

GISELA GROSS, WILHELM FRIEDRICH und KONRAD BERNHAUER

Beiträge zur Chemie und Biochemie der „Cobalamine“, V¹⁾

ÜBER EINIGE NEUE PHENOLÄTHER DES FAKTORS III

Aus dem Biochemischen Forschungslaboratorium
der Aschaffenburger Zellstoffwerke A G., Stockstadt a. M.

(Eingegangen am 4. Januar 1957)

Phenoläther des Faktors III, enthaltend den 2,4-Dinitrophenyl-, 2,4-Dinitro-5-hydroxy-phenyl-, 2,4-Dinitro-5-benzyloxy-phenyl-, Benzyl-, 2-Hydroxy-äthyl- und Allyl-Rest, werden in kristallisiertem Zustand, der den 2,4-Dinitro-phenyl-5-[2,4-dinitro-5-hydroxy-phenyl]-Rest enthaltende Phenoläther in amorpher Form dargestellt, identifiziert und auf ihre mikrobiologische Wirksamkeit geprüft.

Wie wir kürzlich zeigen konnten, läßt sich Faktor III mit Hilfe von Dimethylsulfat oder Arylsulfonsäure-methylestern in Abwesenheit eines CN^\ominus -Überschusses am phenolischen Hydroxyl und in Gegenwart eines CN^\ominus -Überschusses außerdem am N-3 des Benzimidazol-Anteils methylieren²⁾. In der vorliegenden Mitteilung wird über die Reaktion des phenolischen Hydroxyls des Faktors III mit weiteren Alkylierungs- und Arylierungsmitteln berichtet, nämlich über die Einwirkung von in *o*- und *p*-Stellung nitrierten und damit reaktionsfähig gemachten Fluorbenzolen, sowie von Benzylbromid, Äthylbromhydrin und Allylbromid. Die dabei erhaltenen Reaktionsprodukte wurden meist in kristallisierter Form isoliert und durch Abbaureaktionen sowie Ermittlung der Eigenschaften identifiziert.

Bei der Einwirkung von 2,4-Dinitro-fluorbenzol auf Faktor III in wäßriger schwach alkalischer Lösung bei 37° erhält man in guter Ausbeute den *2,4-Dinitrophenyläther des Faktors III (I)* in roten Nadeln. Für dessen Struktur sprechen folgende Beobachtungen: Beim Abbau mit 70-proz. Perchlorsäure wird Faktor B erhalten; die Reaktion muß also am Nucleotidanteil von Faktor III stattgefunden haben. Wenn man Vitamin B₁₂ unter gleichen Bedingungen wie Faktor III mit 2,4-Dinitro-fluorbenzol behandelt, bleibt es erwartungsgemäß praktisch unverändert. Aliphatische Hydroxyle (Ribose) reagieren bekanntlich unter obigen Bedingungen nicht mit aromatischen Fluorverbindungen³⁾, andererseits wäre eine Reaktion des 2,4-Dinitro-fluorbenzols mit N-3 der Benzimidazol-Komponente nur in Gegenwart von CN^\ominus -Überschuß möglich²⁾. Das Absorptionsspektrum von I ist p_{H} -unabhängig (vgl. Tab. 1), woraus sich ergibt, daß kein freies phenolisches Hydroxyl vorhanden ist. Im Faktor III kann das phenolische Hydroxyl z. B. sehr einfach durch Veränderungen des Spektrums im p_{H} -Gebiet von ca. 9—11 nachgewiesen werden. Diese sind durch das Gleichgewicht $\text{Phenol} \rightleftharpoons \text{Phenolat}$ (p_{K} ca. 10.1, ein isosbestischer Punkt bei 305 m μ) bedingt⁴⁾. Im Absorptionsspektrum von I ist bei 279 m μ eine stark erhöhte

¹⁾ IV. Mittell.: H. W. DELLWEG und K. BERNHAUER, Arch. Biochem. Biophysics, im Druck.

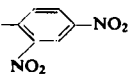
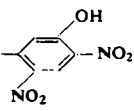
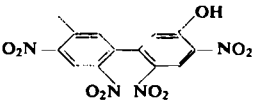
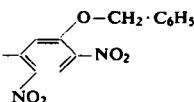
²⁾ W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Chem. Ber. **89**, 2030 [1956].

