

SUMMARY.

The isolation of a new adrenocortical metabolite from the urine of two women suffering from *Cushing's* syndrome due to adrenal carcinoma has been described. The substance has been characterized as $3\alpha,17\alpha,21$ -trihydroxypregnane-20-one (tetrahydro Compound S; THS). Since it was isolated after β -glucuronidase hydrolysis of the urines, this metabolite was apparently excreted in the form of its glucuronoside conjugate. The possible relationship between the occurrence of THS in the urine of these patients with *Cushing's* syndrome and the excessive edema they exhibited has been noted. In addition THS has been isolated in 5% yield from the urine of a bilaterally adrenalectomized patient to whom *Reichstein's* Compound S was administered orally.

Departments of Biochemistry
and of Obstetrics and Gynecology,
College of Physicians and Surgeons,
Columbia University, New York, N.Y.

228. Zur Kenntnis des Dampfdrucks von Quecksilber(II)-chlorid

von R. Ruf und W. D. Treadwell.

(11. IX. 54.)

Der Dampfdruck von Salzen mit Molekelgittern beansprucht vom physikalischen Standpunkt aus besonderes Interesse als Mass für die Gitterkräfte. Energetisch relativ einfache Verhältnisse sind beim Quecksilber(II)-chlorid zu erwarten, da hier die lineare Struktur der Molekel des Gaszustandes¹⁾ auch im Bau des Kristalls²⁾ vorkommt. Der Dampfdruck dieses Salzes ist bereits von mehreren Autoren im Temperaturbereich von $t = 60 - 300^{\circ}$ (entsprechend $1/T = 0,003 - 0,0017$) bestimmt worden. Eine Zusammenstellung von einigen besonders wichtigen Werten im $\log p, 1/T$ -Diagramm zeigt Fig. 3.

Ältere Messungen von *K. Stelzner* und *G. Niederschulte*³⁾, die statisch und durch Bestimmung des Gewichtsverlustes bei Mitführungsversuchen im Bereich von $60 - 300^{\circ}$ gewonnen wurden, passen gut in die Gerade von Fig. 3, ebenso wie die statisch gewon-

¹⁾ Vgl. *L. Pauling*, The Nature of the Chemical Bond, 2. Ed., S. 89 (1940).

²⁾ Vgl. *A. F. Wells*, Structural Inorganic Chemistry, S. 148 (1945).

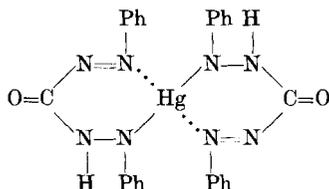
³⁾ *K. Stelzner & G. Niederschulte*, Verh. d. D. Phys. Ges. **7**, 159 (1905).

nenen Druckwerte von *F. M. G. Johnson*¹⁾ im Bereich von 152–302°. *C. G. Schmid & R. Walter*²⁾ führen Messungen von *W. Bolte* an, ausgeführt nach der Mitführungsmethode im Bereich von 100–180°. Ebenfalls nach der Mitführungsmethode sind von *W. Fischer & W. Biltz*³⁾ Druckwerte im Bereich von 166–206° bestimmt worden, durch welche die Tensionsgerade von Fig. 3 weiter wesentlich gestützt wird. Der obere Teil der Geraden, im Bereich von 286–309° wird durch zahlreiche, nach dem dynamischen Prinzip ausgeführte Messungen von *E. B. Prideaux*⁴⁾ gestützt.

Es fehlen dagegen noch Messungen bei tieferen Temperaturen. Ein vereinzelter Druckwert von *A. Stock & W. Zimmermann*⁵⁾ bei 0°, welcher durch Mitführung nach vorangegangener Übersättigung bestimmt worden ist, liegt im Vergleich zu den weiter oben erwähnten Tensionsdaten, wie Fig. 3 zeigt, zu tief und veranlasste uns, im Temperaturgebiet von 11–60° einige Messungen des Dampfdrucks von gereinigtem Quecksilber(II)-chlorid auszuführen, über die im folgenden berichtet werden soll.

