

lich reines *p*-Fluor-propyl-benzol erhalten werden, entspr. einer Ausbeute von etwa 5%.

*p*-Fluor-benzhydrol<sup>15)</sup>: 22.4 g *p*-Fluor-brom-benzol wurden in der für die Grignardierungen von Brom-benzol üblichen Weise mit 3.2 g Magnesium unter 50 ccm Äther in eine Grignard-Verbindung übergeführt<sup>20)</sup>, die mit 10.6 g Benzaldehyd umgesetzt wurde. Nach Zersetzung und Abdampfen des Äthers wurden 12 g *p*-Fluor-benzhydrol als gelbes Öl gewonnen, entspr. einer Ausbeute von 47%. Durch Destillation unter vermindertem Druck wurde es als rein weiß erstarrende Krystallmasse vom Sdp.<sub>10-11</sub> 167–168° und dem Schmp. 46° erhalten. Nach Umlösen aus wenig Ligroin erhöhte sich der Schmp. auf 48° (Lit.). Aus Alkohol, Äther oder Aceton wurden nur schwer Krystalle erhalten, meist schied sich die Verbindung ölig ab; sie hatte im übrigen die in der Literatur beschriebenen Eigenschaften.

*p*-Fluor-acetophenon: Zur Grignard-Lösung aus 72 g *p*-Fluor-brom-benzol, 13 g Magnesium und 200 ccm Äther wurde ein Gemisch von 16 g Acetonitril und 15 ccm Äther zugetropft und 2 Stdn. auf dem Wasserbade im Sieden gehalten. Durch Zersetzung mit Eis und 200 ccm 8-n. Schwefelsäure, Wasserdampf-Destillation und Ausäthern wurden 15 g Rohprodukt erhalten, die bei der Vakuum-Destillation bei 10 mm nach geringem Vorlauf von 77.5–85.5° übergangen. Als fester Rückstand blieben dabei etwa 2 g einer nach 1-maligem Umkrystallisieren aus Alkohol bei 76° schmelzenden Substanz, die schwach sauer reagierte und später untersucht werden soll. Aus der Hauptmenge Rohprodukt wurden 4 g reines *p*-Fluor-acetophenon vom Sdp.<sub>10</sub> 77–78° und Schmp. –4.5° als fast farblose, aromatisch riechende Flüssigkeit von süßlichem, scharfem Geschmack erhalten, entspr. einer Ausbeute von 7% (roh: etwa 25%).

0.1417 g Subst.: 0.3594 g CO<sub>2</sub>, 0.0647 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>F</sub> (138). Ber. C 69.6, H 5.1. Gef. C 69.2, H 5.1.

Für ein Stipendium der van't-Hoff-Stiftung, das diese Arbeiten erleichterte, sei auch an dieser Stelle ergebenst gedankt. Ebenso danken wir Hrn. Prof. Dr. A. Skita für freundliche Unterstützung durch Institutsmittel.

Hannover, Techn. Hochschule, Institut für organ. Chemie.

## 211. A. Stepanow und A. Kusin: Über die Synthese einer Kohlenstoffkette mit Hilfe von Enzymen, III. Mittel.: Über die Verbreitung der Carboligase in den Pflanzen.

[Aus d. Laborat. für organ. Chem. d. I. Moskauer Medizin. Instituts.]

(Eingegangen am 25. März 1931.)

Die erstmalig von C. Neuberg<sup>1)</sup> beschriebene Carboligase wurde in der Ober- und Unterhefe, sowie im Macerationssaft der Hefe<sup>1)</sup> nachgewiesen. Später konnten wir sie in der Form eines Trockenpräparats aus dem Macerationssaft der Unterhefe<sup>2)</sup> darstellen. So weit wir wissen, wurden Versuche, die Carboligase in anderen pflanzlichen oder tierischen Objekten nachzuweisen, nicht unternommen. Unsere Arbeit über die Wirkung der Carboligase

<sup>20)</sup> Zur einseitigen Grignardierung anderer gemischter Dihalogen-benzole vergl. auch z. B.: M. A. Mihăilescu u. St. P. Garagea, C. 1930, I 2249.

