

Essigsäure zugefügt. Nach einigen Min. war das Perbromid gelöst und hatte unter Entwicklung von HBr reagiert. Sorgfältiges Verdünnen mit Wasser fällte den Bromaldehyd VI aus, welcher sich nach Kratzen als braune Kristallmasse abfiltrieren liess. Diese wurde aus wässrigem Methanol umkristallisiert, wobei 45 mg weisse Nadeln, Smp. 130–132°, und 42 mg eines unreineren Produktes, Smp. 105–115°, ausfielen (Ausbeute 80%). Das analytische Präparat wurde noch aus wässrigem Äthanol umkristallisiert; Smp. 138,4–140°.

$C_{23}H_{29}O_3Br$ (433) Ber. C 63,9 H 6,77 Br 18,5% Gef. C 64,2 H 7,04 Br 18,5%

2,4-Dinitrophenylhydrazon von β -Acetoxy-*ar*,B- $\Delta^{17:20}$ -bisorcholenaldehyd (VII). Die Bromierung von 100 mg Acetoxyacetal Vb wurde wie im vorgängig beschriebenen Experiment ausgeführt. Zu der Reaktionslösung wurden direkt 2,5 ml Eisessig, 79 mg Natriumacetat, 54 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin und 5 ml Chloroform gegeben. Nach vierstündigem Stehen bei Zimmertemperatur unter Stickstoffatmosphäre wurde das Chloroform abgedampft und durch Wasser ersetzt. Das Produkt wurde mit Benzol ausgeschüttelt und in gewöhnlicher Weise aufgearbeitet. Das Rohprodukt (140 mg) wurde mit 50 ml Tetrachlorkohlenstoff an einer Aluminiumoxydsäule (1 × 14 cm) adsorbiert und mit einem 6:4-Tetrachlorkohlenstoff-Chloroform-Gemisch eluiert. Nach Konzentrieren und Kristallisieren aus Essigester-Methanol erhielt man 100 mg (75%) des 2,4-Dinitrophenylhydrazons von β -Acetoxy-*ar*,B- $\Delta^{17:20}$ -bisorcholenaldehyd (VII) als orangefarbene Prismen, Smp. 206–207°.

$C_{26}H_{32}O_6N_4$ (532) Ber. C 65,4 H 6,06 N 10,5% Gef. C 65,0 H 6,34 N 10,4%

SUMMARY

By a careful sidechain cleavage of neoergosteryl acetate, β -hydroxy-*ar*,B-bisorcholenaldehyde could be isolated as its crystalline dimethyl acetal (Va). Acetylation and bromination afforded β -acetoxy-20-bromo-*ar*,B-bisorcholenaldehyde (VI), which was converted to the 2,4-dinitrophenylhydrazone of β -acetoxy-*ar*,B- $\Delta^{17:20}$ -bisorcholenaldehyde (VII).

Ann Arbor, Michigan, Department of Chemistry,
University of Michigan;
Zürich, Chemisches Institut der Universität

196. Zur Spezifität der modifizierten «KELLER-Reaktion»

von H. P. Rieder und M. Böhmer

(9. VII. 59)

Eine Reihe von Entdeckungen der letzten Jahre vor allem auf pharmakopsychologischem Gebiet (halluzinogene Wirkung von Lysergsäureverbindungen, von Psilocybin, Dimethyltryptamin, Diäthyltryptamin, Bufotenin, Adrenochrom bzw. Adrenolutin usw.) haben die Indole zu einer biologisch äusserst interessanten Stoffgruppe werden lassen. Um so mehr sind heute Methoden zu deren quantitativer Erfassung dringend erwünscht. In einer ersten Mitteilung zu diesem Thema¹⁾ haben wir eine Modifikation der bisher als «KELLER-Reaktion»²⁾ bekannten Farbprobe beschrieben, welche als quantitative Indolbestimmung ausgeführt werden kann, und haben darauf hingewiesen, dass der wichtigste Reaktionspartner nicht etwa der Eisessig, sondern die daraus entstandene Glyoxylsäure ist. Im Prinzip handelt es sich also um

¹⁾ H. P. RIEDER & M. BÖHMER, *Experientia* **14**, 463 (1958).