Die günstigen Ergebnisse, welche die Mitführungsmethode bei der Bestimmung der Tension von Alkalihalogeniden⁶⁾ im Bereich sehr kleiner Druckwerte ergeben hat, veranlasste uns, die Methode auch zu den folgenden Messungen zu verwenden, wobei die vom Transportgas mitgeführten Sublimatdämpfe nach ihrer Kondensation in Wasser gelöst und hierauf mittels der Farbreaktion mit Diphenylcarbazon quantitativ bestimmt wurden.

Die Farbreaktion: Mit Hg^{II} bildet die orange-gelbe Lösung von Diphenylcarbazon (im folgenden mit Di abgekürzt) einen blauen Komplex mit einem Maximum der Extinktion bei 5250–5300 Å. Die Messung derselben bei konstanter Gesamtmolarität der Komponenten und Variation ihrer Einzelkonzentrationen zeigte nach Versuchen von *J. Hofstetter* in unserem Laboratorium ein Maximum der Färbung beim Verhältnis $\text{Hg}^{\text{II}} : \text{Di} = 1 : 2$, entsprechend der Formel:



¹⁾ *F. M. G. Johnson*, Am. Soc. **33**, 777 (1911).

²⁾ *G. C. Schmidt & R. Walter*, Ann. d. Phys. **72**, 563 (1923).

³⁾ *W. Fischer & W. Biltz*, Z. anorg. Ch. **176**, 89 (1928).

⁴⁾ *E. B. Prideaux*, Soc. **97**, 2032 (1910).

⁵⁾ *A. Stock & W. Zimmermann*, M. **53/54**, 789 (1929).

⁶⁾ *W. D. Treadwell & W. Werner*, Helv. **36**, 1436 (1953).

Dem Resonanzsystem der angedeuteten neungliedrigen Kette kann in grober Näherung mit der Formel von *H. Kuhn*¹⁾

$$\lambda_{\max} = 637 n^2 / (n + 1)$$

entsprochen werden. Hierin bedeutet n die Zahl der π -Elektronen (gleich der Zahl der Glieder in der Resonanzkette). In unserem Fall ist $n = 9$ und liefert $\lambda_{\max} = 5160 \text{ \AA}$, wodurch die angegebene Struktur, die auch von *F. J. Welcher*²⁾ angeführt wird, eine weitere Stütze erfährt.

Die kolorimetrische Bestimmung von HgCl_2 : Unsere Versuche bestätigen die Angaben von *F. W. Laird & Sister A. Smith*³⁾. Bei der Bestimmung kleinster Mengen (bis $0,1 \gamma \text{ Hg/cm}^3$) ist folgendes zu beachten:

Das zugegebene Farbreagens, eine 0,2-proz. alkoholische Di-Lösung, die täglich frisch bereitet werden muss, zeigt im Wellenbereich des angewandten Filters (Filter S 53 des *Pulfrich*-Photometers) beim pH von 4,2 praktisch keine Extinktion.

Die Intensität des Farblacks ist vom angewandten Überschuss des Reagens jedoch nicht unabhängig. Dies beruht auf einer merklichen Dissoziation des Farblacks. In einer $0,5 \cdot 10^{-3}$ -m. Lösung desselben, welche aus HgCl_2 : Di = 1 : 2 hergestellt worden war, fand *J. Hofstetter* in unserem Laboratorium nach der Methode von *Y. Schaeppi & W. D. Treadwell*⁴⁾ einen Dissoziationsgrad von $\alpha = 0,22$. Aus diesem Grunde haben wir zur Entwicklung des Farbkompleses HgCl_2 : Di = 1 : 8 gewählt (auf die maximale Menge von $10 \gamma \text{ Hg/cm}^3$ berechnet).

Wie zu erwarten, zeigt der Farbkomples eine empfindliche Abhängigkeit vom pH-Wert der Lösung. Wir haben daher mit einem Acetatpuffer gearbeitet, der die Farblösung nach der erfolgten Verdünnung auf pH = 4,2 einstellte. Die verwendete Lösung des Acetatpuffers wurde alle drei Tage mit der Glaselektrode kontrolliert.

Durch Fremdionen werden die Färbungen des Lacks empfindlich beeinflusst. Ionenzusätze über 0,003-n. bewirken rapides Aussalzen des Farbsols. Es wurde daher der Pufferzusatz zur Einstellung der Acidität in einer Konzentration von 0,0023-n. gehalten.

