

# HERMANN MIX, FRIEDRICH WILHELM WILCKE und WOLFGANG LANGENBECK

Über organische Katalysatoren, LIII<sup>1)</sup>

## Chelatkatalysen, VII<sup>2)</sup>

Aus dem Institut für Katalysforschung Rostock  
der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

(Eingegangen am 23. Juni 1958)

Es wurde die Zersetzung von Wasserstoffperoxyd durch Kupferionen in Gegenwart von Prolin, Prolinderivaten, Prolinpeptiden und einigen anderen Chelatbildnern untersucht. Die Katalyse wurde durch Chelatbildung in weiten Grenzen beeinflusst. Sie erstreckte sich von starker Aktivierung bis zur völligen Hemmung. Es wurde versucht, den Aufbau der Kupferchelate mit ihrer katalytischen Wirksamkeit in Beziehung zu bringen.

Bei der systematischen Untersuchung von Metallchelaten als Katalasemodelle fiel die Aktivität des Kupferions im Komplex mit Arginin und Histidin besonders auf. Während die neutralen und sauren Aminosäuren Kupferionen im allgemeinen nicht oder nur unerheblich aktivierten, überraschte der Kupfer(II)-Prolin-Komplex dennoch durch eine recht bedeutende Wirksamkeit.

Die Aktivierung der Kupferionen durch Arginin und Histidin hatte die Wichtigkeit einer zweiten basischen Gruppe deutlich gemacht. Ihr unmittelbarer Einfluß ist aber nur beim Histidin sicher, da es über die  $\alpha$ -Aminogruppe und den basischen Stickstoff des Imidazolkerns mit Kupferionen zu einem zweizähligen Chelat koordiniert ist. Dagegen stellte es sich bei der genaueren Untersuchung der Reaktion zwischen  $H_2O_2$  und Arginin-Kupfer(II)<sup>3)</sup> heraus, daß hier für die starke Katalasewirkung nur ein Kupferchelate verantwortlich sein konnte, das in der Reaktionslösung durch Oxydation von Arginin neu gebildet wird. Wahrscheinlich handelt es sich bei dem neuen Liganden um eine Schiffsche Base.

Die Tatsache, daß Prolin neben der sekundären Aminogruppe strukturell keine Besonderheiten aufweist, aus denen sich ein von ähnlichen Aminosäuren abweichendes Verhalten bei der Aktivierung des Kupfers hätte herleiten lassen, veranlaßte unsere folgenden Untersuchungen.

Zunächst wurde geprüft, ob die Katalyse wie beim Arginin durch Bildung eines aktivierenden Oxydationsproduktes zustande kommt. In Abbild. 1 sind die Prozentzahlen an zersetztem  $H_2O_2$  und noch vorhandenem Prolin<sup>4)</sup> gegen die Zeit aufgetragen.

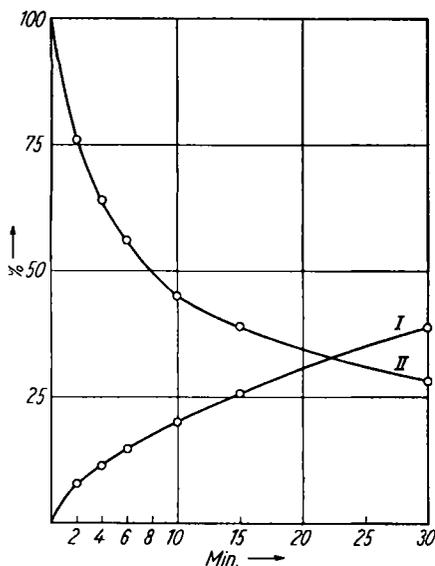
<sup>1)</sup> LII. Mittel.: W. LANGENBECK und R. KOCH, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **311**, 6 [1958].

<sup>2)</sup> VI. Mittel.: W. LANGENBECK, H. MIX und W. TITTELBACH-HELMRICH, Chem. Ber. **90**, 2699 [1957].