²⁾ A. HOFMANN, *Helv.* **37**, 317 (1954).

eine «HOPKINS-COLE-Reaktion», mit dem Unterschied allerdings, dass dem in ganz bestimmter Konzentration zugegebenen $FeCl_3$ eine *wesentliche Funktion* bei der Farbintensivierung zukommt. In der vorliegenden Mitteilung werden die Spezifität der Reaktion und die Besonderheiten der Absorptionskurven besprochen.

Unter verschiedenen chemischen Stoffgruppen wurden einzelne Vertreter ausgesucht, in äquimolarer Konzentration gelöst und in der folgenden Weise zur Reaktion gebracht: 0,5 ml Indollösung vermischen mit 1 ml 0,3-proz. Glyoxylsäure enthaltend 10 mg% $FeCl_3$; darauf lässt man unter ständigem Schütteln langsam (in 45–50 sec) 2 ml 90-proz. H_2SO_4 einlaufen; anschließend kommt die Probe 3 min ins kochende Wasserbad, wird abgekühlt und in 1-cm-Küvetten gemessen.

Unter anderem gelangten folgende Stoffgruppen zur Untersuchung: 1. Indole, 2. Hydroxy-indole, 3. polycyclische Indolalkaloide, 4. Imidazole, 5. Purine, 6. Chinoline, 7. Phenylalkylamine und Hydroxy-phenylalkylamine, 8. Arylcarbonsäuren, 9. Pyrrol, 10. Guanidine, usw.

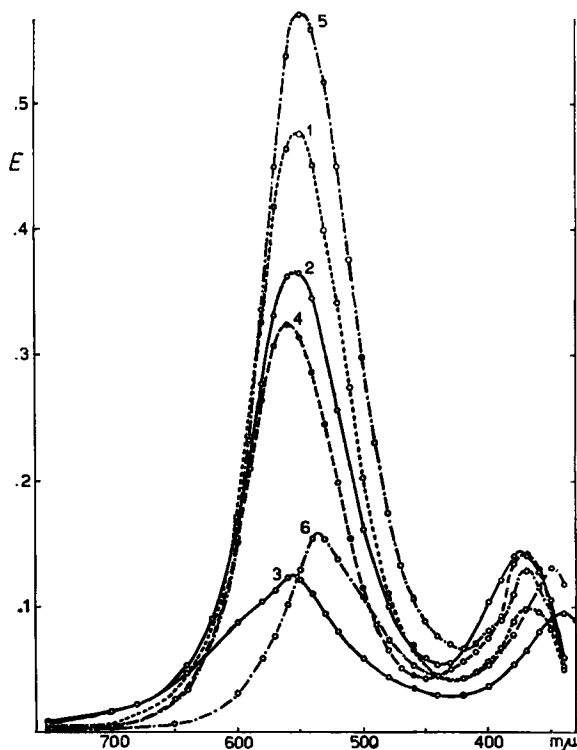


Fig. 1. Extinktionskurven von 1 Tryptamin, 2 Dimethyltryptamin, 3 Gramin, 4 Tryptophan, 5 Indol-3-propionsäure, 6 Indol-3-essigsäure
Konzentrationen der zur Reaktion verwendeten Testlösungen: $2 \cdot 10^{-4}$ -m.

