

119. Über die flüchtigen Bestandteile des grauen Ambra.

1. Mitteilung.

Isolierung von Dihydro- γ -jonon

von L. Ruzicka, C. F. Seidel und M. Pfeiffer †.

(18. III. 48.)

In einigen Abhandlungen aus unserem Laboratorium wurde über den Hauptbestandteil des grauen Ambra, den Triterpenalkohol Ambrein berichtet¹⁾. Zur Isolierung der flüchtigen Ambra-Bestandteile wurde die Mutterlauge des Ambreins mit Wasserdampf destilliert. Die neutralen Anteile des Wasserdampfdestillats destillierte man hierauf im Vakuum. Das von ca. 60° (10 mm) bis 130° (0,1 mm) siedende Gemisch macht je nach der Qualität des Ausgangsmaterials ca. 1,5–3% aus. Die tiefer und höher siedenden Anteile davon bestehen zum grossen Teil aus Kohlenwasserstoffen, während die Mittelfraktionen aus sauerstoffhaltigen Verbindungen bestehen. Durch Behandlung mit Girard-Reagens T lässt sich daraus ein Keton-Gemisch in einer Ausbeute isolieren, die ungefähr 1/5 der oben durch den Siedepunkt charakterisierten flüchtigen Ambra-Anteile ausmacht.

Bei der fraktionierten Destillation der aus der Girard-Verbindung regenerierten Ketone wird eine scharf siedende Hauptfraktion erhalten, deren Analysenwerte auf C₁₃H₂₂O stimmen. Es handelt sich um ein rechtsdrehendes, auf Grund der Molekularrefraktion und der katalytischen Hydrierung monocyclisches, einfach ungesättigtes Keton oder Ketongemisch. Die angegebene Bruttoformel wird durch Analyse des bei 189—190° schmelzenden Semicarbazons bestätigt. Auf Grund der Mischprobe erwies sich dieses Semicarbazoon als identisch mit dem Semicarbazoon des Dihydro- γ -jonons, das zuerst durch Oxydation des Ambreins mit Kaliumpermanganat²⁾ und kürzlich auch durch Anlagerung und Wiederabspaltung von Chlorwasserstoff aus Dihydro- α -jonon³⁾ erhalten wurde. Das aus dem Semicarbazoon regenerierte Dihydro- γ -jonon unterscheidet sich in seinen physikalischen Konstanten nur unbedeutend von dem durch fraktionierte Destillation gereinigten Keton.

Das aus dem Ambra isolierte Dihydro- γ -jonon (I) ist, ebenso wie das durch Oxydation von Ambrein erhaltene, schwach rechts-

¹⁾ L. Ruzicka und F. Lardon, Helv. **29**, 912 (1946); L. Ruzicka, O. Dürst und O. Jeger, Helv. **30**, 353 (1947); O. Jeger, O. Dürst und L. Ruzicka, Helv. **30**, 1859 (1947).

²⁾ Nach E. Lederer, F. Marx, D. Mercier und G. Péro, Helv. **29**, 1354 (1946); vgl. auch L. Ruzicka und F. Lardon, Helv. **29**, 912 (1946).

³⁾ L. Ruzicka, G. Büchi und O. Jeger, Helv. **31**, 293 (1948).

drehend. In Chloroform- und Alkohol-Lösung wird dagegen schwache Linksdrehung beobachtet. Durch katalytische Hydrierung wird ein in Chloroform schwach linksdrehendes Tetrahydro-jonon erhalten, dessen Semicarbazon ähnlich wie das Semicarbazon des gewöhnlichen Tetrahydro-jonons bei ungefähr 180° schmilzt und auf Grund der Mischprobe mit demselben identisch ist. Auch die Phenylsemicarbazone beider Substanzen schmelzen bei ca. 109° und geben bei der Mischprobe keine Depression.