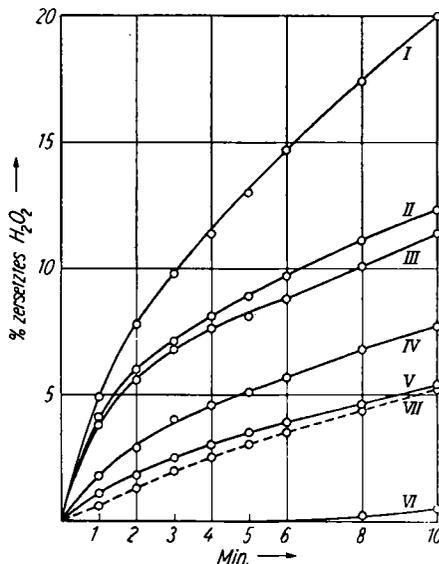
<sup>3)</sup> H. MIX, Naturwissenschaften **43**, 469 [1956].

<sup>4)</sup> F. D. SNELL und C. T. SNELL, Colorimetric Methods of Analysis, Verlag D. Van Nostrand Company, New York 1953, Bd. IV, S. 165.

Daraus geht hervor, daß die Aminosäure mit Reaktionsbeginn schnell abgebaut wird, während sich die Katalasereaktion entsprechend verlangsamt. Gleichzeitig beweist der Verlauf der Kurve I, daß eine Autokatalyse nicht in Frage kommt, da die Sauerstoffentwicklung augenblicklich und mit maximaler Geschwindigkeit einsetzt. Von den nachfolgend untersuchten Verbindungen zeigten nahezu alle ein gleichartiges Reaktionsverhalten. Daher reichte stets ein begrenztes Anfangsstück der Zersetzungs-kurven aus, um das Ausmaß der Katalyse sichtbar werden zu lassen.



Abbild. 1. Katalasereaktion von Kupfer-sulfat und Prolin (1:2) bei  $p_H$  8;  
I zersetztes  $H_2O_2$ ,  
II noch vorhandenes Prolin

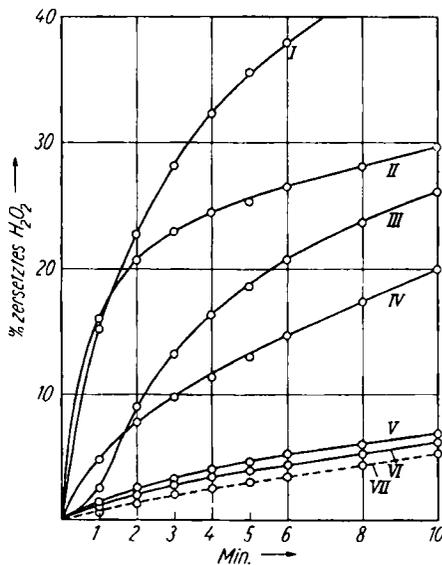


Abbild. 2. Katalasereaktion von Kupfer-sulfat bei  $p_H$  8 in Gegenwart von I Prolin, II *N*-Methyl-DL- $\alpha$ -aminobuttersäure, III Sarkosin, IV Piperidin-carbonsäure-(2), V Pyridin-carbonsäure-(2)-*N*-oxyd, VI Pyridin-carbonsäure-(2) (alle im Mol.-Verhältnis 1:2); VII Kupfer blind

Da nun Hydroxyprolin ebenfalls eine erhebliche, Prolin sogar übertreffende Aktivierung bewirkte, boten sich zunächst weitere sekundäre Aminosäuren als Chelatbildner an. Aber weder Sarkosin noch die durch Ringöffnung formal aus Prolin hervorgegangene *N*-Methyl-DL- $\alpha$ -aminobuttersäure aktivierten die Kupfer(II)-ionen über das Maß der neutralen Aminosäuren hinaus (Abbild. 2). Während man bei diesen offenkettigen Verbindungen aber noch auf eine größere Oxydationsempfindlichkeit und eine vielleicht damit zusammenhängende Inaktivierung schließen konnte, war die bedeutende Aktivitätsminderung im Falle der Piperidin-carbonsäure-(2) unerwartet. Ein derart starker Rückgang der Katalyse war besonders insofern bemerkenswert, als Prolin und Piperidin-carbonsäure-(2) sich lediglich durch eine  $CH_2$ -Gruppe im Ring unterschieden, was die für eine Koordinierung wichtigen sterischen und energetischen Verhältnisse nicht entscheidend beeinflussen sollte. Wenn dagegen

