

271. Karl Heinrich Slotta und Klaus Neißer: Über Oxydationen mit Hypojodit, I. Mittel.: Phenole. Neue Bestimmungsmethoden für Adrenalin und Tyrosin.

[Aus d. Forschungsabteil. d. Kaffee-Institutes São Paulo, Brasilien, Instituto Butantan.]
(Eingegangen am 8. Juni 1938.)

Im Zusammenhang mit anderen Arbeiten, über die wir demnächst an dieser Stelle berichten werden, tauchte das Problem auf, Phenole und insbesondere Diphenole auf einfache Weise quantitativ zu bestimmen. Die anzustrebende Methode sollte, wenn möglich, auch für Mikromengen anwendbar sein. Es gelang, dieses Problem vollständig zu lösen: im Hypojodit fanden wir ein Reagens, das allen diesen Anforderungen genügt. Es reagiert, im Überschuß angewandt, mit den in Frage stehenden Stoffen in einem konstanten molekularen Verhältnis, das überdies so günstig ist, daß selbst sehr kleine Mengen analysiert werden können. Der Überschuß an Reagens wird mit Thiosulfat titrimetrisch gemessen, so daß die ganze Methode auf die einfachste und schärfste aller maßanalytischen Bestimmungen, die Jodtitration, hinausläuft¹⁾.

Die bei unseren Versuchen angewandte Methodik ist überaus einfach: Die zu untersuchende saure oder neutrale Lösung wird mit einer gemessenen Menge einer Jod-Lösung von bekanntem Gehalt versetzt. Alsdann wird mittels Natronlauge das Hypojodit in der Lösung selbst erzeugt, nach einer gewissen Zeit angesäuert und das dabei freiwerdende überschüssige Jod mit eingestellter Thiosulfat-Lösung zurücktitriert.

Wir untersuchten zunächst die drei einfachsten isomeren Diphenole: Brenzcatechin, Resorcin und Hydrochinon. Es stellte sich dabei heraus, daß zwischen dem Brenzcatechin und dem Hydrochinon einerseits und dem Resorcin andererseits schon rein äußerlich große Unterschiede bestehen. Während die Lösungen der Ortho- und Para-Verbindungen beim Alkalischemachen sofort entfärbt werden, und sich nach einer gewissen Zeit der charakteristische Niederschlag des Jodoforms absetzt, verläuft die Reaktion beim Resorcin ganz anders: die alkalische Lösung entfärbt sich nicht vollständig, sondern nimmt einen rosa Ton an, und die Bildung von Jodoform ist nicht nachweisbar. Wie erwartet, schloß sich das Pyrogallol in seinem Verhalten vollständig dem Resorcin an. Da sich die Ortho- und die Para-Verbindungen dadurch von den Meta-Verbindungen unterscheiden, daß die ersteren zur Chinon-Bildung befähigt sind, die letzteren nicht, lag es nahe, anzunehmen, daß die erste Stufe der Hypojodit-Einwirkung bei den Ortho- und bei den Para-Verbindungen in der Oxydation zum entsprechenden Chinon besteht.

Der Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme ließ sich leicht führen. Die Oxydation eines *o*- oder *p*-Diphenols zum entsprechenden Chinon erfordert ein Mol. Hypojodit, entsprechend 2 Atomen Jod. Nun verbraucht Hydrochinon 12 Atome Jod; beim Chinon sollten also nur 10 Atome Jod und bei dem aus einem Mol. Chinon und einem Mol. Hydrochinon aufgebauten Chinhydron 11 Atome nötig sein. Dies wurde experimentell genau bestätigt.

¹⁾ Unseres Wissens haben bisher nur W. M. Gardner u. H. H. Hodgson (Proceed. chem. Soc. London **24**, 273 [1908] (C. **1909** I, 1910); Journ. chem. Soc. London **95**, 1824 [1909]) Phenole mit Hypojodit quantitativ zu bestimmen versucht. Bei der gründlichen Nacharbeitung ihrer Versuche konnten wir aber die Ergebnisse nicht bestätigen.

