

FRITZ MICHEEL und RICHARD HABENDORFF

## SYNTHESEN VON D-GLUCURONYL-DERIVATEN VON AMINOSÄUREN UND PROTEINEN<sup>1)</sup>

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Münster (Westf.)

(Eingegangen am 23. April 1957)

Aus  $\alpha$ -Aceto-brom-d-glucuronsäure-methylester (V) wird über den 1- $\beta$ -Thiocyanato-2,3,4-triacetyl-d-glucuronsäure-methylester (VI) der N-[1- $\beta$ -d-Glucuronyl-amid]-thioharnstoff (VII) gewonnen. Letzterer wird in das S-Äthyl-N-[1- $\beta$ -d-glucuronyl-amid]-isothioharnstoff-hydrobromid (VIII) übergeführt und dies mit Aminosäuren und Proteinen zu deren d-Glucuronyl-guanidinoderivaten umgesetzt.

Die d-Glucuronsäure ist als Baustein der Kohlenhydratkörper in Kohlenhydrat-Eiweißverbindungen und in biologisch wichtigen Polysacchariden weit verbreitet. Wir haben deshalb Verbindungen von d-Glucuronsäure mit verschiedenen Aminosäuren und Proteinen synthetisiert, bei denen die Bindung zwischen den Partnern durch einen biologisch möglichen Guanidinrest<sup>2)</sup> erfolgt.

Zunächst war es nötig, eine befriedigende Methode zur bequemen Darstellung von reinem d-Glucuronsäureester aus dem nach verschiedenen Methoden anfallenden d-Glucuron (I), der d-Glucuronsäure bzw. ihrer Salze oder aus Gemischen dieser zu haben. Dafür bewährte sich ausgezeichnet das Thallium-d-glucuronat (II), das aus beliebigen Mischungen von d-Glucuron und d-Glucuronsäure in hoher Ausbeute und gut kristallisierend gewonnen werden kann. II kann in Dimethylformamid mit Methyljodid leicht in den d-Glucuronsäure-methylester (III) und letzterer in den  $\alpha$ -bzw.  $\beta$ -Tetraacetyl-d-glucuronsäure-methylester (IV) übergeführt werden.

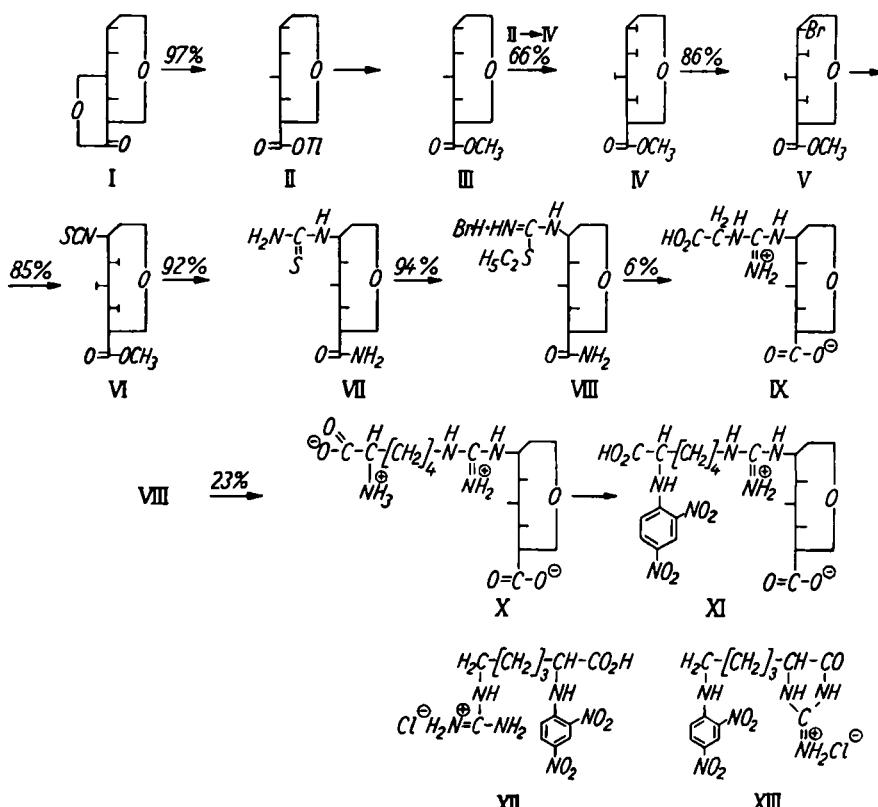
Aus IV entsteht in bekannter Weise die  $\alpha$ -Aceto-bromverbindung V, die mit Silberrhodanid zum 1- $\beta$ -Thiocyanato-2,3,4-triacetyl-d-glucuronsäure-methylester (VI) umgesetzt wird. Aus VI entsteht mit methanolischem Ammoniak unter gleichzeitiger Verseifung der Acetylgruppen und Amidbildung am Carboxyl der N-[1- $\beta$ -d-Glucuronyl-amid]-thioharnstoff (VII). Letzterer wird mit Äthylbromid zum S-Äthyl-N-[1- $\beta$ -d-glucuronyl-amid]-isothioharnstoff-hydrobromid (VIII) veräthert. Dies Salz lässt sich, im Gegensatz zu fast allen von uns bisher hergestellten<sup>2)</sup> dieses Typs, in kristalliner Form gewinnen. Vermutlich ist für die bessere Kristallisationstendenz die Amidgruppe des Glucuronylrestes verantwortlich.