Die Bildung des Farblacks erreicht bei den gewählten Konzentrationsverhältnissen innerhalb von 15 Min. ihr Maximum und bleibt dann, wenn er vor Lichtzutritt geschützt wird, unter normalen Bedingungen eine Std. konstant. Unter dem Einfluss der intensiven Quecksilberlampe des Photometers ist das Ausbleichen schon nach 15 Min. sehr merklich.

Ausführung der kolorimetrischen Bestimmung. *Reagens*: 0,2-proz. alkoholische Lösung von Diphenylcarbazon, die täglich frisch hergestellt wird. Puffer: 100 cm^3 0,1-n. $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} + 2 \text{ cm}^3$ Eisessig auf 1000 cm^3 mit Wasser aufgefüllt.

In einem mit eingeschliffenem Stopfen versehenen *Erlenmeyer*-Kolben wurden 10 cm^3 der zu bestimmenden Lösung mit $0,5 \text{ cm}^3$ Puffer und $0,5 \text{ cm}^3$ Reagens versetzt und 15 Min. im Dunkeln stehengelassen. Gleichzeitig wurde nach derselben Vorschrift eine Blindprobe hergestellt und gegen diese mit dem *Pulfrich*-Photometer ausgemessen.

Eichkurven: Eine Standardlösung von Hg^{II} -Chlorid wurde durch Lösen von 0,1354 g reinstem HgCl_2 in 1000 cm^3 Wasser, entsprechend einer Konzentration von $100 \gamma \text{ Hg/cm}^3$ hergestellt. Durch weitere Verdünnung wurden Konzentrationsreihen von 0,1–6 $\gamma \text{ Hg/cm}^3$ zur Bestimmung der Eichwerte zubereitet. Zur Transparenzmessung bei Konzentrationen von 0,1–1,1 γ wurden 3-cm-Küvetten und im Konzentrationsbereich von 1–6 γ 1-cm-Küvetten verwendet.

Die folgenden beiden Tabellen mit den Eichkurven von Fig. 1 zeigen die Brauchbarkeit der Methode.

1) *H. Kuhn*, *Helv.* **31**, 144 (1948); **32**, 2247 (1949).

2) *F. J. Welcher*, *Organic Analyt. Reagents*, Bd. III, 457 (1947).

3) *F. W. Laird & Sister A. Smith*, *Ind. Eng. Chem. anal. Ed.* **10**, 576 (1938).

4) *Y. Schaeppi & W. D. Treadwell*, *Helv.* **31**, 577 (1948).

Eichtabelle 1 (Fig. 1): 3-cm-Küvette;
Pulfrich-Photometer; Filter S 53.

Konzentration $\gamma \text{ Hg}^{\text{II}}/\text{cm}^3$	Transparenz	Extinktion
0,1	98,4	0,007
0,2	95,2	0,021
0,3	90,8	0,042
0,4	85,6	0,068
0,5	79,0	0,102
0,6	74,4	0,129
0,7	68,5	0,165
0,8	64,6	0,190
0,9	58,5	0,233
1,0	54,0	0,268
1,1	51,2	0,294

Eichtabelle 2 (Fig. 1): 1-cm-Küvette;
Pulfrich-Photometer; Filter S 53.

Konzentration $\gamma \text{ Hg}^{\text{II}}/\text{cm}^3$	Transparenz	Extinktion
1	82,4	0,084
1,5	72,8	0,138
2	65,6	0,183
3	53,7	0,270
4	42,9	0,368
5	33,8	0,471
6	27,6	0,559

Bestimmung von Hg mit Diphenylcarbazon

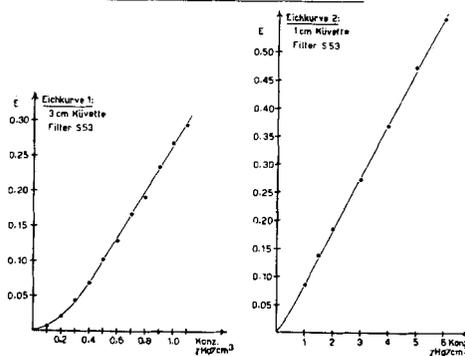


Fig. 1.

