

Durch Einsetzen der mitgeteilten Zahlenwerte in die Formeln (8) oder (8a) lassen sich die Geschwindigkeitskonstanten für die beiden Rückreaktionen auch zahlenmäßig ausrechnen. Man erhält so für die Rückumlagerung des belichteten 4-Amino-azobenzols in Acetylcellulose im Mittel  $k = 0,229 \text{ Min.}^{-1}$ , für die Rückreaktion des belichteten 4'-Chlor-4-dimethylamino-azobenzols in Acetylcellulose  $k = 0,0516 \text{ Min.}^{-1}$ . Die Schwankungen der erhaltenen  $k$ -Werte sind unbedeutend in Anbetracht der Fehlermöglichkeiten bei rascher Photometereinstellung.

Aus den Geschwindigkeitskonstanten wiederum berechnen sich nach der Formel  $\tau = \frac{\ln 2}{k}$  die Halbwertszeiten für 4-Amino-azobenzol zu  $\tau = 3,0 \text{ Min.}$ ; für 4'-Chlor-4-dimethylamino-azobenzol zu  $\tau = 13,5 \text{ Min.}$  Eine Isolierung der labilen Formen dürfte in beiden Fällen kaum möglich sein.

Herrn Prof. Dr. W. Kuhn danken wir für das rege Interesse, das er unserer Arbeit entgegenbrachte, sowie für die wertvolle Unterstützung, die er uns angedeihen liess.

Wissenschaftliche Laboratorien der Gesellschaft  
für Chemische Industrie in Basel,  
Farbstoff-Abteilung.

XVIII. Über das sog. Vitamin A<sub>2</sub>  
von P. Karrer, A. Geiger und E. Bretscher.  
(21. X. 41.)

Schon in einem frühzeitigen Stadium der Vitamin-A-Forschung (1931) beobachteten *Heilbron, Gillam* und *Morton*<sup>1)</sup>, dass manche Leberöle von Fischen bei der Einwirkung von Antimontrichlorid-Chloroformlösung neben den Absorptionsbanden, die dem Vitamin A zugeschrieben wurden (620 und 580 m $\mu$ ), weitere Absorptionsbanden erkennen lassen, insbesondere solche mit den Maxima 693, 680, 656, 645 und 635 m $\mu$ . 1937 konnten dann *Lederer* und *Rosanova*<sup>2)</sup> zeigen, dass die Leberöle vieler Süßwasserfische bei der Ausführung der *Carr-Price*'schen Farbreaktion neben der für Vitamin A (Axerophthol) charakteristischen 620 m $\mu$ -Bande eine solche bei 693 m $\mu$  zeigen, die in manchen Fällen die 623 m $\mu$ -Bande an Intensität weit übertraf. Dasselbe „693-Chromogen“ fand *Wald*<sup>3)</sup> kurz darauf in der Retina vieler Süßwasserfische.

Aus genaueren Messungen von *Lederer, Rosanova, Gillam* und *Heilbron*<sup>4)</sup> ergab sich, dass die Stärke der 693 m $\mu$ -Bande parallel

<sup>1)</sup> Biochem. J. **25**, 1352 (1931).

<sup>3)</sup> Nature **139**, 1017 (1937).

<sup>2)</sup> Biochimia **2**, 293 (1937).

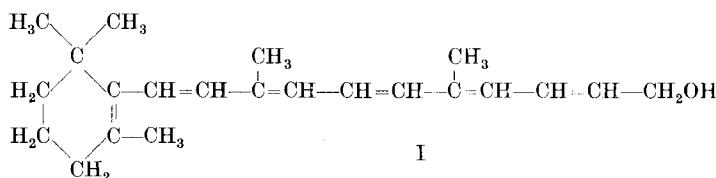
<sup>4)</sup> Nature **140**, 233 (1937).

geht der Stärke einer Absorptionsbande mit Maximum bei 340 bis 350  $m\mu$ , welche die betreffenden Leberöle im Ultraviolett erkennen lassen; dies musste somit die Absorptionsbande des neuen Stoffes sein. Für diesen führten *Edisbury, Morton* und *Simpkins*<sup>1)</sup> den Namen Vitamin-A, ein, der ihm bis heute geblieben ist.

Eine erste genauere Bearbeitung des Vitamins A<sub>2</sub> stammt von *Gillam, Heilbron, Jones und Lederer*<sup>2)</sup>. Diese Forscher fanden in den Ultraviolettspektren zahlreicher Süsswasserfisch-Leberöle die für Vitamin A<sub>2</sub> charakteristische Absorptionsbande zwischen 340 bis 350 m $\mu$ ; die bei der *Carr-Price*'schen Antimontrichloridreaktion auftretende blaue Färbung zeigte Maxima bei 693 m $\mu$  und 610—620 m $\mu$ . Sie charakterisierten das Verhältnis, in denen die Vitamine A und A<sub>2</sub> in den Ölen nebeneinander vorkommen, durch den Quotienten der maximalen Extinktionskoeffizienten für die 693 m $\mu$  und die 620 m $\mu$  Bande, also durch den Ausdruck E 693 m $\mu$ /E 620 m $\mu$ . Dieser Quotient schwankte bei den verschiedenen Leberölen von Süsswasserfischen zwischen 0,5—2,5. Auch bei mehreren Meeresfischen wurde die Anwesenheit von Vitamin A<sub>2</sub> festgestellt; der Quotient der Chromogene 693/620 m $\mu$  lag hier aber nur in der Größenordnung 0,15—1. Die besten, aus den Lebern der Süsswasserfische *Acipenser stellata*, *Silurus glanis*, *Abramis brama* und *Lucioperca lucioperca* gewonnenen Präparate besaßen folgende Extinktionskoeffizienten:

Ultraviolettspektren . . . . .	E 344 m $\mu$ 850	E 285 m $\mu$ 560
<i>Carr-Price</i> -Reaktions-Spektrum . . .	E 697 m $\mu$ 2600	E 620 m $\mu$ 1200

Versuche, die *Gillam, Heilbron, Jones* und *Lederer* ausführten, um die beiden Vitamine durch Destillation im Hochvakuum oder durch Chromatographie zu trennen, misslangen. Aus den Ergebnissen des Abbaus dieser aus den Faktoren A und A<sub>2</sub> bestehenden Präparate mit Ozon, der gewisse Mengen Geronsäure ergab, glaubten die Autoren für Vitamin A<sub>2</sub> die Formel eines Homologen des Vitamins A mit 6 Äthylenlücken ableiten zu dürfen:



Sie geben weiterhin an, dass das Chromogen 693 (Vitamin A<sub>2</sub>) im Rattenversuch zur Vitamin-A-Wirkung beiträgt. Hierzu muss bemerkt werden, dass die Bildung von Geronsäure aus Gemischen der Vitamine A<sub>2</sub> und A Schlussfolgerungen über die Struktur des A<sub>2</sub>-Faktors kaum zulässt, da Vitamin A bekanntlich beim Abbau

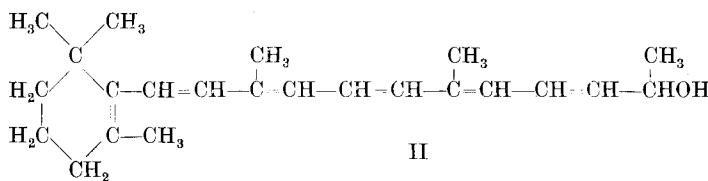
<sup>1)</sup> Nature 140, 234 (1937); Biochem. J. 32, 118 (1938).

<sup>2)</sup> Biochem. J. **32**, 405 (1938).

mit Ozon auch Geronsäure ergibt und die Ausbeute an dieser Verbindung verhältnismässig gering ist.

In einer etwas später veröffentlichten Arbeit kamen *Lederer* und *Rathmann*<sup>1)</sup> zu der Auffassung, dass die bei der *Carr-Price*-Reaktion beobachtete Bande  $620 \text{ m}\mu$  nur zum Teil auf Vitamin A, zum anderen auf Vitamin  $A_2$  zurückzuführen sei. Sie sind der Ansicht, dass Vitamin  $A_2$  mit Antimontrichlorid ein zweibandiges Spektrum gibt mit Absorptionsmaxima bei  $693$  und  $650 \text{ m}\mu$ ; bei gleichzeitiger Anwesenheit von Vitamin A würde die Bande  $650 \text{ m}\mu$  mit derjenigen von A, d. h.  $620 \text{ m}\mu$ , zusammenwachsen. Aus Messungen und Rechnungen schliessen die Verfasser, dass in Konzentraten, die reich sind an Vitamin  $A_2$  ( $E 695 \text{ m}\mu/E 620 \text{ m}\mu = 3$ ) beinahe die Hälfte der Absorption bei  $620 \text{ m}\mu$  auf Vitamin  $A_2$  zurückzuführen sei und dass für reines Vitamin  $A_2$  der Quotient  $E 695/E 620 \text{ m}\mu$  zwischen  $6$  und  $8$  liegen müsste.

Die von *Gillam, Heilbron, Jones* und *Lederer* aufgestellte Konstitutionsformel I für Vitamin A<sub>2</sub> hat in der Folgezeit gewisse Zweifel geweckt. *P. Karrer, Rüegger* und *Geiger*<sup>2)</sup> haben aus dem Vergleich der Absorptionsspektren verschiedener Apo-carotinole mit denjenigen der Vitamine A und A<sub>2</sub> die Schlussfolgerung gezogen, dass eine Verbindung von der Konstitution I ein Absorptionsmaximum bei ca. 356—358 m $\mu$  besitzen sollte, während dasjenige des Vitamins A<sub>2</sub>, bedeutend kurzwelliger, bei ca. 345 m $\mu$  liegt. Diese Voraussage hat später eine Bestätigung erfahren, indem *Heilbron, Johnson* und *Jones*<sup>3)</sup> bei einem synthetisch hergestellten Alkohol der Carotinreihe mit 6 konjugierten Doppelbindungen, dem die Formel II zukommt



das Absorptionsmaximum bei  $355 \text{ m}\mu$  feststellten. — Weiterhin spricht gegen die Formel I für Vitamin A<sub>2</sub> nach *E. Le B. Gray*<sup>4)</sup> der Umstand, dass der Siedepunkt von Vitamin A<sub>2</sub> im höchsten Vakuum nur ca.  $3^\circ$  höher liegt als derjenige von Vitamin A, während sich aus einem grösseren Vergleichsmaterial die Schlussfolgerung ziehen liess, dass das Hinzutreten einer neuen  $-\text{CH}=\text{CH}-$ Gruppe den Siedepunkt wesentlich mehr (über  $10^\circ$ ) erhöhen müsste. *Gray* zieht daher für Vitamin A<sub>2</sub> die Formulierung III in Betracht, die dasselbe

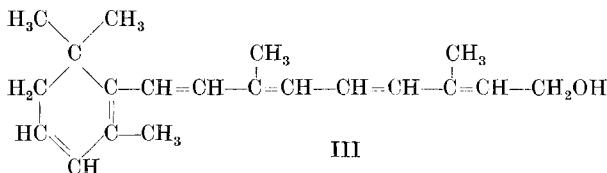
<sup>1)</sup> Biochem. J. **32**, 1252 (1938).