die Zersetzung des Wasserstoffperoxyds durch Kupferchelate mit Pyridin-carbonsäure-(2) und Pyridin-carbonsäure-(2)-*N*-oxyd<sup>\*)</sup>, wie ebenfalls Abbild. 2 zu entnehmen ist, mehr oder weniger stark gehemmt ist, dann bestätigt sich hier nur, daß aromatische Systeme in Liganden das Metallbindungsvermögen beträchtlich verändern können. Dabei dürfte besonders die Pyridin-carbonsäure-(2) ein recht stabiles Kupferchelate bilden, denn im Gegensatz zur Reaktionslösung des *N*-Oxydes, die sich durch unlösliche Kupferverbindungen bald trübt, bleibt jene lange klar.

Im folgenden wurde nun eine Reihe von Prolinderivaten hergestellt. Mit ihrer Hilfe erhofften wir, etwas über den Einfluß einzelner Koordinationsatome auf die Katalyse zu erfahren. Die Untersuchungen blieben auf Veränderungen am Prolin beschränkt, da die entsprechenden Hydroxyprolinverbindungen, mit denen ein Vergleich stattfand (Abbild. 3), ähnlich wirkten.



Abbild. 3  
Katalasereaktion von  
Kupfersulfat bei  $p_{\text{H}}$  8  
in Gegenwart von  
I Prolin-amid,  
II Hydroxyprolin-amid,  
III Hydroxyprolin,  
IV Prolin, V Prolin-äthyl-  
ester, VI Hydroxyprolin-  
äthylester (alle im Mol.-  
Verhältnis 1:2);  
VII Kupfer blind

Wie den Abbild. 3–5 zu entnehmen ist, führt die Acylierung des Prolinstickstoffs grundsätzlich zu einer starken Abnahme der Katalyse. Die Fähigkeit des Prolin-Kupfer-Chelates,  $\text{H}_2\text{O}_2$  beschleunigt zu zersetzen, wird dabei durch die Acetylgruppe ebenso eingeschränkt wie durch die Substitution mit verschiedenen Peptidresten.

Andererseits können Veränderungen an der Carboxylgruppe sowohl Beschleunigung als auch Hemmung zur Folge haben. Veresterung zum Beispiel hebt die aktivierende Wirkung des Prolins bzw. Hydroxyprolins gänzlich auf, während sie durch Amidierung bedeutend zunehmen kann. So liegt die Geschwindigkeit der durch Prolinamid katalysierten Reaktion beträchtlich über der des Anilids; während aber Prolin-

<sup>\*)</sup> Das kristallisierte Kupfersalz des Pyridin-carbonsäure-(2)-*N*-oxydes vom Schmp. 237° (Zers.) stellte uns Herr Dr. H. W. KRAUSE freundlicherweise zur Verfügung.

anilid noch etwas wirksamer ist als die freie Aminosäure, reicht Prolin-äthylamid schon nicht mehr an diese heran, und Prolin-butylamid ebenso wie Prolin-dibutylamid haben keinerlei Einfluß auf die Katalasereaktion der Kupferionen.

