

195. Über die Natur der Protonabspaltung bei Azokupplungen¹⁾.

Zur Kenntnis der Kupplungsreaktion, 11. Mitteilung²⁾

von Hch. Zollinger.

(12. VIII. 55.)

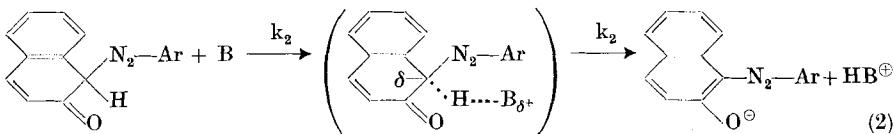
1. Problemstellung.

In der 9. und 10. Mitteilung dieser Reihe²⁾ war es möglich, mit Hilfe der Auswertung der katalytischen Wirkung von Pyridin und den kinetischen Wasserstoffisotopeneffekten, die bei einzelnen Azokupplungen beobachtet werden können, quantitative Aussagen über den Stufenmechanismus dieser Reaktionen zu machen. Es ist dabei ausdrücklich darauf hingewiesen worden, dass in der allgemeinen kinetischen Gleichung (1) die Geschwindigkeitskonstante k_2 der

$$\frac{d[R-N_2-Ar]}{dt} = [Ar-N_2^{\oplus}] \cdot [R-H] \cdot \frac{\frac{k_1}{k_{-1}} [B]}{1 + \frac{k_2}{k_{-1}} [B]} \quad (1)$$

2. Stufe (Protonabspaltung) keiner experimentellen oder rechnerischen Erfassung zugänglich ist. Einzig der Quotient k_2/k_{-1} lässt sich bestimmen. In dieser Arbeit soll nun gezeigt werden, dass es trotz dieser Erschwerung möglich ist, Aussagen über den Mechanismus dieser Protolyse zu machen.

Wir wollen entscheiden, ob die Protonabspaltung in einer Stufe erfolgt, indem sich im Übergangszustand die Base dem Wasserstoffatom nähert unter gleichzeitiger Schwächung der C–H-Bindung (Schema 2), oder ob zuerst eine reine, vollständige Dissoziation der

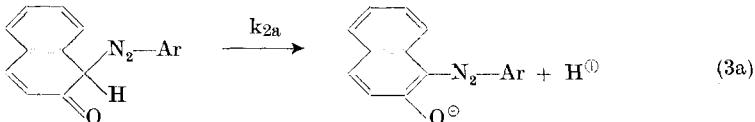


C–H-Bindung eintritt und sich in 2. Stufe das freie Proton an die Base addiert (Schema 3a–3b). Beim zweistufigen Mechanismus sind dabei – wenigstens prinzipiell – zwei kinetische Möglichkeiten vorhanden: $k_{2a} \gg k_{2b}$ oder $k_{2a} \ll k_{2b}$. Die letztere kann dabei zum vornehmlich ausgeschlossen werden: Falls die Dissoziation der C–H-

¹⁾ Vorgetragen am XIV. Internationalen Kongress für reine und angewandte Chemie, Zürich 1955.

²⁾ 9. Mitteilung: Helv. **38**, 1597 (1955); 10. Mitteilung: Helv. **38**, 1617 (1955); im folgenden mit l. c. I bzw. l. c. II bezeichnet.

Bindung (k_{2a}) viel langsamer als die Anlagerung des Protons an die Base (k_{2b}) wäre, könnte gar keine Katalyse festgestellt werden, wenn die Basenkonzentration variiert wird. Die andere Variante ($k_{2a} \gg k_{2b}$) ist auf Grund theoretischer Überlegungen unwahrscheinlich, soll aber der Vollständigkeit halber trotzdem diskutiert werden. Sie lässt sich nämlich, wie im folgenden gezeigt, nicht nur aus Analogieschlüssen, sondern experimentell mit Bestimmtheit ausschliessen.



