

value. The split-off heme or hemin can be extracted with acetone which simultaneously precipitates the protein. After reneutralization to pH 7.3, it is soluble in water, the solubility percentage increasing with decreasing pH values of the cleavage process. The extent of renaturation which occurs on neutralization of the hydrochloric acid globin increases with increasing completeness of removal of the pigment. The cleavage velocity of oxy- and carboxyhemoglobin at various pH values was spectroscopically measured.

An improved and very detailed method is given for the preparation of globin from carboxyhemoglobin. This method which requires only little acetone gives a maximum yield of globin, soluble at the isoelectric point. The product contains only slight traces of pigment and on 40% saturation with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, an absolutely minimum or no precipitation results. Further, it is electrophoretically homogeneous and can be recombined with hemin giving compounds with the same spectra as the natural substances. However, solubility curves of the globin obtained with the *Northrop* method, and a decreased thermostability show that the renaturation has not proceeded to the same extent with all the molecules.

Bern, Blutspendedienst des Schweizerischen Roten Kreuzes,
Theodor-Kocher-Institut und Institut für organische Chemie
der Universität.

133. Zur Kenntnis der Kupplungsreaktion.

V: Die Reaktionsfähigkeit des undissoziierten Phenols.

Kupplungen in hochkonzentrierten Schwefelsäuren

(Vorläufige Mitteilung)¹⁾

von **Hch. Zollinger**.

(10. VI. 53.)

Eine Arbeit von *Z. J. Allan*²⁾, die uns infolge äusserer Umstände erst vor kurzem zur Kenntnis gekommen ist, veranlasst uns, über vorläufige Ergebnisse von Untersuchungen zu berichten, die unabhängig von *Allan* zu ähnlichen Schlüssen geführt haben. Diese 1951 ausgeführten Versuche sind bis jetzt nur in einer nicht allgemein bekannten und zugänglichen Arbeit³⁾ niedergelegt und in einem Vor-

¹⁾ III. Mitteilung: *Hch. Zollinger & W. Büchler*, *Helv.* **34**, 591 (1951). Als IV. Mitteilung wird bezeichnet: *Hch. Zollinger & C. Wittwer*, *Helv.* **35**, 1209 (1952).

²⁾ *Coll. Czech. Chem. Com.* **16—17**, 620 (1952).

³⁾ „Kinetik und Mechanismus der Kupplungsreaktion“. Habilitationsschrift Universität Basel (1951), im folgenden als l. c. I bezeichnet.

trag¹⁾ behandelt worden. Eine Veröffentlichung in einer Fachzeitschrift war erst nach Durchführung quantitativer Messungen vorgehen.

Nachdem eindeutig festgestellt war, dass in wässrigen Lösungen das Phenolat-Ion in die geschwindigkeitsbestimmende Stufe der Azokupplung von Phenolen eintritt²⁾, war die Frage, ob das undissoziierte Phenol überhaupt kuppelt, von einigem Interesse.

Da feststeht, dass das Phenolat-Ion zumindestens um einige Zehnerpotenzen rascher kuppelt als das freie (undissoziierte) Phenol, ist die kinetische Ermittlung dieser beiden Reaktionen nebeneinander nicht einfach ($k_{O^-} \gg k_{OH}$ in Gleichung (1)). Wird jedoch die Konzentration des Phenolat-Ions ($R-O^\ominus$) sehr stark erniedrigt, dann bestimmt der 2. Summand von (1) die Reaktionsgeschwindigkeit. Dies ist im übersauren Gebiete der Fall.

$$\frac{d(Az)}{dt} = (D) \cdot (k_{O^-}[R-O^\ominus] + k_{OH}[R-OH]) \quad (1)$$

(Az) = Azofarbstoffkonzentration.

(D) = Stöchiometrische Konzentration der Diazokomponente.

$[R-O^\ominus]$ = Effektive Konzentration des Phenolat-Ions.

$[R-OH]$ = Effektive Konzentration des freien Phenols.

k_{O^-}, k_{OH} = Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Phenolat- bzw. Phenolkupplung.

