

# Versuche zur Darstellung hochmolekularer Pharmazeutika, 1. Mitt.:

Synthese, Reaktionen und  $^{14}\text{C}$ -Markierung eines  
Acetylsalicylsäurestärkeesters

Von

**K. Kratzl\*** und **E. Kaufmann**

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 27. Februar 1961)

Um an Pharmazeutika eine Depotwirkung zu erzielen, wurden diese an hochmolekulare Träger hauptvalenzartig gebunden. In dieser Arbeit wurde Acetylsalicylsäure mit Stärke verestert. Die Darstellung dieser neuen Körpertypen wird beschrieben, und eine Methode zur Markierung der Carboxylgruppe des Stärkeesters mit  $^{14}\text{C}$  wurde ausgearbeitet. Durch Anwendung der Tosylierung und Jodierungsmethode konnte festgestellt werden, daß die Säuregruppen überwiegend an den C-6-Stellungen der Glucoseeinheiten der Stärke gebunden sind.

Depotwirkung an Pharmazeutika wird auf verschiedenen Wegen zu erreichen versucht. Sei es, daß man das niedermolekulare Pharmakon verändert, sei es, daß man dieses an hochmolekulare Träger neben- oder hauptvalenzmäßig bindet.

Im ersten Fall wurde z. B. die Bildung von Klathraten herangezogen (Polyvinylpyrrolidon oder Dextrane, wobei in Mischlösung bei gleichzeitiger Injektion des Trägers und des Agens gearbeitet wurde), oder es kamen direkt Einschlußverbindungen zur Anwendung. Gleichzeitig mit unseren ersten Arbeiten hatte *H. Jatzkewitz*<sup>1,2</sup>, angeregt durch die Beobachtung von *W. Block*<sup>3</sup>, daß ein Teil von injiziertem Mezcalin in Leberproteine eingebaut wird, diese Base mit Polyvinylpyrrolidon gekuppelt. Um das Amin haupt-

\* Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. *A. v. Wacek*, zum 65. Geburtstag in aufrichtiger Dankbarkeit gewidmet.

<sup>1</sup> *H. Jatzkewitz*, Z. Physiol. Chem. **297**, 149 (1954).

<sup>2</sup> *H. Jatzkewitz*, Z. Naturforsch. **10b**, 27 (1955).

<sup>3</sup> *W. Block* und *K. Block*, Angew. Chem. **64**, 166 (1952).

valenzmäßig an den hochmolekularen Körper zu binden, wurde ein Mischpolymerisat aus N-Vinylpyrrolidon und Acrylsäure hergestellt und Mezcalin peptidartig über Glycyl-1-leucyl-Mezcalin daran gebunden. Es wurde festgestellt, daß aus diesem Verband das Mezcalin nur langsam herausgespalten wird. Seine Freisetzung erfolgt gleichmäßig über Tage, im Harn waren nach 17 Tagen noch Mezcalinspuren nachweisbar, während dieses allein schon nach 20 Stdn. ausgeschieden wird. Ein Mischpolymerisat von Polyvinylpyrrolidon und Mezcalin wurde nicht abgebaut. Die Aminosäuren scheinen eine physiologische Brücke zu bilden. Bei den hochmolekularen Verbindungen waren aber wesentlich höhere Toxizitäten zu bemerken als beim Mezcalin selbst.

Heute finden Austauschharze, die 2-Phenyl-tert. Butylamingruppen eingebaut haben, in der Therapie der Fettsucht Verwendung. Sie tragen die Gruppe des Amphetamins in der C-Kette und sollen weit weniger störende Nebenwirkungen haben. Es sind aber noch andere hauptvalenzmäßige Bindungen denkbar, die physiologisch gespalten werden können. So ist z. B. der Nicotinsäureester der Stärke<sup>4</sup> beschrieben. Im Organismus wird er zu Nicotinsäure und Trigonellin abgebaut.