Die beiden Kurven von Fig. 1 zeigen die erhaltene Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration der angewandten HgCl_2 -Lösung. Hiermit stand nun ein leistungsfähiges Hilfsmittel zur Verfügung, um die mitgeführten Spuren von HgCl_2 zu bestimmen, worüber im folgenden berichtet wird.

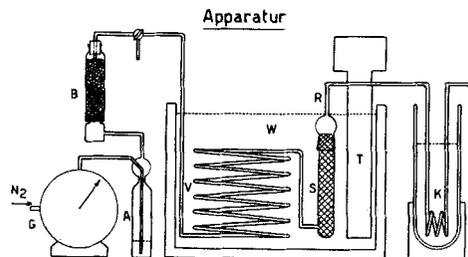


Fig. 2.

Die Mitführungsversuche.

Fig. 2 zeigt schematisch die Versuchsanordnung. Der einer Stahlflasche entnommene Stickstoff wird in der Gasuhr G gemessen, dann in A mit Schwefelsäure, in B mit Ätznatron getrocknet. In dem gut isolierten Wasserbad W, das durch den Thermostaten T innerhalb von $0,2^\circ$ temperaturkonstant gehalten werden konnte, wird das Trägergas in der Glasspirale V auf die gewünschte Versuchstemperatur gebracht. Hierauf passiert das Gas das Sättigungsgefäß S, ein Rohr von 3 cm lichter Weite und 20 cm Länge. Dieses ist mit *Raschig*-Ringen beschickt, auf welche zuvor reinstes HgCl_2 in gleichmässig dünner Schicht aufsublimiert worden war. Den Abschluss bildet eine Schicht Glaswatte. Die Kapillare R führt in die mit flüssiger Luft gekühlte Kondensationsspirale K. Orientierende Versuche hatten gezeigt, dass hier eine vollständige Kondensation stattfindet.

Es wurde mit Strömungsgeschwindigkeiten von 6–0,6 l N_2 /Std. gearbeitet. Die Temperatur von 11° konnte mit fliessendem Leitungswasser genügend genau eingestellt werden. Nach Durchfluss von 3–10 l N_2 wurde das Kondensat mit Wasser in einen Messkolben von 25 cm³ gespült und ein aliquoter Teil davon, meist 10 cm³, mit Diphenylcarbazon nach der oben beschriebenen Methode kolorimetriert.

Mit den erhaltenen Daten für das verflüchtigte HgCl_2 konnte nun der Dampfdruck p_{HgCl_2} nach dem Ansatz

$$p_{\text{HgCl}_2} = P \cdot n_{\text{HgCl}_2} / n_{\text{N}_2} \quad (1)$$

berechnet werden, wobei n_{HgCl_2} die Molzahl des verflüchtigten HgCl_2 , n_{N_2} die Molzahl des angewandten Transportgases bedeutet und P den Druck desselben. Durch Einführung der Gasgleichung erhält man aus (1):

$$p_{\text{HgCl}_2} = n_{\text{HgCl}_2} \cdot RT/V. \quad (2)$$

Mit $R = 0,082 \text{ l} \cdot \text{Atm.}$ erhält man den Druck in *Atm.*, und nach Multiplikation mit 760, in *mm Hg.*

Die erhaltenen Resultate sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Bei jeder Temperatur wurde eine Anzahl Bestimmungen mit abnehmender Strömungsgeschwindigkeit des Transportgases durchgeführt. Hierbei zeigte sich eine Zunahme im Gehalt bei abnehmender Strömungsgeschwindigkeit G gemäss den Zahlen der zweitletzten Spalte der Tab. Durch graphische Extrapolation konnten die Werte für $G = 0$ ermittelt werden, da eine gut linear verlaufende Zunahme der *p*-Werte bei abnehmender Strömungsgeschwindigkeit G vorliegt, derart, dass die Extrapolation jeweils bis auf die Einer des Faktors der *p*-Werte abgelesen werden konnte. Diese Werte sind am Schluss der einzelnen Rubriken angeführt. Der letzte Wert musste ohne Extrapolation verwendet werden, da Messungen mit andern Gasgeschwindigkeiten nicht ausgeführt wurden.

In Tab. 2 sind die auf die Geschwindigkeit des Transportgases $G = 0$ extrapolierten Druckwerte zusammengestellt.

Diese Werte sind in die Dampfdruckkurve von Fig. 3 als volle schwarze Kreise eingezeichnet.