Die Isolierung der Umsetzungsprodukte von VIII mit Aminosäuren gestaltete sich schwierig. Es gelang nur nach mühevollen Reinigungsoperationen unter Verwendung chromatographischer Methoden reine, kristalline Stoffe zu gewinnen. Mit Glykokoll wurde das N-[1- $\beta$ -d-Glucuronyl]-guanyl-glycin (IX) gewonnen. Aus dem DL-Lysin

<sup>1)</sup> Dissertat. R. HABENDORFF, Münster (Westf.) 1956.

<sup>2)</sup> F. MICHEEL, W. BERLENBACH und K. WEICHBRODT, Chem. Ber. 85, 189 [1952]; F. MICHEEL und B. HEROLD, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 293, 187 [1953]; F. MICHEEL und A. HEESING, Liebigs Ann. Chem. 604, 34 [1957].

wurde auf den im Versuchsteil näher beschriebenen Wegen das  $N_{\epsilon}$ -[1- $\beta$ -D-Glucuronyl]-guanyl-lysine (X) dargestellt. Es muß offen bleiben, ob es sich um ein Derivat des D- oder des L-Lysins handelt. Der Drehwert von  $-47.6^{\circ}$ , verglichen mit dem des Glykokollderivates IX von  $-101^{\circ}$ , deutet auf eine Verbindung des L(+)-Lysins. Die Ausbeute von ca. 23 % an reinem X muß mit Rücksicht auf die Bildung des Diastereomeren und von Bisprodukten als gut bezeichnet werden.



Die Konstitution von X ließ sich folgendermaßen beweisen: X wird mit 2,4-Dinitro-1-fluor-benzol zum  $N_{\epsilon}$ -[1- $\beta$ -D-Glucuronyl]-guanyl- $N_{\alpha}$ -DNP\*)-lysine (XI) umgesetzt. Aus letzterem wird durch Hydrolyse mit Säure der D-Glucuronsäurerest abgespalten, und man erhält das  $N_{\epsilon}$ -Guanyl- $N_{\alpha}$ -DNP-lysine (XII). Dies wird papierchromatographisch mit aus dem bekannten  $N_{\epsilon}$ -Guanyl-DL-lysine<sup>3)</sup> mit 2,4-Dinitro-1-fluor-benzol herstelltem identifiziert. Es geht nicht in ein Anhydrid (XIII) über, wie das  $N_{\epsilon}$ -DNP- $N_{\alpha}$ -Guanyl-lysine, das wir aus  $N_{\alpha}$ -Guanyl-DL-lysine-anhydrid-hydrochlorid durch Umsetzen mit 2,4-Dinitro-1-fluor-benzol erhielten.  $N_{\epsilon}$ -DNP- $N_{\alpha}$ -Guanyl-lysine-anhydrid (XIII) ist papierchromatographisch von XII verschieden. Es

\*) DNP = 2,4-Dinitro-phenyl-Rest.