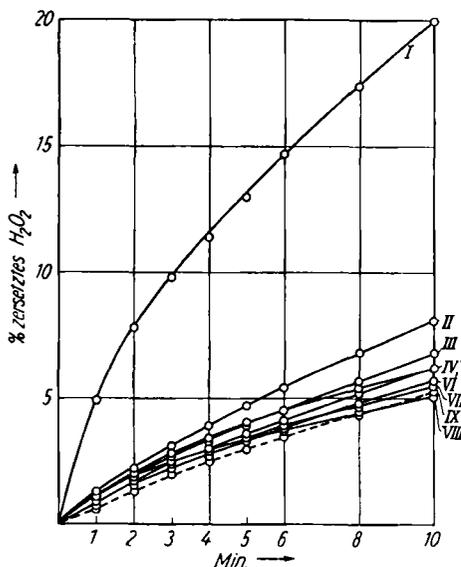


Abbildung 4. Katalasereaktion von Kupfersulfat bei  $p_H$  8 in Gegenwart von I Prolin, II Acetylprolin, III  $\beta$ -Alanyl-prolin, IV Acetylprolin-amid, V Prolyl-prolin, VI  $\alpha$ -Alanyl-prolin, VII Arginyl-prolin, VIII Prolin-anhydrid, IX Kupfer blind (Peptide im Mol.-Verhältnis 1:1, sonst 1:2)

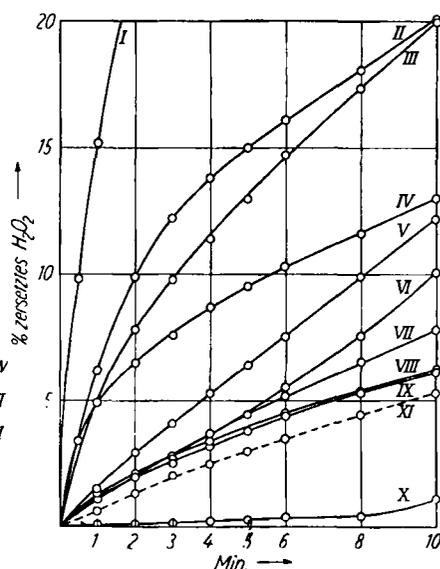


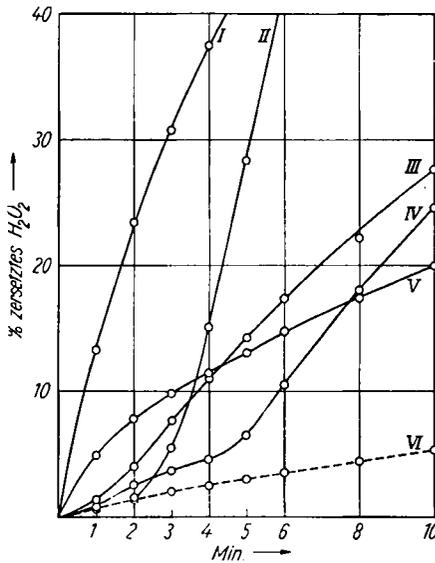
Abbildung 5. Katalasereaktion von Kupfersulfat bei  $p_H$  8 in Gegenwart von I Prolin-amid, II Prolin-anilid, III Prolin, IV Prolin-äthylamid, V Prolyl-histidin, VI Prolyl-arginin, VII Prolyl- $\beta$ -alanin, VIII Prolin-n-butylamid, IX Prolin-di-n-butylamid, X Prolyl- $\alpha$ -alanin, XI Kupfer blind (Peptide im Mol.-Verhältnis 1:1, sonst 1:2)

Aber nicht nur die *N*-Peptide des Prolins, sondern auch die meisten Prolylpeptide erwiesen sich als durchweg indifferent. Die beiden — ihrem katalytischen Effekt nach unbedeutenden — Ausnahmen sind Prolyl-histidin und Prolyl-arginin. Das aber sind Peptide, die eine zweite basische Gruppe besitzen und dadurch mit Kupfer anders koordiniert sind als die neutralen Prolylpeptide. Immerhin machen diese Beispiele deutlich, wie entscheidend ein neuer Rest und eine veränderte Bindung in einem Katalysatorsystem sein können, denn jede der beteiligten Aminosäuren vermag allein unvergleichlich mehr zu wirken als die aus ihnen aufgebauten Peptide.

Der hemmende Einfluß von Komplexbildnern kann sich so weit ausdehnen, daß das Metall wie im Falle des Prolyl- $\alpha$ -alanin-Kupfer-Chelates die Fähigkeit, als Katalysator zu wirken, praktisch verliert. Überdies ist möglich, daß die Restaktivität von den Kupferionen herrührt, die durch Zerstörung des organischen Liganden nach und nach freigesetzt werden.

