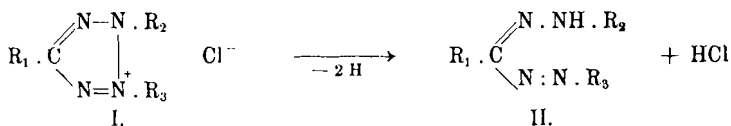


108. Dietrich Jerchel und Walter Möhle: Die Bestimmung des Reduktionspotentials von Tetrazoliumverbindungen.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung Heidelberg, Institut f. Chemie.]
(Eingegangen am 17. Juli 1944.)

Nach G. Lakon¹⁾ ist 2.3.5-Triphenyl-tetrazoliumchlorid (I, $R_1=R_2=R_3=C_6H_5$) als Farbindicator bei der Bestimmung der Keimfähigkeit von Getreide- und Maissamen von Bedeutung. Vom lebenden Keimgewebe wird das farblose Tetrazoliumsalz zum tiefroten, in Wasser schwer löslichen, luftbeständigen Triphenylformazan (II, $R_1=R_2=R_3=C_6H_5$) hy-



driert²⁾. Es erschien daher interessant, die Reduktion von Tetrazoliumverbindungen potentiometrisch zu untersuchen.

Der Versuch, für das System Tetrazoliumsalz/Formazan ein Reduktions-Oxydations-Potential in der üblichen Weise³⁾ zu bestimmen, scheiterte. Es handelt sich hier um einen *irreversibel* verlaufenden Reduktionsvorgang. Die Erfahrungen bei der präparativen Bearbeitung dieser Verbindungen⁴⁾ hatten ergeben: Tetrazoliumsalze lassen sich durch viele Reduktionsmittel unter den verschiedensten Bedingungen zu Formazanen reduzieren, die Dehydrierung dieser Formazane zu Tetrazoliumverbindungen muß dagegen unter recht speziellen Bedingungen (mit Bleitetraacetat, Amylnitrit oder Quecksilberoxyd als Oxydationsmittel) vorgenommen werden.

Für die Bestimmung der elektromotorischen Kräfte bei irreversibel verlaufenden Oxydations- und Reduktionsvorgängen haben Arbeiten von J. B. Conant⁵⁾ und L. F. Fieser⁶⁾ gedankliche sowie praktische Voraussetzungen geschaffen.

Durch den messenden Vergleich einer bekannten mit einer unbekannt reversibel sich verändernden Verbindung kann man den Wert des Redoxpotentials der unbekannt Verbindung bestimmen. Durch Mischen von oxydierter und reduzierter Form reversibler Indicatorsysteme in verschiedenen Verhältnissen bekommt man eine Reihe von Reduktionssystemen mit bestimmten Potentialen. Zu jedem dieser Systeme wird eine der vorhandenen Leukoform äquimolekulare Menge an unbekannter Substanz gegeben. Nach wenigen Minuten wird die Einstellung von konstant bleibenden Potentialen beobachtet. Sie kennzeichnen den neuen Gleichgewichtszustand zwischen bekanntem und unbekanntem Redoxsystem.

¹⁾ Comptes-rendus de l'Association Internationale d'Essais de Semences 1, 1 [1940]; Ber. dtsh. bot. Ges. 57, 191 [1937]; 60, 299, 434 [1942].

²⁾ R. Kuhn u. D. Jerchel, B. 74, 949 [1941].

³⁾ s. dazu R. Wurmser im Handbuch der Enzymologie von Nord-Weidenhagen, Leipzig 1940, S. 298.

⁴⁾ R. Kuhn u. D. Jerchel, B. 74, 941 [1941].

⁵⁾ Chem. Reviews 3, 1 [1926].

⁶⁾ Journ. Amer. chem. Soc. 52, 5204 [1930].

Stellt man diese Werte in Abhängigkeit zu den ihnen entsprechenden Indicatorpotentialen graphisch dar, so lassen sich die erhaltenen Punkte durch eine gerade Linie verbinden. Der Punkt, der durch Extrapolation auf 0 Volt Änderung als Schnittpunkt der Geraden mit der Ordinate erhalten wird, gibt den Wert des Redoxpotentials der unbekannten Substanz an. Die Abbildungen 1 und 2 führen diese Art der Bestimmung von Redoxpotentialen für Safranin bei p_H 1.02 und für Anthrachinon-disulfonat-(2.7) bei p_H 1.02 und 6.72 als Beispiele vor Augen.

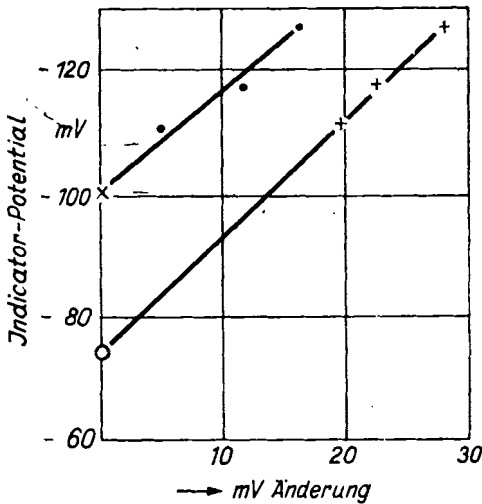


Abbildung 1.

p_H 1.02. Indicator: Anthrachinon-sulfonat-(2).
 + — + Acceptor: Anthrachinon-disulfonat-(2.7).
 . — . Acceptor: Safranin.
 ○ Norm. Pot. (Kalomel-Elekt.) von Anthrachinon-disulfonat-(2.7).
 × Norm. Pot. (Kalomel-Elekt.) von Safranin.

