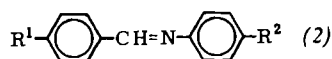


durchaus in Betracht; Beispiele sind die *n*-Alkyl-diphenylpyridazine sowie *p*-*n*-Butylbenzoesäure.

Ein Vergleich zwischen Verbindungen mit Azoxy-, Azo- und Azomethingruppe läßt erkennen, daß die homologe Reihe der Azomethinderivate die niedrigsten Klärpunkte hat. Allgemeine Gesetze über die Schmelzpunktsfolgen gibt es aber nicht, am allerwenigsten bei den Anfangsgliedern homologer Reihen.

Wir synthetisierten Azomethine der Reihe (2) nach bekannter Methode durch Kondensation des aromatischen Aldehyds



	R ¹	R ²	Fp. (°C)	Klärpunktverhalten (°C)
(a)	CH ₃ O	H	60–63 [3]	isotrop
(b)	CH ₃ O	CH ₃	92–93 [4]	38 (monotr. nemat.)
(c)	CH ₃ O	C ₂ H ₅	57	28 (monotr. nemat.)
(d)	CH ₃ O	<i>n</i> -C ₃ H ₇	42	57 (enantiotr. nemat.)
(e)	C ₂ H ₅	CH ₃	94	80 (monotr. nemat.)
(f)	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	67	70 (enantiotr. nemat.)
(g)	C ₂ H ₅	<i>n</i> -C ₃ H ₇	76	97 (enantiotr. nemat.)
(h)	CH ₃	CH ₃	92–93	isotrop
(i)	C ₂ H ₅	CH ₃	49	isotrop
(j)	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉ O	<i>n</i> -C ₃ H ₇	51	74/84 (smekt. I/II)
(k)	CH ₃ O	<i>n</i> -C ₄ H ₉	20	41 (enantiotr. nemat.)
(l)	C ₂ H ₅ O	<i>n</i> -C ₄ H ₉	36	80 (enantiotr. nemat.)
(m)	CH ₃	OC ₄ H ₉	80	71 (monotr. nemat.)

mit dem Alkylanilin. [(2a)^[3] und (2b)^[4] sind bekannt.] Aus dem Gang der Fest- und Klärpunkte war nicht mit Sicherheit abzuleiten, daß die *n*-Butylverbindungen (2k) und (2l) die gewünschten Eigenschaften haben (*).

(2k) und (2l) wurden durch Kondensation von *p*-Methoxy- bzw. *p*-Äthoxybenzaldehyd mit *p*-*n*-Butylanilin dargestellt. Nach üblicher Aufarbeitung wurde (2l) mehrfach aus Äthanol umkristallisiert, (2k) konnte durch Destillation im Hochvakuum in ca. 80% Ausbeute erhalten werden. Gabler^[5], der diesen Verbindungstyp kurz erwähnte, hat nur Glieder mit langer Alkoxykette (C₈ und C₉) und mit R² < C₄H₉ dargestellt. Diese zeigten ebenso wenig Besonderheiten wie die mit (2k) isomere Schiffsche Base (2m).

Da die Verbindung (2k) leicht zugänglich ist, erlaubt sie Untersuchungen ihres physikalischen Verhaltens, die bei hochschmelzenden Verbindungen nur unter apparativen Schwierigkeiten (Thermostatisierung) möglich sind. So konnte der „dynamic scattering“-Effekt^[6] auch für (2k) von uns nachgewiesen werden, das Phänomen der von einem elektrischen Feld verursachten verstärkten Vorwärtsstreuung des einfallenden Lichtes. Der Effekt wird technisch für Ziffernanzeigen etc. ausgenutzt. (2k) ermöglicht es auch, bei Raumtemperatur Strukturen auf der Oberfläche von mechanisch beanspruchtem Kunststoff oder Glas sichtbar zu machen. Es handelt sich hier offenbar um „Epitaxie“-Effekte, wie sie zur Herstellung von Polarisationsfolien ausgewertet worden sind^[7].

(2k) eignet sich auch als Lösungsmittel für die von Saupe^[8] beschriebene Technik der NMR-Spektroskopie (direkte Spin-Spin-Kopplung in der nematischen Phase).

Von Interesse war es schließlich auch, cholesterinische Mischphasen mit (2k) herzustellen und auf ihre Eignung in der Thermotopographie^[9,10] zu untersuchen. Es ist bekannt, daß nematische Phasen durch Zusatz optisch aktiver, cholesterinischer Komponenten ebenfalls cholesterinisch werden.