Es interessierte nun die Frage, in welcher Weise die weitere Oxydation des Moleküls vor sich geht. Es ist bekannt²⁾, daß bei der Einwirkung von alkalischer Jodlösung auf Phenol ein Gemisch von Substanzen entsteht, in denen die OH-Gruppe erhalten ist und die in Ortho- oder Para-Stellung durch Jod substituiert sind. Wir haben den Versuch wiederholt und dabei ein Gemisch von 2-Jod-phenol und 2.4.6-Trijod-phenol erhalten. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß auch bei den Diphenolen anschließend an die Oxydation zum Chinon eine Substitution in Ortho-Stellung stattfindet. Zur Stützung dieser Hypothese haben wir Cyclohexanon der Einwirkung von Hypojodit unterworfen und festgestellt, daß genau 2 Atome Jod verbraucht werden. Dies spricht sehr stark dafür, daß die erwartete Substitution in Ortho-Stellung stattgefunden hat.

Zur Erklärung des weiteren Verlaufes der Oxydation gehen wir von folgender Hypothese aus: In α -Stellung zu einer C:O-Bindung steht ein durch Jod substituiertes H-Atom, so daß folgende Gruppierung vorliegt: $=CJ-C(:O)-C\equiv$. Es ist nun wahrscheinlich, daß in alkalischer Lösung eine Hydrolyse zwischen der $CJ-C:O$ -Gruppe und dem benachbarten C-Atom eintritt. Beim Brenzcatechin-Chinon würde bei dieser Hydrolyse zwischen den beiden benachbarten C:O-Gruppen nur ein Bruchstück entstehen, das dann weiteroxydiert wird. Beim Hydrochinon kann diese Hydrolyse an zwei Stellen gleichzeitig stattfinden, unter Bildung von zwei Bruchstücken, die dann ebenfalls weiteroxydiert werden. Dies steht im besten Einklang mit der Tatsache, daß Hydrochinon mehr Jod verbraucht als Brenzcatechin (Brenzcatechin 10 Atome, Hydrochinon 12 Atome).

Wie schon erwähnt, entsteht bei der Hypojodit-Oxydation von Brenzcatechin und von Hydrochinon schließlich Jodoform; auch bei allen analog gebauten Substanzen ist dieses ein Endprodukt der Oxydation. Wir hofften daher, aus der Menge des gebildeten Jodoforms etwas über den weiteren Verlauf der Oxydation zu erfahren. War unsere Hypothese richtig, daß nämlich zunächst eine Oxydation zum Chinon, dann eine Jodierung in α -Stellung und schließlich ein hydrolytischer Zerfall stattfindet, so mußte aus den zwei Bruchstücken des Hydrochinons doppelt soviel Jodoform gebildet werden wie aus dem einen des Brenzcatechins.

Zur quantitativen Bestimmung des Jodoforms waren die gebräuchlichen Methoden³⁾ in unserem Falle nicht anwendbar. Sie beruhen meist darauf, aus dem Jodoform mittels Silbernitrats und Salpetersäure die 3 Atome Jod quantitativ in Form von Silberjodid abzuscheiden; man titriert dann den Überschuß an Silbernitrat mittels Ammonium-rhodanids zurück. Da in unserem Falle in derselben Lösung neben wenig Jodoform viel Kaliumjodid vorhanden war und möglicherweise noch jodhaltige organische Säuren zu erwarten waren, mußte die Methode etwas abgeändert werden. Wir kamen zum Ziele, indem wir die alkalisch gemachte Lösung einmal mit Äther ausschüttelten, den Äther mit Lauge und Wasser wuschen und dann mit alkoholischer Silbernitratlösung und starker Salpetersäure versetzten. Kocht man nun die Lösung bis zum Verschwinden des Äthers und titriert sie dann mit Rhodanid, so findet man im Durchschnitt etwa 85–90% des in Testversuchen angewandten Jodoforms wieder. Wenn man diesen empirisch ermittelten Verlust in Rechnung stellt, kommt man zu guten Ergebnissen, deren Genauigkeit für unsere Untersuchungen, bei denen wir ja nur zwischen 1, 2 usw. Mol. Jodoform entscheiden wollten, voll ausreichte.