3) C. M. STEVENS und J. A. BUSH, J. biol. Chemistry 183, 141 [1950].

4) Behring-Werke.

ist somit in Übereinstimmung mit früheren Ergebnissen (MICHEEL und HEESING<sup>2)</sup>) gezeigt, daß die  $\epsilon$ -Aminogruppe des Lysins besonders gut mit der Isothioharnstoff-Äthergruppe reagiert.

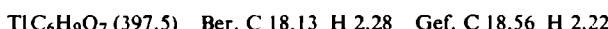
Nunmehr wurde VIII zur Kondensation mit reinem Rinder-Serumalbumin<sup>4)</sup> gebracht. Das in üblicher Weise<sup>2)</sup> hergestellte [1- $\beta$ -D-Glucuronyl]-guanyl-albumin wurde zerlegt in ein in Wasser unlösliches Produkt A (mehr als 80% Ausbeute) und ein in Wasser lösliches Produkt B (mehr als 10% Ausbeute). Bei B handelt es sich (vgl. MICHEEL und HEESING<sup>2)</sup>) offenbar um das Derivat einer bei dem  $p_H = 8.0 - 8.5$  der Kondensation etwas abgebautes Proteinmolekül. Der Gehalt an D-Glucuronsäure-resten wurde nach der Orcinmethode kolorimetrisch bestimmt. (Als Eichsubstanz diente D-Glucuron.) Er lag bei A zwischen 4.0 und 4.3%, bei B zwischen 5.0 und 7.5%.

Für die geldliche Unterstützung der Arbeit danken wir dem WIRTSCHAFTSMINISTERIUM DES LANDES NORDRHEIN-WESTFALEN.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

**Thallium-D-glucuronat (II):** Eine wäbr. Lösung von 3 g D-Glucuron (I) oder einer entsprechenden Menge der Säure oder des Gemisches von Säure und Lacton in 10 ccm Wasser wird mit 10-proz. Thallium(II)-hydroxydlösung gegen Phenolphthalein neutralisiert. Dann wird CO<sub>2</sub> eingeleitet, mit Aktivkohle versetzt und abgesaugt. Die Lösung wird i. Vak. bei 35° zum Sirup eingeengt. Kristallisation tritt spontan ein. Das Salz wird abgesaugt und mit Wasser und Methanol ausgewaschen. Aus den Mutterlaugen wird mit Methanol eine zweite Fraktion erhalten. Ausb. 6.56 g (97% d. Th.). Durch Umkristallisieren aus wenig Wasser mit Methanol erhält man 4.62 g analysenreiner Substanz.

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +11.2°  $\xrightarrow{20 \text{ Stdn.}}$  +12.4° (c = 2.48, in Wasser).



**$\alpha$ - und  $\beta$ -1.2.3.4-Tetraacetyl-D-glucuronsäure-methylester (IV):** 51.5 g trocknes II werden in 100 ccm trockenem Dimethylformamid aufgeschlämmt und 20 ccm *Methyljodid* zugegeben. Nach Zusatz von Glasperlen wird 24 Stdn. auf der Maschine geschüttelt, anschließend vom Rückstand abgesaugt, letzterer mit Methanol ausgewaschen und die vereinigten Lösungen i. Vak. eingedampft. Dann wird das Dimethylformamid i. Hochvak. bei höchstens 30° Badtemperatur ebenfalls abdestilliert. Kleine Mengen von D-Glucuron und D-Glucuronsäure, die nebenher entstehen, werden durch Behandeln des in Wasser gelösten Rückstandes mit Bariumcarbonat (Zusatz von Aktivkohle) entfernt. Man saugt ab, engt die Lösung ein und füllt das Bariumglucuronat mit der 7-10fachen Menge Äthanol. Die vom Niederschlag abgesaugte Lösung wird i. Vak. eingedampft, der Rückstand durch dreimaliges Abdampfen mit Benzol-Alkohol (2:1) völlig getrocknet und der erhaltene Sirup unmittelbar mit *Acetanhydrid-Pyridin* acetyliert. Nach dem Aufarbeiten in üblicher Weise wird ein Kristallisat von 32.55 g (66% d. Th., bezogen auf angewandtes Thalliumsalz) erhalten. Durch Kristallisation aus absol. Äthanol erhält man die noch nicht ganz reinen Isomeren: 11.7 g  $\alpha$ -Form, Schmp. 108-120°, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +92.6° (Chlf.); 17.9 g  $\beta$ -Form, Schmp. 176-179°, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +8.8° (Chlf.). Rest: 2.95 g krist. Gemisch.

