

braunrother Farbe, welche auf Wasserzusatz in orangegelb umschlägt. Letztere Nuance ist etwas rothstichiger als diejenige des Isomeren.

Die beiden so in reinem Zustande dargestellten Acetylisorosinduline wurden durch Erwärmen mit 50-procentiger Schwefelsäure auf dem Wasserbade verseift und die erhaltenen, nach dem Verdünnen mit dem vierfachen Volum Wasser goldgelb gefärbten Lösungen mit Ammoniumcarbonat neutralisirt, wobei die kupferglänzenden Blättchen eine violettblaue, die rothen Tafeln eine grünlich-blaue Lösung ergaben. Durch festes Bromnatrium konnten aus denselben mit Leichtigkeit die festen Bromide krystallinisch abgeschieden und durch einmaliges Krystallisiren aus heissem Wasser vollkommen rein erhalten werden.

Wie bereits betont, zeigten sich die beiden so dargestellten Isorosinduline durchaus identisch mit zwei auf anderen Wegen erhaltenen, genau bekannten Isomeren. Das blauviolette wurde in sämtlichen Eigenschaften identificirt mit dem von Kehrman und Filatoff durch Nitriren und Reduction des Phenylaphtophenazoniums erhaltenen Isorosindulin No. 9¹⁾, während das grünlichblaue seinerseits durchaus identisch mit dem Isorosindulin No. 12 sich erwiesen hat, welches in einer der vorangehenden Mittheilungen beschrieben ist³⁾ und durch Nitriren und Reduciren von Phenylisonaphtophenazonium dargestellt worden war.

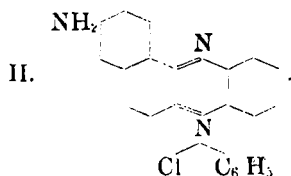
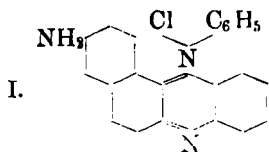
Genf, Universitätslaboratorium, 26. October 1900.

547. F. Kehrman und M. Silberstein: Ueber das 13. Isomere des Rosindulins.

(Eingegangen am 9. November.)

Allgemeiner Theil.

Durch Condensation von 6-Acetamino- β -naphthochinon mit Phenyl-orthophenylendiamin entsteht leider, wie früher²⁾ gefunden wurde, nur das Derivat des Phenylisonaphtophenazoniums (Formel I). Zur Darstellung des analogen Derivates des Phenylaphtophenazoniums (Formel II) haben wir einen weiten Umweg einschlagen müssen, der uns jedoch schliesslich zum Ziele geführt hat.

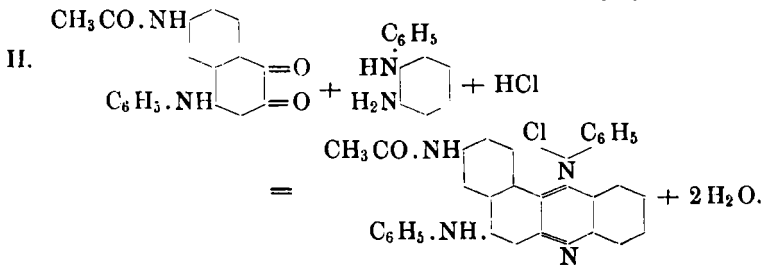
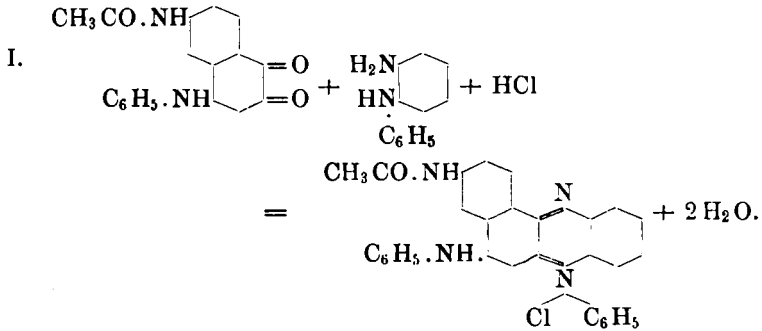


¹⁾ l. c.

