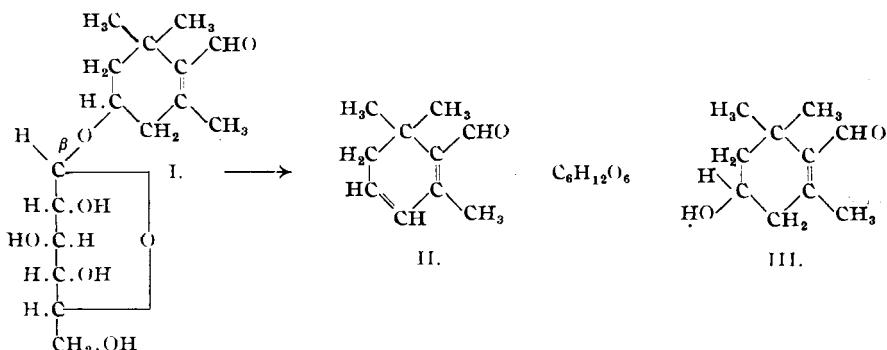


31. Richard Kuhn und Irmentraut Löw: Über das Androtermon von Chlamydomonas eugametos; linksdrehender 4-Oxy-2.6.6-trimethyl- Δ^1 -tetrahydrobenzaldehyd.

[Aus d. Kaiser Wilhelm-Institut f. Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie;
vorgetragen im Kolloquium dieses Instituts am 25. 11. 1940.]
(Eingegangen am 23. Dezember 1940.)

Pikrococin (I), der Bitterstoff des Safrans, wird sowohl durch verd. Säure als auch durch verd. Lauge in *d*-Glucose und 2.6.6-Trimethyl- Δ^1 ³-dihydrobenzaldehyd (Safranal, II) gespalten¹⁾.



Die Konstitution des Safranals ist einerseits durch Oxydation zu *asymm.* Dimethylbersteinsäure, andererseits durch partielle katalytische Hydrierung zu β -Cyclocitral bewiesen worden. Daß im Pikrococin ein β -Glucosid vorliegt und daß der Glucoserest am C-Atom 4 haftet, das bei den einfacheren Xanthophyllen eine OH-Gruppe trägt, konnte wahrscheinlich gemacht werden.

1) Spaltung des Pikrococins durch HCl und durch KOH. Da es, auch bei Terpenglucosiden, ganz ungewöhnlich ist, daß ein Glucosid sowohl durch Säure als auch durch Lauge so glatt gespalten wird und daß dabei im Aglucon eine neue Doppelbindung auftritt, haben wir die Kinetik dieser „Hydrolyse“ genauer untersucht. Wir hofften unter günstigen Umständen durch reaktionskinetische Messungen entscheiden zu können, ob die Spaltung direkt nach der Gleichung C₁₆H₂₆O₇ → C₁₀H₁₄O + C₆H₁₂O₆ verläuft oder ob sie sich in 2 Stufen abspielt: 1) echte Hydrolyse unter Aufnahme von Wasser und Bildung eines Hydroxyaldehyds [C₁₆H₂₆O₇ + H₂O → C₁₀H₁₆O₂ + C₆H₁₂O₆], 2) Zerfall des Hydroxyaldehyds in Safranal und Wasser C₁₀H₁₆O₂ → C₁₀H₁₄O + H₂O. Ungünstig für eine kinetische Untersuchung war der Umstand, daß sich eine wäßrige Lösung von Pikrococin, die man mit HCl oder KOH spaltet, stark trübt, weil das auftretende Safranal in Wasser nur sehr wenig löslich ist. Aus diesem Grunde haben wir alle Messungen in 50-vol.-proz. Alkohol ausgeführt. Günstig für die Verfolgung des Reaktionsverlaufs war die verhältnismäßig starke Änderung des optischen Drehungsvermögens (Pikrococin [α]_D: -58°; *d*-Glucose [α]_D: +52.5°, Safranal [α]_D: ±0°).

Das Ergebnis der im Versuchsteil angeführten polarimetrischen Messungen läßt sich wie folgt zusammenfassen: Obwohl die Spaltung des Pikrococins durch Alkali viel rascher verläuft als die Säurehydrolyse und für die präparative Darstellung von Safranal besonders geeignet ist¹⁾, sind doch so hohe

¹⁾ R. Kuhn u. A. Winterstein, B. 67, 344 [1934].

OH'-Konzentrationen erforderlich, daß die Glucose schon weitgehend zerstört wird und man durch Verfolgung des Drehungsvermögens keine auswertbaren Reaktionskonstanten erhalten kann. Demgegenüber verläuft die Spaltung durch HCl in 50-proz. Alkohol streng nach dem Gesetz für monomolekulare Reaktionen $k = 1/t \cdot \log a/(a-x)$. Die Abhängigkeit der Reaktionskonstanten von der HCl-Konzentration ist in Tafel 2 angegeben. Der Temperaturkoeffizient wurde gemessen und daraus nach Sv. Arrhenius²⁾ die Aktivierungsenergie A berechnet.

$$A = \frac{\log k_2 - \log k_1}{0.4343} \times \frac{R \times T_1 \times T_2}{(T_2 - T_1)}$$

Wir fanden $A = 7590$ cal/Mol. zwischen 29.9° und 19.5° C, $A = 11380$ cal/Mol. zwischen 19.5 und 9.0° C. Anhaltspunkte für die intermediäre Anhäufung eines Reaktionszwischenproduktes erbrachten diese Versuche nicht.

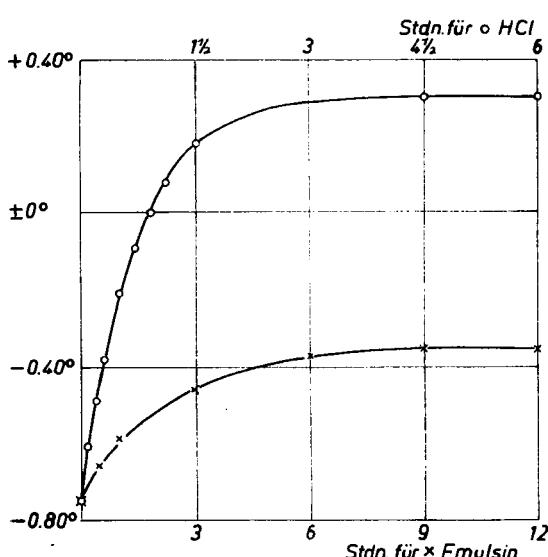


Abbildung 1. Änderung des Drehungsvermögens bei der Spaltung von Pikrococin durch HCl (o) und durch Emulsin (x).