Zusatz von (2k) bewirkt, daß zwar die typische cholesterinische Reflexionsfarbe auftritt, diese sich jedoch nicht wie es für manche Mischungen und Mischungsverhältnisse charakteristisch ist bei Temperaturerhöhung nach Violett verschiebt. In Mischungen aus (2k) und Cholesterylbenzoat, -methylcarbonat, -nonanoat und -oleat bildet sich nach Abkühlen unter den Klärpunkt eine cholesterinische Phase. Diese zeigt — allein vom Mischungsverhältnis abhängig — in einem weiten Temperaturbereich eine praktisch unveränderliche Re-

flexionsfarbe. Ehe sie um 0°C verschwindet, verschiebt sie sich vorher ein wenig nach Violett. Diese Versuche wurden mit rückseitig geschwärzten Deckgläsern auf einer Kofler-Heizbank ausgeführt.

Die Mischungen verhalten sich ähnlich wie binäre Mischungen im Fall $\beta > \beta_0$ ^[9]. (β_0 ist die Zusammensetzung einer binären cholesterinischen Mischung, bei welcher die Abhängigkeit zwischen Reflexionsfarbe und Temperatur das Vorzeichen wechselt.) Oberhalb β_0 verschiebt sich die Wellenlänge des reflektierten Lichtes mit steigender Temperatur nach Rot, mit fallender Temperatur nach Blau. Während die Mischung aus (2k) und Cholesteryloleat wochenlang beständig bleibt, kristallisieren die drei anderen Ester rasch aus.

Eingegangen am 15. August 1969,
ergänzt am 1. Oktober 1969 [Z 91]

[*] Dr. H. Kelker und Dr. B. Scheurle
Farbwerke Hoechst AG
623 Frankfurt/Main 80

[**] Nachtrag b. d. Korrektur: Das nächsthöhere Homologe, *N*-(*p*-Methoxybenzyliden)-*p*-*n*-pentylanilin, schmilzt bei 38°C zur nematischen Phase, der Klärpunkt liegt bei 58°C.

[1] D. Vorländer: Chemische Kristallographie der Flüssigkeiten. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig 1924; C. Weygand: Chemische Morphologie der Flüssigkeiten und Kristalle. Hand- u. Jahrbuch der chem. Physik. Bd. 2, Abschn. III C; G. W. Gray: Molecular Structure and the Properties of Liquid Crystals. Academic Press, New York 1962; W. Kast in Landolt-Börnstein, 6. Aufl., Bd. II/2a, S. 288.

[2] H. Kelker u. B. Scheurle, J. Physique, im Druck.

[3] O. Anselmino, Ber. dtsch. chem. Ges. 40, 3473 (1907).

[4] O. J. Steinhart, Liebigs Ann. Chem. 241, 338 (1887).

[5] R. Gabler, Dissertation, Universität Leipzig 1939.

[6] G. H. Heilmeyer, L. A. Zanon u. L. A. Barton, Appl. Physics Letters 13, 46 (1968); R. Williams, J. chem. Physics 39, 384 (1963).

[7] J. F. Dreyer, US-Pat. 2524286 (1950); US-Pat. 2544659 (1951), beide Polacoat Comp.

[8] A. Saupe, Angew. Chem. 80, 99 (1968); Angew. Chem. internat. Edit. 7, 97 (1968).

[9] J. Adams, W. Haas u. J. Wysocki, Physic. Rev. Letters 22, 92 (1969).

[10] J. L. Ferguson, Sci. American 211, 77 (1964).

Polyäthylenglykol zur Anreicherung und Kristallisation von L-Asparaginase

Von O. Wagner, K. Bauer, E. Irion, E. Rauenbusch, W. Kaufmann und A. Arens^[*]

Zur klinischen Erprobung der Antilymphomwirkung der L-Asparaginase (EC 3.5.1.1.) vom Typ II aus *E. coli*^[1] wurde das Enzym in großer Reinheit und in erheblichen Mengen benötigt. Das intracelluläre Enzym läßt sich nach Behandlung der Zellen mit Aceton mit Wasser extrahieren und mit Aceton ausfällen. Diese Rohasparaginase enthält 12–18 Einh./mg Protein^[2]. Wir fanden, daß mit einer 50-proz. wäßrigen Polyäthylenglykol-Lösung (mittleres Molekulargewicht 1550) eine außerordentlich selektive Fraktionierung zu sehr reinen, spontan kristallisierenden Präparaten gelingt^[3].

Tabelle 1. Fraktionierung von L-Asparaginase (Asparaginase A) aus *E. coli* ATCC 9637; Ansatz: 3000 l Kulturbühe. Für die 1.–3. Fraktionierung wurde jeweils 10-proz. Enzymlösung verwendet.

