

THEODOR WIELAND, HERBERT MERZ *) und ANNELIES RENNECKE

Synthese von ^{35}S -haltigem Phenylisothiocyanat

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt a. M.

(Eingegangen am 10. Januar 1958)

Die Markierung von Phenylisothiocyanat mit ^{35}S kann, ausgehend von der inaktiven Verbindung, auf zwei Wegen durch Reaktion mit H_2^{35}S über das radioaktive Phenylthiocarbamidat erfolgen. Die ergiebigere Variante, Zersetzung des Bleisalzes durch Wasserdampfdestillation, lieferte ein Senfölppräparat der spezif. Aktivität von $2.14 \cdot 10^8$ Imp./Min.

Für die Aufklärung der Aminosäuresequenzen in Polypeptiden hat sich der stufenweise Abbau mit Phenylsenfölnach P. EDMAN¹⁾ als leistungsfähige Methode in zahlreichen Laboratorien bewährt. Da sich die hierbei nötigen Operationen (Bildung des *N*-Anilinothioformyl-peptids und cyclisierende Abspaltung der endständigen Aminosäure mit Säure) auch im Mikromaßstab ausführen lassen²⁾, konnte man sich eine weitere Steigerung der Empfindlichkeit und damit Einsparung der Menge an Analysesubstanz von der Verwendung *radioaktiven* Phenylisothiocyanats versprechen. Es ist uns gelungen, zwei Methoden zur Darstellung der ^{35}S -haltigen Verbindung auszuarbeiten, von denen eine besonders einfach und ertragreich ist.

Die Synthese von Phenylisothiocyanat- ^{35}S auf dem bekannten vom Anilin ausgehenden Weg durch Umsetzung mit Schwefelkohlenstoff³⁾ bereitet hier deshalb Schwierigkeiten, weil der radioaktive Schwefel als Sulfat geliefert wird, dessen Überführung in Schwefelkohlenstoff wohl möglich, aber mit zahlreichen Reaktionsschritten verbunden ist. Man mußte deshalb unter Verzicht auf eine 100-proz. Verwertung des radioaktiven Elements an Reaktionen denken, mit denen ^{35}S in die bereits vorgebildete Molekel des Senföls einzuführen ist. Deshalb setzten wir zuerst inaktives Phenylisothiocyanat nach einer alten Vorschrift von B. PROSKAUER und E. SELL⁴⁾ sowie R. ANSCHÜTZ⁵⁾ mit radioaktivem H_2S (in Dimethylsulfoxyd) um, wobei sich neben Schwefelkohlenstoff Diphenylthioharnstoff bildet. Wird dieser mit starker Salzsäure destilliert, so entsteht unter Anilinabspaltung wieder Phenylisothiocyanat³⁾, das jetzt einen Teil der als H_2^{35}S eingeführten Radioaktivität enthält. Dieser Anteil errechnet sich gemäß den Reaktionsgleichungen auf S. 684 zu höchstens 12.5 % der eingesetzten ^{35}S -Menge.

Weniger Verdünnung des isotopen Schwefels tritt bei der zweiten Synthese ein, die ebenfalls von inaktivem Senföl ausgeht. Hierzu wurde dieses mit ^{35}S -haltigem

*) Aus der Dissertat., Univ. Frankfurt a. M. 1958.