Die Gerade entspricht der Gleichung:

$$\log p = -4358 \cdot \frac{1}{T} + 10,693. \quad (3)$$

Wie man sieht, besteht ein ausgezeichnete Anschluss unserer neuen Messungen an die vorhandenen, bei höheren Temperaturen bestimmten Werte.

Tabelle 1.

Versuch Nr.	Gasometer-temp. T	Strömungsgeschw. G l/St.	Trägergas-Volumen V l	Hg(II) mitgeführt γ	$P_{\text{HgCl}_2} \cdot 10^{-5}$ in mm Hg
<i>Sättigungstemperatur T = 332° K (59° C)</i>					
1	297	6,7	4	110	254
2	295	6,2	4	114	262
3	296	5	4	116	268
4	298	2,7	4	137,5	320
5	293	1,5	4	151,2	345
Extrapolierter p-Wert = $360 \cdot 10^{-5}$ mm Hg					
<i>Sättigungstemperatur T = 323° K (50° C)</i>					
6	295	6,7	3	17,3	53
7	295	2,75	3	43	131
8	295	2,7	3	38,8	118,5
9	295	1,1	3	50	153
Extrapolierter p-Wert = $170 \cdot 10^{-5}$ mm Hg					
<i>Sättigungstemperatur T = 313° K (40° C)</i>					
10	296	4,5	9	19,5	19,9
11	296	3,2	6	17,5	26,8
12	293	0,58	9	56,3	57
Extrapolierter p-Wert = $60 \cdot 10^{-5}$ mm Hg					
<i>Sättigungstemperatur T = 303° K (30° C)</i>					
13	294	2,2	5	6,45	11,8
14	293	0,88	5	9,3	16,9
15	293	0,6	5	9,85	17,9
Extrapolierter p-Wert = $20 \cdot 10^{-5}$ mm Hg					
<i>Sättigungstemperatur T = 296° K (23° C)</i>					
16	293	1,6	10	3,4	3,1
17	293	0,4	8	5,8	4,75
Extrapolierter p-Wert = $7,5 \cdot 10^{-5}$ mm Hg					
<i>Sättigungstemperatur T = 284° K (11° C)</i>					
18	294	0,6	6	1,65	2,5

Tabelle 2.

Dampfdruck von HgCl_2

Temp. t° C	T° abs.	$P_{\text{HgCl}_2} \cdot 10^{-5}$ in mm Hg
59	332	360
50	323	170
40	313	60
30	303	20
23	296	7,5
11*)	284*)	2,5*)

*) Ohne Extrapolation direkt verwendet.

Unserer Vermutung entsprechend ist in der Tat der vereinzelt Wert von *A. Stock & W. Zimmermann*¹⁾ zu tief. Der Wert von *K. Stelzner & W. Niederschulte*²⁾ für 60° liegt ebenfalls etwas zu tief.

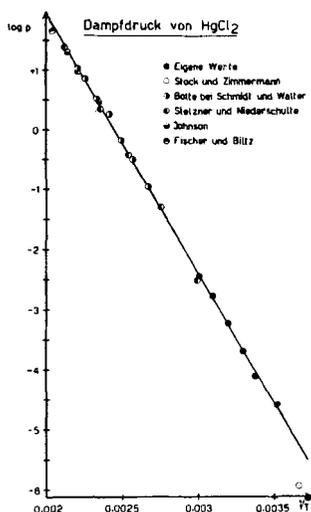


Fig. 3.

Der Anschluss unserer nach der Überführungsmethode ermittelten Drucke darf als Beweis dafür gelten, dass HgCl_2 auch bei den tiefen Temperaturen im Dampfzustand einfache Molekeln bildet. Erst oberhalb von 200° scheint eine merkliche Polymerisation des gesättigten HgCl_2 -Dampfes einzutreten.

