

Prüfung von 2-Acetylthiazolin an der Ratte: 2 mg/kg Ratte bewirken bei intraperitonealer Injektion eine Senkung des normalen Blutdruckes⁵⁾ um 30–40%. Der Normalwert wird nach etwa 5 Stdn. wieder erreicht. 20 mg/kg intraperitoneal oder rectal gegeben, senken den Blutdruck der Ratte von 120–130 mm Hg auf 50–70 mm Hg. Der Ausgangswert wird erst nach 24–36 Stdn. wieder erreicht. Dosen von 200 mg/kg Ratte führen zu einer lang anhaltenden Erschlaffung der Muskulatur. Erst Dosen von 1200 mg/kg wirken bei einzelnen Tieren tödlich. 400 mg/kg Hund führen zu einer etwa 12 Stdn. anhaltenden Muskeler schlaffung. Tägliche Gaben von 50 mg/kg (sbc.) werden während einer Beobachtungszeit von 38 Tagen von der Ratte gut vertragen. Durch 40 mg/kg Ratte wird bei peroraler Zufuhr der Blutdruck nicht nennenswert beeinflusst.

72. Géza Zemplén, László Mester und Ede Eckhart: Darstellung der Zuckertetrazolium-Verbindungen

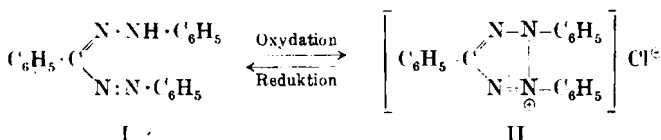
[Aus dem Organisch-chemischen Institut der Technischen Universität Budapest]

(Eingegangen am 20. November 1952)

Aus dem *d*-Galakto-diphenyl-formazan-pentaaacetat wurde durch Oxydation mit Bleitetraacetat das *d*-Galakto-diphenyl-tetrazoliumchlorid-pentaaacetat dargestellt und aus diesem das *d*-Galakto-diphenyl-tetrazoliumchlorid.

Unlängst berichteten wir¹⁾ über die Darstellung der Zuckerformazane und ihre Konstitutionsermittlung²⁾. Nun versuchten wir die Darstellung von Zuckertetrazolium-Verbindungen aus den entsprechenden Zuckerformazanen.

Es ist längst bekannt, daß die einfachen Formazane durch Oxydation in Tetrazolium-Derivate überführbar sind. So stellten z. B. H. von Pechmann u. P. Runge³⁾ durch Oxydation von Triphenylformazan (I) schon im Jahre 1894 Triphenyltetrazoliumchlorid (II) dar. Diese Verbindung wurde in den letzten Jahren unter dem gekürzten Namen „T.T.C.“ als biologischer Indicator verwendet⁴⁾. Sie besitzt gegenüber anderen Redox-indicatoren den Vorteil, in reduziertem Zustand lebhaft rot zu sein, während das Oxydationsprodukt farblos ist. Bei der Oxydation findet folgender Vorgang statt:



Neuerdings wurden mehrere Tetrazolium-Verbindungen dargestellt, um darunter weniger toxische Substanzen auffinden zu können⁵⁾.

⁵⁾ Methode von J. R. Williams, A. Grollmann u. T. R. Harrison, Journ. clin. invest. 18, 373 [1939]; vergl. G. Schloss, Helv. Med. Acta 1945, 777.

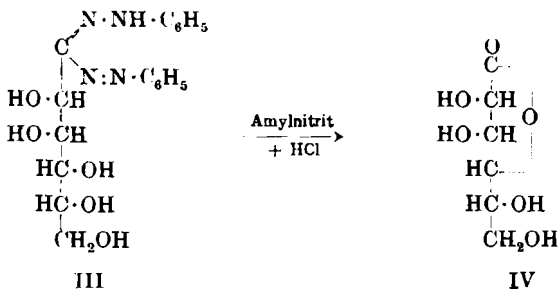
¹⁾ G. Zemplén u. L. Mester, M. Tud. Ak. III. és VI. oszt. Közleményei 1, 1 [1951] (Ungarisch); Acta chim. Acad. Sci. hung. 2, 9 [1952].

²⁾ G. Zemplén u. L. Mester, M. Tud. Ak. Kémiai Tud. Oszt. közleményei 1, 74 [1952] (Ungarisch); G. Zemplén, L. Mester, A. Messmer u. E. Eckhart, Acta chim. Acad. Sci. hung. 2, 25 [1952]. ³⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 27, 2920 [1894].