<sup>2)</sup> *Helv.* **21**, 1171 (1938).

<sup>3)</sup> Soc. 1939, 1560.

<sup>4)</sup> J. Biol. Chem. **131**, 317 (1939); Gray und Cawley, J. Biol. Chem. **134**, 397 (1940).

Kohlenstoffgerüst wie Vitamin A aufweist, im Kohlenstoffring aber eine konjugierte Doppelbindung mehr enthält:



Für diese Formulierung gilt aber zunächst derselbe Einwand wie gegen I, dass nämlich das beobachtete Absorptionsspektrum des Vitamins  $A_2$  um 10—15  $m\mu$  kurzwelliger liegt, als diese Formel erwarten lässt.

Unsere eigenen Untersuchungen haben wir mit Ölen von Weissfischlebern (*Squalius leuciscus*, *Leuciscus rutilus*, *Alburnus alburnus*) insbesondere aber mit solchen aus Hechtlebern ausgeführt, weil in letzteren das Verhältnis der Faktoren  $A_2$  zu A für Vitamin  $A_2$  verhältnismässig günstig liegt. Der unverseifbare Rückstand wies nach der Abtrennung der Hauptmenge der Sterine bei der *Carr-Price*-Reaktion z. B. einen Quotienten  $E\ 693\ m\mu/E\ 620\ m\mu$  von 2,17 auf mit den Extinktionskoeffizienten  $E\ 693\ m\mu = 650$  und  $E\ 623 = 300$ .

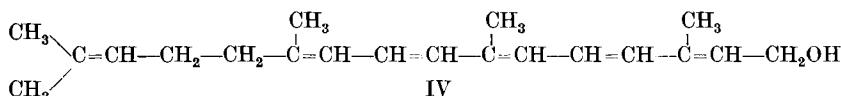
Obwohl, wie erwähnt, früheren Bearbeitern des  $A_2$ -Faktors eine Reinigung durch Chromatographie nicht gelungen war, haben wir solche Versuche erneut aufgenommen. Als Adsorptionsmittel verwendeten wir teils Calciumhydroxyd, teils Fasertonerde. Durch Calciumhydroxyd gelang die Abtrennung der Hauptmenge der Sterine und Sterin-ähnlichen Begleiter, sowie insbesondere diejenige eines roten Öls, während die Chromatographie an Fasertonerde zu einer wenigstens teilweisen Trennung der Vitamine A und  $A_2$  führte. Der  $A_2$ -Faktor wird etwas stärker adsorbiert und reichert sich daher im oberen Teil der Adsorptionssäule an, während die unteren Schichten zunehmend reicher an Vitamin A werden. Eine vollständige Trennung der beiden Verbindungen ist uns aber auch noch nicht gelückt, dafür müssen grössere Materialmengen eingesetzt werden als sie uns bisher zur Verfügung standen. In unseren Vitamin  $A_2$ -reichsten Fraktionen betrug der Quotient der Extinktionskoeffizienten für die  $693\ m\mu$  und die  $620\ m\mu$  Bande, d. h.  $E\ 693\ m\mu/E\ 620\ m\mu$  ca. 3,5, was ungefähr demselben Verhältnis 3,5 : 1 für die Vitamine  $A_2$  : A entsprechen würde, sofern für die Bande  $620\ m\mu$  Vitamin A allein verantwortlich ist. Dies scheint uns trotz der gegenteiligen Ansicht von *Lederer* und *Rathmann*<sup>1)</sup> wahrscheinlich zu sein; denn die Bande  $650\ m\mu$ , die von den genannten Autoren dem Vitamin  $A_2$  zugeschrieben wird und beim Vorliegen von Mischungen der Vitamine  $A_2$  und A die Absorptionsbande 620 des letzteren verstärken

<sup>1)</sup> Biochem. J. 32, 1252 (1938).

soll, konnten wir in den chromatographierten,  $A_2$ -reichen Fraktionen nie beobachten, wohl aber trat sie in einer Chromatogramm-Fraktion auf, die geringes Adsorptionsvermögen besitzt und sich daher in den untersten Schichten des Chromatogramms vorfand oder in das Filtrat gewaschen wurde. Es scheint sich hier somit um ein anderes Chromogen zu handeln.