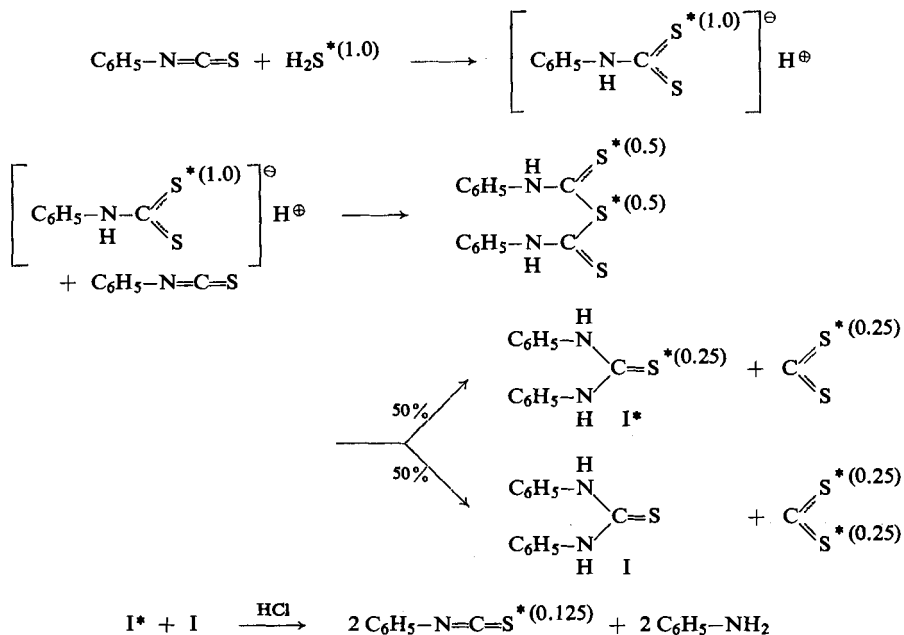
1) Acta chem. scand. 4, 283 [1950].

2) H. FRAENKEL-CONRAT, J. I. HARRIS und A. L. LEVY, in Methods of Biochemical Analysis, Vol. II; edited by D. Glick; Interscience Publishers Inc., New York 1955.

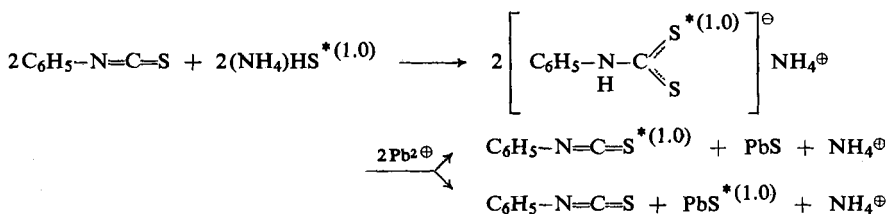
3) L. GATTERMANN und H. WIELAND, Die Praxis des organischen Chemikers, 37. Aufl., S. 151, Verlag Walter de Gruyter & Co., Berlin 1956.

4) Ber. dtsch. chem. Ges. 9, 1266 [1876].

5) Liebigs Ann. Chem. 371, 216 [1909].



Ammoniumhydrogensulfid in Äthanol zum Ammoniumsalz der Phenylthiocarbaminsäure umgesetzt⁶⁾. Nach einer Beobachtung von M. MAYER und A. FEHLMANN⁷⁾, die später zur präparativen Darstellung von Phenylsenföl ausgearbeitet worden ist⁸⁾, zersetzt sich Phenylthiocarbaminsäure in Gegenwart von Bleisalzen beim Erwärmen mit Wasser zu Bleisulfid und Senföl. In unserem Falle muß dabei, da die beiden S-Atome im Zwischenprodukt völlig gleichwertig gebunden sind, die Hälfte der eingesetzten Radioaktivität im Senföl zurückbleiben.



Die markierte Verbindung wurde mit Wasserdampf, nachdem zuvor eine größere Menge an inaktivem Senföl als Träger zugesetzt worden war, abdestilliert. Dabei wurden die als $\text{SO}_4^{2\ominus}$ eingesetzten 10 mC an ^{35}S im Endprodukt, das mit einer spezif. Aktivität von $2.14 \cdot 10^8$ Imp./Min. anfiel, zu etwa 10% wiedergefunden. Wir haben eine Probe davon zur Darstellung des Phenylthiohydantoin aus DL-Leucin²⁾ verwendet und von der krist. Verbindung verschiedene definierte Mengen (0.25, 2.5 und

6) H. WILL, Liebigs Ann. Chem. **92**, 59 [1854].

7) J. Gasbeleuchtung **53**, 523, 553, 577; zit. nach C. **1910** II, 930.

8) F. B. DAINS und Mitarbb., Org. Syntheses, Coll. Vol. I, 447 [1948].

25 Gamma) auf acetyliertem Papier⁹⁾ in Propanol/Wasser chromatographiert. Die autoradiographische Auswertung ergab, daß nach einer Expositionszeit von 7 Tagen auf Röntgenfilm (Doneo-Röntgenfilm von Dr. C. SCHLEUSSNER, Fotowerke AG., Frankfurt a. M.) noch eine Menge von 0.1 μMol Substanz *) nachzuweisen war.