Wir versuchten, die Stärke mit der Acetylsalicylsäure (dem Analgeticum Aspirin, Aspro etc.) durch Esterbindung zu verknüpfen. Es wurde vorerst die Acetylsalicylsäure deshalb verwendet, weil ihr Stoffwechsel und Abbau im Organismus genau untersucht und bekannt ist.

Die Stärke zeigt bezüglich der Reaktionen mit den niedermolekularen Kohlehydraten weitgehende Ähnlichkeit, doch ist sie weniger reaktionsfähig, so daß kaum alle 3 Hydroxylgruppen der Glucoseeinheiten zur Reaktion gebracht werden können. Bei der Veresterung bzw. Alkylierung der Stärke treten eine bis zwei Gruppen pro Glucoseinheit ein, meistens stellt sich überhaupt kein ganzzahliges Verhältnis ein. Wegen der besseren Reaktionsfähigkeit und der Löslichkeit des Endproduktes verwendeten wir lösliche Stärke (*Amylum solubile*, Merck) für unsere Versuche. Nach vielen Vorversuchen wurde die Methode von *W. Ciusa*<sup>5</sup>, der Benzoate der Kartoffelstärke herstellte, für den Umsatz von Acetylsalicylsäurechlorid mit *Amylum solubile* in alkalischer Suspension angewendet. Es treten 0,7 Salicylsäuregruppen pro Glucoseinheit ein. Bei der Anwendung von Pyridin<sup>6</sup> erhielten wir höher acylierte, aber unreinere Produkte.

#### Eigenschaften des Acetylsalicylsäureesters der Stärke

Der Acetylsalicylsäureester der Stärke ist unlöslich in Wasser, Äther oder Aceton, teilweise löslich in Chloroform, vollständig in Dimethylformamid. Mit Jod tritt keine Blaufärbung ein. Gegen Säure ist er

<sup>4</sup> *C. Dumacert, D. Picard und A. el Ouachi*, Compt. rend. soc. biol. **146**, 470 (1952).

<sup>5</sup> *W. Ciusa und G. Adamo*, Ann. chim. [Roma] **40**, 295 (1950); **41**, 733 (1951).

<sup>6</sup> *W. S. Reich und P. Trpinac*, Bull. Soc. Chim. France [5] **4**, 1921 (1937).

relativ stabil. 5stdg. Kochen mit 5 n Schwefelsäure bewirkte weder Abspaltung der Salicylsäuregruppen noch Verzuckerung der Stärke. Gegen Alkali ist der Ester labil: 5 n KOH verseift ihn schon bei Zimmertemperatur.

*Gehaltsbestimmung:* Um den Gehalt an Wirkungsgruppen (Acetylsalicylsäure) zu bestimmen, wurden folgende Reaktionen überprüft:

1. Acetylsalicylsäuregruppenbestimmung durch Acetylbestimmung stößt auf Schwierigkeiten, da auch Salicylsäure abgespalten wird.

2. Bromometrische Titration (Bestimmung der Salicylsäure nach alkal. Verseifung) lieferte gute Resultate.

3. Messung der Radioaktivität. Die Darstellung der markierten Produkte wird später beschrieben. Die Resultate sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1 \*

Bestimmungsart	$C_6H_4(OCOCH_3)CO-$	Veresterte OH-Gruppen pro Glucoseeinheit
Acetylgruppenbestimmung	52,6 %	0,85
Bromometr. Titration	49,8 %	0,80
$OCH_3$ (o-Methoxybenzoesäure)	49,0 % (analog)	0,80
Radioaktive Messung	42,5 %	0,71

\* Im Analogiefall der Veresterung mit o-Methoxybenzoesäure wurde durch Methoxylbestimmung und Abzug des Blindwertes der Stärke ein Wirkungsgruppengehalt von 49,0% (entsprechend 0,80 veresterten OH-Gruppen pro Glucoseinheit) gefunden.