Kuppelt man ein Gemisch von äquivalenten Teilen 1-Naphtol und 1-Naphtylamin mit 2,4-Dinitrodiazobenzol in wässriger, schwach saurer Lösung, so erhält man den Aminoazofarbstoff. Dies geht aus der Ableitung der selektiven Kupplung der Aminonaphtole, die früher gegeben wurde³⁾, in Analogie hervor. Bei Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration sinkt die Reaktionsgeschwindigkeit von Naphtylamin und Naphtol – das Geschwindigkeitsverhältnis bleibt aber gleich. Man würde also erwarten, dass stets die Aminkupplung überwiegt. Im übersauren Gebiet ist dies jedoch nicht mehr der Fall: Im Gebiet von ca. 73–81% Schwefelsäure (Aciditätsfunktion H_0 ⁴⁾ ca. –5,9 bis –7,1 erhält man den Naphtolfarbstoff. Schematisch lässt sich dies durch Fig. 1⁵⁾ darstellen. Daraus geht hervor, dass das Absinken der Naphtolkupplungsgeschwindigkeit bei noch höhern Säurekonzentrationen auf der Erniedrigung der Konzentration des freien Naphtols (Oxonium-Ion-Bildung!) beruht. Dass das Oxonium-Ion eine Aciditätskonstante von ca. –6 bis –9 hat, kann aus theoretischen Überlegungen vermutet werden⁶⁾.

¹⁾ Harvard-Universität, Cambridge (USA.); 21. Dezember 1951.

²⁾ Vgl. Zusammenfassung in Chem. Reviews **51**, 347 (1952).

³⁾ Helv. **35**, 1215 (1952).

⁴⁾ Vgl. L. P. Hammett, Physical Organic Chemistry, S. 267, New York 1940.

⁵⁾ Nach l. c. I, Fig. 2, S. 32.

⁶⁾ L. c. I, S. 34.

Es ergibt sich also, dass das freie Phenol auch mit Diazoverbindungen reagiert, dass die Reaktionsgeschwindigkeit aber um 10 oder mehr Zehnerpotenzen kleiner ist als die des entsprechenden Phenolat-Ions.

Analoge Resultate erhält man mit einem Gemisch von 2-Naphtol und 2-Naphtylamin. Werden die beiden Kupplungskomponenten in getrennten Ansätzen zur Reaktion gebracht, so kann gezeigt werden, dass das Naphtol bei höhern Säurekonzentrationen kuppelbar ist als das entsprechende Amin.

Anstelle wässriger Schwefelsäure kann auch ein Gemisch von Schwefelsäure mit Eisessig oder Phosphorsäure verwendet werden.

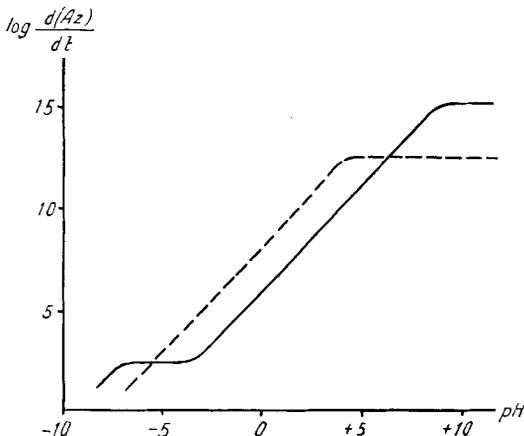


Fig. 1.

Schematische Darstellung der Abhängigkeit der Kupplungsgeschwindigkeit der Amine (-----) und Phenole (—) von der Acidität.

Angenommene pK-Werte: Amin $pK_1 = +4$.

Phenol $pK_1 = -7$ (Oxonium-Ion),

$pK_2 = +9$.

Geschwindigkeitsverhältnis¹⁾: $k_{NH_2} : k_{O^-} = 1 : 500$.

Eine eingehende Mitteilung über Kupplungen im übersauren Gebiet möchten wir erst nach Beendigung der reaktionskinetischen Messungen und experimentellen Bestimmung der Oxoniumgleichgewichtskonstanten veröffentlichen, um dadurch die Verhältnisse der Fig. 1 quantitativ zu bestätigen.

