



Synthetische onderzoeken over het muscarinevraagstuk

<https://hdl.handle.net/1874/346437>

A 40192
1940

SYNTHETISCHE ONDERZOEKINGEN
OVER HET MUSCARINEVRAAGSTUK



P. J. VAN DER LAAN

SYNTHETISCHE ONDERZOEKINGEN
OVER HET MUSCARINEVRAAGSTUK

A. g. m. 192, 1940

Diss. Utrecht, 1940

SYNTHETISCHE ONDERZOEKINGEN OVER HET MUSCARINEVRAAGSTUK

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR
IN DE WIS- EN NATUURKUNDE AAN DE RIJKS-
UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN
RECTOR MAGNIFICUS DR. H. R. KRUYT, HOOG-
LERAAR IN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUUR-
KUNDE, VOLGENS BESLUIT VAN DE SENAAT DER
UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE
FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE TE VER-
DEDIGEN OP MAANDAG 25 NOVEMBER 1940, DES
NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

PANCRAS JACOBUS VAN DER LAAN

GEBOREN TE 'S-GRAVENHAGE

1940

DRUKKERIJ Fa. SCHOTANUS & JENS — UTRECHT

SYNOPSIS VAN DE VERHANDELINGEN
VAN DE NEDERLANDSCHE ACADEMIE
VAN WETENSCHAPPEN EN LETTEREN



*Aan de nagedachtenis van mijn Moeder.
Aan mijn Vader.*

Het beëindigen van mijn studie aan de Utrechtse Universiteit biedt mij een welkome gelegenheid, U, Hoogleraren, Oud-Hoogleraren en Lectoren in de Faculteit der Wis- en Natuurkunde, hartelijk dank te zeggen voor hetgeen Gij tot mijn wetenschappelijke opleiding hebt bijgedragen.

Dit geldt wel in het bijzonder U, Hooggeleerde KÖGL, Hooggeachte Promotor. Uw voortdurende belangstelling in mijn werk heeft de tijd, waarin ik het voorrecht genoot Uw assistent te zijn, tot een zeer aangename gemaakt. Voor de zelfstandigheid, welke Gij mij bij dit onderzoek hebt gelaten, ben ik U in hoge mate erkentelijk.

Hooggeleerde BIJLSMA, dat ik in Uw laboratorium als gast mocht vertoeven stemt mij tot dankbaarheid. Tevens gaat mijn dank uit naar U, Zeergeleerde LE HEUX, voor de welwillende wijze, waarop Gij mij onderrichtte in de eerste beginselen der pharmacologie.

Verder strekt mijn dank zich uit tot mijn collega's en vrienden, op wier hulp ik steeds heb mogen rekenen. Vooral jouw goede raad, VELDSTRA, heb ik altijd zeer gewaardeerd.

Tenslotte betuig ik mijn dank aan de leden van het personeel van het Organisch-chemisch Laboratorium voor de toewijding en hulpvaardigheid, die ik steeds van hen heb mogen ondervinden.

INHOUD

	BLADZ.
HOOFDSTUK I.	
Inleiding	11
HOOFDSTUK II.	
1. Synthese van α,β -oxido-butylaldehyd	20
2. Omzetting van α,β -oxido-butylaldehyd tot de quaternaire ammoniumbase van α -oxy- β -amino-butylaldehyd	23
HOOFDSTUK III.	
Beschouwingen over de configuratie van muscarine	25
HOOFDSTUK IV.	
1. Enige pogingen tot synthese van muscarine	32
2. Synthese van „muscaron”	47
HOOFDSTUK V.	
Additie van kwikacetaat aan α,β -onverzadigde aldehyden	49
HOOFDSTUK VI.	
1. Reductie van threonine en allo-threonine	54
2. Conclusies	60
HOOFDSTUK VII.	
1. Experimentele gegevens betreffende hoofdstuk II	63
2. „ „ „ „ IV	67
3. „ „ „ „ V	79
4. „ „ „ „ VI	86

HOOFDSTUK I.

INLEIDING.

De belangstelling van de mens in de giftige paddestoelen is wel voornamelijk voortgekomen uit de mogelijke verwisseling van de eetbare met de giftige soorten. Het is dan ook verklaarbaar, dat bij de opkomst der natuurwetenschappen een grote interesse van pharmacologische en chemische zijde ontstond in de studie van de giften der paddestoelen. In het bijzonder heeft het muscarine, het voornaamste gift van de vliegenschwam (*Amanita muscaria* L.), de aandacht der onderzoekers getrokken; terwijl over andere paddestoelgiften slechts weinig publicaties verschenen zijn, bestaat er een uitgebreide literatuur over het muscarine.

Daar deze literatuur een grote hoeveelheid vergissingen bevat, die voornamelijk te wijten zijn aan het ontbreken van standaardmethoden voor de dierproeven en aan de onvoldoende chemische ervaring in het isoleren van physiologisch actieve stoffen uit de natuur, zullen wij slechts zeer in het kort de belangrijkste onderzoekingen vermelden. Voor een meer uitgebreid overzicht wordt verwezen naar de publicatie van Kögl, Duisberg en Erxleben ¹⁾ en naar de dissertatie van Veldstra ²⁾.

Curiositeitshalve noemen wij de oudste mededeling over muscarine uit 1811 van Schrader ³⁾. Deze meende, dat het gift in de rood-gekleurde stof te vinden was, welke hij in de waterige of alcoholische extracten van de vliegenschwam aantrof.

Hoewel nog vele onderzoekers zich nadien met het gift hebben beziggehouden, kwam het onderzoek pas in 1869 met de publicatie van Schmiedeberg en Koppe ⁴⁾ in goede banen. Hun werk

¹⁾ F. Kögl, H. Duisberg en H. Erxleben, A. 489, 156 (1931).

²⁾ H. Veldstra, diss. Utrecht 1935.

³⁾ Schrader, Hermbstädt. Bull. des Neuesten und Wissenswertesten aus der Naturwissenschaft, Bd. IX, 339 (1811).

⁴⁾ O. Schmiedeberg en R. Koppe, Das Muscarin. F. C. W. Vogel, Leipzig 1869.

leidde tot de ontdekking van het muscarine door de isolering van het gift, in een min of meer zuivere toestand, uit de vliegenzwammen. Als testobject gebruikten zij katten. Ook werd de werking van het gift op kikkerharten onderzocht, waarbij zij het antagonisme muscarine-atropine ontdekten.

Deze arbeid gaf ook de stoot tot het chemische onderzoek naar de structuur van het gift. Schmiedeberg en Harnack ¹⁾ konden in 1875, door verhitting van het muscarine met loodoxyde en water, trimethylamine aantonen. Men ging nu een verwantschap vermoeden met choline, en wel zou muscarine identiek zijn met betaïnealdehyd, een oxydatieproduct van choline.

In de jaren 1884—1904 zijn vele synthetische pogingen in deze richting gedaan en vele stoffen werden op „muscarinewerking” onderzocht. Het physiologisch actieve product, dat ontstond bij de oxydatie van choline met salpeterzuur — later werd het door Ewins en Dale ²⁾ herkend als de salpeterigzure ester van choline — en een tijd lang voor het hydraat van betaïne-aldehyd doorging, heeft er niet weinig toe bijgedragen, de verwarring, die in deze periode ontstaan was door het werken met zeer onzuivere natuurlijke producten, te verhogen.

In de periode 1904—1931 werden wel belangrijke farmacologische onderzoeken gedaan, in chemisch opzicht slaagde men er echter niet in, het „muscarine-raadsel” op te lossen.

Duidelijk was in ieder geval, zoals Kögl, Duisberg en Erxleben ³⁾ dan ook constateerden, dat het zogenaamde synthetische muscarine choline-nitriet was en dat het muscarine ook met betaïne-aldehyd niets te maken had.

De stand van het onderzoek was niet bepaald bemoedigend te noemen, toen Kögl en medewerkers het probleem ter hand namen. Zij slaagden er echter betrekkelijk snel in, het muscarine in zuivere vorm te isoleren en hoewel zij slechts 137 mg van het gift in handen kregen, gelukte het hun toch de constitutie grotendeels op te helderen.

¹⁾ O. Schmiedeberg en E. Harnack, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 36, 598 (1875).

²⁾ H. H. Dale en A. J. Ewins, Journ. of Physiol. 48, XXIV (1914).
A. Ewins, Biochem. J. 8, 209 (1914).

³⁾ F. Kögl, H. Duisberg en H. Erxleben, A. 489, 156 (1931).

Een der factoren, die in niet geringe mate tot hun succes hebben bijgedragen, was het gebruiken van een quantitative test. Hiervoor kozen zij de door Fühner¹⁾ uitgewerkte methodiek met geïsoleerde kikkerharten. Bij deze methode is het hart van een *Rana esculenta* bevestigd aan een glazen canule, welke door de aorta tot in de ventrikel reikt. In de canule bevindt zich een oplossing volgens Ringer, welke veelvuldig ververscht wordt en welke vervangen kan worden door een te testen oplossing. Het hart is met behulp van een serrefine aan een schrijver bevestigd, die de contracties op het beroete papier van een kymographion registreert.

Zij voeren nu de „muscarine-werkingseenheid” (M.W.E.) in, welke gedefinieerd wordt als die hoeveelheid muscarine, die in 1 cm³ Ringer's vloeistof opgelost, in de maanden November tot Februari, 25 % reductie van de uitslag geeft.

Door het gebruik van een standaard-oplossing kan de gevoeligheid van een kikkerhart bepaald worden en zo wordt een mogelijkheid geschapen, de gevonden activiteiten bij verschillende harten onderling te vergelijken.

Een andere factor, die hen tot het uiteindelijke succes leidde, was het invoeren van de permutiet-filtratie van Whitehorn²⁾. Verrassenderwijze kunnen zij door herhaalde filtratie het choline bijna volledig verwijderen.

Verder heeft het gebruik van Reinecke's zout $[(\text{CNS})_4\text{Cr}(\text{NH}_3)_2\text{NH}_4]$, zeer grote diensten bewezen. Door deze stof wordt het mogelijk, de muscarine-base neer te slaan als reineckaat, dat uit een mengsel van aceton en water te kristalliseren is. De permutiet-filtratie en het gebruik van Reinecke's zout bij de isolering van het natuurlijke muscarine maken mogelijk, dat het door vroegere onderzoekers beoefende, moeizame kristalliseren van de goud- of platinadubbels-zouten, geheel achterwege kan blijven.

De reineckaten, die zij aan het einde van een bewerking verkrijgen, kunnen door herhaaldelijk kristalliseren gezuiverd worden, totdat opnieuw kristalliseren geen verhoging van de activiteit meer geeft. Voor de bepaling van deze activiteiten worden de

¹⁾ H. Fühner, Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. Urban und Schwarzenberg, Berlin-Wien (1911).

²⁾ J. C. Whitehorn, J. biol. Chem. 56, 751 (1923).

reineekaten volgens Kapfhammer en Bischoff¹⁾ met behulp van aequivalente hoeveelheden zilversulfaat en bariumchloride omgezet in het chloride van de muscarine-base. De activiteit van het zuivere muscarine blijkt 184 000 000 ($\pm 10\%$) M.W.E. per gram base te zijn. Een oplossing van muscarine-chloride in water is zwak rechtsdraaiend.

Zoals reeds vermeld, krijgen zij van deze zuivere stof 137 mg in handen, waarvan zij voor de structuurbepaling slechts 104 mg gebruiken. Dat hiervoor een waarlijk microchemisch onderzoek noodzakelijk is, behoeft geen betoog.

Uit de analyse van het reineekaat berekenen zij, na aftrek van de reineekaat-rest, de empirische formule $(C_8H_{15}O_2N)^+$ voor het muscarine-kation. De functie van het stikstofatoom wordt bepaald door met 8 mg muscarine-chloride een afbraak volgens Hofmann uit te voeren. Na schudden met zilveroxyde en daaropvolgende distillatie, kan in het distillaat trimethylamine als chloorauraat aangetoond worden.

Deze afbraak van het gift blijkt de sleutel te zijn, die tot de opheldering van de constitutie zal leiden. Met een grotere hoeveelheid muscarine-chloride uitgevoerd, nu met 23 mg, kan, na verwijdering van het trimethylamine, uit de distillatierest 10 mg van een zuur geïsoleerd worden, waarvan een deel veresterd wordt met p-phenyl- ω -broom-acetophenon en gebruikt voor een analyse. Uit deze analyse en de nadere bestudering van de eigenschappen trekken zij de conclusie, dat het zuur een dioxyzuur moet zijn. Zij synthetiseren nu α,β -dioxyvaleriaanzuur uit α,β -penteenzuur volgens G. Braun²⁾ door oxydatie met zilverchloraat en osmiumtetroxyde. Dit blijkt identiek te zijn met het door afbraak van het natuurlijke product verkregen zuur³⁾.

¹⁾ J. Kapfhammer en C. Bischoff, H. 191, 182 (1930).

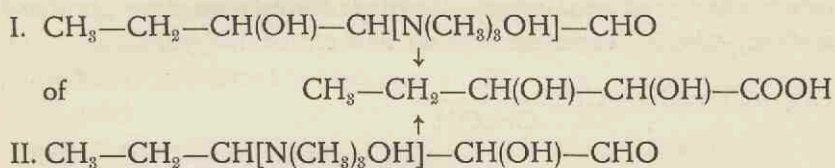
²⁾ G. Braun, Am. Soc. 52, 3189 (1930).

³⁾ In de publicatie van F. Kögl, H. Duisberg en H. Erxleben (A. 489, 156 (1931)) is volgens mededeling van deze auteurs bij de bepaling van de specifieke draaiing van het α,β -dioxy-n-valeriaanzuur en zijn brucinezouten een fout binnengeslopen, doordat de komma bij de afgelezen draaiingshoeken een decimaal naar rechts verplaatst werd. De specifieke draaiingen zijn dus tien maal kleiner dan opgegeven. Een nieuwe bepaling gaf bij het α,β -dioxy-n-valeriaanzuur:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-0,11 \cdot 100}{0,5 \cdot 1,235} = -17,8^\circ, \text{ voor het brucinezout: } [\alpha]_D^{20} = \frac{-0,12 \cdot 100}{0,5 \cdot 0,87} = -27,6^\circ$$

De vraag wordt nu: hoe ontstaat het dioxyzuur uit muscarine-chloride? Voor de beantwoording van deze vraag moeten zij eerst het karakter der beide zuurstofatomen in het muscarine opsporen. Daartoe wordt muscarine-chloride gebenzoyleerd en uit het verkregen product een chloroplatinaat bereid. De analyse van dit benzoyl-muscarine-chloroplatinaat bevestigt, dat één der zuurstofatomen in het molecuul tot een hydroxylgroep behoort. Hierdoor wordt het onmogelijk, dat de carboxylgroep van het dioxyzuur reeds in het muscarine aanwezig was.

De functie van het tweede zuurstofatoom wordt bepaald door de overtuigende aldehydreacties van het muscarine-chloride. Nu kan de bovengestelde vraag op de volgende elegante wijze worden opgelost:



De aldehydgroep wordt door het zilveroxyde geoxydeerd tot een carboxylgroep. Een dergelijke reactie is ook in de literatuur reeds beschreven door E. Fischer ¹⁾, namelijk de oxydatie van betaïnealdehyd tot betaïne met behulp van zilveroxyde. Eén der hydroxylgroepen van het dioxyzuur was al in het muscarine aanwezig, de andere moet dus zijn ontstaan door de afsplitsing van het trimethylamine uit de quaternaire base. In de door A. Wurtz ²⁾ beschreven vorming van glycol uit choline vinden de auteurs een analoge reactie.

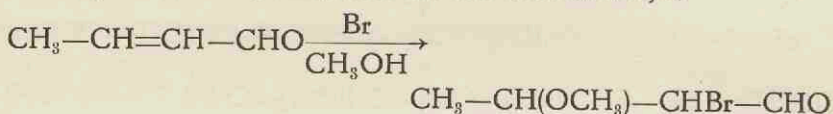
Hiermede is de structuur van muscarine althans in zoverre bepaald, dat uit de formules I en II een keuze gedaan moet worden. De auteurs houden voornamelijk op grond van de bestendigheid van het muscarine tegen alkali, de „Serin-Stellung“ van de substituenten (formule I) voor de waarschijnlijkste. De synthese zal de beslissing moeten brengen.

Inderdaad lijkt de synthese wel de meest aangewezen weg om

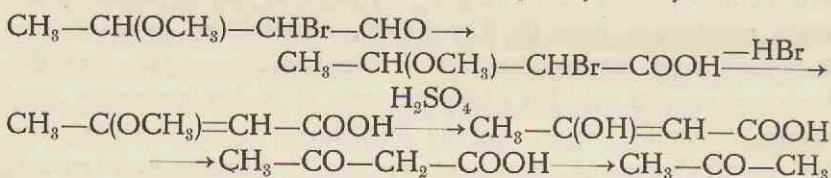
¹⁾ E. Fischer, B. 27, 167 (1894).