Durch Ozonisation des Dihydro- γ -jonons aus Ambra wird neben 32% der theoretischen Ausbeute an Formaldehyd (entsprechend ca. 95% γ -Form) das gleiche Diketon $C_{12}H_{20}O_2$ (II) erhalten, das erstmals bei der Ozonisation von Ambrein gewonnen wurde¹⁾. Die Identität beider Präparate wurde durch den Mischschmelzpunkt des Disemicarbazons bewiesen.

Das Dihydro- γ -jonon zeigt im Gegensatz zum Dihydro- α -jonon und Dihydro- β -jonon, die einen mehr cedernartigen Geruch aufweisen, typischen Ambra-Geruch.

Wir danken der Firma *Firmenich et Cie.* in Genf für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil²⁾.

Isolierung der leicht flüchtigen Anteile aus grauem Ambra.

4,5 kg graues Ambra I. Qualität wurden in ungefähr erbsengrossen Stücken mit tiefstiedendem, gereinigtem Petroläther (Sdp. 30—40°) in Portionen im *Soxhlet*-Apparat extrahiert, wobei fast 300 g eines dunkelbraunen Pulvers ungelöst blieben. Die vereinigten Lösungen wurden auf ca. 9 Liter eingedampft und einige Wochen im Kühlschrank bei -10° stehen gelassen. Das abgeschiedene Ambrein wurde abfiltriert und mit auf -15° gekühltem Petroläther gewaschen. Man erhielt so mehr als 1 kg rohes Ambrein³⁾. Die Petroläther-Mutterlauge wurde eingedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und der Reihe nach mit eisgekühlten 5-proz. Lösungen von Salzsäure, Soda und Natronlauge ausgeschüttelt. Zwischen jedem Ausschütteln wurde mit Eiswasser gewaschen. Da die letzten Waschwässer immer noch alkalisch reagierten, wurde dann nochmals mit ganz verdünnter Salzsäure, hierauf mit Natriumhydrogencarbonat und Wasser bis zur neutralen Reaktion geschüttelt. Nach dem Verdampfen des Äthers blieben 2,7 kg einer braunen schmierigen Masse zurück.

Die weitere Verarbeitung kann entweder durch Wasserdampfdestillation oder durch direktes Abdestillieren der flüchtigen Anteile im Vakuum durchgeführt werden. Portionen von 200 g erhitzte man in einem Kolben mit weitem Ansatzrohr im Ölbad allmählich bis auf 210° bei 0,1 mm und kühlte die Vorlage auf -80° . Man erhielt so insgesamt 72 g Destillat, die man einer fraktionierten Destillation unterzog. Bei 10 mm wurden folgende

¹⁾ L. Ruzicka und F. Lardon, Helv. **29**, 920 (1946).

²⁾ Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

³⁾ Vgl. über die weitere Verarbeitung des Ambreins L. Ruzicka und F. Lardon, Helv. **29**, 912 (1946), sowie E. Lederer, F. Marx und D. Mercier, Helv. **29**, 1354 (1946).

Anteile abgetrennt: 1. 60—115°, 0,5 g; 2. 115—125°, 3,7 g; 3. 125—140°, 1,3 g; bei 0,1 mm: 4. 90—110°, 8,3 g; 5. 110—130°, 1,0 g. Der Rest hinterbleibt als Rückstand.

Nach wiederholter fraktionierter Destillation wurden folgende 3 Fraktionen (a—c) analysiert:

- a) Sdp. 60—65° (10 mm) Gef. C 84,0 H 12,1%
- b) „ 118—119° (10 mm) „ „ 80,5 „ 11,5%
- c) „ 105—106° (0,25 mm) „ „ 84,5 „ 10,8%

Die Fraktion b enthält nach der Zerewitinoff-Methode keinen aktiven Wasserstoff.

Isolierung der Ketone.