Ätherlösung stark linksdrehend. Nach dem Trocknen und Verjagen des Lösungsmittels hinterbleibt ein zähflüssiges Öl, das im Hochvakuum destilliert werden kann. In ihm liegt der 4-Oxy-2.6.6-trimethyl- Δ^1 -tetrahydrobenzaldehyd (III) vor. Die Linksdrehung des neuen Oxyaldehyds ($[\alpha]_D^{20}: -87^\circ$) erklärt, warum die Hydrolyse des Pikrococins durch Emulsin — polarimetrisch gemessen — so anders verläuft, als die Spaltung durch HCl (Abbildung 1).

3. Eigenschaften des Oxyaldehyds. Das Oxy- β -cyclocitral (III) ist nicht nur durch seine optische Aktivität, sondern auch durch seine viel größere Wasserlöslichkeit vom Dehydro- β -cyclocitral (II) leicht unterscheidbar. Die gute Löslichkeit des Oxyaldehyds in Wasser bewirkt, daß eine wäßrige

2) Spaltung durch Emulsin. Einen entscheidenden Fortschritt brachte die Untersuchung der enzymatischen Hydrolyse. Pikrococin ist, wie wir gefunden haben, durch Emulsin spaltbar. Verfolgt man diesen Vorgang polarimetrisch, so findet man, daß im Gegensatz zu den Versuchen mit HCl nicht der dem Drehungsvermögen der α . β -d-Glucose entsprechende Endwert erreicht wird; die enzymatische Spaltung scheint früher zum Stillstand zu kommen (Abbildung 1). Schüttelt man einen Versuchsansatz mit Emulsin nach Erreichen dieses Endwertes mit Äther aus, so findet man die

²⁾ Ztschr. physik. Chem. 4, 226 [1889].

Pikrococin-Lösung bei der Spaltung durch Emulsin völlig klar bleibt, während sie sich bei Spaltung durch HCl infolge Abscheidung des Dehydroaldehyds alsbald trübt (Demonstrationsversuch). Um den Oxyaldehyd seiner wässrigen Lösung zu entziehen, muß man 5 bis 6 mal mit Äther ausschütteln; der Dehydroaldehyd geht aus Wasser schon bei einmaligem Durchschütteln quantitativ in Äther.

Der linksdrehende 4-Oxy-2.6.6-trimethyl- Δ^1 -tetrahydrobenzaldehyd, dessen Absorptionsspektrum in Abbild. 2 dargestellt ist, ist seiner Formel gemäß ein Analogon des Acetalddols, und zwar das cyclisierte Aldol des β -Methyl-crotonaldehyds (Methylbutenals). Die α . β -ständige Doppelbindung überträgt die reaktivierende Wirkung der Carbonylgruppe bis auf das δ -ständige Hydroxyl, so daß die Eigenschaften denjenigen eines β -Oxyaldehyds gleichen. So versteht man, daß das Oxy- β -cyclocitral (III) unter der Einwirkung von Säure leicht Wasser abspaltet (Analogie: Aldol \rightarrow Crotonaldehyd), daß es aber auch dazu neigt in paraldolartige Körper überzugehen. Überdies findet sich das Bestreben des β -Cyclocitrals durch Autoxydation in β -Cyclogeraniunsäure überzugehen, beim Oxyaldehyd wieder. Es handelt sich also um einen Stoff, der nicht nur gegen H^+ und OH^- , sondern auch gegen Hitze und Luft empfindlich ist! Bei den Elementaranalysen konnten demgemäß die für $C_{10}H_{16}O_2$ berechneten Kohlenstoffwerte noch nicht ganz erreicht werden.

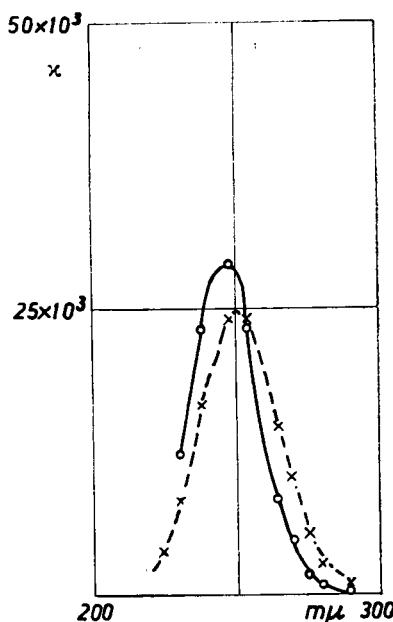


Abbildung 2. Absorptionsspektren des 4-Oxy-2.6.6-trimethyl- Δ^1 -tetrahydrobenzaldehyds in absol. Alkohol (○) und des Pikrococins in Wasser (×).

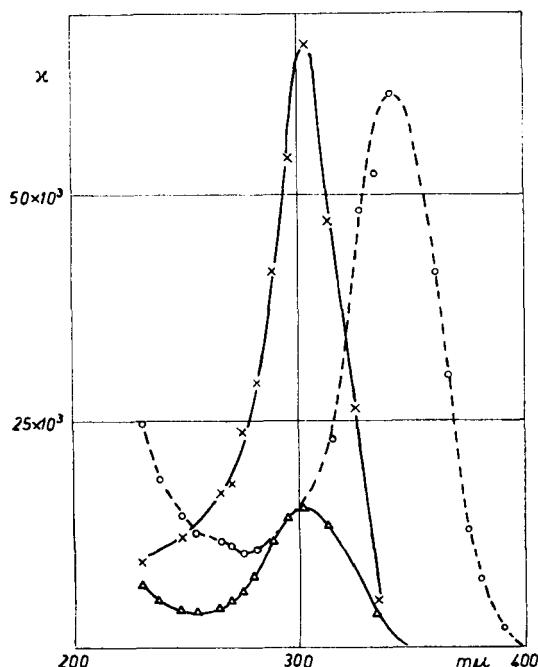
Abszissen: Wellenlängen in $m\mu$

$$\text{Ordinaten: } x = \frac{2.30}{c \times d} \log \frac{I_0}{I}$$

Tafel 1.