³⁾ H. ZAHN und W. GERSTNER, Biochem. Z. **327**, 209 [1955].

⁴⁾ W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Chem. Ber. **90**, 465 [1957].

Bande vorhanden, die u. a. auf die Absorption der 2,4-Dinitrophenyl-Gruppe zurückzuführen ist. Die für den Faktor III charakteristische Bande bei 295 m μ fehlt (vgl. Tab. 1). I ist erwartungsgemäß bei allen p_H -Werten elektrophoretisch neutral. Die Substanz wird in 2-proz. wäßriger Lösung von Ammoniumhydroxyd während 24 Stdn. bei 20° in geringem Grad (zu einigen Prozenten) aminolytisch⁵⁾ zu Faktor III gespalten.

Tab. 1. UV-Absorptionsdaten des Faktors III und seiner Phenoläther

Subst.	Rest am phenolischen Hydroxyl des Faktors III	Cyano-Komplex	UV-Absorptionsdaten				Gleichgewicht Phenol \rightleftharpoons Phenolat	
			E 1% 1 cm	Maxima λ in m μ	p_H	p_K	isosbest. Pkt., λ in m μ	
Fakt. III	-H	Mono	$\left\{ \begin{array}{l} 103 \\ 97, 99 \\ 204 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 295 \\ 309, 323 \\ 361 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} < 9 \\ > 10.6 \\ 2-12 \end{array} \right.$	10.1	305	
		Di	$\left\{ \begin{array}{l} 92, 90 \\ 79, 102 \\ 223 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 278, 303 \\ 278, 313 \\ 368 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} < 8.3 \\ > 11 \\ 6-12 \end{array} \right.$	10.2	303	
I		Mono	160, 179	279, 361	2-12	nicht vorhanden		
II		Mono	$\left\{ \begin{array}{l} 172, 178 \\ 141, 208 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 279, 361 \\ 280, 361 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} < 2.3 \\ > 4.6 \end{array} \right.$	3.7	322.5	
III		Mono		274, 361	6	unter 2.7		
IV		Mono	198, 207	279, 361	2-12	nicht vorhanden		
V	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	Mono	99, 197	294, 361	2-12	nicht vorhanden		
		Di	$\left\{ \begin{array}{l} 91, 84, \\ 209 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 278, 301, \\ 368 \end{array} \right.$	6-12			
VI	-CH ₂ ·CH ₂ OH	Mono	103, 103 200	280, 291, 361	2-12	nicht vorhanden		
VII	-CH ₂ ·CH:CH ₂	Mono	102, 103 200	282, 293, 361	2-12	nicht vorhanden		
		Di	$\left\{ \begin{array}{l} 92, 84, \\ 215 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 278, 301, \\ 368 \end{array} \right.$	6-12			

Bei der Einwirkung von 1,5-Difluor-2,4-dinitro-benzol auf Faktor III unter ähnlichen Bedingungen erhält man den 2,4-Dinitro-5-hydroxy-phenyläther des Faktors III (II) in roten Nadeln. Ein Fluoratom wurde also abgespalten und durch Hydroxyl

⁵⁾ Vgl. hierzu H. ZAHN und R. KOCKLÄNNER, Z. analyt. Chem. 141, 183 [1954].

ersetzt. Die Ausbeute ist hier geringer als bei I, da die Reaktion in zwei Richtungen verläuft: Neben dem kristallisierbaren Phenoläther II bildet sich noch ein weiteres rotgefärbtes, nicht kristallisierbares Produkt, das sich während der Chromatographie in der Cellulosesäule (Entwickler: sek.-Butanol + 20% Wasser + HCN) mit dem R -Wert 0.56 bewegt (Faktor III hat den R -Wert 0.1, II den R -Wert 0.42). Dieser Faktor wurde bisher nicht näher untersucht. Der Strukturbeweis für II wurde auf folgende Weise erbracht: Beim Abbau von II mit Perchlorsäure entsteht Faktor B. Vitamin B₁₂ selbst reagiert nicht mit 1.5-Difluor-2.4-dinitro-benzol. Daraus ergibt sich, daß der Substituent am phenolischen Hydroxyl der Benzimidazol-Komponente haftet. Das Absorptionsspektrum von II (Tab. 1) ist p_H -abhängig, die phenolische Gruppe ist bei p_H 3.7 bereits zu 50% dissoziiert (Tab. 1). Der p_K -Wert, die Lage des isosbestischen Punktes und der gesamte Wechsel der Absorptionswerte, abhängig vom p_H und der Wellenlänge, entsprechen der Erwartung.

