

aus dem Essigsäure-Ansatz 2 gewonnenen Präparat ohne Depression.

Tetrahydrobenzylacetat — Paraformaldehyd in Eisessig

87 g *Tetrahydrobenzylacetat* (Sdp.₁₀ 80,5—81°, V.Z. 335,2, OH-Z. 12,9, S.Z. 0,4, J.Z. 151,7; dargestellt gemäß Essigsäure-Ansatz 2) läßt man unter lebhaftem Rühren in eine Lösung von 21 g *Paraformaldehyd* in 102 g *Eisessig* und 1,5 ccm konz. *Schweifelsäure* langsam eintropfen. Gleichzeitig wird von außen allmählich erwärmt. Bei 85° setzt unter Rotfärbung eine lebhafte Reaktion ein, die sich durch einen schnellen Temperaturanstieg auf 109° kundtut. Nach dem Abklingen der exothermen Reaktion wird 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Der überschüssige Eisessig wird abdestilliert und der Rückstand wie üblich aufgearbeitet. Nach dreimaliger Fraktionierung liegen, unter Fortlassung unbedeutender Zwischenläufe, folgende Fraktionen vor:

	Ausb.g	V.Z.	OH-Z.	S.Z.	J.Z.
1. Sdp. ₁₂	62°	4,1	15,0	10,5	1,0 192,4
2. "	77—78,5°	2,9	301,2	11,5	0,5 102,7
3. "	115°	6,4	270,7	18,9	0,1 0,7
4. Sdp. ₁₄	123—127°	16,6	300,0	25,6	0,8 4,4
5. Sdp. ₁₃	130—132°	7,1	324,6	34,7	0,2 13,0
6. "	132—135°	3,2	342,8	47,4	0,3 23,5
7. "	135—139°	3,5	357,4	31,1	0,6 39,0
8. Sdp. _{0,1}	130—178°	21,5	—	—	—
9. Rückstand	10,0	—	—	—	—

Die Fraktion 3 läßt sich durch Verseifen mit methylalkohol. Kalilauge in eine kristallisierte Substanz vom

Schmp. 202—204° überführen; der Mischschmelzpunkt mit Hexahydrophthalanol ist ohne Depression.

Cyclohexen — Methylendiacetat

In eine Mischung von 82 g *Cyclohexen* und 153 g *Methylendiacetat* (Sdp.₁₂ 64—64,8°) läßt man unter Röhren 10 ccm konz. *Schweifelsäure* eintropfen, wobei schwache Erwärmung eintritt. Das Gemisch wird unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die Temperatur der Flüssigkeit steigt dabei im Verlaufe von 2 Stdn. von 98 auf 118°. Das braune Reaktionsgemisch wird wie üblich aufgearbeitet. Nach zweimaliger Destillation liegt folgendes Ergebnis vor:

1. Sdp. ₁₁	57—59°	5,5g	farbl.fl.	Geruch nach Methylen-diacetat, V.Z. 464,7
2. "	59°	19,8g	"	Geruch nach Methylen-diacetat, V.Z. 414,6
3. "	60—62°	4,5g	"	Geruch nach Cyclohexylacetat, V.Z. 266,4
4. Sdp. ₁₂	74—81°	2,8g	"	V.Z. 296,9
5. "	81—118°	8,0g	"	V.Z. 311,9
6. "	118°	8,0g	"	V.Z. 315,2
7. "	121—128°	6,5g	"	V.Z. 342,5
8. Sdp. ₁₃	128—129°	16,4g	"	V.Z. 450,0
9. "	129—130°	2,5g	"	V.Z. 409,0
10. Rückstand		8,0g, braunes Oel		

Zu etwa den gleichen Fraktionen gelangt man, wenn man für diese Reaktion Eisessig als Lösungsmittel verwendet.

An dieser Stelle danken wir Fr. Gertrud Merkei für die Ausführung der chemischen Kennzahlanalysen.

Über die biologische Prüfung von Verbindungen mit Vitamin-K-Wirksamkeit

Von ERICH VINCKE

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg

(Z. Naturforsch. 1, 458—460 [1946]; eingegangen am 27. Mai 1946)

In einer früheren Arbeit¹ war ein Verfahren angegeben worden, mittels dessen es relativ leicht möglich ist, Substanzen auf eine etwaige Vitamin-K-Wirksamkeit zu prüfen. Es wurde hierzu die Tatsache benutzt, daß die durch Salze Seltener Erden (z. B. Neodynamchlorid) bei intravenöser Applikation bewirkte Verminderung des Prothrombingehaltes des Blutes durch vitamin-K-wirksame Verbindungen aufgehoben bzw. gehemmt wird. Ein derartiger Effekt kann leicht

¹ E. Vincke u. E. Schmidt, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 273, 39 [1942].

festgestellt werden durch Bestimmung des Prothrombingehaltes des Blutes nach Quick nach Applikation von Seltenern Erden allein und von Seltenern Erden + Vitamin K.