### Bestimmung der Veresterungsstellen

Die freien primären Hydroxylgruppen in der Stärke sind verhältnismäßig einfach zu bestimmen. Nach Hess<sup>7</sup> wird das Stärkederivat mit p-Toluolsulfonsäurechlorid in Pyridin verestert, wobei die noch freien Hydroxylgruppen gebunden werden (Produkt A). In der zweiten Stufe werden durch Kalium- oder Natriumjodid nur die primären Hydroxylgruppen, die mit Tosylgruppen verestert worden waren, abgespalten und durch Jod ersetzt (Produkt B). A und B weisen verschiedene Schwefelgehalte auf. Die Differenz des S-Gehaltes ist am größten, wenn A sämtliche C-6-Stellen tosyliert hatte, d. h. wenn vor der Tosylierung sämtliche primären Hydroxylgruppen der Stärke frei waren.

Aus Analogiegründen wurde folgende Annahme gemacht. Am schnellsten werden die primären Hydroxyle bei der Veresterung reagieren, so daß die sek. Hydroxylgruppen erst dann verestert werden, wenn jene weitgehend besetzt sind.

Nach J. F. Carson<sup>8</sup> werden bei Amylum solubile 1,7 bis 2 Tosylgruppen pro Glucoseeinheit gebunden, wobei die primären Hydroxylgruppen vollständig tosyliert und anschließend durch Jod ersetzt werden.

<sup>7</sup> K. Hess und R. Pflieger, Ann. Chem. **507**, 48 (1933).

<sup>8</sup> J. F. Carson und W. D. Maclay, J. Amer. Chem. Soc. **70**, 2220 (1948).

Der Acetylsalicylsäurestärkeester enthält ungefähr eine Estergruppe pro 1,5 Glucoseeinheiten. Wenn sich die Acetylsalicylsäureester-Gruppen vorwiegend an der C 6-Stelle der Glucoseeinheiten befinden, ist nur mehr jede dritte primäre Hydroxylgruppe der Stärke frei. Bei der Tosylierung dieses Produktes reagieren die sekundären Hydroxylgruppen der Stärke normal, da sie ja noch frei sind, von den primären Hydroxylgruppen wird aber nur jede dritte tosyliert. Es werden daher auch entsprechend weniger Tosylgruppen durch NaJ abgespalten und die Differenz des S-Gehaltes der beiden Produkte ist geringer als bei analogen Versuchen mit *Amylum solubile*.

Zum Vergleich sei schon hier das erst in der folgenden Mitteilung zu beschreibende Guajacolstärkecarbonat, das aus Guajacol, Phosgen und Stärke zu erhalten ist, erwähnt. Es enthält zwei veresterte Hydroxylgruppen pro Glucoseeinheit. Wenn man annimmt, daß die primäre Hydroxylgruppe bevorzugt verestert wird, so sind hier fast alle C 6-Stellen besetzt, und außerdem ist jeweils noch eine sek. Hydroxylgruppe mit Guajacolkohlensäure verestert. Bei der Tosylierung dieses Stärkederivates ist zu erwarten, daß überhaupt sehr wenige Tosylgruppen gebunden werden. Der S-Gehalt tosylierter und jodierter Stärkeprodukte muß gleich bleiben.

Tabelle 2

Stärkeart	% S nach Tosylierung		% S nach Jodierung	
	Exper.	Ber.	Exper.	Ber.
<i>Amylum solubile</i>	14,24	15,25	9,20	9,45
Acetylsalicylsäureester	8,90	9,27 *	6,80	7,10
Guajacolstärkecarbonat	1,74	—	1,43	—

\* Falls sämtliche Acetylsalicylsäurereste an primäre OH-Gruppen gebunden sind.