Für die Darstellung des 1-*a*-Brom-2.3.4-triacetyl-D-glucuronsäure-methylesters (V)<sup>5)</sup> sind beide Formen gleich gut geeignet. V schmilzt bei 104-106°; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +196.2° (Chlf.: c = 2.6).

<sup>5)</sup> W. F. GOEBEL und F. H. BABERS, J. biol. Chemistry 111, 347 [1935].

*1-β-Thiocyanato-2,3,4-triacetyl-D-glucuronsäure-methylester (VI)*: 15 g *V* und 12.6 g trockenes *Silberrhodanid* werden in 100 ccm absol. Xylol in einer geeigneten Apparatur 1 Stde. bei Siedehitze gerührt. Man setzt etwas Aktivkohle hinzu, saugt heiß ab, wäscht den Niederschlag mit wenig absol. Chloroform aus und gibt jetzt zu den vereinigten Lösungen 200 ccm trockenen Petroläther. Beim Aufbewahren im Kühlschrank scheidet sich *VI* kristallin ab. Ausb. 12.1 g (85% d. Th.). Zur Analyse wird zweimal aus Propanol-(2) umkristallisiert. Aus 2 g wurden erhalten 1.51 g analysenreine Substanz, Schmp. 118–119°.

$C_{14}H_{17}O_9NS$  (375.4) Ber. C 44.79 H 4.57 N 3.73 S 8.54 Acetyl 34.4  $CH_3O$  8.27  
Gef. C 43.5 H 4.57 N 4.13 S 8.47 Acetyl 38.5  $CH_3O$  8.27

*N-(1-β-D-Glucuronyl-amid)-thioharnstoff (VII)*: 10 g *VI* werden in 200 ccm bei 0° mit Ammoniak gesättigtem Methanol gelöst und einige Stunden im Kühlraum aufbewahrt. Beim Entfernen des Ammoniaks i. Vak. fällt die Hauptmenge des Thioharnstoffderivates *VII* krist. aus. Durch Einengen der Lösung wird eine weitere Menge gewonnen. Ausb. 6.28 g (99% d. Th.). Umkristallisiert wird aus Wasser-Äthanol. Ausbeute an Reinstprodukt 3.03 g (91.8% d. Th.); Schmp. 158°.

$C_7H_{13}O_5N_3S$  (251.3) Ber. C 33.46 H 5.22 N 16.73 S 12.78  
Gef. C 33.01 H 4.80 N 16.47 S 12.07

*S-Aethyl-N-(1-β-D-glucuronyl-amid)-isothioharnstoff-hydrobromid (VIII)*: 3 g *VII* werden in 7 ccm Wasser bei 55° gelöst, 7 ccm Äthanol hinzugegeben und sodann ohne Rücksicht auf die entstandene Trübung 4 ccm *Äthylbromid*. Es wird 22 Stdn. am Rückflußkübler im Thermostaten auf 55° erhitzt, nachdem nach 6 Stdn. nochmals 2 ccm *Äthylbromid* zugegeben wurden.

