

z. T. mittels der Pulstechnik [2]. Die Reaktionsprodukte wurden teils gaschromatographisch analysiert, teils gaschromatographisch präparativ gewonnen und mittels IR- und NMR-Spektroskopie analysiert. Die Hauptprodukte der Reaktionen von Phenolen allein sind im Falle von Phenol, *m*- und *p*-Kresol die symmetrisch aromatischen Äther. Daneben wurden geringe Mengen Diphenyloxide gebildet. Alle anderen in Parastellung substituierten Phenole zeigten bei starker Verkokung am Kontakt keine eindeutige Reaktionsrichtung, insbesondere blieb die Ätherbildung aus. Bei der gleichzeitigen Reaktion von Äthanol mit Phenol, Kresol und *p*-Äthylphenol werden neben den Reaktionsprodukten der Einzelsubstrate vorwiegend die gemischt aliphatisch-aromatischen Äther gefunden. In geringerer Ausbeute treten auch bis dreifach äthylierte Phenole auf.

Bereits von SABATIER und Mitarb. [3] wurden die gleichen Produkte für diese Reaktionen über ThO_2 gefunden. Dabei wurde die Ätherbildung durch Kondensation zweier intermediär gebildeter Thorinatgruppen gedeutet. In jüngster Zeit wurden für die Ätherbildung aus Alkoholen an Al_2O_3 Vorstellungen entwickelt [4, 5], die zwei verschiedenartige Adsorptionskomplexe verlangen, die für die Reaktionen günstige sterische Konstellation und gegensätzliche Polarisierung aufweisen müssen. Derartige Oberflächenverbindungen lassen sich durch Adsorption an zwei Arten von Zentren, nämlich an nukleophilen und elektrophilen Zentren, vorstellen. Bei Übertragung dieser Vorstellungen auf das vorliegende System werden bei Substitution des Phenolrings in Parastellung die Einflüsse von Substituent und Adsorptionszentrum konkurrieren. Einführung eines *-I*-Substituenten wird die Adsorption am nukleophilen Zentrum gegenüber der am elektrophilen bevorzugen. Die umgekehrte Wirkung wird ein *+I*-Substituent zeigen. Damit fällt bei genügend starker Substitution einer der beiden Reaktionspartner in der Oberfläche aus, die Ätherbildung wird unterdrückt. Es wäre auf diese Weise zu deuten, daß die symmetrisch aromatischen Äther bei der Reaktion von Phenolen allein ausschließlich von Phenol und *m*- und *p*-Kresol gebildet werden können. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Äthanol, das beide Adsorptionskomplexe zu bilden vermag, wird die Bildung des gemischt aliphatisch-aromatischen Äthers ermöglicht auch bei stärkerer Substitution des Phenols, da unabhängig von Art und Stärke der Substitution des Phenols zusammen mit einem der beiden äthanolischen Adsorptionskomplexe immer die beiden geforderten reaktiven Oberflächenverbindungen vorliegen.

Herrn Prof. Dr. SCHWAB danken wir für sein Interesse an dieser Arbeit, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für finanzielle Unterstützung.

Eingegangen am 14. Juni 1966

[1] SCHWAB, G.-M., u. H. KNÖZINGER: Z. phys. Chem., N. F. 37, 230 (1963). — [2] HALL, W. K., u. P. H. EMMETT: J. Am. Chem. Soc. 79, 2091 (1957). — [3] EMMETT, P. H., P. SABATIER u. E. E. REID: Catalysis then and now. Englewood, N. J.: Franklin Publ. Comp. Inc. 1965. — [4] JAIN, J. R., u. C. N. PILLAI: Tetrahedron Letters 11, 675 (1965). — [5] KNÖZINGER, H.: Z. physik. Chem., N. F. 48, 151 (1966).

Zur Reaktionsfähigkeit von SH-Gruppen in Proteinen

K. HOFMANN und R. HAMM

Institut für Chemie und Physik
der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach

Die SH-Gruppen mancher nativer Proteine sind erst nach Denaturierung nachweisbar. Als Ursache hierfür hat man u. a. angenommen, daß solche Proteine Thiazolinringe enthalten, die sich bei Denaturierung unter Bildung freier SH-Gruppen hydrolytisch öffnen sollen [1]. Wir versuchten, diese Hypothese zu prüfen, und gingen dabei von der Annahme aus, daß ein Protein-Thiazolinring sich unter ähnlichen Bedingungen öffnen und durch eine SH-Reaktion zu erkennen geben wird wie der Ring eines einfachen Thiazolinderivates. Die Untersuchungen wurden an Eialbumin und 2-Methylthiazolin durchgeführt.