Bei *Amylum solubile* treten laut Tab. 2 1,7 Gruppen ein (Tosylierung). Aus der Differenz sieht man, daß sämtliche primäre Hydroxylgruppen tosyliert waren und diese mit Natriumjodid abgespalten wurden.

Am Acetylsalicylsäureester zeigte sich die Richtigkeit der Annahme, daß fast sämtliche Salicylsäurereste an primärem Hydroxyl gebunden sind.

Auch die Analyse des Guajacolstärkecarbonats bestätigt, daß pro Glucose je 2 Guajacylreste eingetreten sind (Methoxylbestimmung). Der S-Gehalt ändert sich kaum bei der Natriumjodidbehandlung der Tosylester. Das bedeutet, daß auch hier fast alle C-6-Stellen mit Guajacolkohlensäurechlorid verestert sind.

## Synthese des Carboxyl-<sup>14</sup>C markierten Acetylsalicylsäure-stärkeesters

Um an dem Ester pharmakologische Untersuchungen durchzuführen (z. B. Hydrolyse und Abbau im tierischen Organismus zu untersuchen), ist die Markierung sehr zweckmäßig, da viel kleinere Mengen eingesetzt werden können. Es war notwendig, die Kern-Carboxylgruppe zu markieren, da die markierte Acetylgruppe im Körper rasch abgespalten wird.

Die Synthese ging über eine carboxylmarkierte Salicylsäure<sup>9</sup>. Diese wurde auf folgendem Weg hergestellt: Nach *F. Weygand*<sup>10</sup> wurde das o-Bromanisol durch Grignardierung und Carboxylierung in die o-Methoxybenzoesäure übergeführt und diese mit HJ entmethyliert. Die Ausbeute konnte auf 95% erhöht werden. Gleichzeitig mit dieser Arbeit wurde von *H. Medenwald*<sup>11</sup> eine Synthese dieser Säure und deren Acetylierung beschrieben.

Aus 613,7 mg Bariumcarbonat (Aktivität 1,91 mC =  $4,24 \cdot 10^8$  Zerfälle pro Minute) wurden 450 mg Salicylsäure erhalten. Die Entmethylierung lieferte 97%, die Acetylierung 61% und die Darstellung des Salicylsäurechlorids 92% Ausbeute. Durch Umsetzung mit Amylum solubile in KOH wurden schließlich 244 mg des Stärkeesters mit einer Aktivität von  $2,3 \cdot 10^5$  Zerfällen pro mg und pro Min. erhalten, wobei 110 mg Acetylsalicylsäure mit  $5,38 \cdot 10^5$  Zerfällen/mg, min. rückgewonnen werden konnten.

### Experimenteller Teil

#### A. Stärkeester

1. *Acetylsalicylsäureester*: 0,5 g Amylum solubile (Merck) wurden in 7 ccm kochendem Wasser quellen gelassen und nach dem Erkalten mit 6,3 ccm 10proz. KOH vermischt. Es entstand eine klare Lösung, die auf  $-5^\circ$  gekühlt wurde. Die ebenfalls gekühlte Lösung von 2 g Acetylsalicylsäurechlorid in 3 ccm  $\text{CHCl}_3$  wurde unter fortwährendem Rühren und Kühlen in 2 Anteilen dazugegeben. Es wurde so lange gerührt, bis sich die 2 Phasen klar voneinander trennten, dann über Nacht stehen gelassen und der Stärkeester mit Äther aus der Chloroformphase ausgefällt. Zur Reinigung wurde die Substanz 12 Stdn. mit Benzol und 5 Stdn. mit Wasser extrahiert, dann in heißem  $\text{CHCl}_3$  gelöst, wieder mit Äther ausgefällt, nochmals mit  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen und dann getrocknet.

Gef.: 13,90% Acetyl, d. h. 58,10% Acetylsalicylsäure bzw. 52,6% als Säurerest berechnet (siehe Tab. 1).