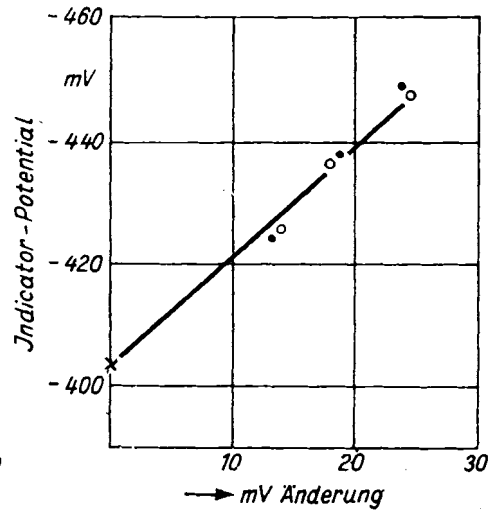


Abbildung 2.

p_H 6.72. Indicator: Anthrachinon-sulfonat-(2).
 Acceptor: Anthrachinon-disulfonat-(2.7).
 . — . Indicator: Acceptor = 1 : 1.
 ○ — ○ Indicator: Acceptor = 1 : 1/2.
 × Norm. Pot. (Kalomel-Elekt.) von Anthrachinon-disulfonat-(2.7).

Es ist bemerkenswert, wie genau die auf diese indirekte Weise ermittelten Werte mit den nach dem üblichen Verfahren bestimmten Redoxpotentialen übereinstimmen (Tafel 1).

Tafel 1.

pH	Substanz	Norm. Potential	Norm. Potential
		(Kalomel-Elektrode)	(auf indirekte Weise bestimmt)
Volt			
1.02	Anthrachinon-disulfonat-(2.7)	- 0.073	- 0.077
	Safranin	- 0.101	- 0.101
6.72	Anthrachinon-disulfonat-(2.7)	- 0.403	- 0.401

Beim Zusammenbringen von verschiedenen bekannten reversiblen Redoxsystemen mit der zu prüfenden irreversiblen Substanz beobachtet man dagegen Potentialänderungen, die aussagen, zwischen welche der bekannten Redoxsysteme die irreversible Oxydations- oder Reduktionsreaktion einzuordnen ist. J. B. Conant⁵⁾ prägte für das auf solche Weise bestimmte Potential — das er aus praktischen Gründen dem des Redoxsystems gleichsetzt, welches während 30 Min. nur noch zu 20 bis 30% oxydiert bzw. reduziert wird — den Begriff „apparent oxydation potential“ (AOP) bzw. „apparent reduction potential“ (ARP).

Von diesem Potentialbegriff ausgehend hat später L. F. Fieser⁶⁾ einen anderen verwandten Begriff, das „kritische Potential“ definiert. Man vergleicht bei der Bestimmung des AOP oder ARP Reaktionsgeschwindigkeiten. Da nun die Konstanten beispielsweise der Dehydrierungsgeschwindigkeit verschiedener Verbindungen auch verschiedene Werte haben können und man auf diese Weise unvergleichbare Potentiale messen würde, sucht Fieser Bezugsredoxsysteme auf, welche in kurzer Zeit nur kleine Umsätze bewirken. Er mißt Potentialänderungen, die während 5 Minuten von verschiedenen Systemen hervorgerufen werden. Durch geeignete Extrapolation kann er dann die als „kritische Oxydationspotentiale“⁷⁾ bezeichneten Werte erhalten.

Die ungefähre Lage des Reduktionspotentials von Tetrazoliumverbindungen ließ sich mittels verschiedener Farbindicatoren orientierend bestimmen²⁾. Es ergibt sich damit ein Hinweis, welche Indicatorensubstanz als Vergleichssystem zur Potentialmessung in Frage kommt.

