

Tabelle 2. Absorptionsmaxima der Komplexe  $[\text{Cu}(\text{N,N-Diäthyl-en})_2]\text{X}_2$ 

| X              | In Wasser              |                         | In verd. EtOH <sup>a)</sup> |                         | In konz. EtOH <sup>b)</sup> |                         |
|----------------|------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|
|                | $\lambda_{\text{max}}$ | $\epsilon_{\text{max}}$ | $\lambda_{\text{max}}$      | $\epsilon_{\text{max}}$ | $\lambda_{\text{max}}$      | $\epsilon_{\text{max}}$ |
| $\text{ClO}_4$ | 590 m $\mu$            | 150                     | 590 m $\mu$                 | 150                     | 560 m $\mu$                 | 228                     |
| $\text{NO}_3$  | 590                    | 150                     | 590                         | 150                     | 580                         | 237                     |
| Cl             | 590                    | 150                     | 595                         | 150                     | 645                         | 260                     |
| Br             | 590                    | 150                     | 595                         | 150                     | 660                         | 302                     |

a) 1:1 (Vol.). b) &gt;99,5%.

Die Daten der Tabelle 2 weisen darauf hin, daß in Wasser und verdünntem Äthanol die Anionen aller Komplexe fast vollkommen dissoziiert sind, während in konzentriertem Äthanol die Zwischenwirkung bzw. Assoziation zwischen Komplexkation und Anion verstärkt wird, und zwar in der Reihenfolge  $\text{ClO}_4 < \text{NO}_3 < \text{Cl} < \text{Br}$ , die der Reihenfolge der Koordinationsfähigkeiten dieser Anionen analog ist. Ähnliche, doch kleinere Unterschiede der  $\lambda_{\text{max}}$ -Werte wurden auch im Falle der  $[\text{Cu en}_2]\text{X}_2$  in Äthanol beobachtet (vgl. Tabelle 3)<sup>5)</sup>.

Tabelle 3. Absorptionsmaxima der Komplexe  $[\text{Cu en}_2]\text{X}_2$ 

| X                                               | $\text{ClO}_4$ | $\text{NO}_3$ | Cl          |
|-------------------------------------------------|----------------|---------------|-------------|
| $\lambda_{\text{max}}$ in Wasser                | 550            | 550           | 550 m $\mu$ |
| $\lambda_{\text{max}}$ in Äthanol <sup>a)</sup> | 545            | 545           | 570 m $\mu$ |

a) &gt;99,5%.

Chemisches Laboratorium, Aichi-Gakugei-Universität, Okazaki, Japan, und Chemisches Laboratorium, Abteilung der Allgemeinen Erziehung, Universität zu Nagoya, Mizuho, Nagoya, Japan

HEIJIRÔ OJIMA und KÔZÔ SONE

Eingegangen am 16. September 1963

<sup>1)</sup> PFEIFFER, P., u. H. GLASER: J. prakt. Chem. **151**, 134 (1938).  
<sup>2)</sup> HEIN, F., u. W. RITTERSDORF: Z. anorg. u. allgem. Chem. **308**, 133 (1961). — <sup>3)</sup> Analysenwerte: Cu 14,45; N 19,10;  $\text{H}_2\text{O}$  3,79%. Berechnet für  $\text{Cu}(\text{N,N-Diäthyl-en})_2(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : Cu 14,53; N 19,20;  $\text{H}_2\text{O}$  4,11%. — <sup>4)</sup> Analysenwerte: Cu 15,16, 15,45%. Berechnet für  $\text{Cu}(\text{N,N-Diäthyl-en})_2(\text{NO}_3)_2$ : Cu 15,15%. — <sup>5)</sup> Nach Abschluß der vorliegenden Arbeit wurde die magnetochemische Untersuchung dieser und verwandter Komplexe von W. E. HATFIELD, T. S. PIPER und U. KLABUNDE [Inorg. Chem. **2**, 629 (1963)] veröffentlicht, die im Zusammenhang mit unseren Ergebnissen von besonderem Interesse ist.