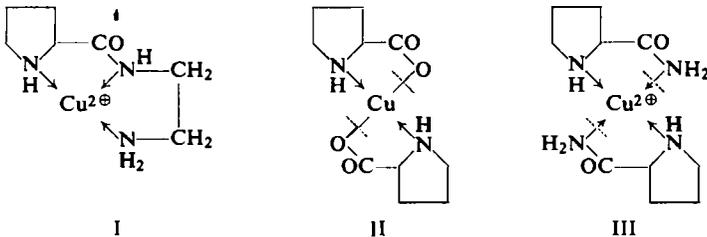
Da nach den bisherigen Erfahrungen einzig Prolin-amid Aussicht auf weitere Aktivierung eröffnete, schien als neuer Substituent besonders Äthylendiamin geeignet.

Beide möglichen Verbindungen, *N*-Propyl-äthylendiamin und *N,N'*-Dipropyl-äthylendiamin wurden hergestellt. Ihre Wirkung auf die Katalyse des Kupferions wird durch Abbild. 6 veranschaulicht. Hierbei fällt auf, daß die Zersetzungskurven anders als



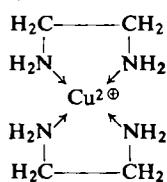
Abbild. 6  
Katalasereaktion  
von Kupfersulfat bei  $p_{\text{H}} 8$   
in Gegenwart von  
I Äthylendiamin (1:1),  
II Äthylendiamin (1:2),  
III *N,N'*-Dipropyl-  
äthylendiamin (1:1),  
IV *N*-Propyl-äthylen-  
diamin (1:1),  
V Prolin (1:2),  
VI Kupfer blind

bisher verlaufen. Der verzögerte Beginn der Hauptreaktion kann nur bedeuten, daß gewisse Veränderungen am Kupferchelate vorausgehen müssen. Offenbar werden durch Oxydation eines Teiles der Liganden zunächst Koordinationslücken geschaffen, bevor die Peroxydmolekel an das Zentralatom herantreten und umgesetzt werden kann. Diese Vermutung wird gestützt durch die Tatsache, daß die maximale Katalyse sofort einsetzt, wenn z. B. nur die Hälfte des zur koordinativen Absättigung erforderlichen Äthylendiamins zur Verfügung steht. Bei der Aktivierung des Prolins durch Äthylendiamin blieb allerdings ein entscheidender Fortschritt aus.

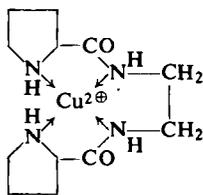


Zusammenfassend kann folgendes gesagt werden. Die Katalasewirkung des Kupfers wird durch Prolin und gewisse Prolinderivate in weiten Grenzen beeinflusst. Eine erfolgreiche Katalyse setzt ein Komplexsystem voraus, das entweder unvollständig abgesättigt ist (I) oder in dem ein Teil des Liganden leicht zu verdrängen ist (II und III).

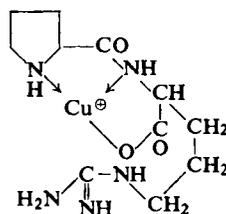
Die mangelhafte koordinative Absättigung kann durch eine unzureichende Anzahl von Liganden (I), durch teilweise Zerstörung des Chelats in der Reaktionslösung (IV und V) oder durch sterische Hinderung (VI) verursacht sein.



IV



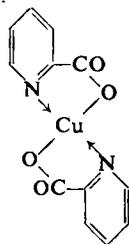
V



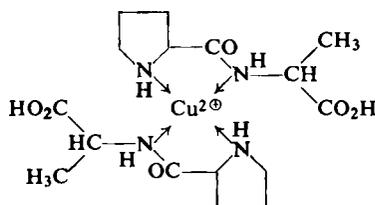
VI

Andererseits muß auch eine lückenhafte Koordination so stabil sein, daß die Katalyse weder zu einem augenblicklichen Zerfall des Metallchelats führt noch eine Peroxydasereaktion am Liganden zur Folge hat. In den vorstehenden Versuchen war die alsbaldige Hydrolyse von Metallchelaten an der starken Trübung der Reaktionslösung zu erkennen.