Die 5,5 g der ursprünglichen Fraktionen 1—3 vom Siedepunkt bis 140° (12 mm) und die 8,3 g der ursprünglichen Fraktion 4 vom Sdp. 90—110° (0,1 mm) wurden mit Girard-Reagens T nach folgender Vorschrift behandelt:

5,5 g Substanz (Fraktionen 1—3) wurden mit 6 g Reagens und 50 cm³ 10-proz. Eisessig-Methanol 2 Stunden gekocht. Nach mehrstündigem Stehen wurde die Reaktionslösung in 450 cm³ eiskalte, ungefähr 0,02-n. Natronlauge gegossen, sodass die Lösung gerade deutlich alkalisch war. Durch 5-maliges Ausschütteln mit Äther wurden 3,4 g nicht-ketonische Anteile erhalten. Nach dem Ansäuern der wässerigen Lösung mit 30 cm³ konzentrierter Salzsäure bis zur deutlich kongosauren Reaktion wurde eine Stunde stehen gelassen und dann mehrmals mit Äther ausgezogen. Man erhielt so 2,0 g Ketone. Nochmaliges mehrstündigtes Stehen mit 30 cm³ konzentrierter Salzsäure lieferte nur noch Spuren von ätherlöslicher Substanz; auch Erwärmen der Lösung mit weiteren 30 cm³ konzentrierter Salzsäure am Wasserbade führte zu keiner Erhöhung der Ketonausbeute. Analog erhielt man aus den 8,3 g der 4. Fraktion 7,5 g nichtketonischer Anteile und 0,6 g Ketone. Eine Wiederholung der Behandlung der aus den beiden Fraktionen erhaltenen nicht-ketonischen Anteile (zusammen 11,9 g) mit Girard-Reagens P lieferte noch 0,3 g Ketone.

Die Gesamtmenge von 2,9 g Ketonen wurde nochmals in der beschriebenen Weise mit 5 g Girard-Reagens T behandelt, wobei der Ketongeruch verschwand. Durch wiederholtes Ausschütteln mit Äther wurden 0,3 g nicht-ketonischer Substanzen erhalten. Die wässrige Lösung säuerte man nur bis zu schwach saurer Reaktion auf Lackmus an (pH ca. 5), wonach durch Ausschütteln mit Äther 1,4 g Ketone erhalten wurden.

Isolierung von d-Dihydro-γ-jonon.

Eine bei 114—116° (10 mm) siedende Mittelfraktion der 1,4 g zweimal über die Girard-Verbindung gereinigten Ketone zeigte folgende Daten: $d_4^{21} = 0,9373$; $n_D^{21} = 1,4730$; M_D Ber. für $C_{13}H_{22}O\ddagger$ = 59,58; Gef. = 58,15; $EM_D = -1,43$; $\alpha_D = +12,8^\circ$ (ohne Lösungsmittel).

3,897; 3,904 mg Subst. gaben 11,52; 11,51 mg CO₂ und 4,01; 3,95 mg H₂O
 $C_{13}H_{22}O$ Ber. C 80,34 H 11,43%
 Gef. „ 80,64; 80,41 „ 11,51; 11,33%

Die 1,4 g Keton wurden mit methanolischer Semicarbazidacetatlösung versetzt, wobei sehr rasch Krystallabscheidung eintrat. Nach dem Zusatz von etwas Wasser wurde filtriert und mit Petroläther, Sodalösung und Wasser gewaschen. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol erhielt man 0,7 g des konstant bei 189—190° schmelzenden Semicarbazons¹⁾.

4,124 mg Subst. gaben 10,15 mg CO₂ und 3,74 mg H₂O;
 2,128; 2,082 mg Subst. gaben 0,315; 0,310 cm³ N₂ (20°, 728 mm; 21°, 724 mm)
 $C_{14}H_{25}ON_3$ Ber. C 66,88 H 10,03 N 16,72%
 Gef. „ 67,12 „ 10,14 „ 16,51; 16,47%

¹⁾ Über die Verarbeitung der Mutterlauge vgl. weiter unten.