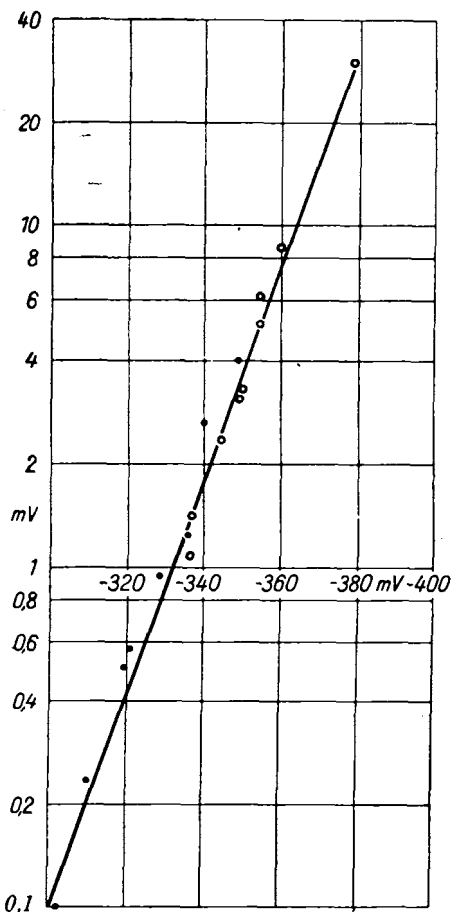
Führt man die Messung des Reduktionspotentials mit Hilfe des elektrometrischen Verfahrens durch, so verfährt man in der folgenden Weise: Durch Mischen von reduzierter und von oxydierter Form reversibler Indicatoren stellt man sich Systeme mit verschiedenen Potentialen her. Zu einem so erhaltenen Gemisch wird eine dem reduzierten Anteil des Indicators äquimolekulare Menge an Tetrazoliumsalz — die Acceptorsubstanz — hinzugefügt. Jetzt kann, wenn das eingestellte Potential des Indicators negativer ist als das Reduktionspotential des Acceptors, dieser reduziert werden. Das wird an einem deutlichen Potentialgang — gemessen wird mit Platinelektroden gegen eine Kalomelektrode nach dem Prinzip der Kompensationsmethode — festgestellt. Die Größe der gemessenen Potentialänderung richtet sich nach dem jeweiligen Unterschied zwischen Indicatorpotential und dem Reduktionspotential der Acceptorsubstanz. Der Verlauf der Potentialänderungen in Abhängigkeit von der Zeit ist am Beispiel der Reduktion von Triphenyltetrazoliumchlorid in Abbild. 5 (S. 598) dargestellt.

Instabile Redoxsysteme verhalten sich gleichartig. Bei ihnen wird durch Sekundärreaktionen das sich einstellende Gleichgewicht ständig gestört. Die gemessenen und sodann in Prozent des verbrauchten Oxydationsmittels ausgedrückten Werte wurden von Fieser in eine empirische Formel eingesetzt. Auf diese Weise konnte er sogenannte Werte der prozentualen Oxydation erhalten, welche, gegen die ihnen zugehörigen Indicatorpotentialwerte aufgezeichnet, auf einer Geraden lagen. Benützt man jedoch diese Formel für die Meßergebnisse bei Tetrazoliumsalzen, so läßt sich keine befriedigende Darstellung erreichen. Hier führt das Auftragen der in den ersten 5 Min. gemessenen Potentialänderungen in logarithmischem Maßstab gegen die entsprechenden Indicatorpoten-

7) Für das „kritische Oxydationspotential“ unstabiler Redoxsysteme entwickelt er sein Verfahren.

tialwerte (in normalem Maßstab) zu Punkten, deren Verbindungslinie eine Gerade ist (Abbild. 3).

Eine Extrapolation auf 0 Millivolt Potentialänderung ist nicht sinnvoll. Es wird daher empirisch eine *Potentialänderung von 1 Millivolt im Laufe der ersten 5 Min* als maßgeblicher Wert festgelegt. Die Bestimmung dieses Wertes bei 1 mV entspricht am besten der mit der Apparatur zu erreichenden Meßgenauigkeit. Die Bedeutung der gemessenen Werte liegt darin, daß sie erlauben, verschiedene sich bei der Reduktion irreversibel verändernde Substanzen exakt in ihrem Reduktionspotential zu vergleichen.



Abbild. 3.

Bestimmung des Reduktionspotentials
(Änderung von 1mV/0,5 Min.) von
Triphenyltetrazoliumchlorid.

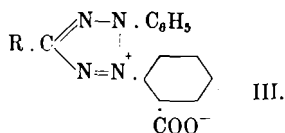
pH 6,72 Indicator: Indigotrisulfonat.

○ — ○ Indicator: Indigodisulfonat.

Abzisse: Indikatorpotential (Kalomel-Elektrode).

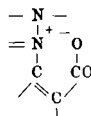
Ordinate: mV Änderung/0,5 Min. (log Maßst.).

Tafel 2 gibt eine Aufstellung der für verschiedene Tetrazoliumsalze ermittelten Reduktionspotentialwerte. Bei pH 6,72 haben die Potentiale für 2,3,5-Triphenyl-, 2,3-Diphenyl-5-carboxy-, 2,3-Diphenyl-5-methyl-, 2-Phenyl-3-[p-oxyphenyl]- und 2-Phenyl-3-[p-carboxyphenyl]-5-methyl-tetrazoliumchlorid recht genau gleiche Größe. 2-Phenyl-3-[o-carboxyphenyl]-5-methyl- und 2-Phenyl-3-[o-carboxyphenyl]-5-n-heptyl-tetrazoliumchlorid sind dagegen wesentlich schwerer zu reduzieren. Ihre Reduktionspotentiale liegen um rund 140 mV negativer. Diese Verbindungen liegen in Lösung wohl als Zwitter-Ionen vor (III). Es ist daher anzunehmen, daß die der positiven Ladung am Tetrazolkern räumlich angenäherte negative



Ladung der Carboxylgruppe von Einfluß auf den Wert des Reduktionspotentials ist⁸⁾.

⁸⁾ Vielleicht ist hier für die Erniedrigung des Potentials auch — einem Gedanken von R. K u h n folgend — die Möglichkeit zur Bildung eines heteropolaren Ringes maßgebend; vergl. Naturwiss. 82, 618 [1932].



Tafel 2: Bestimmung der Reduktionspotentiale von verschiedenen Tetrazoliumsalzen.