Lösungen vergleichbarer Mengen von 2-Methylthiazolin (1 mg/ml) und krist. Eialbumin (100 mg/ml) in Wasser bzw. Michaelispuffer (pH 5; in saurer Lösung erfolgt die Ringspaltung leichter) wurden verschiedenen Hydrolysebedingungen

unterworfen und anschließend auf SH-Gruppen geprüft: 1 ml Probelösung wurde mit je 2 Tropfen wäßriger Lösungen von Nitroprussidnatrium (1%ig) und Zinkchlorid (30%ig) [2] versetzt. Ergebnisse:

Lösungsmittel	Hydrolysebedingungen	SH-Test *
2-Methylthiazolin		
Zinkchloridlösung	Zimmertemperatur 5 min	++
Wasser	Zimmertemperatur 5 min	-**
Pufferlösung	Zimmertemperatur 5 min	+
Wasser	50° C, 5 min	+
Wasser	50° C, 40 min	++
Pufferlösung	50° C, 2 min	+
Pufferlösung	50° C, 10 min	++
Pufferlösung	50° C, 30 min	+++
Harnstofflösung	Zimmertemperatur 5 min	-**
Eialbumin		
Wasser	50° C, 30 und 60 min	--
Pufferlösung	50° C, 1, 2, 3 und 4 Std	--
Wasser	60° C, 30 und 60 min	(+)
Wasser	80° C, 2 min	++
Wasser	100° C, 1 min	+++
Harnstofflösung	Zimmertemperatur 5 min	+++

* SH-Test (Rosafärbung): +++ = stark, ++ = deutlich, + = schwach, (+) = Schimmer, - = negativ. - ** Farbbeurteilung unmittelbar nach Zugabe der Reagenzien, in allen anderen Fällen nach 30 sec.

Die beiden Verbindungen verhalten sich gegensätzlich: Während die 2-Methylthiazolinlösung in Zinkchlorid (pH 4,4) und in Pufferlösung (pH 5) bereits nach 5 min bei 25° C auf den SH-Test positiv reagiert (Ringöffnung), sind bei dem Protein selbst nach 4 Std bei 50° C überhaupt keine SH-Gruppen nachweisbar. Dagegen tritt schon nach kurzer Erhitzung des Proteins auf 80° C oder 100° C oder nach Behandlung mit 8 m Harnstoff sofort eine positive SH-Reaktion auf. Die Befunde sprechen gegen das Vorliegen eines Thiazolinringes im Protein und für die Annahme einer raschen, spontanen Entfaltung der Proteinmoleküle, als deren Folge vorher unzugängliche SH-Gruppen freigesetzt werden.

Eingegangen am 27. Mai 1966

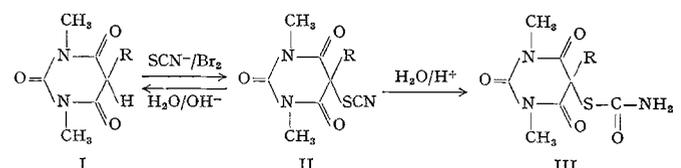
[1] LINDSTRÖM-LANG, K., u. C. F. JACOBSEN: J. Biol. Chem. 137, 443 (1941). — [2] HOFMANN, K.: Jahresber. d. Bundesanstalt für Fleischforschung 1965 (im Druck).