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT hat Herr MERZ bestens für eine Unterstützung zu danken.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Da der erste Weg zur Markierung unbefriedigende Ausbeuten liefert, sollen nur die zum zweiten gehörenden experimentellen Einzelheiten beschrieben werden (H. MERZ).

Die Darstellung des radioaktiven Ammoniumhydrogensulfids aus $\text{Na}^{35}\text{SO}_4$ (10 mC, trägerfrei) erfolgte nach der in der vorhergehenden Notiz¹⁰⁾ veröffentlichten Methode, und zwar durch Einleiten des Stickstoff/Schwefelwasserstoff-Gemisches durch eine Kapillare in 3 ccm $2n \text{ NH}_3$. Nach der Absorption des radioaktiven H_2S wurde inaktiver H_2S bis zur vollendeten Sättigung weiter eingeleitet und so 3 ccm einer 2 m Lösung von 8–9 mC ^{35}S -haltigem $(\text{NH}_4)\text{HS}$ gewonnen.

Umsetzung mit inaktivem Phenylsenföl: Die oben erhaltene Lösung (6 mMol $(\text{NH}_4)\text{H}^{35}\text{S}$) wurde mit 3 ccm Äthanol verdünnt und mit 810 mg (6 mMol) Phenylsenföl, gelöst in 3 ccm Äthanol, versetzt. Die Reaktionsmischung wurde unter öfterem Umschütteln 2 Stdn. bei Zimmertemperatur stengelassen, wobei das Senföl unter Gelbfärbung allmählich in Lösung ging. Es wurde auf diese Weise eine Lösung des Ammoniumsalzes der ^{35}S -markierten Phenylthiocarbaminsäure erhalten.

Überführung in ^{35}S -Phenylisothiocyanat: Die Lösung des ^{35}S -markierten Ammoniumphenylthiocarbamidats (6 mMol) wurde mit 100 ccm Wasser in einen Rundkolben von 1 l Inhalt gespült. Es wurden 6 ccm einer 1 m Bleinitrat-Lösung (6 mMol $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) zugefügt. Dabei fiel das gelb gefärbte Bleisalz der Phenylthiocarbaminsäure aus, das sich schon bei Zimmertemperatur, besonders aber beim Erhitzen, durch Abspaltung von Bleisulfid schwarzbraun färbte. Nun wurde nach Zusatz von 3.4 g inaktivem Phenylsenföl das Bleisalz durch Wasserdampfdestillation quantitativ zersetzt und das gebildete Phenylsenföl übergetrieben. Es wurden 500 ccm Destillat aufgefangen. Dieses wurde 3mal mit je 100 ccm Äther ausgeschüttelt. Nach Trocknen der Extrakte mit Calciumchlorid wurde der Äther auf dem Wasserbad abdestilliert und der Rückstand 2 mal i. Vak. fraktioniert. Es wurden 3.41 g ^{35}S -markiertes Phenylsenföl vom Sdp.₂₈ 118° erhalten. Auf die eingesetzte Menge (0.810 g + 3.4 g = 4.21 g) bezogen, ergibt sich eine Ausb. von 81 % d. Th.

Messung der Radioaktivität: 0.01 ccm Phenylsenföl (11.3 mg) wurden auf einen Papierstreifen (Papier 2043 b von Schleicher & Schüll) als kreisförmiger Fleck aufgetragen und nach Einschlagen des Streifens in Cellophanfolie (Kalle & Co. AG., Wiesbaden-Biebrich, Dicke 30 μ) die Radioaktivität am Geiger-Müller-Zählrohr gemessen. Man fand nur $3.15 \cdot 10^3$ Imp./Min., d. h. für die Gesamtmenge (3.41 g) Phenylsenföl den Wert von $9.5 \cdot 10^5$ Imp./Min.

Um die Impulsausbeute unter den Bedingungen der Messung zu bestimmen, wurden 0.02 ccm einer Lösung von authentischem $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ (1 mC/l = $2.2 \cdot 10^9$ Imp./Min./l) auf das gleiche Papier aufgetragen. Das Papier wurde getrocknet und der radioaktive Fleck, um

⁹⁾ F. MICHEEL und H. SCHWEPPE, Naturwissenschaften 39, 380 [1952]; TH. WIELAND und W. KRACHT, Angew. Chem. 69, 172 [1957].