Da der 2.4-Dinitro-5-hydroxy-phenyl-Rest mit dem Benzimidazol-Anteil veräthert, also nicht konjugiert ist, sollte sich das Absorptionsspektrum des gesamten Moleküls aus den Spektren von Faktor III⁶⁾ und von 2.4-Dinitro-phenol ungefähr additiv zusammensetzen. Ein Vergleich der Absorptionsspektren von II und 2.4-Dinitro-phenol bestätigt diese Auffassung. In wäßriger Lösung besitzt 2.4-Dinitro-phenol den p_K -Wert 3.9 (spektrophotometrisch bestimmt) und einen isosbestischen Punkt bei 325.5 $m\mu$, also Werte, die bei II wiedergefunden werden (vgl. Tab. 1). Die Absorptionsmaxima von 2.4-Dinitro-phenol liegen für die Phenolform bei 261 $m\mu$ und für die Phenolatform bei 261 und 360 $m\mu$ (eine breite Bande im Bereich von 330–430 $m\mu$). Infolge der kräftigen breiten Absorptionsbande im Bereich von 330–430 $m\mu$ bei p_H -Werten über 3.7 sind die neutralen und alkalischen Lösungen von II orangegelb, stärker saure Lösungen (p_H unter 3.7) rein rot gefärbt. Übereinstimmend mit den spektrophotometrischen Befunden bewegt sich II bei p_H -Werten über 3.7 elektrophoretisch gegen die Anode und ist im darunter liegenden p_H -Bereich neutral. Aus der elektrophoretischen Beweglichkeit ist auf nur eine saure Gruppe zu schließen. II bewegt sich nämlich in 0.1 m Carbonat (p_H 11.0) gleich schnell gegen die Anode wie Faktor III und Faktor B-Monocarbonsäure („Faktor V₁“). Eine aminolytische Spaltung von II durch 2-proz. wäßrige Ammoniaklösung wie bei I wurde nicht beobachtet.

Unter ähnlichen Bedingungen erhält man bei der Einwirkung von 5.5'-Difluor-2.4.2'.4'-tetranitro-diphenyl auf Faktor III eine Substanz, die allerdings nur amorph erhalten werden konnte, die aber gemäß ihren Eigenschaften als 2.4.2'.4'-Tetranitro-5'-hydroxy-diphenyl-(5)-äther des Faktors III (III) anzusehen ist. Auch in diesem Fall muß eine Verseifung des einen Fluoratoms (in 5'-Stellung) stattgefunden haben, was aus den folgenden Eigenschaften zu entnehmen ist. Wäßrige Lösungen von III sind orangegelb gefärbt, ähnlich wie die des Phenoläthers II. Bei der Elektrophorese im geprüften p_H -Bereich 2.7–11 bewegt sich diese Substanz gegen die Anode, sie ist also eine starke Säure (II ist bei p_H 2.7 neutral). Aus der elektrophoretischen Beweglichkeit ist auf nur eine saure Gruppe zu schließen. III wird in wäßriger 2-proz. Ammoniumhydroxydlösung bei 20° während 24 Stdn. zu 20–30% in Faktor III gespalten (Aminolyse). Während der Arylierungsreaktion entsteht auch hier (ähnlich wie bei der

6) W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Angew. Chem. 65, 627 [1953].

Herstellung von II) ein nicht kristallisierendes rotes Reaktionsprodukt, das nicht näher untersucht wurde.