	Poly- äthylenglykol (%)	Ausb. (g)	Spez. Aktivität (Einh./ mg Protein)	Gesamt- aktivität (Einh.)	Ausb. (%)
Rohenzym	—	380	17	4960000	100
1. pH = 8.5 3mol/l Harnstoff	17–33	81	63	4210000	85
2. pH = 5.1	8–12	22.8	137	2780000	56
3. pH = 5.1	3.8–7.0	6.7	248	1530000	31

Die Ausfällung der Asparaginase aus wäßrigen Lösungen bei niedriger Salzkonzentration mit Polyäthylenglykol ist weitgehend pH-unabhängig. Eine Verfeinerung der Fraktionierung gelingt durch Harnstoffzusatz (3 mol/l) und durch Fällung in der Nähe des isoelektrischen Punktes (I.P.) bei pH \approx 5 (s. Tabelle 1).

Asparaginase-Präparate ab 180 Einh./mg sind durch vorsichtiges Ausfällen am I.P. mit Polyäthylenglykol-Lösung kristallin erhältlich. Die Züchtung gut ausgebildeter Kristalle (Nadeln) gelingt besonders leicht durch Fällung mit einer Mischung aus 50 g Polyäthylenglykol (mittleres Molekulargewicht 6000), 25 ml Wasser und 25 ml Methanol. Die so erhaltene kristalline L-Asparaginase hat eine spezifische Aktivität von 280 Einh./mg Protein^[4], die sich durch weiteres Umkristallisieren nicht erhöhen läßt.

Die L-Asparaginase aus Stamm 9637 und Stamm 11303 unterscheiden sich in ihrer elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit. Durch geringfügige Änderung der Fraktionierungsgrenzen (s. Tabelle 1) ist auch aus Stamm ATCC 11303 kristalline L-Asparaginase (Asparaginase B) zugänglich. Unser Verfahren^[5] liefert die gleichen L-Asparaginase wie die säulenchromatographische Aufarbeitung der Roh-asparaginase aus den beiden Bakterien-Stämmen.

Eingegangen am 15. September 1969 [Z 94]

[*] Dr. O. Wagner, Dr. K. Bauer, Dr. E. Irion, Dr. E. Rauenbusch, Dr. W. Kaufmann und Dr. A. Arens Biochemisches Laboratorium der Farbenfabriken Bayer AG 56 Wuppertal-Elberfeld, Friedrich-Ebert-Straße 217

[1] H. A. Campbell, L. T. Mashburn, E. A. Boyse u. L. I. Old, Biochemistry 6, 721 (1967).

[2] K. Bauer, A. Arens, E. Rauenbusch, E. Irion, O. Wagner, W. Kaufmann, W. Scholtan u. S. Y. Lie, Abstracts 6. FEBS Meeting, Madrid 1969, Nr. 246; A. Arens, E. Rauenbusch, E. Irion, O. Wagner, K. Bauer u. W. Kaufmann, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., im Druck.

[3] Polyäthylenglykol wurde erstmals zur Plasmafraktionierung verwendet: P.-A. Albertsson: Partition of Cell Particles and Macromolecules. Wiley, New York 1960, S. 155; A. Polson, G. M. Potgieter, I. F. Largier, G. E. F. Mears u. F. I. Joubert, Biochim. biophysica Acta 82, 463 (1964).

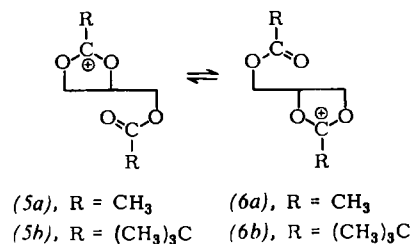
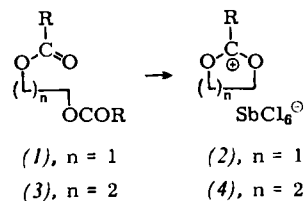
[4] K. Bauer, Med. Klinik 64, 9 (1969).

[5] O. Wagner, K. Bauer, W. Kaufmann, E. Rauenbusch, A. Arens u. E. Irion, Dtsch. Pat.-Anm. Nr. P 1642615.6 (1967), Farbenfabriken Bayer AG.

