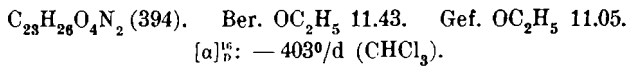
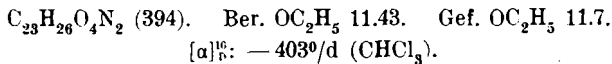


Alkohol farblose Quadrat-Tafeln und rechtwinklige Prismen: 0.16 g. Vak.-Schmp. 296—308° (Zers.).



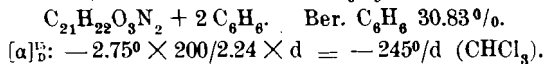
0.2 g Strychnon-hydrat kochte man mit 6 ccm 10-proz. salzsaurem absol. Alkohol 10 Min. und dunstete im Exsiccator ein. Beim Anreiben mit absol. Alkohol Krystalle. Aus viel davon chlorfreie, derbe neutrale, in *n*-NH₃ unlösliche Prismen. Vak.-Schmp. 296—307° (Zers.). Mischprobe.



Oxydation des Strychnons: 0.7 g Diamid in 150 ccm Aceton verbrauchten bei 0° langsam 6 Äquiv. KMnO₄. Die MnO₂-Abscheidung erfolgte kolloidal. Die sauren Produkte blieben amorph.

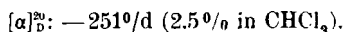
Dehydrierung von Dihydro-*ps*-strychnin: 1 M.M. in 10 ccm Wasserstoffperoxyd aufgeschlämmte Base versetzte man mit 1 ccm 9-*n*-Essigsäure und erhitzte 1 Stde. auf 70—80°. Die Erscheinungen waren wie beim *ps*-Strychnin, auch bei der analogen Aufarbeitung. Man gewann aus Benzol 0.1 g wollige Nadeln.

Verlust bei 10°—135°/15 mm (aus 40 R.Tln. C₆H₆ umgelöstes Präp.) 31.15%.



Zum Vergleich wurde die Hydrierung des Strychnons⁶⁾ wiederholt: 1.6 M.M. in 10 ccm 50-proz. Essigsäure hatten bis zum Abbruch mit 60 mg PtO₂ 54 ccm H₂ statt 38 aufgenommen.

Die aus 15 ccm Benzol erhaltene erste Krystallisation (0.43 g vom Schmp. 135—155°) verlor bei 20°—135°/15 mm > 30% und hatte $[\alpha]_D^{20}: -238^\circ/\text{d} \text{ (CHCl}_3\text{)}$. Man löste sie mit der zweiten (0.07 g) aus Benzol um:



74. Hermann Richtzenhain: Enzymatische Versuche zur Entstehung des Lignins, II. Mitteil.: Die Dehydrierung des 5-Methyl-pyrogallol-1.3-dimethyläthers.

[Aus d. Institut für d. Chemie d. Holzes u. d. Polysaccharide. Chem. Institut d. Universität Heidelberg.]

(Eingegangen am 11. Mai 1944.)

Vor kurzem berichteten K. Freudenberg und H. Richtzenhain¹⁾, daß bei der enzymatischen Dehydrierung verschiedener Verbindungen aus der Guajacol- und Syringareihe unter teilweiser Verätherung der

¹⁾ B. 76, 997 [1943].