Die Frage, ob die Zersetzung der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Molekeln auf einem Redoxvorgang beruht oder durch die besondere, reaktionsfördernde räumliche Anordnung von Katalysator und Substrat bedingt ist, war in dieser Arbeit nicht gestellt. Es ist jedoch sicher, daß Elektronenübergänge während der Katalyse auch den Katalysator nicht unbeeinflusst lassen. Das jedoch kann Deformation und Auflockerung und damit frühzeitigen Zerfall des gesamten Koordinationssystems zur Folge haben. Wahrscheinlich ist die relativ schnell einsetzende Inaktivierung gerade der wirksamsten Metallchelate auf diesen Vorgang zurückzuführen. Aber auch sehr stabile und gegen Oxydation wenig



VII



VIII

empfindliche Komplexe (VII und VIII) verzögern oder verhindern unter Umständen eine katalytische Umsetzung. In solchen Fällen können farb tiefe Reaktionslösungen über geraume Zeit auch äußerlich unverändert bleiben.

Fräulein M. WITT und Frau I. BRÜSEHABER danken wir für die Ausführung der Mikroanalysen.

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

*DL-Prolin* wurde in größeren Mengen nach der Vorschrift von N. F. ALBERTSON und J. L. FILLMAN<sup>5)</sup> aus Acrylnitril hergestellt.

*N-Methyl-DL- $\alpha$ -aminobuttersäure* entstand nach DUVILLIER<sup>6)</sup> bzw. E. GANSSER<sup>7)</sup> aus  $\alpha$ -Brom-buttersäure und Methylamin. Sublimationspunkt 285°.

*Piperidin-carbonsäure-(2)-acetat* wurde aus Pyridin-carbonsäure-(2) durch katalytische Hydrierung in Eisessig nach K. HESS und F. LEIBBRANDT<sup>8)</sup> erhalten. Schmp. 219° \*) (Zers.).

*L-Hydroxyprolin-amid*: L-Hydroxyprolin-äthylester-hydrochlorid, Schmp. 150°, wurde nach R. W. CHAMBERS und F. H. CARPENTER<sup>9)</sup> über den freien Ester in ammoniakgesättigtem Methanol in das Amid übergeführt, das aus absol. Äthanol/Toluol in Nadeln vom Schmp. 138° kristallisierte.

*DL-Prolin-amid*, Schmp. 103°, wie unter<sup>9)</sup> beschrieben.

*N-Acetyl-DL-prolin* nach J. A. KING und F. H. McMILLAN<sup>10)</sup>, Schmp. 105°.

*N-Acetyl-DL-prolin-amid*: 2.8 g DL-Prolin-amid wurden in 25 ccm Pyridin mit 25 ccm Acetanhydrid 1 Stde. erhitzt. Nach Vakuumdestillation wurde das zurückgebliebene Öl mit Benzol angerieben. Nadeln vom Schmp. 136° (aus Benzol).

$C_7H_{12}N_2O_2$  (156.2) Ber. C 53.83 H 7.74 N 17.94 Gef. C 54.37 H 7.93 N 17.69

*DL-Prolyl-DL-prolin*: Darstellung nach N. C. DAVIS und E. L. SMITH<sup>11)</sup> aus Cbo-DL-prolin, Schmp. 74°, und DL-Prolin-äthylester nach der Anhydridmethode<sup>12)</sup>, Schmp. des Cbo-DL-prolyl-DL-prolins 166°.

*DL- $\alpha$ -Alanyl-DL-prolin*, Schmp. 187° (Zers.), und  *$\beta$ -Alanyl-DL-prolin*, Schmp. 238° (Zers.), ebenfalls nach l.c.<sup>11)</sup>, *DL-Prolin-anhydrid* aus dem freien Ester durch Kochen unter Rückfluß, Schmp. 184°.