²⁾ A. Wurtz, C.r. 66, 772 (1868) en A. Suppl. VI, 197 (1868).

uit de twee gegeven mogelijkheden een keuze te doen. Onder leiding van F. Kögl wordt nu door H. Veldstra¹⁾ voor de bewerking van een proefschrift, de synthese ter hand genomen, en wel eerst de bereiding van de quaternaire (trimethyl-)ammonium-base van α -amino- β -oxy- n -valeeraldehyd (formule I). Na verschillende pogingen, waarbij zeer veel ervaring wordt opgedaan, wordt de weg, die naar het succes zal leiden, gevonden. De auteur maakt gebruik van een door Meinel²⁾ gevonden additie van broom aan stoffen met een dubbele binding, opgelost in methylalcohol, waarbij in afwijking van het bekende verloop der broomaddities, inplaats van twee atomen broom, slechts één atoom broom per dubbele binding opgenomen wordt. Het andere broomatoom gaat hier ionogeen in oplossing, terwijl een methoxygroep aan de dubbele binding geaddeerd wordt. Veldstra werkt nu deze „broom-methoxy-additie” experimenteel uit aan crotonaldehyd,

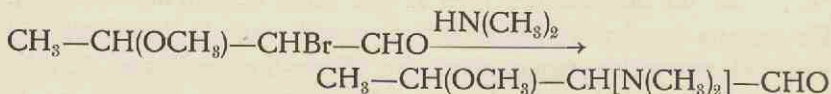


en bewijst door verwerkelijking van het volgende reactieschema, dat het reactieproduct α -broom- β -methoxy-butylaldehyd is.



Het aceton kan als dinitrophenylhydrazon geïdentificeerd worden.

Op het gevormde broommethoxyaldehyd laat hij dimethylamine inwerken, waardoor de volgende reactie plaats vindt:

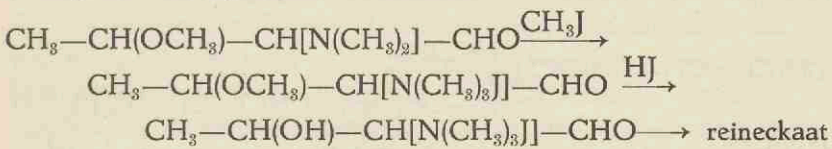


Het gevormde α -dimethylamino- β -methoxy-butylaldehyd kan met methyljodide worden omgezet tot het quaternaire zout, en dit kan met joodwaterstofzuur ontmethyleerd worden. Hierna is neerslaan

¹⁾ H. Veldstra, diss. Utrecht 1935.

²⁾ K. Meinel, Naturwiss. 21, 364 (1932) en A. 510, 129 (1934).

met Reinecke's zout de aangewezen weg om uit de sterk zure oplossing het reactieproduct te isoleren.



Een juiste analyse van het reineckaats en een juist goudgehalte van het hieruit ter nadere controle bereide chloorauraats bewijzen, dat de auteur het quaternaire (trimethyl-)ammoniumchloride van α -amino- β -oxy-butyaldehyd, de lagere homoloog van het muscarine, in handen heeft.

Om in de C_6 -reeks te komen, herhaalt Veldstra de hierboven beschreven synthese, nu echter uitgaande van de hogere homoloog van crotonaldehyd, het α,β -pental. Hij komt hiermede tot het quaternaire (trimethyl-)ammoniumchloride van α -amino- β -oxy-n-valeeraldehyd.

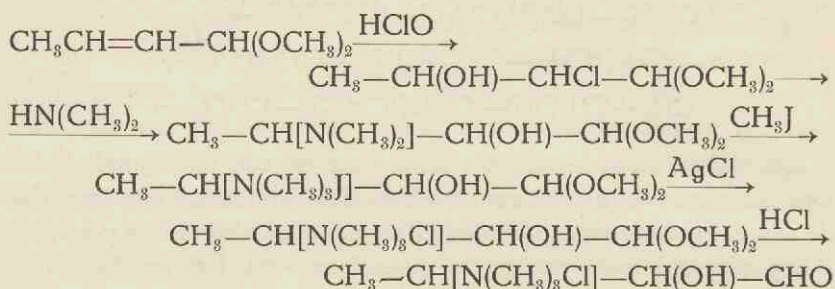
Het merkwaardige verschijnsel doet zich voor, dat deze stof in de pharmacologische test slechts een werkzaamheid heeft van 4300 M.W.E. per gram. Ook het eindproduct der synthese in de C_4 -reeks en verder de quaternaire ammoniumjodiden uit de beide reeksen (vóór de behandeling met joodwaterstofzuur) blijken werkzaamheden van deze orde, variërende van 5000—10.000 M.W.E., te bezitten. Vergelijken met de activiteit van het natuurlijke product, die 184.000.000 M.W.E. bedraagt, zijn deze stoffen gerust onwerkzaam te noemen.

De oorzaak van deze geringe activiteiten kan, volgens Veldstra, niet gezocht worden in het feit, dat het synthetische product een racemaats is, terwijl het natuurlijke muscarine optisch actief is. Dan zou het eerste toch de helft van de werkzaamheid van het natuurlijke product moeten bezitten.

Daar de formule van het muscarine twee asymmetrische koolstofatomen te zien geeft, mag de mogelijkheid, dat de synthese de andere diastereomere vorm opgeleverd heeft, niet uitgesloten worden geacht.

Aan de andere kant bestaat nog de mogelijkheid, dat muscarine een β -amino-structuur heeft. Om zich hiervan te vergewissen, werkt

de auteur de volgende synthese uit, wederom in verband met de beschikbare hoeveelheid uitgangsmateriaal eerst in de C₄-reeks:



Bij herhaling in de C₅-reeks wordt het gewenste quaternaire (trimethyl-)ammoniumchloride van *α*-oxy-*β*-amino-*n*-valeeraldehyd verkregen. In de test blijkt echter dit product eveneens een zeer geringe activiteit te bezitten (1400 M.W.E.).

Beide, door Kögl, Duisberg en Erxleben voorgestelde formuleringen zijn nu door Veldstra gesynthetiseerd. De fysiologische activiteiten blijven opmerkelijk ver beneden de werkzaamheid van het natuurlijke gift. Ook de chemische gedragingen van de synthetische producten en het natuurlijke muscarine geven onderling verschillen te zien.

Dit komt tot uiting bij het gedrag tegenover fuchsine-zwavelig-zuur, het bekende aldehyd-reagens. Hiermede geeft muscarine een roodkleuring, het synthetische product met *α*-oxy-*β*-amino-structuur eveneens, echter het product met *α*-amino-*β*-oxy-structuur in het geheel niet. Dit zou dus kunnen wijzen op een *β*-amino-structuur van muscarine. Daartegen pleit de stabiliteit van het natuurlijke product in alkalisch milieu.

Bij de afbraak volgens Hofmann van de twee chemische producten, kan in beide gevallen trimethylamine aangetoond worden. Opmerkelijk is, dat het Veldstra niet gelukt, uit de distillatieresten de kristallijne dioxyvaleriaanzuren te verkrijgen.

De verklaring van de verschillen, zowel in fysiologisch als in chemisch opzicht, tussen de synthetische producten enerzijds en het muscarine anderzijds, kan zeer wel gezocht worden in de configuratie der producten. Het gedrag van de synthetische stoffen

wijst er op, dat ze slechts uit één enkel racemaat bestaan. Daar beiden gevormd zijn door additie aan een dubbele binding, lijkt dit ook wel waarschijnlijk. Het is dus zeer goed mogelijk, dat het verkeerde diastereomeer ontstaan is en de verschillen hieruit voortkomen. Bovendien zijn er gevallen bekend, waarbij verschillen in configuratie de physiologische activiteiten der stoffen sterk beïnvloeden.

In het hoofdstuk „Overzicht en conclusies” van zijn dissertatie acht Veldstra het raadzaam, het natuurlijke muscarine aan een nieuw onderzoek te onderwerpen, om te trachten, op grond van bepaalde reacties, een keuze te doen uit de beide door Kögl en medewerkers ter discussie gestelde formules.

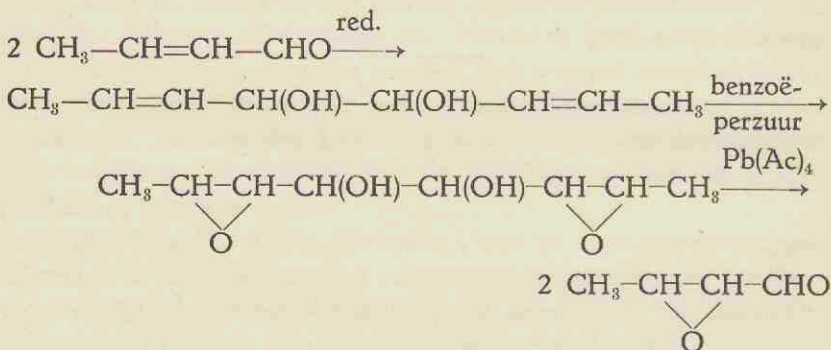
In afwachting van dit onderzoek, waarmede bovengenoemde auteur na de beëindiging van zijn proefschrift begon, stelden wij ons voor, een onderdeel van deze dissertatie, namelijk een poging tot synthese van α -oxido-aldehyden, nader uit te werken en eventueel deze aldehyden te gebruiken voor de synthese van muscarine.

HOOFDSTUK II.

1. SYNTHESE VAN α,β -OXIDO-BUTYRALDEHYD.

Bij de oxydatie van dipropenylglycol met benzoëperzuur is de opbrengst aan di-oxidopropyl-glycol, door Veldstra verkregen, zeer gering. Daar het reactieproduct bij zijn werkwijze uit een waterige oplossing geïsoleerd wordt door verdampen van het water, schrijft hij deze geringe opbrengst toe aan een ontleding door het oplosmiddel. Als steun voor deze opvatting kan hij een ontledingsproduct isoleren, namelijk tetra-oxy-oxido-octaan, dat ontstaat door het opensplitsen van één der oxido-ringen met water.

De opgave bestaat dus in het vinden van een methode van werken, waarbij vermeden wordt, dat het reactieproduct in aanraking met water komt. In verband met de beschikbare hoeveelheden uitgangsmateriaal, besluiten ook wij deze synthese eerst in de C_4 -reeks uit te werken. Het reactie-schema blijft dus gelijk:



De reductie van crotonaldehyd tot dipropenylglycol met behulp van verkoperd zink, is door Charon¹⁾ beschreven en levert

¹⁾ E. Charon, A. ch. (7) 17, 217 (1899).

generlei moeilijkheden op. De oxydatie van deze stof met benzoëperzuur echter des te meer. Na vele proeven gelukt het wel, de opbrengst aan oxydatieproduct te verdubbelen en zelfs te verdrievoudigen, toch moet deze nog zeer gering genoemd worden. We voeren de oxydatie uit in een mengsel van aether en petroleum-aether, waaruit dan na verloop van enige dagen het di-oxido-propyl-glycol kristalliseert. Wordt het reactiemengsel van de kristallen afgeschonken en ingedampt, dan begint het benzoëzuur te kristalliseren. Ook bij verder werken volgens de methode van Veldstra kan hieruit geen oxydatieproduct meer verkregen worden. Het blijkt, dat we een maximale opbrengst aan di-oxidopropyl-glycol bereikt hebben.

Een verklaring hiervoor is vrij moeilijk te geven. Misschien kan deze gezocht worden in het feit, dat het dipropenylglycol, zoals dit bij de bereidingswijze van Charon gevormd wordt, uit een mengsel bestaat van enige glycolen, die onderling slechts in configuratie verschillen ¹⁾. Verder blijft nog mogelijk, dat het di-oxido-propyl-glycol, door de aanwezigheid van een zo grote overmaat benzoëzuur in het reactiemengsel, gebenzoyleerd wordt.

Voor de oxydatie met lood-tetra-acetaat blijkt het van belang, in verband met de vluchtigheid van het oxido-aldehyd, een zo laag mogelijk kokend oplosmiddel te zoeken. De gebruikelijke oplosmiddelen, benzol of ijsazijn, zijn daarom niet geschikt; van het laatste is bovendien nog te verwachten, dat het splitsend zal werken op de oxido-ring.

In pentaan wordt zulk een laagkokend en tevens indifferent oplosmiddel gevonden. Een groot nadeel is echter, dat zowel di-oxidopropyl-glycol als lood-tetra-acetaat hierin slecht oplosbaar zijn. Aangezien wij, daar bij de reactie azijnzuur ontstaat, deze toch in zeer verdunde oplossing moeten laten verlopen, wordt dit nadeel enigszins ondervangen. Toch gaat de reactie, voornamelijk door de slechte oplosbaarheid der deelnemende componenten, zeer langzaam, wat de opbrengst waarschijnlijk in ongunstige zin beïnvloedt.

¹⁾ Vgl. P. v. Romburgh en W. v. Hasselt, Akad. Amsterdam, Proc. 35, 40 (1932).

W. G. Young, L. Levanas en Z. Jasaitis, Am. Soc. 58, 2274 (1936).

Na verwijdering van het pentaan kan de achterblijvende vloeistof gedistilleerd worden. Dit levert een zeer geringe hoeveelheid van een kleurloze vloeistof op, die, wat haar eigenschappen betreft, overeenkomt met het gezochte α,β -oxido-butylaldehyd. Zo reduceert de stof Fehling's proefvocht en geeft met een oplossing van kaliumjodide in ijsazijn jodiumafscheiding, een reactie, die kenmerkend is voor verbindingen, die naast de oxido-ring een carbonyl- of carboxylgroep bezitten ¹⁾.

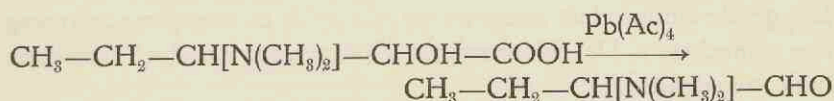
¹⁾ Sv. Bodforss, Die Aethylenoxyde. Stuttgart 1920, blz. 56.

2. OMZETTING VAN α,β -OXIDO-BUTYRALDEHYD TOT DE QUATERNAIRE AMMONIUMBASE VAN α -OXY- β -AMINO-BUTYRALDEHYD.

In de literatuur is bekend, dat bij omzettingen van α -chloro- β -oxy-zuren met aminen α -oxy- β -amino-zuren ontstaan. Hier vindt dus een omwisseling plaats ¹⁾.

Wohl en Schweitzer ²⁾ en ook Veldstra krijgen door behandeling van α -chloro- β -oxy-aldehydacetalen met aminen α -oxy- β -amino-acetalen.

Het is duidelijk, dat deze reacties moeten berusten op de vorming van een oxido-verbinding als tussenproduct. Veldstra bevestigt dit nog eens op elegante wijze. Hij zet α -chloro- β -oxy-valeriaanzuur om tot α -oxy- β -dimethylamino-valeriaanzuur, waarin hij de rangschikking der substituenten bewijst door de volgende reactie:



Tevens laat deze onderzoeker aethyl-glycidzuur-natrium reageren met dimethylamine en kan daarbij aantonen, dat het gevormde oxy-aminozuur indientiek is met het op voorgaande wijze verkregen product.

Samenvattend kunnen wij zeggen, dat de omzetting van α -oxido-zuren en α -oxido-acetalen met amine α -oxy- β -amino-verbindingen oplevert. De reactie van α,β -oxido-aldehyden met amine moet dus

¹⁾ E. Erlenmeyer, B. **13**, 1077 (1880);

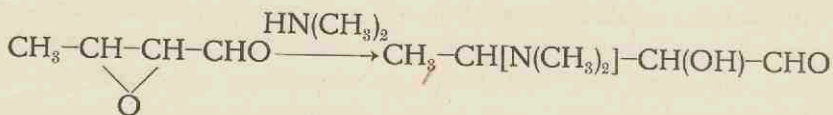
E. Erlenmeyer Jun., A. **271**, 156, 177 (1892);

F. Knoop, B. **52**, 2266 (1919);

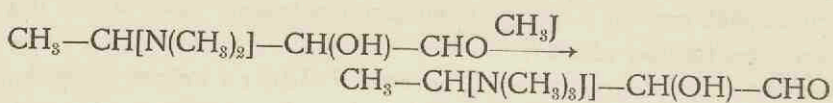
M. Oesterlin, C. 1929 II, 1398.

²⁾ A. Wohl en H. Schweitzer, B. **40**, 92 (1907).

verlopen onder vorming van α -oxy- β -amino-verbindingen. In het onderhavige geval zal de reactievergelijking aldus moeten zijn:



Het ontstane α -oxy- β -dimethylamino-butylaldehyd moet nu nog met methyljodide worden omgezet, teneinde tot het quaternaire zout te komen, hetwelk met Reinecke's zout kan worden neergeslagen.



Intussen vindt Veldstra, bij zijn analytisch onderzoek van het muscarine, een sterke aanwijzing voor een α -amino-structuur van het gift. Dit feit en mede het gebrek aan een behoorlijke quantiteit oxido-aldehyd zijn oorzaak, dat wij slechts enkele proeven ter bereiding van dit quaternaire jodide hebben gedaan.

De kleine hoeveelheden maken het zeer moeilijk de tussenproducten behoorlijk te zuiveren, zodat wij voor de bereiding van het goede eindproduct aangewezen zijn op de zo moeizame zuivering der reineckaten. De chloorauraten blijken voor dit doel ten enen male ongeschikt.

We hebben deze zuivering niet volledig uitgevoerd. Wel verkrijgen we een reineckaat, waarvan een analyse waarden geeft, die overeenstemmen met de berekende. Het chloorauraat echter, dat hieruit bereid wordt, heeft een onscherp smeltpunt en bezit een te hoog goudgehalte. Blijkbaar is het reineckaat dus nog niet zuiver.

Bij de test ¹⁾ aan het geïsoleerde kikkerhart vertoont deze stof een werkzaamheid van dezelfde orde van grootte, als die der synthetische producten van Veldstra.

¹⁾ De bij de bewerking van dit proefschrift gebruikte wijze van testen wijkt in geen enkel opzicht af van de oorspronkelijke door Kögl en medewerkers beschreven methode (zie hoofdstuk I).

HOOFDSTUK III.

BESCHOUWINGEN OVER DE CONFIGURATIE VAN MUSCARINE.