Wir möchten noch darauf hinweisen, dass die Fig. 1 im Gegensatz zu *Allan* das stark alkalische Gebiet nicht umfasst. Wie bereits von *Wistar & Bartlett*²⁾ auseinandergesetzt wurde, ist wegen der abnehmenden Diazonium-Ionen-Konzentration ein Abfall der Kupplungsgeschwindigkeit bei $pH > 11$ zu erwarten. Dies hat *Allan* nicht berücksichtigt. Es scheint uns, dass experimentelle Ergebnisse abgewartet werden müssen, bevor dieser Aciditätsbereich in einem Schema dargestellt wird.

¹⁾ Vgl. *Helv.* **35**, 1209 (1952).

²⁾ *Am. Soc.* **63**, 413 (1941).

Experimenteller Teil.

Kupplung mit 1-Naphtol. Zu einer Lösung von 0,04 Mol 2,4-Dinitranilin in 40 cm³ 95-proz. H₂SO₄ werden 40 cm³ 1-n. Nitrosylschwefelsäure (aus NaNO₂ und 95-proz. H₂SO₄) gegeben. In geschlossenem Gefäß über Nacht stehenlassen. Bei sofortiger Verwendung erfolgt starke Grünfärbung mit der Naphtollösung (Nitrosonaphtol mit nicht reagiertem Nitrit?).

Je ein Viertel dieser Lösung wird zu Lösungen (bzw. Suspensionen) von je 0,01 Mol 1-Naphtol in 50 cm³ 75-, 70-, 65- und 60-proz. H₂SO₄ bei 20° ± 1° gegeben. Im ersten Versuch (Totalkonzentration 81% H₂SO₄) erfolgt langsame, in allen andern Fällen rasche Kupplung (blaurote Färbung). In höher konzentrierter Säure ist die Reaktion unmessbar langsam.

Die Azokörper können durch Verdünnen mit Eis ausgeschieden und dann isoliert werden. 2,4-Dinitrobenzol-1,1'-azo-4'-naphtol: Smp. 278° (aus o-Dichlorbenzol).

Kupplung mit 1-Naphtylamin. Analoge Versuchsserie mit je 0,01 Mol 1-Naphtylamin. Erst im 3. Versuch (Totalkonzentration 74% H₂SO₄) erfolgt langsame, in 71-proz. H₂SO₄ rasche Kupplung (rote Färbung). Isolierung wie oben. Smp. 261–263° (unter Zersetzung, aus o-Dichlorbenzol).

SUMMARY.

This is a preliminary communication on azo couplings in sulphuric acid solution of high concentration. The reaction of the undissociated naphthol which is not measurable in aqueous solution of low acidity (because of the predominant naphtholate coupling) can be demonstrated in sulphuric acid solution of 73–81% H₂SO₄.

Wissenschaftliche Abteilung des Farbendepartements,
Ciba Aktiengesellschaft, Basel.

134. Sarmutosid und Musarosid. Glykoside der Samen von *Strophanthus sarmentosus* A.P.DC. 4. Mitteilung¹⁾.

Glykoside und Aglykone. 113. Mitteilung²⁾

von R. Richter, K. Mohr und T. Reichstein.

(10. VI. 53.)

Nach dem Gehalt an Glykosiden, also rein vom chemischen Standpunkt aus, konnten wir in der sehr polymorphen Art *Strophanthus sarmentosus* A.P.DC. bisher drei deutlich voneinander verschiedene Rassen oder Formen unterscheiden, die wir mangels einer geeigneten botanischen Klassierung vorläufig als „chemische Varianten“ bezeichnet haben³⁾.

¹⁾ 3. Mitteilung: Helv. **33**, 2154 (1950), vgl. ferner Helv. **34**, 413, 608, 1264, 1477 (1951), Pharm. acta Helv. **28**, 1 (1953).

²⁾ 112. Mitteilung: O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **36**, 1007 (1953).

³⁾ R. Schnell, J. v. Euw, R. Richter & T. Reichstein, im Druck.