<sup>1)</sup> Biochem. Ztschr. 115, 282 [1921].

<sup>2)</sup> B. 63, 2473 [1930].

auf Glyoxylsäure<sup>3)</sup> führte uns dazu, eine größere Verbreitung der Carboligase in den Organismen anzunehmen. Das Vorherrschen der synthetischen Prozesse in den Pflanzen veranlaßte uns, die pflanzlichen Blätter, in denen Synthesen am energischsten verlaufen, als Untersuchungsobjekt zu verwenden.

Für die ersten Versuche wählten wir die intensiv wachsenden Lattichblätter (*Lactuca sativa*). Es gelang uns zu zeigen, daß in den letzteren ein Enzym vorhanden ist, in dessen Gegenwart aus der zugesetzten Brenztraubensäure Methyl-äthyl-carbinol (Acetoin) gebildet wird. Auch in schnell getrockneten Blättern blieb diese pflanzliche Carboligase aktiv. Bei der Maceration der Blätter erzielten wir nur schwach aktive Säfte, während die Hauptmasse des Enzyms im Stroma blieb.

Beim Vergleich der Trockenpräparate aus den grünen Blättern und aus den nicht chlorophyll-haltigen, dem Inneren des Lattich-Kopfes entnommenen Blättern fanden wir, daß die letzteren vollkommen inaktiv sind, während die äußeren, chlorophyll-haltigen Blätter das Vorhandensein des Enzyms zeigten. Diese Tatsache ließ uns Blätter untersuchen, die chlorophyll-reicher sind, von denen wir Nesselblätter (*Urtica dioica* und *Urtica urens*) wählten. Letztere zeigten eine bedeutend höhere Aktivität als die Lattichblätter. Die Arbeit mit den Nesselblättern wurde jedoch durch die basische Reaktion des (sowohl aus den frischen Blättern ausgepressten als auch durch Maceration aus dem Trockenpräparat gewonnenen) Saftes sehr kompliziert. Nur bei der Anwendung bedeutender Mengen sauren phosphorsauren Natriums gelang es, einen Macerationssaft mit schwach saurer Reaktion ( $p_H = 6.5$ ) zu gewinnen, der aktive Carboligase enthielt. Alle Versuche, den aktiven Bestandteil aus dem erhaltenen Saft durch Aussalzen mit Ammoniumsulfat<sup>2)</sup>, Fällung mit Alkohol<sup>4)</sup> oder Adsorption mit Aluminiumhydroxyd zu isolieren, gaben keine positiven Resultate.

Auf der Suche nach einem bequemeren Objekt wählten wir alsdann die Blätter der gewöhnlichen Futterrübe (*Beta vulgaris*), wobei wir einerseits die Intensität der Synthese bei ihnen und andererseits ihren hohen Chlorophyll-Gehalt berücksichtigten. Wie unsere Versuche gezeigt haben, erwies es sich, daß diese Blätter tatsächlich außerordentlich aktiv sind. Auch nach dem Trocknen ging die Aktivität nicht verloren. Ein Vergleich der Aktivität von trocknen Rübenblättern und trocknen Nesselblättern ergab eine 10-mal stärkere Aktivität der ersteren. Die Maceration der trocknen Rübenblätter lieferte einen aktiven Saft. Durch Fällung mit auf  $-20^{\circ}$  abgekühltem Alkohol ließ sich aus dem Macerationssaft ein Sediment abscheiden, das nach dem Trocknen im Vakuum-Exsiccator ein grau-weißes, wasser-lösliches Pulver darstellte. Die opaleszierende Lösung zeigte hohe Aktivität.