Für alle Versuche wurden etwa $0,0002$ -m. Lösungen verwendet (mit Ausnahme von Skatol, wo $c = 0,0001$ -m.). Da von verschiedenen dieser Substanzen nur sehr geringe Mengen zur Verfügung standen, war bei nur gravimetrischer Bestimmung der Molarität einer Lösung mit beträchtlichen Fehlern zu rechnen. Es wurde darum der Umstand ausgenützt, dass die meisten positiv reagierenden Substanzen charakteristische, bekannte oder bei anderer Gelegenheit von uns

selbst ermittelte Extinktionsmaxima im UV.-Licht besitzen. Sämtliche Lösungen wurden deshalb vor jedem Versuch im UV. gemessen und die daraus berechneten Konzentrationen bei der Auswertung der Resultate der KELLER-Reaktion benutzt.

Die Untersuchung hat bestätigt, dass die Indole (Gruppen 1–3) weitgehend spezifisch ansprechen. Darüber hinaus konnte die interessante Feststellung gemacht werden, dass *einzelne Indole und Indolgruppen sich durch charakteristisch verschiedenen Verlauf ihrer Absorptionskurven auszeichnen und damit voneinander unterscheiden lassen*. Das Gesagte wird durch die Fig. 1–3 belegt.

Man erkennt aus Fig. 1, dass die in 3-Stellung substituierten Indole zwei Maxima im Gebiet um 370 und 550 $m\mu$ aufweisen, wobei ihre Extinktion über 700 $m\mu$ ganz unbedeutend ist. Das Maximum bei 550–560 $m\mu$ ist meist drei- bis fünfmal so hoch wie dasjenige um 370 $m\mu$. Ausnahmen von dieser Regel machen nur das Gramin und die Indol-3-essigsäure, deren beide Maxima ähnlich hoch sind, wobei das etwas tiefere jedoch bei auffallend niederen Wellenlängen (340–350 $m\mu$) im Vergleich zu den Maxima der übrigen Indole liegt.

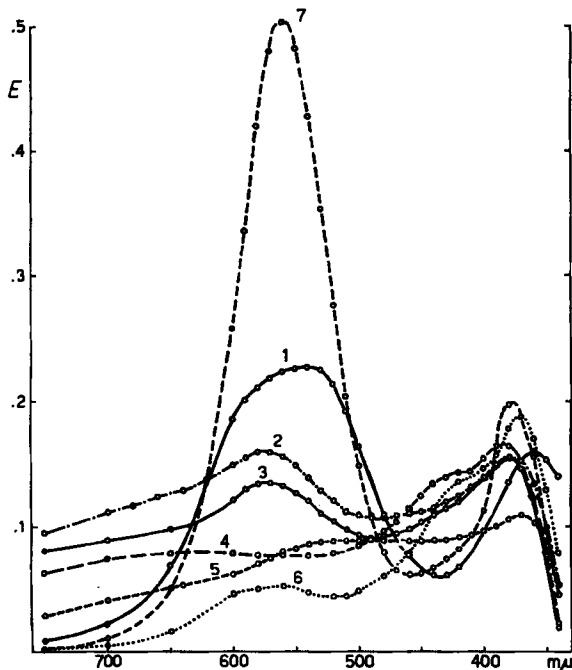


Fig. 2. Extinktionskurven von 1 Psilocybin, 2 Bufotenin, 3 Serotonin, 4 5-Hydroxytryptophan, 5 5-Hydroxy-indol-3-essigsäure, 6 DL-4-Methyltryptophan, 7 DL-5-Methyltryptophan
Konzentrationen der zur Reaktion verwendeten Testlösungen: $2 \cdot 10^{-4}$ -m.

Im Gegensatz dazu findet sich bei den 5-Hydroxy-indolen eine wertmässig noch beträchtlich hohe, flach gestreckte Verlängerung der Absorptionskurve, welche erst weit über 750 $m\mu$ auf unbedeutende Werte absinkt (Fig. 2). Ausserdem sind die beiden Maxima um 370 und 570–580 $m\mu$ praktisch gleich hoch (bei den Aminen), oder dasjenige bei 370 $m\mu$ sogar höher oder überhaupt allein ausgeprägt (bei den beiden Säuren). Im Unterschied zu den vorher genannten Stoffen Gramin und Heteroauxin,

welche kurvenmässig ähnlich aussehen, wenn man von den schon oben erwähnten Differenzen im Bereich über 700 $m\mu$ absieht, liegen jedoch die jeweiligen Maxima der Hydroxy-indole um 20–30 $m\mu$ höher.

