

## 194. Methode zur Bestimmung der spezifischen Radioaktivität der C-Atome von Carbonsäuren beim SCHMIDT'schen Abbau

Kurze Mitteilung

von O. Brenner-Holzach und F. Leuthardt

(27. IX. 65)

Bei  $^{14}\text{C}$ -markierten Carbonsäuren können die einzelnen C-Atome sukzessive durch wiederholten SCHMIDT'schen Abbau nach PHARES [1] als  $\text{CO}_2$  abgespalten werden. Das letztere wird gewöhnlich als Bariumcarbonat gefällt und als solches gezählt. Im Verlauf einer Untersuchung über die Bildung der Seitenkette bei Pterinen des Drosopierintypus [2] spalteten wir das 2. und 3. C-Atom der Seitenkette des Drosopierins durch KUHN-ROTH-Oxydation (Modifikation GARBERS u. Mitarb. [3]) als Essigsäure ab und bestimmten die spezifische Aktivität der beiden C-Atome durch Abbau nach PHARES. Dabei wurde das gebildete  $\text{CO}_2$  in NaOH aufgefangen und als Bariumcarbonat gefällt. Ein aliquoter Teil des Bariumcarbonats wurde in einem üblichen WARBURG-Manometergefässchen durch Einkippen von Säure zersetzt. Das radioaktive  $\text{CO}_2$  wurde in Hyamin, das im Einsatz des Gefässchens enthalten war, absorbiert und im Szintillationszähler gemessen. Diese Methode ergab bei Kontrollversuchen mit Acetat-[1- $^{14}\text{C}$ ] und Acetat-[2- $^{14}\text{C}$ ] immer zu geringe Ausbeuten. Bei unseren Versuchen zur Verbesserung der Methode sind wir zu folgendem Verfahren gelangt: Das  $\text{CO}_2$ , das beim SCHMIDT'schen Abbau entsteht, wird in 0,5 N Natronlauge aufgefangen. In einem aliquoten Teil der Lösung wird das  $\text{CO}_2$  manometrisch im WARBURG-Apparat bestimmt. Ein anderer aliquoter Teil wird in eine CONWAY-Schale [4] übergeführt, deren innerer Raum Cyclohexylamin zur Absorption des  $\text{CO}_2$  enthält, das durch Zusatz von Zitronensäure freigesetzt wird. Das Cyclohexylamin kann direkt dem Szintillationsgemisch zugesetzt werden.

Die Tabelle zeigt Beispiele von Abbauprobungen nach der angegebenen Methode mit Acetat-[1- $^{14}\text{C}$ ], Acetat-[2- $^{14}\text{C}$ ] und Essigsäure-[1- $^{14}\text{C}$ ].

| Ausgangsmaterial                 |          | $^{14}\text{C}$ O <sub>2</sub> |            |                   |              |            |        |
|----------------------------------|----------|--------------------------------|------------|-------------------|--------------|------------|--------|
| abgebaute Subst.                 | Menge/ml | Akt./ml                        | spez. Akt. | Menge/0,1 ml NaOH | Akt./ml NaOH | spez. Akt. | Fehler |
|                                  | mg       | DpM                            | DpM/Mol    | mg                | DpM          | DpM/Mol    | %      |
| Acetat-[1- $^{14}\text{C}$ ]     |          |                                | 106        | 0,380             | 8935         | 103        | 2,7    |
| Acetat-[2- $^{14}\text{C}$ ]     |          |                                | 135        | 0,300             | 9494         | 139        | 3,2    |
| Essigsäure-[1- $^{14}\text{C}$ ] | 1,055    | 812                            | 46         | 0,311             | 3329         | 47         | 1,8    |

**Experimentelles.** - 1. *Quantitative Bestimmung des  $^{14}\text{C}$ O<sub>2</sub>*: 0,1 oder 0,2 ml der 0,5 N NaOH, in welcher beim PHARES'schen Abbau das entstehende  $\text{CO}_2$  aufgefangen worden war, wurden mit CARLSBERG-Pipetten in die WARBURG-Gefässe gegeben, die soviel Wasser enthielten, dass das Gesamtvolumen im Hauptraum 1,5 ml betrug. Das  $\text{CO}_2$  wurde durch Zukippen von 0,7 ml 0,1 N  $\text{H}_3\text{PO}_4$  aus dem Anhang freigesetzt. Die Messung erfolgte in 3-4 Parallelansätzen. Von den er-

haltenen Gasvolumina wurde ein Blindwert von 10 mm<sup>3</sup> subtrahiert, wenn 0,1 ml NaOH-Lösung, und 20 mm<sup>3</sup>, wenn 0,2 ml verwendet worden waren. Diese Werte wurden als Mittelwert verschiedener Leerbestimmungen im PHARES-Abbau erhalten.