Door vergelijking van de smeltpunten der chloorauraten van het natuurlijke muscarine enerzijds en van de synthetische producten anderzijds vinden Kögl en Veldstra¹⁾ een sterke steun voor de opvatting, dat muscarine een α -amino- β -oxy-structuur heeft. Uit het volgende tabelletje blijkt, dat de goudzouten van de stoffen, welke afgeleid zijn van α -amino-aldehyden een veel lager smeltpunt (onder ontleding) vertonen dan de derivaten van β -amino-aldehyden.

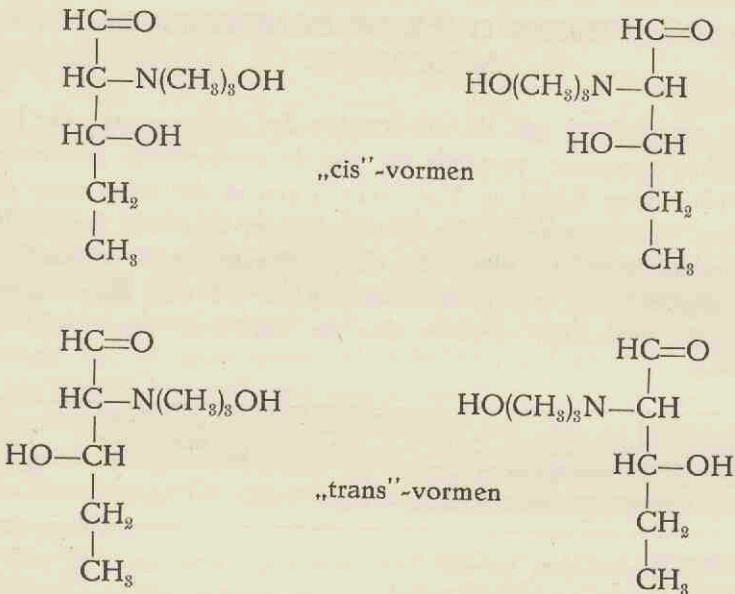
$\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CH}[\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{AuCl}_4]\text{—CHO}$	smeltpunt:	120°
$\text{CH}_3\text{—CH}(\text{OH})\text{—CH}[\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{AuCl}_4]\text{—CHO}$	"	116°
$\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CH}(\text{OH})\text{—CH}[\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{AuCl}_4]\text{—CHO}$	"	148°
$\text{CH}_3\text{—CH}[\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{AuCl}_4]\text{—CH}_2\text{—CHO}$ ²⁾	"	205—206°
$\text{CH}_3\text{—CH}[\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{AuCl}_4]\text{—CH}(\text{OH})\text{—CHO}$	"	195—196°
$\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CH}[\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{AuCl}_4]\text{—CH}(\text{OH})\text{—CHO}$	"	175—180°
Chloorauraat van muscarine	"	115—117°

Vergeleken met de smeltpunten van de chloorauraten van trimethylammoniumchloriden, afgeleid van aminen, amino-alcoholen en aminozuren zijn de smeltpunten van de goudzouten der α -amino-aldehyden zelfs bijzonder laag te noemen. Alleen bij de chloorauraten van quaternaire chloriden, welke afgeleid zijn van α -amino-aldehyd-acetalen hebben wij zulke lage smeltpunten kunnen constateren.

¹⁾ Nog niet gepubliceerd.

²⁾ Ter aanvulling door ons bereid.

Het blijkt dus, dat wij het muscarine moeten beschouwen als te zijn afgeleid van een α -amino-aldehyd. Hieruit volgt weer, dat de verschillen tussen het synthetische product en het natuurlijke van louter configuratieve aard moeten zijn. Het muscarine bezit twee asymmetrische koolstofatomen, waardoor vier isomeren mogelijk zijn, welke twee aan twee elkanders spiegelbeeld zijn. Wij zullen deze twee paren antipoden in 't vervolg aanduiden als de „cis”- en de „trans”-vormen:



Met één van deze formuleringen moet muscarine dus overeenkomen.

Uit het gedrag van het synthetische product van Veldstra is op te maken, dat het uit slechts één racemaat bestaat. Het kan niet de configuratie bezitten, waarmede het natuurlijke muscarine overeenkomt. Immers zou dan toch ongeveer de helft van de activiteit van het natuurlijke gift gevonden moeten worden. Dat dit niet zoo is, kan alleen verklaard worden uit het feit, dat bij deze synthese het verkeerde racemaat gevormd wordt. Dit behoeft geen verwondering te wekken, daar Veldstra bij deze synthese uitgaat van een stof met een dubbele binding. De twee asymmetrische koolstofatomen ontstaan door een additie aan die binding.

Bekend is, dat addities aan stoffen met een dubbele binding over

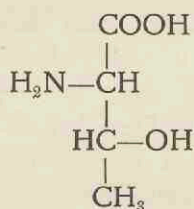
het algemeen in hoofdzaak slechts één diastereomeer leveren, tenminste als men uitgaat van de zuivere cis- of trans-vormen der stoffen ¹⁾).

Nu is van crotonaldehyd bekend, dat het minstens voor 99 0/0 uit de trans-verbinding bestaat ²⁾. Waarschijnlijk zal dit ook bij α,β -pentenal, het uitgangspunt voor de bereiding van de quaternaire ammoniumbase van α -amino- β -oxy-valeeraldehyd volgens Veldstra, het geval zijn.

Mocht bij deze synthese een kleine hoeveelheid van het andere racemaat ontstaan, bij de herhaalde noodzakelijke zuiveringen van de tussenproducten gaat dit zeker verloren. Ook behoeft men zich niet te verbazen over de geringe activiteit van de synthetische stof. Er zijn vele gevallen bekend, waarbij diastereomeren van een stof zeer grote verschillen in physiologische werkzaamheid vertonen.

Een bijzondere steun voor deze opvatting omtrent de synthese van muscarine vinden wij in de resultaten van het onderzoek van Rose en medewerkers, die een natuurlijke groeifactor voor ratten kunnen isoleren en identificeren als een α -amino- β -oxy-boterzuur ³⁾.

Na de configuratiebepaling van dit zuur noemen zij het, naar analogie van threose, d(-)threonine en schrijven:



Dit komt dus overeen met wat wij de „trans”-vorm noemen.

Een der medewerkers van Rose tracht dit threonine te bereiden ⁴⁾. Hij werkt daarbij volgens Abderhalden ⁵⁾, die uitgaat van de ester van het gewone crotonzuur (trans-vorm) en hieraan in methylalcoholische oplossing kwikacetaat addeert. Het gevormde

¹⁾ Zie bijv. G. Braun, Am. Soc. 51, 228 (1929).

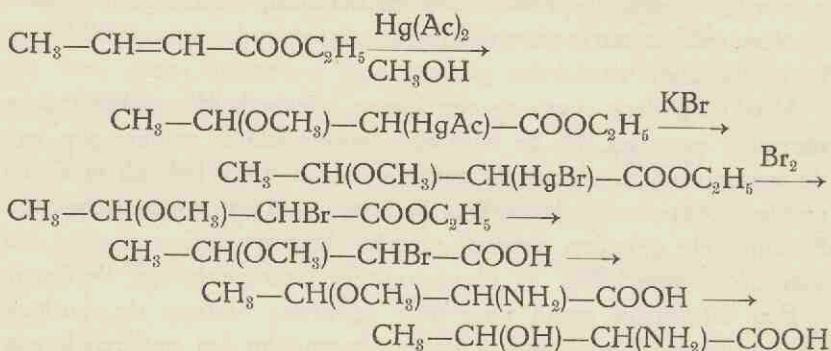
²⁾ B. Gredy en L. Piaux, C.r. 198, 1235 (1934); W. G. Young, Am. Soc. 54, 2498 (1932).

³⁾ R. H. McCoy, C. E. Meyer en W. C. Rose, J. biol. Chem. 112, 283 (1935); C. E. Meyer en W. C. Rose, J. biol. Chem. 115, 721 (1936).

⁴⁾ H. E. Carter, J. Biol. Chem. 112, 769 (1936).

⁵⁾ E. Abderhalden en K. Heyns, B 67, 530 (1934).

product wordt met kaliumbromide en broom omgezet tot *a*-broom- β -methoxy-boterzuur. Vervolgens wordt het broomatoom door een aminogroep vervangen, waarbij *a*-amino- β -methoxy-boterzuur ontstaat. Dit wordt tenslotte met broomwaterstof ontmethyleerd.



Nu blijkt het synthetische *a*-amino- β -oxy-boterzuur in hun physiologische test volkomen inactief te zijn. Bij deze synthese is slechts het inactieve stereo-isomeer ontstaan. Het gelukt Carter echter dit product gedeeltelijk te isomeriseren, waardoor het reactiemengsel actief wordt ¹⁾. Later voert deze onderzoeker de synthese nog eens uit door broom in methylalcohol te adderen aan crotonzuur ²⁾. Ook nu vindt hij weer het onwerkzame diastereomeer, d.l.-allo-threonine genoemd. Deze broom-methoxy-additie is tevens de methode, die Veldstra gebruikt om zijn *a*-broom- β -methoxy-aldehyden te bereiden, welke de uitgangproducten zijn voor de synthese van de *a*-amino- β -oxy-aldehyden.

We mogen dus wel aannemen, dat het broom-methoxy-boterzuur van Carter dezelfde configuratie bezit als het broom-methoxy-aldehyd van Veldstra. We hebben dit nog eens bevestigd door de kwikacetaat-methode te gebruiken voor de synthese van *a*-broom- β -methoxy-butyraldehyd. Oxydatie hiervan geeft een broom-methoxy-boterzuur, dat indentiek is met het door Carter verkregen product. Ook blijkt uit de verdere omzettingen, dat dit broom-methoxy-aldehyd in alle opzichten hetzelfde is als het met behulp van de broom-methoxy-additie bereide aldehyd (zie hoofdstuk V).

¹⁾ H. E. Carter, J. biol. Chem. **112**, 769 (1936).

²⁾ H. D. West, G. S. Krummel en H. E. Carter, J. biol. Chem. **122**, 605 (1938).

Om nu langs deze weg de oplossing van het configuratieprobleem van muscarine te benaderen moeten wij nog trachten na te gaan, of bij de vervanging van broom door een aminogroep configuratieverandering al dan niet plaats vindt.

Freudenberg ¹⁾ heeft bij de omzetting van α -broom-propionzuur met ammoniak, een overeenkomstige reactie dus, het optreden van een omkering volgens Walden bewezen. Op grond hiervan zouden wij, daar allo-threonine de „cis”-configuratie bezit, kunnen concluderen, dat het α -broom- β -methoxy-boterzuur van Carter en daardoor tevens het broom-methoxy-aldehyd van Veldstra, uit de „trans”-vormen bestaan.

Nemen we aan, dat de reactie van broom-methoxy-aldehyd met dimethylamine met dezelfde omkering gepaard gaat, dan zou het synthetische product de „cis”-configuratie bezitten. Hieruit zou moeten volgen, dat het natuurlijke muscarine de „trans”-vorm is. Lijkt echter deze extrapolatie al aan de gewaagde kant, als we kennis nemen van het onderzoek van Winstein en Lucas ²⁾ wordt dit alles wel heel speculatief. Deze onderzoekers tonen aan, dat bij omzettingen, waarbij normaliter configuratie-wisseling optreedt, deze soms niet geschiedt in gevallen, waar de reactie plaats vindt aan een asymmetrisch koolstofatoom, dat zich naast een ander asymmetrisch centrum in het molecuul bevindt. Daar dit laatste bij onze reacties het geval is, moeten wij er van afzien, ons anders dan zeer voorzichtig uit te laten over de configuratie van het muscarine. Hoogstens mogen wij uit de getrokken parallel tussen threonine en muscarine besluiten, dat een „trans”-configuratie van muscarine iets waarschijnlijker te achten is dan een „cis”-configuratie.

We kunnen nog proberen de oplossing van het probleem langs een andere weg te benaderen. Daartoe kan het α,β -dioxy-valeriaanzuur, door Kögl en medewerkers bij hun afbraak van muscarine volgens Hofmann geïsoleerd, ons een sleutel geven. Deze stof is namelijk identiek met het zuur, dat G. Braun ³⁾ verkrijgt door

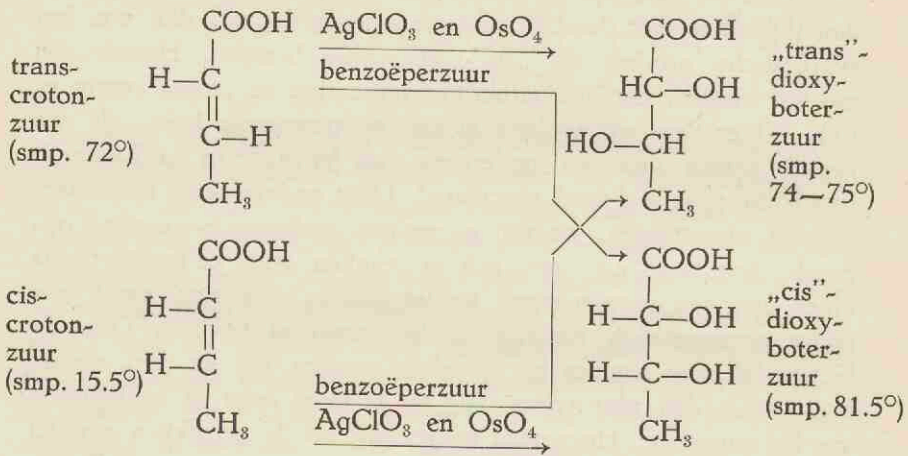
¹⁾ K. Freudenberg en F. Rhino, B. 57, 1547 (1924);

K. Freudenberg en L. Markert, B. 60, 2447 (1927).

²⁾ S. Winstein en H. J. Lucas, Am. Soc. 61, 1576, 1581 (1939).

³⁾ G. Braun, Am. Soc. 52, 3189 (1930).

oxydatie van α,β -penteenzuur met zilverchloraat en osmiumtetroxyde. Het penteenzuur wordt bereid volgens de methode van v. Auwers ¹⁾, door condensatie van malonzuur met propionaldehyd. Dit is een algemene bereidingswijze voor onverzadigde zuren, waarvan v. Auwers met vrij grote zekerheid aangetoond heeft, dat zij leidt tot de vorming van de trans-verbindingen. Deze trans- α,β -onverzadigde zuren geven volgens Braun ²⁾ bij oxydatie met benzoëperzuur de „cis”-dioxyzuren, daarentegen bij oxydatie met zilverchloraat en osmiumtetroxyde de „trans”-dioxyzuren, terwijl de cis- α,β -onverzadigde zuren juist met zilverchloraat en osmiumtetroxyde de „cis”-, met benzoëperzuur de „trans”-dioxyzuren geven.



Gezien het feit, dat het di-oxy-valeriaanzuur uit muscarine identiek is met het di-oxy-zuur, dat verkregen wordt door oxydatie van trans- α,β -penteenzuur met zilverchloraat en osmiumtetroxyde, moeten we aan dit zuur de „trans”-configuratie toekennen.

De vraag, die nu nog overblijft, is of dit zuur bij de Hofmannse afbraak met of zonder configuratie-wisseling uit muscarine ontstaat. Als muscarine inderdaad de „trans”-configuratie toekomt, zou het di-oxy-valeriaanzuur zonder Waldense omkering uit muscarine moeten ontstaan. Dit kan echter eerst vastgesteld worden na een

¹⁾ K. von Auwers, A. 432, 63 (1923).

²⁾ G. Braun, Am. Soc. 51, 228 (1929).

grondig onderzoek naar het al of niet optreden van omkering bij de Hofmannse afbraak van meer eenvoudige stoffen.

Bovendien zal het dan raadzaam zijn, gezien de resultaten van het reeds genoemde onderzoek van Winstein en Lucas, terdege rekening te houden met de aanwezigheid van het andere asymmetrie-centrum.

Op grond van de overweging, dat een degelijk onderzoek naar de configuratie van muscarine van zeer moeilijke en langdurige aard zal zijn, waarbij, gezien de kleine hoeveelheden beschikbaar materiaal en de buitengewone gevoeligheid van de stof, een goede uitslag in twijfel getrokken moet worden, besluiten wij nogmaals een poging tot synthese te doen. Nu echter met de bedoeling een methode van werken te vinden, waarbij de mogelijkheid van het ontstaan der twee diastereomeren naast elkander niet uitgesloten mag worden geacht.

HOOFDSTUK IV.

1. ENIGE POGINGEN TOT SYNTHESE VAN MUSCARINE.

Carter¹⁾ is het gelukt, inactief allo-threonine gedeeltelijk te isomeriseren door de α -formyl- β -methoxy-verbinding te koken met natronloog en azijnzuuranhydride. Na de verzeeping blijkt het reactiemengsel werkzaam te zijn als groeifactor bij ratten.

Deze ruwe methode komt voor de zo gevoelige synthetische derivaten van de α -amino- β -oxy-aldehyden zeer zeker niet in aanmerking.

Een andere mogelijkheid, die Carter ook noemt, om threonine te bereiden, is, dat men uitgaat van cis-crotonzuur. Tot nu toe schijnt deze onderzoeker daarin niet te zijn geslaagd, misschien bij gebrek aan behoorlijke hoeveelheden uitgangsmateriaal.

Een dergelijke mogelijkheid kan ook voor de synthese van muscarine worden overwogen. We zullen dan moeten uitgaan van de tot nu toe onbekende cis- α,β -onverzadigde aldehyden. Wel bestaat hier het gevaar, dat bij de broom-methoxy-addities het broom een omzetting van de cis- in de trans-verbinding zal veroorzaken, evenals bijvoorbeeld jodium de omzetting van maleïnezuur in fumaarzuur bevordert.