²⁾ s. u. a. G. Körner, A. **137**, 213 [1866]; P. Brenans, Compt. rend. Acad. Sciences **132**, 831 [1901]; Bull. Soc. chim. France [3] **25**, 630 [1901]; O. Carrasco, C. **1908** I, 1735.

³⁾ G. Denigès, C. **1895** I, 934; M. Greshoff, C. **1889** I, 1004; L. Borri, C. **1903** II, 632; F. Utz, C. **1905** I, 299.

Unsere Erwartung, daß Hydrochinon doppelt soviel Jodoform liefert wie Brenzcatechin, wurde voll erfüllt. Erstaunlicherweise findet man jedoch nicht 2 bzw. 1 Mol. Jodoform, sondern nur 0.4 bzw. 0.2 Mol. Dies deutet darauf hin, daß die Oxydation dieser Substanzen mit Hypojodit in noch ungeklärter Weise nach anderen Richtungen verläuft, was in Anbetracht des immerhin starken Oxydationsmittels kaum anders zu erwarten ist.

Die neue Methode eröffnet zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten. Wir haben, von den oben angestellten Überlegungen ausgehend, einige Substanzen dieser Körperklasse ausgewählt und auf ihr Verhalten gegen Hypojodit geprüft. In jedem Falle sind unsere Erwartungen bestätigt worden. Daß eine an sich reaktionsfähige Seitenkette den Verlauf der Oxydation des aromatischen Kernes in keiner Weise stört, zeigte uns das Beispiel der Zimtsäure: sie ist unter den genannten Bedingungen vollständig indifferent gegenüber Hypojodit. Anders liegt es natürlich, wenn am Kern Substituenten stehen, die an sich schon mit Hypojodit reagieren, wie etwa Ketogruppen in der Seitenkette. Nun verläuft aber auch die Oxydation des Acetons mit Hypojodit quantitativ; eine Seitenkette mit einer Ketogruppe wird daher zur Erhöhung des Jodverbrauches beitragen, was aber für die quantitative Bestimmung nur angenehm ist.

Nach unseren Überlegungen müßte jedes Chinon, das in α -Stellung noch ein Wasserstoffatom trägt, der quantitativen Oxydation mittels Hypojodits zugänglich sein. Als Beispiel wählen wir das Natriumsalz der Naphthochinon-(1.2)-sulfonsäure-(4), das wegen seiner guten Wasserlöslichkeit für unsere Versuche besonders geeignet war. Es reagierte, wie erwartet, in stöchiometrischem Verhältnis mit Hypojodit und verbrauchte dabei 6 Atome Jod. Bei dieser Substanz und noch bei einigen anderen sind, wenn man zu guten Ergebnissen kommen will, einige Vorsichtsmaßregeln zu beachten, die im Versuchsteil näher beschrieben sind. Wird z. B. die Oxydation bei zu hoher Temperatur durchgeführt, so geht sie in uneinheitlicher Weise weiter, der Jodverbrauch steigt, ohne jedoch bei einem höheren ganzzahligen Verhältnis wieder zum Stehen zu kommen.

Die Zahl der Phenole, Diphenole, Chinone usw., die sich mit Hypojodit quantitativ titrieren lassen, könnte man leicht noch um ein Vielfaches vermehren. Wir haben uns jedoch darauf beschränkt, zwei Stoffe von physiologischer Bedeutung zu untersuchen, das Adrenalin und das Tyrosin. Denn gerade bei diesen Substanzen ist eine einfache titrimetrische Methode, die Mikromengen mit hinreichender Genauigkeit zu erfassen imstande ist, von großem Wert.