Acceptorsubstanz	Indicator	eingest.	Ände-	pH	Reduktionspoten-	
		Indi-	run-		Kalomet-	norm. H ₂ -
		cator-	g für		Elektrode	Elektrode
		potential	0-5 Min.		mV	Volt
		mV	mV			
<chem>c1ccc(cc1)[N+]#Nc2ccccc2.[Cl-]</chem> ⁹⁾	Indigo-	301.8	0.1	6.72	- 332	- 0.083
	trisulfonat	310.4	0.23			
		319.5	0.5			
		320.6	0.57			
		328.8	0.93			
		335.9	1.23			
		340.1	2.63			
		349.0	4.0			
	Indigo-	336.7	1.06			
	disulfonat	336.8	1.4			
		344.1	2.3			
		349.2	3.1			
		350.0	3.3			
		354.5	5.1			
		354.6	6.1			
	359.9	8.5				
	378.4	30.0				
Anthra-	333.7	0.77	5.89	- 337	- 0.088	
chinon-	360.0	4.5				
disul-						
fonat-(2.7)						
<chem>OC(=O)c1ccc(cc1)[N+]#Nc2ccccc2.[Cl-]</chem> ¹⁰⁾	Indigo-	325.2	0.7	6.72	- 330	- 0.081
	trisulfonat	336.2	1.8			
<chem>Cc1ccc(cc1)[N+]#Nc2ccccc2.[Cl-]</chem> ¹¹⁾	Indigo-	322.9	0.35	6.72	- 338	- 0.089
	trisulfonat	335.9	0.7			
		346.9	2.0			
<chem>Cc1ccc(O)cc1[N+]#Nc2ccccc2.[Cl-]</chem> 	Indigo-	322.7	0.4	6.72	- 337	- 0.088
	trisulfonat	336.0	0.8			
		348.1	2.0			
<chem>Cc1ccc(cc1)[N+]#Nc2ccccc2C(=O)O.[Cl-]</chem> 	Indigo-	323.2	0.7	6.72	- 328	- 0.079
	trisulfonat	335.8	1.9			
		348.0	5.1			
<chem>Cc1ccc(cc1)[N+]#Nc2ccccc2C(=O)O.[Cl-]</chem> 	Anthra-	432.8	0.15	6.72	- 467	- 0.218
	chinon-	445.1	0.3			
sul-	459.7	0.7				
fonat-(2)	Safranin	512.0	9.3			
<chem>Cc1ccc(cc1)[N+]#Nc2ccccc2C(=O)O.[Cl-]</chem> 	Anthra-	458.1	0.25	6.72	- 478	- 0.229
	chinon-	507.2	6.9			
sul-						
fonat-(2)	Safranin					

⁹⁾ „Tetrazol“ der I. G. Farbenindustrie A. G., Werk Leverkusen.

¹⁰⁾ H. von Pechmann u. P. Runge, B. 27, 2920 [1894].

¹¹⁾ E. Bamberger u. O. Billeter, Helv. chim. Acta 14, 231 [1931].

Bei Triphenyltetrazoliumchlorid wurde das Reduktionspotential auch für p_H 5.89 bestimmt. Der Wert hat die gleiche Größe wie der für p_H 6.72. Das Reduktionspotential ist also — im Gegensatz zum Redoxpotential vieler bekannter Farbindicatoren — im untersuchten Gebiet *nicht* vom Säuregrad des Lösungsmittels abhängig.

In Gemeinschaft mit Hrn. Dr. F. Moewus wurden die neuen Stoffe orientierend am Maissamen geprüft. Bei Verwendung des 5-Methyl-2-phenyl-3-[*o*-carboxy-phenyl]-tetrazoliumchlorids konnte keinerlei Anfärbung durch die lebenden Bezirke der Keimanlage beobachtet werden. Mit der entsprechenden *p*-Carboxy-Verbindung wurde eine vorübergehende rosa Färbung bemerkt. Als Indicatoren in biologischem Material sind beide Stoffe nicht brauchbar, da die aus ihnen entstandenen Formazane recht wasserlöslich sind und daher durch wachsendes Keimgewebe — das gleiche kann man mit Natriumdithionitlösung bei p_H 7 sehen — weiter zu farblosen Verbindungen reduziert werden können. Günstiger liegen die Verhältnisse für das 5-*n*-Heptyl-2-phenyl-3-[*o*-carboxy-phenyl]-tetrazoliumchlorid; das daraus entstandene Formazan ist in Wasser schwer löslich. Mit diesem in Phosphatpuffer befindlichen Tetrazoliumsalz konnte man Färbungen der Keimanlage hervorrufen, jedoch waren diese erheblich schwächer als bei Verwendung von Triphenyltetrazoliumchlorid und bemerkenswerterweise auf die Vegetationspunkte beschränkt. Das Scutellum war in fast allen Fällen nicht angefärbt.

Durch die vorliegende Untersuchung ließ sich zeigen, daß man die Reduktionspotentiale (Änderung 1 mV/5 Min.) von Tetrazoliumsalzen exakt bestimmen kann. Es lassen sich durch geeignete Substitution Tetrazoliumverbindungen mit deutlich voneinander abweichenden Reduktionspotentialen darstellen. Dadurch wird grundsätzlich die Möglichkeit eröffnet, auch bei biologischen Untersuchungen unter aeroben Bedingungen im Bereich von -0.080 bis zu -0.230 Volt (H_2 -Elektrode) mit in ihren Potentialen abgestuften Indicatoren zu arbeiten, deren „Leukoformen“ im Gegensatz zu Leukolactoflavin, Indigweiß u. a. gegen Luftsauerstoff beständig sind.