Die absoluten Mengen der Vitamine  $A_2$  und A, die sich in den chromatographierten Fraktionen vorfanden, lassen sich annähernd durch Messung der Absorptionskoeffizienten für die Wellenlängen  $693 \text{ m}\mu$  und  $620 \text{ m}\mu$ , die bei der Antimontrichloridreaktion auftreten, bestimmen. Für reines Vitamin A beträgt  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  für  $620 \text{ m}\mu = 5000^1)$ ; ähnlich dürfte vermutlich der Absorptionskoeffizient bei dem nahe verwandten Vitamin  $A_2$  für die Wellenlänge  $693 \text{ m}\mu$  liegen. Unsere durch chromatographische Reinigung erhaltenen Fraktionen wiesen für die genannten beiden Wellenlängen  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ -Werte auf, deren Summe zwischen 2000 und 4100 schwankte (z. B.  $E_{1\text{cm}}^{1\%} 693 \text{ m}\mu = 1450$ ,  $E_{1\text{cm}}^{1\%} 620 \text{ m}\mu < 500$ , oder  $E_{1\text{cm}}^{1\%} 693 \text{ m}\mu = 1700$ ,  $E_{1\text{cm}}^{1\%} 620 = 2400$  usw.). Solche Präparate bestanden somit zu 40—80% aus den Vitaminen A und  $A_2$ ; sie sind nicht hochwertiger als die besten von *Gillam, Heilbron, Jones* und *Lederer*<sup>2)</sup> beschriebenen Fraktionen. Trotzdem erwiesen sie sich als geeignet, die Konstitution des sog. Vitamins  $A_2$  erneut zu überprüfen.

Der Umstand, dass die Absorptionsbande des Vitamins  $A_2$  gegenüber derjenigen des Vitamins A nur um ca. 15—17  $\text{m}\mu$  nach dem Langwelligen verschoben ist, andererseits die Siedepunkte beider Verbindungen sehr nahe liegen, weckten bei uns die Vermutung, Vitamin  $A_2$  könnte Formel IV entsprechen, die sich zu derjenigen des Vitamins A wie die Formel des Lycopins zu jener des  $\beta$ -Carotins verhält:



Für eine solche Verbindung, die eine nicht in Konjugation stehende Doppelbindung mehr enthält als Vitamin A, ist im Ultraviolet ein Absorptionsmaximum von ca.  $345 \text{ m}\mu$  zu erwarten, ferner im höchsten Vakuum ein um wenige Grade erhöhter Siedepunkt. Wir prüften also unsere Vitamin  $A_2$ -Präparate, ob sie beim Abbau mit Ozon Aceton geben, und konnten dieses dabei in allen untersuchten Präparaten tatsächlich feststellen und als p-Nitrophenylhydrazone isolieren. Quantitative Messungen ergaben, dass die gefundenen Acetonmengen ca. 50—70% der theoretisch mög-

<sup>1)</sup> R. A. Morton, The Application of Absorption Spectra to the Study of Vitamines and Hormones. London (Adam Hilger Ltd.) S. 22.

<sup>2)</sup> Biochem. J. 32, 405 (1938).

lichen betrugen, wobei der Vitamin A<sub>2</sub>-Gehalt annähernd durch spektroskopische Messung ermittelt worden ist (unter Zugrundeliegung der Werte E<sub>1cm</sub><sup>1%</sup> 345 = ca. 1700, E<sub>1cm</sub><sup>1%</sup> 693 = ca. 5000).

Beispiel: Ein Vitamin A<sub>2</sub>-Präparat mit ca. 0,14 g Vitamin A<sub>2</sub> lieferte bei der Ozonisierung in reinstem Eisessig, dem 10% Wasser zugesetzt waren, 18,5 mg Aceton. Theoretisch berechnen sich auf Grund der Formel IV (Mol.-Gew. 286) 29 mg Aceton; Ausbeute daher ca. 63% Aceton.

Wir haben uns selbstverständlich durch Blindversuche vergewissert, dass alle Reagentien frei von Aceton liefernden Substanzen waren; ferner haben wir Vitamin A-Fraktionen aus Heilbut, die ähnlichen Reinheitsgrad hatten wie unsere verwendeten A<sub>2</sub>-Präparate (Vitamin A-Gehalt 60%), aber frei von Vitamin A<sub>2</sub> sind, ozonisiert und dabei keine Spur Aceton nachweisen können. Mit dem Vorbehalt, den man jeder Schlussfolgerung geben muss, die aus der Untersuchung nicht völlig einheitlicher Verbindungen gezogen wird, halten wir es daher für wahrscheinlich, dass unsere Annahme zu Recht besteht, nach der das sog. Vitamin A<sub>2</sub> der Formel IV entspricht.

In dieser Auffassung werden wir durch weitere Beobachtungen bestärkt. Würde Vitamin A<sub>2</sub> die von *Gray* vorgeschlagene Struktur III besitzen, so müsste es beim Abbau mit Ozon as-Dimethylbernsteinsäure liefern; in gleicher Weise haben *P. Karrer, A. Helfenstein, H. Wehrli und A. Wettstein*<sup>1)</sup> s. Z. aus Xanthophyll beim Abbau mit Ozon diese Säure erhalten. Aus unseren Vitamin A<sub>2</sub>-Präparaten konnte indessen as-Dimethyl-bernsteinsäure nicht gewonnen werden, was u. E. die Unrichtigkeit der Formel III für Vitamin A<sub>2</sub> beweist.

