

2—3 Wochen vollständig in Lösung. Beim Verdunsten blieb ein schwach rötlich gelber amorpher Rückstand, in dem weder Isatin noch Anhydroisatinanthranilid nachgewiesen werden konnte. Demnach scheint der Farbstoff sich mit Dioxan zu verbinden.

Trichloressigsäure wurde durch Erhitzen mit wenig Eisessig verflüssigt, etwas abgekühlt und auf die Proben gegossen; die stärkere Löslichkeit der *cis*-Verbindung ist meist gut sichtbar.

Indigooxim stellt man am besten so dar, daß man Indigo in Pulver oder Pastenform mit verd. Natronlauge und Hydroxylaminsalzlösung übergießt, den Kolben fast voll füllt, mit einem Uhrglas verschließt und $\frac{1}{2}$ Stde. auf dem Wasserbade erhitzt, dann in verd. Säure einfiltriert. Nimmt man etwas stärkere Lauge, so kann es vorkommen, daß zunächst nichts ausfällt, was auf der Bildung eines schwer löslichen Natriumsalzes zu beruhen scheint; beim Auswaschen geht dann die Substanz in Lösung.

So wird denn die Indigoformel, wie sie von Baeyer⁹⁾ aufgestellt und bewiesen sowie durch zahlreiche spätere Arbeiten bestätigt worden ist, auch der Existenz von *cis*- und *trans*-Form gerecht. Sämtliche späteren Versuche, die Formel zu modifizieren, sind unnötig; sie rühren meist von der Vorstellung her, daß die Reaktionsverhältnisse, die wir bei einfachen aromatischen Verbindungen zu finden gewohnt sind, sich auch bei komplizierteren ringförmigen Substanzen wiederfinden sollen. Das ist aber nicht immer der Fall, da die meisten Ringsysteme, namentlich heterocyclische, geänderte Reaktionsfähigkeiten und Spezialreaktionen aufweisen. So findet sich die schwere Acylierbarkeit des Indigos, die auf dem Vorhandensein von NH und CO bzw. NH—C= beruht, bei ähnlichen Substanzen wie Isatin¹⁰⁾ wieder und es wird Aufgabe der Zukunft sein, festzustellen, wie weit solche Abweichungen und Spezialreaktionen reichen und wodurch sie bedingt sind.

309. Fritz Arndt, Lotte Loewe und Melike Ozansoy: Über das Verhalten der Gruppe S.CH₃ bei der Methoxyl-Bestimmung.

[Aus d. Institut für Allgem. Chemie d. Universität Istanbul.]

(Eingegangen am 20. September 1939.)

Für später mitzuteilende Untersuchungen mußten wir Aufschluß darüber haben, ob und inwieweit sich die Methiol-Gruppe S.CH₃ unter den Bedingungen der üblichen Methoxyl-Bestimmung ebenso wie Methoxyl verhält, d. h. beim Kochen mit azeotropischer Jodwasserstoffsäure ihr Methyl als Methyljodid-Dampf abspaltet, welcher dann nach Vieböck durch Brom zu Jodsäure oxydiert und als Jod titriert wird. Dabei handelte es sich weniger um die Dosierung der Methiol-Gruppe als solcher, als vielmehr darum, ob bei der Bestimmung von Alkoxyl eine vorhandene Methiol-Gruppe in Abzug zu bringen ist.

Seit langem ist bekannt¹⁾, daß S-Alkyläther von Thiophenolen, z. B. I, selbst durch Erhitzen mit rauchender Jodwasserstoffsäure unter Druck sich nicht präparativ zu den entsprechenden freien Mercaptanen entalkylieren lassen. Dagegen ist von Baernstein²⁾ eine Mikromethode zur Bestimmung der Methiol-Gruppe im Methionin (II) ausgearbeitet worden, welche im

⁹⁾ B. **16**, 2204 [1883]. ¹⁰⁾ G. Heller, B. **36**, 2762 [1903].

¹⁾ Auwers u. Arndt, B. **42**, 544 [1909].