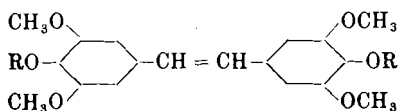
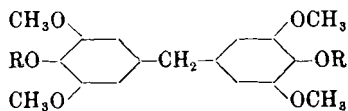
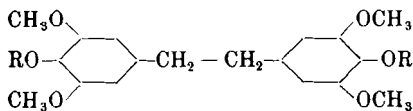
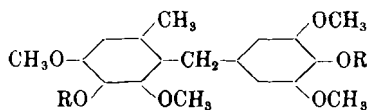
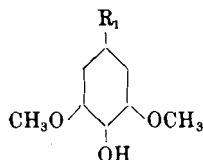
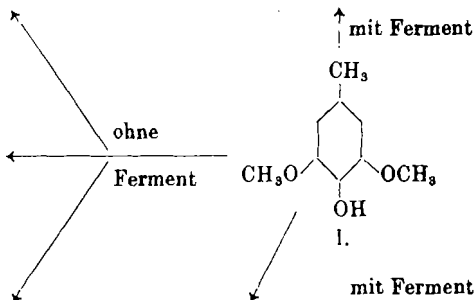
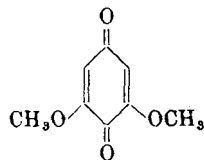
Phenolgruppen höhermolekulare Produkte entstehen. In einigen derartigen Reaktionsprodukten, besonders in dem aus Dihydroferulasäure entstehenden, muß man auf Grund von Abbauprüfungen, über welche noch berichtet wird, ein Bauprinzip annehmen, das dem des Fichtenlignins ähnlich ist. Diese vorläufigen Ergebnisse lassen die Vermutung zu, daß das Lignin in der Pflanze möglicherweise durch ähnliche Dehydrierungen aus phenolischen Grundkörpern entsteht. Um ein einigermaßen klares Bild von den zu amorphen Stoffen führenden Dehydrierungen zu gewinnen, schien es vorteilhaft, zunächst die Dehydrierung möglichst einfach gebauter Phenole zu untersuchen.

Da der Verlauf der Dehydrierung bei Guajacolderivaten wegen der gleichzeitig vorhandenen Kondensationsmöglichkeit in der reaktionsfähigen 5-Stellung unübersichtlich werden kann, wurde die Dehydrierung eines einfach gebauten Stoffes aus der Syringareihe, nämlich des 5-Methylpyrogallol-1.3-dimethyläthers (I) untersucht. Diese Verbindung verhält sich insofern überraschend, als sie schon ohne Champignonferment bei $p_H 7-8$ in 0.8-proz. wäbr. Lösung durch Sauerstoff rasch verändert wird. Nach der Einwirkung von Sauerstoff ohne Ferment konnten aus dem Reaktionsprodukt 2 Verbindungen mit den Bruttoformeln $C_{18}H_{20}O_6$ (II) und $C_{18}H_{22}O_6$ (III) isoliert werden. Die Reindarstellung einer weiteren Verbindung von der Zusammensetzung $C_{20}H_{28}O_6$ (IV) gelang nach Methylierung des Reaktionsprodukts. Bei Anwesenheit von Ferment entstehen außer den Verbindungen II und III Syringylalkohol (V), Syringaaldehyd (VI), 2.6-Dimethoxy-benzochinon (VII) sowie eine Verbindung $C_{17}H_{20}O_6$ (VIII). Außerdem entsteht noch ein schwer löslicher, violetter Stoff, der nicht weiter untersucht wurde. Da mehrere Dehydrierungsansätze ohne ersichtlichen Grund sehr verschiedene Mengen der einzelnen Verbindungen lieferten und diese zum Teil nur durch verlustreiche wiederholte fraktionierte Sublimation und Krystallisation rein erhalten werden konnten, wird auf Ausbeuteangaben verzichtet. Daß in den Mutterlaugen und in den nicht destillierbaren Rückständen noch weitere, bisher nicht gefaßte Verbindungen enthalten sein können, ist gut möglich.

Während Syringylalkohol, Syringaaldehyd und 2.6-Dimethoxy-benzochinon durch Analysen, Schmelzpunkte und Mischschmelzpunkte leicht identifiziert werden konnten, waren die anderen isolierten Verbindungen bisher unbekannt.

Verbindung II ($C_{18}H_{20}O_6$) enthält 4 OCH_3 -Gruppen, 2 durch Acetylierung und Methylierung nachgewiesene Phenolgruppen und 1 hydrierbare Doppelbindung. Da dieser Befund auf ein Tetramethoxy-dioxy-stilben paßte, wurde aus Trimethylgallusaldehyd der entsprechende Thioaldehyd bereitet und aus diesem durch Destillation mit Eisenpulver das 3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-stilben (IX) dargestellt, das sich als identisch mit dem Methylprodukt von II erwies. II kann daher nur 4.4'-Dioxy-3.5.3'.5'-tetramethoxy-stilben sein.

Die um 2 Wasserstoffatome reichere Verbindung III, $C_{18}H_{22}O_6$, die ebenfalls 4 Methoxygruppen und 2 Phenolgruppen enthält, wurde als ein 4.4'-Dioxy-3.5.3'.5'-tetramethoxy-dibenzyl erkannt, denn ihr Methylprodukt ist identisch mit dem Hydrierungsprodukt des eben genannten synthetischen Hexamethoxystilbens.