Nach allem, was wir heute über den Zusammenhang zwischen Vitamin-A-Wirkung und Konstitution wissen, ist vorauszusehen, dass eine offenkettige Verbindung der Formel IV für Säugetiere keine Vitamin-A-Wirkung besitzen kann. Ob eine Substanz der Formel III vitamin-A-wirksam wäre, erscheint ebenfalls unwahrscheinlich, dagegen müsste sich ein Stoff der Formel I wirksam erweisen. Nun wird zwar behauptet, dass Vitamin A<sub>2</sub>, das in Mischung mit Vitamin A vorliegt, zur A-Wirkung des letzteren beitrage<sup>2)</sup>.

Auf unsere Bitte hat Herr Prof. *H. v. Euler* (Stockholm) zwei Vitamin A<sub>2</sub>-Präparate, deren Vitamin A- und Vitamin A<sub>2</sub>-Gehalt spektrometrisch bestimmt worden war, auf Vitamin A-Wirkung prüfen lassen. Die Versuche haben ergeben, dass die Vitamin-A-Wirkung voll durch den Vitamin A(Axerophthol)-Gehalt allein erklärt werden kann; ein Beitrag zu dieser Wirkung durch Vitamin A<sub>2</sub> scheint nicht zu bestehen. Das Ergebnis steht in Einklang mit der

<sup>1)</sup> *Helv.* **13**, 1084 (1930).

<sup>2)</sup> *Biochem. J.* **32**, 405 (1938).

für den A<sub>2</sub>-Faktor vorgeschlagenen Konstitutionsformel IV. Wir sind daher der Ansicht, dass das sog. Chromogen 693 m $\mu$  oder Vitamin A<sub>2</sub> für Säugetiere kein Vitamin ist, jedenfalls nicht Vitamin-A-Wirkung besitzt. Es ist natürlich möglich, dass es für Fische eine besondere Bedeutung hat.

*Morton* und *Creed*<sup>1)</sup> haben nachgewiesen, dass Süßwasserfische, die mit Carotin gefüttert werden, in der Leber neben Vitamin A beträchtliche Mengen Vitamin A<sub>2</sub> enthalten, dass diese beiden Stoffe somit aus dem Carotin hervorgehen können. Die Überführung des Axerophtols in Vitamin A<sub>2</sub> erfordert lediglich die Öffnung des Jonon-Kohlenstoffringes, die man dem lebenden Organismus ebenso gut wie die Ring-Schliessung zutrauen darf.

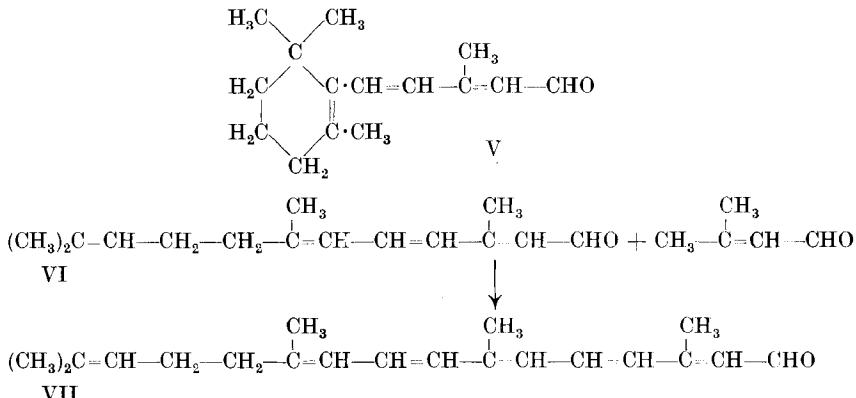
Es ist beabsichtigt, die Trennung der beiden A-Faktoren durch chromatographische Methoden weiterzuführen, sobald es gelungen ist, die dafür notwendigen Leberöle geeigneter Süßwasserfische in ausreichenden Mengen zu beschaffen. Inzwischen wurden einige Vorstösse in synthetischer Richtung unternommen, obwohl die Aussichten für die künstliche Darstellung einer Verbindung IV ebenso schlecht liegen wie diejenigen für die Synthese des Axerophtols.

*Barraclough, Batty, Heilbron und Jones*<sup>2)</sup> haben den  $\psi$ -Jonylidene-acetaldehyd (Formel VI) beschrieben, den sie aus Citral und  $\beta$ -Methyl-crotonaldehyd erhielten und durch ein krystallisiertes Semicarbazon charakterisierten. Das bei dieser Kondensation erhaltene und durch Destillation fraktionierte Produkt ist indessen kein reiner  $\psi$ -Jonylidene-acetaldehyd; die Kohlenstoffwerte fallen 2—3% zu niedrig aus. Es gelingt dagegen, daraus in schlechter Ausbeute ein krystallisiertes Semicarbazon abzuscheiden, das die von *Heilbron* und Mitarbeitern beschriebenen Eigenschaften besitzt. Die Rückgewinnung des  $\psi$ -Jonylidene-acetaldehyds aus dem krystallisierten Semicarbazon ist indessen bisher in befriedigender Weise nicht gelungen. Wir versuchten daher, den flüssigen  $\psi$ -Jonylidene-acetaldehyd durch Chromatographie (an Aluminiumoxyd) zu reinigen. Die Analysenergebnisse liessen sich dadurch verbessern, doch lagen die C-Werte immer noch zu tief. Auch die chromatographierten Präparate sind sicher noch uneinheitlich.

