \right].$$

⁴⁾ Morgulis, Journ. biol. Chem. **47**, 341 [1921].

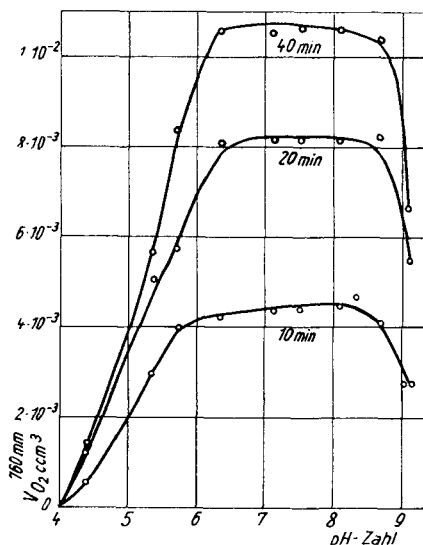
⁵⁾ Mac Innes, Journ. Amer. chem. Soc. **36**, 878 [1914].

Andererseits sprechen die gegenwärtigen Ansichten über die Katalyse, welche sich gewissermaßen in dem bekannten „Tunnel-Effekt“ von Born äußern (für den vorliegenden Fall kann dieser „Tunnel-Effekt“ evtl. durch den Ausdruck: $\Gamma = 10^{18} \frac{P^I}{I!} 1^{-P}$ bestimmt werden), auch mehr für die angegebene Art der Katalyse von Cholesterin-Solen. Es sei noch auf die kinetischen Kurven verschiedener Ultrafiltrate der Cholesterin-Sole hingewiesen (Abbild. 2). Alle diese Daten führen zu dem Schluß, daß die in der vorliegenden Arbeit untersuchte mikro-heterogene Cholesterin-Katalyse als eine Art von Adsorptions-Katalyse bezeichnet werden kann.

Zum Schluß möchte ich noch auf die p_H -Aktivitäts-Verhältnisse bei



Abbild. 2. Kurven-Bezeichnung: NU = nicht ultrafiltriert; U_{I-II} = Fraktion I und II der Ultrafiltrate; U_{III} = Fraktion III der Ultrafiltrate.



Abbild. 3. Abhängigkeit der Cholesterin-Katalyse vom p_H .

dieser Katalyse, auch auf die Vergiftungs-Erscheinungen hinweisen. Die p_H -Aktivitätskurven (Abbild. 3) zeigen ein p_H -Optimum zwischen $p_H = 6,4 - 8,04$, also ein ziemlich analoges Bild wie z. B. bei den Katalasen.

Die stark hemmende Wirkung der sauren p_H -Bereiche läßt sich auf ihre koagulierende Wirkung auf die Cholesterin-Partikel zurückführen. — Die Berechnung der K_t -Werte ergibt im Vergleich mit diesen Quotienten für andere Hydroperoxyd-Katalysatoren folgendes Bild:

Fett-Katalase — 1,4, Hämas — 1,5, Platin-Sol — 1,7, Cholesterin-Sol — 1,1.

Die K_t -Werte für Cholesterin liegen also nahe denen der tierischen Katalasen, allerdings sind irgendwelche weitere Schlüsse über den möglichen

genetischen Zusammenhang zwischen Katalasen und Sterinen, natürlich, noch voreilig.

Die Untersuchung der Vergiftungs-Erscheinungen ergab, daß die Cholesterin-Katalyse cyan-unempfindlich ist. Indessen wirken Quecksilbersalze, auch reines Quecksilber, stark hemmend, vergiften also offenbar die katalytische Wirkung des Cholesterins.

Die erhaltenen Ergebnisse gestatten, wie wir scheint, die Behauptung, daß neben den anorganischen Systemen auch ein wohl definierbarer Katalysator rein organischer Natur für Wasserstoffsuperoxyd nachgewiesen wurde.

Beschreibung der Versuche.

Die Sole von Cholesterin, Cholesterin-estern und Lecithin wurden nach Remesow⁶⁾ dargestellt; auch kolloidales Cholesterin von der Firma von Heyden wurde für die Herstellung der Cholesterin-Sole verwendet.

Ausgangsstoffe: Cholesterin pur. kryst. Merck, 3-mal umkrystallisiert; Schmp. 148.8°; $[\alpha]_D = -31.2$ (in 2-proz. äther.Lösg.). — Die Cholesterin-ester wurden synthetisch nach Angaben von Hürthle⁷⁾ dargestellt. Umkrystallisiert wurden sie aus Äther-Alkohol bis zur Erreichung folgender Schmelzpunkte:

Cholesteryl-palmitat: Schmp. 78.2°; $[\alpha]_D = -24.6^\circ$ (im Chloroform); Cholesteryl-stearat: Schmp. 82.6°; Cholesteryl-oleat: Schmp. 44.0°; Lecithin „ex ovo“ Kahlbaum-Schering wurde mehrmals durch Digitonin-Fällung von Spuren Cholesterin befreit. Der Schmp. schwankte von 61—64°.