II, R = H. IX, R = CH₃.VIII, R = H. XII, R = CH₃.III, R = H. X, R = CH₃.IV, R = CH₃. XIX, R = H.V, R₁ = CH₂O.H.VI, R₁ = CHO.

VII.

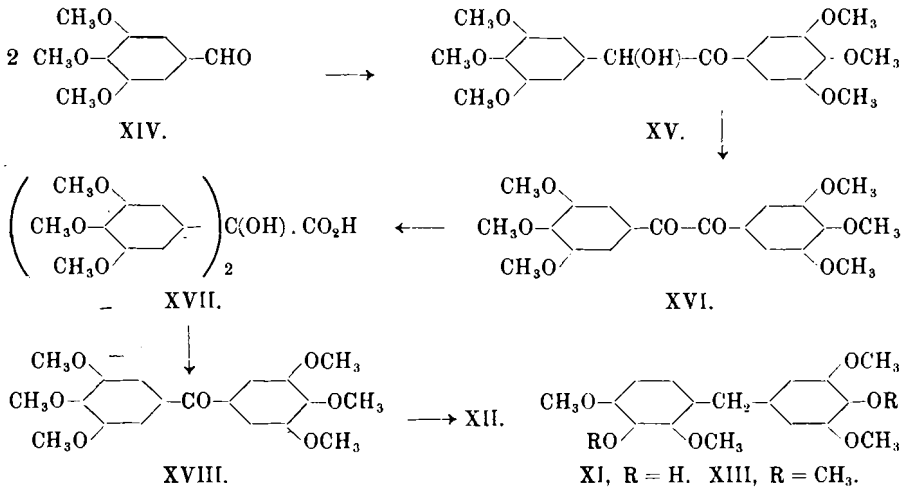
Als Reaktionsprodukte treten nur die Verbindungen mit R = H auf.

Die Verbindung VIII (C₁₇H₂₀O₆) enthält 4 Methoxy- und 2 Phenolgruppen. Unter den möglichen Konstitutionsformeln kamen als die wahrscheinlichsten die eines 3.4'-Dioxy-2.4.3',5'-tetramethoxy-diphenylmethans (XI) oder des isomeren 4.4'-Dioxy-3.5.3'.5'-tetramethoxy-diphenylmethans (VIII) in Frage. Um zwischen den beiden Möglichkeiten zu entscheiden, wurden die Methyläther dieser beiden Verbindungen — das 2.3.4.3'.4'.5'-Hexamethoxy-diphenylmethan (XIII) und das 3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-diphenylmethan (XII) — synthetisiert. XIII konnte nach mißlungenen Versuchen, das 2.3.4.3'.4'.5'-Hexamethoxy-benzophenon²⁾ zu reduzieren, durch Kondensation von 3.4.5-Trimethoxy-benzylalkohol mit Pyrogalloltrimethyläther in 73-proz. Schwefelsäure dargestellt werden. Es war nicht identisch mit dem Methylprodukt von VIII. Zur Synthese von XII wurde 3.4.5-Trimethoxy-benzaldehyd (XIV) zum 3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-benzoin (XV) kondensiert. Durch Oxydation mit Fehlingscher Lösung erhält man daraus das bereits bekannte 3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-benzil (XVI)³⁾. Letzteres wird mit Alkali in die ebenfalls bekannte 3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-benzilsäure (XVII)³⁾ umgelagert, die bei der Oxydation mit der berechneten Menge Chromsäure in Eisessig das 3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-benzophenon (XVIII) ergibt. Während die Reduktion dieses Ketons nach Clemmensen nicht gelingt und eine Hydrierung mit Raney-Nickel in Alkohol beim 3.4.5.3'.4'.5'-Hexa-

²⁾ W. H. Perkin u. C. Weizmann, Journ. chem. Soc. London 89, 1665 [1906].

³⁾ M. Marx, A. 263, 253 [1891].

methoxy-diphenylcarbinol stehen bleibt, führt die Spaltung seines Hydrazons mit Natriumäthylat zum Ziel. Bei der Spalttemperatur von 160° werden zwar eine oder mehrere Methoxygruppen abgespalten, so daß ein in alkalischer Lösung sehr empfindliches Reaktionsprodukt entsteht, das



jedoch bei der Methylierung das gesuchte 3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxydiphenylmethan (XII) ergibt. Da dieses mit dem Methylprodukt von VIII identisch ist, ist damit dessen Konstitution bewiesen.