5-Thiocyan-barbitursäuren

F. EIDEN und G. GAUGLITZ

Pharmazeutisches Institut der Freien Universität Berlin,
Berlin 33

Durch Einwirkung von Brom auf Lösungen von 5-Alkyl- bzw. Aryl-1,3-dimethylbarbitursäuren (Ia—e) und Natrium- oder Ammoniumthiocyanat in Dimethylformamid oder Eisessig erhielten wir die farblosen, umkristallisierbaren 5-Thiocyan-barbitursäuren IIa—e

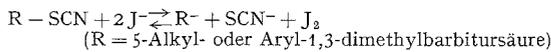


R	II	Schmelzpunkt (°)	Ausbeute (%)	III	Ausbeute (%)
CH_3	a	106	79	a	62
C_2H_5	b	81	87	b	23
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	c	76	70	c	47
C_4H_9	d	65	56	d	67
C_6H_5	e	128 (Zers.)	76	e	70

Die 5-Thiocyan-barbitursäuren (IIa—e) lieferten mit 90% Schwefelsäure in der Kälte kristalline, farblose Verbindungen, die Zersetzungspunkte zwischen 130 und 160° zeigen und deren Elementaranalysen gut auf eine Thiocarbaminsäure-S-ester-Formulierung nach IIIa—e passen. Über weitere Reaktionen von Thiocyan-barbitursäuren und ähnlichen Thiocyan-derivaten berichten wir an anderer Stelle.

Die IR-Spektren der Verbindungen IIa—e zeigen — wie andere Thiocyan-Derivate [1] — eine starke Absorptionsbande bei 2180—2160 cm⁻¹. Diese Bande fehlt bei den Spektren der Thiocarbaminsäure-S-ester IIIa—e, die, wie vergleichbare Carbamoyl-thio-pyrazole [2], im Bereich von 3400—3200 cm⁻¹ mit 3 oder 4 Banden absorbieren.

Das chemische Verhalten der thiocyan-substituierten Barbitursäuren des Typs II ähnelt dem Verhalten von 5-Brom-5-alkyl-barbitursäuren [3]. Jodionen werden nach folgender Gleichung quantitativ zu Jod oxydiert:



Nach dem Ansäuern der Lösung lassen sich die Barbitursäure-Derivate I isolieren. Die gleichen Verbindungen (I) entstehen auch bei der Hydrolyse der Thiocyan-derivate II mit verdünnter Natronlauge.

Dem Fonds der Chemie danken wir für die finanzielle Unterstützung unserer Untersuchungen.

Eingegangen am 18. Mai 1966

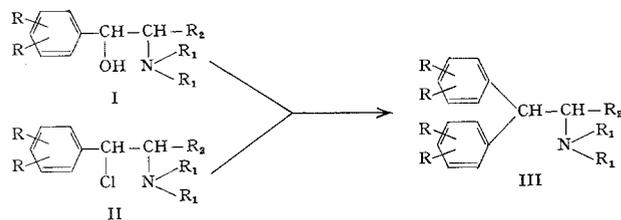
[1] LIEBER, E., C. N. R. RAO u. J. RAMACHANDRAN: Spectrochim. Acta 13, 296 (1959). — SIEBERT, H.: Anwendungen der Schwingungsspektroskopie in der anorganischen Chemie, S. 155. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966. — [2] KINUGAWA, J., u. M. OCHIAI: Chem. pharmac. Bull. (Tokyo) 12, 23 (1964). — [3] FRESSENIUS, PH.: Pharmaz. Zentralhalle Deutschland 95, 361 (1956); — Angew. Chem. 64, 470 (1952).

Herstellung von Diaryl-alkylaminen aus Arylalkanolaminen

JOSEF KLOSA

Privat-Forschungslabor, Berlin 37, Jänickestraße 13

Es wurde gefunden, daß Arylalkanolamine der Formel I und Arylalkylhalogenamine der Formel II



mit Benzol oder seinen Derivaten in Gegenwart von Aluminiumchlorid, Bortrifluorid oder einer anderen Lewis-Säure nahezu quantitativ Diarylalkylamine der Formel III geben (R bis R₂ = Substituenten, wie Wasserstoff, Alkyle, Chlor, Brom oder Fluor, Hydroxy- oder Alkoxy-Gruppen). Die Umsetzung verläuft rasch und ohne größeren Aufwand. Es wird Norephedrin als Base oder halogenwasserstoffsäures Salz, z. B. in der zwei- bis dreifachen Menge Benzol, Chlorbenzol oder Fluorbenzol suspendiert und etwa zwei Mol Aluminiumchlorid in diese Mischung bei gewöhnlicher Temperatur eingetragen. Unter starker Chlorwasserstoff-Entwicklung und Erwärmung setzt die Reaktion ein.