2. Zusammenhang zwischen Basenkatalyse der Azokupplung und Basizität von Pyridinhomologen.

Um zwischen den oben skizzierten Möglichkeiten des Protolysenmechanismus unterscheiden zu können, haben wir die Reaktionsgeschwindigkeit der Kupplung von p-Chlordiazobenzol mit 2-Naphtol-6,8-disulfosäure (G-Salz) unter konstanten Bedingungen in Gegenwart steigender Mengen von Pyridinbasen gemessen. Die Abhängigkeit der Kupplungsgeschwindigkeit von der Basenkonzentration ist in Fig. 1 dargestellt. In gleicher Weise, wie dies früher¹⁾ für die Pyridinkatalyse beschrieben wurde, haben wir aus den Messergebnissen das Geschwindigkeitskonstantenverhältnis k_2/k_{-1} für die Pyridinhomologen berechnet (Tab. 1). Die Kurven in Fig. 1 wurden mit Hilfe dieser Quotienten nach Gleichung (1) erhalten ($k_1 = 205 \text{ l} \cdot \text{Mol}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$).

Tabelle 1.

Abhängigkeit des Quotienten k_2/k_{-1} von der Konstitution der Base.

Base	Pyridin	α -Picolin	β -Picolin	γ -Picolin	2,6-Lutidin
pK-Wert der Pyridinium-Ionen	5,50	6,37	6,12	6,43	7,09
$k_2/k_{-1} \dots \dots \dots$	1,30	0,65	1,60	2,50	0,20

Fig. 1 zeigt, dass die katalytische Wirkung der Pyridinhomologen sehr verschieden ist: β - und γ -Picolin beschleunigen die Kupplung stärker, α -Picolin und 2,6-Lutidin schwächer als Pyridin.

Aufschlussreich ist der Vergleich zwischen katalytischer Wirkung und Basizitätskonstanten der Pyridinhomologen. In Fig. 2 haben wir den Logarithmus des Quotienten k_2/k_{-1} als Mass der Katalyse gegen

¹⁾ Vgl. I. c. I.

die Basizität der Pyridine, ausgedrückt durch die pK -Werte der korrespondierenden Pyridiniumsäuren, aufgetragen: Bei Pyridin,

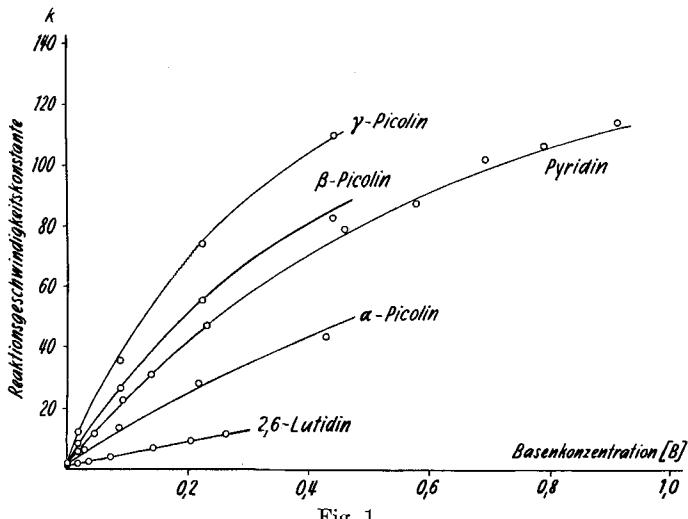


Fig. 1.

Abhängigkeit der Kupplungsgeschwindigkeit von der Konzentration verschiedener Pyridinbasen.

- Nach Gleichung (1) berechnete Geschwindigkeit.
- Gemessene Geschwindigkeit.

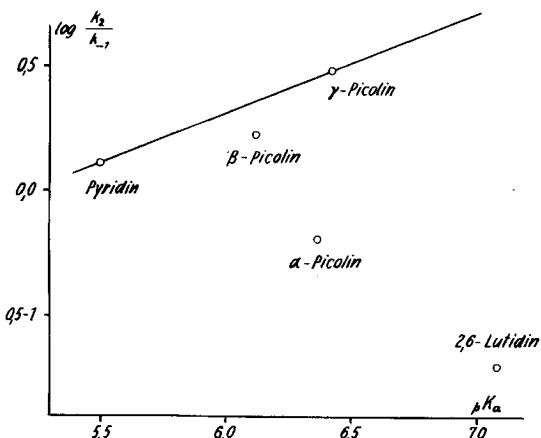


Fig. 2.

Zusammenhang zwischen katalytischer Wirkung und Basizität verschiedener Pyridinbasen.

β - und γ -Picolin sind Kupplungskatalyse und Basizität proportional zueinander; je stärker die Pyridinbase, desto mehr vermag sie die

Kupplung zu beschleunigen. Es handelt sich demzufolge um eine sogenannte allgemeine Basenkatalyse, die dem Katalysengesetz von *Brönsted*¹⁾ gehorcht.

