

20.785 mg Sbst: 45.650 mg CO<sub>2</sub>, 8.165 mg H<sub>2</sub>O. — 23.775 mg Sbst.: 4.3 ccm N (14°, 721 mm).

C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>N<sub>6</sub>. Ber. C 60.3, H 4.3, N 20.1.  
Gef. » 59.9, » 4.4, » 20.2.

*Methyl-phenyl-chinoxalin*. Kocht man  $\alpha$ -Oxy-propiofenon mit überschüssigem *o*-Phenylendiamin in Eisessig einige Minuten und versetzt die Flüssigkeit nach dem Erkalten mit Wasser, so scheidet sich eine halb feste, weiße, flockige Masse aus, die sich nach dem Abpressen auf Ton aus sehr verdünntem Methylalkohol oder Petroläther umkrystallisieren läßt.

Weit glatter gewinnt man den gleichen Körper, wenn man vom Acetyl-benzoyl ausgeht und beispielsweise 1 g dieses Diketons mit 2.4 g salzsaurem *o*-Phenylendiamin und 1.8 g kryst. Natriumacetat in wenig Eisessig kurz aufkocht. Schon beim Erkalten scheidet sich das Chinoxalinderivat in feinen Nadelchen aus; der Rest wird durch Ausspritzen der Mutterlauge mit Wasser gewonnen.

Der Körper bildet verfilzte, weiße Nadelchen vom Schmp. 57—58°. In Petroläther ist er mäßig löslich, leicht in den meisten anderen organischen Mitteln. Von konzentrierter Schwefelsäure wird er mit goldgelber Farbe aufgenommen und fällt beim Verdünnen mit Wasser, noch leichter auf Zusatz von Alkali, unverändert wieder aus.

0.1885 g Sbst.: 20.4 ccm N (17°, 756 mm).

C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>. Ber. N 12.7. Gef. N 12.4.

Marburg, Chemisches Institut.

**158. W. Madelung: Die Theorie der Benzidin-Oxydation in ihrer Bedeutung für Peroxydase-Untersuchungen. Erwiderung auf die gleichnamige Mitteilung von Frl. Woker.**

(Eingegangen am 19. Juni 1917.)

Auf meine Bemerkungen<sup>1)</sup> zu der mit dem obigen Titel veröffentlichten Abhandlung<sup>2)</sup> von Frl. Woker hat die Verfasserin im 8/9. Hefte dieser Berichte eine Antwort<sup>3)</sup> erteilt, die mich zwingt, auf den Gegenstand nochmals zurückzukommen.

Zunächst muß ich es angesichts der Darstellung der Verfasserin in Abrede stellen, daß ich jemals für das bei der Peroxydase-Reaktion entstehende blaue Oxydationsprodukt des Benzidins eine höhere Oxydationsstufe als die eines jeweils zuerst entstehenden halbchinoiden

<sup>1)</sup> B. 50, 105 [1917].

<sup>2)</sup> B. 49, 2319 [1916].

<sup>3)</sup> B. 50, 672 [1917].

Farbsalzes angenommen hätte. Insofern es sich nur um die Zusammensetzung dieses Oxydationsproduktes handelt, hat immer Übereinstimmung meiner Auffassung mit der von der Verfasserin vertretenen bestanden, und sie hätte es für ihre Zwecke gar nicht nötig gehabt, sich mit der von mir berührten Frage zu befassen, ob es auch stark gefärbte *holo*-chinoide Oxydationsprodukte gibt.

Ich habe nämlich nur für die bei Einwirkung direkter Oxydationsmittel aus den halbchinoiden Imoniumsalzen sich bildenden, noch tiefer als diese gefärbten Verbindungen *holo*-chinoide Konstitution in Betracht gezogen und bin deshalb von Frl. Woker angegriffen worden.

Ich hätte es vermieden, mich über eine rein theoretische Frage, wie über die Bedingungen der Existenzfähigkeit stark gefärbter *holo*-chinoider Verbindungen, die mit dem Thema der Überschrift nur in mittelbarer Beziehung stehen, ausführlicher zu äußern, hätte die Verfasserin mir nicht auf Grund der Arbeiten anderer Autoren die Berechtigung meines früher<sup>1)</sup> vertretenen Standpunktes kategorisch bestritten, ohne selber etwas Neues von Belang für die Beurteilung dieser Frage vorzubringen.