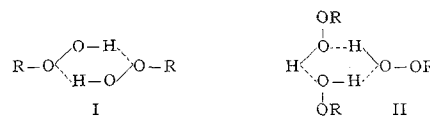
## Assoziationsverhalten der stellungsisomeren n-Heptanhydroperoxyde

Frühere infrarotspektroskopische Untersuchungen über das Assoziationsverhalten der sich vom n-Octan ableitenden stellungsisomeren Alkohole<sup>1)</sup> und Oxime<sup>2)</sup> in Tetrachlormethan als Lösungsmittel haben ergeben, daß der Einfluß der Stellung der funktionellen Gruppe in der Kohlenstoffkette wesentlich von deren Natur abhängt. Bei den Alkoholen nimmt unter vergleichbaren Bedingungen der Assoziationsgrad ab, wenn die OH-Gruppe vom Ende der Kette zur Molekelmitte wandert. Die maximale Zähligkeit übersteigt den Wert 8 kaum und liegt bei den sekundären Alkoholen etwas niedriger als beim primären Isomeren. Entgegengesetzt wie die Alkohole verhalten sich die vier isomeren Oxime. Der Assoziationsgrad ist um so größer, je weiter innen die NOH-Gruppe steht. Dieses Verhalten hängt offensichtlich mit dem bifunktionellen Assoziationscharakter zusammen. Es werden nur Zweier- und Dreierassoziate gebildet.

Die Hydroperoxyde nehmen, wie nun Untersuchungen an den n-Heptan-Abkömmlingen gezeigt haben, eine Art Zwischenstellung ein. Aus Intensitätsmessungen an der ersten Oberschwingung der freien OH-Valenzschwingung bei 6900  $\text{cm}^{-1}$  folgt, daß sie zwar kaum stärker als die Alkohole assoziiert sind, aber sich bezüglich des Einflusses der Stellung der OOH-Gruppe und der maximalen Zähligkeit deutlich von ihnen unterscheiden. Das primäre Hydroperoxyd ist wie bei den Alkoholen stärker assoziiert als die sekundären Isomeren; diese aber benehmen sich untereinander wie die Oxime, d. h., der Assoziationsgrad ist um so größer, je weiter innen die OOH-Gruppe steht. Unter der Annahme des Vorliegens gekoppelter Gleichgewichtssysteme ergibt sich auf der Grundlage der allgemeingültigen Beziehung

$$\frac{1-\alpha}{2c\alpha^2} = K_{12} + \frac{3}{2} K_{13} c\alpha + 2 K_{14} (c\alpha)^2 + \dots$$

( $\alpha$  Monomerenanteil,  $c$  Einwaagekonzentration,  $K_{1n}$  Assoziationskonstanten) aus der Konzentrationsabhängigkeit von  $\alpha$  durch graphische Auswertung<sup>3)</sup>, daß die Hydroperoxyde wie die Oxime nur in Form von Zweier- und Dreierassoziaten vorliegen und diese mit großer Wahrscheinlichkeit zyklischer Natur sind, etwa im Sinne der Strukturen I und II:



Eine ausführliche Mitteilung erfolgt an anderer Stelle.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität, Leipzig

G. GEISELER und H. ZIMMERMANN

Eingegangen am 19. September 1963

<sup>1)</sup> GEISELER, G., u. J. FRUWERT: Z. physik. Chem., N.F. **26**, 111 (1960). — GEISELER, G., K. QUITZSCH, R. GESEMANN u. H. J. GESEMANN: Z. physik. Chem., N.F. **35**, 10 (1962). — <sup>2)</sup> GEISELER, G., J. FRUWERT u. E. STÖCKEL: Z. physik. Chem., N.F. **32**, 330 (1962). — <sup>3)</sup> GEISELER, G., u. E. STÖCKEL: Spectrochim. Acta **17**, 1185 (1961).

Stereospecific Synthesis of an Optically Active  $\alpha$ -Amino Acid

Some optically active  $\alpha$ -amino acids have been synthesized by catalytic hydrogenation. In this paper, a new method of synthesis of optically active  $\alpha$ -amino acids in solution is described.