Bei der Einwirkung von Benzylbromid auf II in wäßrigem, schwach alkalischem Milieu (NaHCO_3) erhält man in sehr geringer Ausbeute (ca. 5%, in Gegenwart von Na_2CO_3 noch weniger) neben der nicht umgesetzten Ausgangssubstanz den 2,4-Dinitro-5-benzyloxy-phenyläther des Faktors III (IV) in roten Nadeln. Dieses Produkt ähnelt in seinem Absorptionsspektrum erwartungsgemäß dem Phenoläther I, unterscheidet sich jedoch markant von diesem durch die papierchromatographische Beweglichkeit (s. Tab. 2) und die biologische Aktivität (s. Tab. 3). IV ist in allen p_{H} -Bereichen elektrophoretisch neutral. Vitamin B_{12} reagiert mit Benzylbromid unter gleichen Bedingungen praktisch nicht, und Faktor III gibt hierbei ein anderes Reaktionsprodukt (s. unten). Dies spricht dafür, daß der Benzylrest am phenolischen Hydroxyl von II eingetreten ist.

Tab. 2. Verteilungskoeffizienten und relative R_F -Werte der Phenoläther des Faktors III (im Vergleich mit diesem)

Verteilungskoeffizient = 1 im System n-Butanol/Wasser + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (in % in der wäßr. Phase)
 R_F -Werte in folgenden Entwicklersystemen (aufsteigend, 24 Std. bei Zimmertemperatur):

E = wassergesätt. sek.-Butanol + 0.01 % HCN

G = wassergesätt. sek.-Butanol, gesätt. mit KClO_4 + 0.01 % HCN

I = sek.-Butanol (100 Vol.-Tle.), H_2O (36 Vol.-Tle.), 25-proz. NH_3 -Lösung (14 Vol.-Tle.) + 0.01 % HCN

K = wassergesätt. sek.-Butanol + 1 % Natriumtetraphenylborat + 0.01 % HCN

Subst. Nr.	Verteil.-Koeff. = 1 bei % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Papierchromatogr. Verhalten			Subst. Nr.	Verteil.-Koeff. = 1 bei % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Papierchromatogr. Verhalten		
		Entw.	$R_{\text{B}_{12}}$	R_{FIII}			Entw.	$R_{\text{B}_{12}}$	R_{FIII}
Fakt. III	34.0	E	0.74	1.00	IV	—	E	1.47	2.14
		G	0.71	1.00			G	1.42	2.00
		I	0.72	1.00			I	1.11	1.59
		K	0.46	1.00			K	1.25	2.60
I	16.5	E	1.19	1.62	V	12.5	E	1.32	1.78
		G	1.19	1.79			G	1.34	1.82
		I	1.07	1.46			I	1.07	1.51
		K	1.13	2.43			K	1.14	2.40
II	16.0	E	0.97	1.25	VI	36.0	E	0.68	0.91
		G	0.83	1.14			G	0.67	0.92
		I	0.95	1.33			I	0.76	1.11
		K	0.40	0.64			K	0.40	0.78
III	—	E	1.18	1.53	VII	22.0	E	1.13	1.55
		G	1.18	1.65			G	1.06	1.50
		I	1.06	1.60			I	1.00	1.53
		K	0.63	1.18			K	1.00	1.40

Tab. 3. Mikrobiologische Aktivität von Faktor III und seinen Äthern (bezogen auf Vitamin B_{12} = 100)

Substanz	Fakt. III	Fakt. III _m	Fakt. III _e	I	II	III	IV	V	VI	VII
<i>E. coli</i>	100	100	100	14	0.64	0.53	0.16	100	100	100
<i>L. leichm.</i>	100	100	100	95	36	0.75	0.3	166	150	200
<i>Ochr. malh.</i>	50	93	50	27	0.25	0.38	0.0	0.0	4	60

Faktor III reagiert unter ähnlichen Bedingungen mit Benzylbromid sehr rasch und ergibt den kristallisierten *Benzyläther des Faktors III (V)* in guter Ausbeute (in Gegenwart von Na_2CO_3 ist die Ausbeute höher als in Gegenwart von NaHCO_3). Für die Struktur dieser Verbindung sprechen folgende Beobachtungen: Beim Abbau mit Perchlorsäure erhält man Faktor B. Ferner ist die Substanz in allen der Prüfung zugänglichen p_{H} -Bereichen elektrophoretisch neutral und besitzt ein p_{H} -unabhängiges Absorptionsspektrum (vgl. Tab. 1). Daraus ergibt sich, daß die Benzylgruppe am phenolischen Hydroxyl eingetreten sein muß.