2. *o-Methoxybenzoesäure-stärkeester*: Ansatz: 5 g Amylum solubile in 70 ccm Wasser, 22 g o-Methoxybenzoylchlorid in 30 ccm  $\text{CHCl}_3$ , 36 ccm 10proz. KOH. Die Durchführung der Reaktion erfolgte wie bei der Acetylsalicylsäure.

Gef.: 11,7%  $\text{OCH}_3$  (Blindwert der Stärke 1,2%  $\text{CH}_3\text{O}$ ), das entspricht 0,8 veresterten OH-Gruppen.

<sup>9</sup> P. K. Smith, *Nucleonics* **7**, 48 (1950).

<sup>10</sup> F. Weygand, A. Becher, D. Feldmann und O. A. Grobtkinsky, *Z. Physiol. Chem.* **292**, 138 (1953).

<sup>11</sup> H. Medenwald und G. L. Haberland, *Z. Physiol. Chem.* **306**, 229 (1957).

B. *Salicylsäurebestimmung im Stärkeester*<sup>12</sup>

0,02 g Stärkeester der Acetylsalicylsäure wurden mit 2 ccm 5 n NaOH 10 Stdn. stehen gelassen, dann mit 10 ccm n/10 KBrO<sub>3</sub>-Lösung und etwas festem KBr und 5 ccm 4 n HCl versetzt, das Gefäß gut verschlossen und umgeschwenkt. Es bildete sich ein weißer flockiger Niederschlag der bromierten Salicylsäure. 1 Mol Salicylsäure verbraucht 3 Mol Br<sub>2</sub>. Nach 10 Min. wurde etwas KJ zugefügt und mit Thiosulfat bis zur völligen Entfärbung titriert (Resultate s. Tab. 1).

Zur Bestimmung der Veresterungsstellen in den Stärkederivaten

A. *Amylum solubile*

a) *Tosylierung*: 8,2 g Stärke wurde in 6 ccm Wasser und 6 ccm Pyridin gelöst, dann weitere 80 ccm Pyridin zugefügt und die Lösungsmittel abdestilliert, bis der Siedepunkt des trockenen Pyridins erreicht war (115°). Schließlich gab man unter guter Eis-Kochsalzkühlung 41,2 g p-Toluolsulfosäurechlorid dazu und schüttelte die Mischung 48 Std. bei Zimmertemp. Dann wurde das Reaktionsprodukt auf Eiswasser gegossen; der Stärkeester fiel als amorphes Pulver aus und konnte nach 1 Stde. abgesaugt werden. Um überschüssige Toluolsulfosäure und Pyridin aus dem Produkt zu entfernen, wurde es 12 Stdn. mit Wasser extrahiert, dann mehrmals in CHCl<sub>3</sub> gelöst und mit Alkohol ausgefällt.

Gef.: S 14,24%.

b) *Jodierung*: Eine Mischung von 0,75 g p-Toluolsulfosäureester der lösl. Stärke, 75 ccm Acetonylaceton (trocken) und 4 g NaJ, im Vak. bei 100° getrocknet, wurde 4 Stdn. bei 110° unter Feuchtigkeitsausschluß gerührt. Dann wurde in Eiswasser gegossen, nach 5 Stdn. abgesaugt, in CHCl<sub>3</sub> gelöst und mit Äther gefällt.

Gef.: S 9,20%.

B. *Acetylsalicylsäureester der Stärke*

a) *Tosylierung*: 1,35 g Stärkeester wurden in 20 ccm Pyridin gelöst (Aktivieren durch Wasser war hier überflüssig, da sich der Stärkeester glatt in Pyridin löste). 15 g p-Toluolsulfosäurechlorid wurden unter guter Kühlung zugefügt, es entstand eine klare Lösung. Diese ließ man 48 Stdn. bei Zimmertemp. stehen und versetzte schließlich mit 30 ccm Eiswasser. Das tosylierte Produkt fiel aus, wurde getrocknet, in Chloroform gelöst, mit Äther gefällt, das Lösen und Fällen mehrmals wiederholt, um niedermolekulare Beimengungen zu entfernen.