Die Verbindung IV ($\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6$) enthält 6 OCH_3 -Gruppen. Die für diese Verbindung angenommene Konstitution eines 2-Methyl-4.5.6.3'.4'.5'-hexamethoxydiphenylmethans konnte durch die Synthese aus 3.4.5-Tri-methoxybenzylalkohol und 5-Methyl-pyrogalloltrimethyläther bewiesen werden. Da IV aus dem Reaktionsprozeß erst nach Methylierung isoliert wurde, ist anzunehmen, daß es als 2-Methyl-4'.5-dioxy-4.6.3'.5'-tetramethoxydiphenylmethan (XIX) vorgelegen hat.

Da in sämtlichen isolierten Oxydationsprodukten des 5-Methyl-pyrogallol-1.3-dimethyläthers (I) die phenolischen OH-Gruppen nicht durch Verätherung abgedeckt sind, lassen die mitgeteilten Versuchsergebnisse zwar keine Schlüsse für das Ligninproblem zu, aber sie sind von Interesse im Hinblick auf die Oxydation von Phenolen im allgemeinen. Obwohl hier auf theoretische Erörterungen über die Entstehung jedes einzelnen Oxydationsprodukts verzichtet werden soll, muß man feststellen, daß bei der Oxydation von I 2 grundsätzlich verschiedene Reaktionen stattfinden. Einmal eine fermentunabhängige — vielleicht durch Schwermetallspuren katalysierte — Dehydrierung von I, welche zur Bildung des Stilbens II, des Dibenzyls III und des Diphenylmethans XIX führt. Bei Anwesenheit von Ferment findet gleichzeitig eine Oxydation von I an der Methylgruppe statt, die über die Stufe des Syringylalkohols zum Syringaaldehyd und von diesem zum 2.6-Dimethoxy-benzochinon führt. Daß die beiden ersteren tatsächlich Zwischenprodukte bei der Bildung des Chinons sind, wurde nachgewiesen. Ihre Oxydation verläuft jedoch nicht einheitlich, sondern es entstehen außer dem Chinon noch andere — teils amorphe, teils kristallisierte — Produkte, die noch weiter untersucht werden. Ob das

4.4'-Dioxy-3.5.3'.5'-tetramethoxy-diphenylmethan (VIII) nur in Gegenwart des Ferments entsteht, ist nicht einwandfrei geklärt.

Die hier beobachtete fermentative Umwandlung einer Methylgruppe in eine primäre Alkoholgruppe, die sekundär weiter verändert wird, ist ein neues Beispiel für die meines Wissens bisher nur in vivo beobachtete biologisch wichtige Methyloxydation⁴⁾.

Beschreibung der Versuche.

Dehydrierung von 5-Methyl-pyrogallol-1.3-dimethyl-äther in Gegenwart von Ferment: Durch eine Lösung von 16.8 g (0.1 Mol) I in 2 l Phosphatpuffer (p_H 8), die sich in einem hohen zylindrischen Gefäß befindet, wird nach Zugabe einer (zentrifugierten) Lösung von 0.5 g Trockenferment in 100 ccm H₂O mittels einer Glasfritte 60 Stdn. ein langsamer Sauerstoffstrom geleitet. Die Lösung färbt sich dunkel, und es scheidet sich in wechselnden Mengen (2—10 g) ein dunkles schmieriges Stoffgemisch aus, das nach Abgießen der wäbr. Lösung in einen in Alkohol schwer- und einen in Alkohol leichtlöslichen Anteil getrennt werden kann. Der erstere enthält einen schwerlöslichen, violetten Stoff, der nicht näher untersucht wurde.

Für die Isolierung der einzelnen Reaktionsprodukte läßt sich keine genau reproduzierbare Arbeitsvorschrift geben, da mehrere Ansätze aus nicht aufgeklärten Gründen sehr unterschiedlich verliefen. Am einfachsten aufzuarbeiten sind Ansätze, bei denen sich nur wenig aus der wäbr. Lösung ausscheidet. Der Anfarbungsgang solcher Ansätze sei hier beschrieben, wobei der ausgefallene Stoff (ungefähr 2 g) nicht berücksichtigt ist.