Als Hydroperoxyd diente das Perhydrol „Merck“, dessen verd. Lösung in gut ausgedämpften Glasflaschen lange titer-konstant blieb. Für die Hemmungs-Versuche wurden folgende Blausäure-Konzentrationen (die KCN-Lösung wurde mit HCl gegen Lackmus neutralisiert) genommen: $m/2$, $m/20$, $m/200$ und $m/2000$; Sublimat von Kahlbaum-Schering wurde ohne Umkrystallisation verwendet. Das metallische Quecksilber wurde mittels mehrstündiger Destillation nach Rohn gereinigt.

Als Puffer wurden Phosphat-Puffergemisch ($m/16$) — nach Sörensen, Glykokoll — und Phthalat-Gemische ($m/10$) genommen. p_H -Intervalle waren: 4.2, 5.2, 5.8, 6.2, 7.2, 7.7, 8.04, 8.6 und 9.4. Für die Messungen fand zweifach destilliertes, gasfreies (nach Drucker-Moles) Wasser Verwendung.

Die Ultrafiltration der Sole wurde mittels Zsigmondy-Filter ausgeführt. Dabei wurden die auf ihre durchschnittliche Porenweite geprüften Ultrafilter von Zsigmondy-Bachmann⁸⁾ und Jander-Stuhlmann⁹⁾ verwendet. Dementsprechend wurden folgende Ultrafiltrate erhalten, welche für eine Reihe von Versuchen Verwendung fanden:

- UF-Fraktion I Teilchengröße von 0.8—0.4 μ ,
- UF-Fraktion II Teilchengröße von 0.35—0.1 μ .
- UF-Fraktion III Teilchengröße von 1.6—1.0 $\mu\mu$.

Versuchsgang: Die meisten Versuche wurden mit den erhaltenen Cholesterin-Solen ohne Ultrafiltration ausgeführt. Gasvolumetrische Messungen erfolgten nach der Mikro-methode von Barcroft. Das Reaktions-

⁶⁾ Remesow, l. c.

⁷⁾ Hürthle, Ztschr. physiol. Chem. **21**, 331 [1895/96].

⁸⁾ Zsigmondy u. Bachmann, Ztschr. anorgan. allgem. Chem. **103**, 119 [1918].

⁹⁾ Jander u. Stuhlmann, Ztschr. analyt. Chem. **60**, 289 [1921].

gemisch in jeder Birne betrug ständig 0.6 ccm Flüssigkeit. Die Gefäß-Konstanten wurden nach Verzar bestimmt.

Die Kontroll-Messungen sind in folgender Reihe angegeben:

Gasfreies Wasser mit ca.	0.1-proz. Cholesterin-Sol:	Niveau-Differenz	0.00
„	„	1.0- „	„	0.00
„	„	5.0- „	„	0.00
„	„	10.0- „	„	0.05
„	„	12.5- „	„	0.06—0.0
„	„	0.1- „	Perhydrol (Merck)	0.10
„	„	1- „	„	0.20
„	„	5- „	„	1.05
„	„	10- „	„	0.95

Bei Verwendung dieser Mikro-methodik gelang es, reproduzierbare und sichere Daten nur mit den konz. Cholesterin-Solen (nicht unter 10-proz.) zu erhalten.

Die Berechnung der Konstante (k) für die ausgeführten Versuche, auf Grund zehn unmittelbar hintereinander folgender Messungen ist aus folgender Zusammenstellung zu ersehen:

Zeit (Min.)	(a—x)	$10^3 \cdot (k)$
0	0.095	—
11.0	0.066	27
15.3	0.033	28
21.1	0.021	28
32.4	0.013	28
40.8	0.008	27
55.0	0.008	27

Die Messungen mit den ultrafiltrierten Cholesterin-Solen wurden genau wie oben beschrieben ausgeführt und erfolgten sofort nach der Ultrafiltration. Die Sedimentierung der Ultrafiltrate begann erst nach 2—3-stdg. Stehen. In allen Fällen wurden Schutzkolloide vermieden.

Der Firma von Heyden (Radebeul-Dresden) möchte ich auch an dieser Stelle für die liebenswürdige Überlassung ihrer Präparate von kolloidalem Cholesterin meinen Dank aussprechen.

29. A. Butenandt und H. Thompson¹⁾: Über die Dehydrierung des Follikel-Hormons.

[Aus d. Allgem. chem. Universitäts-Laborat., Göttingen.

(Eingegangen am 23. Dezember 1933.)

Vor einiger Zeit gelang es, die von uns für das Follikel-Hormon aufgestellte Konstitutionsformel (I) durch einen stufenweisen Abbau experimentell weitgehend zu sichern²⁾. Durch die Überführung des Hormon-Hydrates in 1.2-Dimethyl-phenanthren (II) wurde die Verknüpfung der Ringe A, B und C im Sinne eines partiell hydrierten Phenanthren-Systems erkannt und zugleich gezeigt, daß eine Haftstelle des mit diesem Ring-system kondensierten Fünfringes D sich an C₁₃ oder C₁₄ befinden muß; an

¹⁾ Keddey-Fletcher-Warr—Student of the University of London.

²⁾ Butenandt, Weidlich u. Thompson, B. **66**, 601 [1933].