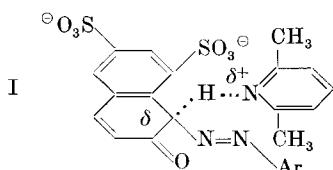
Die in der Figur eingezzeichnete Gerade entspricht der freien Energiebeziehung, die durch die *Brönsted*'sche Beziehung für Basenkatalysen (4) ausgedrückt wird:

$$k_2/k_{-1} = G K_B \beta \quad (4a) \quad \text{bzw.} \quad \log(k_2/k_{-1}) = \beta \log K_B + \log G \quad (4b)$$

k_2/k_{-1} ist die katalytische Konstante unserer Azokupplungen, K_B die Basizitätskonstante der Pyridinhomologen, β und G sind empirische Konstanten nach *Brönsted*²⁾.

α -Picolin und 2,6-Lutidin dagegen katalysieren die Kupplung etwa drei- bzw. zehnmal schwächer als man auf Grund ihrer Basizität erwarten würde. Dies kann unseres Erachtens nur durch die sterische Wirkung der zum Stickstoff α -ständigen Methylgruppen erklärt werden. Beim zweistufigen Mechanismus (3a)–(3b) ist dies unverständlich, da dort auch für α -substituierte Pyridinbasen die gleiche Proportionalität von katalytischer und Gleichgewichtskonstante gefordert werden muss: Die geschwindigkeitsbestimmende Stufe (3b) ist nichts anderes als eine gewöhnliche Protolyse.

Beim einstufigen Mechanismus (2) hingegen ist die Wirkung der α -Methylgruppen leicht verständlich: Die Annäherung des Pyridinstickstoffs an die dissoziierende C–H-Bindung wird durch diese Substituenten erschwert, d. h. die Reaktion wird verlangsamt. Zur Bildung des Übergangszustandes I ist mehr Energie nötig als bei den „normalen“ Pyridinen.



Die Messungen des katalytischen Einflusses der Pyridinhomologen haben also zu dem qualitativ leicht verständlichen Resultat geführt, dass die Wirkung einer Base nicht nur von ihrer „Protophilie“ (= Protonenbasizität), sondern auch davon abhängt, wie leicht sie sich aus sterischen Gründen dem zu substituierenden Wasserstoffatom nähern kann.

Vor kurzem haben *H. C. Brown* et al. in einer Reihe von Arbeiten die sterischen Einflüsse bei Reaktionen am Stickstoff von Pyridinhomologen untersucht. *Brown* kann bei den Reaktionen mit Alkylhalogeniden³⁾ und mit *Lewis*-Säuren (BF_3)⁴⁾ eindeutig zeigen, dass die α -Alkylpyridine weniger reaktionsfähig sind, als auf Grund ihrer Basizität zu erwarten wäre.

¹⁾ *J. N. Brönsted & K. Pederson*, Z. physik. Chem. **A 108**, 185 (1923); *R. P. Bell*, Acid-Base Catalysis, Oxford 1941, Kap. V.

²⁾ Berechnung der *Brönsted*'schen Konstanten β und G s. exp. Teil.

³⁾ *H. C. Brown & A. Cahn*, J. Amer. chem. Soc. **77**, 1715 (1955).

⁴⁾ *H. C. Brown & R. H. Horowitz*, J. Amer. chem. Soc. **77**, 1730, 1733 (1955).

Bei solchen Reaktionen, in denen die Pyridinbase nur als Protonakzeptor dient (Salzbildung mit Methansulfosäure¹), ist jedoch auch bei den α -Homologen eine freie Energiebeziehung mit der Basizität vorhanden. *Brown* et al. ziehen den Schluss, dass bei den beiden von ihnen untersuchten Protonübertragungsreaktionen an α -Alkylpyridine sterische Faktoren keinen oder einen gleichwertigen Einfluss haben. Unsere Versuche stellen eine interessante Ergänzung zu den Versuchen von *Brown* et al. dar, weil die katalytische Wirkung der Alkylpyridine auf die Azokupplung von 2-Naphtol-6,8-disulfo-säure einen Fall darstellt, bei dem die sterische Hinderung der Protonübertragung nicht zu vernachlässigen ist.