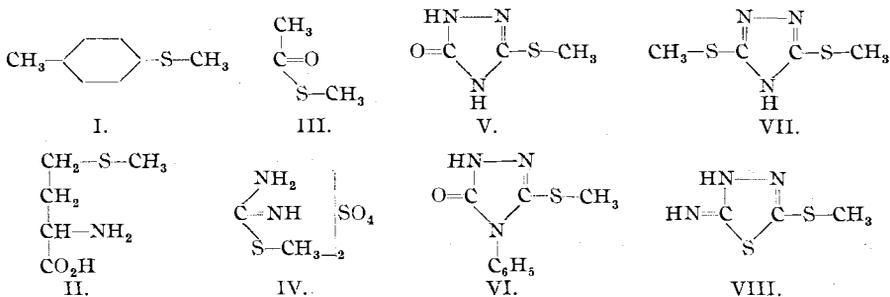
²⁾ Journ. biol. Chem. **97**, 663 [1932]; **106**, 451 [1934]; **115**, 25 [1936].

wesentlichen der Mikro-Methoxyl-Bestimmung nach Vieböck und Schwappach, modifiziert nach E. P. Clark³⁾, entspricht. Baernstein gibt als Versuchsdauer in der ersten Arbeit 3 Stdn., später 6 Stdn. an und benutzt die Methode zur Dosierung des Methionins in Proteinen.

Mit einem reinen Präparat von Methionin erhielten wir nach der gewöhnlichen Halbmikro-Methode von Vieböck innerhalb von 3 Stdn. tatsächlich den berechneten Methylwert, während bei der üblichen Versuchsdauer von 1½ Stdn. nur 4/5 des Sollwertes erhalten wurden. Auch mit einem Caseinpräparat erhielten wir Werte, die denen von Baernstein entsprechen.

Die Methiol-Gruppe im Methionin und seinen Derivaten ist also ebenso, wenn auch etwas schwerer, verseifbar, wie es Methoxyl-Gruppen in fast⁴⁾ allen Fällen sind. Dieser, für die Protein-Chemie glückliche, Umstand darf aber nicht verallgemeinert werden. Mit Thiokresol-methyläther (I) erhielten wir selbst nach 8 Stdn. nur etwa die Hälfte des Methyl-Sollwertes. Präparativ konnte nach 7-stdg. Kochen mit azeotropischer Jodwasserstoffsäure in dem Reaktionsgemisch kein freies Thiokresol nachgewiesen werden; soweit also langsam Verseifung erfolgt, führt sie zu weitergehender Zersetzung des freien Mercaptans. — Bei Thioessigsäure-methylester (III) und S-Methylisothioharnstoff-sulfat (IV) waren die Methylwerte im Verhältnis zum Sollwert noch geringer.

Demgegenüber verhält sich die Methiol-Gruppe im Thio-urazol-methyläther (V) und dessen 4-Phenyl-Derivat VI ganz wie Methoxyl, d. h. nach 1—1½ Stdn. wird der berechnete Methylwert erhalten und auch präparativ glatt das freie Mercaptan gewonnen. Dithio-urazol-dimethyläther (VII) gab nach 1½ Stdn. das 1½-fache des für ein Methyl berechneten Wertes, nach 5 Stdn. dagegen den vollen Sollwert für zwei Methylene. Präparativ war früher⁵⁾ festgestellt worden, daß Abrauchen mit konz. Jodwasserstoffsäure zunächst zum Monomethyläther, schließlich zu völliger Zersetzung führt. Die ziemlich schwere Verseifbarkeit bezieht sich also auf das zweite Methyl. — Andererseits gab ein den eben genannten konstitutionell so nahestehender Stoff wie Imino-thio-biazolthiol-methyläther (VIII) nach 4 Stdn. nur die Hälfte, nach 6 Stdn. nur ¾ des berechneten Methylwertes.



Wie man sieht, zeigen die als Beispiele untersuchten Stoffe die größten Unterschiede hinsichtlich der Verseifbarkeit der Methiol-Gruppe, ohne daß einstweilen ein klarer Zusammenhang mit der Konstitution erkennbar wäre.

³⁾ Journ. Ass. off. agric. Chemists **15**, 136 [1932].

⁴⁾ Über schwer verseifbare Methoxyl-Gruppen siehe Arndt u. Scholz, A. **510**, 71 unten [1934].