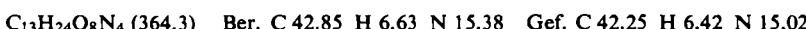
Die Reaktion ist beendet, wenn auf Zusatz von Fehlingscher Lösung lediglich gelbes Kupfermercaptid ausfällt. Dann wird über Kieselgur abgesaugt, mit Äthanol nachgewaschen und die Lösung i. Vak. eingedampft. Zur völligen Trocknung wird einige Male mit 20 ccm absol. Methanol gelöst, 15 ccm Benzol zugegeben und wieder i. Vak. abgedampft. Der Rückstand wird beim Verreiben mit Methanol kristallin. Ausb. 4.09 g (95% d. Th.). Die Umkristallisation aus heißem Methanol mit Zusatz von Äther ist schwierig. Schmp. 180–181°,  $[\alpha]_D^{24}$ : –61.2° (Wasser,  $c = 1.9$ ).

$C_9H_{18}O_5N_3BrS$  (360.2) Ber. C 30.01 H 5.04 N 11.67 Br 22.18 S 8.90  
Gef. C 29.91 H 5.01 N 11.8 Br 22.74 S 8.51

*N-(1-β-D-Glucuronyl)-guanyl-glycin (IX)*: 2 g *VIII* und 0.42 g *Glykokoll* werden in 8 ccm Wasser aufgeschwemmt und mit 11 ccm *n*KOH in Lösung gebracht. Die Lösung wird mit Äther überschichtet und 3 Tage aufbewahrt. Nach Abtrennung des Äthers wird die mit Wasser verdünnte Lösung durch eine Säule (30 × 300 mm) mit Anionenaustauscher Amberlite IRA 400 in der Acetatform geschickt und mit Wasser bis zur negativen Sakaguchi-Reaktion ausgewaschen. Die Abläufe werden durch eine Säule (20 × 300 mm) des gleichen Austauschers in der basischen Form geschickt. Die Säule wird zunächst mit  $\frac{1}{50}$  Essigsäure eluiert. Die hierbei anfallenden amorphen Stoffe konnten in ihrer Konstitution noch nicht geklärt werden. Sodann wird mit  $\frac{1}{10}$  Ameisensäure eluiert. Nach dem Einengen des Lösungsmittels wird mit Äthanol gefällt, wobei etwas Äther zugesetzt wird. Das erhaltene amorphe Rohprodukt (220 mg) wird aus wenig Wasser mit der 9-fachen Menge Methanol kristallin erhalten. Ausbeute an Rohprodukt 100 mg, Uronsäurereaktion positiv, Ninhydrinreaktion negativ, Sakaguchi-Reaktion vor der Hydrolyse negativ, nachher stark positiv; in Wasser wenig löslich, leicht in verdünnten Mineralsäuren und Alkalien. Schmp. 160° (bei 164° Zers.).  $[\alpha]_D$ : –101° (verd. Salzsäure,  $c = 1.11$ ).

$C_9H_{15}O_8N_3 \cdot 1H_2O$  (311.2) Ber. C 34.73 H 5.51 N 13.50  
Gef. C 33.97 H 5.77 N 13.58

*N<sub>E</sub>-[I-β-D-Glucuronyl]-guanyl-lysin<sup>6)</sup> (X):* 3 g *VIII* und 1 g *DL-Lysin-hydrochlorid* werden in 5.7 ccm Wasser und 19.3 ccm *n*KOH gelöst und die Lösung mit Äther überschichtet. Nach 3 Tagen wird der Äther abgetrennt und die auf 100 ccm verdünnte wäßr. Lösung durch eine Anionen-Austauschersäule Amberlite IRA 400 in der OH-Form geschickt. Die Säule wird sodann mit  $\frac{1}{10}$  NaOH bis zur negativen Ninhydrin- und Sakaguchi-Reaktion, anschließend mit Wasser bis zur neutralen Reaktion und dann mit  $\frac{1}{10}$  Essigsäure ausgewaschen. Jeweils 100 ccm werden im Fraktionssammler aufgefangen. Diejenigen, die eine positive Orcin- und Ninhydrin-Reaktion geben, werden vereinigt und i. Vak. eingedampft. Der krist. Rückstand wird abgesaugt, mit 50-proz. Methanol gewaschen und aus Wasser umkristallisiert. Ausb. 24 % d. Th., schwer löslich in Wasser, leicht in verd. Mineralsäuren und Alkalien. Positiv sind folgende Reaktionen: Uronsäure, Ninhydrin, Sakaguchi, letztere ist ohne Vorhydrolyse negativ. Schmp. 217–220° (zugeschmolzenes Rohr).  $[\alpha]_D^{25} = -47.6^\circ$  (verd. Lauge,  $c = 1.05$ ).

