

## Versuche zur Darstellung hochmolekularer Pharmazeutika, 3. Mitt.:

Synthese und Markierung des Vanillinsäure-diäthylamid-  
stärkecarbonates und verwandter Verbindungen

Von

**K. Kratzl\*, H. Bertl und E. Kaufmann**

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Wien

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 27. Februar 1961)

Um das Analeptikum Vanillinsäurediäthylamid (Vandid) in eine Depotform überzuführen wurde dieses mit Phosgen umgesetzt und das Vandidkohlenstoffchlorid mit aktivierter Stärke (Amylum solubile, Merck) zur Reaktion gebracht. Es treten zwei aromatische Reste pro Glukoseeinheit ein. Zwecks pharmakologischer Untersuchung wurde Carboxyl-1-<sup>14</sup>C-Vandid und das entsprechende markierte Vandidstärkecarbonat hergestellt. Eine pharmakologische Voruntersuchung, durchgeführt mit *O. Kraupp* und *H. Bernheimer* (pharmakologisches Institut der Universität Wien), zeigte, daß nach intramuskulärer Injektion die niedermolekulare Wirksubstanz sehr schnell, das hochmolekulare Produkt aber fast kaum in das Blut übergeht.

Die pharmakologische Untersuchung des Acetylsalicylsäureesters<sup>1</sup> hatte gezeigt, daß die Esterbindung in vivo kaum aufgespalten wird. Es war das Ziel dieser Arbeit, das Analeptikum Vanillinsäurediäthylamid<sup>2</sup> (Vandid der Österr. Stickstoffwerke, VI) in die Stärke so einzubauen, daß womöglich eine Depotwirkung erreicht wird. Nach den bisherigen Erfahrungen scheiden Äther- oder auch Arylcarbonsäureester-

---

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

<sup>1</sup> *K. Kratzl, E. Kaufmann, O. Kraupp* und *H. Stormann*, Mh. Chem. **92**, 379 (1961).

<sup>2</sup> *K. Kratzl* und *E. Kvasnicka*, Mh. Chem. **83**, 18 (1952).

bindungen aus. Es wurde deshalb die in vitro besonders labile Kohlen-säureesterbindung verwendet.

Kohlensäureester der Stärke sind unseres Wissens unbekannt. Auch die Literatur über den Umsatz niedermolekularer Polyhydroxylverbindungen zu Kohlensäureestern ist nicht reichhaltig.

Durch Umsatz mit dem Kohlensäurechlorid des Guajacols in Chloroform bei Zusatz von Pyridin gelang es *P. Kaufmann*<sup>3</sup>, Glucose, Saccharose, Arabinose, Fructose usw. zu verestern. Diese Ester haben als geruch- und geschmacklose Pharmazeutika Bedeutung. Sie werden im Darm-saft gespalten. *C. F. Allpress*<sup>4</sup> stellte das Carbäthoxyglycolat und ähnliche Verbindungen aus Glycerin und Fructose her.

Gemäß diesen Erfahrungen wurden einige niedermolekulare Modelle hergestellt. So stellten wir das Carbäthoxyvandid, das wir schon früher über die Carbäthoxyvanillinsäure<sup>2</sup> synthetisierten, durch Umsetzung von Vandid mit Chlorkohlensäureester her. Wir synthetisierten auch den doppelten Kohlensäureester des Vandids (Vandidcarbonat) aus Vandid-kohlensäurechlorid (VII) und Vandid. Die Reindarstellung der Schlüsselsubstanz VII gelang erst, als die bei der Synthese üblichen Waschungen mit Alkali (zur Entfernung nicht umgesetzten Phenols etc.) weggelassen wurden. Das daneben entstandene Vandidcarbonat konnte durch Umkristallisation entfernt werden. Vandid-kohlensäurechlorid (VII) wurde mit Glycol, Glycerin, Mannit und Glucose umgesetzt. Die Reaktionen erfolgten in Pyridin und lieferten nicht immer kristalline Produkte. Auch mit hochmolekularen Trägern wurden Modellversuche durchgeführt. So lieferte Guajacol-kohlensäurechlorid bei der Umsetzung mit aktivierter Stärke in Pyridin ein Guajacol-stärkederivat mit zwei veresterten Hydroxylgruppen pro Glucoseeinheit<sup>5</sup>.

