

In der Literatur vorhandene Angaben von *F. Kirchhof* gestatten es, die Quellungsmaxima von im Vulkanisationsgrad verschiedenen Kautschukproben in Benzol, Schwefelkohlenstoff, Benzin und Tetrachlorkohlenstoff miteinander zu vergleichen. Es zeigt sich, dass die mit Benzol, Schwefelkohlenstoff und Benzin erhaltenen relativen Werte gut unter sich, weniger gut aber mit den Werten in Tetrachlorkohlenstoff übereinstimmen.

Der eine von uns (*P.*) möchte der „Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie“ für die Erteilung eines Stipendiums, wodurch ihm die vorliegenden Untersuchungen ermöglicht wurden, bestens danken.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Basel.

55. Asymmetrischer Abbau von D,L-Methionin¹⁾ durch Hefe

von *V. Kocher* und *K. Vogler*.

(9. I. 48.)

Für mikrobiologische Untersuchungen benötigten wir eine gewisse Menge D(+)-Methionin. Da die Racematspaltung nach *W. Windus* und *G. S. Marvel*²⁾ mit Brucin zwar beide optisch aktiven Formen, jedoch mit geringer Ausbeute, liefert, entschlossen wir uns, den von *F. Ehrlich*³⁾ an einer Reihe von Aminosäuren beschriebenen Abbau mit Hefe zu versuchen. Es war zum vornherein nicht vorauszusehen, ob dieser Abbau von D,L-Methionin tatsächlich asymmetrisch verlaufe. *F. Ehrlich*⁴⁾ gelang die asymmetrische Vergärung von Alanin, Leucin, Isoleucin, Valin, Serin, Glutaminsäure, Phenylalanin und Histidin, während Asparaginsäure, Prolin und Tyrosin symmetrisch abgebaut wurden.

In Vorversuchen konnten wir mit Hilfe von mikrobiologischen Bestimmungen des L(–)-Methionins feststellen, dass die Gärung asymmetrisch verläuft. Zudem zeigte sich, dass bei Änderung der Zucker- bzw. Hefemenge neben der Qualität der Hefe, der Versuchsdauer und der Reaktionstemperatur hauptsächlich der Gehalt an Saccharose die Vollständigkeit des Abbaues beeinflusst.

Wir stellten ferner fest, dass bei der Gärung auftretende leichtflüchtige Abbauprodukte im mikrobiologischen Methionintest für *Sc. faecalis* inaktiv sind. Im Gegensatz dazu wird die kolorimetrische

¹⁾ Zur Bezeichnung der Konfiguration vgl. *H. A. Vickery*, J. biol. Chem. **169**, 237 (1947).

²⁾ *W. Windus* und *C. S. Marvel*, Am. Soc. **53**, 3491 (1931).

³⁾ *F. Ehrlich*, Bioch. Ztschr. **1**, 8 (1906); **8**, 438 (1908).

⁴⁾ *F. Ehrlich*, Bioch. Ztschr. **63**, 379 (1914).

Methioninbestimmung nach *McCarty* und *Sullivan*¹⁾ gestört, indem eine der Methioninfärbung ähnliche Farbreaktion entsteht, welche durch die normal verwendeten Farbfiler nicht eliminiert werden kann²⁾. Das vergorene Substrat wurde deshalb vor der Methioninbestimmung immer vorerst von den leichtflüchtigen Bestandteilen durch Einengen auf 1/10 des Ausgangsvolumens befreit.

Unter den unten angegebenen Versuchsbedingungen erhielten wir aus dem Racemat ein D(+)-Methionin mit der optischen Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -23,64^\circ \pm 1^\circ$ (in 6,3-n. HCl) in einer Reinausbeute von 47,3 %.

10 g D,L-Methionin (*Merck* USA.) wurden auf dem Wasserbad in einem 5-Liter-Kolben in ca. 250 cm³ Leitungswasser gelöst und mit einer Lösung von 250 g Saccharose in 500 cm³ Wasser versetzt. Nach Zugabe von 100 g käuflicher, in Wasser aufgeschlemmter Bäckerhefe wurde mit Leitungswasser auf ein Volumen von 2,5 Liter aufgefüllt, mit einem Schwefelsäuregärverschluss verschlossen und unter zeitweisem Schütteln bei 25° C der Gärung überlassen. Die Kohlensäureentwicklung war nach ca. 72 Stunden beendet, und die Hefe hatte sich abgesetzt. Die Lösung hatte ein p_H von 3,4.

Durch Dekantieren, wiederholtes Filtrieren und Schütteln mit 24 g Bleicherde wurde die Hefe vollständig abgetrennt. Die vereinigten klaren Filtrate und Waschwässer wurden auf dem Wasserbad im Vakuum auf ca. 200 cm³ eingengt. Dabei entstand eine leichte Trübung, die man durch Filtration behob. Das Filtrat wurde nun unter vermindertem Druck bis zur beginnenden Krystallisation weiter eingengt und dann bei gewöhnlichem Druck so lange erwärmt, bis sich alle Krystalle wieder vollständig gelöst hatten. Das Volumen der Lösung betrug ca. 90 cm³. Sie wurde heiss in einen angewärmten 200-cm³-*Erlenmeyer*-kolben filtriert und dann mit wenig D(+)-Methionin, welches durch Spaltung von synthetischem Methionin mit Brucin erhalten worden war, angeimpft. Dabei trat allmählich Krystallisation ein. Nach 6-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurden die Krystalle abgesaugt, mit 100 cm³ Eiswasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute = 1,15 g (A).