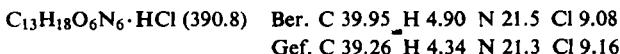


*N<sub>E</sub>-[I-β-D-Glucuronyl]-guanyl-N<sub>α</sub>-DNP-lysin<sup>6)</sup> (XI):* 100 mg *X* werden in 5 ccm Wasser mit NaHCO<sub>3</sub> in Lösung gebracht und zu dieser eine Lösung von 300 mg *2,4-Dinitro-1-fluorbenzol* (DNFB) in 7.5 ccm Äthanol gegeben. Es wird 2 Stdn. geschüttelt und dann bei 30° i. Vak. zur Trockne gedampft. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen, überschüssiges DNFB mit Äther entfernt und anschließend der *pH*-Wert der wäßrigen Lösung auf 2 eingestellt. Das ausfallende DNP-Derivat wird abgesaugt. Eine weitere Menge wird beim Einengen der Mutterlauge gewonnen. Ausb. 158 mg (72.5 % d. Th.). Dies Rohprodukt wird mit Cellulosepulver verrieben und über eine Cellulosepulversäule chromatographisch gereinigt (sek. Butanol/Ameisensäure/Wasser 75:15:10), wobei mit Hilfe eines automatischen Fraktions-sammlers Fraktionen von je 5 ccm aufgefangen werden. Der Gehalt der Lösungen wird spektralphotometrisch an Hand des Absorptionsmaximums der Verbindung bei 320 m $\mu$  ermittelt. Die Hauptfraktionen werden i. Vak. eingedampft und der Rückstand aus Wasser umkristallisiert: schwer löslich in Wasser, Methanol, Äthanol, leicht in verd. Säuren und Alkalien. Schmp. 160°; die Substanz ist papierchromatographisch einheitlich.



*N<sub>E</sub>-Guanyl-I-N<sub>α</sub>-DNP-DL-lysin-hydrochlorid (XII):* 100 mg *N<sub>E</sub>-Guanyl-DL-lysin-hydrochlorid<sup>3)</sup>* werden in 2 ccm Wasser gelöst, die Lösung mit NaHCO<sub>3</sub> versetzt und 200 mg *2,4-Dinitro-1-fluorbenzol* in 5 ccm Äthanol zugegeben. Nach 2 stdg. Schütteln wird i. Vak. eingedampft und der Rückstand in Wasser aufgenommen.

Das Rohprodukt wird durch Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> abgeschieden, abgesaugt und mit Wasser und Äther gut ausgewaschen. Aus 2 n HCl erhält man ein analysenreines Kristallisat. Schmp. 166–168°, Ausb. 117 mg.



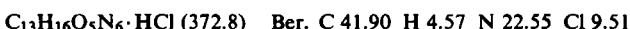
*Chromatographische Identifizierung von XI:* 10 mg *XI* werden in 0.3 ccm 2 nHCl im zugeschmolzenen Rohre 6 Stdn. im siedenden Wasserbade erhitzt. Beim chromatographischen Vergleich erwies sich das Hydrolysat als identisch mit *XII* und verschieden von *XIII*.

*N<sub>E</sub>-DNP-N<sub>α</sub>-Guanyl-DL-lysin-anhydrid-hydrochlorid (XIII):* 100 mg *N<sub>α</sub>-Guanyl-DL-lysin-anhydrid-hydrochlorid<sup>7)</sup>* werden in 2 ccm Wasser gelöst, mit NaHCO<sub>3</sub> versetzt und eine Lösung

<sup>6)</sup> Über die sterische Zugehörigkeit des Lysinrestes siehe den theoret. Teil.