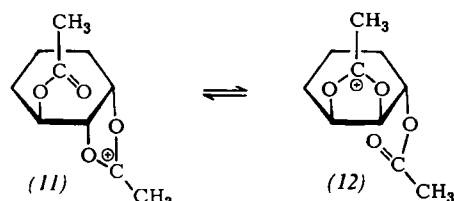
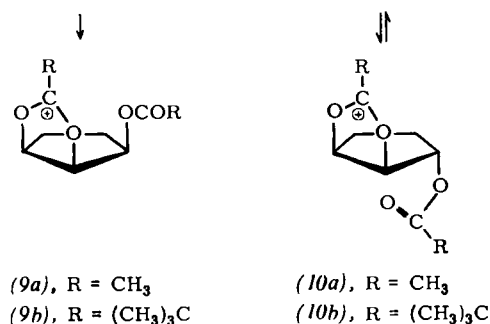
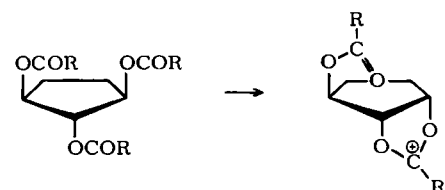
Valenzisomerie bei Acyloxonium-Kationen von 1,2,3-Triolen. Einfache Darstellung von Acyloxonium-Salzen^[1]

Von H. Paulsen und H. Behre^[*]

Eine einfache, allgemein anwendbare Darstellungsmethode für Acyloxonium-Salze^[2,3] vom Typ (2) und (4) fanden wir in der Umsetzung von 1,2- oder 1,3-Diolesteren (1) bzw. (3) mit SbCl₅ in CH₂Cl₂. Die Reaktion verläuft eindeutig unter Nachbargruppenbeteiligung und Abspaltung eines Carboxylations, denn von Diestern cyclischer Diöle reagiert nur die *trans*-Form; so erhielten wir Acetoxonium-Salze aus den Essigsäureestern von *trans*-1,2-Cyclopentandiol (56%); *trans*-1,2-Cyclohexandiol (25%); *trans*-1,3-Cyclopentandiol (40%); *trans*-1,3-Cyclohexandiol (59%). Je nach Nachbargruppenaktivität und Stereochemie der Verbindung kristallisieren die Salze in wenigen min bei Raumtemperatur oder nach bis zu 48 Std. Erhitzen bei 40°C aus. Aus (1) bzw. (3) werden (geordnet nach abnehmender Reaktivität) erhalten an (2): R = CH₃ (55%, 5 min bei 20°C), C₂H₅ (56%, 5 min bei 20°C), tert.-Butyl (60%, 5 min bei 20°C), C₆H₅ (65%, 1 Std. bei 20°C), *p*-C₆H₄CH₃ (56%, 24 Std. bei 40°C), *p*-C₆H₄OCH₃ (70%, 48 Std. bei 40°C) bzw. an (4): R = CH₃ (48%, 3 Std. bei 40°C), C₆H₅ (51%, 5 Std. bei 40°C), *p*-C₆H₄CH₃ (67%, 12 Std. bei 40°C), *p*-C₆H₄OCH₃ (69%, 48 Std. bei 40°C). Die Acetyl- und Pivaloyl-Verbindungen reagieren jeweils am schnellsten.



Ester cyclischer Triole bilden dann Acyloxonium-Salze, wenn sie wie (7) *trans*-Diol-Gruppierungen enthalten. — Aus Glycerintriacetat entsteht ein (5a)-Salz. Das Kation (5a) ist interessant, da es sich in einer *trans*-Öffnungsreaktion in das Kation (6a) umwandeln kann, welches mit (5a) identisch ist.



Das NMR-Spektrum von (5a) in CD₃NO₂ weist bei Raumtemperatur ein scharfes Acetoxonium-Methyl-Signal (τ = 6.95) bei niedriger Feldstärke und ein normales Acetyl-Methyl-Signal (τ = 7.84) auf. Beim Erwärmen verbreitern sich beide Signale und koaleszieren bei 105°C.

Es findet jetzt eine im Sinne der NMR-Zeitskala schnelle reversible Umwandlung (5a) \rightleftharpoons (6a) statt. Beim Pivaloxonium-Ion (5b) läßt sich die Umwandlung noch besser beobachten, da die Frequenzaufspaltung beider tert.-Butylsignale kleiner und die Koaleszenztemperatur (87°C) somit niedriger ist, so daß weniger Zersetzungsreaktionen die Untersuchung stören. Die Umwandlungen (5) \rightleftharpoons (6) können als Valenzisomerie eines Kations angesehen werden (ΔG^\ddagger -Werte s. Tabelle 1).

Ester des (1,3/2)-Cyclopentantriols (7) können mit SbCl₅ zum Acyloxonium-Kation (8) oder (9) reagieren. Das Triacetat