#### Vanillinsäurediäthylamid-stärkecarbonat (Vandidstärkecarbonat) VIII

Die bei der Acetylsalicylsäure verwendete Methode des Umsatzes des Säurechlorids mit Kalilauge und Stärke war hier wegen der Empfindlichkeit des Kohlensäurechlorides nicht verwendbar. Die Synthese erfolgte daher in Pyridin<sup>6, 7</sup>.

Die Stärke mußte vorher aktiviert werden. Das geschah durch Erhitzen mit Pyridin-H<sub>2</sub>O-Gemischen und allmähliches Entfernen des Wassers. In die H<sub>2</sub>O-freie Pyridinlösung der Stärke, die teilweise als Gel vorhanden war, trug man langsam bei tiefer Temperatur das Vandid-

<sup>3</sup> *P. Kaufmann*, D. B. P. 935 668 (1955).

<sup>4</sup> *C. F. Allpress* und *W. Maw*, J. Chem. Soc. [London] **125**, 2259 (1924).

<sup>5</sup> *K. Kratzl* und *E. Kaufmann* Mh. Chem. **92**, 371 (1961).

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

<sup>7</sup> *J. F. Carson* und *W. D. Maclay*, J. Amer. Chem. Soc. **70**, 2220 (1948).

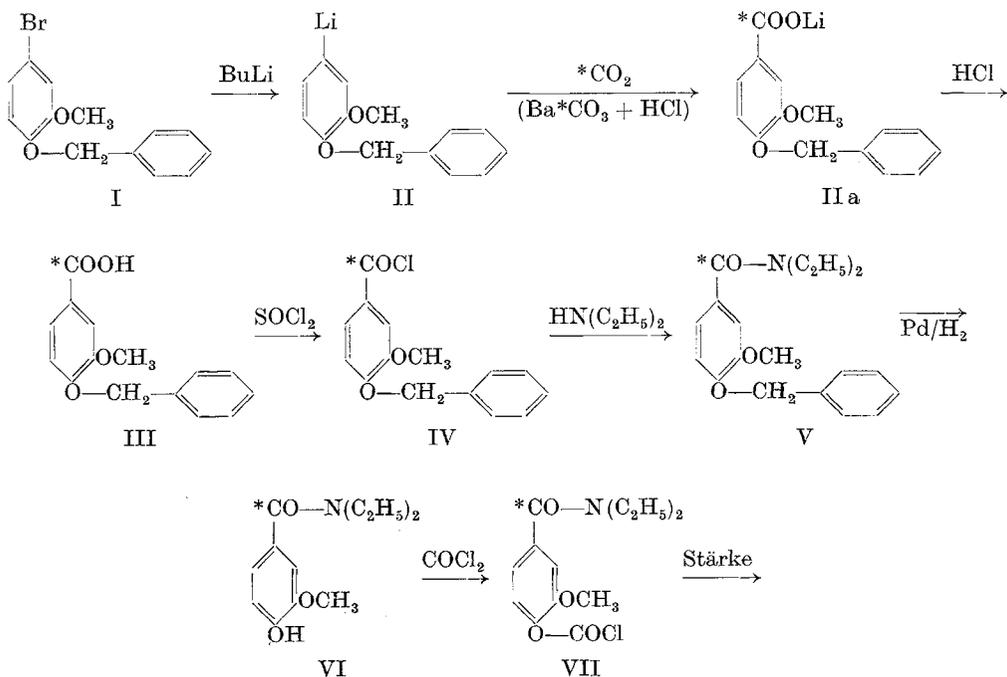
kohlensäurechlorid ein (3 Mol). Das Reaktionsprodukt hatte etwa zwei veresterte Hydroxylgruppen je Glucoseeinheit. Es gab keine Blaufärbung mit Jod, löste sich nicht in  $H_2O$ , leicht in Alkohol und Chloroform und teilweise in Benzol und Aceton. Bei längerem Stehen mit Alkali bei Zimmertemperatur tritt Verseifung des Carbonats ein.