Die Mutterlauge dampften wir auf ca. 50 cm³ im Vakuum ein, lösten die ausgefallenen Krystalle heiss und filtrierten. Nach dem Animpfen und Stehenlassen über Nacht konnte eine zweite Fraktion rohes D(+)-Methionin isoliert werden. Ausbeute 1,15 g (B). Die verbleibende Mutterlauge wurde auf ca. 35 cm³ eingengt, wobei wir 0,57 g (C) und aus dem Filtrat noch 0,1 g (D) rohes D(+)-Methionin gewinnen konnten. Die totale Rohausbeute betrug 2,97 g oder 59,5% der Theorie, berechnet auf das Ausgangsprodukt von 10 g D,L-Methionin. Die letzte Mutterlauge enthielt noch die Abbauprodukte der Nährlösung, aus welcher kein Methionin mehr isoliert werden konnte.

Die Fraktionen A und B (2,3 g) wurden in 20 cm³ Wasser auf dem Wasserbad gelöst und in 40 cm³ warmes Äthanol filtriert. Nach der Krystallisation wurde das D(+)-Methionin abgesaugt, mit wenig Äthanol gewaschen und getrocknet. Ausbeute 1,72 g.

1. Fraktion 1,72 g, $[\alpha]_D^{20} = -23,64^\circ \pm 1^\circ$ (c = 2,055 in 6,3-n. HCl).

0,2055 g Subst. zu 10 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{20} = -0,486^\circ \pm 0,02^\circ$

C₅H₁₁O₂NS (149,21) N Ber. 9,39% Gef. 9,60% (*Kjeldahl*).

Aus der Mutterlauge der ersten Fraktion und aus C und D konnten durch analoge Behandlung weitere 0,65 g reines D(+)-Methionin gewonnen werden.

¹⁾ *McCarty* und *Sullivan*, J. Biol. Chem. **141**, 871 (1941).

²⁾ Diese Beobachtung, sowie die chemischen Analysen verdanken wir Herrn Dr. G. Frey der Fa. *Aligena AG*.

2. Fraktion 0,65 g, $[\alpha]_D^{20} = -23,60^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,054$ in 6,3-n. HCl).

0,2054 g Subst. zu 10 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,484^\circ \pm 0,02^\circ$

N Ber. 9,39% N Gef. 9,37% (*Kjeldahl*).

Die optische Reinheit des gewonnenen D(+)-Methionins ist befriedigend, und der Drehwert in 6-n. HCl kann mit den Werten von *K. Vogler* und *F. Hunziker*¹⁾ verglichen werden. Die Reinausbeute beträgt 2,37 g, d. h. 47,3%, bezogen auf das angesetzte D,L-Methionin.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Aligena Aktiengesellschaft*.

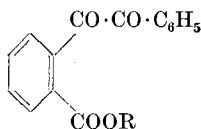
56. Über die Anhydride der Benzil-o-carbonsäure und der o-Benzoylbenzoesäure

von H. Schmid, M. Hochweber und H. v. Halban †.

(12. I. 48.)

Benzil-o-carbonsäure (I) und o-Benzoylbenzoesäure (IV) können als γ -Ketosäuren in zwei tautomeren Formen auftreten (a, b). Sowohl von der offenen n-Form als auch der cyclischen ψ -Form leiten sich eine Reihe von Derivaten ab, unter denen die Ester, Amide, Anilide²⁾ u. a. m. genauer untersucht und in ihrer Konstitution sichergestellt sind. Die Anhydride hingegen sind bisher nur wenig erforscht worden. Als Beispiele für diese Gruppe haben wir die gemischten Anhydride der oben angeführten Säuren mit Essigsäure näher untersucht und berichten im folgenden darüber.

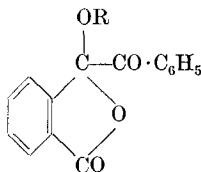
Das gemischte ψ -Benzil-o-carbonsäure-essigsäureanhydrid (IIb) vom Smp. 137–138° entstand beim Erwärmen des nach *A. Hantzsch* und *A. Schwiete*³⁾ bereiteten ψ -Säurechlorids mit Silberacetat in Äther. Auch aus dem n-Säurechlorid bildete sich unter gleichen Bedingungen dasselbe Anhydrid. Da dieses Anhydrid farblos ist, Derivate der n-Benzil-o-carbonsäure (Ia) aber gelb gefärbt sind, steht seine



Ia R = H

IIa R = COCH₃

IIIa R = CH₃



Ib R = H

IIb R = COCH₃

¹⁾ *K. Vogler* und *F. Hunziker*, *Helv.* **30**, 2013 (1947).

²⁾ *H. Meyer*, *M.* **34**, 69 (1913); *M.* **28**, 1211, 1231 (1907) und frühere Arbeiten.

³⁾ *B.* **49**, 213 (1916).