The method involves the reaction of racemic aldehyde cyanohydrin and D-(—)-methylbenzylamine in methanol. A typical example of the reaction is as follows. DL-Lactonitrile (acetaldehyde cyanohydrin), 3.55 g (0.05 mol) and D-methylbenzylamine, 6.05 g (0.05 mol) ( $[\alpha]_D^{25} = -40.6^\circ$  in benzene,  $c = 2.71$ ) were mixed with 20 ml of methanol in the cold. The mixture was kept at room temperature (25 to 27°C) for 48 hrs. The methanol was evaporated *in vacuo*. The residual syrup was then mixed with 50 ml of 6 N hydrochloric acid and was refluxed for 6 hrs. Hydrochloric acid was removed under reduced pressure. Water was added and the evaporation was repeated. The residue [crude N-( $\alpha$ -methylbenzyl)-alanine] was dissolved in a mixture of 120 ml of water and 130 ml of 95% ethanol and the pH value adjusted to 5.6 to 6.0 with sodium carbonate. To this solution, 5.0 g of palladium hydroxide catalyst<sup>1)</sup> was added. Hydrogenolysis was carried out for 10 hrs to eliminate the methylbenzyl residue. The catalyst was filtered and washed with hot water. The combined solution was acidified to approximately pH 1 with dilute hydrochloric acid. The solution was evaporated to dryness. The dried alanine hydrochloride was extracted with absolute ethanol three times (total 45 ml). The solution was kept at  $-5^\circ\text{C}$  overnight to precipitate contaminated sodium chloride. After filtration, pyridine was added to precipitate crude alanine, yield 1.1 g ( $[\alpha]_D^{25} = +10.9^\circ$  in 6 N HCl,  $c = 1.76$ ), m.p. 230 to 235°C dec. Quantitative analysis of alanine in the crude material by use of the automatic amino acid analyzer showed 70.5% of alanine. This was dissolved in 3.5 ml of water and the pH value adjusted to 5.5 to 6.0 and 10 ml of absolute ethanol added. Pure alanine, 0.77 g (17%), was obtained ( $[\alpha]_D^{25} = +14.3^\circ$  in 6 N HCl,  $c = 2.00$ ), m.p. 295°C dec. Anal. Calcd. for  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$ : C, 40.44; H, 7.92; N, 15.72. Found (by Micro-Tech Labs): C, 40.53; H, 7.93; N, 15.76. The yields and optical rotations of alanine prepared under different reaction times are as follows: 96 hrs, 0.68 g,  $[\alpha]_D^{25} = +14.0^\circ$ ; 192 hrs, 0.68 g,  $[\alpha]_D^{25} = +12.4^\circ$ . The optical activities of synthesized alanine were in the range of 86 to 99% after one recrystallization. The mechanism of the reaction has not been clarified. However, the difference in the reaction rates of D- and L-cyanohydrins with a D-amine appears to provide a plausible basis of understanding.

The Strecker reaction has received consideration as one of the modes of formation of amino acids in the primordial earth. The synthesis of optically active amino acid described here can be regarded as a model for the formation of optically active amino acid on the primitive earth, although the specific amine employed for stereospecific synthesis is not a plausible prebiological compound. This type of phenomenon is under further investigation in connection with the Strecker synthesis.

The work was supported by the National Aeronautics and Space Administration Grant No. NSG-173-62. Contribution No. 023 of the Institute for Space Biosciences.

*Institute for Space Biosciences and Chemistry Department, Florida State University, Tallahassee, Florida, U.S.A.*

KAORU HARADA and SIDNEY W. FOX

Eingegangen am 10. September 1963

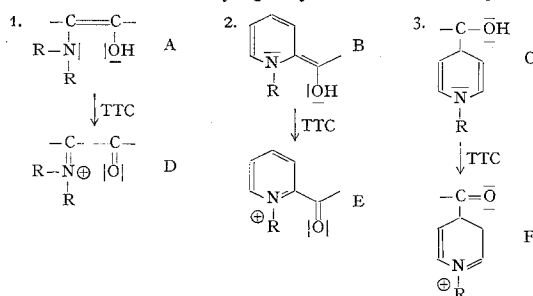
<sup>1)</sup> HISKEY, R. G., and R. C. NORTHROP: J. Am. Chem. Soc. 83, 4798 (1961).

#### TTC-Reaktion von Pyridinium-carbinolen\*)

N-Tertiäre  $\alpha$ -Aminoketone reduzieren bei Raumtemperatur in alkalischer Lösung TTC momentan zum Formazan<sup>1), 2)</sup>. Damit ist erwiesen, daß unter den üblichen Bedingungen außer den  $\alpha$ -Ketolen und deren Isosteren auch solche Verbindungen zur TTC-Reaktion befähigt sind, die in Nachbarschaft zur Carbonylgruppe ein wasserstofffreie, elektronenabgebende Funktion tragen, welche bei der Oxydation in ein Onium-Ion übergeht: 1. Bei der Untersuchung von N-Alkyl-pyridinium-carbinol-salzen zeigte sich, daß Pyridinium-2-carbinole und -4-carbinole unter den üblichen Bedingungen TTC ebenfalls momentan reduzieren, Pyridinium-3-carbinole jedoch nicht. Untersucht wurden jeweils die drei isomeren N-Methyl-, Äthyl-, Propyl- und -Isopropyl-pyridinium-carbinol-jodide und das 2,2'- sowie das 4,4'-Bis-(N-methylpyridinium)-glykoldijodid.