Unter den gleichen Bedingungen gibt Faktor III mit Äthylenbromhydrin (2-Brom-äthanol-(1)) den in roten Nadeln kristallisierenden *2-Hydroxy-äthyläther des Faktors III (VI)*. Dieses Produkt ist in allen p_{H} -Bereichen elektrophoretisch neutral und besitzt ein p_{H} -unabhängiges Absorptionsspektrum (vgl. Tab. 1). Da es beim Abbau mit Perchlorsäure Faktor B ergibt, und da Vitamin B_{12} mit Äthylenbromhydrin unter gleichen Bedingungen nicht reagiert, muß der Hydroxyäthyl-Rest am phenolischen Hydroxyl des Faktors III eingetreten sein.

Allylbromid reagiert mit Faktor III in schwach alkalischem Milieu sehr rasch unter Bildung des *Allyläthers des Faktors III (VII)* in guter Ausbeute. Das in kristallisiertem Zustand erhaltene Produkt ist in allen p_{H} -Bereichen elektrophoretisch neutral und besitzt ein p_{H} -unabhängiges Absorptionsspektrum (vgl. Tab. 1). Der Perchlorsäureabbau des Produktes ergibt Faktor B; Vitamin B_{12} reagiert unter gleichen Bedingungen nicht mit Allylbromid. Das Reaktionsprodukt muß daher der Allylphenoläther des Faktors III sein.

Tab. 2 zeigt die Verteilungskoeffizienten und das papierchromatographische Verhalten der beschriebenen Phenoläther im Vergleich mit Vitamin B_{12} und Faktor III in vier Entwicklersystemen, die sich zur Charakterisierung von „Cobalaminen“ am geeignetsten erwiesen⁷⁾. Es ist deutlich ersichtlich, daß die Wanderungsgeschwindigkeit durch hydrophobe Gruppen (Dinitrophenyl- und Benzylgruppen) beschleunigt, durch die hydrophile Hydroxylgruppe dagegen verlangsamt wird. Die ermittelten relativen R_{F} -Werte stimmen stets mit den theoretisch zu erwartenden überein, was die ermittelte Struktur der betreffenden Derivate weiter stützt.

Folgende nitrierte Fluorderivate des Benzols⁸⁾ bzw. des Benzylchlorids reagieren nicht mit Faktor III: 4-Fluor-3-nitro-benzolsulfonsaures Kalium, *p,p'*-Difluor-*m,m'*-dinitro-diphenylsulfon und 2,2'-Difluor-3,5,3',5'-tetranitro-diphenyl, ferner *o*-Nitro-, *p*-Chlor- sowie *p*-Nitrobenzylchlorid. Benzylchlorid selbst ergibt eine viel schlechtere Ausbeute an V als Benzylbromid.

Die beschriebenen Phenoläther des Faktors III wurden von Frau Dipl. Chem. ELISABETH BECHER auf ihre mikrobiologische Aktivität gegenüber *Escherichia coli* 113-3 und *Lactobacillus leichmannii* 313 im Röhrchentest, gegenüber *Ochromonas malhamensis* Pringsheim im Schütteltest geprüft. Tab. 3 zeigt die gefundenen Aktivitäten im Vergleich mit Faktor III selbst, sowie mit seinem Methyläther (Faktor III_m) und seinem Äthyläther (Faktor III_e). Die gewonnenen Ergebnisse sollen demnächst in größerem Rahmen diskutiert werden.

⁷⁾ W. FRIEDRICH, G. GROSS und K. BERNHAUER, Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta 1956, 134.