Derart verwickelte Fragen lassen sich aber bei dem jetzigen Stand unserer Kenntnisse nicht nach einem einfachen Schema erledigen und lassen eine Reihe verschiedener Deutungen zu. Ich habe mich denn auch nicht so sehr gegen die Möglichkeit, als gegen die Wahrscheinlichkeit der von Frl. Woker vertretenen besonderen Auffassung gewendet, gleichzeitig die Gelegenheit benutzt, meine in der von ihr erwähnten Mitteilung<sup>4)</sup> nur angedeutete Ansicht über die Konstitution dieser tiefst gefärbten Verbindungen in nicht polemischer Weise zu begründen.

Prinzipielle Übereinstimmung unserer Auffassungsweise wird man deshalb, weil ich die Möglichkeit verschiedener Deutungen eingeräumt habe, doch nur bei recht weitherziger Auslegung dieses Begriffes finden können.

Meine Einwände gegen die Annahme *meri*-chinoider Verbindungen mit Halogenimin als Bestandteil dürfte Frl. Woker mißverstanden haben. Wenn es in meiner Mitteilung heißt, daß »Diphenochinon-halogenimine mit überschüssigem Benzidin unter Bildung des entsprechenden halbchinoiden Imoniumsalzes reagieren«, so widerspricht das durchaus nicht, wie Frl. Woker meint, meiner Vermutung, daß »zwei Verbindungen von so verschiedenem Energiegehalt wie Benzidin und Diphenochinon-halogenimin nicht mit einander vereinigt sein kön-

<sup>1)</sup> B. 44, 626 [1911].

nen, ohne daß irgend ein Energieausgleich zwischen den beiden Teilen der entstehenden Doppelverbindung einträte«. Mit anderen Worten läßt sich der Satz ausdrücken, wenn man sagt, daß in dem entstehenden Reaktions- oder Vereinigungsprodukt nicht die eine Hälfte noch als Amin, die andere als Halogenimin erhalten bleibt, da das Halogenimin wie alle Halogenstickstoff-Verbindungen eine energisch Halogen übertragende Verbindung ist und das leicht angreifbare Diamin kaum unverändert lassen dürfte.

Die unbestrittene Existenz halbchinoider Imoniumsalze erbringt doch jedenfalls nicht, wie Frl. Woker meinen Sätzen zu entnehmen scheint, irgend einen Beweis für die Existenzfähigkeit solcher Gebilde, wie sie etwa eine halbchinoide Dibromimin-benzidin-Verbindung nach der Wokerschen Formulierung darstellt, es sei denn auf dem Papier.

Ich habe gezeigt, daß der Vorgang der Bildung von Diphenochinon-halogenimin aus dem halbchinoiden Diphenochinon-imoniumsalz mit überschüssigen Halogen und der der Bildung von halbchinoidem Diphenochinon-imoniumsalz aus dem Halogenimin mit überschüssigem Benzidin umkehrbare Reaktionen sind, die in beiden Fällen über Zwischenprodukte von der Zusammensetzung, wenn nicht von der Konstitution der *holo*-chinoiden Imoniumsalze führen müssen. Im Falle des Jodids ist eine solche sonst nur als hypothetisches Zwischenprodukt angenommene Verbindung hinreichend beständig und nachweisbar, da es kein Diphenochinon-dijodimin gibt.

Wenn man nun mit Frl. Woker annehmen will, daß aus halbchinoidem Imoniumsalz und Halogen ein solches Zwischenprodukt dadurch entsteht, daß der schon chinoide Imin-Anteil vor dem nicht-chinoiden Anteil weiter substituiert wird, so liegt kein Grund vor, warum man nicht mit derselben Berechtigung annehmen sollte, daß auch die durch Einwirkung von Halogen auf überschüssiges Benzidin entstehende allgemein als halbchinoides Imoniumsalz betrachtete Verbindung aus dem gleichen Reaktionsmechanismus hervorgegangen und in Wirklichkeit schon eine *meri*-chinoide Verbindung aus Halogenimin mit 2 Mol. Benzidin sei, besonders da ja bei Gegenwart von Salzsäure die Verbindungen *holo*-chinoider wie *meri*-chinoider Zusammensetzung in gleicher Weise unter Bildung von Halogenimin und Benzidiniumsalz zerfallen. Die Möglichkeit der Aufstellung solcher Formelbilder, wie sie Frl. Woker beliebt, ist, wie zugegeben sei, in diesem wie in jenem Falle vollkommen gegeben, hinsichtlich ihrer inneren Wahrscheinlichkeit dürfte wohl aber auch Frl. Woker im zweiten Falle die übliche Deutungsweise bevorzugen.