Obwohl dem einen von uns mit *A. Rüegger*<sup>3)</sup> die analoge Kondensation des  $\beta$ -Jonylidene-acetaldehyds (Formel V) mit  $\beta$ -Methyl-crotonaldehyd zu Vitamin-A-aldehyd (Aixerophtol-aldehyd) nicht gelungen war, führten wir doch entsprechende Kondensationsversuche mit dem unreinen  $\psi$ -Jonylidene-acetaldehyd und Methyl-crotonaldehyd aus, in der Hoffnung, den Aldehyd VII und daraus den Alkohol IV zu erhalten.

<sup>1)</sup> Biochem. J. **33**, 318 (1939).

<sup>2)</sup> Soc. **1939**, 1549. <sup>3)</sup> Helv. **23**, 284 (1940).



Als Kondensationsmittel wurde einerseits Natriumamid, andererseits essigsäures Piperidin angewandt. Im ersteren Fall bildeten sich keine Verbindungen, die mit Antimontrichlorid Grün- oder Blaufärbung gaben. Das mit Piperidin erzeugte Kondensationsprodukt färbte sich mit Antimontrichlorid-Chloroformlösung grün, nach der Reduktion mit Aluminiumisopropylat blau. Bei der chromatographischen Aufteilung des Reduktionsproduktes zeigte es sich, dass dieses — wie bei den entsprechenden Versuchen mit  $\beta$ -Jonyliden-acetaldehyd — aus vielen verschiedenen Verbindungen bestand, die bei der *Carr-Price*'schen Antimontrichloridreaktion viele verschiedene Banden erkennen ließen, unter denen jedoch die für Vitamin A<sub>2</sub> typische Bande bei 693 m $\mu$  fehlte. Einige dieser Stoffe müssen durch Selbstkondensation des  $\beta$ -Methyl-crotonaldehyds entstanden sein, da die gleichen Banden (657 m $\mu$ , 473 m $\mu$ ) auch beobachtet wurden, wenn man  $\beta$ -Methyl-crotonaldehyd allein mit Piperidin kondensierte und das Reaktionsgemisch nachher mit Aluminiumisopropylat reduzierte.

Herrn Prof. *H. v. Euler* danken wir herzlich für Ausführung der oben erwähnten Tiersuche. Ferner sprechen wir der *Jubiläumsspende an der Universität Zürich* für die Unterstützung unserer Arbeit unseren besten Dank aus.

## Experimentelles.

## 1. Zur chromatographischen Reinigung der Leberöle.

Wie in der Einleitung ausgeführt wurde, haben wir die unverseifbaren Anteile der verwendeten Süßwasserfisch-Leberöle zuerst an einer Säule von Calciumhydroxyd chromatographiert (in Petrolätherlösung, Waschflüssigkeit Petroläther). Feste Anteile von Sterin-Charakter reicherten sich dabei in den obersten Fraktionen des Chromatogramms an und im Durchlauf sammelten sich rote, ölige Verbindungen. Die mittleren Schichten des Chromatogramms, in denen von oben nach unten der Anteil des Vitamins A<sub>2</sub> allmählich abnahm, während derjenige des Vitamins A anstieg, haben wir

hierauf aus Petrolätherlösung an Fasertonerde chromatographiert. Nach der willkürlichen Aufteilung des Chromatogramms in mehrere Schichten wurden diese getrennt eluiert und in jeder Fraktion die Extinktionskoeffizienten für die Wellenlängen  $693 \text{ m}\mu$  und  $620 \text{ m}\mu$  bei der *Carr-Price'schen* Antimontrichloridreaktion ermittelt. Die Fraktionen, welche sich am reichsten an dem Chromogen  $693 \text{ m}\mu$  erwiesen, wurden hierauf einer dritten chromatographischen Trennung an Fasertonerde unterzogen.

Über den Gehalt einiger solcher Fraktionen an den Vitaminen  $A_2$  und A haben wir oben Angaben gemacht. Als Beispiel der Absorptionsspektren der mit Antimontrichlorid erzeugten Blaufärbung solcher Präparate möge Figur 1 dienen. Kurve II entspricht einer unteren Schicht aus dem Chromatogramm, in der Vitamin A gegenüber Vitamin  $A_2$  stark überwiegt (Extinktionskoeffizient für  $624 \text{ m}\mu$  > als für  $693 \text{ m}\mu$ ); Kurve I stellt das Spektrum einer im Chromatogramm höher liegenden Fraktion mit starker Ausprägung der Vitamin  $A_2$ -Bande dar, während die Vitamin A-Bande nur noch andeutungsweise erkennbar ist.

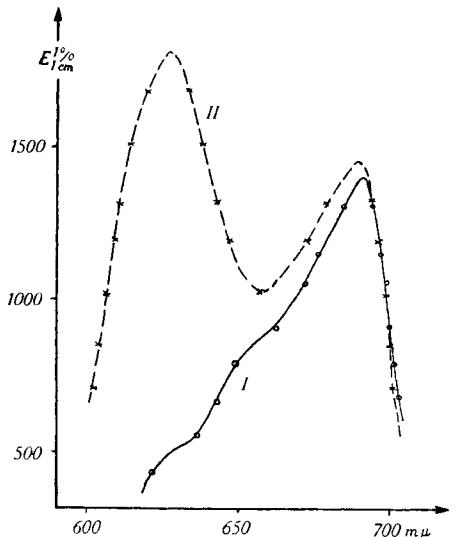


Fig. 1.