3. Katalytische Wirkung des Hydroxyl-Ions.

Bisher haben wir nur die Pyridine und die H_2O -Molekel als Basen, die die Protonabspaltung bei Azokupplungen katalysieren, kennengelernt. Wie steht es mit der Wirkung des Hydroxylions, das bekanntlich die wichtigste Base des wässrigen Mediums darstellt?

Bei der Untersuchung der Abhängigkeit der Kupplungsgeschwindigkeit von der Pyridinkonzentration wurde darauf hingewiesen, dass G-Salz-Kupplungen im mittleren pH-Bereich durch die Hydroxylionenkonzentration nicht beeinflusst werden²). Wie wir zusammen mit *C. Wittwer*³) vor einigen Jahren erläuterten, sind die Kupplungsgeschwindigkeitskonstanten unabhängig vom pH, sofern nicht die analytischen, sondern die Konzentrationen derjenigen Gleichgewichtsformen der Reaktionskomponenten benutzt werden, welche in die eigentliche Substitution eintreten. Versuche in stark alkalischem Medium⁴) zeigten, dass dies im Normalfall auch dann richtig ist, wenn in einem pH-Gebiet gekuppelt wird, in dem die Diazoverbindung vorwiegend als Diazotat vorliegt und nur Bruchteile von Prozenten als Diazoniumionen vorhanden sind. In jener Arbeit wurden aber 2 Kombinationen erwähnt, in denen die Kupplungsgeschwindigkeitskonstante von ca. pH 11 an mit zunehmender Alkalinität stark ansteigt. In beiden Fällen handelte es sich um Kupplungen mit G-Salz!

Dieser damals unverständliche Anstieg der Gesamtreaktionsgeschwindigkeitskonstante k_{tot} lässt sich jetzt leicht verstehen: So wie wir bei der Pyridinkatalyse k_{tot} als Summe der Konstanten von 2 Parallelreaktionen (H_2O - und Pyridin-Kupplung) erkannten⁵), handelt es sich hier um die nebeneinander verlaufenden, durch H_2O bzw. OH^\ominus katalysierten Reaktionen:

$$k_{\text{tot}} = k_{\text{H}_2\text{O}} + k_{\text{OH}} \quad (5)$$

Unterhalb ca. pH 10 hat k_{OH} einen neben $k_{\text{H}_2\text{O}}$ zu vernachlässigenden Wert. In höherer Hydroxylionenkonzentration lässt sich aber k_{OH} im Prinzip bestimmen und in gleicher Weise wie bei der Pyridinkatalyse auswerten:

$$k_{\text{OH}} = \frac{k_1 \frac{k_2}{k_{-1}} [\text{OH}^\ominus]}{1 + \frac{k_2}{k_{-1}} [\text{OH}^\ominus]} \quad (6)$$

¹⁾ *H. C. Brown & R. R. Holmes*, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 1727 (1955); *H. C. Brown & X. R. Mihm*, *ibid.* **77**, 1723 (1955).

²⁾ L. c. I, exp. Teil.

³⁾ *Helv.* **35**, 1209 (1952); *Chem. Rev.* **51**, 347 (1952).

⁴⁾ *C. Wittwer & Hch. Zollinger*, *Helv.* **37**, 1954 (1954).

⁵⁾ L. c. I, Gleichung (29).

Die Berechnung des Quotienten k_2/k_{-1} aus dieser Gleichung hat aber deshalb nur beschränkten Wert, weil die in der Arbeit von Wittwer & Zollinger¹⁾ erwähnten Geschwindigkeitskonstanten k_{tot} im stark alkalischen Medium mit einer zu grossen Fehlermöglichkeit behaftet sind ($\pm 50\%$). Es lässt sich nur abschätzen, dass die katalytische Wirkung des Hydroxylions im Vergleich zu den Pyridinbasen ungefähr den Erwartungen entspricht, wenn man bedenkt, dass die Aciditätskonstante der H_2O -Moleköl (Gleichgewicht $H_2O \rightleftharpoons OH^- + H^+$) in Wasser um rund 10 Zehnerpotenzen kleiner ist als die der Pyridiniumionen. Da das bis heute vorliegende Versuchsmaterial nur unsichere Hypothesen für diese Erscheinung erlauben würde, möchten wir die tiefen Zusammenhänge zwischen Gleichgewichtskonstante und katalytischer Wirkung von verschiedenartigen Basentypen noch nicht eingehender diskutieren.