Gef.: S 8,90%.

b) *Jodierung*: Ansatz: 70 ccm trockenes Acetonylaceton, 0,75 g tosylierter Acetylsalicylsäureester der Stärke und 4 g getrocknetes NaJ. Die Reaktion wurde wie bei *Amylum solubile* durchgeführt. Jedoch erfolgte die Reinigung nicht durch Extraktion mit Wasser, denn es zeigte sich, daß durch öfteres Lösen in Chloroform und Ausfällen mit Äther ebenfalls reine Produkte erhalten werden.

Gef.: S 6,90%.

<sup>12</sup> I. M. Kolthoff, Maßanalyse. Berlin 1927, 455.

C. *Guajacolkohlenensäureester der Stärke*

a) *Tosylierung*: 1,7 g Stärkeester wurden in 21 ccm trockenem Pyridin gelöst (eine vorherige Aktivierung der Stärke ist auch hier nicht notwendig). Unter Eis-Kochsalz-Kühlung wurden 36 g p-Toluolsulfosäurechlorid dazugegeben. Die Mischung blieb 3 Tage bei Zimmertemp. stehen, dann versetzte man sie mit 30 ccm Eiswasser und filtrierte den tosylierten Stärkeester ab. Der Ester wurde mehrmals in Chloroform gelöst und mit Alkohol wieder ausgefällt.

Gef.: S 1,74%.

b) *Jodierung*: Ansatz: 0,75 g tosylierter Stärkeester, 75 ccm trockenes Acetylacetone, 4,0 g NaJ, bei 100° im Vak. getrocknet. Die Mischung wurde 4 Stdn. unter Feuchtigkeitsausschluß bei 110° gerührt, über Nacht stehen gelassen, auf Eis gegossen und nach 24 Stdn. abgesaugt. Die Reinigung erfolgte durch öfteres Lösen in  $\text{CHCl}_3$  und Ausfällen mit Alkohol.

Gef.: S 1,43%.

Synthese des Carboxyl- $^{14}\text{C}$ -acetylsalicylsäurestärkeesters*o*-Methoxybenzoesäure

1. *Grignardierung von o-Bromanisol*: Ansatz: 2,4 ccm o-Bromanisol (3,6 g), 15 ccm absol. Äther, 0,4 g Magnesium.

2. *Carboxylierung*: Ansatz: 10 ccm Grignardlösung, 613,7 mg  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ , Aktivität: 1,91 mC =  $4,24 \cdot 10^8$  Zerfälle/Min.

Die Grignardlösung wurde in einen trockenen Kolben pipettiert, der vorher mit Grignardlösung ausgespült worden war, und im Manifold carboxyliert: Die äther. Grignardlösung wurde mit flüssiger Luft eingefroren, und die ganze Apparatur auf  $10^{-3}$  Torr evakuiert. Nun wurde das Bariumcarbonat mit Schwefelsäure zersetzt und die Reaktionsmischung auf eine Temp. von  $-72^\circ$  gebracht (Kühlung mit Trockeneis-Alkohol). Während der nun folgenden Carboxylierung wurde die Reaktionsmischung mittels eines Magnetrührers kräftig durchmengt. Nach 20 Min. wurde das Kühlbad entfernt und die Mischung langsam auf Raumtemp. erwärmt. Dann wurde mit einigen Eisstückchen und 6 ccm 2 n Schwefelsäure zersetzt. Diese Lösung wurde mit 20 ccm Äther extrahiert, dem Äther mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung die Säure entzogen, die Bicarbonatlösung angesäuert und ausgeäthert. Die äther. Lösung, die etwa 50 ccm betrug, wurde über Natriumsulfat getrocknet und der Äther abgedampft. Ausb. 450 mg = 95% d. Th.