Die wäbr. Lösung wird erschöpfend mit Äther extrahiert. Aus der stark eingeeengten Ätherlösung scheiden sich nach längerem Stehenlassen rotbraune Krystalle ab (1—3.5 g), die jedoch nicht einheitlich sind. Durch fraktionierte Sublimation im Vak. und fraktionierte Krystallisation gelingt die Trennung in eine farblose Verbindung vom Schmp. 113°, die sich als Syringaaldehyd (VI) erweist und eine gelbe, die nach der Analyse und auf Grund ihres Schmelzpunkts 253° (Mischschmp. 254°) als 2.6-Dimethoxy-benzochinon (VII) erkannt wird. Eine Trennung der beiden Stoffe gelingt durch fraktionierte Sublimation des in Pyridin benzoilylierten Rohkrystallisats: Zuerst sublimiert das Chinon, dann der Benzoylsyringaaldehyd.

Das Filtrat der beschriebenen Krystallisation wird nach Verjagen des Äthers durch Destillation in die Fraktionen 1) bis 100°/0.2 mm (3—5 g Ausgangsmaterial), 2) 100°—155°/0.2 mm (0.5—3 g), 3) 155°—215°/0.2 mm (1—3 g) zerlegt.

Aus Fraktion 2 scheiden sich beim Aufnehmen in Benzol oder sehr wenig absol. Alkohol farblose Krystalle ab, die nach Umkrystallisieren aus

⁴⁾ Vergl. M. Jaffé, Ztschr. physiol. Chem. 2, 47 [1878]; R. Kuhn u. K. Livada, ebenda, 220, 235 [1933]; P. E. Verkade, ebenda, 225, 230 [1933], Biochem. Journ. 28, 31 [1934]; Y. Asahina u. M. Isbidate, B. 68, 947 [1935]; B. Flaschen-träger u. K. Bernhard, Ztschr. physiol. Chem. 238, 221 [1936]; F. Reinartz u. K. Meesen, B. 72, 1 [1939]; F. G. Fischer u. H. J. Bielig, Ztschr. physiol. Chem. 266, 73 [1940]; H. J. Bielig u. A. Hayasida, ebenda, 266, 99 [1940].

Benzol oder Essigester bei 136° schmelzen und sich nach Analyse, Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt als Syringylalkohol⁵⁾ erweisen. Die Ausbeute schwankt von wenigen mg bis zu 1.9 g.

Fraktion 3 und der nicht krystallisierte Teil der Fraktion 2 werden in wenig Äther gelöst, wobei bald Krystallisation erfolgt. Die Rohkrystallisation (Schmp. um 100°) wird aus Methanol umkrystallisiert, wobei der Schmelzpunkt auf annähernd 150° steigt. Dieses Krystallinat kann mit wenig kaltem Alkohol in einen schwerlöslichen und einen leichtlöslichen Teil zerlegt werden.

Den in Alkohol schwerlöslichen Stoff reinigt man am besten durch wiederholte Krystallisation aus Eisessig. Man erhält das 4.4'-Dioxy-3.5.3'.5'-tetramethoxy-stilben (II) in derben, farblosen Rhomben, die bei 242° schmelzen und sich an der Luft schnell rötlich färben.

$C_{18}H_{20}O_8$. Ber. C 65.04, H 6.07, OCH_3 37.35. Gef. C 64.83, H 6.21, OCH_3 37.35.

Diacetat: Aus Eisessig kurze, farblose Prismen vom Schmp. 224—226°.

$C_{22}H_{24}O_8$. Ber. C 63.45, H 5.81. Gef. C 63.24, H 6.07.

Durch Methylierung mit Alkali-Dimethylsulfat entsteht das 3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-stilben (IX) vom Schmp. 215°, das mit dem unten beschriebenen, synthetisch erhaltenen identisch ist.

Aus der in Alkohol leichtlöslichen Fraktion läßt sich durch wiederholtes Krystallisieren aus Alkohol und Sublimation 4.4'-Dioxy-3.5.3'.5'-tetramethoxy-dibenzyl (III) gewinnen. Blaß rosafarbene Blättchen vom Schmp. 179°.

$C_{18}H_{22}O_8$. Ber. C 64.65, H 6.63, OCH_3 37.13. Gef. C 65.00, H 6.74, OCH_3 37.33.

Diacetat: Aus Alkohol farblose Nadeln vom Schmp. 157—158°.

$C_{22}H_{26}O_8$. Ber. C 63.14, H 6.26. Gef. C 62.81, H 6.46.