Man trägt nun unter Rühren langsam weiter Aluminiumchlorid ein (Sieden vermeiden). Es scheidet sich dabei gewöhnlich eine Ölschicht ab. Zum Schluß wird 30 min auf dem Wasserbade (Rückfluß) erwärmt. Man läßt erkalten und dekantiert überflüssiges Lösungsmittel ab. Die Ölschicht wird mit Eis-Salzsäure-Gemischen zersetzt, wobei sich das Hydrochlorid des Diphenyl-isopropylamins abscheidet: schneeweiße Kristalle (Fp. 278/280 °C, 95% Ausbeute).

Anstelle von Benzol und seinen Derivaten können auch Naphthalin, Tetrahydronaphthalin, Thiophen- und Furan-Derivate verwendet werden, anstelle von Norephedrin andere Arylalkanolamine.

Die Methode [1] ist insofern überraschend, als Alkanolamine wie Ephedrin, Norephedrin und ähnliche durch starke Säuren, zu denen ja die Lewis-Säuren gehören, einer Zersetzung, einer Hydraminspaltung [2] erliegen sollten.

Eingegangen am 29. April 1966

[1] Die Methode ist Gegenstand zahlreicher Patentanmeldungen im In- und Auslande durch die Farbwerke Hoechst-A.G. (DAS 1 212 550). — [2] AUTERHOFF, H., u. H. J. ROTH: Arch. Pharmazie 289, 470 (1956).

Specimen Cooling in a Cooled Object Chamber in the Electron Microscope

P. F. ELBERS

Centrum voor Submicroscopisch Onderzoek van Biologische Objecten, Utrecht, Netherlands

To diminish specimen contamination in the electron microscope, cooled object chambers have been developed [1, 2]. With this device the specimen itself remains at the temperature of the object stage. In the Siemens Elmiskop I the equilibrium temperature of the object stage is about 26° C. The temperature of the specimen during observation, therefore, will be as high as this, the heating effect of the electron beam still left out of consideration. In some instances it may be necessary, however, to study the specimen at lower temperatures. This can be achieved by using a kind of thermal potentiometer as proposed by HEIDE [1b]. The commercially available cooled object chamber can easily be adapted to this end for routine microscopic operation (Fig. 1). The object cartridge (1) is cut

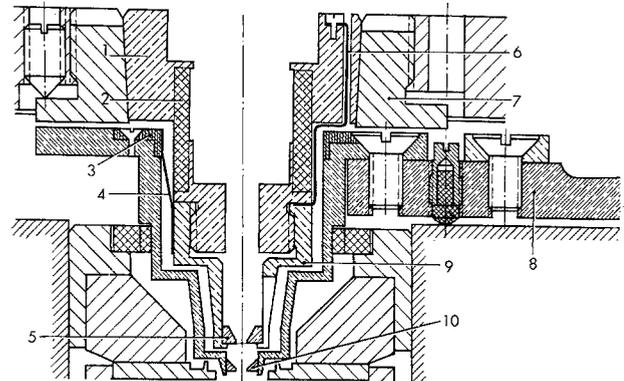


Fig. 1. Modified cooled object chamber. Explanations in the text

in two and the two parts are reshaped so that they can be reassembled by means of a perspex annulus (2), thereby reconstituting the original outer dimensions. In this way the object holder (9) becomes connected to the object stage (7) through a high thermal resistance. Part of the wall of the cooling chamber is replaced by a brass ring (3) to which three high quality bronze spring blades (4) are soldered. The number and dimensions of the spring blades determine the final temperature to be reached by the specimen carrier (5).

Three springs having a width of 1 mm and a thickness of 0.1 mm gave a final temperature, after 6 min., of -30° C with the cooling chamber at -160° C. The temperature of the specimen carrier can be monitored when the two parts of the object cartridge are connected electrically by a piece of 0.1 mm constantan wire (6). The thermocouple voltage between the microscope column and the cool finger (8) then gives the temperature difference between object stage and specimen carrier with sufficient precision for this purpose. At the same time the specimen carrier itself is kept at earth potential. In practice, with the specimen at -30° C and using an object chamber diaphragm (10) of 0.4 mm diameter, there was no visible specimen contamination even when the smallest beam spot, 1 micron, was used. At lower temperatures, e.g. -80° C, a gradual destruction ensued with organic specimens. After an equilibration time of about 6 min., with this device there is no visible image drift or defocussing at a magnification of