⁴⁾ R. Kuhn u. D. Jerchel, Ber. dtsch. chem. Ges. 74, 948 [1942]; Zusammenfassende Literatur: W. Ried, Angew. Chem. 64, 391 [1952].

⁵⁾ W. Antopol, S. Glaubach u. L. Goldmann, Publ. Health Rep. 63, 1231 [1948]; D. Jerchel u. H. Fischer, Liebigs Ann. Chem. 563, 200, 208 [1949]; S. W. Fox u. E. H. Atkinson, J. Amer. chem. Soc. 72, 3629 [1950].

Bei unseren zur Darstellung der Zuckertetrazolium-Verbindungen ausgeführten Untersuchungen gingen wir zunächst von *d*-Galakto-diphenyl-formazan⁶⁾ aus und versuchten es mit Amylnitrit + Salzsäure, alsdann mit Bleitetraacetat zu oxydieren. Die roten Lösungen wurden dabei entfärbt, die Oxydation führte aber nicht zu den gewünschten Verbindungen. *d*-Manno-diphenyl-formazan (III) lieferte bei der Oxydation mit Amylnitrit + Salzsäure in guter Ausbeute *d*-Mannonsäure- γ -lacton (IV), wie dies aus folgenden Formeln sichtbar ist:



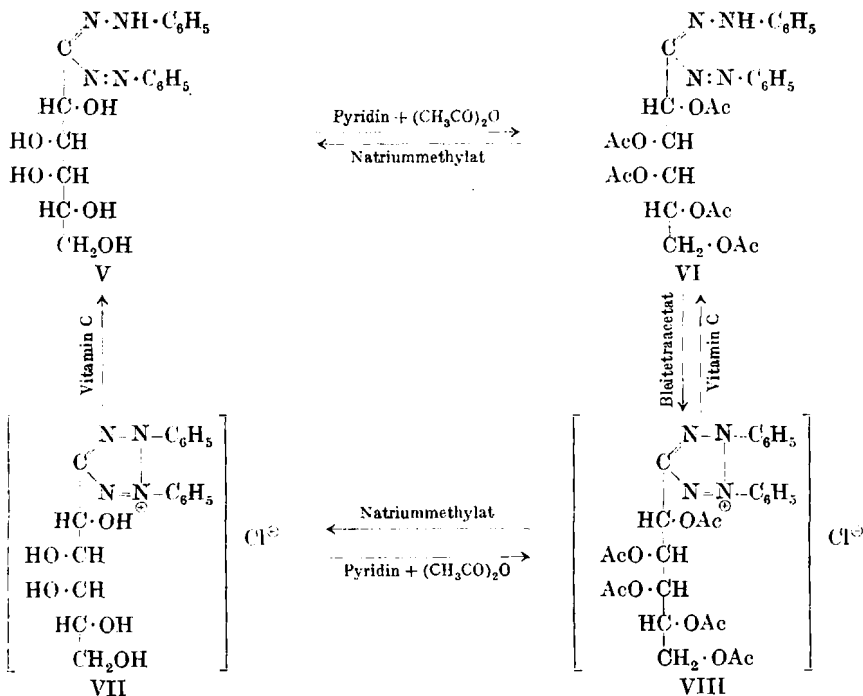
Bei unseren Versuchen schützten wir nun den empfindlichen Zuckerrest durch Acetylierung gegen tiefgreifende Oxydationen und wählten zunächst als Modell die Pentaacetyl-Verbindung VI des *d*-Galakto-diphenyl-formazans⁷⁾ (V), oxydierten es mit Bleitetraacetat und isolierten nach Zusatz der nötigen Salzsäuremenge die farblose, gut kristallisierende Pentaacetyl-Verbindung VIII des *d*-Galakto-diphenyl-tetrazoliumchlorids (G.T.C.) (VII).

Die Verbindung löst sich als Salz ziemlich leicht in Wasser und läßt sich leicht zum acetylierten Formazan VI reduzieren.