Eine Fällung der Carboligase aus dem Hefensaft durch Alkohol unter Bedingungen, die den soeben beschriebenen analog waren, führte nicht zum Ziele<sup>2)</sup>, was den Gedanken nahelegt, daß die kolloidalen Träger der Carboligase in der Hefe und in den grünen Pflanzen verschieden sind. Außer den aufgezählten Pflanzen wurden noch Blätter von Sauerampfer (*Rumex acetosa*), Petersilie (*Petroselinum sativum*), Zwiebel (*Allium cepa*) und Faulbaum (*Prunus padus*) untersucht, wobei in allen Fällen das Vorhandensein von Carboligase nachgewiesen wurde. Außerdem wurde Carboligase auch in Äpfeln gefunden (in den Früchten von *Porus malus*). Da die aus den reifen

<sup>2)</sup> B. 68, 1147 [1930].

<sup>4)</sup> Beim Abkühlen des Alkohols auf  $-20^{\circ}$ .

Früchten gewonnenen Extrakte verhältnismäßig wenig aktiv waren, wäre eine Untersuchung während der Reifeperiode von Interesse.

Unser Nachweis der Carboligase in den grünen Pflanzen führte uns des weiteren zu einer Arbeit, welche die Beteiligung der Carboligase an den Prozessen der Kohlenstoff-Assimilation aufklären soll.

### Beschreibung der Versuche.

Zur Bestimmung der Aktivität verschiedener Objekte diene uns die Synthese von Methyl-acetyl-carbinol aus Brenztraubensäure<sup>5)</sup>. Die quantitative Bestimmung des Carbinols durch Überführung in das Nickel-salz mittels Dimethyl-glyoxims wurde unter den früher beschriebenen Bedingungen ausgeführt<sup>2)</sup>. Die Aktivität drücken wir in Dezimilligrammen des erhaltenen Salzes aus. Sämtliche nachstehend angeführten Versuche wurden von entsprechenden Kontrollversuchen begleitet, die sich von den Grundexperimenten durch das Fehlen von Brenztraubensäure unterschieden.

#### I. Qualitative Untersuchung über den Carboligase-Gehalt verschiedener pflanzlicher Objekte.

Zur Bestimmung der Aktivität nahmen wir 10 ccm Saft, 5 g Trockenpräparat oder 20 g ausgepresstes Stroma; Brenztraubensäure 0.25 g. Als Puffer bedienten wir uns des  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12 \text{H}_2\text{O}$  in einer Menge von 1.64 g. Gesamtvolumen 30 ccm. Bezeichnungen für die Aktivität: + bei etwa 10 dzmg, ++ bei etwa 25 dzmg, +++ bei etwa 100 dzmg, ++++ bei etwa 200 dzmg, — bei fehlender Aktivität.

| Nr. des Versuchs | Objekt                                      | Arbeitsweise  | Aktivität | Kontrollversuche |
|------------------|---|---|-----------|------------------|
| 1                | Lattich ( <i>Lactuca sativa</i> ) (Blätter) | Saft, bei 200 Atm. ausgepresst . . . . .  | —         | —                |
|                  |   | Stroma-Rückstand, mit Quarz zerrieben, Saft bei 300 Atm. ausgepresst . . . . .                      | +         | —                |
| 2                | dito  | Stroma-Rückstand . . . . .  | +         | —                |
|                  |   | 2 Tage bei 35° getrocknet . . . . .   | +         | —                |
| 3                | dito  | Saft, erhalten nach 5-stdg. Maceration . . . . .  | Spuren    | —                |
|                  |   | Saft, erhalten nach 20-stdg. Maceration . . . . .   | +         | —                |
|                  |   | Frische Blätter, mit Quarz zerrieben, Saft bei 200 Atm. ausgepresst . . . . .                       | Spuren    | —                |
|                  |   | Stroma-Rückstand, auf —15° abgekühlt, dann 24 Stdn. bei 35° maceriert. Ausgepresster Saft . . . . . | —         | —                |
| 4                | Nessel ( <i>Urtica dioica</i> ) (Blätter)   | Stroma-Rückstand . . . . .  | +         | —                |
|                  |   | Frische Blätter, mit Quarzsand zerrieben, Saft bei 300 Atm. ausgepresst . . . . .                   | +         | —                |
|                  |   | Stroma-Rückstand . . . . .  | ++        | —                |