Die Mischprobe mit dem bei 187—188° schmelzenden Semicarbazons des durch Oxydation des Ambreins mit Kaliumpermanganat¹⁾ gewonnenen Ketons C₁₃H₂₂O zeigt keine Depression. Weiter ergibt sich auf Grund der Mischprobe Identität mit dem bei 185—186° schmelzenden Semicarbazons des synthetischen, racemischen Dihydro-γ-jonon-semicarbazons²⁾.

Regenerierung des Ketons. Die Spaltung des Semicarbazons vom Smp. 188—189° wurde mit Phtalsäureanhydrid im Dampfstrom durchgeführt. Der ätherische Auszug des Destillats wurde mit Sodalösung und Wasser gewaschen. Das bei 116—118° (10 mm) siedende Keton zeigt folgende Daten: d₄²² = 0,9347; n_D²² = 1,4789; M_D Ber. für C₁₃H₂₂O [α]_D = 59,58; Gef. = 58,94; E_M_D = -0,64; α _D = +1,5° (ohne Lösungsmittel).

3,813 mg Subst. gaben 11,24 mg CO₂ und 3,91 mg H₂O

C₁₃H₂₂O Ber. C 80,34 H 11,43%

Gef. „ 80,40 „ 11,47%

Durch Spaltung der amorphen Anteile aus der Mutterlauge des Semicarbazons vom Smp. 189—190° mit Phtalsäureanhydrid im Dampfstrom wurde ein Keton erhalten, das einen starken Geruch aufwies, der jedoch von demjenigen des Dihydro-γ-jonons verschiedenen ist.

Anderes krystallisierte Derivate. Durch Kochen des über das Semicarazon gereinigten Ketons mit Phenylsemicarbazid in Methanolösung, sowie zweimaliges Umkrystallisieren des in der Kälte sich abscheidenden Umsetzungsproduktes aus Methanol, gewann man das konstant bei 120—121° schmelzende Phenylsemicarazon.

Zur Bereitung des 2,4-Dinitrophenylhydrazons kochte man 50 mg des Ketons mit einer Lösung von 50 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin in einigen Kubikzentimetern methanolischer Salzsäure³⁾. Die zuerst ölige Abscheidung krystallisierte in der Kälte. Nach dem Umkrystallisieren aus Methanol wurden bei 98—99° schmelzende, gelbe Nadeln erhalten. Die Mischprobe mit dem 2,4-Dinitrophenylhydrazon vom Smp. 86—87°, hergestellt aus dem Keton C₁₃H₂₂O, das bei der Kaliumpermanganatoxydation des Ambreins entsteht⁴⁾, schmilzt bei 93—95°.

Katalytische Hydrierung des Ketons C₁₃H₂₂O zu Tetrahydro-jonon.

In Essigesterlösung und in Gegenwart von Platinoxyd-Katalysator nahm das Keton 1 Mol Wasserstoff auf. Bei der Aufarbeitung des Semicarbazons wurden ca. 5% in Petroläther lösliches Öl erhalten (wohl Tetrahydrojonon). Nach dreimaligem Umkrystallisieren war der Schmelzpunkt des Semicarbazons konstant bei 179—180°.

3,109 mg Subst. gaben 7,58 mg CO₂ und 2,91 mg H₂O

1,473 mg Subst. gaben 0,219 cm³ N₂ (20°, 716 mm)

C₁₄H₂₇ON₃ Ber. C 66,36 H 10,74 N 16,59%

Gef. „ 66,49 „ 10,48 „ 16,32%

Mit Tetrahydrojonon-semicarazon vom Smp. 181—182° trat keine Depression des Schmelzpunktes ein.