Uitgaande van de veronderstelling, dat de fysische constanten van cis-crotonaldehyd en derivaten verschillen zullen van die van het gewone crotonaldehyd — dit bestaat hoofdzakelijk uit de trans-vorm²⁾ — trachten wij de cis-verbinding te bereiden. Daartoe voeren we een partiële hydrering uit van tetrolaldehyd-acetaal:



Deze gedeeltelijke hydrering van een drievoudige binding is een

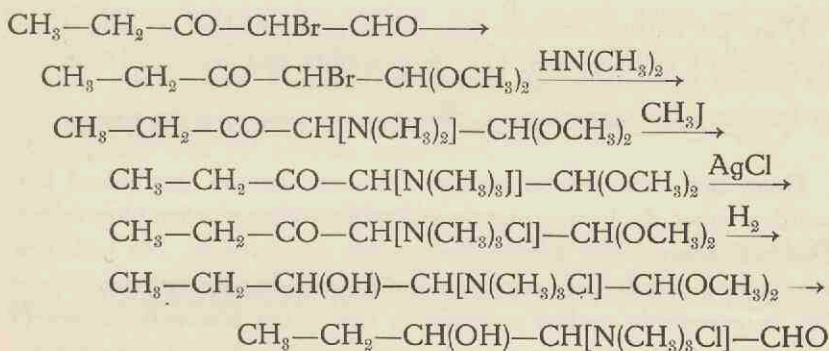
¹⁾ H. E. Carter, J. Biol. Chem. **112**, 769 (1936).

²⁾ Zie noot 2 op blz. 27.

min of meer algemene methode ter bereiding van cis-onverzadigde verbindingen ¹⁾. Het gelukt echter op deze wijze niet, cis-crotonaldehyd-acetaal te verkrijgen. Het ontstane product is een mengsel van tetrolaldehyd-acetaal, butyraldehyd-acetaal en normaal, dus trans-crotonaldehyd-acetaal.

Hierna besluiten wij een synthese uit te werken, waarbij van de aanvang af zich slechts één asymmetrisch koolstofatoom in het molecuul bevindt, terwijl dan het tweede asymmetriecentrum pas aan het einde der synthese ingevoerd zal worden.

Het verloop stellen we ons aldus voor:



Bij deze gang van zaken zal eerst in de op één na laatste trap het tweede asymmetrische koolstofatoom ontstaan. Hierdoor zal vermeden kunnen worden, dat bij de zuivering der verschillende tussenstadia het gewenste stereo-isomeer verloren gaat. Tevens moeten de kansen van het ontstaan der twee diastereomeren naast elkaar bij een geschikte reductie tamelijk gunstig beoordeeld worden.

Het uitgangspunt voor deze synthese moet zijn α -broom- β -oxo- n -valeeraldehyd, dat waarschijnlijk aldus geschreven zal moeten worden:



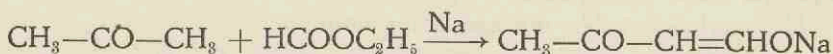
Dit naar analogie van broom-malondialdehyd, waarvan bekend is,

¹⁾ C. Paal en A. Schwarz, B. 51, 640 (1918); M. Bourguel, C. r. 180, 1753 (1925); M. Bourguel en J. Yvon, C. r. 182, 224 (1926).

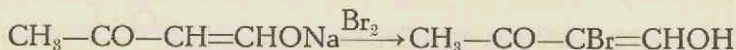
dat het in vaste vorm volkomen en in oplossing grotendeels ge-enoliseerd is ¹⁾:



Voor de synthese van de hogere homoloog van broom-malon-dialdehyd gaan wij uit van een stof, welke gevormd wordt door condensatie van aceton met mierenzure aethylester, in aanwezigheid van natrium. Deze reactie is door Claisen en medewerkers ²⁾ beschreven en verloopt aldus:



Door dit natrium-enolaat van β -oxo-butyraldehyd in benzol gesuspenderd te bromeren, kan de gewenste stof verkregen worden:



Daar aan het reactieproduct zelf ook broom geaddeerd kan worden moet de bromering op bijzondere wijze worden uitgevoerd. Daartoe wordt het broom in porties toegevoegd. Na zulk een toevoeging wordt gefiltreerd en het gevormde natriumbromide met het onveranderde enolaat opnieuw in een verse hoeveelheid benzol gesuspenderd, waarin weer een portie broom gebracht kan worden. Uit de verenigde filtraten kunnen we nu het α -broom- β -oxo-butyraldehyd als natrium-enolaat neerslaan. Door behandeling van dit enolaat met een aequivalente hoeveelheid anorganisch zuur kan het α -broom- β -oxo-butyraldehyd gewonnen worden. Het is een witte stof, die gemakkelijk sublimeert en in oplossing sterk zuur reageert. Het smeltpunt is 109—110°. Verder geeft de stof met ferrichloride een intensieve kleur, hetgeen op een enolische hydroxyl-groep wijst. De stof bezit reducerende eigenschappen. De synthese van een broom-keto-aldehyd is dus gelukt, zij het dan nog slechts in de C₄-reeks.

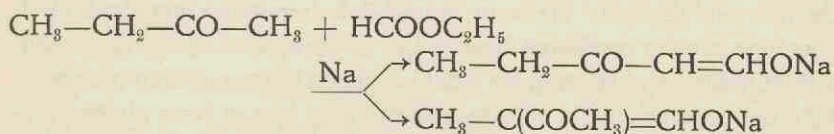
Voor de bereiding van zulk een aldehyd in de C₅-reeks, ligt het voor de hand uit te gaan van een condensatieproduct van methyl-aethylketon met mierenzure ester.

¹⁾ M. Grard, A. ch. (10) 13, 336 (1930)

²⁾ L. Claisen en N. Stylos, B. 21, 1144 (1888);

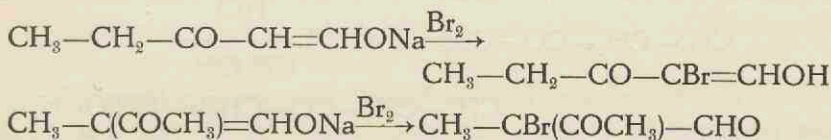
L. Claisen en P. Roosen, A. 278, 274 (1894).

Deze condensatie is reeds door Benary¹⁾ bestudeerd en geeft volgens deze auteur een mengsel van twee enolaten.



En wel bestaat volgens Benary²⁾ de opbrengst hoofdzakelijk uit het enolaat met vertakte keten en slechts ongeveer 20 0/0 uit het isomeer met de rechte keten, een voor ons doel weinig gunstige verhouding.

De bromering van het enolaat met de rechte keten zal geheel analoog moeten verlopen met die, welke wij aan zijn lagere homologe hebben uitgevoerd. Het andere enolaat zal echter met broom een product moeten geven, dat door de afwezigheid van waterstof op de α -plaats niet zal kunnen enoliseren.



In het eerste geval moet dus een natrium-enolaat gevormd kunnen worden. Inderdaad gelukt het, op grond van dit verschil, na bromering van het mengsel der twee enolaten op analoge wijze als bij het enolaat uit C_4 -reeks, een scheiding der reactieproducten te bewerkstelligen.

Aan de hand van de opbrengsten aan natrium-enolaat van broom- α -oxo-valeeraldehyd uit verschillende series proeven kunnen wij zeggen, dat de verhouding van de twee isomeren in het condensatieproduct van methyl-aethylketon met mierenzure ester, zooals deze door Benary gegeven wordt, juist is.

Uit het gevormde natrium-enolaat kan met zuur het α -broom- β -oxo- n -valeeraldehyd verkregen worden. Dit blijkt een stof te zijn, die wat chemische eigenschappen betreft, overeenkomt met het derivaat van butyraldehyd. Het smeltpunt is 105-106°.

¹⁾ E. Benary, H. Meyer en K. Charisius, B. 59, 108 (1926);

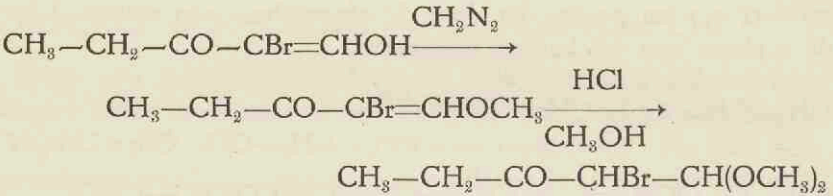
E. Benary, B. 59, 600 (1926).

²⁾ E. Benary, B. 59, 2198 (1926).

De volgende trap bestaat in het acetaliseren van de aldehyd-groep aan het α -broom- β -oxo-valeeraldehyd. Al spoedig blijkt, dat de gewone methode hiervoor, namelijk behandeling met alcoholisch zoutzuur, weinig resultaten levert. De opbrengsten zijn zeer gering.

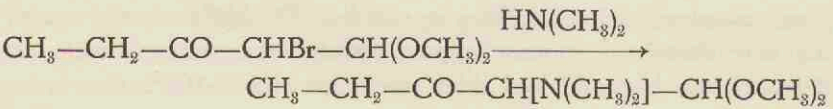
Het zure karakter van de aldehyd-groep in aanmerking genomen, lijkt het waarschijnlijk, dat de acetalisering hier in twee fasen verloopt, waarvan de eerste bestaat uit de vorming van een enol-aether en de tweede uit een additie van alcohol aan de dubbele binding.

Bij overweging hiervan valt het op, dat het eerste proces zeer goed verwerkelyk zal kunnen worden door een behandeling van het aldehyd met diazomethaan, daar dit reagens zure hydroxyl-groepen methyleert. De gevormde enol-aether zal dan verder behandeld moeten worden met alcoholisch zoutzuur:



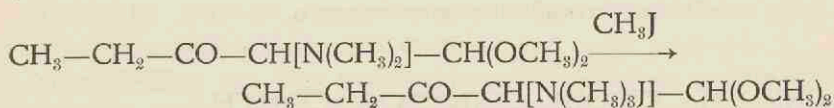
Inderdaad reageert het α -broom- β -oxo-aldehyd momentaan met diazomethaan onder stikstofontwikkeling. De gevormde methyl-aether is een vloeistof, die zeer gevoelig is voor sporen vocht; met water ontstaat weer het uitgangproduct. Daarom koken wij deze vloeistof, onmiddellijk na de bereiding met methylalcohol, welke 1–2 0/0 chloorwaterstof bevat. Zodoende verkrijgen wij het α -broom- β -oxo-valeeraldehyd-dimethylacetaal met een behoorlijke opbrengst. Het is een kleurloze vloeistof, die geen enol-reactie meer geeft.

In benzolische oplossing met dimethylamine behandeld, gelukt het, broom te vervangen door de dimethylamino-groep:

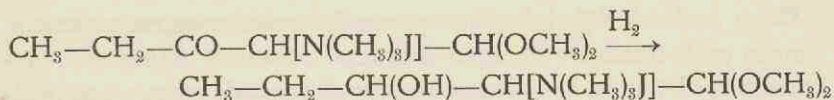


Het α -dimethylamino- β -oxo-valeeraldehyd-dimethylacetaal, een kleurloze vloeistof, is het uitgangproduct voor vele pogingen tot synthese van muscarine.

Met methyljodide kan dit tertiaire amine worden omgezet in het quaternaire jodide.



Het ligt in de bedoeling dit product te reduceren, waarbij per molecuul twee atomen waterstof opgenomen moeten worden.

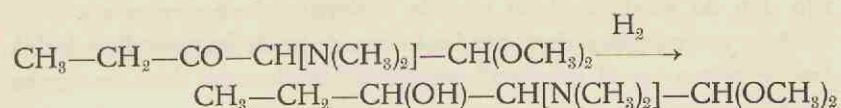


De meest geschikte methode hiervoor lijkt wel de katalytische hydrering. Hierbij is een juiste dosering mogelijk en tevens de kans op nevenreacties gering.

Tot onze verwondering neemt de stof bij deze reductie geen waterstof op. Wordt echter het quaternaire jodide met behulp van zilverchloride omgezet in het chloride, dan blijkt dit de theoretische hoeveelheid waterstof wel op te nemen.

Een verklaring voor dit verschijnsel kan misschien hierin gezocht worden, dat in het eerste geval een sterische belemmering aanwezig is, terwijl deze in het tweede geval ontbreekt door het kleinere volume van het chlooratoom.

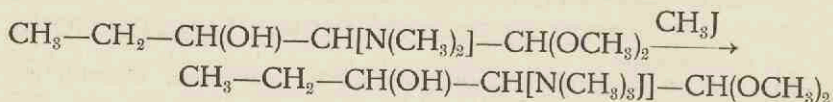
Ook het tertiaire amine neemt bij de katalytische reductie twee atomen waterstof op:



Bij deze reducties ontstaat het tweede asymmetrische koolstofatoom. Men zou hier dus twee racematen kunnen verwachten met verschillende smelt- en kookpunten. Voor een scheiding door distillatie moet men echter beschikken over vrij grote hoeveelheden materiaal, wat hier niet het geval is.

Nu is het gereduceerde quaternaire chloride een moeilijk kristalliserende olie, welke bovendien zeer hygroscopisch is. Wel geeft het met goudchloride een chloorauraat, maar ook dit kristalliseert slecht. Voor een eventuele scheiding der racematen kan deze stof dus niet dienen.

Door omzetting van het gereduceerde tertiaire amine met methyljodide krijgen wij een quaternair jodide in handen, hetwelk met enige moeite tot kristallisatie is te brengen.



Door herhaaldelijk kristalliseren van het reactiemengsel uit aceton kunnen twee fracties verkregen worden. De eerste is een wit, gekristalliseerd jodide met een scherp smeltpunt, de tweede een geelbruin stroopje.

Een analyse van de kristallijne stof geeft waarden, welke uitstekend overeenstemmen met de berekende voor het verwachte jodide. Uit 420 mg reactiemengsel kan ongeveer 350 mg van deze stof verkregen worden. Het stroopje, dat 25 mg weegt, is, gezien zijn kleur, zeer zeker niet zuiver. Het is zeer waarschijnlijk een verontreiniging, daar het amine, waaruit het met methyljodide ontstaat, na de reductie niet gedistilleerd is, juist om eventuele verliezen te vermijden. De mogelijkheid, dat het gedeeltelijk bestaat uit het stereo-isomeer van het gekristalliseerde jodide, mag echter niet geheel en al uitgesloten worden geacht. Indien dit zo is, dan zal één der gevormde stoffen na afsplitsing van de acetaalgroep in de test een activiteit moeten vertonen, welke veel groter moet zijn dan de werkzaamheid van de andere stof na verzeeping.

Deze overweging doet ons besluiten, de beide fracties afzonderlijk om te zetten in de overeenkomstige aldehyden en deze te testen op physiologische activiteit.

Omtrent de verzeeping van amino-aldehyd-acetalen is reeds een en ander bekend. Zo bereidt E. Fischer het chloorhydraat van amino-aceetaldehyd door behandeling van het acetaal met sterk zoutzuur ¹⁾. Ook behandelt hij het quaternaire ammoniumchloride van amino-aceetaldehyd-acetaal op gelijke wijze en verkrijgt daarbij het overeenkomstige aldehyd ²⁾.

Wohl en Schweitzer zetten *α*-oxy-*β*-amino-propionaldehyd-

¹⁾ E. Fischer, B. 26, 92 (1893).

²⁾ E. Fischer, B. 26, 464 (1893).

acetaal met geconcentreerd zoutzuur om in het chloorhydraat van het aldehyd¹⁾).

Veldstra verzeeft de quaternaire ammoniumchloriden van α -oxy- β -amino-aldehyd-acetalen eveneens met sterk zoutzuur.

Naar analogie van deze voorbeelden verzeppen wij de quaternaire chloriden, welke door behandeling met zilverchloride uit de jodiden ontstaan, met sterk zoutzuur. De overmaat zoutzuur wordt in een vacuumexsiccator verdampt.

Geen der gevormde stoffen bezit echter meer dan een geringe activiteit bij de test aan het geïsoleerde kikkerhart. Met goudchloride worden slechts olieachtige neerslagen gevormd. Uit geen enkele van deze met geconcentreerd zoutzuur behandelde quaternaire derivaten van α -amino-aldehyden gelukt het, behoorlijk gekristalliseerde chloorauraten te verkrijgen, terwijl toch uit één der fracties het door Veldstra bereide chloorauraat, met een smeltpunt 148°, gevormd moet worden.

Om nu de verzeeping van deze acetalen na te gaan, behandelen wij de volgende stof gedurende verschillende tijden met sterk zoutzuur bij kamertemperatuur:



Na verdunning met water wordt een oplossing van Reinecke's zout toegevoegd. De gevormde reineckaten worden geanalyseerd. Dit geschiedt door het chroomgehalte te bepalen volgens een door Veldstra gevonden methode.

Een afgewogen hoeveelheid reineckaats wordt in een platina schuitje in een micro-moffel (volgens Pregl)²⁾ langzaam verbrand en vervolgens gegloeid, waarbij chroomoxyde (Cr_2O_3) achterblijft en gewogen kan worden. Daar bij gloeien van chroomoxyde chromichromaat (Cr_2O_3 , 2 CrO_3) ontstaat, hetgeen aanleiding geeft tot onnauwkeurige resultaten, verhitten wij het platina schuitje met inhoud nog gedurende een half uur in een zwakke waterstofstroom, waarbij het chromaat weer overgaat in chroomoxyde³⁾).

¹⁾ A. Wohl en H. Schweitzer, B. 40, 92 (1907).

²⁾ F. Pregl, Die quantitative organische Mikroanalyse blz. 170. J. Springer, Berlin, 1935.