<sup>5)</sup> Biochem. Ztschr. 131, 178 [1922].

| Nr. des Versuchs | Objekt                                      | Arbeitsweise  | Aktivität | Kontrollversuche |
|------------------|---|---|-----------|------------------|
| 5                | dito  | Blätter, 2 Tage bei 35° getrocknet ..   | Spuren    | --               |
| 6                | dito  | Blätter, in einer Fleischhackmaschine zerkleinert, dann 34 Stdn. bei 35° getrocknet .....           | +         | --               |
| 7                | dito  | In der Fleischhackmaschine zerklein., Saft bei 100 Atm. ausgepreßt ...                              | ++        | --               |
|                  |   | Stroma, 24 Stdn. bei 35° getrocknet ..  | ++        | --               |
|                  |   | Stroma-Rückstand mit 5-proz. NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -Lösung 3 Stdn. maceriert, Saft ..... | +         | --               |
| 8                | Futterrübe (Beta vulgaris) (Blätter)        | Frische Blätter, mit Quarz zerrieben, Saft bei 200 Atm. ausgepreßt ....                             | +++       | --               |
|                  |   | Stroma-Rückstand .....  | ++++      | --               |
| 9                | dito  | Frische Blätter, in der Fleischhackmaschine zerkleinert und 35 Stdn. bei 35° getrocknet .....       | ++++      | --               |
|                  |   | Getrocknete Blätter, 3 Stdn. bei 35° maceriert, Saft ausgepreßt .....                               | +++       | --               |
| 10               | Petersilie (Petroselinum sativum) (Blätter) | Mit Quarz zerrieben, Saft bei 300 Atm. ausgepreßt .....   | Spuren    | --               |
|                  |   | Stroma-Rückstand .....  | —         | --               |
| 11               | Zwiebel (Allium cepa)                       | Mit Quarz zerrieben .....   | Spuren    | --               |
| 12               | Sauerampfer (Rumex acetosa)                 | Saft bei 200 Atm. ausgepreßt .....  | —         | --               |
|                  |   | Stroma-Rückstand, mit Quarz zerrieben und wiederholt bei 300 Atm. ausgepreßt, Saft .....            | Spuren    | --               |
|                  |   | Stroma-Rückstand .....  | ++        | --               |
| 13               | Faulbaum (Prunus padus) (Blätter)           | Mit Quarz zerrieben, Saft bei 300 Atm. ausgepreßt .....   | Spuren    | --               |
|                  |   | Stroma-Rückstand .....  | +         | --               |
| 14               | Apfelbaum (Pomus malus) (Früchte)           | Saft bei 300 Atm. ausgepreßt .....  | Spuren    | --               |
|                  |   | Stroma-Rückstand .....  | +         | --               |
| 15.              | dito  | Stroma, mit Quarzsand zerrieben, Saft bei 200 Atm. ausgepreßt .....                                 | Spuren    | --               |
|                  |   | Stroma-Rückstand .....  | +         | --               |

## II. Quantitative Untersuchung.

Die zu untersuchenden frischen Blätter wurden in einer Fleischhackmaschine zerkleinert, dann 24 Stdn. bei 35° getrocknet und hiernach zu feinstem Pulver zerrieben. Je 5 g des so erhaltenen Präparats wurden 300 ccm einer Lösung zugesetzt, die 0.25 g Brenztraubensäure und 1.64 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 12 H<sub>2</sub>O enthielt.

|           | Objekt           | Chlorophylllose Lattichblätter | Äußere chlorophyllhaltige Lattichblätter | Nesselblätter | Futterrübenblätter | Futterrübenstengel |
|-----------|------------------|--------------------------------|--|---------------|--------------------|--------------------|
| Aktivität | 1. Serie         | —                              | 10                                       | 20            | 191                | 93                 |
|           | 2. Serie         | —                              | 12                                       | 24            | 202                |                    |
|           | 3. Serie         | —                              |  | 31            | 150                |                    |
|           | Kontrollversuche | —                              | —  | —             | —                  | —                  |