⁵⁾ Arndt u. Milde, B. **54**, 2103—2104 [1921].

Handelt es sich um die Berücksichtigung vorhandener Methiol-Gruppen bei der Bestimmung etwaiger Alkoxy-Gruppen, so wird man, wenn zugänglich, einen „Blindversuch“ machen, d. h. die Grundsubstanz untersuchen, welche Methiol, aber kein Alkoxy enthält, und den so gefundenen Wert bei der späteren Alkoxy-Bestimmung in Abzug bringen. Zur Bestimmung von Methiol-Gruppen dagegen kann man die übliche Methoxy-Bestimmungsmethode nur verwenden, wenn man sich über das Verhalten der S.CH₃-Gruppe im vorliegenden Falle vergewissert hat. Andernfalls kann man entweder die für N-Methyl-Bestimmung erforderlichen Bedingungen wählen, oder die S-Alkyl-Gruppe durch erschöpfende Oxydation zum Sulfon, d. h. Aufnahme zweier Sauerstoffatome, nachweisen⁶⁾. Die Brauchbarkeit der Methode von Baernstein für den Spezialfall der Methionin-Bestimmung wird hierdurch nicht berührt.

Beschreibung der Versuche.

p-Thiokresol-methyläther (I)⁷⁾. 2 g wurden mit 10 ccm azeotropischer Jodwasserstoffsäure 7 Stdn. am Rückflußkühler gekocht, dann wurde mit Schwefeldioxyd-Lösung verdünnt, mit Äther aufgenommen, die Ätherschicht mit Wasser gewaschen und fraktioniert mit verd. Lauge ausgezogen; beim Ansäuern der Auszüge keine Ausscheidung von Thiokresol.

0.0413 g Sbst.: nach 1 $\frac{1}{2}$ Stdn. 2.7 ccm *n*/₁₀-Thiosulfat. Gef. CH₃ 1.6. — 0.0315 g Sbst.: nach 5 Stdn. 4.3 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 3.4. — 0.0246 g Sbst.: nach 8 Stdn. 6.1 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 6.2. Ber. CH₃ 10.1.

Thioessigsäure-methylester (III). Darstellung⁸⁾: 20 g S-Methylisothioharnstoff-sulfat wurden mit 30 ccm 5-*n*. Natronlauge erhitzt und das entweichende Methylmercaptan in 10 ccm frisch destilliertes Acetylchlorid von -15° hineinkondensiert. Auf Zusatz einer Messerspitze frisch sublimierten Aluminiumchlorids begann nach 5 Min. Chlorwasserstoff-Entwicklung, die durch langsames Steigern der Temperatur bis schließlich auf Raumtemperatur dauernd aufrechterhalten wurde. Nach Stehenlassen über Nacht wurde destilliert, die Fraktion vom Sdp. 93—97° mit verd. Sodaaflösung gewaschen, mit Äther aufgenommen usw. Reinprodukt 5 g farblose Flüssigkeit vom Sdp.₇₆₀ 95—96°.

0.0286 g Sbst.: nach 2 $\frac{1}{2}$ Stdn. 2.4 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 2.1. — 0.0308 g Sbst.: nach 3 Stdn. 2.4 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 1.9. Ber. CH₃ 16.6.

S-Methylisothioharnstoff-sulfat IV⁸⁾. 0.0279 g Sbst.: nach 5 $\frac{1}{2}$ Stdn. 3.3 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 2.9. Ber. CH₃ 10.8.

Imino-thio-biazolthiol-methyläther (VIII)⁹⁾. 0.0239 g Sbst.: nach 1 Stde. 2.9 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 3.0, nach 6 Stdn. 7.1 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 7.4. Ber. CH₃ 10.2.

Thiourazol-S-methyläther (V)¹⁰⁾. 0.0300 g Sbst.: nach 1 $\frac{1}{2}$ Stdn. 13.4 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 11.2. Ber. CH₃ 11.4.

4-Phenyl-thiourazol-S-methyläther (VI)¹¹⁾. 0.0218 g Sbst.: nach 1 $\frac{1}{2}$ Stdn. 6.3 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 7.2. Ber. CH₃ 7.3.