³⁾ Traedwell, K. Lehrbuch der Analyt. Chem. II, blz. 88; F. Deuticke Leipzig und Wien, 1927.

De op deze wijze uitgevoerde analyse van reineckaten geeft zeer goed te reproducieren waarden. Ter contrôle kan cholinereineckaat gebruikt worden.

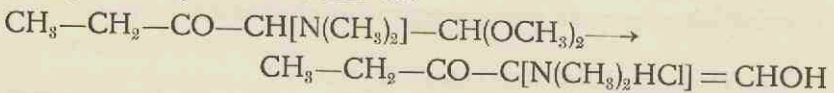
De analysecijfers van de reineckaten, verkregen door behandeling van bovengenoemd acetaal met zoutzuur, zijn hieronder in een tabel verenigd:

10 mg acetaal bij kamertemperatuur behandeld met 0,1 cm ³ zoutzuur		chromoanalyse van de reineckaten			
normaliteit van het zuur	tijd in uren	afgewogen rein. in mg	gevonden oxyde in mg	chromo-gehalte	gemiddeld
4	4 ^{1/2}	4,386	0,653	10,19	
4	4 ^{1/2}	4,590	0,671	10,00	10,10
4	8	5,628	0,842	10,24	
4	8	5,841	0,869	10,18	10,21
12	2	5,820	0,862	10,14	
12	2	6,830	1,024	10,26	10,20
12	8	7,011	1,060	10,35	
12	8	5,480	0,839	10,48	10,41
12	75	4,437	0,767	11,83	
12	75	5,089	0,876	11,78	11,80

chromo-gehalte van reineckaat van $\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CO—CH[N(CH}_3)_3\text{Cl]—CH(OCH}_3)_2$: 9,96
 " " " " $\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CO—CH[N(CH}_3)_3\text{Cl]—CHO}$: 10,92

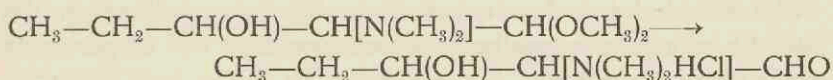
Hieruit kan men concluderen, dat bij langere behandeling met zoutzuur een afbraak van het molecuul plaats vindt, waardoor het chroomgehalte hoger wordt dan de berekende waarde voor het gewenste aldehyd. Deze wijze van verzepen leidt dus bij deze soort acetalen niet, of althans slechts gedeeltelijk tot de overeenkomstige aldehyden.

Verrassenderwijze geeft echter de behandeling met zoutzuur van het tertiaire amino-aldehyd wel het gewenste resultaat. Hierbij kristalliseert het hydrochloride van α -dimethylamino- β -oxo-valeer-aldehyd in vrij zuivere vorm uit.



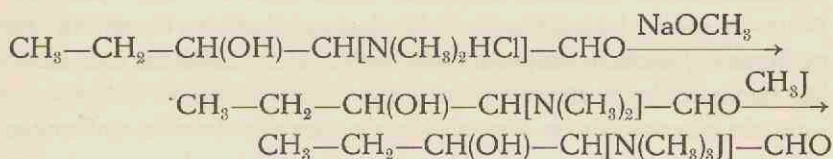
De aldehydgroep is tenminste gedeeltelijk geëmoliseerd, daar de stof met ferrichloride een intensieve kleur geeft, zij het van voorbijgaande aard.

Het α -dimethylamino- β -oxy-valeeraldehyd-acetaal kan op gelijke wijze met zoutzuur worden omgezet tot het aldehyd:



Het gevormde zoutzure zout is hier een heldere hygroscopische stroop met sterk reducerende eigenschappen. Daar een analyse van deze stroop niet mogelijk is, vervolgen wij in een serie proeven de gewichtsverandering bij de verzeping. Deze komt overeen met de berekende verandering. Ter verdere controle kan de stof getitreerd worden in absolute alcohol. Inderdaad moet ter neutralisatie van het gebonden zoutzuur de berekende hoeveelheid loog toegevoegd worden.

Voor de bereiding van het quaternaire derivaat wordt bij het hydrochloride, dat opgelost is in een weinig absolute methylalcohol, de aequivalente hoeveelheid natriummethylaat in methanol gevoegd. Vervolgens wordt met methyljodide enige tijd verwarmd. Na verdampen van de vluchtige stoffen blijft een mengsel van natriumchloride en het quaternaire jodide achter. Met behulp van een oplossing van Reinecke's zout kan hieruit een reineckaats verkregen worden. Dit wordt gezuiverd door achtereenvolgens op te lossen in een weinig aceton en neer te slaan met water.



Een meer voor de hand liggende methode ter verkrijging van de quaternaire jodiden uit de chloorhydraten van de tertiaire basen is als volgt: het hydrochloride oplossen in weinig water, neutraliseren met bicarbonaat of soda en de vrije tertiaire base extraheren met aether. Na verdampen van de aether blijft dan de base achter, welke met of zonder voorafgaande distillatie in het quaternaire jodide kan worden omgezet ¹⁾.

Voor kleine hoeveelheden is deze methode echter minder geschikt,

¹⁾ Vgl. H. Emde, Ar. 247, 130 (1909).

daar het vrije amino-aldehyd een zeer oxydabele stof is en bovendien neiging tot polymeriseren bezit.

Het voordeel van de eerstgenoemde wijze van werken is, dat juist die manipulaties, welke voor een gevoelige stof zo gevaarlijk zijn, vermeden worden.

Door ontleding van het gevormde reineckaat volgens Kapfhammer en Bischoff¹⁾ kan hieruit een quaternair chloride bereid worden. Een waterige oplossing hiervan geeft met goudchloride een neerslag, dat niet tot kristallisatie te brengen is. Dit wijst erop, dat de stof niet zuiver is.

De zuivering van reineckaten is zeer langdurig en moeilijk. Daarom hebben wij getracht, het dimethylamino-oxy-aldehyd, dat in methylalcoholische oplossing ontstaat bij de neutralisatie van het chloorhydraat, te isoleren en te zuiveren door distillatie in vacuum. Dit gaat echter zeer slecht; wel gaan enkele druppels over, maar het merendeel verharst. De geringe hoeveelheid distillaat bezit sterk reducerende eigenschappen. Met methyljodide wordt een quaternair jodide gevormd, dat niet kristalliseert en direct omgezet wordt tot reineckaat. Ook dit reineckaat wordt op bovengenoemde wijze ontleed tot quaternair chloride, dat met goudchloride nu een kristallijn neerslag geeft, echter met een onscherp smeltpunt.

Klaarblijkelijk ontstaan er bij de verzeping van α -dimethylamino- β -oxy-valeeraldehyd-acetaal en de daaropvolgende omzetting tot quaternair jodide nevenproducten, welke niet of althans zeer moeilijk te verwijderen zijn.

In de physiologische test blijken de gesynthetiseerde stoffen een zeer geringe activiteit te bezitten, van dezelfde orde van grootte als de door Veldstra voor zijn synthetische producten gevonden waarden.

Door dit resultaat is wel komen vast te staan, dat ook bij deze poging tot synthese van muscarine, slechts één stereo-isomeer gevormd wordt. Wij moeten concluderen, dat de katalytische hydriering van de carbonylgroep naast het asymmetrische koolstofatoom in dit geval slechts één der te verwachten diastereomeren levert.

¹⁾ J. Kapfhammer en C. Bischoff, H, 191, 182 (1930).

De onderzoeken over de vorming van stereo-isomeren bij de reductie van ketonen zijn vrij talrijk, de resultaten echter verre van overeenstemmend. Wat betreft de katalytische reductie is dit te verklaren. Het verloop hiervan hangt, behalve van de P_H der oplossing, sterk af van de „werkzaamheid” van de katalysator. Deze is weer een functie van de aard van het oppervlak en de deeltjes-grootte. Het is dan ook ondoenlijk, ondanks nauwkeurig werken, steeds een katalysator met dezelfde „werkzaamheid” te bereiden.

Daar, zoals Skita ¹⁾ bij de bereiding der stereo-isomere methyl-cyclohexanolen door katalytische reductie van methyl-cyclohexanon heeft aangetoond, de hydreringstijd de verhouding der opbrengsten aan beide cyclohexanolen sterk beïnvloedt en deze tijd weer afhangt van de „werkzaamheid” van de katalysator, kunnen hieruit de uiteenlopende resultaten der verschillende onderzoekers zeer wel worden verklaard.

Zo moet hieruit waarschijnlijk ook worden verklaard, dat bij de serie hydreringen, welke wij hebben uitgevoerd, een enkel reductieproduct na verdere verwerking in de kikkerharttest een activiteit bezit, die 40 tot 50 malen groter is dan de werkzaamheid der door Veldstra gesynthetiseerde stoffen, echter nog steeds slechts ongeveer $\frac{1}{4}\%$ bedraagt van de activiteit van het natuurlijke muscarine.

In het algemeen kan men zeggen, dat door de onderzoeken van Skita, Vavon, Hückel en Godschof is komen vast te staan, dat de reductie van cyclische ketonen, waarbij twee diastereomeren te verwachten zijn, zeer eenzijdig kan verlopen, in extreme gevallen slechts één der isomeren kan ontstaan. De omstandigheden, onder welke één der producten sterk kan domineren zijn reeds door Skita ²⁾ beschreven. Zo schijnt de katalytische hydrering in zure oplossing (ijsazijn) overwegend tot de „cis”-vorm, de alkalische reductie (natrium en alcohol) tot de „trans”-vorm te leiden.

F. Kayser ³⁾ vindt bij de reductie van desoxy-benzoinen met natriumamalgaam en met natrium en alcohol slechts één der isomeren.

Toch lopen de onderzoeken van verschillende auteurs, in de

¹⁾ A. Skita en W. Faust, B. 64, 2878 (1931).

²⁾ A. Skita, B. 53, 1792 (1920); A. 427, 255 (1922).

³⁾ F. Kayser, A.ch. (11) 6, 145 (1936).

alifatische reeks, nog sterker uiteen, zodat het hier moeilijk valt, een algemeen geldige regel op te stellen.

Gezien het bovenstaande behoeft het dus geen verwondering te wekken, dat bij de katalytische hydrering van amino-oxo-verbindingen slechts één diastereomeer ontstaat. Aan de andere kant behoort het niet tot de onmogelijkheden, dat de alkalische reductie tot het andere isomeer zal leiden. In ieder geval lijkt het te verantwoorden om een poging tot een dergelijke reductie te ondernemen.

Een poging tot reductie van α -dimethylamino- β -oxo-valeer-aldehyd-acetaal met natrium in vochtige aether, dus met waterstof in statu nascendi, mislukt. Het uitgangproduct kan onveranderd teruggewonnen worden.

Een reductie van genoemde stof met natriumamalgaam in zwak zure oplossing leidt evenmin tot het gewenste resultaat. Hierbij wordt de aminoverbinding grotendeels ontleed. Waarschijnlijk moet deze ontleding worden toegeschreven aan een afbraak van het amine volgens Emde¹⁾. Deze auteur heeft gevonden, dat α -amino- en α -methylamino-ketonen nog wel met natriumamalgaam zijn te reduceren tot de overeenkomstige alcoholen; bij de reductie van α -dimethyl-ketonen en daarvan afgeleide quaternaire basen treedt echter een afsplitsing van de aminogroep op, welke bekend is als de afbraak van Emde²⁾.

Een andere in de laatste tijd veel gebruikte methode ter reductie van carbonylgroepen is de behandeling met aluminium-isopropylaat in benzol of isopropylalcohol. Door het kiezen van een geschikte temperatuur wordt de tijdens deze reactie gevormde aceton door distillatie verwijderd.

In het distillaat kan met dinitrophenylhydrazine op aceton gereageerd worden. Dit is een contrôle op het voortschrijden der reactie. Over het algemeen is de duur van deze reductie ongeveer een dag³⁾.

Nu is de katalytische hydrering van α -dimethylamino- β -oxo-valeeraldehyd-acetaal reeds een tamelijk langdurig proces, de reductie van deze stof met aluminium-isopropylaat neemt ongeveer tien

¹⁾ H. Emde en E. Runne, Ar. 249, 354 (1911).

²⁾ Vgl. F. Faltis en M. Krausz, M. 42, 377 (1921).

³⁾ Vgl. H. Lund, B. 70, 1520 (1937).

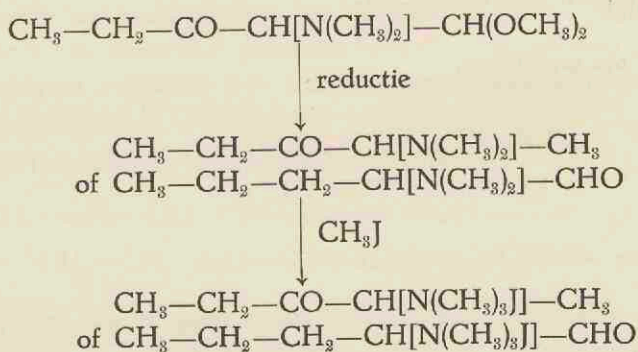
dagen in beslag. Deze lange duur maakt de reactie dan ook ongeschikt voor het onderhavige geval. Het reactiemengsel wordt na enkele dagen reeds bruin en bij verdere verwerking blijken grotendeels hoogkokende, waarschijnlijk gepolymeriseerde stoffen te zijn ontstaan.

W. E. Bachmann¹⁾ beschrijft een natriumamalgaam-reductie van ketonen, welke op bijzondere wijze uitgevoerd wordt. Het keton, opgelost in een mengsel van droge aether en benzol, wordt met natriumamalgaam geschud, onder toevoeging van alcohol. Deze laatste stof levert de voor de reductie benodigde waterstof.

Deze wijze van werken lijkt zeer aantrekkelijk voor de reductie van de betreffende keto-verbinding, immers de reductie verloopt geheel in organisch milieu.

Men kan na afloop van de reactie het gevormde natriumalcoholaat verwijderen door schudden met water en na verdampen van de oplosmiddelen het reactieproduct overhouden.

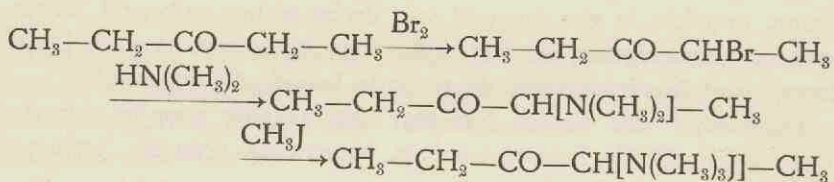
Een aldus uitgevoerde reactie geeft hoofdzakelijk gepolymeriseerde producten, echter een kleine fractie met een kookpunt, dat veel lager ligt dan voor het gewenste product te verwachten is. Het is een sterk basisch reagerende, heldere vloeistof, die met methyljodide een goed gekristalliseerd jodide geeft. De analyse van dit quaternaire zout wijst op een empirische formule $C_8H_{18}ONJ$. De methoxylgroepen moeten dus afgesplitst zijn. Tevens moet de hierbij ontstane aldehyd- of de reeds in het molecuul aanwezige keto-groep tot methyl- resp. methyleengroep gereduceerd zijn.



¹⁾ W. E. Bachmann, Am. Soc. 55, 770 (1933).

Uit een mededeling van Veldstra¹⁾ is ons bekend, dat het smeltpunt van het quaternaire ammoniumjodide van α -amino-valeer-aldehyd 158° bedraagt. Daar het gevormde product bij 131° smelt, moet het identiek zijn van deze twee stoffen uitgesloten worden geacht.

Het quaternaire ammoniumjodide, afgeleid van α -amino-diaethylketon is, hoewel niet bekend in de literatuur, gemakkelijk te bereiden:



Het op deze wijze bereide quaternaire jodide blijkt in alle opzichten gelijk te zijn aan de stof, die ontstaat bij de natriumamalgaamreductie volgens Bachmann.

Hoewel met deze synthese één der reactieproducten geïdentificeerd is, blijft het mechanisme van de reductie een raadsel.

Samenvattend kunnen we zeggen, dat de verschillende pogingen tot reductie van de carbonylgroep in α -dimethylamino- β -oxo-valeer-aldehyd-acetaal stuiten op de instabiliteit van deze stof of van de gevormde producten onder de omstandigheden, welke voor deze reacties nodig zijn. Een uitzondering moet worden gemaakt voor de katalytische hydrering. Hierbij ontstaat echter slechts één der te verwachten diastereomeren.

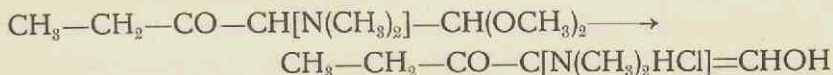
¹⁾ Nog niet gepubliceerd.

2. SYNTHESE VAN „MUSCARON”.

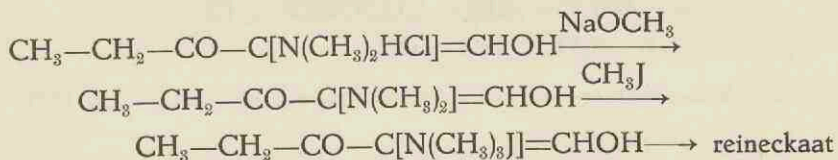
Al reeds bij de aanvang van de in dit hoofdstuk beschreven poging tot synthese van muscarine lijkt het interessant, tevens te trachten het overeenkomstige keton te bereiden, dat wij gemakshalve met „muscaron” willen aanduiden. „Muscaron” is dus de quaternaire ammoniumbase van α -amino- β -oxo-valeeraldehyd, welke zich van het muscarine alleen onderscheidt door het ontbreken der twee waterstofatomen van de β -plaats:



Het hydrochloride van het dimethylamino-derivaat is reeds vermeld. Het ontstaat bij de verzeeping van α -dimethylamino- β -oxo-valeeraldehyd-acetaal met sterk zoutzuur. Op grond van zijn eigenschappen schrijven wij het in de enol-vorm.