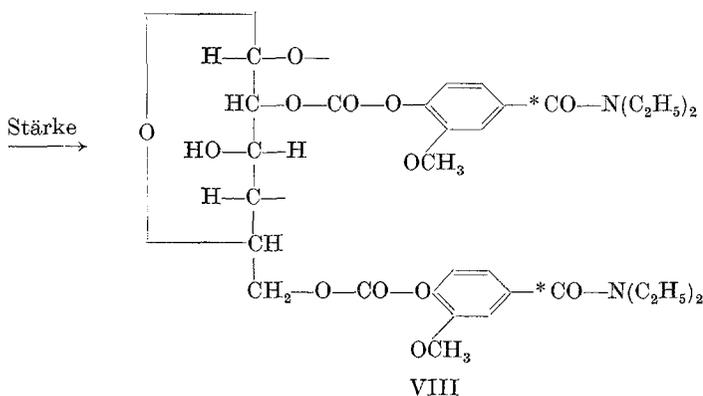
#### Carboxyl- $^{14}C$ -Vanillinsäurediäthylamid-stärkecarbonat

Mit unmarkiertem Produkt lassen sich kaum mehr Stoffwechseluntersuchungen durchführen, da die Wirkungsdosis des Vandids — 2 mg pro kg — recht gering ist. Es wurde deshalb die Synthese des aktiven Derivates durchgeführt.

4-Bromguajacolbenzyläther (I) wurde mit Butyllithium in die Lithiumverbindung II übergeführt und carboxyliert<sup>8</sup>. Die Benzylvanillinsäure III wurde über das Säurechlorid IV durch Umsatz mit Diäthylamin in den Vandidbenzyläther V übergeführt und der Benzylrest abhydriert. Das erhaltene carboxylmarkierte Vandid VI wurde mit Phosgen in Toluol in das Vandidkohlensäurechlorid VII umgewandelt und dieses in Pyridin mit aktivierter Stärke (Amylum solubile, Merck) zur Reaktion gebracht. Die Formel des Vandid-stärkecarbonates VIII

Formelübersicht zur Synthese des mit  $^{14}C$  markierten Vandidstärkecarbonates





ist noch nicht endgültig sichergestellt, es soll nur angedeutet sein, daß zwei Vandidcarbonatgruppen pro Glucoseinheit der Stärke eintreten, eine davon in 6-Stellung (Analogie zum Salicylderivat<sup>5</sup>). Bei dieser Synthese konnten große Mengen aktives Vandid zurückgewonnen werden (siehe exper. Teil).

#### Zur pharmakologischen Untersuchung\*

Der Stoffwechsel der Acetylsalicylsäure<sup>1</sup> ist eingehend studiert worden, über den des Vanillinsäurediäthylamids (Vandid) liegen noch keinerlei Untersuchungen vor. Der Übertritt der Aktivität nach intramuskulärer Injektion in die Blutbahn und später in den Harn gibt noch keine Auskunft, ob hierbei Vandid oder bereits Umwandlungsprodukte transportiert wurden.

Es wurden daher einige qualitative Vorversuche unternommen, um den biologischen Abbau des Vandids einigermaßen kennenzulernen. Zuerst wurde der totale Durchgang im menschlichen Körper untersucht: Vandid wurde per os gegeben und im Harn die Stoffwechselprodukte qualitativ bestimmt. Dabei stellte sich heraus, daß das Vandid gepaart ausgeschieden wird. Namentlich die Versuche mit aktivem Vandid (Kaninchen, intramuskulär) zeigten nach einer papierchromatographischen Auftrennung der Harnextrakte, die nach einer sauren Hydrolyse gewonnen wurden, auf den Chromatogrammen<sup>9</sup> nur eine starke Aktivität an der Stelle des Vandids. Im begrenzten Umfang ist eine Verseifung der Amidgruppe durch Hydrolyse möglich. Nach oraler Zufuhr erleidet das Vandid, wie die Harnuntersuchungen zeigten, wenig Veränderungen im Körper. Bei der intramuskulären Injektion ist der Weg zur Blutbahn

<sup>8</sup> K. Kratzl und G. Billek, *Holzforsch.* 7, 66 (1953).