Eigenschaften	4-Oxy-2.6.6-trimethyl- Δ^1 -tetrahydrobenzaldehyd	2.6.6-Trimethyl- $\Delta^{1,3}$ -dihydrobenzaldehyd
Sdp. (0.001 mm), Temp. des Luftbades [α] _D ²⁰ in 96-proz. Alkohol	~80° —87° 1.5178	~60° \pm 0° 1.5281
n_D^{20}	blumig	streng
Geruch	leicht	schwer
Löslichkeit in Wasser	schwer	leicht
Flüchtigkeit mit Wasserdampf	191°	191°
Schmp. des Thiosemicarbazons	---64°	\pm 0°
[α] _D ²⁰ des Thiosemicarbazons (Alkohol)		
Absorptionsbande des Thiosemicarbazons (Alkohol)	305 $m\mu$	340 $m\mu$ 15*

Um so wichtiger war es, ein gut krystallisierendes Derivat des Oxyaldehyds ausfindig zu machen. Wir fanden ein solches im Thiosemicarbazon, das schneeweisse Stäbchen vom Schmp. 191° darstellt. Seine Zusammensetzung entspricht der Formel $C_{11}H_{19}ON_3S$. Unterwirft man das Thiosemicarbazon des Oxyaldehyds bei Gegenwart von verd. Schwefelsäure der Wasserdampfdestillation, so geht Safranal über, das als Thiosemicarbazone³⁾ $C_{11}H_{17}N_3S$ vom Schmp. 191° und $[\alpha]_D: \pm 0^\circ$ identifiziert wurde. Die Absorptionsspektren der beiden Thiosemicarbazone sind in Abbild. 3 dargestellt.



Abbild. 3. Absorptionsspektren der Thiosemicarbazone von 4-Oxy-2,6,6-trimethyl- Δ^1 -tetrahydrobenzaldehyd (\times), von Safranal (\circ) und von β -Cyclocitral (Δ) in Alkohol.

Die Isolierung des Oxyaldehyds mit Hilfe von Emulsin bot eine Möglichkeit, die eingangs aufgeworfene Frage, ob die Spaltung des Pikrocrocin durch HCl einstufig oder zweistufig verläuft, näher zu prüfen. Zu diesem Zweck haben wir polarimetrisch die Geschwindigkeit gemessen, mit der in 50-vol. proz. Alkohol bei verschiedenen HCl-Konzentrationen der Oxyaldehyd sein Drehungsvermögen verliert. Die graphische Darstellung der in Tafel 2 zusammengefaßten Meßreihen führt zu dem höchst auffallenden Ergebnis, daß unter gleichen Bedingungen die Abspaltung von Glucose aus Pikrococin und die Abspaltung von Wasser aus dem Oxyaldehyd genau gleich schnell verlaufen (Abbild. 4). Nur bei den kleinsten angewandten HCl-Konzentrationen (0.5—1.0-n)

ist die Reaktionskonstante für die Pikrococinspaltung deutlich größer als die Konstante für die Inaktivierung des Oxyaldehyds. Dies spricht dafür, daß die HCl-Spaltung des Pikrococin nicht über den Oxyaldehyd verläuft, sondern unmittelbar zum Safranal führt. Für die Spaltung durch KOH gilt dasselbe: während beim Pikrococin z. B. durch 0.007-n-KOH nach 120 Min. eine Drehungsänderung von 0.32° eintrat, war beim Oxyaldehyd durch 1.5-n-KOH selbst nach 480 Min. noch keine Drehungsänderung erkennbar, obwohl sich die Lösung schon braunstichig gefärbt hatte. Der 4-Oxy-2,6,6-trimethyl- Δ^1 -tetrahydrobenzaldehyd tritt also nur bei der enzymatischen Spaltung auf.

³⁾ R. Kuhn u. G. Wendt, B. 69, 1549 [1936].

Tafel 2.

Hydrolyse von Pikrococin und Inaktivierung von Oxy- β -cyclocitral durch HCl in 50-proz. Äthylalkohol.

Nr.	Substrat	Temperatur ° C	HCl	$k = 1/t \times \log a/(a-x)$
1	Pikrococin	29.9	2.58-n.	0.00590 *)
2	Pikrococin	29.9	2.39-n.	0.00490
3	Pikrococin	29.9	1.23-n.	0.00125
4	Pikrococin	29.9	1.14-n.	0.00107 *)
5	Pikrococin	29.9	0.61-n.	0.00050 *)
6	Pikrococin	19.5	2.58-n.	0.00238
7	Pikrococin	9.0	2.58-n.	0.00056
8	Oxyaldehyd	30.0	2.53-n.	0.00592 *)
9	Oxyaldehyd	30.0	1.80-n.	0.00246 *)
10	Oxyaldehyd	30.0	1.02-n.	0.00075 *)
11	Oxyaldehyd	30.0	0.51-n.	0.00017
12	Oxyaldehyd	20.0	2.55-n.	0.00181 *)

Die mit *) versehenen Zahlen sind Mittelwerte aus 2 Meßreihen.

Destilliert man den Oxyaldehyd in Gegenwart von gesättigtem Barytwasser mit Wasserdampf, so geht Safranal über. Als Arrhenius-Konstante für die Inaktivierung des Oxyaldehyds durch 2.55-n HCl in 50-proz. Alkohol fanden wir $A = 10\,600$ (zwischen 30 und 20°). Dieser Wert ist etwas höher als derjenige für die Spaltung von Pikrococin durch 2.58-n HCl ($A = 7600$ cal/Mol.). Zum Vergleich sei erwähnt, daß für die HCl-Hydrolyse von Rohrzucker $A = 12\,800$ und von Maltose $A = 17\,100$ cal/Mol. gefunden wurde.

Die Spaltbarkeit durch Emulsin erbringt eine neue Stütze für die bereits angenommene β -glucosidische Natur des Pikrococins. Die Haftstelle der Glucose am C-Atom 4 ist die einzige, die den Eigenschaften des Oxyaldehyds Rechnung trägt. Die Konstitutionsformel des Pikrococins (I) kann somit in allen Einzelheiten als gesichert gelten. Die Linksdrehung des neuen Oxyaldehyds paßt gut zu den mit A. Winterstein¹⁾ entwickelten Vorstellungen über die Biogenese des Safran-Bitterstoffes, weil die natürlichen Xanthophylle, soweit sie optische Aktivität erkennen lassen, linksdrehend sind.