Wordt nu aan deze stof, opgelost in alcohol, de aequivalente hoeveelheid natriumalcoholaat toegevoegd, dan ontstaat de vrije base, welke met methyljodide het quaternaire jodide geeft. Hiervan wordt een reineekaal gemaakt, hetwelk door oplossen in aceton en vervolgens neerslaan met water gezuiverd kan worden.



Zo gezien zou er geen reden bestaan, het quaternaire zout niet als enolvorm te formuleren. Echter kan met ferrichloride slechts een uiterst zwakke reactie geconstateerd worden.

Bij een nader onderzoek van deze verbinding zal ook een enol-betaïne-formulering ¹⁾ niet buiten beschouwing mogen blijven:



Opmerkelijk is verder nog, dat de opbrengst aan quaternair jodide, respectievelijk reïneekaat, slechts 35 % van de theorie bedraagt.

Voor een nadere contrôle wordt uit het reïneekaat op bekende wijze een chloorauraat bereid. Dit smelt bij 98—99° en bezit een goudgehalte, dat met het berekende overeenkomt.

In de test blijkt het quaternaire ammoniumchloride van α -amino- β -oxo-valeeraldehyd een zeer geringe werkzaamheid te bezitten, van dezelfde orde van grootte als de door Veldstra gevonden activiteiten.

¹⁾ Vgl. F. Kröhnke, B. 68, 1177 (1935).

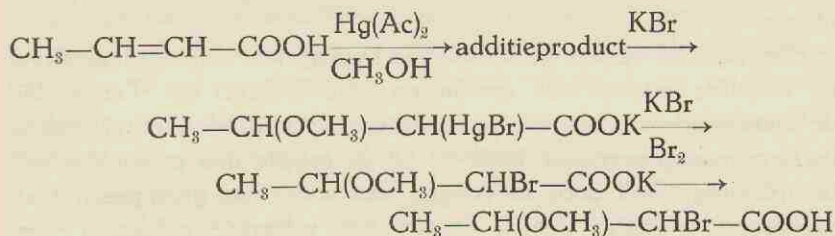
HOOFDSTUK V.

ADDITIE VAN KWIKACETAAT AAN α,β -ONVERZADIGDE ALDEHYDEN.

Carter ¹⁾ verkrijgt bij zijn poging tot synthese van d.l-threonine, volgens de door Abderhalden ²⁾ uitgewerkte methode, slechts het stereo-isomeer van deze stof, het d.l-*allo*-threonine. Ook de additie van broom in methylalcohol aan crotonzuur geeft, bij verdere bewerking van het reactieproduct, alleen d.l-*allo*-threonine ³⁾.

Bij een nadere bestudering van de methode van Abderhalden gelukt het de medewerkers van W. C. Rose ⁴⁾ door het aanbrengen van variaties in de oorspronkelijke uitvoering der reactie, een mengsel van beide diastereomeren te bereiden.

Hiervoor adderen deze onderzoekers het kwikacetaat aan crotonzuur, inplaats van aan de ester van dit zuur. Een ander verschil met de vroegere bereidingswijze is, dat de bromering in een waterige oplossing van kaliumbromide uitgevoerd wordt.



Het gelukt niet, de diastereomere α -broom- β -methoxy-boterzuren

¹⁾ H. E. Carter, J. biol. Chem. **112**, 769 (1936).

²⁾ E. Abderhalden en K. Heyns, B. **67**, 530 (1934).

³⁾ H. D. West, G. S. Krummel en H. E. Carter, J. biol. Chem. **122**, 605 (1938).

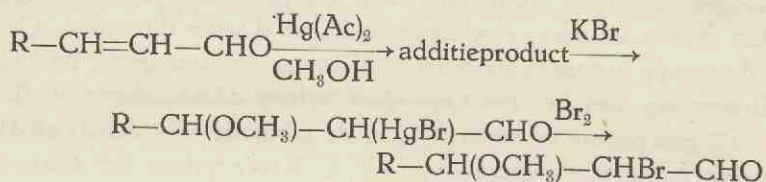
⁴⁾ H. D. West en H. E. Carter, J. biol. Chem. **119**, 103 (1937).

te scheiden. Na de omzetting met ammoniak kunnen echter de formyl-derivaten van de beide amino-methoxy-boterzuren gescheiden worden op grond van hun verschil in oplosbaarheid ¹⁾.

Deze zuiver experimenteel gevonden bereidingswijze van een mengsel der beide stereo-isomeren te verklaren, lijkt voorshands nog onmogelijk.

Desondanks is het de moeite waard, de kwikacetaatadditie aan α,β -onverzadigde aldehyden nader te bestuderen. De mogelijkheid, dat hierbij de beide vormen ontstaan, is door de boven beschreven synthese in principe gegeven.

Daar als uitgangsmateriaal het voor de synthese van muscarine benodigde α,β -pentenal te kostbaar is, besluiten wij weer, de methode aan crotonaldehyd uit te werken.



Al spoedig blijkt nu, dat de bereiding van α -broom- β -methoxy-aldehyden volgens dit schema, alleen door een zeer bepaalde wijze van werken uitgevoerd kan worden. Het aanbrenge van variaties in de trant van dezulke, als door Rose en medewerkers aangebracht bij de bereiding van het overeenkomstige zuur, welke tot zo verrassende resultaten hebben geleid, blijkt in dit geval niet mogelijk te zijn.

Een verschil tussen de additie van kwikacetaat aan crotonaldehyd en dezelfde additie aan crotonzuur valt al direct op. Terwijl bij de laatstgenoemde reactie het additieproduct uit de methylalcoholische oplossing neerslaat, blijft dit bij de reactie aan crotonaldehyd in oplossing. Ook door toevoegen van water kan geen precipitaat verkregen worden. Wordt echter een waterige oplossing van kaliumbromide bij het reactiemengsel gevoegd, dan scheidt zich een visceuze vloeistof af, welke vrij spoedig ontleedt.

Opgelost in chloroform kan dit product gebromeerd worden, waarbij goede koeling noodzakelijk is. Bij deze reactie slaat kwikbromide neer. Wordt na verwijdering hiervan de chloroform ver-

¹⁾ H. D. West en H. E. Carter, J. biol. Chem. 119, 109 (1937).

dampst en getracht, de achterblijvende olie in vacuum te distilleren, dan treedt spoedig ontleding op. Bij nader onderzoek blijkt de chloroformoplossing nog aanzienlijke hoeveelheden kwik te bevatten, welke alleen door grondig wassen met water verwijderd kunnen worden. Na deze bewerking treedt bij de distillatie geen noemenswaardige ontleding meer op. Door goede fractionering met behulp van een flinke opzet, kan nu een kleurloze vloeistof verkregen worden. De analyse geeft waarden, welke overeenkomen met de berekende voor het dimethylacetaal van α -broom- β -methoxy-butyr-aldehyd.

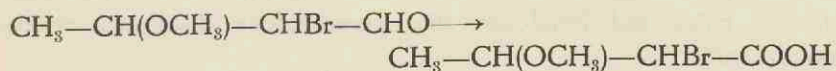


Maar ook dikwijls vinden we een mengsel van acetaal en half-acetaal. Waarschijnlijk gaat het aldehyd, door zijn grotere oplosbaarheid in water, verloren tengevolge van het wassen van de chloroformoplossing.

Verkorting van de duur der additie geeft niet het gewenste aldehyd, doch steeds een mengsel van acetaal en halfacetaal. Voor de bereiding van het aldehyd moet dit acetaal dus verzeept worden. Uit tal van proeven blijkt dit het beste te kunnen geschieden door gedurende dertig minuten te schudden met 6 n zoutzuur, waarin het acetaal niet oplost, het aldehyd daarentegen wel. Langere tijd behandelen met zoutzuur doet ook de methoxylgroep afsplitsen. Hetzelfde bereikt men met meer geconcentreerd zuur.

Na een half uur schudden kan uit de heldere oplossing het aldehyd verkregen worden door extraheren met aether. De aetherische oplossing levert tenslotte een kleurloze vloeistof, die in vacuum gedistilleerd wordt en, wat analyse en eigenschappen betreft, overeenkomt met broom-methoxy-butyr-aldehyd.

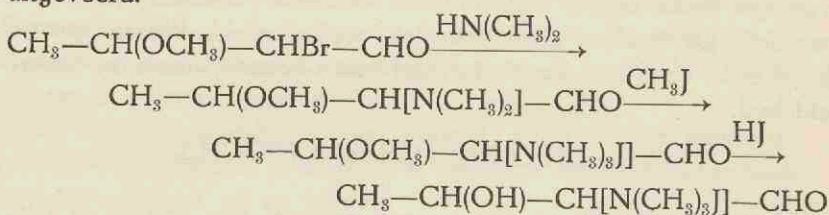
De oxydatie van dit aldehyd met permanganaat leidt geheel overeenkomstig met die van het α -broom- β -methoxy-butyr-aldehyd van Veldstra tot α -broom- β -methoxy-crotonzuur



Dit zuur is identiek met het broom-methoxy-crotonzuur, hetwelk

wij op de door Carter ¹⁾ aangegeven wijze, additie van broom in methylalcohol aan crotonzuur, hebben bereid.

De verdere omzettingen, welke, uitgaande van α -broom- β -methoxy-butylaldehyd moeten leiden tot de quaternaire ammoniumbase van α -amino- β -oxy-butylaldehyd, worden nu geheel volgens Veldstra uitgevoerd.



De tussenproducten worden, om verlies van één der eventueel aanwezige diastereomeren te voorkomen, in slechts geringe mate gezuiverd. Na de ontmethylering bereiden wij het reïneekaat van de base en gebruiken dit om de physiologische werkzaamheid van het ruwe product te bepalen. Deze blijkt zeer gering te zijn.

Ter contróle reinigen we een gedeelte van het quaternaire ammoniumjodide van α -amino- β -methoxy-butylaldehyd, door herhaalde kristallisatie uit alcohol.

In overeenstemming met Veldstra vinden we voor deze stof een smeltpunt bij 160°. Een andere stof, eventueel het diastereomeer, schijnt niet aanwezig te zijn. Dit blijkt ook reeds uit de geringe physiologische activiteit van het preparaat, aannemende, dat de base uit de C₄-reeks met een configuratie evenals muscarine ook een activiteit zal bezitten, die, zoal niet gelijk, dan toch van de zelfde orde van grootte zal zijn als de activiteit van het natuurlijke muscarine.

De mogelijkheid, dat bij de herhaalde distillatie van het broom-methoxy-aldehyd-acetaal en van het vrije aldehyd het gewenste diastereomeer verloren is gegaan, blijft nog bestaan. Nochtans zijn, om deze producten enigszins zuiver te verkrijgen, tenminste zodanig, dat ze enige tijd houdbaar zijn, verscheidene distillaties zeker noodzakelijk.

¹⁾ Zie noot 3 op blz 49.

Nu de hierboven beschreven synthese met crotonaldehyd voldoende uitgewerkt is, kunnen we deze herhalen met α,β -pentenal en ons bij de zuivering van de tussenproducten beperken tot de meest noodzakelijke. De reacties verlopen in de C_5 -reeks op bijna volkomen analoge wijze. Pentenal wordt door additie van kwik-acetaat in methylalcohol, daaropvolgende bromering en verzeping, omgezet in α -broom- β -methoxy-valeeraldehyd. Op eveneens geheel overeenkomstige wijze kan dit product, door omzetting met resp. dimethylamine, methyljodide en joodwaterstofzuur tenslotte een reïneekaat geven.

Ook dit product blijkt een zeer geringe activiteit te bezitten, van dezelfde orde van grootte als de door Veldstra gevonden waarden.

Uit het ruwe, nog niet met joodwaterstofzuur behandelde jodide wordt door herhaalde kristallisatie uit alcohol, het quaternaire ammoniumjodide van α -amino- β -methoxy-valeeraldehyd geïsoleerd, in de vorm van mooie witte ruitjes, met hetzelfde smeltpunt als in de dissertatie van Veldstra voor deze stof is aangegeven.

Een in alcohol onoplosbaar gedeelte, hetwelk we uit verdunde alcohol kristalliseren, kunnen we identificeren als tetramethylammoniumjodide.

Een andere stof, welke zich in het reactiemengsel bevindt, kan niet zuiver verkregen worden. Deze stof bezit geen reducerende eigenschappen en is dus zeker niet het gezochte diastereomeer.

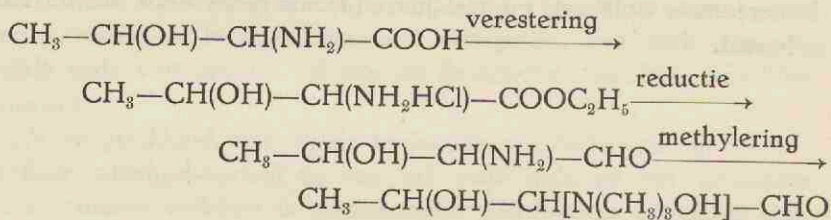
We moeten dus concluderen, dat ook deze synthese slechts één diastereomeer oplevert, en wel hetzelfde als reeds door Veldstra is bereid.

HOOFDSTUK VI.

1. REDUCTIE VAN THREONINE EN ALLO-THREONINE.

Het werk van W. C. Rose en medewerkers, dat wij hier reeds meerdere malen hebben aangehaald ¹⁾, opent nog een interessante mogelijkheid tot een synthese van muscarine. Hiertoe moeten wij het combineren met enkele, veel oudere publicaties van Neuberg ²⁾ en Fischer ³⁾, waarin deze beide auteurs, onafhankelijk van elkaar, een reductie beschrijven van α -aminozuren esters tot α -amino-aldehyden, met behulp van natriumamalgaam.

Langs de door eerstgenoemde onderzoekers aangegeven wegen blijkt het mogelijk, de beide stereo-isomere α -amino- β -oxy-botere-zuren, d.l-threonine en d.l-allo-threonine te bereiden. Indien nu deze zuren gereduceerd kunnen worden volgens Neuberg en Fischer, tot de overeenkomstige aldehyden, dan zullen hiermede stoffen verkregen zijn, welke slechts een volledige methylering aan het stikstofatoom behoeven om de twee stereo-isomere, lagere homologen van muscarine te geven.



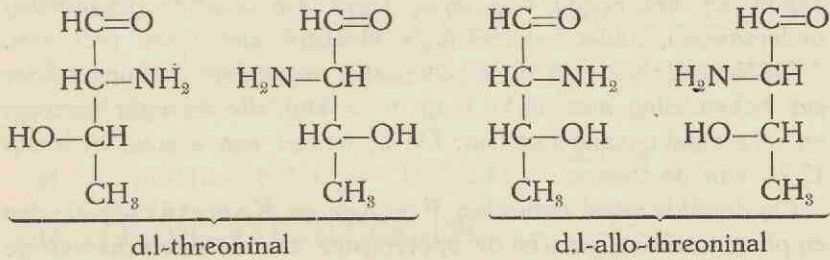
Deze synthese bezit, boven de tot dusver gebezigde methoden,

¹⁾ Zie de hoofdstukken III en V.

²⁾ C. Neuberg, B. **41**, 956 (1908).

³⁾ E. Fischer, B. **41**, 1019 (1908).

het grote voordeel, uit te gaan van de zuivere diastereomeren. Het α -amino- β -oxy-aldehyd uit d.l-threonine, dat wij d.l-threoninal zullen noemen, bezit de „trans”-configuratie; het stereo-isomeer, d.l-allo-threoninal, is de met allo-threonine overeenstemmende „cis”-vorm.



De reductie van aminozure esters is een tot nu toe slechts weinig toegepaste methode ter verkrijging van amino-aldehyden. Over het algemeen gaat men als volgt te werk.

In een zwak zure waterige of alcoholische oplossing van de ester wordt onder koeling portiegewijs natriumamalgam gebracht, waarbij zorg gedragen wordt, dat de vloeistof steeds zwak zuur blijft. Al spoedig reduceert een proefje van het reactiemengsel Fehling's vloeistof. De hoeveelheid van dit reagens, die gereduceerd wordt, is tevens een maat voor de in het reactiemengsel aanwezige hoeveelheid aldehyd.

Wanneer de maximale hoeveelheid Fehling's proefvocht gereduceerd wordt, is in de vloeistof 20—30 % aldehyd aanwezig. Toevoeging van meer amalgam doet het reducerend vermogen van de oplossing niet toenemen. Het blijkt nu echter niet mogelijk, het amino-aldehyd als zodanig te isoleren, daar deze stof snel ontleedt.

Neuberg¹⁾ maakt daarom gebruik van nitrophenylhydrazine. Neuberg en Kansky²⁾ reduceren o.a. de esters van glycine, alanine en leucine en slaan de gevormde aldehyden als nitrophenylhydrazonen neer.

Fischer³⁾ maakt gebruik van het feit, dat de acetalen besten-

¹⁾ C. Neuberg, B. 41, 956 (1908).

²⁾ C. Neuberg en E. Kansky, Bio. Z. 20; 450 (1909).

³⁾ E. Fischer, B. 41, 1019 (1908).

diger zijn dan de aldehyden. Bij de reductie van glycine-ester verdamt hij de reactievloeistof in vacuum, neemt het residu op in absolute alcohol, filtreert van anorganisch zout en verzadigt de alcoholische oplossing met zoutzuur. Hierbij slaat het chloorhydraat van de glycine-ester neer. Dit wordt verwijderd, de alcohol verdamt en het residu nog enige keren aan dezelfde behandeling onderworpen, totdat het Fehling's vloeistof niet meer reduceert.