<sup>9</sup> Dissertation H. Bertl, Universität Wien 1959.

\* Herrn Doz. DDr. O. Kraupp und Dr. H. Bernheimer danken wir bestens für die Mitwirkung bei diesen Versuchen.

kurz und daher kaum eine Veränderung des Vandid-moleküls zu erwarten. Tatsächlich zeigten einige Vorversuche mit Vandidstärke in Solketal-Wasser bei der Einwirkung von Rinderplasma (38° C) kaum eine Veränderung bzw. Aufspaltung. Die nach intramuskulärer Injektion von markierter Vandid-stärke an Kaninchen im Plasma erhaltenen Aktivitäten sind deshalb aller Wahrscheinlichkeit nach überwiegend dem Vandid selbst zuzuordnen.

Aus den an mehreren Kaninchen analog wie beim aktiven Acetylsalicylsäureester der Stärke vorgenommenen Parallelversuchen<sup>1, 9</sup> mit Vandid-stärkecarbonat und Vandid in Solketal konnte geschlossen werden, daß das Vandid selbst sehr schnell im Plasma (nach 1 Stunde) und auch im Harn (hier gepaart) schon nach 3 Stunden aufscheint, wogegen das Vandid-stärkecarbonat ähnlich dem Acetylsalicylsäureester der Stärke kaum aufgespalten und resorbiert wird. Auch die in vitro so leicht hydrolysierbare Carbonatesterbrücke ist im physiologischen Milieu weitgehend stabil.

### Experimenteller Teil

*Äthoxyacetyl-Vandid*: 3 g Vandid wurden in 15 ml Pyridin gelöst, unter Eiskühlung 1,5 g Äthoxyessigsäurechlorid zugefügt, nach 5 Stdn. mit eiskalter 2n HCl versetzt, und anschließend mit Äther extrahiert. Nach Ausschütteln der äther. Lösung mit n/10 NaOH und H<sub>2</sub>O wurde mit Natriumsulfat getrocknet. Der nach Abdampfen des Äthers verbleibende Rückstand wurde destilliert (Sdp. 160°/0,001 Torr). Ausb.: 1 g.

C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>. Ber. „CH<sub>3</sub>O“ 21,06. Gef. „CH<sub>3</sub>O“ 20,75.

Bessere Ausbeuten wurden erhalten, als statt Vandid dessen Na-Verbindung mit Äthoxyessigsäurechlorid umgesetzt wurde.

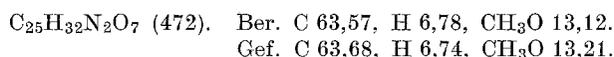
*Chlorkohlensäureester des Vandid*: 2 g Vandid und 1,3 ml Chinolin wurden in ca. 10 ml Benzol gelöst und unter guter Kühlung in 12,5 ml 15proz. benzol. Phosgenlösung eingetragen. Die Mischung wurde über Nacht stehengelassen, dann mit HCl gewaschen und über CaCl<sub>2</sub> getrocknet. Das Benzol wurde im Vak. verdampft. Aus Benzin (60—90°) wurde der Rückstand umkristallisiert. Ausb.: 1,8 g, Schmp.: 98—99° C.

C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>ClNO<sub>4</sub> (285). Ber. C 54,74, H 5,61, CH<sub>3</sub>O 10,89.  
Gef. C 54,78, H 5,56, CH<sub>3</sub>O 10,88.

*Carbäthoxyvandid (I. Methode)*: Zu 10 ml gut gekühltem Pyridin wurden 0,8 g Äthanol und 1 g Vandidkohlensäurechlorid zugefügt. Nach 24 Stdn. wurde die Mischung in 6n HCl unter Eiskühlung eingetragen, ausgeäthert, mit verd. NaOH und Wasser gewaschen. Nach Abdestillieren des Äthers wurde der Rückstand aus Diisopropyläther umkristallisiert. Prismenförmige Kristalle. Schmp.: 106° C. Ausb.: 0,9 g.