Beschreibung der Versuche.

Zur Bestimmung von Reduktionspotentialen bedient man sich der bereits bei K. Wallenfels und W. Möhle¹²⁾ für Redoxpotentialmessungen beschriebenen Apparatur. Für den vorliegenden Zweck wurde sie mit einer zusätzlichen Einrichtung 1, 2, 3, 4 (Abbild. 4) versehen¹³⁾. Die elektrometrische Titration wird in einem Elektrodengefäß 5, welches mit einer Reihe von Schliffring zur Einführung von Elektroden, Gasstrom, Bürette und Agarbrücke zur Kalomel-Ektrode versehen ist, durchgeführt. In einem dieser Schliffring sitzt ein Tropftrichter 1, der für die Zugabe von 2 verschiedenen Stoffen eingerichtet ist. Durch die Hähne 2 und 4 werden die 2 Abteilungen verschlossen. Die beiden angesetzten dünnen Röhren dienen zum Durchleiten eines Gasstromes. Das Stickstoffgas, welches eine KOH-Vorlage und glühende Kupferspäne durchstreicht, tritt durch das Titrationsgefäß 5 bei geschlossenem Hahn 3 durch

¹²⁾ B. 76, 933 [1943].

¹³⁾ s. dazu A. F. Cameron, Journ. physic. Chem. 42, 1217 [1938].

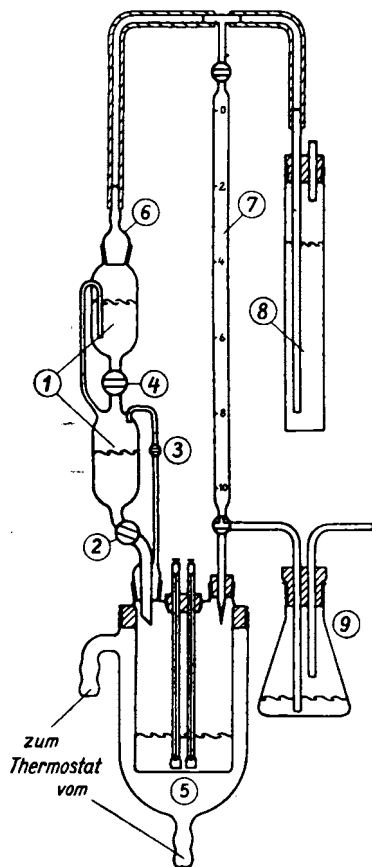


Abb. 4.

Apparatur für Potentialmessungen.

den etwas geöffneten Hahn 2 in den unteren Teil des Tropftrichters 1 ein und durchperlt die darin befindliche Flüssigkeit. Hahn 4 ist geschlossen und hält die im oberen Teil befindliche Flüssigkeit zurück. Durch das seitlich angesetzte Rohr, welches im oberen Teil bis tief unter den Flüssigkeitsspiegel reicht, kann der Stickstoffstrom auch die hier befindliche Flüssigkeit von Sauerstoff befreien. Der Gasstrom geht weiter durch den Gaseintrittsstutzen 6 und einen Verbindungsschlauch über die Bürette 7 in den Blasenähler und Druckvorleger 8 oder durch die Bürette und einen Erlenmeyer-Kolben 9 ins Freie. Das Titrationsgefäß 5 besitzt einen Wassermantel und wird durch einen Ultrathermostaten konstant auf 20° gehalten.

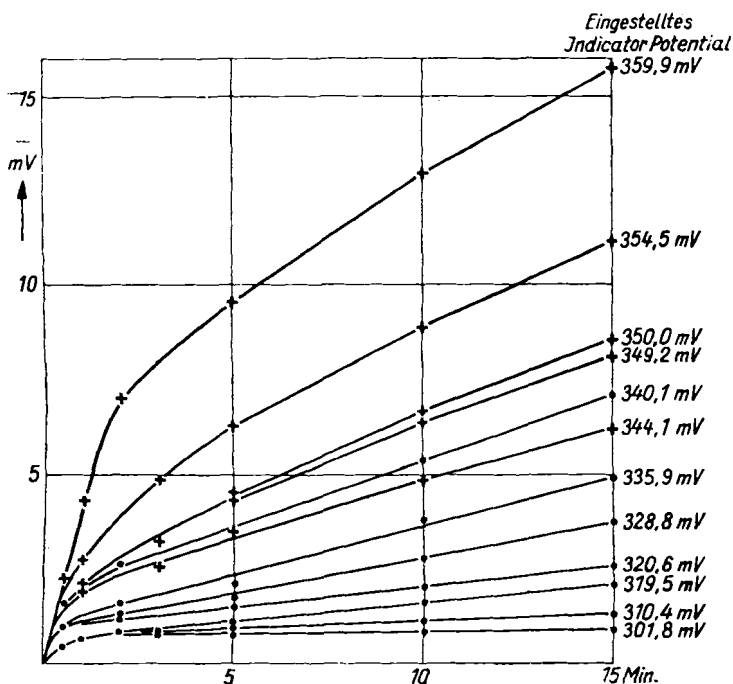
Durchführung der Messung: 5×10^{-6} Mole Indicatorsubstanz in 30 cm Pufferlösung (p_H 6.72 und 5.89: Phosphatpuffer, p_H 1.02: $n/10$ -HCl) werden in das Titrationsgefäß 5 eingefüllt und durch Wasserstoff nach Zugabe von einem Tropfen 1-proz. kolloidaler Pd-Lösung im Verlauf von wenigen Minuten reduziert. Nach erfolgter p_H -Kontrolle mit Hilfe einer Pt-Mohr-Elektrode wird der Wasserstoffstrom durch einen peinlichst von Sauerstoff befreiten Stickstoffstrom ersetzt. Nachdem der Wasserstoff aus der Apparatur verdrängt ist (10 Min.) werden in den unteren Teil des Tropftrichters 1 bei geschlossenem Hahn 2 und geöffnetem Hahn 3 10 cm Pufferlösung gefüllt. Sodann wird der Hahn 3 geschlossen und der Hahn 2 etwas geöffnet. Hahn 4 wird jetzt erst geschlos-