Aus der Neigung der Dampfdruckgeraden in Fig. 3 ergibt sich für die Verdampfungswärme:

$$L = 4,567 \cdot \log \frac{p_2}{p_1} \cdot \frac{T_1 \cdot T_2}{T_2 - T_1} \quad (4)$$

oder mit Verwendung von (3):

$$L = -4358 \cdot R \cdot 2,303 = -4358 \cdot 4,573 = 20,0 \text{ Kcal},$$

gut vergleichbar mit den Daten von *H. Braune & S. Knoke*³⁾ 19,22 Kcal (187°) und *W. Fischer*⁴⁾ 18,5 Kcal (299°). Nach *R. Kelley*⁵⁾ ist die Sublimationswärme von $\text{Hg}^{II}\text{Cl}_2$ gemäss folgender Gleichung von der Temperatur abhängig:

$$L = 20,77 - 1,3 \cdot 10^{-3} \cdot T - 5,15 \cdot 10^{-6} \cdot T^2 \text{ Kcal}, \quad (5)$$

woraus $L(0^\circ) = 20,03$ Kcal und $L(60^\circ) = 19,77$ Kcal in bester Übereinstimmung mit unserer neuen Bestimmung erhalten wird.

¹⁾ M. 53/54, 789 (1929).

²⁾ Verh. Dtsch. Phys. Ges. 7, 159 (1905).

³⁾ *H. Braune & S. Knoke*, Z. phys. Ch. A 152, 426 (1931).

⁴⁾ *W. Fischer*, Z. anorg. Ch. 211, 321 (1933).

⁵⁾ *R. Kelley*, U. S. Dept. of the Interior, Bureau of Mines, Bulletin 383 (1935).

Zusammenfassung.

Es wurde die kolorimetrische Bestimmung von HgCl_2 mit Diphenylcarbazon für die Konzentrationsbereiche von $0,1-1 \gamma \text{ Hg}^{\text{II}}/\text{cm}^3$ und $1-10 \gamma \text{ Hg}^{\text{II}}/\text{cm}^3$ unter Berücksichtigung des Einflusses von Fremdionen und der Acidität ausgearbeitet. Die Bestimmungen erfolgten mit dem Photometer von *Pulfrich* und dem Filter S. 53.

Die durch stöchiometrische Messungen abgeleitete Struktur des Komplexes wird durch die Lage des Absorptionsmaximums gestützt.

Mit Hilfe des hochempfindlichen kolorimetrischen Verfahrens konnten die Dampfdrucke von HgCl_2 nach der Mitführungsmethode (Trägergas Stickstoff) im Temperaturbereich von $11-59^\circ$ bestimmt werden.

Die gefundenen Werte werden durch die Gleichung:

$$\log p_{\text{mm Hg}} = -\frac{4358}{T} + 10,693$$

gut dargestellt. Diese Gleichung stellt auch vorliegende Druckwerte aus Temperaturgebieten bis gegen 200° gut dar. Bis zu diesen Temperaturen besteht somit der Dampf aus einfachen Molekeln. Die Sublimationswärme ergibt sich daraus zu $20,0 \text{ Kcal}$.

Laboratorium für anorganische Chemie
Eidg. Technische Hochschule, Zürich.

229. Zur Kenntnis der jodometrischen Bestimmung von Harnsäure

von **W. D. Treadwell** und **A. Wahl**.

(11. IX. 54.)

Zur quantitativen Bestimmung von Harnsäure ist von *E. Riegler*¹⁾ die Oxydation mit *Fehling'scher* Lösung vorgeschlagen worden, wobei von 1 Mol Harnsäure 2,12 Atome Cu^{II} zu Cu^{I} reduziert wurden. Der Kupfergehalt des abfiltrierten Niederschlages wurde in bekannter Weise jodometrisch bestimmt. *Vaubel*²⁾ bestimmt den Kupfergehalt im ausgeschiedenen Kupfer(I)-oxyd nach der Kaliumcyanidmethode (Entfärbung der ammoniakalischen Lösung als Kupfer(II)-Salz durch Titration mit Kaliumcyanid) und kommt zum selben Resultat wie *Riegler*. *Schewket*³⁾ fällt die Harnsäure mit Quecksilber(II)-acetat und titriert den Niederschlag mit Permanganat. Von 1 Mol Harnsäure werden 2 Oxydationsäquivalente Permanganat verbraucht.

¹⁾ *E. Riegler*, Z. anal. Ch. **35**, 31 (1896).

²⁾ *W. Vaubel*, Methoden der quant. Best. org. Verb. I, 193 (1902).

³⁾ *Ö. Schewket*, Z. anal. Ch. **91**, 317 (1933).