De laatste rest van de glycine-ester verwijdert de auteur door een behandeling met sterke loog in de kou, die de ester verzeept en het acetaal onaangetast laat. De opbrengst aan acetaal bedraagt 17 % van de theorie.

Op dezelfde wijze reduceren Fischer en Kametaka¹⁾ alanine en phenyl-alanine, waarbij de opbrengsten aan de overeenkomstige acetalen resp. 17 % en 15—23 % zijn.

Volledigheidshalve noemen wij ook Akabori en medewerkers²⁾, die de esters van glycine, alanine, leucine en phenyl-alanine reduceren, zonder echter de aldehyden te isoleren.

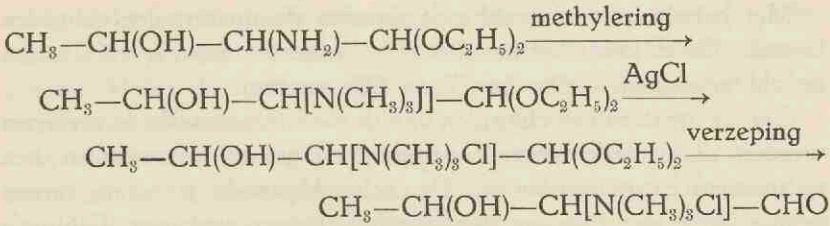
De verestering van threonine en allo-threonine levert generlei moeilijkheden op. De chloorhydraten van de esters zijn goed gekristalliseerde stoffen.

Met enkele veranderingen voeren wij de reductie van de esters en de opwerking van de gevormde aldehyden tot de acetalen, in hoofdzaak op de hierboven beschreven wijze uit. De isolering van de amino-aldehyden uit het reactiemengsel als acetalen verdient in dit geval de voorkeur boven de bereiding der phenylhydrazonen. Het threoninal-diaethylacetaal en het allo-threoninal-diaethylacetaal zijn kleurloze vloeistoffen, die slechts weinig in kookpunt verschillen. Ter contrôle worden de pikraten bereid, welke inderdaad een verschillend smeltpunt bezitten.

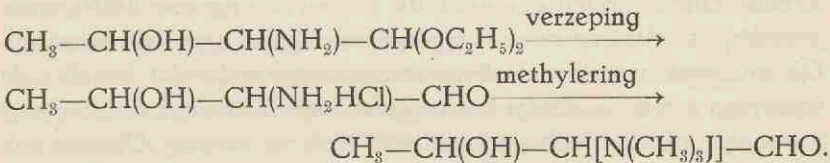
Wij kunnen nu de amino-acetalen methyleren tot de overeenkomstige quaternaire ammoniumzouten en deze trachten te verzeppen tot de aldehyden.

¹⁾ E. Fischer en T. Kametaka, A. 365, 7 (1909).

²⁾ S. Akabori, B. 66, 151 (1933); S. Akabori en S. Numano, B. 66, 159 (1933); B. Toi en S. Akabori, Bull. chem. Soc. Japan 12, 316 (1937).



Een andere weg is de verzeeping van de primaire amino-acetalen, gevolgd door de methylering.



In het eerste geval moeten dus weer acetalen van quaternaire ammoniumchloriden met geconcentreerd zoutzuur verzeept worden, een proces, dat volgens vroeger opgedane ervaringen niet of slechts gedeeltelijk tot de overeenkomstige aldehyden leidt ¹⁾. In tegenstelling tot de vroegere proeven hebben wij hier echter de beide stereo-isomere acetalen. Het mag niet uitgesloten worden geacht, dat één der stoffen zich anders gedraagt. Bovendien is hier sprake van diaethylacetalen, terwijl onze vroegere ervaringen zich beperken tot dimethylacetalen. Gezien deze feiten lijkt het de moeite waard, te trachten op deze wijze tot het gewenste resultaat te komen, temeer daar het tweede schema waarschijnlijk moeilijkheden op zal leveren.

De methylering geschiedt volgens Emde en Runne ²⁾ met methyljodide en natriummethylaat in absolute methylalcohol. Na het methyleringsproces verdampen wij het methyljodide en de alcohol; een mengsel van quaternair jodide en natriumjodide blijft achter. Deze stoffen worden gescheiden met behulp van chloroform, waarin het anorganische zout niet oplost. Zodoende verkrijgen wij de quaternaire jodiden van threoninal-diaethylacetaal en allo-threoninal-diaethylacetaal. Het zijn goed gekristalliseerde stoffen met een verschillend smeltpunt.

¹⁾ Zie hoofdstuk IV.

²⁾ H. Emde en E. Runne. Ar. 249, 371 (1911).

Met behulp van zilverchloride worden de quaternaire chloriden bereid. Deze kristalliseren niet. Ter contrôle maken wij daarom de chloorauraten, welke bij 77 en 68° smelten.

Om de quaternaire chloriden van de α -amino-acetalen te verzeppen worden zij in sterk zoutzuur opgelost en hierna het zuur in een vacuumexsiccator verdampt. De achterblijvende stroopjes geven geen reactie met fuchsine-zwaveligzuur, echter wel met Fehling's proefvocht. In de kikkertest blijken zij een niet noemenswaardige activiteit te bezitten. Met goudchloride worden moeilijk kristalliserende chloorauraten gevormd, die beiden bij ongeveer 140° (onder ontleding) smelten en wier mengsmeltpunt geen depressie vertoont. De analyses van de chloorauraten wijzen erop, dat behalve de verzeeping van de acetaalgroep nog een tweede reactie heeft plaats gevonden, nl. de afsplitsing van een molecuul water. Dit zou ook de gelijkheid der beide chloorauraten kunnen verklaren. Hoe het ook zij, het is wel duidelijk, dat de verzeeping met zoutzuur van deze soort acetalen niet het beoogde resultaat geeft.

Een poging om de acetalen op geheel andere wijze te verzeppen, volgens Berlinerblau¹⁾ met barietloog, heeft al evenmin succes. De stoffen worden door dit reagens in het geheel niet aangetast.

Er blijft dus weinig anders over dan de verzeeping van de primaire amino-acetalen, gevolgd door de methylering van de overeenkomstige aldehyden. In dit verband rijzen onmiddellijk enkele moeilijkheden. Het is namelijk de vraag of wij mogen aannemen, dat de verzeeping van de primaire amino-acetalen analoog zal verlopen aan de reeds vroeger besproken ontleding van de tertiaire amino-acetalen²⁾. Indien dit zo is, dan moeten de α -amino- β -oxy-aldehyden gemethyleerd worden, een reactie, waarvan de moeilijkheden met het oog op de gevoeligheid der aldehyden zeker niet onderschat mogen worden.

De verzeeping van deze acetalen met geconcentreerd zoutzuur levert bijna kleurloze stroopjes, die na rigoureuus drogen vast worden en gezuiverd kunnen worden door oplossen in absolute alcohol en neerslaan met droge aether.

De witte, zeer hygroscopische stoffen reduceren Fehling's proef-

¹⁾ J. Berlinerblau, B. 17, 1139 (1884).

²⁾ Zie hoofdstuk IV.

vocht en kleuren fuchsine-zwaveligzuur rood, hoewel niet in gelijke mate. Het verzepte product, dat afkomstig is uit allo-threoninal-acetaal, kleurt de fuchsine-oplossing veel intensiever dan het andere uit threoninal-acetaal.

In waterige oplossing geven deze stoffen met dilituurzuur (5-nitrobarbituurzuur)¹⁾ onoplosbare zouten, die onderling in kristalvorm en oplosbaarheid verschillen. De micro-analysen van de dilituraten geven echter geen behoorlijk overeenstemmende waarden, hetgeen misschien te wijten is aan het feit, dat deze stoffen moeilijk te verbranden zijn.

De methylering van de verzepte producten wordt geheel analoog aan die der acetalen uitgevoerd. Opgelost in methylalcohol wordt geneutraliseerd met natriummethylaat, methyljodide toegevoegd, verwarmd, opnieuw de aequivalente hoeveelheid loog toegevoegd, weer verwarmd en tenslotte na toevoeging van dezelfde hoeveelheid loog en hieropvolgende verwarming, de vloeistof verdampt en het residu opgenomen in water. Tijdens deze behandeling wordt het reactiemengsel al spoedig donkerbruin. In de waterige oplossing slaan wij het reactieproduct als reïneekaat neer.

Zodoende verkrijgen wij twee reïneekaten, uit elk der diastereomeren één. Zij worden op de bekende wijze ontleed en de ontstane producten getest. Geen der beide stoffen bezit echter een grotere activiteit, dan tot dusver gevonden.

¹⁾ Vgl. C. E. Redemann en C. Niemann, Am. Soc. 62, 590 (1940).

2. CONCLUSIES.

De verzeeping van threoninal-diaethylacetaal en allo-threoninal-diaethylacetaal, gevolgd door volledige methylering aan de stikstof, geeft dus geen physiologisch actieve producten. Bij het zoeken naar een verklaring van deze onwerkzaamheid moeten wij drie feiten onder het oog zien. Ten eerste hebben wij niet uitgemaakt of de α -amino- β -oxy-butylaldehyd-acetalen inderdaad met geconcentreerd zoutzuur de overeenkomstige aldehyden geven. Ten tweede is de methylering van de vrije amino-aldehyden een zeer précaire reactie, waarbij het heel goed mogelijk is, dat de stoffen polymeriseren. Tenslotte moet niet vergeten worden, dat hier slechts de lagere homoloog van muscarine kan ontstaan. Hoewel het niet onwaarschijnlijk lijkt, dat deze stof een activiteit zal bezitten van dezelfde orde van grootte als het natuurlijke product, kunnen wij toch hieromtrent niets met zekerheid zeggen.

Deze overwegingen in aanmerking genomen, behoeft dus de physiologische onwerkzaamheid van de ontstane producten geen verwondering te wekken.

De twee eerstgenoemde moeilijkheden zijn te vermijden door synthese van de beide stereo-isomere quaternaire chloriden der α -amino- β -oxy-butylaldehyd-acetalen.

De verzeeping van deze producten is dan slechts de enige hinderpaal. Hiervoor zal echter een meer uitgebreid onderzoek noodzakelijk zijn, naar de verzeeping van acetalen in het algemeen en meer in het bijzonder naar de splitsing van de quaternaire derivaten van α -amino-acetalen.

Zou na zulk een onderzoek blijken, dat deze reactie niet uitvoerbaar is, dan moeten ter isolering van de aldehyden, die bij de reductie van Neuberg en Fischer ontstaan, andere methoden gebruikt worden. De reagentia, die hiervoor in aanmerking komen, zullen aan de volgende voorwaarden moeten voldoen. Zij moeten

in de eerste plaats met de betreffende amino-aldehyden stabiele verbindingen geven, die dan gemethyleerd kunnen worden. Bij de gevormde stoffen, derivaten van quaternaire amino-aldehyden, moet het oorspronkelijke reagens weer gemakkelijk afgesplitst en verwijderd kunnen worden, zonder dat het aldehyd daarbij een verandering ondergaat.

Na op deze wijze de aldehyden uit de C_4 -reeks te hebben verkregen, kunnen de diastereomeren met vijf koolstofatomen gesynthetiseerd worden door reductie van de hogere homologen van threonine en allo-threonine. De reductie van Neuberg en Fischer lijkt voorlopig wel de meest aangewezen weg tot synthese van muscarine. Bij een andere wijze van werken is de kans groot, dat slechts één der beide mogelijke diastereomeren ontstaat.

Afgezien van de synthetische kant van het vraagstuk is aan het analytische gedeelte nog een interessante bijdrage toe te voegen, namelijk de afbraak volgens Hofmann van de synthetische quaternaire basen, afgeleid van α -amino- β -oxy-butyaldehyd en het overeenkomstige product uit de C_5 -reeks. Deze afbraak is reeds door Veldstra uitgevoerd en verloopt ogenschijnlijk geheel als die van het natuurlijke muscarine. Zo kan in beide gevallen trimethylamine aangetoond worden.

Het gelukte Veldstra echter niet de onstane zuren te isoleren en juist deze zuren zijn belangrijk als verdere steun voor onze opvattingen van het probleem. Immers uit het natuurlijke muscarine ontstaat het „trans”-dioxy-valeriaanzuur, dus moeten uit de synthetische producten, die de andere configuratie bezitten, de „cis”-dioxyzuren ontstaan en wel het „cis”-dioxy-boterzuur en het „cis”-dioxy-valeriaanzuur.

Nu hebben wij bij de synthese van deze twee zuren opgemerkt, dat zij, vooral het boterzuur-derivaat, niet zo gemakkelijk kristalliseren en bij verhoogde temperatuur vrij spoedig ontleden. Dit zou dus een verklaring kunnen zijn voor de vergeefse poging van Veldstra, de zuren na de afbraak van Hofmann te isoleren.

Indien bij een meer uitvoerige bestudering van de Hofmannse afbraak van de synthetische basen, de beide „cis”-dioxy-zuren verkregen kunnen worden, zal hiermede op volkomen overtuigende wijze bewezen zijn, dat de verschillen tussen het synthetische product en het natuurlijke van configuratieve aard zijn. Hierna

zal het misschien mogelijk zijn, de configuratie van muscarine te bepalen, door een onderzoek in te stellen naar het al of niet optreden van Waldense omkering bij deze afbraak.

Wij zullen tenslotte dit hoofdstuk beëindigen met de opmerking, dat, hoewel dit werk geen synthese van muscarine heeft gebracht, het toch enkele perspectieven geopend heeft, die de taak van de volgende onderzoeker enigszins kunnen vergemakkelijken.

HOOFDSTUK VII.

EXPERIMENTEEL GEDEELTE.

Bij de aanvang van het experimentele gedeelte van mijn proefschrift wil ik niet nalaten mijn dank uit te spreken aan hen, die mij bij het tot stand komen van dit gedeelte behulpzaam zijn geweest.

In het bijzonder is het werk van de heren G. J. M. van der Kerk en J. H. Verbeek voor mij van grote waarde geweest. Ook de heer P. J. Hubers, welke op voortreffelijke wijze de micro-analysen heeft uitgevoerd, betuig ik hier mijn dank.

1. Experimentele gegevens betreffende hoofdstuk II.

Di-oxidopropyl-glycol.

Aan een oplossing van 15 g dipropenylglycol in 50 cm³ petroleumaether (kp. 40—60°) voegen wij onder koeling een geconcentreerde oplossing van benzoëperzuur in aether toe. Het hiervoor benodigde perzuur wordt bereid volgens W. C. Smit¹⁾. Steeds zorgen wij ervoor, een kleine overmaat hiervan toe te voegen. Het reactiemengsel wordt nu gedurende enige dagen bij 0° bewaard. Na verloop van deze tijd heeft zich op de glaswand een kristallijn neerslag afgezet. De vloeistof wordt afgeschonken en de kristallen nog enige keren met aether gewassen. Zij kunnen door kristalliseren uit een mengsel van aceton en alcohol gezuiverd worden.

De opbrengsten variëren bij verschillende proeven van 1 tot 2 gram. Het smeltpunt is 138—140°²⁾.

a,β-oxido-*n*-butyraldehyd (2,3-epoxy-butanal).

7 g di-oxidopropyl-glycol en 17,8 g lood-tetra-acetaat worden in een rondbodem overgoten met 475 g pentaan. Dit mengsel wordt nu onder uitsluiting van vocht zacht verwarmd op een waterbad.

¹⁾ W. C. Smit, diss. Delft 1929.

²⁾ De in dit proefschrift opgegeven smeltpunten zijn niet gecorrigeerd.

Na verloop van enige dagen geeft een proefje van de vloeistof, op vochtig filtreerpapier gebracht, geen bruinkleuring meer te zien. Dit wijst erop dat alle lood-tetra-acetaat verbruikt is, want met water vormt deze stof lood-dioxyde.

De vloeistof wordt nu gefiltreerd van het ontstane loodacetaat en ter verwijdering van het gevormde azijnzuur zo lang geschud met vast bicarbonaat en een weinig water, tot geen zure reactie meer valt waar te nemen. Na te hebben gedroogd met calciumchloride, distilleren wij de pentaan zeer langzaam over, met behulp van een fractioneeropzet.

De achterblijvende vloeistof, die een volume heeft van ongeveer $1\frac{1}{2}$ cm³, wordt onder verlaagde druk enige keren gedistilleerd. Bij 230 mm druk vangen wij tenslotte een fractie op, welke van 87—88° kookt. De opbrengst is 400 mg. Het is een kleurloze, heldere vloeistof, met een sterk reducerend vermogen. Een druppel ervan in een oplossing van kaliumjodide in ijsazijn gebracht, geeft een sterke bruinkleuring.

Analyse

4,986 mg stof : 10,250 mg CO₂; 3,440 mg H₂O.

Berekend voor C₄H₆O₂ (86) : C 55,81; H 6,98.

Gevonden : C 56,07; H 7,67.

Omzetting van *a*,*β*-oxido-*n*-butyraldehyd met dimethylamine.

Bij 200 mg *a*,*β*-oxido-butryaldehyd wordt onder koeling 4 cm³ van een waterige oplossing gevoegd, welke 15 0/10 dimethylamine bevat. Wij bewaren dit mengsel gedurende enkele dagen bij kamertemperatuur. Na verloop hiervan verzadigen wij de vloeistof met vast kaliumcarbonaat en schudden zes malen uit met aether. De lichtgele, aetherische oplossing wordt gedroogd met natriumsulfaat en de aether in vacuum verdampt. Om het dimethylamine volledig te verwijderen, nemen wij het residu nog eens in droge aether op en verdampen deze wederom in vacuum. De achterblijvende lichtgele vloeistof heeft basische eigenschappen en bezit een sterk reducerend vermogen ten opzichte van Fehling's proefvocht.