<sup>7)</sup> H. STEIB, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **155**, 292 [1926].

von 200 mg 2,4-Dinitro-1-fluor-benzol hinzugegeben. Weiterverarbeitet und umkristallisiert wird wie bei XII. Ausb. 111 mg; Schmp. 110–113°.



Gef. C 41.86 H 4.36 N 22.03 Cl 9.12

[1-β-D-Glucuronyl]-guanyl-albumin: 0.5 g Rinder-Serumalbumin (Behring-Werke) und 2.0 g VIII werden in 40 ccm Wasser gelöst und der  $p_{\text{H}}$ -Wert mit  $n$  NaOH auf 8.0–8.5 eingestellt. Während der 3-tägigen Aufbewahrung bei 40° wird der  $p_{\text{H}}$  mit  $n$  NaOH nachgestellt (erforderlich ca. 0.3 ccm). Dann wird der  $p_{\text{H}}$ -Wert mit  $n$  HCl auf 6.3 gebracht und die Lösung zunächst dialysiert, zum Schluß elektrodialysiert. Dabei flockt die unlösliche Frakt. A aus (ca. 80%). Aus der Lösung wird durch Eindampfen i. Vak. Frakt. B erhalten (ca. 10%). Die Kohlenhydratbestimmung wird kolorimetrisch nach der Orcinmethode<sup>8)</sup> vorgenommen, wobei die Eichkurve mit D-Glucuron aufgenommen wurde. Das Ausgangsalbumin zeigte einen Kohlenhydratgehalt von 0.5%. Gefunden wurde eine Aufnahme von D-Glucuronsäureresten von:

	Frakt. A (unlöslich)	Frakt. B (löslich)
Präparat I	4.1%	5.0%
II	4.3%	7.5%

Fritz MICHEEL und Götz BAUM

## ÜBER PHENYL-TRIAZOLYL-ZUCKER

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Münster (Westf.).

(Eingegangen am 23. April 1957)

Durch Umsetzen von 1-Azido-zuckern mit Phenylacetylen werden 1-[Phenyl-triazoly]-zucker erhalten. Sie lassen sich mit Alkali nicht in Zuckeranhydride umwandeln.

Für die Bildung von Zuckeranhydriden aus C-1-Derivaten durch Einwirkung von Alkali ist die Ausbildung eines Carbonium-Ions am C-1 einer Aldose nötig<sup>1)</sup>. Es bestehen damit Zusammenhänge mit der Fähigkeit des am C-1 sitzenden Restes, mit Hilfe von Alkali als Anion abgespalten zu werden. Mit Rücksicht auf die aromatische (negative) Natur des Triazolringes haben wir solche Zuckerderivate synthetisiert und auf ihre Befähigung zur Anhydridbildung geprüft. Der Weg ist folgender: 1-β-Azido-2,3,4,6-tetraacetyl-D-glucose<sup>1)</sup> (I) wird mit Phenylacetylen<sup>2)</sup> zur 1-β-[4-Phenyl-1,2,3-triazoly]-2,3,4,6-tetraacetyl-D-glucose (II) kondensiert. An sich wäre auch die Bildung eines 5-Phenyl-triazol-Derivates möglich. Wir bevorzugen hier aus theoretischen Erwägungen die Formel II<sup>3)</sup>. Durch katalytische Verseifung erhält man die 1-β-

<sup>1)</sup> M. SØRENSEN und G. HAUGAARD, Biochem. Z. **260**, 247 [1933]; F. MICHEEL und F.-P. VAN DE KAMP, Chem. Ber. **85**, 1096 [1952].

<sup>2)</sup> F. MICHEEL, A. KLEMER und G. BAUM, Chem. Ber. **88**, 475 [1955], und weitere Arbeiten.

<sup>3)</sup> Wir verdanken ein technisches Phenylacetylen den Chemischen Werken Hüls.

<sup>3)</sup> Vgl. R. HÜTTEL, Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 1680 [1941]; F. MOULIN, Helv. chim. Acta **35**, 167 [1952].