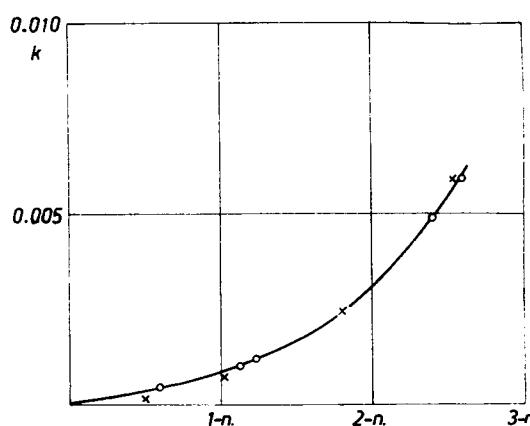


Abbildung. 4. Abszissen: Konz. des HCl in 50-vol.-proz. Alkohol (Normalität).

Ordinaten: Reaktionskonstanten $k = 1/t \times \log a/(a-x)$ für die Spaltung des Pikrococins (o) und für die Inaktivierung des Oxyaldehyds (x).

4. Termon-Wirksamkeit. Die ♂-Zellen von *Chlamydomonas eugametos f. synoica* werden durch ein Filtrat von ♂-Gameten mit ♀-Gameten kopulationsfähig d. h. männlich⁴⁾. Der im Filtrat der ♂-Zellen nachweisbare geschlechtsbestimmende Stoff ist ätherlöslich und mit Wasserdampf flüchtig; er kann durch Safranal ersetzt werden, von dem je Zelle 10—20 Molekeln benötigt werden⁵⁾. Für die Ausscheidung des Androtermons durch die ♂-Gameten verantwortlich ist ein pikrococinspaltendes Ferment, das sich nur in den männlichen Zellen findet und in den weiblichen fehlt⁶⁾. Dieses Ferment kann mit der β-Glucosidase des Emulsins nicht identisch sein, da seine Affinität zum Substrat von ganz anderer Größenordnung ist. Qualitativ betrachtet, handelt es sich aber auch in den Zellen der Grünalge um eine β-Glucosidase, so daß zu erwarten war, daß das natürliche Androtermon mit dem bei der Emulsinspaltung des Pikrococins entdeckten Oxyaldehyd identisch ist. Hr. Dr. F. Moewus hat daher den linksdrehenden 4-Oxy-2.6.6-trimethyl-Δ¹-tetrahydrobenzaldehyd im Androtermontest vergleichend mit Safranal geprüft.

Die Grenze der Wirksamkeit, bei der nach 25—30 Min. Einwirkungs-dauer noch fast alle *Synoica*-Zellen mit weiblichen Gameten (♀^1) kopulations-fähig wurden, war erreicht, wenn 20.25 mg Safranal in $3 \times 10^{12} \text{ ccm}$ Wasser gelöst waren. In 1 ccm mit 2×10^6 Gameten waren dann $6.75 \times 10^{-12} \text{ mg}$ Safranal, entsprechend 2.73×10^7 Molekeln Safranal vorhanden, d. h. 13 Molekeln Dehydroaldehyd/Zelle, was mit den früher gefundenen Werten von 10—20 Molekeln/Zelle gut übereinstimmt.

Beim Oxyaldehyd wurde die Grenze der Wirksamkeit erst erreicht, als 22.75 mg auf $3 \times 10^{13} \text{ ccm}$ Wasser verdünnt waren. Auf 2×10^6 Gameten/ccm kamen somit $7.58 \times 10^{-13} \text{ mg} = 2.7 \times 10^8$ Molekeln, d. h. 1.35 Molekeln Oxyaldehyd je Zelle. Der Oxyaldehyd ist also 10-mal wirksamer als der Dehydroaldehyd. Es ist sehr naheliegend, daraus zu schließen, daß im linksdrehenden 4-Oxy-2.6.6-trimethyl-Δ¹-tetrahydrobenzaldehyd das wahre Androtermon von *Chlamydomonas eugametos* vorliegt. Das optisch inaktive Safranal tritt vermutlich unter physiologischen Bedingungen in den Zellen der Grünalge nicht auf; es erscheint als Kunstprodukt, das seine Entstehung der Einwirkung von Säure oder von Lauge verdankt; daß es noch, wenn auch schwächer, als Androtermon wirkt, beruht möglicherweise darauf, daß es in den Gameten durch Anlagerung von Wasser teilweise in den Oxyaldehyd überzugehen vermag⁷⁾. Die absolute Wirksamkeit des Oxyaldehyds als Termon (1.3 Molekeln/Zelle) reicht an die Wirksamkeit des Crocins als Beweglichkeitsstoff⁸⁾ (1.2 Molekeln/Zelle) heran. Man kann sagen, daß bei *Chlamydomonas eugametos f. synoica* 1 Molekeln genügt um 1 Zwitter-zelle männlich zu machen.

Beschreibung der Versuche.

A. Präparativer Teil.

2 g Pikrococin wurden in 60 ccm m_{10} -Phosphatpuffer von p_{H} 6.0 gelöst und mit 40 ccm Emulsin-Lösung versetzt. Die Ferment-Lösung war

⁴⁾ F. Moewus, Biol. Zbl. **60**, 143 [1940].

⁵⁾ R. Kuhn, F. Moewus u. G. Wendt, B. **72**, 1702 [1939].

⁶⁾ R. Kuhn u. F. Moewus, B. **73**, 547 [1940].

⁷⁾ Vergl. die Hydratation von Crotonaldehyd zu Acetaldol unter der katalytischen Einwirkung von Sarkosin nach W. Langenbeck u. R. Sauerbier, B. **70**, 1540 [1937].

⁸⁾ R. Kuhn, F. Moewus u. D. Jerchel, B. **71**, 1541 [1938].

durch 2-stdg. Schütteln von 10 g Emulsin (E. Merck) mit 100 ccm Wasser und Zentrifugieren dargestellt.

Der Ansatz blieb 42 Stdn. bei 27° stehen. Hierauf wurde 5- bis 6-mal mit je 20 ccm Äther ausgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet und unter Stickstoff mit Widmer-Spirale verdampft. Es hinterblieb etwa 1 g eines zähen Öls, das unter 0.001 mm bei 90—100° (Luftbad) destilliert wurde. Das Destillat war schwach gelbstichig grün gefärbt. Die Ausbeute betrug 0.5 g. Die Hälfte des Materials blieb als harzähnliche Masse in der Kugel zurück, aus der sich auch durch weitere Steigerung der Temperatur (bis 120°) kein Oxyaldehyd mehr gewinnen ließ. Bei Wiederholung der Destillation ging der Oxyaldehyd unter 0.001 mm schon bei 80—90° (Luftbad) als wasserhelles, zähflüssiges Öl über. Der undestillierbare Rückstand war bei der zweiten Destillation erheblich geringer. Ganz farblos gingen nur die ersten 0.15 g über, die folgenden 0.30 g waren wieder grünstichig gelb. Es ist zweckmäßig, möglichst rasch zu destillieren.