In der gleichen Fig. 2 ist auch das kürzlich entdeckte und in seiner Struktur abgeklärte³⁾ *Psilocybin* (Phosphorsäureester des 4-Hydroxy-dimethyltryptamins) aufgeführt. Auch diese am Menschen halluzinogen wirkende Substanz weist zwei Maxima von relativ wenig unterschiedlicher Höhe auf, zeigt über 700 $m\mu$ keine nennenswerte Extinktion mehr und würde somit eine gewisse Ähnlichkeit mit Gramin und Heteroauxin erkennen lassen. Von diesen unterscheidet sich *Psilocybin* aber durch die Lage des niedrigen Maximums bei 360 $m\mu$ und vor allem durch die ausgesprochen breit entwickelte Kuppe im Gebiet zwischen 500–600 $m\mu$.

Bei den methylsubstituierten Indolen (Fig. 2) fällt der enorme Unterschied im Extinktionsverlauf auf, welcher zwischen Stellung 4 und 5 besteht. Während das 5-Methyltryptophan einen mit Tryptophan und anderen 3-substituierten Indolen (Fig. 1) völlig identischen Kurventypus ergibt, zeigt das 4-Methyltryptophan im niedrigen Wellenbereich eine weitgehende Ähnlichkeit mit dem 5-Hydroxytryptophan; im höheren Wellenbereich allerdings lassen sie sich eindeutig unterscheiden durch die fast völlige optische Leere des ersteren über 700 $m\mu$. Aus den wiedergegebenen Fig. können in gleicher Weise noch weitere Extinktionsunterschiede herausgelesen werden, welche lediglich durch Einführung oder Stellungswechsel bestimmter Radikale, sei es am Ring, sei es an der Seitenkette, bedingt sind (Indol/Skatol; Tryptamin/Dimethyltryptamin usw.). Auf Einzelheiten kann an dieser Stelle jedoch nicht eingegangen werden.

In der Fig. 3 finden sich neben Indol und Skatol zwei weitere Indolkörper, das Reserpin und das Adrenochrom, welche sich in keine der bisher besprochenen Gruppen einordnen lassen, indem sie nur ein einziges Maximum um 380 $m\mu$ herum aufweisen. Ähnliche Kurvenbilder ergeben zwar auch Xanthurensäure und Kynurensäure; da diese beiden Stoffe jedoch schon natürlicherweise im gleichen Gebiet ein Extinktionsmaximum besitzen, welches durch Zugabe von Reagens in seiner Lage kaum verändert, sondern höchstens etwas verstärkt wird, können wir sie nicht zu den eigentlich reagierenden Substanzen rechnen. Anders verhält es sich mit dem Pyrrol. Dieses spricht im Gegensatz zu allen bisher erwähnten Verbindungen mit einem ausgeprägten Maximum bei 470 $m\mu$ an und zeigt ähnlich den 5-Hydroxy-indolen noch weit über 700 $m\mu$ eine nennenswerte Extinktion. – Bei Untersuchungen am human-biologischen Material tut man übrigens gut daran, sich zu vergewissern, dass das heute häufig verwendete Phenothiazinderivat Largactil (Chlorpromazin) ausgeschlossen werden kann, da dieses, wie Fig. 3 zeigt, ebenfalls reagiert.

Wiederum andere Verhältnisse trifft man bei den mehrkernigen Indolen der *Lysergsäuregruppe* an, indem hier meistens drei Maxima bei 360, 600 und 650 $m\mu$ ausgebildet sind. Die Untersuchung einer grösseren Reihe von am Ring und an der Seitenkette substituierten Lysergsäureverbindungen ist noch im Gange, so dass die Mitteilung exakter Resultate auf eine spätere Publikation verspart werden muss.