Wir erwarteten, daß bei beiden Substanzen die Seitenkette kein Hypojodit verbrauchen würde. Unter dieser Voraussetzung war nach unserer Hypothese über den Verlauf der Oxydation ein Verbrauch von 10 Atomen Jod durch Adrenalin zu erwarten. Dies konnten wir experimentell voll bestätigen: oxydiert man reinstes Adrenalin mit überschüssigem Jod in alkalischer Lösung bei Eisschrank-Temperatur, so benötigt es genau 10 Atome Jod. Mengen von etwa 10 mg erfordern zur Oxydation etwa 12 ccm 0.05-n. Jod. Es wäre natürlich ein Leichtes, mit Hilfe verdünnterer Jodlösungen und unter Anwendung von Mikrobüretten die analytisch erfaßbare Menge erheblich zu verkleinern.

Am Tyrosin konnten wir zeigen, wie empfindlich unsere neue Methode selbst noch bei außerordentlich kleinen Mengen ist. Es gelang, Mengen zwischen 1.10 und 0.66 mg Tyrosin mit einer Genauigkeit von 3% zu er-

fassen! Zur Titration so kleiner Mengen ist es zweckmäßig, die zu untersuchende Lösung mit 0.01-*n.* Jod zu oxydieren. Bei der Rücktitration darf man jedoch nicht zu verd. Thiosulfatlösung verwenden; wir erhielten die besten Ergebnisse bei Anwendung von 0.05-*n.* Thiosulfat.

An Stelle der Jodlösung kann man vorteilhaft auch ein Gemisch von saurer Kaliumjodid- und Kaliumbijodatlösung (KHJ_2O_6) verwenden. Dies hat den Vorteil, daß man sich durch Einwägen des völlig trocken zu erhaltenen Bijodates leicht eine sehr genaue und überaus haltbare Lösung herstellen kann. Die Methode verändert sich dann insofern, als man zur salzsauren Untersuchungslösung etwas reinstes Kaliumjodid zugibt und dann die Bijodatlösung zufließen läßt. Dann wird alkalisch gemacht und wie oben beschrieben verfahren.

Beschreibung der Versuche.

1) Methode zur Bestimmung von Jodoform in Gegenwart von Kaliumjodid.

Die zu untersuchende Lösung, die 10—60 mg Jodoform enthalten soll, wird mit 2-*n.* Natronlauge deutlich alkalisch gemacht und im Scheidetrichter einmal gründlich mit 30 ccm peroxydfreiem Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wird nun mit 5 ccm Wasser, dem man 0.5 ccm 2-*n.* NaOH zugesetzt hat, und dann noch 2-mal mit je 5 ccm Wasser gewaschen. Man setzt 20.0 ccm 0.05-*n.* alkohol. Silbernitratlösung und 5 ccm starke Salpetersäure (3 Tle. konz. Salpetersäure + 1 Tl. Wasser) zu und hält das Gemisch etwa 15 Min. in mäßigem Sieden. Die anfänglich ganz schwache Trübung von Silberjodid wird dabei zunächst immer stärker, bis sich schließlich gegen Ende der Niederschlag am Boden des Gefäßes absetzt und die überstehende Lösung fast völlig klar wird. Ist der ganze Äther verdampft, und riecht die Lösung nicht mehr nach nitrosen Gasen, wird das Kochen unterbrochen. Man verdünnt mit Wasser, setzt einige Tropfen einer Lösung von EisenIII-Salz zu und titriert mit 0.05-*n.* Ammoniumrhodanid. 1 ccm genau 0.05-*n.* Silbernitrat entspricht 6.54 mg Jodoform.

Für die Kontrollanalysen wurde das Jodoform in 40 ccm 1-proz. Kaliumjodidlösung suspendiert und 2 ccm 2-*n.* NaOH zugefügt.