Das mit Alkali-Dimethylsulfat aus III entstehende 3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-dibenzyl (X) vom Schmp. 138—139° erweist sich als identisch mit dem weiter unten beschriebenen synthetischen Produkt.

Aus der bei der 1. Umkrystallisation der Fraktion 3 aus Methanol verbliebenen Mutterlauge scheiden sich beim Eindunsten derbe Krystalle von 4.4'-Dioxy-3.5.3'.5'-tetramethoxy-diphenylmethan (VIII) aus. Sie werden durch fraktionierte Krystallisation aus Cyclohexan und aus verd. Alkohol gereinigt. Man erhält blaßgelbe Nadeln vom Schmp. 113°.

$C_{17}H_{20}O_8$. Ber. C 63.73, H 6.29, OCH_3 38.75. Gef. C 63.92, H 6.53, OCH_3 38.78.

Diacetat: Aus Alkohol farblose Nadeln vom Schmp. 200°.

$C_{21}H_{24}O_8$. Ber. C 62.36, H 5.98. Gef. C 62.69, H 6.34.

Das mit Alkali-Dimethylsulfat aus VIII entstehende Methylprodukt vom Schmp. 108—109° ist identisch mit dem unten beschriebenen synthetischen 3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-diphenylmethan (XII).

Dehydrierung von Syringylalkohol (V): Durch eine Lösung von 0.92 g V und 0.1 g Fermentpräparat in 200 ccm Phosphatpuffer (pH 8) wird 18 Stdn. Sauerstoff geleitet. Es scheiden sich 0.45 g eines rotbraunen,

⁵⁾ Dtsch. Reichs-Pat. 453 277, C 1928 I, 2307.

nicht weiter untersuchten Stoffes aus. Durch Extraktion der wäßr. Lösung mit Äther erhält man 0.36 g eines Gemisches aus Syringaaldehyd (VI) und 2.6-Dimethoxy-benzochinon (VII).

Dehydrierung von Syringaaldehyd (VI): Durch eine Lösung von 5 g VI und 0.2 g Fermentpräparat in 1 l Phosphatpuffer (p_H 8) wird Sauerstoff geleitet. Die Lösung färbt sich rotbraun, und es scheidet sich bald ein rötlicher amorpher Stoff aus. Nach 12—15 Stdn. scheidet sich an der Gefäßwand eine krystalline Verbindung ab. Das kupferbraune Gemisch der beiden Reaktionsprodukte wird abzentrifugiert und die wäßr. Lösung mit Äther extrahiert. Aus der tiefroten Ätherlösung krystallisieren nach dem Einengen 0.7 g VII aus.

Dehydrierung von 5-Methyl-pyrogallol-1:3-dimethyläther ohne Ferment: Durch eine Lösung von 8 g I in 1 l Phosphatpuffer (p_H 7) wird 3 Tage Sauerstoff geleitet. Die dunkel gewordene Lösung, aus der sich eine kleine Menge harziger Stoffe ausgeschieden hat, wird mit Äther extrahiert. Aus dem Extrakt werden im Vak. bis 135°/12 mm 5 g unverändertes Ausgangsmaterial abdestilliert. Durch fraktionierte Sublimation des Rückstandes erhält man bis 160°/0.3 mm 0.6 g eines Gemisches, aus welchem durch fraktionierte Umkrystallisation aus Alkohol oder Benzol III erhalten wird. Bei weiterer Sublimation bis 190°/0.3 mm erhält man 1.1 g eines Gemisches, das überwiegend II enthält. Durch fraktionierte Krystallisation aus Alkohol und aus Eisessig erhält man II rein.

Bei einem anderen Ansatz gelang nach Methylierung des Ätherextraktes mit Alkali-Dimethylsulfat die Isolierung von IV. Aus Alkohol farblose, rechteckige Blättchen vom Schmp. 101°. Der Mischschmelzpunkt mit dem unten beschriebenen synthetischen Präparat zeigt keine Erniedrigung.

$C_{20}H_{26}O_6$. Ber. C 66.28, H 7.23, OCH_3 51.38. Gef. C 66.56, H 7.25 OCH_3 51.49.