Als Vitamin-K-Präparat wurde damals das leicht wasserlösliche Vitamin K₅ [4-Amino-2-methyl-naphthol-(1)-Hydrochlorid (I)²] verwendet, über dessen vorzügliche klinische Eignung u. a. A. D. Emmett, O. Kamm und E. A. Sharp³ be-

² P. T. Sah u. W. Brüll, Ber. dtsch. chem. Ges. 74, 552 [1941].

³ J. biol. chem. 133, 285 [1940].



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Formel	I	II	III	IV	V
Verbindung	Vitamin K ₅ -rosafarbene Nadeln (aus Salzsäure) Schmp. 280°	Vitamin-K ₅ -N-essigsäureester weiße Nadeln Schmp. 209°	Vitamin-K ₅ -diessigsäureester weiße Nadeln Schmp. 194°	Vitamin-K ₅ -N-buttersäureester weiße Nadelchen Schmp. 156°	Vitamin-K ₅ -diphosphorsäureester Natriumsalz: amorphes Pulver (12,59% P)
Bruttoformel	C ₁₁ H ₁₂ ONCl	C ₁₃ H ₁₃ O ₂ N	C ₁₅ H ₁₅ O ₃ N	C ₁₅ H ₁₇ O ₂ N	C ₁₁ H ₁₃ O ₇ NP ₂
Mol.-Gew.	209,56	215,04	257,16	243,18	383,19

Tab. 1. Zusammenstellung der geprüften wirksamen Verbindungen.

richten. Wässrige Lösungen dieses Stoffes zersetzen sich jedoch an der Luft sehr schnell, was die Möglichkeit ihrer klinischen Anwendung erheblich beeinträchtigt. Diesen Nachteil der geringen Haltbarkeit weisen geeignete Ester des Vitamins K₅ nicht auf, so daß derartige Verbindungen leichter klinisch verwendet werden könnten. Dabei war jedoch noch die Frage zu prüfen, ob durch die Veresterung nicht etwa derart schwer spaltbare Derivate erhalten wurden, daß sich die Vitamin-K-Wirksamkeit verringerte.

Es zeigte sich, daß die beiden Essigsäureester und der Buttersäureester sehr gute Vitamin-K-Wirksamkeit besitzen.

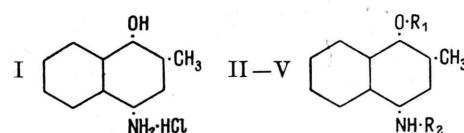
Die Prüfung des Diphosphorsäureesters ergab ebenfalls eine gute Wirksamkeit. Bei der Prüfung der Verträglichkeit dieses Derivates traten bei sehr hohen Dosen schwere, zum Tode der Versuchstiere führende Blutungen auf.

Die Erklärung für die Blutungen — und damit offenbar auch für den Tod der Tiere — dürfte darin liegen, daß bei der Aufspaltung des Esters große Mengen Phosphorsäure frei werden, die das Calcium des Blutes teilweise ausfällen und dadurch die Gerinnungsfähigkeit des Blutes hemmen bzw. aufheben. Diese Erscheinung ist von Phosphaten und Phosphorsäureestern bekannt⁴.

Die geschilderte Eigenschaft, die zunächst bei einem antihämorrhagisch wirkenden Vitamin paradox anmutet, dürfte für die Verwendbarkeit des genannten Phosphorsäureesters in der Humanmedizin kaum eine Rolle spielen, da die bei der Verträglichkeitsprüfung angewandten Dosen sehr hoch über den therapeutisch in Betracht kommenden liegen. Sie müßte jedoch in dem Falle beachtet werden, in dem beabsichtigt wird, solche

⁴ E. Starkenstein, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **77**, 45 [1914]; N. Abelles, Biochem. Z. **163**, 226 [1925].

Phosphorsäureester von vitamin-K-wirksamen Verbindungen in sehr hohen Dosen zu applizieren.



- II. R₁ = —H; R₂ = —OC·CH₃
 III. R₁ und R₂ = —OC·CH₂
 IV. R₁ = H, R₂ = —OC·[CH₂]₂·CH₃
 V. R₁ und R₂ = —PO₃H₂

Beschreibung der Versuche

Die untersuchten Verbindungen⁵ zeigt Tab. 1. Die Versuche wurden an gesunden, erwachsenen Kaninchen ausgeführt. Die Methodik war dieselbe wie in der früher veröffentlichten Arbeit¹. Da die Ester in Wasser schwerlöslich sind, wurden die benötigten Mengen in einigen ccm 25-proz. Urethanlösung⁶ (II, III) bzw. in einigen Tropfen 0,1-n. Natronlauge (IV) gelöst, worauf einige ccm physiol. Kochsalzlösung zugegeben wurden. V wurde als leicht lösliches Natriumsalz verwendet. Gewöhnlich wurde die 6 mg Vitamin K₅ entsprechende Menge/kg Körpergewicht intravenös entweder einmal oder mehrmals in einem Intervall von 2—46 Std. vor der Injektion des Neodymchlorids appliziert.