⁸⁾ Herrn Prof. Dr. H. ZAHN, Heidelberg, danken wir auch an dieser Stelle für die freundliche Überlassung der Substanzen.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

2.4-Dinitro-phenyläther des Faktors III (I): In eine Mischung von 50 mg Faktor III und 20 g NaHCO_3 in 300 ccm Wasser werden in einem 1 l fassenden Gefäß bei 37° unter lebhaftem Rühren während 4 Stdn. in kleinen Portionen 3 ccm 2.4-Dinitro-fluorbenzol (Handelsprodukt) eingetragen. Anschließend setzt man 100 ccm einer wäßrigen Phenol-Lösung (enthaltend 80% Phenol) hinzu und rührt eine weitere Stunde. Die Lösung wird in der bereits beschriebenen Weise²⁾ auf trockenes Kieselgur-Präparat verarbeitet und dieses auf eine Cellulose-Chromatographier-Säule aufgebracht. Als Entwickler dient eine Mischung von 800 ccm sek.-Butanol, 200 ccm Wasser und 1 ccm einer 10-proz. Blausäurelösung. Es erscheinen zwei Zonen. Die untere, kräftige, rotgefärbte, schnell bewegliche Zone mit dem *R*-Wert 0.348 enthält das Reaktionsprodukt I. Die obere, schwache, rotviolett gefärbte, langsame Zone mit dem *R*-Wert 0.1 enthält unveränderten Faktor III. Sie wird nach Elution der unteren Zone mit sek.-Butanol + 30% Wasser eluiert. Das Eluat der unteren Zone wird mit Äther versetzt und mit Wasser extrahiert. Die wäßr. Lösung, in üblicher Weise auf krist. Produkt verarbeitet, ergibt 43 mg dunkelrote Nadeln von I.

2.4-Dinitro-5-hydroxy-phenyläther des Faktors III (II): In eine Mischung von 50 mg Faktor III und 20 g NaHCO_3 in 300 ccm Wasser werden bei 37° unter lebhaftem Rühren während 4 Stdn. in kleinen Portionen 1.02 g 1.5-Difluor-2.4-dinitro-benzol⁸⁾, gelöst in 6 ccm Methyläthylketon, eingetragen. Die Lösung wird wie im vorhergehenden Versuch aufgearbeitet. Bei der Chromatographie in der Cellulose-Säule mit dem gleichen Entwickler erscheinen drei Zonen:

- A. Eine untere, rotgefärbte, schnell bewegliche Zone mit dem *R*-Wert 0.56.
- B. Eine mittlere, orangegelb gefärbte Zone von II mit dem *R*-Wert 0.42.
- C. Eine obere Zone von unverändertem Faktor III mit dem *R*-Wert 0.1.

Die Eluate werden in üblicher Weise (wie zuvor) verarbeitet. Aus Eluat A erhält man ein amorphes, rotes Pulver. Diese Substanz ist nicht stabil und zersetzt sich unter Bildung von Faktor III. Aus Eluat B erhält man II in Form gut ausgebildeter, roter Nadeln. Ausbeute an reinem kristallisiertem Produkt: 27.1 mg.

2.4.2'.4'-Tetranitro-5'-hydroxy-diphenyl-(5)-äther des Faktors III (III): In eine Mischung von 50 mg Faktor III und 10 g NaHCO_3 in 150 ccm Wasser werden bei 37° unter lebhaftem Rühren während 4 Stdn. in kleinen Portionen 440 mg 5.5'-Difluor-2.4.2'.4'-tetranitro-diphenyl⁸⁾, gelöst in 6 ccm Methyläthylketon, eingetragen. Die weitere Verarbeitung erfolgt wie bei der Darstellung von I. Bei der Chromatographie in der Cellulose-Säule mit dem gleichen Entwickler erscheinen drei Zonen, nämlich a) eine schwache, rote, mit dem *R*-Wert 1.0; b) eine orangegelbe (III) mit dem *R*-Wert 0.42; c) eine rote (Faktor III) mit dem *R*-Wert 0.1. Aus der Zone b) werden nach der üblichen Verarbeitung 15 mg III in amorphen braunroten Flocken gewonnen.