Experimenteller Teil.

1. Reinigung der Pyridinbasen. Pyridin, α -, β -, γ -Picolin und 2,6-Lutidin haben wir nach den Angaben von D. P. Biddiscombe et al.²⁾ gereinigt: Pyridin und die 3 Picoline wurden mit 1,2 Äquivalenten 22,6-proz. H_2SO_4 gemischt und der Wasserdampfdestillation unterworfen, bis ca. 10% abgetrieben waren (Entfernung von Neutralteilen). Aus dem Rückstand wird die Base durch einen Überschuss von konz. Natronlauge freigesetzt, abgetrennt und über festem NaOH getrocknet. Pyridin und α -Picolin wurden dann in einer Widmer-Kolonne destilliert. Aus dem β - und γ -Picolin entfernte man 2,6-Lutidin mit Harnstoff und destillierte das Filtrat azeotrop mit Eisessig. Das Destillat wurde mit konz. NaOH alkalisch gestellt und wie oben getrocknet und destilliert. 2,6-Lutidin wurde über das Harnstoffadditionsprodukt gereinigt. Die verwendeten Destillatsfraktionen hatten in allen Fällen Siedepunktsbereiche von maximal 1°.

2. Aciditätskonstanten der Alkylpyridinium-Ionen. In analoger Weise wie in der 9. Mitteilung¹⁾ für das Pyridinium-Ion beschrieben, wurden die pK-Werte der Alkylpyridinium-Ionen potentiometrisch bei der Ionenstärke $\mu = 0,25$ und $10,0^0$ ($\pm 0,5^0$) bestimmt: α -Picolin, pK = 6,37; β -Picolin, pK = 6,12; γ -Picolin, pK = 6,43; 2,6-Lutidin, pK = 7,09 ($\pm 0,04$).

3. Kupplungen p-Chlordiazobenzol \rightarrow 2-Naphtol-6,8-disulfosäure in Gegenwart von homologen Pyridinbasen. a) *Lösungen der Kupplungskomponente*. Picolinlösungen I—III: 0,02 Mol 2-Naphtol-6,8-disulfosäure (vgl. I. c. I), 0,05 Mol $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ und 0,15 Mol Na_2HPO_4 werden in Wasser gelöst und auf 5000 cm^3 gestellt. Je 500 cm^3 dieser Lösungen werden mit den in Tab. 2 angegebenen Mengen KCl, α -, β - bzw. γ -Picolin und n. HCl versetzt und auf 1000 cm^3 gestellt. Es resultieren die Lösungen I, II α , II β usw.

Picolinlösungen IV und V: Analog wie oben, jedoch nur 0,005 Mol 2-Naphtol-6,8-disulfosäure pro 5000 cm^3 Stammlösung.

Lutidinlösungen I—V und VI—VII: Stammlösungen entsprechend den Pyridinlösungen I—IV bzw. V—XI der 9. Mitteilung (I. c. I). Je 500 cm^3 Stammlösung verdünnt man mit den Zusätzen von Tab. 2 auf 1000 cm^3 .

¹⁾ Helv. 37, 1954 (1954), Resultattabelle auf Seite 1967. Jene Messungen sind auch deshalb nur beschränkt vergleichbar, weil sie unter andern Reaktionsbedingungen (Temperatur, Ionenstärke) bestimmt worden sind.

²⁾ D. P. Biddiscombe, E. A. Coulson, R. Handley & E. F. G. Herington, J. chem. Soc. 1954, 1957.

³⁾ Loc. cit. I.

Es resultieren bei den Picolingemischen I–III $2 \cdot 10^{-3}$ -n., bei IV–V $0,5 \cdot 10^{-3}$ n. Lösungen der Kupplungskomponente. Die Lutidingemische enthalten 10^{-2} Mol/l bzw. $0,25 \cdot 10^{-2}$ Mol/l 2-Naphtol-6,8-disulfosäure.

Tabelle 2.

Zusätze zu den Naphtollösungen (auf 1000 cm³).