Betrachtet man die Tautomeriemöglichkeiten der N-Alkylpyridinium-2-carbinole in alkalischer Lösung, so ist leicht zu erkennen, daß sich eine der Enolform A N-tertiärer  $\alpha$ -Aminoketone analoge Form B zwanglos formulieren läßt. Dem bei der Oxydation N-tertiärer  $\alpha$ -Aminoketone entstehenden, hydrolyseempfindlichen Carbenium-Imonium-Ion D entspricht hier das stabile Pyridinium-Ion E: 2. Ein analoger Mechanismus ist bei den TTC-negativen Pyridinium-3-carbinolen nicht denkbar, da die Carbinol- und die Azomethiniumgruppe nicht benachbart sind. Der positive Ausfall der TTC-Reaktion bei den Pyridinium-4-carbinolen läßt sich durch das Vinylogie-Prinzip erklären. In B ist die Atomfolge A enthalten, in C ist der Abstand der beiden funktionellen Gruppen um eine Vinylgruppe verlängert:  $-C=C-C=C-$ . Bei der Oxydation von

C entsteht das zu E vinyloge Pyridinium-Ion F: 3.



Über Darstellungen und Eigenschaften der untersuchten N-Alkylpyridinium-carbinole, isolierbare Oxydationsprodukte und weitere Beispiele wird in einer späteren, ausführlichen Mitteilung berichtet.

*Institut für Pharmazeutische Chemie der Technischen Hochschule, Braunschweig*

H. J. ROTH und H. MÖHRLE

Eingegangen am 7. September 1963

\*) 4. Mitteilung: Zur Spezifität der TTC-Reaktion.

<sup>1)</sup> MÖHRLE, H., u. H. J. ROTH: Arch. Pharm. a) 296, 811 (1963); b) im Druck. — <sup>2)</sup> ROTH, H. J., u. H. MÖHRLE: Arch. Pharm. (im Druck).

#### Zur Spezifität der enzymatischen ATP-Bestimmung

Für die enzymatische ATP-Bestimmung wird entweder die Phosphatübertragung durch Phosphoglyceratkinase von ATP auf 3-Phosphoglycerinsäure mit anschließender Reduzierung der 1,3-Diphosphoglycerinsäure oder die Kopplung der Hexokinase- mit der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Reaktion ausgenutzt. Als Meßgröße dient die Absorptionsbande des reduzierten NAD oder NADP. Die Anwendbarkeit

der ersten Methode wird dadurch eingeschränkt, daß außer ATP auch GTP, ITP und UTP mit Phosphoglyceratkinase reagieren<sup>1)</sup>. Die Umsatzraten unterscheiden sich nur gering, so daß bei gleichzeitigem Vorliegen dieser Stoffe ihre Summe gemessen wird und sie nicht voneinander differenziert werden können.

Obwohl im biologischen Material ATP die bei weitem stärkste Komponente der freien Nucleosidtriphosphate darstellt, muß sich bei der Analyse mit Phosphoglyceratkinase ein Fehler bemerkbar machen, da z. B. im Gehirn von Ratten nach DÖRING, KNOPP u. MARTIN<sup>2)</sup> neben einem ATP-Gehalt von 1,77  $\mu$ Mol/g GTP und UTP in Konzentrationen von 0,27 bzw. 0,14  $\mu$ Mol/g vorkommen. Während die Substratspezifität der Hexokinase bezüglich der phosphorylierten Zucker häufig untersucht wurde<sup>3)</sup>, fehlen Angaben über die Spezifität des Phosphatdonators. KAPLAN erwähnt nur die Möglichkeit, ITP mit Hexokinase zu IDP umzusetzen.

Wir haben untersucht, in welchem Maße CTP, GTP, ITP und UTP mit Hexokinase reagieren. Unter den Testbedingungen wurde bei äquimolarem Zusatz der geprüften Nucleotide nur ITP während der ATP-Reaktionszeit von 6 min meßbar umgesetzt. Auch innerhalb 1 Std reagierten nur 1 bis 10% der vorgelegten CTP-, GTP- und UTP-Mengen, wobei sich der höchste Wert auf UTP und der niedrigste auf GTP bezieht. ITP wurde mit dem Testansatz quantitativ zu IDP abgebaut. Die Reaktionsgeschwindigkeit war mit ITP bedeutend kleiner als mit ATP. Der Endwert wurde erst nach 2 Std erreicht.

