

3. Papierelektrophorese

Die Papierelektrophorese der mehrmals umkristallisierten Oxyhämoglobine von Meerschweinchen, Pferd und Rind ergab keinerlei Anhaltspunkte für die Anwesenheit fremder Proteine.

4. Hämoglobin-Bestimmung

a) Eine abgewogene Menge (etwa 50 mg) feuchtes Oxyhämoglobin wurde im Reagensglas mit 1,5 ccm konz. eisenfreier Salpetersäure erwärmt, dann gekocht und mit einigen Tropfen Perhydrol entfärbt. Lichtelektrisch-kolorimetrische Eisenbestimmung mit Sulfo-salicylsäure nach L. Lorber⁷⁾.

b) Die Hämoglobinlösung wurde durch Erwärmen mit 0,1 *n* HCl denaturiert und nach M. Kiese⁸⁾ lichtelektrisch-kolorimetrisch als Hämochromogen bestimmt. Statt Ammoniak wurde Pyridin zugesetzt, das ein beständigeres und intensiver gefärbtes Hämochromogen ergibt. Vergleich mit Hämochromogen aus reinem Hämin.

Die Methode a) wich bei mehreren Messungen desselben Präparates um höchstens 4,4% vom Mittelwert ab, Methode b) um höchstens 1,5%. Auch die Abweichungen der beiden Methoden voneinander überschritten diese Fehlergrenze nicht.

5. Aktivitätsmessung

Es wurde die Meßmethode von W. Langenbeck, R. Hutschenreuter und W. Rottig⁵⁾ angewandt, die von der Methode von R. Willstätter und A. Stoll⁹⁾ nur wenig abweicht. Sie beruht auf der Bildung von Purpurogallin aus Pyrogallol bei 0° (Acetatpuffer). Das Purpurogallin wird nach 15 Min. ausgeäthert und lichtelektrisch-kolorimetrisch bestimmt. Die noch feuchten Oxyhämoglobin-Kristalle oder die wäßr. Lösungen wurden entsprechend ihrem vorher analytisch bestimmten Hämingehalt (s. o.) von 0,1 mg eingewogen. Eine kinetische Messung zeigte, daß unter diesen Bedingungen nach 15 Min. der Reaktionsverlauf noch linear ist.

80. Egon Stahl: Über das Cham-Azulen und dessen Vorstufen, II. Mitteil.*): Cham-Azulencarbonsäure aus Kamille**)

[Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Karlsruhe]

(Eingegangen am 12. Februar 1954)

Aus proazulenhaltigen Kamillenauszügen wurde eine kristalline, blaue Azulencarbonsäure erhalten und ihre Identität mit der aus Schafgarbe isolierten Säure bewiesen.

Beim Erwärmen einer angesäuerten Proazulenanreicherung***) aus Kamille tritt nach kurzer Zeit eine blaue Trübung auf. Die blaue Substanz läßt sich mit Äther ausschütteln und aus der Ätherphase mit wäßrigem Alkali zum großen Teil wieder entziehen.

⁷⁾ Biochem. Z. 181, 391 [1927].

⁸⁾ Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 204, 199 [1947].

⁹⁾ Liebigs Ann. Chem. 416, 21 [1918].

* I. Mitteil.: E. Stahl, Chem. Ber. 87, 202 [1954].

** Herrn Prof. Dr. K. Bodendorf danke ich für die Durchsicht der Arbeit und das Interesse, das er ihr zuteil werden ließ.

***) Die Behandlung mit Alkali – in gleicher Weise wie bei Schafgarbe*) durchgeführt – ergibt keine rotbraune Farbe, keinen blumigen Geruch und beim nachfolgenden Ansäuern auch keine Blaufärbung.

Bei längerer Säurehydrolyse wird zwar der mit Äther ausschüttelbare blaue Anteil vermehrt, doch läßt sich dann der blaue Farbstoff mit Alkali nicht mehr ausschütteln, da offenbar die primär gebildete Azulensäure bereits decarboxyliert ist. — Die mit Alkali nicht ausschüttelbare blaue Substanz der Ätherlösung wurde als Cham-Azulen identifiziert (Schmp. des Trinitrobenzols: 130–131°).