2.4-Dinitro-5-benzoyloxy-phenyläther des Faktors III (IV): In eine Mischung von 10 mg II und 5 g NaHCO_3 in 60 ccm Wasser werden bei 37° unter lebhaftem Rühren während 8 Stdn. in kleinen Portionen 5 ccm Benzylbromid eingetragen. Dann versetzt man mit 20 ccm einer wäßrigen Phenol-Lösung und gewinnt in üblicher Weise die gereinigte Lösung. Diese wird i. Vak. auf ein kleines Volumen eingengt, auf Schleicher & Schüll-Papier Nr. 2071 aufgetragen und bei p_H 6.5 (Phosphatpuffer) der Elektrophorese unterworfen. Es entstehen drei Zonen, nämlich eine neutrale, rote Zone von IV, eine schwach anodisch laufende orangegelbe Zone des nicht umgesetzten II (Hauptmenge) und eine schwache, violett gefärbte, schneller anodisch wandernde Zone eines nicht weiter untersuchten Faktors. Nach Elution und üblicher Reinigung der neutralen roten Zone erhält man das rasch in dunkelroten Nadeln kristallisierende Produkt IV in einer Ausbeute von ca. 5%.

Benzyläther des Faktors III (V): In eine Mischung von 50 mg *Faktor III* und 80 g $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ in 300 ccm Wasser werden bei 37° unter lebhaftem Rühren während 8 Stdn. in kleinen Portionen 24 ccm *Benzylbromid* eingetragen. Die weitere Verarbeitung erfolgt wie bei der Herstellung von I. In der Cellulosepulver-Säule läuft V unter Verwendung des gleichen Entwicklers mit dem *R*-Wert 0.48. Das Produkt kristallisiert in roten Nadeln. Ausbeute an reiner krist. Substanz 35 mg.

2-Hydroxy-äthyläther des Faktors III (VI): 50 mg *Faktor III* werden ebenso, wie vorhergehend beschrieben, mit 24 ccm *Äthylbromhydrin* umgesetzt. Man arbeitet dann wie bei der Darstellung von I auf. Die gereinigte wäßrige Lösung wird i. Vak. auf ein kleines Volumen eingengt, auf Schleicher & Schüll-Papier Nr. 2071 aufgetragen und bei p_H 11 (0.1 *m* Na_2CO_3) der Elektrophorese unterworfen. Abgesehen von geringen Spuren an Nebenprodukten bilden sich zwei Zonen, eine starke, rote, schwach anodisch laufende Zone des unveränderten Faktors III und eine elektrophoretisch neutrale rote Zone von VI. Nach Elution dieser Zone und üblicher Reinigung erhält man das rasch in dunkelroten Nadeln kristallisierende *Produkt VI* in einer Ausbeute von 12 mg.

Allyläther des Faktors III (VII): In eine Mischung von 50 mg *Faktor III* und 80 g $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ in 300 ccm Wasser werden bei 37° unter lebhaftem Rühren während 2 Stdn. in kleinen Portionen 20 ccm *Allylbromid* eingetragen. Die weitere Verarbeitung erfolgt wie bei der Herstellung von I. In der Cellulosepulver-Säule läuft VII unter Verwendung des gleichen Entwicklers mit dem *R*-Wert 0.6. Ausbeute an reiner krist. Substanz (rote Nadeln) 32 mg.

ALFRED DIERICHS und ERICH PREU

BEITRAG ZUR SELBSTKONDENSATION VON DIALKYLPHENYLCARBINOLEN

Aus dem Institut für Organische Chemie und Chemie der Kohle und Öle
an der Bergakademie Freiberg (Sachsen)

(Eingegangen am 31. Januar 1957)

Bei der Einwirkung von konz. Schwefelsäure auf Dimethylphenylcarbinol und ähnliche Carbinole entstehen in hoher Ausbeute substituierte Indanderivate. Bei dieser Cyclodehydratisierung können Zwischenprodukte erhalten werden, die darauf hinweisen, daß diese Reaktion nicht über α -substituierte Styrole verläuft.

Dimethylphenylcarbinol (I) ist durch eine in Gegenwart von organischen Kobaltsalzen fast quantitativ durchzuführende Disproportionierung von Cumylhydroperoxyd und Cumol leicht zugänglich geworden¹⁾. Wir beschäftigten uns in einem anderen Zusammenhange sehr eingehend mit dieser Substanz, worüber bereits berichtet wurde²⁾.

¹⁾ HERCULES POWDER CO. (Erf. E. J. LORAND und J. E. REESE), Dtsch. Bundes-Pat. 917306; C. 1955, 5181.

²⁾ A. DIERICHS und E. PREU, Freiburger Forschungshefte A 51, 109 [1956].