2 Präparate aus verschiedenen Ansätzen zeigten n_D^{20} 1.5180 und n_D^{20} 1.5178. $[\alpha]_D^{20} : (-3.43^\circ \times 100/4.075 \times 1), (-0.41^\circ \times 100/0.470 \times 1) = -84.2^\circ, -87.2^\circ$ (96-proz. Alkohol).

3.740, 3.910 mg Sbst.: 9.55, 10.02 mg CO₂, 3.21, 3.39 mg H₂O. — 6.331 mg Sbst.: 1.12 ccm CH₄ (0°, 760 mm).

C₁₀H₁₆O₃ (168.1). Ber. C 71.39, H 9.58, akt. H 1.00.

Gef., 69.64, 69.89, , 9.60, 9.70, akt. H 1.05.

Das Oxy-β-cyclocitral unterliegt ähnlich wie β-Cyclocitral an der Luft der Autoxydation. 2 frisch destillierte Präparate enthielten laut Äquivalentsgewichtsbestimmung 5% und 10% Säure.

0.40 g 1-mal destillierter Oxyaldehyd wurden in 7.5 ccm Alkohol gelöst, mit 0.24 g Thiosemicarbazid in 4 ccm Wasser versetzt und 24 Stdn. bei 37° aufbewahrt. Der nach dem Verdampfen hinterbliebene Rückstand wurde aus Methanol-Wasser in schönen, häufig gekreuzten Stäbchen vom Schmp. 189—190° (Berl, unter Zers.) erhalten. $[\alpha]_D^{20} : (-0.22^\circ \times 100/0.358 \times 1) = -62^\circ$ (96-proz. Alkohol). Für ein Präparat vom Schmp. 191—192° (Berl) fanden wir: $[\alpha]_D^{20} : (-0.28^\circ \times 100/0.443 \times 1) = -64^\circ$ (96-proz. Alkohol).

3.770 mg Sbst.: 7.675 mg CO₂, 2.74 mg H₂O. — 4.199 mg Sbst.: 0.606 ccm N₂ (21°, 761 mm).

C₁₁H₁₈ON₃S (241.2). Ber. C 54.72, H 7.98, N 17.41. Gef. C 55.52, H 8.13, N 16.78.

Auch nach wiederholten Krystallisationen aus Methanol-Wasser und Trocknung bei 100° (1 mm) wurden zu tiefe N-Werte erhalten. Besonders schön krystallisiert das Thiosemicarbazone aus Chloroform, dem man in der Hitze einige Tropfen Methanol zusetzt bis eben Lösung eintritt. Man erhält so schneeweisse Stäbchen vom Schmp. 190.5—191.5° (Berl, Zers.). Aber auch solche Präparate weisen zu tiefen N-Gehalt auf, weil sie selbst nach 5-stdg. Trocknen bei 140° (1 mm) noch etwa 1/5 Mol. Chloroform festhalten. Rechnet man auf Grund des analytisch festgestellten Chlorgehalts auf chloroformfreie Substanz um, so findet man gute Übereinstimmung mit den für C₁₁H₁₈ON₃S berechneten Werten:

C₁₁H₁₈ON₃S (241.2). Ber. C 54.7, H 8.0, N 17.4. Gef. C 54.2, H 7.9, N 17.2.

Die gefundenen Werte, aus denen diese Zahlen abgeleitet sind, waren:

3.940, 3.800 mg Sbst.: 7.26, 6.93 mg CO₂, 2.50, 2.44 mg H₂O. — 3.190 mg Sbst.: 0.430 ccm N₂ (22°, 754 mm). — 5.690, 5.950 mg Sbst.: 1.915, 1.915 mg AgCl.

5C₁₁H₁₈ON₃S, CHCl₃ (1325.5). Ber. C 50.70, H 7.31, N 15.84, Cl 8.04.

Gef., 50.25, 49.74, , 7.10, 7.18, , 15.48, , 8.31, 7.96.

Wenn man das aus Chloroform-Methanol frisch krystallisierte Thiosemicarbazon mit Benzol am absteigenden Kühler kocht, (100 ccm abdestilliert) wird das Krystall-Chloroform verdrängt. Anscheinend wird es durch Krystall-Benzol ersetzt, denn der C-Gehalt steigt dabei um 8%, wobei hervorzuheben ist, daß auch für die folgenden Analysen bei 140° (1 mm) getrocknet war.

3.840 mg Sbst.: 8.19 mg CO₂, 2.74 mg H₂O. -- 3.186 mg Sbst.: 0.448 ccm N₂ (21°, 739 mm).

3C₁₁H₁₀ON₃S, C₆H₆ (801.3). Ber. C 58.40, H 7.92, N 15.72. Gef. C 58.17, H 7.98, N 15.88.

0.20g Thiosemicarbazon (Schmp. 192°) wurden mit 20 ccm 2-n. Schwefelsäure der Wasserdampfdestillation unterworfen bis 300 ccm übergegangen waren. Gleich zu Beginn sammelten sich an der Oberfläche des Destillats ölige Tropfen, die nach Safranal rochen. Diese wurden in Äther aufgenommen und auf Thiosemicarbazon verarbeitet, das aus Methanol-Wasser in gelbstichigen Stäbchen erhalten wurde, die sich als optisch inaktiv erwiesen. Schmp. 191° (Zers.). Die Mischprobe mit dem Thiosemicarbazon des linksdrehenden Oxyaldehyds vom Schmp. 191° schmolz bei ~172°.

3.695 mg Sbst.: 8.10 mg CO₂, 2.54 mg H₂O. -- 2.980 mg Sbst.: 0.496 ccm N₂ (22°, 749 mm).

C₁₁H₁₀N₃S (223.1). Ber. C 59.14, H 7.68, N 18.82. Gef. C 59.79, H 7.69, N 18.98.

[α]_D²⁰: ($\pm 0.01^\circ \times 100$):(2.5 × 1) = ± 0.4° (95-proz. Alkohol).