Die mit wäßrigem Alkali entzogene blaue Säure lag nach weiterer Reinigung als blauschwarzes Öl vor, das nach dem Animpfen mit Cham-Azulencarbonsäure-Kristallen (aus Schafgarbe) fest wurde. Die umkristallisierte Säure schmolz unter Decarboxylierung bei 86–88° und schmolz im Gemisch mit der aus Schafgarbe gewonnenen Säure ohne Erniedrigung.

Die Analyse stimmt gut mit der Formel $C_{15}H_{16}O_2$ überein. Ein unter milden Bedingungen hergestelltes Trinitrobenzolat (TNB) der Säure schmolz bei 150–152°. Durch Methylierung mit Diazomethan wurde ein Ester erhalten, der nach einmaliger Umkristallisation bei 51–52° schmolz und ein TNB vom Schmp. 121–122° lieferte. Die Gemische dieses Esters und dessen TNB mit den entsprechenden Verbindungen aus Schafgarbe ergaben keine Schmelzpunktserniedrigungen.

Durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid wurde die Säure in den Alkohol überführt, der nach chromatographischer Reinigung ein TNB vom Schmp. 149–150° gab. Das Phenylurethan des Alkohols schmolz bei 96–98°; die Analyse stimmte mit der erwarteten Formel $C_{22}H_{23}O_2N$ gut überein.

Die unmittelbare Vorstufe des Cham-Azulens aus Kamille und Schafgarbe ist demnach ein und dieselbe Azulencarbonsäure. Die Eigenschaften dieser bisher unbekanntenen Säure erklären u. a. die Beobachtungen von E. Wegner¹⁾ sowie von F. Jung und M. Wendler²⁾ über „eine an Aluminiumoxyd festhaftende, blaue, thermolabile Substanz“ aus Kamille, die bislang mit den Namen „Terpenochrom“ bzw. „Proazulen-W“ belegt wurde.

Beschreibung der Versuche *)

1. Isolierung der Cham-Azulencarbonsäure: Ein aus 600 g Kamillengrus bereiteter Chloroformextrakt wurde nach Aufnahme mit Petroläther fünfmal mit je 50 ccm 60-proz. wäßr. Methanol ausgeschüttelt. Die filtrierte gelbe Alkoholausschüttelung wurde nach Zusatz von verd. Säure (p_H 2) auf 80° erwärmt und etwa 5 Min. bei dieser Temperatur gehalten; es trat eine blaue, sich verstärkende Trübung auf. Die schnell abgekühlte blaue Suspension wurde mehrmals mit Petroläther/Äther 1:1 ausgeschüttelt. Mit wenig verd. Lauge wurde dann der Petroläther/Äther-Phase die blaue Substanz entzogen und diese über eine Aluminiumoxyd-Säule von gelben Begleitsubstanzen befreit. Die Pentanausschüttelung des angesäuerten blauen Durchlaufs hinterließ nach Entfernung des Lösungsmittels ein schwarzblaues, viskoses Öl, das nach Zusatz einiger Impfkristalle (der aus Schafgarbe erhaltenen Säure) kristallinisch erstarrte. Die mit Methanol aufgenommene Kristallmasse lieferte nach Wasserzusatz und Animpfen feine, blaue Nadeln, die nach einmaligem Umkristallisieren bei 86–88° schmolzen. — Große Kristallaggregate fangen bereits bei etwa 84° an Gasblasen auszustoßen und schmelzen im entstehenden

¹⁾ Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 283, 127 [1950].

²⁾ Pharmazie 8, 117 [1953].

*) Die Schmp. wurden mit dem Kofler-Schmelzmikroskop bestimmt. Die Analysen wurden von A. Bernhardt, Mikroanalytisches Labor im Max-Planck-Institut, Mühlheim (Ruhr) durchgeführt.

ölgigen Cham-Azulen etwas tiefer. – Ausb. 42 mg. Die Säure wurde i.Hochvak. bei Zimmertemperatur getrocknet.

$C_{15}H_{16}O_2$ (228.28) Ber. C 78.91 H 7.06 O 14.02 Gef. C 78.86 H 7.17 O 13.98

Trinitrobenzolat: Es wurde wie in der I. Mitteil. beschrieben hergestellt und schmolz bei 150–152°.