²⁾ Diese Berichte 34, 927.

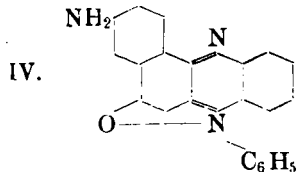
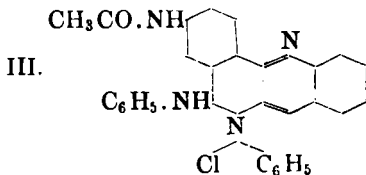
³⁾ S. 3278.

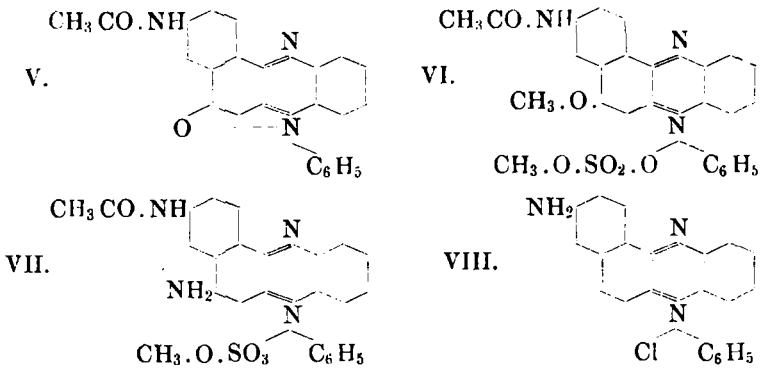
Das früher beschriebene 4-Anilino-6-Acetamino- β -naphthochinon condensirt sich mit Phenylorthophenylendiamin unter Bildung der beiden theoretisch verlangten Azoniumkörper:



In diesem Falle ist das entsprechend Gleichung II gebildete Derivat des Phenylnaphthophenazoniums Hauptproduct, und es ergab sich das Problem, in demselben den Anilinrest durch Wasserstoff zu ersetzen und dann die Acetamino-Gruppe zu verseifen, wobei das gesuchte Isorosindulin resultiren musste.

Durch Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure unter Druck gelang zunächst die Umwandlung des 8-Acetamino-phenylrosindulins (Formel III) in 8-Amino-rosindon (Formel IV). Dessen Acetylderivat (Formel V) verwandelt sich unter der Einwirkung von Dimethylsulfat in das methylschwefelsaure Salz des 6-Methoxy-8-Acetamino-phenylnaphthophenazoniums (Formel VI), welches seinerseits durch alkoholisches Ammoniak in 8-Acetamino-rosindulin übergeführt werden konnte (Formel VII). Aus Letzterem konnte nunmehr die Amino-Gruppe durch Diazotirung eliminirt und schliesslich der Acetyl-Rest abgespalten werden (Formel VIII).





Experimenteller Theil.

8-Acetamino-phenylrosindulin.

Das nach einer früheren Angabe¹⁾ aus 6-Acetamino- β -naphthochinon und Anilin dargestellte grobkrySTALLINISCHE Anilid wurde behufs Ueberföhrung in m6glichst fein vertheilten, zur Ausföhrung der Condensation geeigneten Zustand in lauwarmer, verdünnter Natronlauge gel6st, filtrirt und durch Zusatz von verdünnter Essigsäure ausgeschieden. Der zuerst gelatin6se Niederschlag geht durch Erwärmen auf dem Wasserbade in mikroskopische Nadelchen über, welche abgesaugt, mit Wasser gewaschen und bei 110° getrocknet wurden.