sen und der obere Teil des Tropftrichters mit 5×10^{-6} Molen Tetrazoliumsalz gelöst in 10 cm Pufferlösung beschickt. In Gefäß 9 gibt man 15 cm der jeweils zur Einstellung des gewünschten Potentials benötigten Lösung von Indicatorsubstanz. Nach 1- bis 2-stdg. Durchleiten ist das System zur Messung bereit.

Die im Kolben 9 befindliche Indicatorlösung wird in die Bürette 7 gedrückt. Durch tropfenweises Zugeben zu der im Titrationsgefäß 5 befindlichen, bei allen Versuchen gleichbleibenden Menge des reduzierten Indicators wird ein im voraus berechnetes Potential eingestellt. Gemessen wird mittels 3 Platinelektroden gegen eine Kalomel-Ektrode nach dem üblichen Kompensationsverfahren. Die Ablesung konnte auf 0.2 Millivolt genau erfolgen, da ein 50 cm langer Meßdraht 100 mV entsprach und als Nullinstrument ein empfindliches Spiegelgalvanometer zur Verwendung gelangte.

Als erstes wird nun die im unteren Tropftrichterraum befindliche Pufferlösung durch Öffnen der Hähne 2 und 3 in das Titrationsgefäß ge-

geben und der Potentialverlauf beobachtet. Im allgemeinen ergibt sich je nach verwendetem Indicator ein sehr kleiner Potentialwert (< 1 mV), der jedoch zur Kontrolle immer gemessen wird. Nach 1 Min. ist der Potentialwert wieder konstant; über 5—10 Min. wird er weiter gemessen. Sodann wird auch der Inhalt des oberen Tropftrichterraumes hinzugegeben. Der ständig weiterlaufende Gasstrom mischt die Tetrazoliumsalzlösung innig mit der Indicatorlösung. Hat der Indicator ein negativeres Potential als das Tetrazoliumsalz, so bemerkt man schon nach einer halben Min. das Beginnen eines Potentialanges. Sein Verlauf wird nach 1, 3, 5 und 15 Min. gemessen. Für Triphenyltetrazoliumchlorid z. B. ergeben sich so die in Abbild 5. aufgezeichneten Meßwerte.



Abbild. 5.

pH 6.72. Verlauf der Potentialänderungen durch Triphenyltetrazoliumchlorid.
 . — . Indicator: Indigotrisulfonat. + — + Indicator: Indigodisulfonat.

In Abbild. 3 sind die 5-Min.-Werte aufgezeichnet. Von den gemessenen 5-Min.-Werten unterscheiden sie sich durch Abzug eines kleinen Leerwertes. Dieser läßt sich bei den Potentialwerten ermitteln, die im Verlauf eine geradlinige Potential/Zeitkurve ergeben; in der vorliegenden Kurvenschar also so, daß man die geradlinigen Kurven nach dem Zeitpunkt 0 gerade verlängert. Der Leerwert ergibt sich als Schnittpunkt der Geraden mit der Ordinate. Die korrigierten Werte ergeben logarithmisch in Abhängigkeit vom Indicatorpotential aufgetragen eine gerade Linie, deren Schnittpunkt durch die Linie für 1 mV das gesuchte Reduktionspotential darstellt.

Indicatoren: Das Redoxpotential der verwendeten Indicatoren wurde gemessen und der Verlauf der Titrationskurve für p_H 6.72, 1.02 und 5.89 festgelegt (Tafel 3). Aus ihr wurde für jedes Indicatorpotential der prozentuale Anteil oxydierter und reduzierter Form entnommen.

Tafel 3.