*DL-Prolin-anilid-hydrochlorid* wurde aus DL-Prolylchlorid und Anilin hergestellt, Schmp. 219°.

*DL-Prolin-äthylamid-hydrochlorid*: 3.75 g Cbo-DL-prolin in 50 ccm Chloroform wurden bei -5° unter Rühren mit 2.09 ccm Triäthylamin und wenig später mit 1.45 ccm Chlorameisensäure-äthylester versetzt. Nach 30 Min. wurden 0.98 ccm Äthylamin zugefügt und 1 Stde. unter Kühlung und mehrere Stdn. bei Raumtemperatur gerührt. Nach Isolierung des öligen Cbo-DL-prolin-äthylamids und nach dessen katalytischer Hydrierung (Pd/Kohle) in 10-proz. essigsäurem Methanol wurde ein Öl erhalten, das, mit methanol. Salzsäure behandelt, nach einiger Zeit kristallisierte. Vorsichtiges Sättigen mit Äther ließ aus absol. Isopropylalkohol *DL-Prolin-äthylamid-hydrochlorid* vom Schmp. 97° auskristallisieren.

$C_7H_{14}N_2O \cdot HCl$  (178.7) Ber. C 47.06 H 8.46 N 15.68 Gef. C 47.30 H 8.89 N 15.70

*DL-Prolin-di-n-butylamid-hydrochlorid*: Analog der vorstehenden Vorschrift aus 3.75 g Cbo-DL-prolin, 2.09 ccm Triäthylamin, 1.45 ccm Chlorameisensäure-äthylester und 2.52 ccm Di-n-butylamin. Nach der Hydrierung des Cbo-Derivates wurde in absol. äthanol. Lösung mit trockenem Chlorwasserstoff das Hydrochlorid hergestellt, das aus der i. Vak. einge-

\*) Sämtliche Schmelzpunkte sind unkorrigiert. <sup>5)</sup> J. Amer. chem. Soc. **71**, 2819 [1949].

<sup>6)</sup> Ann. Chimie [5] **20**, 188 [1880]. <sup>7)</sup> Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **61**, 47 [1909].

<sup>8)</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. **50**, 389 [1917]. <sup>9)</sup> J. Amer. chem. Soc. **77**, 1522 [1955].

<sup>10)</sup> J. Amer. chem. Soc. **74**, 2859 [1952]. <sup>11)</sup> J. biol. Chemistry **200**, 373 [1953].

<sup>12)</sup> TH. WIELAND und H. BERNHARD, Liebigs Ann. Chem. **572**, 190 [1951]; R. A. BOISSONNAS, Helv. chim. Acta **34**, 874 [1951]; J. R. VAUGHAN JR. und R. L. OSATO, J. Amer. chem. Soc. **74**, 676 [1952].

dampften Lösung kristallisierte. Die mit absol. Benzol/Äther gewaschenen hygroskopischen Kristalle schmolzen bei 89°.

$C_{13}H_{26}N_2O \cdot HCl$  (262.8) Ber. C 59.41 H 10.36 N 10.66 Gef. C 59.75 H 10.45 N 10.21

*DL-Prolyl-DL- $\alpha$ -alanin*, Schmp. 221°, *DL-Prolyl- $\beta$ -alanin*, Schmp. 192°, und *DL-Prolyl-L-histidin*, Schmp. 154°, wurden sämtlich nach der Vorschrift von N. C. DAVIS und E. L. SMITH<sup>13)</sup> erhalten.

*DL-Prolyl-L-arginin-acetat* nach K. HOFMANN, W. D. PECKHAM und A. RHEINER<sup>13)</sup>.

*L-Arginyl-DL-prolin-acetat* wurde analog der in l.c.<sup>13)</sup> angegebenen Vorschrift synthetisiert.