Aus den übrigen eingangs erwähnten Stoffgruppen (4–10) wurde die folgende Auswahl von Substanzen geprüft und als *inaktiv* befunden: *Imidazole*: Histidin,

³⁾ A. HOFMANN, A. FREY, H. OTT, TH. PETRZILKA & F. TROXLER, *Experientia* **14**, 397 (1958).

Histamin. – *Purine*: Harnsäure, Xanthin, Hypoxanthin, Adenin, Guanin. – *Chinoline*: Xanthurensäure, Kynurensäure (wie im Text zu Fig. 3 erwähnt, können zwar Extinktionen um 340–380 $m\mu$ gemessen werden, dies aber schon natürlicherweise). – *Phenylalkylamine und Hydroxy-phenylalkylamine*: Adrenalin, Tyramin, Hydroxytyramin, Thyronin, Phenyl- β -hydroxyäthylamin, Mezcalin. – *Arylcarbonsäuren*: Salicylsäure, p-Aminosalicylsäure, Anthranilsäure, p-Aminohippursäure, Kynurenin. – *Guanidine und Aminosäuren*: Methylguanidin, Arginin, Kreatinin, Lysin, Leucin. – *Varia*: Harnstoff, Glucosamin, Pyrrolidin.

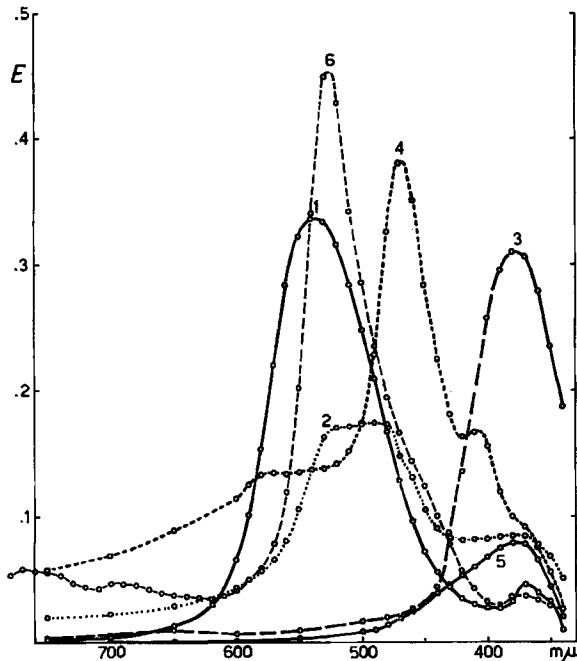


Fig. 3. Extinktionskurven von 1 Skatol, 2 Indol, 3 Reserpin, 4 Pyrrol, 5 Adrenochrom, 6 Largactil (Chlorpromazin)

Konzentration der zur Reaktion verwendeten Testlösungen: Skatol: 10^{-4} -m., alle übrigen: $2 \cdot 10^{-4}$ -m.

Aus dieser Gegenüberstellung ist die grosse Vielfalt an Aussagen unschwer zu ersehen, welche der spektrophotometrische «KELLER-Test» auch in *qualitativer* Hinsicht zu geben vermag. Er wird sich daher unter jenen Umständen am besten einsetzen lassen und bewähren, wo es darum geht, beispielsweise nach chemischer Fraktionierung indolartiger Körper, einen raschen Überblick über deren vermutliche Struktur, oder deren Reinheit und Menge im Falle von Elution einzelner elektrophoretisch oder chromatographisch aufgetrennter Zonen zu gewinnen. Die zur Messung günstigsten Wellenbereiche sind aus den Figuren ersichtlich. Wo nötig, können mit Reinsubstanzen Eichkurven aufgestellt werden, wie z. B. für das Tryptamin eine solche bereits publiziert wurde¹⁾. Es braucht kaum hervorgehoben zu werden, dass die Anwendung dieses Testes besonders dann von Vorteil ist, wenn die Aufnahme der ebenfalls sehr aufschlussreichen UV.-Spektren infolge Anwesenheit anderer im