Aus dem G.T.C.-Acetat (VIII) stellten wir durch Verseifung mit Natrium-methylat und nachträglichen Zusatz von Salzsäure das acetylfreie *d*-Galakto-diphenyl-tetrazoliumchlorid (VII) her. Es ist ein hellgelbes, hygroskopisches Pulver, das in gut verschlossenen Gefäßen sowie in wäßriger Lösung haltbar erscheint. Für seine Konstitution ist beweisend, daß es sich in Natrium-methylat-Lösung mit Vitamin C zu *d*-Galakto-diphenyl-formazan (V) reduzieren läßt. Den Kreislauf der hier angeführten Reaktionen zeigen folgende Formelbilder:

⁶⁾ Über die Benennung der Formazan-Derivate sind Richtlinien in Beilsteins Handbuch, Bd. XVI., S. 4 zu finden. Der Name für ein *d*-Galaktose-Derivat wäre z. B. [*d*-Galakto-pentaoxyamyl]-diphenyl-formazan. Wir benützten statt desselben den kürzeren Namen: *d*-Galakto-diphenyl-formazan. In den bisher erschienenen Publikationen gebrauchten wir die noch kürzeren Namen: Galaktose-, Mannose-, Glucose-formazan. Wir verwenden bei den Zuckertetrazolium-Verbindungen ebenfalls gekürzte Bezeichnungen und schreiben z. B. statt [*d*-Galakto-pentaoxyamyl]-diphenyl-tetrazoliumchlorid einfach *d*-Galakto-diphenyl-tetrazoliumchlorid.

⁷⁾ G. Zemplén, L. Mester, A. Messmer u. E. Eckhart, Acta chim. Acad. Sci. hung. 2, 30 [1952].



Die biologischen Versuche an Mäusen ergaben, daß die Zuckertetrazolium-Verbindungen weniger giftig als T.T.C. sind und deshalb vielleicht vorteilhafter in den lebenden Geweben benützt werden können. Folgende Tafel bezieht sich auf die Toxizität der Zuckertetrazolium-Verbindungen:

Tafel. Toxizität von Tetrazolium-Derivaten
(Mäusen intraven. injiziert; Lösungsmittel Wasser)

Verbindung	Dosis mg/kg	Wirkung:	
		Eintritt d. Todes	lebend
Triphenyl-tetrazolium- chlorid (Merck) T.T.C. (II)	2	—	symptomfrei
	4	nach 60 Min.	—
	7	binnen 12 Stdn.	—
	15	nach 15 Min.	—
	20	nach 10 Min.	—
	22	nach 30 Min.	—
<i>d</i> -Galakto-diphenyl- tetrazoliumchlorid G.T.C. (VII)	28	sofort	—
	40	—	symptomfrei
	75	—	nach 1 Min. Krampfanfall
	100	sofort	symptomfrei
<i>d</i> -Galakto-diphenyl- tetrazoliumchlorid- pentaacetat G.T.C.-Acetat (VIII)	160	sofort	—
	23	—	symptomfrei
	33	—	symptomfrei
	55	—	nach 1 Min. Krampfanfall
	66	sofort	symptomfrei

Die Darstellung von Zuckertetrazolium-Verbindungen setzen wir fort.

Für die Ausführung der biologischen Versuche sind wir dem Pathologischen und Mikrobiologischen Institut der Universität Szeged dankbar. Hrn. A. Paulinyi und Frln. I. Batta danken wir für die Ausführung der Mikroanalysen.

Beschreibung der Versuche

Oxydation von *d*-Galakto-diphenyl-formazan (V) mit Amylnitrit + Salzsäure: Zu einer Lösung von 1 g *d*-Galakto-diphenyl-formazan (V) in 10 ccm absol. Alkohol gibt man unter Eiskühlung 10 ccm von mit Chlorwasserstoff gesätt. absol. Äthanol, wobei eine dunkelviolette Lösung entsteht. Dann werden langsam unter weiterer Kühlung 2 ccm frisch dest. Amylnitrit zugetropft, wobei die Farbe der Lösung in Gelbbraun umschlägt. Nach dem Eindampfen i. Vak. hinterbleibt ein brauner, sirupöser, nicht einheitlicher Rückstand.

Oxydation von *d*-Manno-diphenyl-formazan (III) mit Amylnitrit + Salzsäure; Bildung von *d*-Mannonsäure- γ -lacton (IV): Die Oxydation von 1 g *d*-Manno-diphenyl-formazan (III) erfolgt genau unter den oben bei der *d*-Galakto-Verbindung angeführten Bedingungen. Der Rückstand wird mehrfach mit absol. Äthanol eingedampft, in absol. Äthanol gelöst und mit Kohle geklärt. Aus dem Filtrat scheiden sich 0.3 g farblose Kristalle (63% d.Th.) ab. Aus heißem Alkohol umgelöst, werden 0.25 g *d*-Mannonsäure- γ -lacton (IV) erhalten. $[\alpha]_D^{20}$: $+1.9^\circ \times 10/1 \times 0.400 = +47.5^\circ$ (in Wasser); Schmp. 151–152° (Lit.: $[\alpha]_D^{20}$: $+47^\circ$, in Wasser; Schmp. 149–152°⁸). In Gegenwart von Phenolphthalein zeigt die Substanz bei der Titrierung mit $n/10$ NaOH in der Wärme einen Gehalt von 101.7% an γ -Lacton IV.