3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-stilben (IX): Eine in Kältemischung gekühlte Lösung von 20 g Trimethylgallusaldehyd in 300 ccm 5-proz. alkohol. Salzsäure wird mit Schwefelwasserstoff gesättigt. Nach 24 Stdn. wird das ausgefallene Reaktionsprodukt (18.6 g) abgesaugt. Durch Einengen der alkohol. Mutterlauge kann noch eine kleine Menge Thioaldehyd gewonnen werden. Aus Essigester farblose Krystalle vom Schmp. 203—204°.

$C_{10}H_{12}O_3S$. Ber. C 56.58, H 5.70, S 15.11. Gef. C 56.63, H 5.72, S 15.21.

Der Thioaldehyd wird mit der 6-fachen Menge Eisenpulver gemischt und in kleinen Anteilen aus einer Retorte destilliert. Aus dem übelriechenden Destillat erhält man IX durch Umkrystallisieren aus Alkohol in farblosen Nadeln vom Schmp. 215—216°. Ausb. 11% d. Theorie.

$C_{20}H_{24}O_6$. Ber. C 66.65, H 6.71. Gef. C 66.93, H 7.07.

3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-dibenzyl (X): Durch Hydrierung von IX in Eisessig mit Pd-BaSO₄. Farblose Rhomben vom Schmp. 138—139°.

$C_{20}H_{26}O_6$. Ber. C 66.28, H 7.23. Gef. C 66.42, H 7.24.

2.3.4.3'.4'.5'-Hexamethoxy-diphenylmethan (XI): Zu einer eisgekühlten Lösung von 3 g Pyrogalloltrimethyläther in 30 g

73-proz. Schwefelsäure wird 1 g 3.4.5-Trimethoxy-benzylalkohol zugeotropft. Die Mischung wird noch 1 Stde. auf 40° erwärmt und dann in Wasser gegossen. Man äthert aus, destilliert den nicht umgesetzten Pyrogalloltrimethyläther im Vak. ab und sublimiert den Rückstand im Vak. Aus Alkohol farblose Krystalle vom Schmp. 74°.

$C_{16}H_{24}O_6$. Ber. C 65.50, H 6.94. Gef. C 65.61, H 6.89.

2-Methyl-4.5.6.3'.4'.5'-hexamethoxy-diphenylmethan (IV): Aus 5-Methyl-pyrogalloltrimethyläther und 3.4.5-Trimethoxy-benzylalkohol analog XI. Aus Alkohol farblose Blättchen vom Schmp. 101°.

$C_{20}H_{26}O_6$. Ber. C 66.28, H 7.23. Gef. C 66.34, H 7.17.

3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-benzoin (XV): 19 g 3.4.5-Trimethoxy-benzaldehyd (XIV) werden mit 2 g Kaliumcyanid in 50 ccm Alkohol 2 Stdn. gekocht. Man gießt in die 10-fache Menge Wasser, saugt das zuerst ölig ausgefallene, aber bald erstarrte Produkt XV ab und krystallisiert es aus Alkohol um. Farblose Blättchen vom Schmp. 148°.

$C_{20}H_{24}O_6$. Ber. C 61.21, H 6.17. Gef. C 61.48, H 6.36.

3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-benzophenon (XVIII): Zu einer Lösung von 10 g Hexamethoxybenzilsäure (XVII) in 50 ccm Eisessig gibt man eine Lösung von 1.7 g Chromsäure in 5 ccm Wasser und 60 ccm Eisessig. Nach 2 Stdn. wird der Eisessig im Vak. abdestilliert und der Rückstand nach Zugabe einiger ccm verd. Salzsäure in Chloroform aufgenommen. Die Chloroformlösung wird mit verd. Lauge gewaschen. Aus dem nach Abdestillieren des Chloroforms verbliebenen Rückstand erhält man durch Sublimation das reine Keton. Ausb. 5.9 g = 66% d. Theorie. Aus Alkohol farblose Blättchen vom Schmp. 163°.

$C_{19}H_{22}O_7$. Ber. C 62.97, H 6.12. Gef. C 63.08, H 6.27.

Hydrazon: 2.5 g des Ketons werden mit 1 ccm wasserfreiem Hydrazin in 10 ccm absol. Alkohol 18 Stdn. auf 130° erhitzt. Nach Abdestillieren des Alkohols krystallisiert das Hydrazon bei Zugabe von Wasser. Aus Alkohol derbe Krystalle vom Schmp. 120°. Ausb. 2.3 g.

$C_{19}H_{24}O_6N_2$. Ber. N 7.44. Gef. N 7.61.