¹⁰⁾ TH. WIELAND und H. KRANTZ, Chem. Ber. 91, 681 [1958].

*) und nach 4 Wochen von 0.01 μMol .

vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, mit 0.01 ccm inaktivem Senföl getränkt. Nach Einschlagen des Papierstreifens in Cellophanfolie wurde die Radioaktivität gemessen. Von der aufgetragenen Radioaktivität (theoret. 44000 Imp./Min.) konnten nur 0.13 % (57 Imp./Min.) effektiv gemessen werden. Nach Wegnahme der Cellophanfolie stieg die Impulsausbeute bei der Messung der Aktivität von Flecken, wie sie auch in Papierchromatogrammen vorliegen, auf 0.5–1 % an. Der oben gemessene Wert von $9.5 \cdot 10^5$ Imp./Min. ist also mit dem Faktor $100/0.13 = 770$ zu multiplizieren, der die Impulsausbeute unter den ungünstigen Bedingungen der Messung korrigiert. Man erhält dann den Wert von $7.3 \cdot 10^8$ Imp./Min. für 3.41 g markiertes Phenylsenföl.

Die spezif. Aktivität (Aktivität pro g) beträgt demnach $2.14 \cdot 10^8$ Imp./Min., die molare Aktivität (Aktivität pro Mol) $2.8 \cdot 10^{10}$ Imp./Min. Grob überschlagen sind also ca. 20 % der zu erwartenden Aktivität im Endprodukt enthalten.

KURT SCHWABE und WOLFGANG WAGNER

Verbrennungs- und Bildungswärmen von Fumar- und Maleinsäure

Aus dem Erich-Müller-Institut für Elektrochemie und Physikalische Chemie
der Technischen Hochschule Dresden
(Eingegangen am 23. Dezember 1957)

In Fortsetzung früherer Arbeiten¹⁾ wurden im Rahmen von methodischen Untersuchungen zur Präzisionskalorimetrie mit einem Metallblockkalorimeter die Verbrennungswärmen von Fumar- und Maleinsäure gemessen.

Die verwendete Meßanordnung entsprach im wesentlichen der früher beschriebenen¹⁾, wies aber einige Verbesserungen auf.

Der isotherme Kellerraum, in dem die ganze Anlage stand, hatte für die Dauer der Messung eine Temperaturkonstanz von $24 \pm 0.07^\circ\text{C}$. Die Temperaturregelung im äußeren Thermostaten — einem nach außen isolierten Metallbehälter von etwa 150 l Fassungsvermögen, ausgestattet mit einem ringförmigen Heizer und 4 Rührern — erfolgte mit einem in 0.01° geteilten Kontaktthermometer, dessen Hg-Gefäß als Spirale ausgebildet war. Damit und durch Einstellen einer optimalen Rührgeschwindigkeit sowie durch Einregeln einer geeigneten Heizleistung konnte im Thermostaten eine Temperaturkonstanz von $\pm 5 \cdot 10^{-4}^\circ$ und besser erzielt werden. Der zylinderförmige Rezipient wurde während der Messung durch ein Vakuumaggregat dauernd auf $1-2 \cdot 10^{-3}$ Torr gehalten. Durch mehrmaliges Auspenden und Stehenlassen konnte zwar ein höheres Vakuum als 10^{-4} Torr erreicht werden, im allgemeinen wurde aber davon zunächst Abstand genommen, weil dadurch trotz eines außerordentlich hohen Zeitaufwandes keine Steigerung der Meßgenauigkeit erzielt werden konnte; nähere Untersuchungen über den Einfluß des Vakuums auf den Temperaturgang usw. sind vorgesehen.

Auf Abbild. 1 ist der obere Teil des Thermostaten mit dem am Rezipientendeckel hängenden Kalorimeter, auf Abbild. 2 die Anordnung der beiden Metallblöcke zu sehen. Der

¹⁾ K. SCHWABE, Z. Elektrochem., Ber. Bunsenges. physik. Chem. **60**, 151 [1956].