UV. absorbierender Begleitsubstanzen sich vorderhand, d. h. ohne weitere und evtl. mühselige Reinigung, verbietet. Dies abgesehen davon, dass die Extinktionskoeffizienten nach «KELLER-Reaktion» bei vielen der untersuchten Stoffe zwei- bis viermal so gross sind wie diejenigen der Indolmaxima im UV., dass also noch niedrigere Konzentrationen erfasst werden können. Eine optimale Charakterisierung wird natürlich, soweit dies möglich ist, durch Kombination beider Methoden erzielt.

Aus über hundert Vergleichen durch Mehrfachbestimmung berechnet sich eine Standardabweichung ($\pm\sigma$) der methodischen Streuung von 3–4% des Ergebnisses bei einer mittleren Extinktion von rund 0,3 (bei höheren Extinktionswerten eher etwas weniger, bei niedrigeren etwas mehr).

Die vorliegende Arbeit wurde dank Unterstützung durch den EMIL-BARELL-FONDS ermöglicht. Für die freundliche Überlassung von Präparaten und UV.-Daten sind wir der Firma SANDOZ AG., im besonderen Herrn Dr. A. HOFMANN und Herrn Dr. H. G. LEMANN zu Dank verpflichtet.

SUMMARY

The proposed modified «KELLER-reaction» is shown to be rather specific for indoles and the indole component pyrrole. Furthermore, different indolic compounds such as (1) indoles, (2) hydroxy-indoles, (3) lysergic acid derivatives show characteristic absorption curves suitable for their qualitative differentiation and their assay.

Forschungslaboratorium der Psychiatrischen Univ.-Klinik
und der Neurolog. Univ.-Poliklinik, Basel

197. Untersuchungen über Diffusion in Triolein im Zusammenhang mit dem Problem der inneren Beweglichkeit der Flüssigkeiten

von F. GRÜN und R. JEANNERET¹⁾

(11. VII. 59)

1. Problemstellung

In der vorliegenden Arbeit berichten wir über Diffusionsversuche an 7 Systemen mit Triolein²⁾ als Diffusionsmedium. Das Diffusionsmedium M hat also das verhältnismässig hohe Molekulargewicht MG_M von 885; die diffundierenden Substanzen S besitzen Molekulargewichte MG_S zwischen 254 und 3430. Wir studieren die Abhängigkeit der Diffusionskoeffizienten D (abgekürzt D-Werte) von MG_S und wir wählen dabei die Substanzen S so, dass in 3 Fällen

$$MG_M < MG_S, \quad (1)$$

in weiteren 3 Fällen

$$MG_M > MG_S \quad (2)$$

und in einem Fall (auf 3⁰/₁₀₀ genau)

$$MG_M = MG_S. \quad (3)$$

¹⁾ Einige der hier mitgeteilten Überlegungen und Resultate sind bereits in der Doktorarbeit von R. JEANNERET, Diss. phil. II, Basel 1958, enthalten.

²⁾ Um die Kontinuität mit früheren Untersuchungen^{3) 4)} zu wahren, verwenden wir für die Versuche in Wirklichkeit reinstes Mandelöl. Da aber Mandelöl im wesentlichen aus Triolein besteht (siehe z. B. A. GRÜN & W. HALDEN, Analyse der Fette und Wachse, Berlin 1929, Bd. 2, S. 241), dürfen wir das Diffusionsmedium wohl als Triolein bezeichnen.

³⁾ R. JEANNERET & F. GRÜN, Helv. 41, 1304 (1958).

⁴⁾ R. JEANNERET & F. GRÜN, Helv. 41, 2156 (1958).