3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-diphenylmethan (XII): 1 g Hydrazon wird mit einer Lösung von 1 g Natrium in 20 ccm Alkohol im Bombenrohr 5 Stdn. auf 160° erhitzt. Der Rohrinhalt verfärbt sich bei Luftzutritt, weshalb man rasch ansäuert und ausäthert. Bei der Destillation erhält man nur ein öliges Produkt. Zur Methylierung löst man in Alkohol, setzt überschüss. Dimethylsulfat zu und tropfenweise 40-proz. Kalilauge. Beim Verdünnen mit Wasser krystallisiert XII aus. Aus Alkohol farblose Blättchen. Schmp. 108—109°.

$C_{16}H_{24}O_6$. Ber. C 65.50, H 6.94. Gef. C 65.73, H 7.08.

3.4.5.3'.4'.5'-Hexamethoxy-diphenylcarbinol: 2.5 g XVIII werden in 100 ccm Alkohol mit 5 g Raney-Nickel hydriert. Es wird rasch 1 Mol. H_2 aufgenommen. Nach Abfiltrieren des Katalysators erhält man aus der eingeeengten Lösung farblose Prismen vom Schmp. 131°.

$C_{19}H_{24}O_7$. Ber. C 62.62, H 6.64. Gef. C 62.85, H 6.71.

Dem unter der Leitung von Hrn. Dozent Dr. E. Wiesenberger stehenden Mikrolaboratorium danke ich für die Ausführung der Mikroanalysen. Fräulein G. Schwegler sei für ihre fleißige und geschickte Mithilfe bei den Versuchen bestens gedankt.

75. Gerhard Schramm und Josef Primosigh: Die Adsorptionsanalyse der Aminosäuren, II. Mittel.*): Die Gruppentrennung des Gesamtgemisches.

[Aus d. Arbeitsstätte für Virusforschung d. Kaiser-Wilhelm-Institute für Biochemie u. Biologie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 16. Mai 1944.)

Die genaue Kenntnis der Aminosäurezusammensetzung der Proteine ist für viele Fragen der Eiweißchemie von entscheidender Bedeutung. Die bisherigen chemischen Verfahren zur Trennung der Aminosäuren sind äußerst langwierig und ungenau und erfordern verhältnismäßig große Proteinmengen. Durch Anwendung der chromatographischen Adsorptionsanalyse gelang es nun, die Gesamtanalyse aller in Eiweißstoffen vorkommenden Aminosäuren auf eine neue Grundlage zu stellen, die eine sichere und bequeme Analyse kleiner Proteinmengen ermöglicht. Hierbei erfolgt eine Trennung der Aminosäuren in fünf Gruppen, von denen jede nur eine geringe Anzahl funktionell zusammengehöriger Aminosäuren umfaßt. Die einzelnen Trennungen erfolgen in theoretisch durchsichtiger Weise, so daß auch das Verhalten bisher nicht berücksichtigter Bausteine mit großer Sicherheit vorausgesagt werden kann. Nach unseren Versuchen hat sich der im folgenden Schema dargestellte Analysengang als der zweckmäßigste ergeben:

Reihenfolge der Adsorptionen.

Absorbens	Aktivkohle	Silicagel	Aluminiumoxyd anionotrop	Aluminiumoxyd u. Formaldehyd	Rest
Im Adsorbat enthalten	1. Gruppe (Aromatische Aminosäuren)	2. Gruppe (Basische Aminosäuren)	3. Gruppe (Saure Aminosäuren)	4. Gruppe	5. Gruppe
	Tryptophan Tyrosin Phenylalanin	Arginin Lysin Histidin	Asparaginsäure Oxyglutaminsäure Glutaminsäure	Serin Threonin Cystein Glykokoll	Alanin Valin Leucin Isoleucin Prolin Oxyprolin

Von der Aktivkohle werden nur die Aminosäuren adsorbiert, die einen aromatischen Ring enthalten, unabhängig davon, wie dieser substituiert ist*). Das Silicagel adsorbiert als saures Adsorbens die Aminosäuren, die neben der α -Amino-Gruppe eine zusätzliche basische Gruppe enthalten. Von dem anionotropen Aluminiumoxyd werden dagegen nur die Aminodicarbonsäuren zurückgehalten. Die vierte Gruppe enthält

*) I. Mittel. B. 76, 373 [1943].