### III. Gewinnung eines aktiven trocknen Präparats aus den Blättern der Futterrübe.

Die Blätter der Futterrübe wurden in einer Fleischhackmaschine zerkleinert und dann bei 35° getrocknet. Nach dem Zerreiben zu feinstem Pulver wurde das erhaltene Produkt 3 Stdn. bei 35° maceriert (200 ccm Wasser für je 35 g trockner Blätter). Der erhaltene Saft wurde abfiltriert (gelblicher Saft: 100 ccm), auf 0° abgekühlt und daraufhin in einer Menge von 400 ccm mit 96-proz. Äthylalkohol, der zuvor auf -20° abgekühlt war, ausgefällt. Das Sediment wurde rasch zentrifugiert, mit absol. Alkohol gewaschen und im Vakuum-Exsiccator getrocknet. Ausbeute 1.17 g.

Während 1 g des Ausgangsmaterials — der trocknen Blätter — eine Aktivität = 35 zeigte, war die Aktivität des von uns erhaltenen Präparats = 380 (0.1 g des Präparats ergab eine Aktivität = 38).

### 212. Richard Kuhn und Edgar Lederer: Zerlegung des Carotins in seine Komponenten. (Über das Vitamin des Wachstums, I. Mitteil.)

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizinische Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.]

(Eingegangen am 18. März 1931.)

Das Carotin der gelben Möhre stellt, wie wir gefunden haben, keine einheitliche Substanz dar<sup>1)</sup>. Zu dieser Erkenntnis gelangten wir durch die polarimetrische Bestimmung des Drehungsvermögens von mehreren analysenreinen Präparaten, die in Benzol verschieden starke Rechtsdrehung zeigten. Mit Rücksicht auf die bedeutende Absorption der Carotin-Lösungen haben wir auf Vorschlag von Hrn. K. W. Hausser zur Beleuchtung des Polarisations-Apparates eine sehr lichtstarke Quarz-Cadmium-Lampe verwendet. Durch ein Rotfilter wurden alle Linien mit Ausnahme von 643.85 m $\mu$  entfernt, so daß die Ablesungen bei streng monochromatischer Strahlung erfolgten. Mit dieser Anordnung<sup>2)</sup> lassen sich bequem eozentrierte Carotin-Lösungen untersuchen, daß ein Präparat von  $[\alpha]_{\text{Cd}}^{20} = 25^{\circ}$  die Ablesung eines Winkels von mindestens 0.05° gestattet. Die Genauigkeit ist dabei ähnlich wie bei Polarisation farbloser Lösungen.

Nach Tabelle 1 sind alle aus Karotten gewonnenen Carotin-Fractionen, die untersucht wurden (Präp. 1-7), optisch aktiv. Die optische Aktivität ließ sich durch wiederholte fraktionierte Krystallisationen aus Benzol-Methanol und durch Krystallisationen aus Petroläther unter Stickstoff<sup>3)</sup> allmählich erniedrigen, aber nicht zum Verschwinden bringen. Das am schwersten lösliche, 8-mal umkrystallisierte Präparat 1 zeigte noch  $[\alpha]_{\text{Cd}}^{20} = +25^{\circ}$ . In den Mutterlaugen reichert sich die optisch aktive Komponente langsam an. Das am leichtesten lösliche Präparat, das durch fraktionierte Krystallisationen aus Benzol-Methanol gewonnen wurde (Präp. 5), besitzt  $[\alpha]_{\text{Cd}}^{20} = +185^{\circ}$ . Optisch aktiv ist auch das Carotin der British Drug Houses Ltd., London, das neuerdings mehrfach für A-Vitamin-Versuche ver-

<sup>1)</sup> R. Kuhn u. E. Lederer, Naturwiss. 19, 306 [1931].

<sup>2)</sup> R. Kuhn, A. Winterstein u. E. Lederer, Ztschr. physiol. Chem., im Druck [1931]. <sup>3)</sup> Nach H. v. Euler, P. Karrer u. M. Rydbom, B. 62, 2445 [1929].