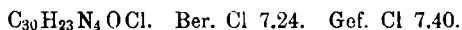
10 g desselben wurden in 100 ccm Eisessig suspendirt, einige Tropfen verdünnte Salzsäure, 1 Mol.-Gew. Phenyl-*o*-phenylendiaminchlorhydrat und circa 100 ccm Wasser hinzugefügt und das Gemisch so lange zum gelinden Sieden erhitzt, bis Alles mit dunkelrother Farbe in Lösung gegangen war. Nun wurde abgeköhlt, mit etwa 5 ccm verdünnter Salzsäure versetzt und die Lösung wöhrend einiger Tage bei gew6hnlicher Temperatur sich selbst überlassen.

Wöhrend dieser Zeit scheidet sich das Chlorid des Acetamino-Prasindons, entstanden durch Abspaltung des Anilin-Restes aus dem Derivat der Iso-Reihe (vergl. Theoret. Theil, Gleichung II), ziemlich vollstündig in Gestalt braunrother Nadelchen aus, wird abgesaugt und mit salzsäurehaltigem Alkohol etwas gewaschen. Von diesem K6rper wird in einer späteren Mittheilung weiter die Rede sein.

Die davon abfiltrirte, fuchsinrothe Lösung wird mit viel Wasser verdünnt und mit festem Kochsalz gesättigt. Hierdurch fällt das Rosindulin-Derivat als anfangs harzige, bald zu metallgrünen Kryställchen erstarrende Masse aus, wird abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und mit siedendem Alkohol in Lösung gebracht, aus

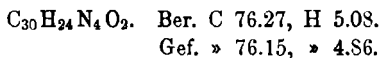
¹⁾ Diese Berichte 31, 2416.

welcher es nach dem Erkalten in goldglänzenden, dunkelrothen, derben Prismen krystallisirt. Die abfiltrirte und eingedampfte Mutterlauge liefert noch einige weitere, ziemlich reine Krystallisationen. Aus 10 g Anilinochinon werden so 6 g ganz reines Chlorid erhalten. Zur Analyse wurde ein Theil, fein gepulvert, bei 120° getrocknet. Die Chlor-Bestimmung wurde mit dem Filtrat der Bichromat-Fällung ausgeführt.



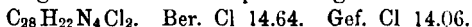
In Wasser löst sich das Salz nur bei Gegenwart einer Spur freier Säure ohne Dissociation mit gelblich-fuchsinrother Farbe, leicht in siedendem Alkohol und Eisessig mit derselben Farbe. Englische Schwefelsäure löst mit gelblich-grüner Farbe, welche auf Wasserzusatz in roth übergeht, worauf das schwer lösliche Sulfat unter Entfärbung der Lösung in goldglänzenden Flittern ausfällt.

Base $C_{30}H_{23}N_4O.OH$. Versetzt man die Lösung des Chlorids in 50-proc. Alkohol mit etwas Sodalösung, so krystallisirt die Base sehr vollständig in braunrothen, messingglänzenden Blättchen. Dieselbe ist in Wasser ganz unlöslich und scheint auffallender Weise bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet der Hydrat-Form zu entsprechen.

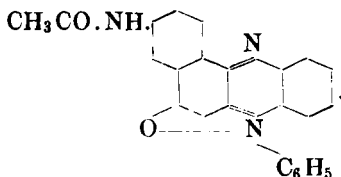


8-Amino-Phenylrosindulin.

Das Chlorid entsteht aus dem Vorigen durch Einkochen der mit etwas Salzsäure versetzten alkoholischen Lösung auf ein kleines Volumen und krystallisirt nach dem Erkalten in derben, grünglänzenden Krystallen, welche in Wasser und Alkohol ohne Dissociation mit fuchsinrother Farbe leicht löslich sind. Englische Schwefelsäure löst mit dunkelgrüner Farbe, welche durch Verdünnen mit Wasser fuchsinroth wird. Aus überschüssige Salzsäure enthaltenden Lösungen krystallisirt das Dichlorhydrat. Dasselbe wurde bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet.