Angewandt	40.3	53.9	51.7	mg.
Gef.	35.0	47.2	43.5	mg.
Differenz ...	—13	—12	—16	%.

Rechnet man den empirischen Faktor von 15% zum gefundenen Wert hinzu, so kommt man zu guten Ergebnissen:

Angewandt .	40.3	53.9	51.7	mg.
Gef.	40.3	54.3	50.0	mg.

Bestimmung des Jodoforms, gebildet bei der Hypojodit-Oxydation

a) des Brenzcatechins (siehe die Tafel)

mg Einwaage	mg CHJ_3	Mole CHJ_3
12.5	8.33	0.19
13.1	10.35	0.22

b) des Hydrochinons (siehe die Tafel)

mg Einwaage	mg CHJ_3	Mole CHJ_3
11.3	17.1	0.42
11.5	17.2	0.42
8.9	12.4	0.40
10.7	14.3	0.38

2) Quantitative Oxydationen mit Hypojodit

(Mitbearbeitet von Letizia Manginelli).

Der Kürze halber geben wir im folgenden die Versuche in Tabellenform wieder:

Substanz	Einwaage mg	Temp. ° C	Atome Jod	Gefunden mg	Berechnet mit
Brenzcatechin	14.4	20	10.6	15.3	} 10 At. Jod
"	4.6	20	10.4	4.8	
"	13.7	4	10.0	13.7	
"	14.6	4	10.4	15.2	
"	14.4	4	10.3	14.8	
"	12.5	4	9.4	11.8	
"	13.1	4	10.0	13.1	} 12 At. Jod
Hydrochinon	11.3	20	12.5	11.8	
"	8.9	4	12.1	9.0	
"	10.7	4	11.5	10.3	
"	12.7	4	11.9	12.6	
"	9.1	4	11.8	8.9	
"	13.1	4	11.4	12.4	} 11 At. Jod
Chinhydron	13.3	4	11.3	13.7	
"	11.4	4	11.35	11.8	
"	10.4	4	11.05	10.5	
"	12.9	4	10.85	12.7	} 6 At. Jod
Natriumsalz der Naphtho- chinon-(1.2)-sulfonsäure-(4)	15.6	0	5.7	14.8	
"	10.1	0	5.8	9.8	
"	10.6	0	5.6	9.9	
"	8.4	0	6.1	8.5	
"	12.3	0	6.2	12.7	} 10 At. Jod +4 % (s. unten)
Adrenalin	10.8	20	10.2	10.6	
"	13.5	20	10.6	13.8	
"	11.8	20	10.4	11.8	
"	11.4	20	10.35	11.3	
"	11.7	4	10.5	11.8	
"	10.6	4	10.35	10.5	
"	10.4	4	10.6	10.6	
"	10.2	0	10.2	10.0	} 8 At. Jod
Tyrosin	1.104	0	7.7	1.063	
"	0.827	0	8.2	0.848	
"	0.827	0	8.1	0.837	
"	0.662	0	8.05	0.666	
"	0.662	0	8.2	0.678	

Im allgemeinen führten wir die Bestimmungen folgendermaßen durch: Die zu untersuchende Substanz, deren Trockengehalt genau bekannt und in Rechnung gestellt war, wurde in Wasser gelöst. Die Menge des zur Lösung verwandten Wassers hatte auf die Genauigkeit der Bestimmung keinen Einfluß. Wir gaben dann Jodlösung von bekanntem, am Schluß der Arbeit angegebenem Gehalt zu und alsdann tropfenweise 2-n. NaOH unter Umschwenken, bis die Jodfarbe verschwunden war, und sodann darüber hinaus noch einige Tropfen. Die Lösungen wurden dann entweder

bei Zimmertemperatur (20°) oder im Eisschrank (+4°) oder im schmelzenden Eis (0°) 1—2 Stdn. aufbewahrt, sodann mit 2-n. Schwefelsäure angesäuert und schließlich mit genau 0.05-n. Thiosulfat zurücktitriert.