Absorptionsspektren der Blaufärbungen, hervorgerufen durch Einwirkung von Antimontrichlorid auf Präparate mit Vitamin-A- und Vitamin- $A_2$ -Gehalt.

Vitamin  $A_2$  ist übrigens so wenig wie Vitamin A bei der Chromatographierung völlig beständig; bei Wiederholungen der Trennungsoperation treten Verluste auf, wahrscheinlich als Folge oxydativer Zerstörung der luftempfindlichen Substanzen. Besonders gross werden die Verluste, wenn mit kleinen Substanzmengen gearbeitet wird.

2. Abbau Vitamin A<sub>2</sub>-reicher Präparate mit Ozon.

Beim Abbau der Präparate mit Ozon wurde die von *Karrer* und Mitarbeitern<sup>1)</sup> beim Abbau des Lycopins mit Ozon benutzte Methode angewandt, die l. c. genau beschrieben ist. Die quantitative Acetonbestimmung erfolgte in einem aliquoten Teil des Aceton-haltigen Destillates jodometrisch (*Goodwin*<sup>2)</sup>). Der Rest des acetonhaltigen Destillates diente zur Darstellung des Aceton-p-nitrophenylhydrazons, das sich gut krystallisiert abschied.

Der Abbau mit Ozon wurde 3 mal mit verschiedenen Vitamin A<sub>2</sub>-Präparaten durchgeführt und in allen Fällen Aceton erhalten. Bezüglich der Ausbeute vergleiche oben.

Zum Nachweis evtl. vorhandener as-Dimethyl-bernsteinsäure haben wir nach dem Verkochen der Ozonide mit Wasser und Abdestillieren des Acetons den Rückstand mit Schwefelsäure kongosauer gemacht und 8 mal mit Äther ausgezogen. Der nach dem Verdampfen des Äthers zurückbleibende Rückstand wurde 3 mal mit Wasser ausgelaugt, die wässerigen Extrakte filtriert und zur Trockene eingedampft. In diesem Rückstand müsste die allenfalls gebildete Dimethyl-bernsteinsäure enthalten sein. Er wurde mit wenig heissem Benzol gelöst und die Lösung längere Zeit bei niederer Temperatur aufbewahrt; trotz Impfen mit as-Dimethyl-bernsteinsäure erfolgte keine Krystallisation. Da diese Verbindung unter den beschriebenen Bedingungen sehr leicht krystallisiert, beweist der negative Ausfall des Versuches eindeutig, dass die Verbindung beim Abbau des Vitamins A<sub>2</sub> mit Ozon nicht gebildet wird.

3. Versuche mit  $\psi$ -Jonyliden-acetaldehyd.

Die Darstellung der Verbindung geschah nach *Heilbron* und Mitarbeitern<sup>3)</sup>. Wie einleitend beschrieben wurde, ist der durch fraktionierte Destillation erhaltene Aldehyd nicht rein, ebensowenig ein Präparat, das nachträglich noch mit Wasserdampf destilliert worden war.

C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	Ber. C 82,57	H 10,09%
	Gef. „ 80,29; 79,87	.. 10,30; 9,99%

Semicarbazone Smp. 176—177°. Ausbeute aus 1 g rohem Aldehyd nur 0,2 g.

C <sub>16</sub> H <sub>25</sub> ON <sub>3</sub>	Ber. C 69,76	H 9,17%
	Gef. „ 69,60	.. 9,14%

Die chromatographische Reinigung des  $\psi$ -Jonyliden-acetaldehyds aus Petrolätherlösung an einer Aluminiumoxydsäule verbesserte die Analysenergebnisse etwas. Die Entwicklung des Chromatogramms erfolgte mit einer Mischung von Petroläther und 25% Benzol. Die

<sup>1)</sup> *Helv.* **14**, 435 (1931).

<sup>2)</sup> *Am. Soc.* **42**, 39 (1920).

<sup>3)</sup> *Soc.* **1939**, 1549.

besten Präparate fanden sich in den untersten Schichten des Chromatogramms. Analysen verschiedener Präparate:

$C_{15}H_{22}O$	Ber. C 82,57	H 10,09%
	Gef. „ 82,04; 81,74	„ 10,10; 10,20%

Siedepunkt solcher Fraktionen 115—125 (0,01 mm Druck). Auch diese Präparate sind nicht einheitlich.

Die Kondensationsversuche des  $\psi$ -Jonyliden-acetaldehyds mit  $\beta$ -Methyl-crotonaldehyd wurden teils mit Natriumamid, teils mit Piperidin und Essigsäure als Katalysator durchgeführt.

a) Kondensation mit Natriumamid: 1,9 g  $\psi$ -Jonyliden-acetaldehyd und 0,8 g  $\beta$ -Methyl-crotonaldehyd in 7 cm<sup>3</sup> trockenem Äther wurden mit 0,06 g pulverisiertem Natriumamid versetzt und die Reaktionsmischung in einem zugeschmolzenen evakuierten Rohr 20 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Hierauf schüttelte man die Lösung mit 0,02-n. Schwefelsäure, verdünnter Bicarbonatlösung und Wasser durch. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels blieb ein orange gefärbtes Öl zurück, welches mit Antimontrichlorid in Chloroform eine kupferrote Farbreaktion zeigte. Im Spektroskop waren Banden bei 657 und 516 m $\mu$  sichtbar.