Anschließend wurde die Säure mit 329 mg inaktiven Produktes verdünnt.

*Salicylsäure*

779 mg *o*-Methoxybenzoesäure wurden mit 4 ccm HJ ( $d$  1,70) in einem kleinen Schliffkolben mit Kühler 30 Min. auf  $120^\circ$  gehalten; nach 5 Min. fiel ein dicker Brei von Salicylsäure aus, der mit einem kleinen Glasstab umgerührt wurde. Dann erhitzte man weitere 10 Min. auf  $130^\circ$ , gab nach dem Abkühlen 6 ccm Wasser dazu; nach 4 Stdn. wurde die Salicylsäure abgesaugt und über  $\text{CaCl}_2$  getrocknet. Ausb. 688 mg = 97,4% d. Th.

*Acetylsalicylsäure*

688 mg Salicylsäure wurden mit 0,9 ccm Essigsäureanhydrid und Spuren Schwefelsäure 1 Stde. bei Zimmertemp. stehen gelassen, dann 30 Min. auf  $50^\circ$  erwärmt, dann 7 ccm Wasser zugefügt. Über Nacht kristallisierte die Acetylsalicylsäure im Eiskasten aus. Sie wurde in 2,5 ccm einer Mischung

von Essigsäure:Wasser = 1:1 umkristallisiert. Ausb. an reiner Säure: 541 mg = 61% d. Th.

#### *Acetylsalicylsäurechlorid*

541 mg Acetylsalicylsäure wurden mit 2 ccm Thionylchlorid und 2 ccm Benzol (absol.) 6 Stdn. auf 75° erwärmt, dann das Benzol und Thionylchlorid im Vak. entfernt, mehrmals Benzol zugefügt und wieder abgedampft. Das Säurechlorid wurde bei 0,1 mm Druck bei 80° überdestilliert. Ausb.: 548 mg = 92% d. Th.

#### *Acetylsalicylsäure-stärkeester*

115 mg Stärke (lösl.) wurden in 1,7 ccm Wasser gelöst, 1,5 ccm 10proz. KOH dazugegeben. 520 mg Acetylsalicylsäurechlorid wurden in 2 ccm absol. Chloroform gelöst, beide Lösungen mit Eis-Kochsalz gekühlt und die Chloroformlösung in 2 Anteilen zur Stärkelösung gegeben. Die Mischung wurde 20 Min. in einer Schliffprouvette geschüttelt, über Nacht stehen gelassen, die überstehende wäßrige Lösung abpipettiert und der Stärkeester mit Äther ausgefällt. Zur Reinigung wurde er 3mal in  $\text{CHCl}_3$  gelöst und mit Äther wieder ausgefällt. Ausb. 244 mg, Aktivität 229 000 Zerfälle/mg, Min.

#### Rückgewinnung der Acetylsalicylsäure

Alle bei der Aufarbeitung des Stärkeesters anfallenden Lösungen wurden in einem kleinen Scheidetrichter mit 5 ccm 2 n Schwefelsäure versetzt, ausgeäthert, der Ätherlösung mit wäßrigem  $\text{NaHCO}_3$  die Säure entzogen, die wäßrige Lösung wieder angesäuert und ausgeäthert. Die Ätherlösung wurde über Natriumsulfat getrocknet, nach Abdampfen des Äthers wurde die zurückbleibende Substanz in 1,5 ccm Eisessig-Wasser 1:1 gelöst und über Nacht auskristallisieren lassen. 110 mg Acetylsalicylsäure wurden rückgewonnen. Aktivität: 538 000 Zerfälle/mg, Min.

Den österreichischen Stickstoffwerken danken wir auch an dieser Stelle für die Unterstützung, die sie dieser Arbeit angedeihen ließen.

Nähere Angaben siehe Dissertation *E. Kaufmann*, Universität Wien 1957.