B. Kinetischer Teil.

Das für die folgenden Messungen verwandte Pikrococin verdanken wir der Chemischen Fabrik E. Merck, Darmstadt, die es in freundlicher Weise aus spanischem Safran nach der mit A. Winterstein¹⁾ angegebenen Vorschrift dargestellt hatte. Das vor 2 Jahren isolierte Präparat schmolz zu Beginn unserer Versuche bei 150° und zeigte [α]_D²⁰:(−0.68° × 100/1.17 × 1) = −58.0° (50-proz. Alkohol). Im Verlaufe der Versuche sank der Schmp. auf 145° und das Drehungsvermögen auf [α]_D²⁰:(−0.71° × 100/1.25 × 1) = −57.0° (50-proz. Alkohol). Lösungsmittel für alle kinetischen Versuche war 50-proz. Alkohol.

1) Hydrolyse mit 0.03-n. KOH. 50.1 mg Per. Schmp. 150° in 4 ccm; 29.9°.

2) Hydrolyse mit 0.015-n. KOH. 49.5 Per. Schmp. 150° in 4 ccm; 29.9°.

Min.	α°	% Sp.	k	Min.	α°	% Sp.	k
0	−0.59			0	−0.68		
5	−0.43	26	0.0026	10	−0.52	21.9	0.0107
10	−0.29	49	0.0029	15	−0.46	30.2	0.0104
15	−0.17	69	0.0034	20	−0.40	38.4	0.0105
20	0.10	80.5	0.0035	30	−0.32	49.3	0.0096
25	−0.05	88.5	0.0038	40	−0.26	57.5	0.0093
30	+0.02			50	−0.21	64.3	0.0094
35	+0.01			60	−0.16	71.2	0.0086
				80	−0.10	79.5	0.0084
				100	−0.05	86.3	0.0085
				120	−0.02	90.3	
				∞	0.05		

3) Kontrolle: *d*-Glucose mit 0.015-*n.* KOH.
28.2 mg Glucose in 4 ccm; 29.9°.

Min.	α^0
0	—
5	+0.37
20	+0.36
90	+0.31
150	+0.27
210	+0.23
270	+0.20
1110	+0.13 (20°)

4) Hydrolyse mit 0.007-*n.* KOH.
49.8 mg Per. Schmp. 150° in 4 ccm; 29.9°.

Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.71	—	—
20	-0.60	14.5	0.0034
50	-0.52	25	0.0025
95	-0.43	36.8	0.0020
120	-0.39	42.2	0.0020
150	-0.35	47.4	0.0019
180	-0.32	51.3	0.0017
210	-0.30	53.9	0.0016
250	-0.28	56.6	0.0014
300	-0.25	60.6	0.0013
410	-0.21	65.8	0.0012
∞	-0.05	—	—

5) Hydrolyse mit 2.58-*n.* HCl. 29.9°;
50.3 mg Per. Schmp. 145° in 4 ccm.

Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.71	—	—
10	-0.59	11.9	0.0055
20	-0.48	22.8	0.0056
30	-0.38	32.7	0.0057
40	-0.30	40.6	0.0057
50	-0.22	48.5	0.0058
60	-0.14	56.5	0.0060
75	-0.07	63.5	0.0059
90	0.00	70.3	0.0059
120	+0.10	80.2	0.0059
150	+0.17	87.2	0.0059
∞	-0.30	—	0.0058

6) Hydrolyse mit 2.58-*n.* HCl. 19.5°;
48.7 mg Per. Schmp. 145° in 4 ccm.

Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.70	—	—
10	-0.64	6	0.0027
20	-0.58	12	0.0028
30	-0.54	16	0.0025
45	-0.49	21	0.0023
60	-0.44	26	0.0022
90	-0.33	37	0.0022
120	-0.25	45	0.0024
180	-0.11	59	0.0022
270	+0.05	75	0.0022
390	-0.17	87	0.0023
∞	-0.30	—	0.00238

7) Hydrolyse mit 2.58-*n.* HCl. 9.0°;
51.0 mg Per. Schmp. 145° in 4 ccm.

Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.75	—	—
45	-0.70	4.7	0.00045
90	-0.64	10.3	0.00052
120	-0.60	14.0	0.00054
150	-0.56	17.8	0.00056
180	-0.53	20.7	0.00056
240	-0.46	27.1	0.00057
360	-0.35	37.4	0.00056
480	-0.25	46.8	0.00057
600	-0.16	55.1	0.00058
660	-0.12	58.0	0.00057
∞	-0.32	—	0.00056

8) Hydrolyse mit 2.58-*n.* HCl. 29.9°;
51.4 mg Per. Schmp. 145° in 4 ccm.

Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.75	—	—
10	-0.61	13.1	0.00605
15	-0.55	18.7	0.00600
20	-0.49	24.3	0.00610
30	-0.38	34.6	0.00620
40	-0.30	42.1	0.00590
60	-0.15	56.1	0.00600
80	-0.04	66.3	0.00590
100	+0.05	74.7	0.00600
120	+0.10	79.5	0.00570
150	+0.18	86.9	0.00590
∞	+0.32	—	0.00600

9) Hydrolyse mit 2.39-*n*. HCl.
50.4 mg Per. Schmp. 145° in 4 ccm; 29.9°.

Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.72	—	—
10	-0.62	10.3	0.00475
20	-0.52	19.4	0.00470
30	-0.42	29.1	0.00597
40	-0.35	35.9	0.00484
50	-0.27	43.7	0.00498
60	-0.20	50.5	0.00508
70	-0.15	55.3	0.00500
80	-0.10	60.2	0.00501
100	-0.01	69.0	0.00500
120	0.04	73.8	0.00485
∞	0.31	—	0.00490

10) Hydrolyse mit 1.23-*n*. HCl.
50.0 mg Per. Schmp. 145° in 4 ccm; 29.9°.

Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.72	—	—
40	-0.62	9.8	0.00108
60	-0.56	15.7	0.00123
90	-0.49	22.6	0.00123
120	-0.43	28.4	0.00121
150	-0.37	34.3	0.00122
180	-0.31	40.2	0.00124
270	-0.16	54.9	0.00128
360	-0.07	63.7	0.00122
420	+0.02	72.5	0.00133
510	+0.09	79.4	0.00134
∞	+0.30	—	0.00125

11) Hydrolyse mit 1.14-*n*. HCl.
51.4 mg Per. Schmp. 145° in 4 ccm; 29.9°.

Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.71	—	—
30	-0.64	6.9	0.00103
70	-0.56	14.9	0.00100
100	-0.49	21.8	0.00107
130	-0.44	26.7	0.00103
330	-0.15	55.1	0.00107
390	-0.08	62.3	0.00109
450	-0.02	68.3	0.00109
510	+0.02	72.3	0.00109
570	+0.05	75.2	0.00106
∞	+0.30	—	0.00106

12) Hydrolyse mit 1.14-*n*. HCl.
51.3 mg Per. Schmp. 145° in 4 ccm; 29.9°.

Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.71	—	—
60	-0.54	16.6	0.00131
90	-0.48	22.8	0.00125
210	-0.30	40.6	0.00107
270	-0.24	46.5	0.00101
330	-0.18	52.5	0.00098
390	-0.11	59.4	0.00101
480	-0.02	68.3	0.00104
510	+0.01	71.3	0.00106
570	+0.04	74.3	0.00103
∞	+0.30	—	0.00108

13) Hydrolyse mit 0.61-*n*. HCl.
50.7 mg Per. Schmp. 145° in 4 ccm; 29.9°.

Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.71	—	—
60	-0.63	7.9	0.00058
150	-0.55	15.9	0.00049
180	-0.52	18.8	0.00050
210	-0.49	21.8	0.00050
240	-0.47	23.8	0.00049
300	-0.43	27.8	0.00047
510	-0.29	41.6	0.00046
600	-0.24	46.5	0.00045
660	-0.20	50.5	0.00046
720	-0.16	54.4	0.00047
∞	+0.30	—	0.00049

14) Hydrolyse mit 0.61-*n*. HCl.
50.8 mg Per. Schmp. 145° in 4 ccm; 29.9°.

Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.71	—	—
30	-0.66	5.0	0.00073
60	-0.64	6.9	0.00050
120	-0.58	12.8	0.00048
150	-0.55	15.8	0.00049
360	-0.38	32.7	0.00047
390	-0.34	33.7	0.00045
420	-0.33	37.7	0.00049
450	-0.30	40.7	0.00050
480	-0.28	42.6	0.00050
510	-0.27	43.7	0.00049
∞	-0.31	—	0.00051

15) Rohrzucker mit 1.2-n. HCl. 50.6 mg Saccharose in 4 ccm W./A. 1:1; 29.9°.				16) Rohrzucker mit 0.6-n. HCl. 51.5 mg Saccharose in 4 ccm W./A. 1:1; 29.9°.			
Min.	α^0	% Sp.	k	Min.	α^0	% Sp.	k
0	+0.85	—	—	0	+0.87	—	—
5	+0.71	14.6	0.0137	5	+0.81	6.1	0.0054
10	+0.59	27.1	0.0137	10	+0.75	12.2	0.0057
15	+0.47	39.6	0.0146	15	+0.71	16.2	0.0050
20	+0.37	50.0	0.0152	20	+0.67	20.2	0.0049
25	+0.30	57.3	0.0148	30	+0.59	28.3	0.0048
30	+0.23	64.6	0.0151	40	+0.51	36.4	0.0049
35	+0.18	69.8	0.0148	60	+0.39	48.6	0.0048
40	+0.13	75.0	0.0151	90	+0.25	62.3	0.0047
50	+0.05	83.3	0.0156	120	+0.13	74.8	0.0050
60	+0.00	88.6	0.0158	180	+0.00	88.0	0.0051
∞	-0.11	—	0.0148	∞	-0.12	—	0.0050

17) Rohrzucker mit 0.3-n. HCl. 49.8 mg Saccharose in 4 ccm W./A. 1:1; 29.9°.			
Min.	α^0	% Sp.	k
0	+0.85	—	—
5	+0.82	3.1	0.0027
10	+0.81	4.2	0.0018
20	+0.77	8.3	0.0019
30	+0.74	11.4	0.0018
60	+0.64	21.9	0.0018
90	+0.54	32.3	0.0019
120	-0.46	40.6	0.0019
150	-0.40	46.9	0.0018
180	-0.33	54.2	0.0019
240	-0.22	65.6	0.0019
∞	-0.11	—	0.0019

18) Rohrzucker mit 0.15-n. HCl. 48.9 mg Saccharose in 4 ccm W./A. 1:1; 29.9°.			
Min.	α^0	% Sp.	k
0	+0.83	—	—
10	+0.81	2.2	0.00090
30	+0.78	5.4	0.00080
120	+0.65	19.3	0.00079
150	+0.60	24.8	0.00083
180	+0.55	30.1	0.00086
210	+0.51	34.4	0.00087
270	+0.44	41.9	0.00087
490	+0.25	62.4	0.00089
570	+0.19	68.8	0.00089
660	+0.13	75.3	0.00092
∞	-0.10	—	0.00086

Nach den Vergleichsversuchen 15 bis 18 gilt auch für die Rohrzuckerhydrolyse in 50-proz. Alkohol, daß die monomolekularen Reaktionskonstanten k schneller als die HCl-Konzentration ansteigen.

19) Inaktivierung durch 2.53-n. HCl. 20.7 mg Oxyaldehyd in 4 ccm; 30.0°.			
Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.50	—	—
6	-0.46	8	0.00600
10	-0.44	12	0.00555
15	-0.41	18	0.00574
20	-0.38	24	0.00547
30	-0.33	34	0.00602
45	-0.27	46	0.00594
60	-0.22	56	0.00594
75	-0.18	64	0.00593
90	-0.15	70	0.00582
120	-0.10	80	0.00583
∞	0.00	—	0.00582

20) Inaktivierung durch 2.53-n. HCl. 22.0 mg Oxyaldehyd in 4 ccm; 30.0°.			
Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.53	—	—
5	-0.49	7.6	0.00680
10	-0.46	13.2	0.00610
15	-0.43	18.9	0.00607
20	-0.40	24.6	0.00610
30	-0.35	34.0	0.00600
45	-0.29	45.3	0.00583
60	-0.24	54.7	0.00573
75	-0.18	66.1	0.00627
90	-0.15	71.7	0.00610
120	-0.10	81.2	0.00604
∞	0.00	—	0.00603

21) Inaktivierung durch 1.80-*n*. HCl.

22.36 mg Oxyaldehyd in 4 ccm; 30.0°.

22) Inaktivierung durch 1.80-*n*. HCl.

22.0 mg Oxyaldehyd in 4 ccm; 30.0°.