$C_6H_{10}O_6$ (178.1) Ber. C 40.45 H 5.66 Gef. C 40.32, 40.70 H 5.74, 5.48

Bei der Acetylierung in Pyridin-Lösung werden aus 0.2 g IV 0.33 g Rohprodukt erhalten, das aus 25-proz. wäBr. Alkohol umkristallisiert farblose Nadelchen vom Schmp. 121° bildet (Lit.: 120°⁹).

$C_{14}H_{18}O_{10}$ (346.3) Ber. C 48.56 H 5.24 CH_3CO 49.72
Gef. C 48.63, 48.74 H 5.88, 5.64 CH_3CO 49.9, 50.7

Oxydation von *d*-Galakto-diphenyl-formazan-pentaacetat (VI)⁸ mit Bleitetraacetat; Darstellung von *d*-Galakto-diphenyl-tetrazoliumchlorid-pentaacetat (VIII): 10.4 g *d*-Galakto-diphenyl-formazan-pentaacetat werden in 120 ccm Chloroform gelöst und 8 g (entspr. 1 Mol.) Bleitetraacetat zugesetzt, wobei sofort Lösung erfolgt. Bei der Darstellung größerer Mengen empfiehlt sich das Arbeiten in einem vor Feuchtigkeit sorgfältig geschützten Rührapparat. Die Flüssigkeit wird während der Oxydation hell. Wenn man zur Verhütung der Überoxydation einige Procente des Formazans als Überschuß benützt, so bleibt die Lösung hellrot. Nach 30 Min. wird das Chloroform i. Vak. aus einem 30° nicht übersteigenden Bad unter Ausschluß von Feuchtigkeit verdampft. Der Rückstand wird in 400 ccm Alkohol gelöst und 40 ccm eines mit trockener Salzsäure gesätt. absol. Alkohols zugesetzt, wobei das Bleichlorid ausfällt. Das Filtrat gibt unter Zusatz von 3.5 l Äther das Rohprodukt, das im Vak.-Exsiccator über Chlorcalcium und Kaliumhydroxyd getrocknet wird. Erhalten 7.8 g (71% d.Th.) an Kristallen vom Schmp. 102–103°. Die Umlösung erfolgt aus der siebenfachen Menge Wasser von 60–70°. Nach dem Klären mit Kohle gibt man zum Filtrat einige Tropfen 10-proz. Salzsäure. Daraus scheiden sich farblose Prismen des Tetrazoliumchlorids VIII aus, die über Chlorcalcium und Stangenkali getrocknet werden. Der Schmelzpunkt steigt nach nochmaligem Umlösen auf 204°; es ist ratsam, die Kristallisation durch Impfen zu beschleunigen. $[\alpha]_D^{20}$: $+0.60^\circ \times 10/1 \times 0.1526 = +39.3^\circ$ (in Alkohol).

$C_{28}H_{31}O_{10}N_4Cl$ (619.0) Ber. N 9.05 Cl 5.73 CH_3CO 34.76
Gef. N 8.87, 8.85 Cl 5.80, 5.73 CH_3CO 34.1, 34.8

⁸) O. F. Hedenburg, J. Amer. chem. Soc. 37, 345 [1915].

⁹) E. H. Goodyear u. W. N. Haworth, J. chem. Soc. [London] 1927, 3143.

Die Oxydation des acetylfreien Formazans führt unter denselben Bedingungen nicht zu einheitlichen Produkten.