2. *Messung der Radioaktivität des* [<sup>14</sup>C]O<sub>2</sub>: 3 Parallelansätze von je 1 ml des im PHARES-Abbau erhaltenen [<sup>14</sup>C]O<sub>2</sub> in 0,5 N NaOH wurden in den Aussenraum von CONWAY-Schalen pipettiert. Der Innenraum enthielt 0,5 ml Cyclohexylamin. Zur Freisetzung des [<sup>14</sup>C]O<sub>2</sub> aus der Natronlauge wurden 1,0 ml 3 N Zitronensäure auf die entgegengesetzte Seite des Aussenraumes gegeben, wobei durch kleine Barrieren von wasserfreiem Lanolin zwischen der Lauge und der Säure ein vorzeitiges Ineinanderfliessen der beiden Lösungen verhindert wurde. Nach Schliessen des Deckels mit wasserfreiem Lanolin konnte das [<sup>14</sup>C]O<sub>2</sub> freigesetzt und durch langsames Hin- und Herkippen der Schalen auf einem speziellen Schüttelapparat während einiger Stunden in das Cyclohexylamin übergeführt werden. Zur Radioaktivitätsmessung wurde die Gesamtmenge des Cyclohexylamins herauspipettiert, und die Schale zweimal mit 0,25 ml Cyclohexylamin und viermal mit 0,5 ml Methanol nachgewaschen. Nach Zugabe von 10 ml Toluol-Szintillator (POPOP+PPO) sind die Proben zur Zählung im Szintillationszähler bereit.

DEM SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit. Fräulein V. SPRENGER half in verdankenswerter Weise bei der Durchführung der Versuche.

Biochemisches Institut der Universität Zürich

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. F. PHARES, Arch. Biochemistry Biophysics *33*, 173 (1951).
- [2] O. BRENNER-HOLZACH & F. LEUTHARDT, Helv. *48*, 1569 (1965).
- [3] C. F. GARBERS, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. *37*, 1336 (1954).
- [4] E. J. CONWAY & E. O'MALLEY, Biochem. J. *36*, 655 (1942).

## 195. Die Reaktion von O-Methylcaprolactimäther mit Carbonsäurechloriden

von B. Stoll und W. Griehl

(19. VII. 65)

Die Reaktion von Iminoäthern mit Säurechloriden ist schon lange Zeit bekannt. Bereits WHEELER [1] erhielt mit Carbonsäurechloriden aus N-substituierten Iminoäthern die N-Acylderivate der entsprechenden Säureamide und aus nicht substituierten Iminoäthern die N-acylierten Iminoäther. BARBER [2] isolierte bei der Umsetzung von Sulfonsäurechlorid mit Iminoäthern den als Zwischenstufe auftretenden N-sulfonylierten Iminoäther neben dem entsprechenden N-sulfonylierten Säureamid.

Im Gegensatz dazu geben SEHRING & KONZ [3] an, dass Lactimäther bei dieser Reaktion die O-Acylderivate des Lactams ergeben.

Bei dem Versuch, diese letztere Reaktion auf O-Methylcaprolactimäther (I) anzuwenden, erhielten wir auch bei sorgfältiger Einhaltung der von SEHRING & KONZ angegebenen Reaktionsbedingungen keine O-Acylderivate, sondern – in Übereinstimmung mit den früheren Arbeiten von WHEELER und BARBER – nur entsprechende N-Acylactame. Mit Hilfe dieser Reaktion haben wir eine Reihe von zum Teil noch nicht beschriebenen N-Acylcaprolactamen hergestellt, wobei die Ausbeuten meist sehr gut waren.