Min.	α^0	% Sp.	k	Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.54	—	—	0	-0.53	—	—
10	-0.51	5.6	0.00245	10	-0.50	5.7	0.00250
15	-0.49	9.3	0.00280	20	-0.47	11.3	0.00255
20	-0.48	11.1	0.00255	30	-0.45	11.1	0.00236
30	-0.46	14.8	0.00234	60	-0.38	28.3	0.00242
60	-0.37	31.5	0.00244	90	-0.33	37.8	0.00229
90	-0.32	40.8	0.00251	120	-0.26	54.8	0.00286
120	-0.28	48.2	0.00238	180	-0.20	62.3	0.00236
180	-0.20	63.0	0.00240	240	-0.14	73.5	0.00240
240	-0.16	70.4	0.00222	360	-0.10	81.2	0.00202
∞	0.00	—	0.00250	∞	0.00	—	0.00242

23) Inaktivierung durch 1.01-*n*. HCl.

22.1 mg Oxyaldehyd in 4 ccm; 30.0°.

24) Inaktivierung durch 1.01-*n*. HCl.

21.1 mg Oxyaldehyd in 4 ccm; 30.0°.

Min.	α^0	% Sp.	k	Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.53	—	—	0	-0.51	—	—
150	-0.41	22.7	0.000743	135	-0.39	21.6	0.000782
240	-0.35	34.0	0.000750	270	-0.32	37.3	0.000753
330	-0.30	43.4	0.000748	360	-0.28	45.1	0.000723
420	-0.25	52.8	0.000776	450	-0.24	52.9	0.000728
510	-0.22	58.6	0.000751	570	-0.19	62.7	0.000754
630	-0.18	66.0	0.000742	660	-0.16	68.7	0.000764
∞	0.00	—	0.000752	∞	0.00	—	0.000751

25) Inaktivierung durch 2.55-*n*. HCl.

21.9 mg Oxyaldehyd in 4 ccm; 20.0°.

26) Inaktivierung durch 2.55-*n*. HCl.

22.2 mg Oxyaldehyd in 4 ccm; 20.0°.

Min.	α^0	% Sp.	k	Min.	α^0	% Sp.	k
0	-0.53	—	—	0	-0.53	—	—
35	-0.46	13.4	0.00177	30	-0.47	11.3	0.00173
60	-0.42	20.8	0.00170	60	-0.42	20.8	0.00170
120	-0.32	39.7	0.00183	120	-0.31	39.7	0.00183
150	-0.28	47.2	0.00185	150	-0.28	47.2	0.00185
180	-0.25	52.8	0.00181	180	-0.24	54.7	0.00191
300	-0.15	71.7	0.00183	300	-0.15	71.7	0.00183
360	-0.12	77.3	0.00178	360	-0.11	79.2	0.00189
450	-0.08	85.0	0.00183	420	-0.08	85.0	0.00183
∞	0.00	—	0.00180	∞	0.00	—	0.00182

Das angewandte Emulsionspräparat spaltete Amygdalin etwa 120-mal rascher als Pikrococin (Vergleich der Halbwertzeiten):

27) Pikrococin-Emulsinspaltung. T = 30°,
1 dm/20°.

Ansatz: Pikrococin in 1.5 ccm $m/_{10}$ -Phosphatpuffer pH 6.0 + 1 ccm 10-proz. Emulsin (zentrifugiert); gestoppt mit 2.5 ccm 5-proz. Sublimat; zentrifugiert.

Die α -Werte sind für die Eigendrehung des Emulsins korrigiert.

28) Amygdalin-Emulsinspaltung. T = 30°;
1 dm/20°.

Ansatz: Amygdalin in 1.5 ccm $m/_{10}$ -Phosphatpuffer pH 6.0 + 1 ccm 0.2-proz. Emulsin (zentrifugiert) + 2.5 ccm 5-proz. Sublimat zum Stoppen; zentrifugiert.

Für 0 Min. war α (korrig.) — 0.32°.

Pikrococin mg	Min.	α^0 korrig.	Amygdalin mg	Min.	α^0 korrig.
50.5	0	—0.52	50.3	10	—0.24
50.3	10	—0.49	50.3	20	—0.17
50.5	30	—0.46	50.3	30	—0.11
51.3	1 × 60	—0.44	50.4	45	0.00
50.2	3 × 60	—0.32	50.4	60	+0.07
50.0	6 × 60	—0.26	50.4	90	+0.17
50.4	9 × 60	—0.24	50.3	120	+0.22
50.4	12 × 60	—0.23	50.04	∞	0.37

32. Josef Lindner: Reingewinnung von Substanzen durch Teilverflüssigung und Warmabsaugen.

[Aus dem Pharmaz.-chem. Institut d. Universität Innsbruck.]

(Eingegangen am 6. Dezember 1940.)

Unter „Teilverflüssigung und Warmabsaugen“ soll ein Arbeitsvorgang zur Isolierung und Reinigung von Substanzen verstanden werden, bei dem ein unscharf schmelzender Ausgangsstoff in Berührung mit einem porösen Körper bis zur teilweisen Verflüssigung erwärmt und das Hauptprodukt durch Aufsaugen des verflüssigten Anteiles von Begleitsubstanzen befreit wird. Dieser Vorgang hat in einer Reihe von Arbeiten¹⁾, bei denen es auf die Reingewinnung und Untersuchung in kleiner Menge auftretender Verbindungen ankam, wertvolle Dienste geleistet. Die kleinen Substanzmengen wurden zu diesem Zwecke in dünner Schicht auf Tonscherben aufgetragen oder zwischen zwei Scherben eingepreßt und so bis zur teilweisen Verflüssigung erwärmt. Der einfache Kunstgriff, etwa dem Warmauspressen oder dem Schwitzverfahren in der Stearin- und Paraffinfabrikation verwandt, scheint für analytische oder präparative Zwecke in der vorliegenden Art bisher nicht angewendet worden zu sein, und die kurzen Hinweise in den oben erwähnten Arbeiten haben bei den Organikern und Analytikern kaum Beachtung gefunden. In unmittelbarer Aussprache auf das Reinigungsverfahren in meinen Arbeiten aufmerksam gemacht, hat es aber jüngst L. Kofler in einer seinen Arbeitsbehelfen angepaßten Ausführungsform an kleinen Substanzmengen zum Zwecke der Identifizierung durch Mikroschmelzpunktsbestimmung mit Erfolg erprobt und mit R. Wannenmacher²⁾ in den „Berichten“ beschrieben.

¹⁾ J. Lindner u. Mitarbb., Monatsh. Chem. 44, 337 [1923]; 46, 231 [1925]; 72, 330, 354, 361 [1939].

²⁾ B. 73, 1388 [1940].