Tabelle. Bestimmung von ATP neben ITP (Näheres im Text)

| ATP + ITP<br>Konz. in mMol/ml              | $\Delta E$ nach |       |         | Gang<br>pro 6' | $\Delta E$<br>korr. |
|--------------------------------------------|-----------------|-------|---------|----------------|---------------------|
|                                            | 6'              | 12'   | 18'     |                |                     |
| $3,92 \cdot 10^{-6} + 0$                   | 0,093           | 0,093 | 0,093   | 0              | 0,093               |
| $3,92 \cdot 10^{-6} + 0,392 \cdot 10^{-6}$ | 0,093           | 0,095 | 0,096   | 0,001          | 0,093               |
| $3,92 \cdot 10^{-6} + 1,960 \cdot 10^{-6}$ | 0,098           | 0,105 | 0,111   | 0,006          | 0,093               |
| $3,92 \cdot 10^{-6} + 3,920 \cdot 10^{-6}$ | 0,103           | 0,117 | 0,129*) | 0,012          | 0,093               |

\*)  $n = 3$ ; in allen anderen Fällen  $n = 4$ .

Indem wir der ATP-Eichlösung ITP in der gleichen, halben und zehntel Konzentration zusetzten, haben wir die Störung der ATP-Bestimmung geprüft (Tabelle). In der geringsten Konzentration beeinflusst ITP das Ergebnis der ATP-Bestimmung während der Meßzeit von 6 min nicht. Bei gleichem und halb-molarem Zusatz werden zu hohe Werte gefunden. Nach Beendigung der ATP-Reaktion manifestiert sich der ITP-Umsatz als gleichmäßige Extinktionszunahme. Extrapoliert man diesen Gang auf die Zeit des Starts mit Hexokinase, so findet man exakt die eingesetzte ATP-Menge wieder.

Für die ATP-Analyse und für den Zellstoffwechsel ergeben sich folgende Schlußfolgerungen: 1. Die ATP-Bestimmung mit Hexokinase und Zwischenferment ist der mit Phosphoglyceratkinase vorzuziehen, da sie außer CTP auch GTP und UTP nicht mit erfaßt. Der Fehler durch den langsamen Umsatz von ITP läßt sich extrapolieren. Mit dieser enzymatischen Methode wird also tatsächlich nur der ATP-Gehalt im biologischen Material gemessen. 2. Für den Zellstoffwechsel bestätigt sich, daß zwischen den Nucleosidtriphosphaten eine Funktionsdifferenzierung besteht und sie in der Startreaktion für den Glucoseabbau nicht gegenseitig ersetzbar sind.

**Methode:** Die Messungen erfolgten bei einer Wellenlänge von 334 m $\mu$ , die Schichtdicke betrug 4 cm, das Endvolumen 3,49 ml. ATP-Konzentrationen:  $1,96 \cdot 10^{-6}$  bis  $7,84 \cdot 10^{-6}$  mMol/ml Testansatz, entsprechend einem  $\Delta E$  von 0,047 bis 0,188. Reaktionsgemisch: 0,08 ml Glucoselösung (1 mg/ml), 0,1 ml  $MgCl_2$  (0,1 M), 0,02 ml NADP (10 mg/ml), 0,24 ml  $As_2O_3/NaOH$ -Lösung (1,98 g  $As_2O_3$  in 7 ml n NaOH lösen und auf 50 ml mit Aqua bidest. auffüllen), 3,00 ml Triäthanolamin-Puffer 0,1 M, pH 7,6, 0,03 ml G-6-PDH (0,125 mg/ml), 0,02 ml Hexokinase (1 mg/ml).

Mit dem Natriumarsenit werden unspezifische Extinktionsänderungen bei der Bestimmung an Organextrakten verhindert, die wahrscheinlich auf der Verunreinigung der G-6-PDH mit Glutathionreduktase beruhen.

ATP, CTP, GTP, ITP und UTP wurden von Sigma Chemical Company, St. Louis, Hexokinase und G-6-PDH von Boehringer & Söhne, Mannheim, bezogen.

Abkürzungen: ATP Adenosin-5'-triphosphat, CTP Cytidin-5'-triphosphat, GTP Guanosin-5'-triphosphat, ITP Inosin-5'-triphosphat, UTP Uridin-5'-triphosphat, NAD Nicotin-