Als Beispiele sind die Ergebnisse für den Essigsäureester (II) und den Buttersäureester (IV) in Tab. 2 zusammengestellt; für die anderen Verbindungen — es wurden jeweils 3—5 Versuche ausgeführt — wird auf die Wiedergabe von Versuchsprotokollen verzichtet, da ihre Auswertung gleichartig verlief.

Lediglich beim Natriumsalz des Diphosphorsäureesters (V) trat in 2 von 4 Versuchen durch die Applikation des Neodymchlorids eine außerordentlich starke Verminderung des Prothrombingehaltes ein, so daß

⁵ Für die Überlassung der Verbindungen sind wir der Nordmarkwerke G.m.b.H., Uetersen (Holst.), zu Dank verpflichtet.

⁶ Die injizierte Menge Urethan war ohne Einfluß auf die Verlängerung der Gerinnungszeit durch Neodymchlorid (vergl. Tab. 2).

Versuchs-Nr.	Gewicht des Kaninchens in kg	Datum	mg Neodyn-chlorid/kg Körpergewicht i.v.	mg Vitamin-K ₃ -Derivat/kg Körpergewicht i.v.	Gerinnungszeit des Oxalatplasmas in Sek. nach Quick nach				
					0	30 min	1 h	2 h	4 h
1	3,0	2. 3. 1944	25	—	7	478	505	495	45
	3,3	14. 3. 1944	25	6,16 mg <i>N-Acetylester</i> 18 ^h u. 10 ^h vor Inj. d. NdCl ₃	7	150	171	90	37
2	3,2	4. 3. 1944	25	—	7	400	215	190	95
	3,0	16. 3. 1944	25	6,16 mg <i>N-Acetylester</i> 3 ^h vor Inj. d. NdCl ₃	11	80	69	59	19
3	3,2	3. 3. 1944	25	—	7	450	610	270	160
	3,1	15. 3. 1944	25	6,16 mg <i>N-Acetylester</i> 21 ^h u. 3 ^h vor Inj. d. NdCl ₃	7	180	168	137	37
4	2,00	10. 7. 1944	25	—	10	293	351	115	59
	2,40	19. 7. 1944	25	6,96 mg <i>N-Buttersäureester</i> 3 ^h vor Inj. d. NdCl ₃	9	111	132	107	—
5	2,35	13. 7. 1944	25	—	11	203	120	86	44
	2,60	25. 7. 1944	25	6,96 mg <i>N-Buttersäureester</i> 3 ^h vor Inj. d. NdCl ₃	9	117	102	65	50
6	2,40	6. 7. 1944	25	—	9	316	83	58	34
	2,60	7. 8. 1944	25	6,96 mg <i>N-Buttersäureester</i> 2 ^h vor Inj. d. NdCl ₃	9	48	70	38	21
7	2,30	26. 7. 1944	25	—	10	229	140	40	25
	2,35	8. 8. 1944	25	6,96 mg <i>N-Buttersäureester</i> 2 ^h vor Inj. d. NdCl ₃	9	98	78	51	26
8	2,80	27. 7. 1944	25	—	8	199	158	102	50
	2,80	8. 8. 1944	25	6,96 mg <i>N-Buttersäureester</i> 2 ^h vor Inj. d. NdCl ₃	8	133	97	76	57
9	3,4	20. 3. 1944	25	—	14	107	110	60	32
	3,5	29. 3. 1944	25	5 ccm Urethan-Lsg. (25-proz.) + 5 ccm physiol. NaCl-Lsg. 3 ^h vor Inj. d. NdCl ₃	10	89	55	65	66
10	3,2	23. 3. 1944	25	—	9	134	88	78	38
	3,1	30. 3. 1944	25	5 ccm Urethan-Lsg. (25-proz.) + 5 ccm physiol. NaCl-Lsg. 3 ^h vor Inj. d. NdCl ₃	11	119	141	70	35

Tab. 2. Versuchsprotokolle.

die Gerinnungszeit nach Quick im Maximum der Wirkung auf 38 bzw. 63 Min. anstieg. Es gelang zwar in diesen Fällen nicht, durch das injizierte Vitamin-K-Präparat einen entsprechenden Anstieg der Gerinnungszeit gegenüber dem Kontrollversuch zu verhindern, aber es erfolgte doch stets ein bedeutend schnelleres Absinken der Gerinnungszeit zur Norm als nach der Injektion von Neodynchlorid allein.

Prüfung der Verträglichkeit des Diphosphorsäureesters (V): 2 Kaninchen von 2,9 und 3,0 kg Gewicht

erhielten 100 bzw. 200 mg der Verbindung/kg Körpergewicht als 3-proz. Lösung in physiol. Kochsalzlösung i.v. injiziert. Bei beiden Tieren traten sehr starke Nachblutungen auf. Sie waren beide nach 19 Stdn. tot; das erste Tier offenbar infolge des starken Blutverlustes, da sich bei der Sektion keine makroskopisch sichtbaren Organveränderungen fanden. Das zweite Tier wies schwere Blutungen in den Dickdarm auf; andere makroskopisch sichtbare Organveränderungen fanden sich nicht.