*Carbäthoxyvandid (II. Methode)*: 2 g Vandid, 1,4 g Chlorameisensäure-äthylester und 10 ml Pyridin wurden wie oben umgesetzt und aufgearbeitet. Die Substanz erwies sich durch Mischschmelzpunkt identisch mit der oben beschriebenen. Ausb.: 2,2 g.

*Vandidcarbonat*: 1 g Vandid wurde in 10 ml Pyridin gelöst und unter guter Kühlung 1 g Vandidkohlenensäurechlorid zugefügt. Nach 12 Stdn. wurde mit verd., eiskalter HCl versetzt, ausgeäthert und mit verd. NaOH ausgeschüttelt. Der Äther wurde verdampft, das zurückbleibende Produkt in Benzol aufgenommen und solange Petroläther zugegeben, bis eine schwache Trübung entstand. Über Nacht fielen beim Stehen im Eiskasten aus der Lösung nadelförmige Kristalle aus. Schmp.: 144° C, Ausb.: 1,2 g.



### Stärkederivate

#### a) Aliphatische Kohlenensäureester

*Stärke-äthylcarbonat*: 5 g Amylum solubile wurden in 70 ml Wasser gelöst, mit 63 ml 10proz. KOH versetzt und mit Eis-Kochsalz gekühlt. Unter starkem Rühren wurden 10 g in 20 ml  $\text{CHCl}_3$  gelöster Chlorameisensäure-äthylester langsam zugefügt. Nach einer halben Stunde wurde mit 1 n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  angesäuert und über Nacht stehengelassen. Die überstehende wäßrige Phase ließ sich nun leicht abdekantieren. Die breiige Chloroformschicht wurde mit Äther versetzt, worauf der Stärkeester als amorphe Masse ausfiel. Der Ester wurde 24 Stdn. mit Benzol extrahiert, mit Chloroform nochmals gequollen und wieder mit Äther ausgefällt.

Analyse: 25,3%  $\text{OC}_2\text{H}_5$ , das entspricht 1,5 veresterten OH-Gruppen pro Glucoseeinheit.

#### b) Phenolische Kohlenensäureester

*Guajacol-stärkecarbonat*: 2,5 g Stärke wurden in 5 ml Wasser und 5 ml Pyridin bis zur klaren Lösung erhitzt. Dann wurden weitere 50 ml Pyridin zugefügt und ständig Lösungsmittel abdestilliert, bis die übergelende Flüssigkeit einen Siedepunkt von 115° C aufwies. Die milchig trübe Mischung wurde nun auf 0° C abgekühlt und 10 g Guajacolkohlenensäurechlorid langsam zugefügt. Die Mischung wurde 48 Stdn. bei Zimmertemp. geschüttelt. Es entstand eine viskose Masse, die einige ungelöste Anteile enthielt, denn der Ester löst sich nur teilweise während der Reaktion in Pyridin. Zwischen den beiden Anteilen besteht aber sonst kein Unterschied, man kann sie zusammen aufarbeiten. Zur gesamten Reaktionsmischung wurde Wasser zugefügt, worauf der Stärkeester als bräunliche, amorphe Masse ausfiel. Diese wurde abgesaugt und in Chloroform gelöst. Nach Zusatz von Alkohol fiel die Substanz wieder aus. Dieser Vorgang mußte 4—5mal wiederholt werden, um den Stärkeester völlig von Guajacolcarbonat und anderen niedermolekularen Nebenprodukten zu befreien. Schließlich wurde die Substanz noch kurz mit Wasser und Benzol gewaschen und dann getrocknet. Ausb.: 8 g.

Analyse: Ber. 13,60%  $\text{OCH}_3$ . Gef. 13,33%  $\text{OCH}_3$ . Die berechneten Werte beziehen sich auf zwei veresterte OH-Gruppen pro Glucoseeinheit.