*$\alpha$ -Cbo- $\omega$ -nitro-L-arginyl-DL-prolin*: Zum gemischten Anhydrid aus 7.067 g  *$\alpha$ -Cbo- $\omega$ -nitro-L-arginin*, 4.8 ccm Tributylamin und 1.91 ccm Chlorameisensäure-äthylester in 150 ccm Dioxan wurden bei 11–12° 2.88 g *DL-Prolin-äthylester* in 50 ccm Dioxan gegeben. Nach 1 stdg. Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand in Essigester gelöst und nacheinander mit 1 n HCl, H<sub>2</sub>O, 1 m NaHCO<sub>3</sub> und H<sub>2</sub>O ausgewaschen. Nach dem Trocknen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurde der Peptidester (6.2 g) vom Essigester befreit und mit der äquiv. Menge NaOH in 50 ccm wäßr. Methanol verseift. Nach Verdampfen des Methanols wurde der Rückstand in H<sub>2</sub>O gelöst, mit Essigester gewaschen und durch schwaches Ansäuern mit HCl ausgefällt. Nach Umkristallisieren aus absol. Methanol farblose Kristalle vom Schmp. 93–95° (Zers.). Ausb. 5.25 g (58 % d. Th.).

$C_{19}H_{26}N_6O_7$  (450.4) Ber. C 50.66 H 5.82 N 18.66 Gef. C 50.61 H 6.19 N 18.83

5.25 g der vorstehenden Verbindung wurden in 50 ccm Methanol/Eisessig (5:1) in Gegenwart von Pd/Kohle hydriert. Nach 12 Stdn. wurde der Katalysator durch frischen ersetzt und weitere 12 Stdn. hydriert. Dann wurde die vom Katalysator befreite Lösung i. Vak. eingedampft und der Rückstand mehrmals mit Methanol aufgenommen und mit absol. Äther ausgefällt. Das amorphe und hygroskopische Pulver wurde i. Vak. bei 78° getrocknet. Ausb. 3.25 g (85 % d. Th.).

$C_{13}H_{25}N_5O_5$  (331.4) Ber. C 47.11 H 7.60 N 21.13 Gef. C 47.89 H 7.99 N 20.84

*N-DL-Prolyl-äthylendiamin-dihydrochlorid*: 16.4 g Äthylendiamin und 5 g frisch destillierter *DL-Prolin-äthylester* in 20 ccm absol. Äthanol wurden eine Woche bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nach Entfernung des Äthanol und überschüss. Äthylendiamins hinterblieben 4.9 g *N-DL-Prolyl-äthylendiamin* als schwach gelbliches Öl. Die freie Base wurde in chlorwasserstoffgesättigtem Äthanol in ihr Dihydrochlorid übergeführt, vom Lösungsmittel befreit und aus absol. Äthanol umkristallisiert. Prismen vom Schmp. 188°.

$C_7H_{15}N_3O \cdot 2HCl$  (230.1) Ber. C 36.53 H 7.47 N 18.26 Gef. C 37.28 H 7.57 N 18.21

*N,N'-DL-Prolyl-äthylendiamin-dihydrochlorid*: 4.3 g *DL-Prolin-äthylester* wurden in 5 ccm absol. Äthanol mit 1.1 g absol. Äthylendiamin versetzt. Nach 5tägigem Stehenlassen bei Raumtemperatur hinterblieb nach dem Verdampfen des Äthanol ein farbloses Öl, das wie oben in das Dihydrochlorid umgewandelt wurde. Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus absol. Äthanol wurden Prismen vom Schmp. 256° (Zers.) erhalten.

$C_{12}H_{22}N_4O_2 \cdot 2HCl$  (327.3) Ber. C 44.04 H 7.40 N 17.12 Gef. C 44.15 H 7.34 N 16.82

Die volumetrischen Messungen der Katalasereaktion wurden mit der von H. MIX<sup>14)</sup> beschriebenen Apparatur ausgeführt.

<sup>13)</sup> J. Amer. chem. Soc. **78**, 241 [1956].

<sup>14)</sup> W. LANGENBECK, H. MIX und W. TITTELBACH-HELMRICH, Chem. Ber. **90**, 2702 [1957].