In Wirklichkeit läßt sich aber in beiden Fällen allein aus Bildungsweise und Zerfall eine Konstitutionsformel nicht begründen, sondern

man kann nur auf Grund allgemeiner Betrachtungsweisen von der Art, wie ich sie versucht habe, dem Verständnis der Konstitution dieser Verbindungen näherzukommen suchen. Nochmals mit theoretischen Ausführungen auf die Frage einzugehen, habe ich keine Veranlassung, auf die Gefahr hin, in diesem oder jenem Punkte bei Frl. Woker kein Verständnis gefunden zu haben.

Auch im zweiten Teil meiner Ausführungen, in dem ich mich gegen die Deutung der Befunde des Hrn. Kjoellerfeldt wandte, bedaure ich, von Frl. Woker nicht verstanden zu sein, da ich nicht mehrere Deutungen gegeben habe, wie sie mir zuschreibt. Ich glaube vielmehr nur die eine einfachste Deutung dieser Befunde darin erblicken zu können, daß in einer Lösung eines Benzidinsalzes, z. B. des Chlorhydrats, in der infolge des hydrolytischen Zerfalls desselben ein Gemisch des Dichlorhydrats, Monochlorhydrats und der Benzidinbase enthalten ist, nur der letzteren die Fähigkeit zur Bildung von Benzidinblau zukommt, und habe diese Ansicht auch mit dem Verhalten von Benzidinlösungen, die gar kein Benzidinsalz enthalten, begründet.

In einer Lösung der Benzidiniumsalze stellt sich in Abhängigkeit von Zeit und Umständen ein Gleichgewicht ein, in der je nach Säuregehalt und Konzentration die verschiedenen Bestandteile in verschiedenen Verhältnissen enthalten sein können. Wenn man von dem basischen Chlorhydrat ausgeht, als das ich auch die von Frl. Woker als aktive Modifikation bezeichnete und als Isomeres des bekannten Dichlorhydrats betrachtete Verbindung ansehe, erhält man natürlich eine relativ größere Menge Benzidinbase in die Lösung, als wenn man von dem Dichlorhydrat ausgeht. Außerdem ist die Säuremenge, die in der Lösung im Sinne der Bildung der für die Peroxydasereaktion unwirksamen Benzidiniumionen wirkt, geringer und wird zudem bei vollständiger Überführung in das halbchinoide Farbsalz, das sich aus wäßriger Lösung ausscheidet, restlos aufgebraucht.

Ich habe mir das basische Chlorhydrat, das man aus äquimolekularen Mengen des Dichlorhydrats und der Benzidinbase durch Krystallisieren aus Wasser leicht in schönen, nadelförmigen Krystallen erhält, dargestellt. Die Verbindung stimmt in ihrem Verhalten in jeder Hinsicht mit der von Frl. Woker beschriebenen, angeblich polymorphen Modifikation des gewöhnlichen Dichlorhydrats überein. So zersetzt sie sich unter Schwärzung beim Versuche, den Schmelzpunkt zu bestimmen, sie ist schwerer löslich als das Dichlorhydrat usw. Die stark saure Reaktion der wäßrigen Lösung zeigt an, daß auch das basische Chlorhydrat weitgehend hydrolytisch gespalten ist.

Vom praktischen Gesichtspunkte für den Blut- und Peroxydasennachweis aus verdient das Monochlorhydrat aus den oben genannten

Gründen vor dem Dichlorhydrat entschieden den Vorzug und könnte auch wohl statt der früher von mir angewandten Lösung der Benzidinbase für die quantitative Bestimmung des von verschiedenen starken Peroxydase-lösungen gebildeten Benzidinblaus Verwendung finden, da die äußerst geringe Löslichkeit der Base immerhin einige Unbequemlichkeiten mit sich bringt. Vom theoretischen Gesichtspunkte zur Beurteilung der Frage nach der aktiven Benzidinform aus ist es jedoch ausschlaggebend, daß die Lösung der Benzidinbase durchaus nicht weniger »farbenaktiv« ist als die irgend eines Benzidiniumsalzes der gleichen Konzentration, sofern man nur die von mir angegebenen Arbeitsbedingungen einhält.

Ich habe schon in meiner letzten Mitteilung gesagt, und es steht durchaus nicht mit meiner Deutung in Widerspruch, daß man durch die Peroxydase-reaktion mit freier Benzidinbase allein keine größeren Mengen Benzidinblau gewinnen kann, selbst dann nicht, wenn Neutralsalze, die die zur Bildung des Benzidinblau-Farbsalzes notwendigen Anionen enthalten, anwesend sind. Dies liegt aber nicht daran, daß zum Eintreten der Reaktion Benzidiniumsalz in der Lösung enthalten sein muß, sondern daran, daß die bei der Bildung von Benzidinblau sonst gleichzeitig auftretenden Hydroxylionen neutralisiert werden müssen, was auch durch so schwach saure Agenzien wie Kohlensäure geschehen kann, die sicher kein Benzidiniumsalz bilden.