Verseifung des Acetats VIII und Bereitung von *d*-Galakto-diphenyl-tetrazoliumchlorid (VII): 2.5 g des Pentaacetats VIII werden in 30 ccm absol. Methanol gelöst, 2–3 ccm $n/2$ CH_3ONa zugesetzt (die Lösung muß nach dem Zusatz eine alkal. Reaktion zeigen) und unter Chlorcalciumverschluß 4 Min. gekocht. Die Lösung soll auch jetzt noch alkalisch sein; wenn nicht, so muß diese Behandlung wiederholt werden. Nach dem Erkalten säuert man mit einer gesätt. Lösung von absol. alkohol. Salzsäure an und fällt das nicht kristallisierbare Salz mit Äther; erhalten 1.1 g (66% d.Th.). Das anfangs etwas Natriumchlorid enthaltende Produkt wird in wenig absol. Alkohol gelöst, und das Filtrat mit Äther gefällt. Nach 4–5-maliger Wiederholung des Ausfällens und Trocknen des Salzes im Vak.-Exsiccator über Chlorcalcium und Stangenkali wird das Tetrazoliumchlorid VII als gelblichweißes, hygroskopisches Pulver erhalten; Ausb. 0.73 g (44% d.Th.). $[\alpha]_D^{20}$: $0.350 \times 15/1 \times 0.242 = +21.7^\circ$ (in Wasser).

$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_5\text{N}_4\text{Cl}$ (408.8) Ber. N 13.70 Cl 8.67 Gef. N 13.42, 13.54 Cl 8.46, 8.36

Die Acetylierung von VII mit Essigsäureanhydrid in Pyridin-Lösung bei Zimmer-temperatur ergibt die Pentaacetyl-Verbindung VIII vom Schmp. 203° .

Verseifung und Reduktion des *d*-Galakto-diphenyl-tetrazoliumchlorid-pentaacetats (VIII) zu *d*-Galakto-diphenyl-formazan (V): 0.5 g des Pentaacetats VIII werden in 7.5 ccm absol. Methanol gelöst, mit 0.5 ccm $n/2$ CH_3ONa 4 Min. gekocht, wobei Verseifung erfolgt. Zu der abgekühlten Lösung setzt man 2 ccm $n/2$ CH_3ONa und 0.2 g Vitamin C zu. Die sofort eintretende Rotfärbung zeigt die Bildung des Formazans V an. Nach kurzem Erwärmen auf dem Wasserbad fällt man das Formazan mit Wasser. Erhalten 0.17 g (56% d.Th.). Die Verbindung wird zweimal aus Butylalkohol umgelöst. Dabei werden bronzefarbene Plättchen vom Schmp. 167° erhalten, die mit authentischem *d*-Galakto-diphenyl-formazan (V) gemischt keine Schmp.-Erniedrigung zeigen.

Dieselbe Verbindung wird aus *d*-Galakto-diphenyl-tetrazoliumchlorid (VII) in Natriummethylat-Lösung bei der Behandlung mit Vitamin C erhalten.

Reduktion des *d*-Galakto-diphenyl-tetrazoliumchlorid-pentaacetats (VIII) zu *d*-Galakto-diphenyl-formazan-pentaacetat (VI): 0.5 g *d*-Galakto-diphenyl-tetrazoliumchlorid-pentaacetat werden in 15 ccm 2-proz. Natronlauge kalt gelöst und bei Zimmertemperatur 0.4 g Vitamin C zugesetzt. Sofort erscheint ein roter Niederschlag (0.35 g). Nach dem Umlösen aus Äthanol werden rote Nadelchen vom Schmp. 142° erhalten, die mit dem acetylierten *d*-Galakto-diphenyl-formazan VI keine Schmp.-Erniedrigung zeigen.

73. Hellmut Bredereck, Ingeborg Hennig und Helmut Zinner: Herstellung und Konstitution zweier Ditrityltriacylfructosen (Untersuchungen über Fructose-acetate, I. Mitteil.)

[Aus dem Institut für Organische Chemie und Organisch-chemische Technologie der Technischen Hochschule Stuttgart u. dem Institut für Organische Chemie der Universität Jena]
(Eingegangen am 24. November 1952)

Durch Acetylierung mit Pyridin und Essigsäureanhydrid entsteht aus 1.6-Ditrityl-fructose Keto-1.6-ditrityl-3.4.5-triacyl-fructose, mit Essigsäureanhydrid und Natriumacetat bildet sich 1.6-Ditrityl-2.3.4-triacyl-fructofuranose. Die Konstitution der erstgenannten Verbindung wurde durch Darstellung des Ditrityltriacylfructose-diäthyl-mercaptals sowie des Ditrityl-triacyl- und Ditrityl-tetraacyl-fructoseoxims bewiesen.

B. Helferich¹⁾ setzte Fructose mit 2 Moll. Tritylchlorid um und erhielt in 25-proz. Ausbeute eine Ditritylfructose (I), für die er die Struktur einer Keto-Verbindung durch Darstellung des Ditritylfructoseoxims (II) nachwies. Die gleiche Verbindung konnte

¹⁾ J. prakt. Chem. [2] 147, 60 [1937].