Methylester: Die Methylierung und Reinigung erfolgte in gleicher Weise wie bei der Säure aus Schafgarbe (I. Mitteil.). Als Endprodukt wurden dunkelblaue Nadeln vom Schmp. 51–52° erhalten. Das in violetten Nadeln kristallisierende TNB schmolz bei 121–122°. Der Ester und dessen TNB schmolzen, mit den entsprechenden Verbindungen aus Schafgarbe gemischt, ohne Erniedrigung.

2. Reduktion der Säure zum Alkohol: 205 mg der in 2 ccm absol. Äther gelösten Säure ließ man unter Rühren in eine Lösung von 42 mg Lithiumaluminiumhydrid in 20 ccm absol. Äther eintropfen. Nach Abklingen der Reaktion und kurzem Erwärmen wurden Eisstückchen zugefügt und nach beendeter Wasserstoffentwicklung verd. Schwefelsäure zugesetzt. Die abgetrennte blaue Ätherschicht wurde nach dem Trocknen mit Natriumsulfat durch eine mit Äther angefeuchtete Aluminiumoxyd-Säule (Brockmann) filtriert. Die aufgefangene blaue Hauptzone hinterließ nach Entfernung des Lösungsmittels 164 mg eines dunkelblauen Öls von eigenartigem Geruch.

Trinitrobenzolat: Ein in üblicher Weise hergestelltes TNB (feine, rotviolette Nadeln) schmolz nach Umkristallisation aus absol. Alkohol bei 149–150°. Ein Misch-Schmelzpunkt mit Guajazulen-TNB lag bei 146–148°; ein Gemisch des Alkohol-TNB mit dem Säure-TNB schmolz bei 142–143°.

Phenylurethan: 50 mg des gut getrockneten Alkohols wurden nach Zusatz von wenig absol. Äther mit der ber. Menge Phenylisocyanat versetzt und über Nacht im Exsiccator belassen. Die Kristallmasse wurde mehrmals unter Rückfluß mit Petroläther ausgekocht. Aus den vereinigten und eingeeengten Petrolätherlösungen kristallisierte das Urethan in blauen Nadeldrusen aus (35 mg). Nach zweimaliger Umkristallisation aus Petroläther war der Schmp. konstant und lag bei 96–98°. Das Phenylurethan wurde i.Hochvak. bei Zimmertemperatur getrocknet.

$C_{22}H_{23}O_2N$ (333.41) Ber. C 79.25 H 6.95 O 9.59 N 4.20

Gef. C 79.04 H 7.03 O 9.41 N 4.16

81. Jan Thesing: Beiträge zur Chemie des Indols, II. Mitteil.*): Eine neue Synthese des β -Indolaldehyds aus Gramin**)

[Aus dem Institut für organische Chemie der Technischen Hochschule Darmstadt]

(Eingegangen am 12. Februar 1954)

Das durch Umsetzung von Gramin-methosulfat mit Phenylhydroxylamin und Alkali in quantitativer Ausbeute erhältliche *N*-Phenyl-*N*-skatyl-hydroxylamin läßt sich, über Indolaldehyd-(3)-phenylnitron, mit 90-proz. Ausbeute, bez. auf Gramin-methosulfat, in Indolaldehyd-(3) überführen. Die beschriebene Reaktionsfolge stellt eine neue Methode zur Überführung einer Mannich-Base in den entsprechenden Aldehyd dar.

In der Literatur sind eine Reihe von Umsetzungen quartärer Ammoniumsalze mit Ammoniak, primären, sekundären¹⁾ und tertiären²⁾ Aminen be-

*) I. Mitteil.: J. Thesing u. F. Schülde, Chem. Ber. 85, 324 [1952].

***) Der Inhalt der vorliegenden Arbeit stellt einen Teil eines am 31. 3. 1953 beim „Chemikertreffen Innsbruck“ gehaltenen Vortrags dar; vergl. das Referat Angew. Chem. 65, 263 [1953].

1) Vergl. die Literaturzusammenstellung bei H. R. Snyder u. J. H. Brewster, J. Amer. chem. Soc. 70, 4230 [1948].

2) H. R. Snyder, E. L. Eliel u. R. F. Carnahan, J. Amer. chem. Soc. 72, 2958 [1950].