⁶⁾ Beispiel siehe Arndt u. Bekir, B. **63**, 2394 unten [1930].

⁷⁾ Darst. B. **42**, 540, 2713 [1909].

⁸⁾ Vergl. F. Arndt, B. **54**, 2236 [1921]; **56**, 1983—1984 [1923]; siehe auch Organic Syntheses **12**, 52 und **14**, 54.

⁹⁾ Arndt u. Milde, B. **54**, 2107 [1921].

¹⁰⁾ Arndt, Milde u. Tschenscher, B. **55**, 348 [1922].

¹¹⁾ a. a. O. 351.

Dithiourazol-dimethyläther (VII)¹². 0.0273 g Sbst.: nach 1½ Stdn. 14.6 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 13.3. — 0.0235 g Sbst.: nach 2 Stdn. 14.0 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 14.9. — 0.0219 g Sbst.: nach 5 Stdn. 16.4 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 18.7. Ber. für 2 CH₃ 18.6.

Methionin (II), Präparat von Th. Schuchardt u. Co.. 0.0231 g Sbst.: nach 1½ Stdn. 7.5 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 8.1. — 0.0231 g Sbst.: nach 3½ Stdn. 9.6 ccm Thiosulfat. Gef. CH₃ 10.3. Ber. CH₃ 10.1.

310. Luigi Mamoli: Über biochemische Dehydrierungen in der Cortingruppe.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 21. September 1939.)

L. Mamoli, R. Koch und H. Teschen¹⁾ ist es gelungen, ein einheitliches Bakterium zu züchten, das sekundäre Steroid-Alkohole zu den entsprechenden Ketonen dehydriert. Alle an diesem reinen dehydrierenden Bakterien-Stamm beobachteten Eigenschaften stimmen mit den für das *Coryne-Bakterium Helvolum* (Lehmann und Neumann) in der Literatur angegebenen überein. Zur sicheren Feststellung der Identität beider Stämme wäre es notwendig, an einer Vergleichskultur des *Coryne-Bakterium Helvolum* zu untersuchen, ob auch diese imstande ist, unter gleichen Bedingungen die oben genannten Dehydrierungen durchzuführen. Leider ist es trotz vieler Bemühungen nicht möglich gewesen, eine Vergleichskultur zu beschaffen; daher muß zunächst dem reinen dehydrierend wirkenden Stamm eine besondere Bezeichnung zuerteilt werden, ohne daß damit die Möglichkeit seiner Identität mit dem *Coryne-Bakterium Helvolum* ausgeschlossen werden soll. Wir wollen für unseren reinen Stamm nach dem Stammort des Bakteriengemisches den Namen „*Coryne-Bakterium Mediolanum*“ verwenden. —

Unter Einwirkung dieses Bakteriums war es bisher möglich, Dehydroandrosteron zu Androstendion²⁾, Methyl-androstendiol zu Methyl-testosteron³⁾, Pregnenolon (I) zu Progesteron (II)⁴⁾ zu dehydrieren, während die sekundäre alkoholische Gruppe am C₃ des Cholesterins unverändert bleibt.

In den letzten Jahren wurden besonders durch die Arbeiten von Reichstein, Kendall, Wintersteiner und Pfiffner zahlreiche Steroide aus Nebennierenrinde isoliert, die zur Pregnanreihe gehören, 21 C-Atome enthalten und nach der Zahl der Sauerstoffatome gruppiert werden können; die Vertreter jeder Gruppe unterscheiden sich nur durch den Sättigungsgrad und dadurch, daß die Sauerstoffatome variierend als Oxy- und Oxo-Gruppen auftreten. Man kann annehmen, daß diese Steroide sich im Organismus durch Hydrierung bzw. Dehydrierung inein-

¹²⁾ B. **54**, 2102 [1921].

¹⁾ Naturwiss. **27**, 319 [1939].

²⁾ Mamoli u. Vercellone, B. **71**, 1686 [1938].

³⁾ Mamoli, Gazz. chim. Ital. **69**, 237 [1939].

⁴⁾ Mamoli, B. **71**, 2701 [1938].