Indicator	E		J ₁	J ₂
	Kalomel-Elektrode	Norm. H ₂ -Elektrode		
p_H 1,02 ($n/_{10}$ -HCl)	Volt	Volt	mV	mV
Anthrachinon-sulfonat-(2) ¹⁴) . . .	- 0.118	+ 0.131	14.1	14.7
Safranin ¹⁵)	- 0.101	+ 0.148	14.0	13.7
Anthrachinon-disulfonat-(2.7) ¹⁴) .	- 0.073	+ 0.176	14.6	14.5
p_H 6.72 ($m/_{10}$ Phosphatpuffer)				
Safranin	- 0.518	- 0.269	13.5	13.0
Anthrachinon-sulfonat-(2)	- 0.445	- 0.196	15.0	14.0
Anthrachinon-disulfonat-(2.7)	- 0.403	- 0.154	16.5	16.3
Indigodisulfonat ¹⁵)	- 0.335	- 0.086	14.7	14.8
Indigotrisulfonat ¹⁵)	- 0.303	- 0.054	21.0	18.5
p_H 5.89 ($m/_{10}$ Phosphatpuffer)				
Anthrachinon-sulfonat-(2)	- 0.397 (ber.)	- 0.148	-	-

Die aus diesen Kurven festgestellten Werte müssen mit den durch Versuche erhaltenen übereinstimmen. So ist man sicher, daß während des Durchleitens von Stickstoff durch Sauerstoffspuren nichts von der vorgelegten Menge an reduzierter Indicatorform verschwindet und auch die hinzugefügte Indicatorlösung völlig sauerstofffrei ist.

Das Reduktionspotential ist, wenn auch nicht erheblich, so aber doch deutlich abhängig vom Konzentrationsverhältnis des Acceptors zum Indicator. Das in der Tafel 4 angeführte Beispiel (Acceptor: Triphenyltetrazoliumchlorid, Indicator: Indigotrisulfonat) zeigt dies.

Tafel 4.

Verhältnis Acceptor: Indicator *)	eingestelltes Indicatorpotential (Kalomel-Elekt.)	mVolt Änderung 0-5 Min.
2 : 1	- 330.6 mV	0.7
1 : 1	- 329.8 mV	0.9
1/2 : 1	- 330.0 mV	1.3

*) Indicatormenge: 5×10^{-6} Mol

Bestimmung des Redoxpotentials reversibel sich verhaltender Verbindungen: In genau der gleichen Weise, wie bei der Bestimmung des Reduktionspotentials irreversibler Systeme angegeben, kann man bei der Festlegung des Redoxpotentials reversibler Systeme verfahren. Nur ergibt sich nach dem Zusammengeben von Indicator und Acceptor kein Abrollen einer Reduktionsreaktion, sondern ein konstanter

¹⁴) Heyl & Co., Berlin.¹⁵) E. Merck, Darmstadt.

Potentialwert, d. h. die Einstellung eines neuen Gleichgewichtes. Werte, die auf diese Art erhalten wurden, sind in Abbild. 1 und 2 (S. 592) dargestellt. Der geradlinige Verlauf ist nur dann gewährleistet, wenn Indicatorpotential und das zu bestimmende Redoxpotential nicht mehr als 50 mV auseinanderliegen.

C-Methyl-*N*-phenyl-*N'*-[*p*-carboxy-phenyl]-formazan: Wurde nach E. Bamberger und O. Billeter⁴⁾ 10) in der beschriebenen Weise aus dem Phenylhydrazon des Acetaldehyds und der Diazoniumverbindung von *p*-Amino-benzoesäure quantitativ erhalten. Aus Alkohol ziegelrote glänzende Nadeln. Schmp. 185° (Berl.).

$C_{15}H_{14}O_2N_4$ (282.1). Ber. C 63.80, H 5.00, N 19.86.
Gef. C 63.76, 63.94, H 5.23, 5.32, N 20.02, 19.96 (Mikro-Dumas).

5-Methyl-2-phenyl-3-[*p*-carboxy-phenyl]-tetrazoliumchlorid: 5 g *C*-Methyl-*N*-phenyl-*N'*-[*p*-carboxy-phenyl]-formazan wurden mit 10 g Bleitetraacetat in $CHCl_3$ dehydriert. Nach dem Versetzen mit methylalkohol. Salzsäure entstand in guter Ausbeute das gesuchte Tetrazoliumsalz. Krystalle aus Methanol-Essigester. Schmp. 268° (Berl, Zers.).

$C_{15}H_{13}O_2N_4Cl$ (316.6). Ber. C 56.86, H 4.13, N 17.70.
Gef. C 56.96, 56.72, H 4.39, 4.28, N 17.79, 17.87 (Mikro-D.).

C-Methyl-*N*-phenyl-*N'*-[*o*-carboxy-phenyl]-formazan: Auf gleiche Weise wie die *p*-Carboxy-Verbindung wurde aus diazotierter *o*-Aminobenzoesäure und Acetaldehydphenylhydrazon das Formazan erhalten. Krystallisation aus viel absol. Alkohol. Tiefrote Nadeln. Schmp. 200° (Berl.).

$C_{15}H_{14}O_2N_4$ (282.1). Ber. C 63.80, H 5.00, N 19.86.
Gef. C 63.87, 63.76, H 5.35, 5.30, N 19.90 (Mikro-D.).

5-Methyl-2-phenyl-3-[*o*-carboxy-phenyl]-tetrazoliumchlorid: In glatter Reaktion führte die Dehydrierung des betr. Formazans mit Bleitetraacetat zum Tetrazoliumsalz. Nach Salzsäurebehandlung und mehrfachem Umfällen krystallisierte es aus Alkohol-Aceton nach Zugabe von Äther. Schmp. 242° (Berl. Zers.).