*Vandid-stärkecarbonat*: 0,5 g Stärke wurden mit 1 ml Pyridin und 1 ml Wasser bis zur klaren Lösung erwärmt und zu dieser Lösung 20 ml Pyridin zugefügt. Nun wurde solange Pyridin abdestilliert, bis der Sdp. des trockenen Pyridins erreicht war (115° C). Das Volumen der Mischung, in der die Stärke teilweise kolloid gelöst, teilweise als Gallerte ausgefallen war, betrug ca. 10 ml. Zu der auf —5° C gekühlten Reaktionsmischung wurden 4,0 g Vandidcarbonylchlorid gegeben. Die Suspension wurde 48 Stdn. bei Zimmertemp.

geschüttelt und anschließend in 20 ml Eiswasser gegossen. Der Stärkeester fiel als feste Substanz aus und konnte nach 3 Stdn. abgesaugt werden. Der Niederschlag wurde nun mehrmals in Chloroform gelöst und mit Äther ausgefällt, um auf diese Weise niedermolekulare Beimengungen zu entfernen. Schließlich löste man den Ester noch in Alkohol und fällte mit Wasser aus. Dieser Vorgang wurde wiederholt. Ausb.: 2,2 g (45% d. Th.).

Analyse: Ber. 4,35% N, 9,63% OCH<sub>3</sub>. Gef. 4,55% N, 9,82% OCH<sub>3</sub>. Die ber. Werte beziehen sich auf zwei veresterte OH-Gruppen pro Glucoseeinheit.

#### Synthese des Carboxyl-<sup>14</sup>C-Vanillinsäurediäthylamid-stärke-carbonats

##### <sup>14</sup>C-Benzylvanillinsäure<sup>8</sup>

2,93 g 4-Brom-guajacolbenzyläther, 662,7 mg BaCO<sub>3</sub>, welches 5,3 mg Ba\*CO<sub>3</sub> mit 1 μC enthält. Ausb.: 710 mg (35% d. Th.), Schmp.: 165–168° (diese wurden für die weitere Synthese mit 700 mg inaktivem Produkt verdünnt).

##### Carboxyl-<sup>14</sup>C-benzyl-Vandid

1,4 g <sup>14</sup>C-Benzylvanillinsäurechlorid<sup>8</sup> wurden in 10 ml absol. CHCl<sub>3</sub> gelöst und unter Kühlung (–10° C) in die Lösung von 3 ml absol. Diäthylamin in 10 ml absol. CHCl<sub>3</sub> eingetragen. Hierauf wurde die Mischung in einem Scheidetrichter zu 25 ml verd. HCl gegossen und kräftig geschüttelt. Dies wurde wiederholt und dann die Chloroformschicht einmal mit 10 ml destill. H<sub>2</sub>O gewaschen. Nach Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurde das Chloroform abgedampft; es hinterließ ein klares Öl, welches bald kristallisierte. Ausb.: 1,4 g Benzylvandid (82% d. Th., bezogen auf Benzylvanillinsäure); Schmp.: 84–85° C.

##### Entbenzylierung zum markierten Vandid

1,4 g Benzylvandid wurden in rund 20 ml Alkohol gelöst. In ein Hydriergefäß wurden 0,5 g Pd-Tierkohlekatalysator in einer Suspension von ungefähr 15 ml Alkohol gegeben, die Apparatur mit H<sub>2</sub> gefüllt und dann die Lösung des Amids zugetropft. Es wurde so lange hydriert, bis der theor. Verbrauch (ungefähr 110 ml) erreicht war. Die Lösung wurde vom Katalysator abfiltriert und der Alkohol abgedampft. Es hinterließ ein farbloses Öl, welches beim Stehen kristallisierte; dabei wurde viel Alkohol okkludiert, der hartnäckig beim Trocknen anhaftete. Ausb. an unreinem Vandid 0,9 g (90% d. Th.)

Das schwach rosa gefärbte Vandid wurde durch Destillation bei 150° C/0,001 mm gereinigt. Ausb.: 0,7 g (70% d. Th.)

Aktivitätsbestimmung: 610 000 dpm/mg.