Ich möchte nunmehr, nachdem Frl. Woker meine indirekte Aufforderung, diese Frage zu klären, unbeachtet gelassen hat, die direkte und wohl auch berechtigte Frage an sie richten: Ist die von ihr beschriebene und als aktive Modifikation bezeichnete Verbindung ein Dichlorhydrat oder ein Monochlorhydrat? Diese Frage kann, sofern für ihre Beantwortung noch ein Zweifel besteht, durch eine einfache Analyse entschieden werden, und ich kann mich nur wundern, daß die Verfasserin eine Bestimmung der Zusammensetzung der von ihr beschriebenen Substanz nicht schon vor Aufstellung ihrer Theorie ausgeführt hat, trotzdem es doch wohl üblich ist, daß man nicht von Polymorphismus spricht, ehe die Identität der Zusammensetzung einer neuen Verbindung mit dem Ausgangsmaterial feststeht. Ist die Verbindung, wie ich vermute, ein Monochlorhydrat, so ist jedenfalls die Bezeichnung als aktive Modifikation nicht gerechtfertigt, da es dann ja auch eine inaktive Modifikation der gleichen Zusammensetzung geben müßte. Weiter sind aber auch alle Spekulationen, die sich aus einer angenommenen, aber nicht bewiesenen Isomerie ergeben würden, verfehlt. Die Tatsache, daß bei nach einander erfolgender Einwirkung einander entsprechender Mengen von Säuren und Basen die Farbenaktivität verändert wird, erklärt sich nach meiner Ansicht einfach

dadurch, daß das Gleichgewicht der in der Lösung enthaltenen Komponenten verschoben wird und, wie es bei hydrolytisch zerfallenden Verbindungen ganz allgemein gilt, nicht in einfach reversibler Weise rückgängig gemacht werden kann, da unter anderem hier auch das zeitliche Moment eine Rolle spielt. Das gleiche gilt natürlich auch von anderen Chromogenen. Von einer Neutralisation kann man in einem solchen Falle überhaupt nicht reden.

Da keine Anzeichen für die wirkliche Existenz isomerer Benzidiniumsalze vorliegen, spielt auch die ganz gut mögliche, aber auch noch nicht nachgewiesene Assoziation des Benzidins zu Doppelmolekülen keine wesentliche Rolle, wenigstens nicht in dem Sinne, wie Frl. Woker annimmt. Es ist nämlich im Gegensatz zur Auffassung Frl. Wokers nicht unwahrscheinlich, daß eine Polymerisation die Aktivität herabsetzt. Wenn man eine wässrige Lösung der Benzidinbase mehrere Tage stehen läßt, so trübt sie sich unter Abscheidung amorpher Flocken und wird schließlich fast inaktiv.

Für solche Assoziations- und Polymerisationsprodukte Konstitutionsformeln aufzustellen, erscheint hier ebenso gewagt wie bei den zahlreichen Klassen chemischer Verbindungen mit ähnlichem Verhalten. Wenn mich Frl. Woker fragt, warum ich an der Fünfwertigkeit der Stickstoffatome in ihren Formeln Anstoß nehme, so möchte ich nur erwidern, daß man bei Derivaten des Ammoniaks bisher niemals Grund gehabt hat, eine Valenzerhöhung des Stickstoffs infolge von Assoziation anzunehmen, sondern nur infolge von Vereinigung mit Verbindungen, deren einer Bestandteil negativer Natur und zur Bildung von Anion geeignet ist. Wenn man eine zudem nur angenommene Polymerisation in dieser Weise deuten will, so stehen einem sehr viele Deutungen frei, die indessen meist nur sehr geringen Wert haben, da bei hinreichendem Spielraum in der Annahme von Valenzerhöhung fast alle Strukturprobleme polymerer Verbindungen irgendeine »Deutung« finden können.

Auf die Ausführungen Frl. Wokers über die Bedeutung des Eisens und seiner Bindung für die Peroxydase-Reaktion des Hämoglobins und über die von ihr angenommene Aldehydfunktion der Peroxydasen werde ich gegebenenfalls zurückkommen, wenn die angekündigte Arbeit des Hrn. Kjöllnerfeldt vorliegt. Die von ihr erwähnten Gründe erscheinen mir vorläufig nicht stichhaltig.