8-Acetamino-Rosindon,



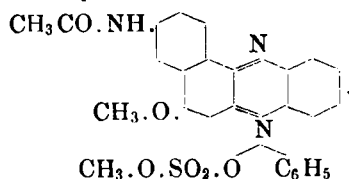
Zur Darstellung des 8-Amino-rosindons zeigte sich, nach mehreren vergeblichen Versuchen, folgendes Verfahren brauchbar.

Je 0.2 g des 8-Acetamino-phenylrosindulinchlorhydrats wurden mit 10 ccm 10-proc. Schwefelsäure im Einschmelzrohr während 2—3

Stunden auf 175–180° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde dann der Röhreninhalt, welcher eine ziemlich klare, braunrothe Lösung bildete, abfiltrirt und das Filter mit heisser, sehr verdünnter Schwefelsäure gewaschen. Die von mehreren Röhren herrührenden Filtrate wurden dann vereinigt und mit Ammoniumcarbonat neutralisirt, wobei das noch unreine Aminorosindon in Gestalt eines rothbraunen, flockig krystallinischen Niederschlages ausfiel. Derselbe wurde nach dem Absaugen, Waschen mit Wasser und Trocknen mit nicht zu viel Essigsäureanhydrid übergossen und eben bis zum Sieden erhitzt. Schon in der Hitze scheidet sich die Hauptmenge des Acetamino-Rosindons in Gestalt zinnberrother, körniger Krystalle aus, während etwas Aminophenylrosindolin in Lösung bleibt. Nach dem Erkalten saugt man ab, wäscht mit etwas Essigsäureanhydrid und dann mit Aether. Das so dargestellte Rosindon-Derivat eignet sich zur Verarbeitung. Um daraus ein analysenreines Product zu erhalten, krystallisirte man einen Theil aus kochendem Essigsäureanhydrid, aus welchem Lösungsmittel ziegelrothe, metallgrün glänzende, hübsche Nadeln erhalten wurden. Dieselben verändern sich nicht bei 310° und sind in Wasser unlöslich, schwer löslich in Alkohol, Aether, Benzol, gut löslich in Eisessig und besonders in Nitrobenzol mit gelblich-rother Farbe und starker rother bis grüngelber Fluorescenz. Englische Schwefelsäure löst mit schmutzig-violetter Farbe, welche auf Wasserzusatz in gelb und schliesslich in ziegelroth übergeht, indem das Rosindon ausfällt. Zur Analyse wurde der Körper bei 120° getrocknet.

$C_{24}H_{17}N_3O_2$. Ber. N 11.09. Gef. N 11.05.

Methylsulfat des 8-Acetamino-6-Methoxy-phenylnaphtophenazoniums,



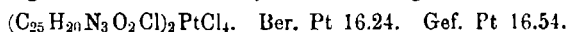
Wie der Eine von uns¹⁾ gefunden hat, lagert sich Methylsulfat in Nitrobenzol-Lösung mit der grössten Leichtigkeit an die Körper der Rosindon-Gruppe an unter Sprengung der Brücken-Sauerstoff-Bindung und glatter Bildung von Methoxyazonium-Verbindungen. Die Reaction entspricht vollkommen der von Fischer und Hepp²⁾ aufgefundenen Addition der Halogenmethyle an Körper vom Aposafuran- und Rosindon-Typus. Da Letztere jedoch gerade beim Rosindon selbst zu versagen scheint, während diese Substanz Methylsulfat sehr glatt

¹⁾ Unveröffentlichte Beobachtung. ²⁾ Diese Berichte 31, 299.

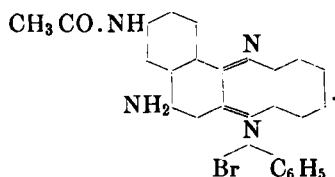
addirt¹⁾, so haben wir uns auch in diesem Falle des Sulfats bedient und sind so ohne Schwierigkeit zum Ziel gelangt.