$C_{15}H_{13}O_2N_4Cl$ (316.6). Ber. C 56.86, H 4.13, N 17.70.
Gef. C 56.83, 56.82, H 4.96, 4.31, N 17.72, 17.56 (Mikro-D.),
Äquiv.-Gew. 315.1.

C-Methyl-*N*-phenyl-*N'*-[*p*-oxy-phenyl]-formazan: Aus dem Diazoniumsalz von *p*-Amino-phenol und Acetaldehydphenylhydrazon. Krystalle aus Alkohol. Schmp. 148—149° (Berl.).

$C_{14}H_{14}ON_4$ (254.14). Ber. C 66.11, H 5.55, N 22.05.
Gef. C 66.13, 66.39, H 5.62, 5.89, N 22.37 (Mikro-D.).

5-Methyl-2-phenyl-3-[*p*-oxy-phenyl]-tetrazoliumchlorid: Aus *C*-Methyl-*N*-phenyl-*N'*-[*p*-oxy-phenyl]-formazan durch Dehydrierung mit überschüss. Bleitetraacetat in Eisessig. Nadeln aus Methanol-Äther. Schmp. 261° (Berl.).

$C_{14}H_{13}ON_4Cl$ (288.6). Ber. C 58.21, H 4.55, N 19.42, Cl 12.29.
Gef. C 57.79, H 4.80, N 19.30, Cl 12.27.

C-n-Heptyl-*N*-phenyl-*N'*-[*o*-carboxy-phenyl]-formazan: Aus 22 g Octylaldehydphenylhydrazon und 13.8 g der Diazoniumverbindung der *o*-Amino-benzoesäure. Ausb. 20 g rohes Formazan. Ziegelrote Nadeln aus Alkohol. Schmp. 162° (Berl).

$C_{21}H_{26}O_2N_4$ (366.2). Ber. C 68.81, H 7.15, N 15.30. Gef. C 68.99, H 7.04, N 14.91.

5-*n*-Heptyl-2-phenyl-3-[*o*-carboxy-phenyl]-tetrazoliumchlorid: 5 g des vorangehend beschriebenen analysenreinen Formazans wurden in $CHCl_3$ mit Bleitetraacetat dehydriert. Nach der Entfernung des Bleis durch methylalkohol. Salzsäure wurden 3 g Roh-Tetrazoliumsalz erhalten. Reinigung durch 2-maliges Fälln aus Alkohol mittels Äthers. Krystalle aus Alkohol. Schmp. 228—230° (Berl, Zers.).

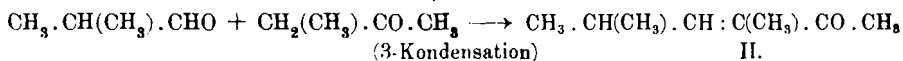
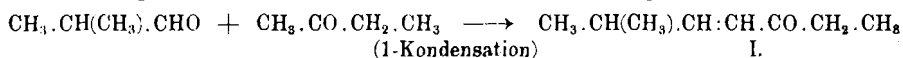
$C_{21}H_{25}O_2N_4Cl$ (400.68). Ber. C 62.89, H 6.29, N 13.98.
Gef. C 62.64, 62.61, H 6.56, 6.53, N 13.96.

109. Herbert Haeußler und Jan Dijkema: Über die Kondensation von Butanon mit Isobutyraldehyd*).

[Aus d. Institut für Organ. Chemie d. Technischen Hochschule Hannover.]

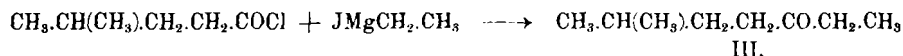
(Eingegangen am 21. Juli 1944.)

H. Thoms und H. Kahre¹⁾ sprachen den Stoff, den sie bei der Kondensation von Butanon mit Isobutyraldehyd mittels wäßrigen Alkalis erhalten hatten, als 2-Methyl-hepten-(3)-on-(5) an (I). Denkbar wäre auch die Bildung von 2.4-Dimethyl-hexen-(3)-on-(5) (II) gewesen.



Wegen der offenbaren Schwierigkeit, den Kondensationsverlauf des Butanons mit Aldehyden auf Grund der bisherigen Versuchsergebnisse zu erklären²⁾, bearbeiteten wir die Kondensation von Butanon mit Isobutyraldehyd erneut. Es zeigte sich, daß dabei nicht nur Methylheptenon, sondern auch Dimethylhexenon entsteht.

H. Thoms und H. Kahre beschrieben das von ihnen erhaltene Kondensat (Sdp.₁₅ 53—56°) näher durch ein Semicarbazon (Schmp. 174° bis 175°). Für ihre Auffassung der Konstitution des Kondensats führten sie zwei Befunde an: Erstens eine negative Jodoformprobe (Ausschluß von II) und zweitens die Identität des Semicarbazons (Schmp. 131—132°) des zum gesättigten Keton hydrierten Kondensats mit dem Semicarbazon des Ketons, welches sie aus Isobutylessigsäurechlorid und Äthylmagnesiumjodid erhielten (III).



*) Hrn. Professor Dr. P. Rabe in Verehrung zum 75. Geburtstag.

1) Arch. Pharmaz. 263, 241 [1925].

2) H. Haeußler u. C. Brugger. B. 77, 152 [1944].