b) Kondensation mit Piperidin: 2,2 g  $\psi$ -Jonyliden-acetaldehyd und 0,9 g  $\beta$ -Methyl-crotonaldehyd wurden in 0,5 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol gelöst und nach Zugabe von 0,04 g Eisessig und 0,04 g Piperidin im Vakuum eingeschmolzen. Das Gemisch färbte sich nach der Zugabe des Kondensationsmittels tief rot. Nach 16 Stunden verdünnte man das Reaktionsgemisch mit Peroxyd-freiem Äther, schüttelte mit 0,02-n. Salzsäure, verdünnter Bicarbonatlösung und mit Wasser aus und verdampfte nach dem Trocknen der Flüssigkeit das Lösungsmittel. Das so erhaltene rote Öl erzeugte beim Eintragen in Antimontrichlorid-Chloroformlösung eine tiefe Grün-Färbung, die nach kurzer Zeit in Braun überging. Im Spektroskop waren bei dieser Antimontrichlorid-Reaktion Banden bei 650, 523 und 473 m $\mu$  sichtbar.

Die Reduktion dieses Rohproduktes mit Aluminiumisopropylat wurde in gewohnter Weise durchgeführt (2,6 g Kondensationsprodukt, 36 cm<sup>3</sup> Isopropylalkohol als Lösungsmittel, 1,5 g Aluminiumisopropylat. Reaktions-Temperatur 110—120°). Nach ca. 1 1/2 stündiger Reduktion verdünnte man das Reduktionsgemisch mit Petroläther und schüttelte mit 2-n. Phosphorsäure und Wasser aus. Die getrocknete Petrolätherlösung hinterliess beim Verdunsten des Lösungsmittels ein rotes Öl, welches mit Antimontrichlorid eine blaue Farbreaktion zeigte, die rasch nach Violett umschlug. Diese Carr-Price'sche Reaktion liess im Spektroskop Banden bei 655, 606, 580, 535 und 479 m $\mu$  erkennen. Eine Bande bei 693 m $\mu$  fehlte. Von den 5 genannten Absorptionsbanden sind diejenigen von 655 m $\mu$

und  $479 \text{ m}\mu$  wahrscheinlich auf Kondensationsprodukte zurückzuführen, die aus Methyl-crotonaldehyd allein entstanden sind, da die Einwirkung von Piperidin auf Methyl-crotonaldehyd und die nachfolgende Reduktion des Kondensationsproduktes zu Substanzen führte, die dieselben Banden aufwiesen.

Die Bande  $606 \text{ m}\mu$  stimmte der Lage nach mit einer solchen überein, die an dem Reduktionsprodukt des Kondensationsproduktes aus  $\beta$ -Jonylidene-acetaldehyd und Methyl-crotonaldehyd s. Zt. beobachtet worden ist<sup>1)</sup>.

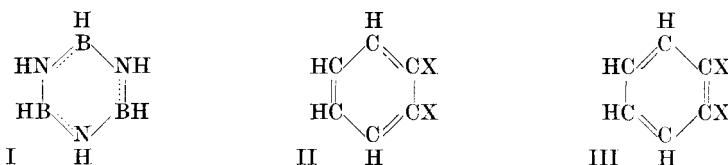
Zürich, chemisches Institut der Universität.

XIX. Strukturchemische Untersuchungen.  
Über den Mills-Nixon-Effekt bei Thiazolderivaten

von H. Erlenmeyer und W. Schoenauer.

(23. X. 41.)

Der von *Kekulé* für das Benzol aufgestellte Begriff der aromatischen Struktur wurde in der weiteren Entwicklung der Chemie auf eine immer grössere Zahl von cyclischen Verbindungen übertragen. Auf Grund ihres chemischen Verhaltens wurden 6-Ringe wie z. B. Pyridin, Pyrimidin oder heterocyclische 5-Ringe wie z. B. Thiophen oder Thiazol als Verbindungen mit „aromatischer“ Struktur aufgefasst<sup>2)</sup>. Heute kennt man auch ein rein anorganisches Ringsystem Borazol (I), das dem Benzol in seinen physikalischen Konstanten sehr ähnlich ist und mit aromatischer Struktur formuliert werden muss<sup>3)</sup>.



Das Wesentliche und Eigenartige der aromatischen Struktur tritt in der Beobachtung, dass von Derivaten des Benzols von der Formel  $C_6H_4X_2-(1,2)$  nicht wie nach der klassischen Theorie zu erwarten wäre zwei Isomere (II, III) existieren, besonders deutlich

<sup>1)</sup> B. **70**, 853 (1937); Helv. **23**, 284 (1940).

<sup>2)</sup> Siehe z. B. V. Meyer und P. Jacobson, Lehrbuch der organischen Chemie, Bd. II<sub>3</sub>, S. 10.

<sup>3)</sup> A. Stock und E. Pohland, B. **59**, 2215 (1926); als mesomeres System: E. Wiberg und A. Bolz, B. **73**, 209 (1940); Sdp. des Borazol  $+55^\circ$ ; entsprechende Strukturähnlichkeit zeigen Bornitrid und Graphit, B—N ist isoster mit C—C.