Die ziegelrothe, stark fluorescirende, 150° heisse Lösung des Acetaminorosindons in Nitrobenzol färbt sich nach Zusatz von etwas überschüssigem Methylsulfat schnell intensiv goldgelb mit grünlichgelber, sehr starker Fluorescenz. Auf Zusatz von viel Aether zur abgekühlten Lösung fällt das Additionsproduct vollständig als orange-farbenes Krystallpulver aus, welches in Wasser und Alkohol mit goldgelber Farbe und gelbgrüner Fluorescenz leicht, in Aether unlöslich ist. Versetzt man die Lösung mit einem Tropfen Lauge und kocht auf, so wird Acetaminorosindon zurückgebildet; die gleiche Zersetzung tritt auch durch längeres Kochen der wässrigen neutralen Lösung ein. Englische Schwefelsäure löst mit violetter Farbe, welche auf Wasserzusatz goldgelb wird.

Das Platindoppelsalz bildet einen orangegelben flockigen Niederschlag, welcher zur Analyse bei 130° getrocknet wurde.



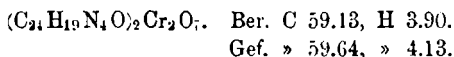
8-Acetaminorosindulinbromid,



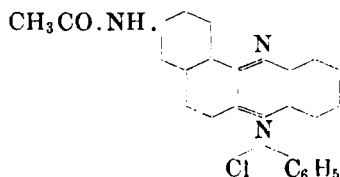
Das vorstehend beschriebene Additionsproduct wurde fein gepulvert, in Alkohol suspendirt und nach Zusatz von etwas wässrigem Ammoniak langsam bis zum beginnenden Sieden erwärmt. Die anfangs goldgelbe Lösung wurde schnell rosindulinroth, indem sich das Additionsproduct klar auflöste. Die Lösung wurde hierauf in einer flachen Schale der freiwilligen Verdunstung bei gewöhnlicher Temperatur überlassen und der Rückstand wiederholt mit kleinen Mengen siedenden Wassers extrahirt, welches das Rosindulinderivat auflöst, während eine Spur zugleich entstandenes Rosindon zurückbleibt. Auf Zusatz von festem Bromnatrium zur rothen Lösung fiel das Bromür des Acetaminorosindulins als ziegelrothes Pulver aus, welches nach dem Absaugen und Waschen mit ganz wenig Wasser aus siedendem Alkohol umkrystallisirt wurde. Man erhielt so ziegelrothe, metallisch grün glänzende Nadeln, die in Wasser leicht, in Alkohol ziemlich schwer mit gelblichrother Farbe und ziegelrother Fluorescenz löslich sind. Englische Schwefelsäure löst mit braungrüner Farbe, welche durch Verdünnen mit Wasser zunächst rein grün und dann rosindulinroth wird.

¹⁾ l. c.

Das Bichromat fällt aus der wässrigen Lösung des Bromürs als rothes, in Wasser unlösliches, krystallinisches Pulver, welches zur Analyse bei 120—130° getrocknet wurde.



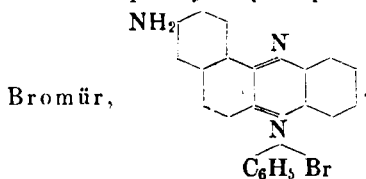
8-Acetamino-phenylnaphthphenazoniumchlorid,