Das Keton wurde aus dem Semicarazon mit Phtalsäureanhydrid im Dampfstrom regeneriert. [α]_D = -16° (c = 4,4 in Chloroform). Das daraus bereitete, in Nadeln krystallisierende Phenylsemicarazon schmolz nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol bei 108—109°. Die Mischprobe mit dem bei 109—110° schmelzenden Phenylsemicarazon des Tetrahydrojonons zeigt keine Depression.

¹⁾ Nach E. Lederer, F. Marx, D. Mercier und G. Pérot, Helv. **29**, 1354 (1946); vgl. auch L. Ruzicka und F. Lardon, Helv. **29**, 912 (1946).

²⁾ L. Ruzicka, G. Büchi und O. Jeger, Helv. **31**, 293 (1948).

³⁾ Hergestellt durch Mischen von 100 cm³ Methanol mit 4 cm³ konzentrierter Salzsäure.

⁴⁾ Lederer und Mitarbeiter, l. c. geben einen Smp. von 85—88° an.

Ozonisation des Ketons $C_{13}H_{22}O$.

0,2 g Keton wurden in 10 cm³ Kohlenstofftetrachlorid ozonisiert. Dabei konnte unter den flüchtigen Spaltprodukten Formaldehyd über das p-Nitrophenylhydrazen nachgewiesen werden. Der Schmelzpunkt des zweimal umkristallisierten Produktes lag bei 177—178°.

$C_7H_7O_2N_3$	Ber. C 50,91	H 4,27%
	Gef. „ 51,19	„ 4,19%

Der Mischschmelzpunkt mit einem Vergleichspräparat lag bei der gleichen Temperatur. Das nicht flüchtige Produkt der durch Erhitzen mit Wasser durchgeführten Ozonidspaltung wurde in Äther aufgenommen und mit Sodalösung gewaschen. Der Siedepunkt des nach dem Verdampfen des Äthers erhaltenen Öls lag bei 130—140° (10 mm). Das daraus hergestellte Disemicarbazone schmolz nach dem Umkristallisieren aus Methanol bei 213—214°.

3,660 mg Subst. gaben	7,32 mg CO_2	und 2,66 mg H_2O
2,170 mg Subst. gaben	0,528 cm ³	N_2 (19°, 714 mm)
$C_{14}H_{26}O_2N_6$	Ber. C 54,16	H 8,45 N 27,09%
	Gef. „ 54,55	„ 8,13 „ 26,71%

Die Mischprobe mit dem Disemicarbazone vom Smp. 210—211° des Diketons, das bei der Ozonisation des Ambreins¹⁾ erhalten worden war, zeigte keine Schmelzpunktsdepression.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Zusammenfassung.

Aus den flüchtigen Bestandteilen des grauen Ambras wurde Dihydro- γ -jonon isoliert.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

120. Zur kolorimetrischen Milchsäurebestimmung

von R. Markus.

(18. III. 48.)

I. Bestimmung in reinen Milchsäure- und Laactatlösungen.

Zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure stehen dem Analytiker u. a. folgende Methoden zur Verfügung:

Zunächst die Permanganatmethode von Firth und Charnass²⁾, welche im Laufe der Zeit wesentlich verbessert wurde. Sie beruht darauf, dass eine siedende, verdünnte Milchsäurelösung in Gegenwart von Schwefelsäure und Mangan(II)-Ionen durch eine langsam zutropfende, stark verdünnte Permanganatlösung zu Acetaldehyd oxydiert wird. Der jeweils gebildete Acetaldehyd destilliert kontinuierlich in eine gut gekühlte Vorlage über, in welcher er durch Natriumhydrogensulfit gebunden wird. Nachdem der Aldehyd aus der Hydrogensulfitverbindung mit Natriumhydrogencarbonat in Freiheit gesetzt ist, kann er jodometrisch titriert werden.

¹⁾ L. Ruzicka und F. Lardon, Helv. **29**, 920 (1946).

²⁾ O. Firth und D. Charnass, Biochem. Z. **26**, 199 (1910).