Lösung	KCl	α -, β - bzw. γ -Picolin	n. HCl	pH (10 ⁰) ¹⁾		
				α	β	γ
I	0,194 Mol	—	—	6,85		
II	0,191 „	0,025 Mol	2,5 cm ³	7,16	7,14	7,25
III	0,184 „	0,10 „	10 „	7,31	7,14	7,39
IV	0,169 „	0,25 „	25 „	7,25	7,08	7,34
V	0,144 „	0,50 „	50 „	7,18	6,99	7,28
		2,6-Lutidin				
I L	0,180 Mol	—	—	6,69		
II L	0,168 „	0,025 Mol	12,5 cm ³	7,01		
III L	0,155 „	0,050 „	25 „	7,05		
IV L	0,130 „	0,10 „	50 „	7,07		
V L	0,080 „	0,20 „	100 „	7,04		
VI L	0,053 „	0,30 „	150 „	6,95		
VII L	0,013 „	0,40 „	190 „	6,92		

b) *Kinetische Messungen.* Die Kupplungen wurden in gleicher Weise durchgeführt wie die l. c. I beschriebenen Kupplungen in Gegenwart von Pyridin. Tab. 3 enthält neben den aus den kolorimetrischen Messungen ermittelten Geschwindigkeitskonstanten die aus den pH-Werten von Tab. 2 und den in dieser Arbeit beschriebenen pK-Werten berechneten effektiven Konzentrationen der Pyridinbase. Außerdem ist die nach der Gleichung (7)²⁾ berechnete Geschwindigkeitskonstante angegeben, wenn für k_w die entsprechenden Konstanten der Picolin- (bzw. Lutidin-) freien Kupplungen mit den Lösungen I und I L, für k_2/k_{-1} die Werte der Tab. 1 und für k_1 205 l·Mol⁻¹·sec⁻¹ eingesetzt werden³⁾.

$$k_{\text{theor.}} = k_w + \frac{k_1 \frac{k_2}{k_{-1}} [B]}{1 + \frac{k_2}{k_{-1}} [B]} \quad (7)$$

([B] = effektive Gleichgewichtskonzentration der Picolin- bzw. Lutidinbase)

4. Berechnung der Konstante der Brönsted'schen Katalysenbeziehung. Mit Hilfe der Werte der katalytischen Konstanten k_2/k_{-1} (Tab. 1) für Pyridine und γ -Picoline können die beiden empirischen Konstanten G und β der Gleichung (4a) bzw. (4b) von Brönsted berechnet werden. Die in Fig. 2 eingezeichnete Gerade entspricht dieser Beziehung.

¹⁾ α : Lösung mit α -Picolin, usw.

²⁾ Entspricht Gleichung (29) in l. c. I.

³⁾ Wegen des Unterschiedes in den Geschwindigkeitskonstanten der pyridinbasenfreien Kupplungen (Lösungen I bzw. I L) vgl. l. c. I, Seite 1615. Er beruht auf den verschiedenen G-Salz-Konzentrationen.

Tabelle 3.
Kupplungen in Gegenwart von Alkylpyridinen.

Base	Naphthol- lösung	[B] Mol·l ⁻¹	$k_{\text{exp.}}$ l·Mol ⁻¹ ·sec ⁻¹	$k_{\text{theor.}}$ (nach Gleichung (7)) l·Mol ⁻¹ ·sec ⁻¹
—	I	—	1,54	1,5
α -Picolin	II α	0,0215	4,79	4,3
„	III α	0,0897	12,9	12,8
„	IV α	0,221	28,2	27,3
„	V α	0,433	43,7	46,7
β -Picolin	II β	0,0228	8,32	8,7
„	III β	0,0914	25,7	27,6
„	IV β	0,225	55,0	55,8
„	V β	0,441	82,5	86,3
γ -Picolin	II γ	0,0217	11,0	12,0
„	III γ	0,0897	34,7	39,0
„	IV γ	0,222	74,1	74,8
„	V γ	0,438	110	109,8
—	I L	—	0,62	0,62
2,6-Lutidin	II L	0,0171	1,82	1,32
„	III L	0,0364	2,40	2,11
„	IV L	0,0739	3,72	3,60
„	V L	0,145	6,31	6,40
„	VI L	0,205	8,71	8,69
„	VII L	0,267	11,2	11,5