Das trockne und gepulverte Bromid des 8-Acetaminorosindulins wurde in einem trocknen Kölbchen mit soviel eines Gemisches von zwei Theilen englischer Schwefelsäure und einem Theil Wasser übergossen, dass beim Umschütteln Alles in Lösung ging. Nun wurde unter Eiskühlung und gutem Mischen tropfenweise concentrirte wässrige Natriumnitritlösung hinzugefügt, wobei die Farbe der Flüssigkeit in braunroth umschlug. Tritt keine Farbenänderung mehr ein, so wird, immer unter Eiskühlung, die Lösung des entstandenen Diazokörpers in das doppelte Volumen Alkohol gegossen, wobei die Flüssigkeit unter Stickstoffentwicklung eine orangegelbe Farbe annimmt. Nach 5 Minuten wird zunächst mit etwas verdünnter Salzsäure und dann mit concentrirter wässriger Eisenchloridlösung in starkem Ueberschuss versetzt, wobei das Eisenchloriddoppelsalz der Azoniumverbindung als rothbraunes Pulver ausfällt. Dieses wird abgesaugt, mit Kochsalzlösung gewaschen, unter Erwärmen in Wasser gelöst, abgekühlt und aus der Lösung das Eisen gefällt, indem man vorsichtig Natriumcarbonatlösung bis zur ganz schwach sauren Reaction hinzusetzt. Aus der möglichst schnell vom Eisenniederschlag durch Filtriren in einen ein paar Tropfen Salzsäure enthaltenden Kolben befreiten Lösung wird das Chlorid durch festes Kochsalz als orangerothes Pulver gefällt. Dasselbe zeigt die folgenden Reactionen. Es ist in kaltem Wasser schwer, in heissem leicht mit orangerother Farbe löslich und lässt sich durch wenig Kochsalz sehr vollkommen aussalzen. Salpetersäure fällt selbst aus verdünnten Lösungen das Nitrat in Gestalt mikroskopischer rother Nadelchen. Die orangerothe alkoholische Lösung zeigt schwach gelbe Fluorescenz. Englische Schwefelsäure löst mit fuchsinrother Farbe, welche durch Verdünnen mit Wasser in orange-gelb umschlägt.

Isorosindulin No. 13.

Salze des 8-Amino-phenylnaphtophenazoniums.



Entsteht aus dem Vorigen durch vorsichtiges Erwärmen mit 50-procentiger Schwefelsäure, Verdünnen mit Wasser, Neutralisiren mit Natriumcarbonatlösung, Aussalzen mit festem Bromnatrium und Reinigen des grünlich-grauen Niederschlags durch Auflösen in wenig Wasser, Filtriren und Fällen mit concentrirter Bromnatriumlösung. Man erhielt so dunkel graugrüne Nadelchen, welche sich in Wasser mit braunrother, in Alkohol mit dunkelgrüner Farbe leicht lösen. Englische Schwefelsäure löst mit blutrother Farbe, welche auf Wasserzusatz unter Bildung des zweisäurigen Salzes grünlichgelb und erst durch Neutralisiren braunroth wird. Das Salz ist sehr unbeständig und geht beim Kochen seiner Lösungen ziemlich schnell unter Oxydation in Aminorosindon über. Seine grüne alkoholische Lösung wird auf Zusatz von etwas Ammoniak bald gelblichroth unter Bildung von Aminorosindulin.

Die beiden letzt-beschriebenen Substanzen konnten leider in Folge des grossen, durch die vielen Umwandlungen bedingten Materialverlustes nicht in zur Analyse genügenden Quantitäten erhalten werden. Dieselben sollen daher von Neuem dargestellt, analysirt und zugleich besser untersucht werden.

Genf, 4. November 1900. Universitätslaboratorium.

548. Eduard Buchner: Zymase aus getödteter Hefe.

[Aus dem chem. Laboratorium der Landwirthschaftl. Hochschule zu Berlin.]

(Vorgetragen in der Sitzung von Hrn. E. Buchner.)

Unter der Ueberschrift: »Neuer Beweis für die Existenz der Zymase« habe ich vor drei Jahren einen Versuch veröffentlicht¹⁾, wozu nach sorgfältig getrocknete und sodann getödtete Bierhefe beim Mischen mit steriler Zuckerlösung eine beträchtliche Gährwirkung auszuüben vermag. Diese Beobachtung, ein schwer wiegendes Argument zu Gunsten der Annahme eines Gährung erregenden Enzymes in der Hefezelle und gegen die Plasmahypothese, ist jetzt durch ausführlichere

¹⁾ Diese Berichte 30, 1112.