In der Tafel geben wir die Anzahl Atome Jod an, die von der Substanz verbraucht wurden. Bei Anwendung von 0.05-n. Lösungen errechnet sie sich folgendermaßen:

$$\text{Einwaage (mg) : Mol.-Gew.} = \frac{\text{ccm verbr. Jodlsg.}}{20} : x$$

Aus den zahlreichen von uns durchgeführten Bestimmungen greifen wir in jedem Falle nur einige typische heraus, die gleichzeitig die größten möglichen Fehlergrenzen anzeigen.

Die Oxydationen des Brenzcatechins, des Hydrochinons und des Chinhydrons wurden mit 0.1-n. Jod ausgeführt, die des Natriumsalzes der Naphthochinon-(1.2)-sulfonsäure-(4) und des Adrenalins mit 0.05-n. Jod, die des Tyrosins mit 0.01-n. Jod. Die Rücktitration erfolgte stets mittels 0.05-n. Thiosulfats.

Die Werte für das Adrenalin liegen durchschnittlich um 4% über dem erwarteten von 10 Atomen. Stellt man diesen empirisch ermittelten Faktor jedoch in Rechnung, so liegen die gefundenen Werte innerhalb einer Fehlergrenze von 2%.

In ausführlicherer Form werden diese Ergebnisse in den „Memorias do Instituto Butantan, Tomo XII, 1938“ veröffentlicht werden.

272. Karl Heinrich Slotta und Klaus Neißer: Zur Chemie des Kaffees, I. Mittell.: Eine neue Methode zur Bestimmung der Chlorogensäure.

[Aus d. Forschungsabteil. d. Kaffee-Institutes São Paulo, Brasilien, Instituto Butantan.]
(Eingegangen am 8. Juni 1938.)

Einer der Inhaltsstoffe der Kaffeebohne, der sowohl physiologisch¹⁾ als auch für eine technische Verwertung des Kaffee-Überschusses²⁾ von größter Bedeutung ist, ist die Chlorogensäure, $(\text{HO})_2\text{C}_6\text{H}_3 \cdot \text{CH} : \text{CH} \cdot \text{CO} \cdot \text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_7(\text{OH})_3 \cdot \text{CO}_2\text{H}$. Sie macht nach den Literaturangaben³⁾ 4—8% des Kaffees aus und dürfte wegen ihres adstringierenden Geschmacks Einfluß auf den Geschmack des Kaffees überhaupt haben.

Als wir nach einer einfachen und zuverlässigen analytischen Bestimmungsmethode für Chlorogensäure suchten, stellten wir leider bald fest, daß „die quantitative Ermittlung dieser Säure...bisher in wirklich befriedigender Weise noch nicht gelöst“ ist⁴⁾. Für die beabsichtigte Durchführung von Reihenanalysen schieden die meisten der älteren Methoden⁵⁾ von vornherein aus, da ihre Ausführung zu viel Zeit beanspruchte. Gegen das colorimetrische Verfahren von W. Hoepfner⁶⁾ sind in neuerer Zeit so vielerlei Einwände

¹⁾ s. u. a. H. Seel, Med. Welt **1935**, Nr. 40; J. R. Valle, Mem. Inst. Butantan **11**, 83 [1937].

²⁾ K. H. Slotta, Kl. Neißer u. A. Cardeal, Mem. Inst. Butantan **11**, 61 [1937].

³⁾ Lit. s. Handb. d. Lebensmittelchem. VI, S. 11.

⁴⁾ Handb. d. Lebensmittelchem. VI, S. 41.

⁵⁾ Lit. s. Handb. d. Lebensmittelchem. VI, S. 41.

⁶⁾ Chem.-Ztg. **56**, 991 [1932].