Die für die *Brönsted*'sche Gleichung benötigte Basizitätskonstante K_B wird in üblicher Weise aus der Aciditätskonstante des entsprechenden Pyridinium-Ions (K_A) und dem Ionenprodukt des Wassers bei 10° ($\log K_w = -14,52$) erhalten. In einfachen Rechenoperationen bestimmt man durch Einsetzen der Werte von k_2/k_{-1} und K_B für Pyridin und γ -Picolin $\log G$ und β :

$$\beta = 0,312; \log G = 2,93.$$

β ist ein Mass für die „Katalysierbarkeit“ einer Reaktion durch Basen. Der Wert $\beta = 0,31$ ist im Vergleich zu andern basenkatalysierten Reaktionen, die schon untersucht wurden, nicht sehr gross. Es ist zu vermuten, dass β bei Kupplungsreaktionen, die kleinere Isotopeneffekte aufweisen¹⁾, auch kleinere β -Werte der Pyridinbasenkatalyse aufweist.

SUMMARY.

1. The catalytic effect of pyridine, of the three isomeric picolines and of 2,6-lutidine on the coupling rate of 4-chloro-diazobenzene with 2-naphthol-6,8-disulphonic acid has been measured.

2. There is a free energy relationship between this catalytic effect and the basicity of pyridine, 3- und 4-picoline.

¹⁾ Z. B. die Kupplungen von 2-Naphthol-6,8-disulfosäure mit diazotiertem m-Chlor-anilin und p-Nitranilin, die in der 10. Mitteilung dieser Reihe beschrieben wurden.

3. The catalysis by 2-picoline and 2,6-lutidine is 3 times and 10 times smaller, respectively, than expected by the base strength of these pyridine homologues. In contrast to the protolytic reactions of pyridine derivatives, which *H. C. Brown* et al. investigated recently, these reactions show that steric strain may be important for selected proton transfer processes.

Wissenschaftliche Laboratorien des Farbendepartementes,
CIBA Aktiengesellschaft, Basel.

196. Zur Konstitution des Marinobufagins, II. Mitteilung¹⁾²⁾.

Über Krötengifte, 9. Mitteilung³⁾
von Stephan Pataki und Kuno Meyer.

(26. VIII. 55.)

In einer vorangegangenen Mitteilung¹⁾ dieser Reihe war in Übereinstimmung mit Arbeiten früherer Autoren gezeigt worden, dass dem Marinobufagin mit grosser Wahrscheinlichkeit die Bruttoformel $C_{24}H_{32}O_5$ zukommt, wobei allerdings auf Grund der Verbrennungsresultate des Acetyl-derivates die wasserstoffreichere Formulierung $C_{24}H_{34}O_5$ nicht ganz ausgeschlossen werden konnte. Bei Acetyl-bestimmungen mit einem durch Chromatographie an Al_2O_3 gereinigten Präparat von Marinobufagin wurden praktisch keine flüchtigen Säuren (nur etwa 0,4 %) erhalten, so dass das Vorliegen einer Acetyl- bzw. Propionyl⁴⁾-Gruppe im Marinobufagin mit Sicherheit ausgeschlossen werden konnte. Diese Resultate stellen eine Bestätigung der Befunde von *Deulofeu & Mitarb.*⁵⁾ dar. Demgegenüber gaben aber unsere Untersuchungen in bezug auf das Acetylprodukt des Marinobufagins ein von dem der argentinischen Autoren abweichendes Resultat: während diese etwa 18 % flüchtige Säuren nach der *Kuhn-Roth*-Methode ermittelten, gab unser chromatographisch gereinigtes Präparat von Acetyl-marinobufagin nur etwa 9 % flüchtige Säuren. Unsere Befunde machen also ein Mono-acetyl-derivat am wahrscheinlichsten und stimmen darin mit denjenigen von *Jensen*⁶⁾ überein,

¹⁾ 1. Mitt., *K. Meyer*, *Helv.* **35**, 2147 (1951).

²⁾ Auszug aus dem 2. Teil der Diss. *St. Pataki*, Basel 1954.

³⁾ 8. Mitt., *H. R. Urscheler, Ch. Tamm & T. Reichstein*, *Helv.* **38**, 883 (1955).

⁴⁾ *K. H. Slotta & K. Neisser*, *Mem. Inst. Butantan (São Paulo)* **11**, 89 (1937).

⁵⁾ *V. Deulofeu, E. Duprat & R. Labriola*, *Nature* **145**, 671 (1940).

⁶⁾ *H. Jensen*, *J. Amer. chem. Soc.* **59**, 767 (1937).