##### Vandid-kohlensäurechlorid

0,7 g Vandid wurde in einer Mischung von 100 ml absol. Benzol und 2 ml absol. Pyridin aufgelöst und zu 10 ml 30proz. Lösung von Phosgen in absol. Toluol unter guter Kühlung (–10° C) und dauerndem Rühren (Magnetrührer) im Laufe einer Stunde zugetropft. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf Zimmertemp. erwärmt und im Scheidetrichter mit eisgekühlter 1n HCl gewaschen. Dabei wurde der Niederschlag von Pyridinhydrochlorid aufgelöst. Die Benzolphase wurde abgetrennt, mit kaltem dest. H<sub>2</sub>O gewaschen und mit CaCl<sub>2</sub> getrocknet. Das Benzol wurde im Vak. abdestilliert; es blieb ein farbloses Öl zurück, welches nach einigen Stunden kristallisierte.

Das Öl wurde in ca. 30 ml absol. Petroläther (60—70° C) 15 Min. gekocht, wobei es sich bis auf geringe Reste Vandidcarbonat löste. Die Petrolätherlösung wurde noch heiß in einen Erlenmeyerkolben abgegossen und angeimpft. Bald schieden sich schöne, glitzernde Kristalle ab; die Lösung wurde noch über Nacht in den Eiskasten gestellt. Ausb.: 0,75 g Vandidkohlen-säurechlorid (87% d. Th.), Schmp.: 99° C.

#### *Vandid-stärkecarbonat*

0,1 g Stärke wurde aktiviert, indem man sie mit 1 ml Pyridin und 1 ml Wasser bis zur klaren Lösung erwärmte. Dann wurden 15 ml Pyridin hinzugefügt und solange Pyridin—Wasser abdestilliert, bis der Siedepunkt des trockenen Pyridins erreicht wurde (115° C; 7,5 ml). In die etwas kolloid trübe Lösung wurden nun 0,75 g Vandidkohlen-säurechlorid eingetragen und 48 Stdn. bei Zimmertemp. geschüttelt. Die Lösung wurde mit Eiswasser versetzt und der Ester mit Äther gefällt. Die wäßrige Phase und das Ätherfiltrat wurden auf Vandid aufgearbeitet. Der hochmolekulare Niederschlag wurde in Alkohol gelöst und wieder mit Wasser gefällt. Dieser Vorgang wurde noch ein zweites Mal wiederholt. Der Ester fiel hierbei so fein verteilt aus, daß er mittels einer Zentrifuge abgetrennt werden mußte. Ausb.: 0,2 g (23% d. Th.), Aktivität: 380 000 dpm/mg.

#### *Rückgewinnung von Carboxyl-<sup>14</sup>C-Vandid*

Folgende Substanzen bzw. Filtrate wurden auf Vandid aufgearbeitet: Vandid-carbonat, Ätherfiltrat und zwei wäßrig-alkohol. Filtrate aus der Synthese von Vandid-stärkecarbonat.

Zuerst wurde der Äther abgedampft; der Rückstand, die wäßrigen Phasen und das Vandid-carbonat wurden mit 5 proz. NaOH 2 Stdn. auf dem Wasserbad erwärmt und dann über Nacht stehengelassen. Die Lösung wurde im Vak. ungefähr auf die Hälfte eingengt. Dann wurde mit konz. HCl auf pH 3 angesäuert und mit Äther einige Male ausgeschüttelt. Beim Trocknen der äther. Auszüge über Nacht schieden sich einige große Kristalle Vandid ab, die in trockenem Chloroform aufgenommen wurden. Nach Abdestillieren des Chloroform-Äthergemisches hinterblieb ein farbloses Öl, das aus Ligroin (90—120° C) umkristallisiert wurde. Ausb.: 0,38 g, Schmp.: 95° C.

#### Zu den pharmakologischen Untersuchungen

Über den Abbau des Vanillinkerns ist sehr viel bekannt<sup>9</sup>. Harnanalysen: Es wurde im Blindversuch unhydrolysierter und hydrolysierter Harn untersucht. Einem Mann wurden 0,16 g Vandid als Tagesdosis gegeben und der Harn (900 ml) gesammelt. Die Hydrolyse des Harns wurde mit HCl bei pH 1—2 1 Stde. bei 100° durchgeführt. Der Harn wurde anschließend mit Äther und Essigester extrahiert. Die Lösungsmittel wurden abgedampft, die Rückstände in Äthanol aufgenommen und papierchromatographisch absteigend mit einem Gemisch aus Alkohol/Wasser/Ammoniak (80:16:4) aufgetrennt. Es wurden Vandid und Vanillinsäure gefunden. Vandid selbst gab unter den obigen Hydrolysebedingungen ebenfalls etwas Vanillinsäure. In der zweidimensionalen papierchromatographischen Auftrennung der Extrakte nach *M. D. Armstrong*<sup>10</sup> wurde für die erste Dimension ein

<sup>10</sup> *M. D. Armstrong, K. N. F. Shaw und P. E. Wall, J. Biol. Chem.* **218**, 293 (1956).

Gemisch aus Isopropylalkohol/Ammoniak/Wasser (8:1:1), für die zweite die organische Phase einer Mischung von Benzol/Propionsäure/Wasser (2:2:1) verwendet. Entwickelt wurde beim eindimensionalen Verfahren mit *O. Folin-N. Denis*-Reagens<sup>11</sup>, beim zweidimensionalen mit diazotiertem p-Nitroanilin. Die Erfahrung von *O. Kraupp*<sup>12</sup> sowie von *S. L. Tompsett*<sup>13</sup> konnte bestätigt werden.

Versuche mit aktivem Vandid am Kaninchen: Es wurden einem männlichen Kaninchen (3,3 kg) 15 mg Vandid in 2 ml Solketal (Glycerin-acetonid) intramuskulär injiziert. Die Gesamtdosis war  $9,15 \cdot 10^6$  dpm. Nach dem Exitus, der schon nach 4 Stdn. erfolgte, wurde der Harn gesammelt (10 ml). Pro ml wurden  $3,4 \cdot 10^3$  Zerfälle pro Minute gemessen. Dieser Harn wurde mit HCl auf pH 2 gebracht,  $\frac{1}{2}$  Stde. auf 100° erwärmt und wie oben aufgearbeitet. Das eindimensionale Chromatogramm der Extrakte wurde mit dem Geigerzähler abgetastet und zeigte folgendes Bild:

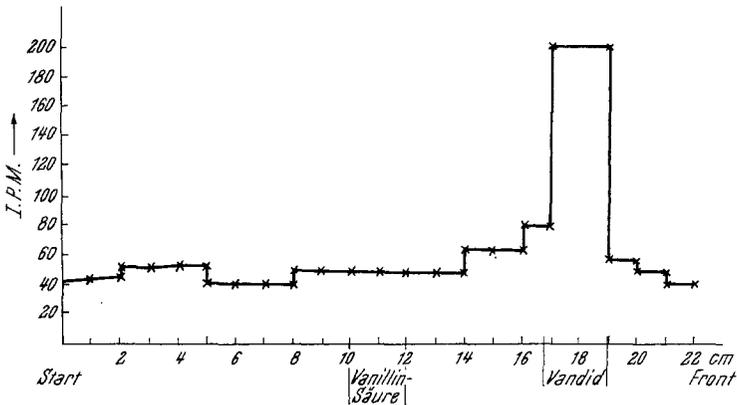


Abb. 1. Vandid-<sup>14</sup>C intramusk. Aktivität im hydrolysierten Harn (Papierchromatogramm)

Es wurde also nach der Hydrolyse Vandid als Hauptmenge gefunden. Über andere Versuche mit dem aktiven Vandid-stärkecarbonat, die analog dem Acetylsalicylstärkeester mit Kaninchen durchgeführt wurden, ist näheres exper. Material bei *H. Bertl*<sup>9</sup> zu finden.

Den Österreichischen Stickstoffwerken sei auch an dieser Stelle für die Förderung, die sie dieser Arbeit angedeihen ließen, gedankt.

<sup>11</sup> *O. Folin* und *E. Denis*, *J. Biol. Chem.* **12**, 239 (1912).

<sup>12</sup> *O. Kraupp*, *H. Stormann*, *H. Bernheimer* und *H. Obenaus*, *Wiener Klin. Wochenschrift* **37**, 2 (1959).

<sup>13</sup> *S. L. Tompsett*, *Clin. chim. Acta* [Amsterdam] **3**, 149 (1958). Ref. in *Z. analyt. Chem.* **166**, 233 (1959).