Omzetting met methyljodide.

De vloeistof, welke verkregen is door de omzetting van het oxido-aldehyd met dimethylamine, wordt nu opgenomen in 1 cm³

absolute methylalcohol en hierbij 2 cm³ methyljodide gevoegd. Na enige tijd staan, koken wij het mengsel zachtjes gedurende twintig minuten, laten afkoelen en voegen droge aether toe. Hierbij slaat het quaternaire jodide grotendeels als olie neer. De bovenstaande vloeistof wordt gedecanteerd en de olie nog enige keren gewassen met aether.

Tenslotte verwijderen wij de laatste resten aether en verdere eventueel aanwezige vluchtige stoffen, door de olie enige tijd in vacuüm te houden.

De lichtgele stroop reduceert Fehling's vloeistof.

Omzetting tot reineckaats.

Bij de oplossing van dit quaternaire jodide in water voegen wij een waterige oplossing van Reinecke's zout, die 1,5 g per 50 cm³ bevat. Het zout is bereid volgens Adams¹⁾. Het reineckaats slaat onmiddellijk neer en wordt gefiltreerd en gedroogd. De opbrengst bedraagt 320 mg.

In porties van 100 mg wordt het reineckaats opnieuw gekristalliseerd door oplossen in een mengsel van aceton en water en hieruit de aceton gedeeltelijk te verdampen in een geëvacueerde ruimte. Als nu een gedeelte gekristalliseerd is, filtreren wij en verdampen uit het filtraat weer wat meer aceton, totdat weer kristallisatie optreedt. Zo verkrijgen wij een aantal fracties, die afzonderlijk geanalyseerd moeten worden. De fracties, die het laatst kristalliseren, blijken over het algemeen bij een analyse waarden te geven, die het beste overeenkomen met de theoretische.

Analysen ²⁾

1. 2,029 mg stof	: 2,060 mg CO ₂ ; 0,920 mg H ₂ O.
2. 2,572 " "	: 2,665 " CO ₂ ; 1,140 " H ₂ O.
1. 1,395 " "	: 0,256 cm ³ N ₂ (26°, 755 mm).
Berekend voor C ₁₁ H ₂₂ O ₂ N ₇ S ₄ Cr (464)	: C 28,45; H 4,74; N 21,12.
Gevonden	1 : C 27,69; H 5,04; N 20,83.
	2 : C 28,26; H 4,92.

¹⁾ R. Adams, Organic Syntheses XV, blz. 74. J. Wiley and Sons, New York (1935).

²⁾ Vaste stoffen worden voor elke analyse bij kamertemperatuur in vacuüm gedroogd boven fosforpentoxyde.

Ontleding van het reineckaats.

Deze geschiedt volgens Kapfhammer en Bischoff¹⁾. Wij lossen een afgewogen hoeveelheid reineckaats op in een mengsel van aceton en water. Hieraan wordt een overmaat zilversulfaat-oplossing toegevoegd en het onoplosbare zilverreineckaats gefiltreerd. Bij het filtraat voegen wij nu een aequivalente hoeveelheid bariumchloride, opgelost in water. Het neergeslagen bariumsulfaat wordt door filtratie verwijderd en het filtraat in vacuum bij 40—50° ingedampt.

Het aldus verkregen quaternaire chloride kan, opgelost in een bepaald volume Ringer's vloeistof, gebruikt worden voor pharmacologische proeven. Het kan echter ook tot allerlei omzettingen dienen. In het onderhavige geval maken wij er een chloorauraats van, door toevoeging van een 20 proc. oplossing van goudchloride in water.

Het smeltpunt van dit chloorauraats blijft ook na herhaalde malen kristalliseren onscherp van 167—172°. Ook het goudgehalte is hoger dan de berekende waarde.

Analyse

2,372 mg stof	: 1,014 mg Au.
Berekend voor $C_7H_{16}O_2NAuCl_4$ (485) :	Au 40,62.
Gevonden	: Au 42,75.

¹⁾ Zie noot 1 op blz. 14.

2. Experimentele gegevens betreffende hoofdstuk IV.

Oxymethyleen-aceton-natrium.

Deze stof wordt geheel volgens Claisen ¹⁾ bereid. Het is een lichtgele, hygroscopische stof, welke met zuur triacetyl-benzol geeft. Voor de verdere bewerking wordt boven fosforpentoxyde in vacuum gedroogd.

α-broom-*β*-oxo-*n*-butyraldehyd.

10 g oxymethyleen-aceton-natrium wordt in droge benzol gesuspenderd. Onder koelen en flink schudden wordt nu 5 g broom, in benzol opgelost, langzaam toegevoegd. Na te hebben gefiltreerd suspenderen wij de vaste stof opnieuw in benzol en herhalen de bewerking. Aldus wordt in drie keren de theoretisch benodigde hoeveelheid broom verbruikt.

Bij de verenigde filtraten wordt nu voorzichtig 50 cm³ van een natriumalcoholaat-oplossing gedruppeld, welke per liter 20 g natrium bevat.

Het natrium-enolaat van *α*-broom-*β*-oxo-butyraldehyd slaat langzaam neer. De opbrengst is ongeveer 8 g, 45 % van de theorie.

Ter verkrijging van het vrije aldehyd lossen wij het enolaat in een weinig water op, zuren aan met 6 n zoutzuur en extraheren met aether. Na drogen en verdampen van de aether kan een witte stof verkregen worden, die na kristalliseren uit cyclohexaan bij 109—110° smelt. De stof sublimeert zeer gemakkelijk, bij gewone druk reeds vanaf 50°. Fehling's proefvocht wordt snel gereduceerd. Met ferrichloride geeft de stof een intensieve kleur.

Analysen

1. 3,538 mg stof	: 3,82 mg CO ₂ ; 0,97 mg H ₂ O.
2. 3,924 „ „	: 4,195 „ CO ₂ ; 1,030 „ H ₂ O.
1. 3,095 „ „	: 3,52 „ AgBr.
Berekend voor C ₄ H ₅ O ₂ Br (165)	: C 29,09; H 3,03; Br 48,48.
Gevonden	1 : C 29,45; H 3,05; Br 48,40.
	2 : C 29,16; H 2,92.

¹⁾ Zie noot 2 op blz. 34.

Oxymethyleen-methylaethylketon-natrium.

In een halve liter rondbodem wordt 15—20 g natrium onder toluol gesmolten. Door onder heftig schudden af te koelen, kan het natrium in fijn verdeelde toestand verkregen worden. De toluol wordt afgeschonken en vervangen door droge aether. In de loop van een halve dag voegen wij onder koeling een mengsel van aequimolaire hoeveelheden methylaethylketon en aethylformiaat toe. Een gele stof slaat neer. Na een nacht staan wordt gefiltreerd en het neerslag uitgewassen met aether.

De opbrengst aan natrium-enolaat is bijna quantitatief.

Natrium-enolaat van α -broom- β -oxo- n -valeeraldehyd.

20 g oxymethyleen-methylaethylketon-natrium wordt in benzol gesuspenderd en op dezelfde wijze in drie étappes gebromeerd als de lagere homoloog. Door neerslaan met natriumalcoholaat kan ook hier het gewenste product verkregen worden. Het is een witte tot lichtgele stof. De opbrengst uit verschillende bromeringen van elk 20 g natriumzout bedraagt gemiddeld 5,5 g, d.i. 15 % van de theorie.

 α -broom- β -oxo- n -valeeraldehyd.

Geheel analoog aan de bereiding van de lagere homoloog kan uit het natrium-enolaat van α -broom- β -oxo- n -valeeraldehyd met zuur het vrije aldehyd verkregen worden en wel uit 5 g enolaat 3,5 g ruw product.

Na kristalliseren uit cyclohexaan, waaraan een weinig benzol is toegevoegd, krijgen we 2,5 g van het zuivere, goed gekristalliseerde α -broom- β -oxo- n -valeeraldehyd in handen. Smeltpunt 105—106°.

De stof bezit dezelfde eigenschappen als zijn lagere homoloog. Fehling's proefvocht wordt gereduceerd. Het product geeft een sterke enol-reactie met ferrichloride en sublimeert gemakkelijk. Bij een titratie met loog in waterig milieu wordt per grammolecuul één mol loog verbruikt.

Analyse

3,088 mg stof	: 3,83 mg CO ₂ ; 1,15 mg H ₂ O.
3,162 „ „	: 3,33 „ AgBr.
Berekend voor C ₅ H ₇ O ₂ Br (179) :	C 33,52; H 3,91; Br 44,69.
Gevonden	: C 33,83; H 4,14; Br 44,81.

*α -broom- β -oxo-*n*-valeeraldehyd-dimethylacetaal.*

10 g *α -broom- β -oxo-*n*-valeeraldehyd* wordt in gedeelten, onder koeling, in een aetherische oplossing van diazomethaan gebracht. Onder heftige gasontwikkeling lost het aldehyd op.

Na verdampen van de aether voegen wij bij de resterende vloeistof 200 cm³ 1—2 proc. methylalcoholisch zoutzuur en bewaren dit mengsel 24 uren bij kamertemperatuur, onder afsluiting van vocht. Daarna wordt nog 4 uren op een waterbad verwarmd. Als vervolgens de alcohol in vacuum verwijderd is, nemen wij de achterblijvende vloeistof in aether op en schudden met 10 cm³ gekoelde, 10 proc. oplossing van kaliloog in water. Hierna wordt de aetherlaag afgescheiden en de waterige laag nog vijf malen met aether uitgetrokken, het verenigde aetherische extract gedroogd op natriumsulfaat en vervolgens de aether verdampt.

Van de vloeistof, die achter blijft, gaat de hoofdfractie, d.i. ongeveer 9 g, over van 96—100° onder 14 mm druk.

Het product is een kleurloze vloeistof, die bij staan spoedig geel wordt. Met ferrichloride treedt geen verkleuring op. Wel reduceert het product Fehling's proefvocht in de warmte. Hoewel de broom-analyse nog enigszins afwijkt van de berekende waarde, is de stof toch voldoende zuiver voor de volgende omzetting.

Analyse

4,931 mg stof	: 4,04 mg AgBr.
Berekend voor C ₇ H ₁₃ O ₃ Br (225)	: Br 35,56.
Gevonden	: Br 34,86.

 *α -dimethylamino- β -oxo-*n*-valeeraldehyd-dimethylacetaal.*

*α -broom- β -oxo-*n*-valeeraldehyd-dimethylacetaal* wordt, opgelost in droge benzol, met een overmaat dimethylamine in een Carius-buis ingesmolten en gedurende enkele uren verwarmd op 100°. Bij afkoeling kristalliseert dimethylamine-hydrobromide uit; het wordt door filtratie verwijderd.

Wij verdampen nu de benzol in vacuum en nemen de achterblijvende vloeistof in aether op. Deze aetherische oplossing moet ter verwijdering van de laatste resten van het hydrobromide enige keren met een weinig water geschud worden.

Na verdampen van de aether, blijft een heldere, gele vloeistof achter, welke wij onder koeling voorzichtig aanzuren met 6 n

zoutzuur. Dan wordt enige malen met aether uitgetrokken, om niet omgezette broomverbinding te verwijderen. Hierna maken wij de vloeistof basisch met sterke loog en verzadigen met kaliumcarbonaat. Door uitschudden met aether kan een aetherische oplossing verkregen worden, welke na drogen op natriumsulfaat en verdampen van de aether het gewenste product oplevert. Kookpunt 54—55° bij 0,3 mm. Het is een tamelijk visceuze, kleurloze vloeistof, die bij staan spoedig geel wordt. Met ferrichloride treedt geen verkleuring op. Fehling's proefvocht wordt bij verwarmen gereduceerd.

Uit 10 g van de broom-verbinding kunnen op deze wijze 4 à 5 g zuiver *a*-dimethylamino- β -oxo-*n*-valeeraldehyd-dimethylacetaal verkregen worden.

Analysen

1. 3,023 mg stof	: 6,34 mg CO ₂ ; 2,76 mg H ₂ O.
2. 3,961 " "	: 8,295 " CO ₂ ; 3,630 " H ₂ O.
1. 6,331 " "	: 0,380 cm ³ N ₂ (23°, 759 mm).
2. 4,254 " "	: 0,274 cm ³ N ₂ (24,5°, 755 mm).
Berekend voor C ₉ H ₁₉ O ₃ N (189)	: C 57,14; H 10,05; N 7,41.
Gevonden	1 : C 57,20; H 10,14; N 6,91.
	2 : C 57,11; H 10,18; N 7,34.

a-dimethylamino- β -oxo-*n*-valeeraldehyd-diaethylacetaal.

Uitgaande van *a*-broom- β -oxo-*n*-valeeraldehyd, kan deze stof op dezelfde wijze bereid worden als het dimethylacetaal. Slechts met dit verschil, dat na de omzetting met diazomethaan, nu met aethylalcoholisch zoutzuur behandeld moet worden.

Het ruwe *a*-broom- β -oxo-*n*-valeeraldehyd-diaethylacetaal wordt op geheel analoge wijze met dimethylamine omgezet en het gevormde product overeenkomstig verder gezuiverd. Het kookpunt is 65—66° bij 0,5 mm. Wat chemische eigenschappen betreft, deze zijn geheel gelijk aan die van het dimethylacetaal.

Analyse

2,027 mg stof	: 4,545 mg CO ₂ ; 2,010 mg H ₂ O.
3,995 " "	: 0,232 cm ³ N ₂ (23°, 758 mm).
Berekend voor C ₁₁ H ₂₃ O ₃ N (217)	: C 60,83; H 10,60; N 6,45.
Gevonden	: C 61,15; H 11,02; N 6,68.

Quaternair (trimethyl-)ammoniumjodide van α -amino- β -oxo- n -valeeraldehyd-dimethylacetaal.

Aan 1,1 g α -dimethylamino- β -oxo-valeeraldehyd-dimethylacetaal, in 2 cm³ absolute methylalcohol opgelost, wordt 4 cm³ methyljodide toegevoegd. Na verloop van enige tijd koken wij de vloeistof gedurende twintig minuten.

Met droge aether wordt het gevormde jodide als een olie neergeslagen, welke spoedig kristalliseert. De stof kan gezuiverd worden door oplossen in methylalcohol en vervolgens precipiteren met droge aether.

Na één keer kristalliseren is de opbrengst 1,7 g. Het smeltpunt van de witte, goed gekristalliseerde stof is 115—116°.

Analyse

3,721 mg stof	: 4,96 mg CO ₂ ; 2,24 mg H ₂ O.
4,577 " "	: 0,150 cm ³ N ₂ (23°, 767 mm).
4,281 " "	: 3,04 mg AgJ.
Berekend voor C ₁₀ H ₂₂ O ₃ NJ (331) :	C 36,25; H 6,65; N 4,23; J 38,37.
Gevonden	: C 36,35; H 6,69; N 3,81; J 38,38.

Quaternair (trimethyl-)ammoniumchloride van α -amino- β -oxo- n -valeeraldehyd-dimethylacetaal.

Voor de bereiding hiervan wordt een hoeveelheid jodide, opgelost in absolute alcohol, gedurende enkele uren geschud met een overmaat droog zilverchloride. Na filtreren van het gevormde zilverjodide en het onomgezette zilverchloride krijgen wij door verdampen der alcohol in vacuum het gewenste quaternaire chloride in handen. De opbrengst is quantitatief. Het is een witte, hygroscopische stof; smeltpunt 148° (bij 144° treedt reeds sinteren op).

De waterige oplossing geeft met goudchloride een goed gekristalliseerd chloorauraat; het smeltpunt is 103—104° (onder ontleding).

Analyse

2,724 mg stof	: 0,986 mg Au.
Berekend voor C ₁₀ H ₂₂ O ₃ NAuCl ₄ (543) :	Au 36,20.
Gevonden	: Au 36,28.

Quaternair (trimethyl-)ammoniumchloride van α -amino- β -oxy- n -valeeraldehyd-dimethylacetaal.

Een hoeveelheid quaternair ammoniumchloride van α -amino- β -oxo-valeeraldehyd-acetaal wordt in alcohol opgelost en gehydreerd.

Als katalysator dient platina, hetwelk als platina-oxyde in de oplossing gebracht wordt. In een aparte bepaling meten wij de hoeveelheid waterstof, welke voor de reductie van het platina-oxyde benodigd is.

Na verloop van een dag is de theoretische hoeveelheid waterstof opgenomen. De stof neemt nu ook geen waterstof meer op.

Na filtreren en verdampen van de alcohol blijft een heldere, kleurloze, hygroscopische stroop achter, die moeilijk tot kristalliseren te brengen is.

De waterige oplossing geeft met goudchloride een slecht gekristalliseerd chloorauraat; het smeltpunt is $105-107^{\circ}$ (onder geringe ontleding). Het mengsmeltpunt van dit product met het hierboven beschreven chloorauraat van de niet gehydreerde verbinding is $95-100^{\circ}$.

Analyse

2,380 mg stof	: 0,865 mg Au.
Berekend voor $C_{10}H_{24}O_3NAuCl_4$ (545) : Au	36,15.
Gevonden	: Au 36,34.

*α -dimethylamino- β -oxy-*n*-valeeraldehyd-dimethylacetaal.*

Met platina als katalysator neemt vers gedistilleerd *α -dimethylamino- β -oxy-*n*-valeeraldehyd-dimethylacetaal* in absolute alcohol langzaam de theoretisch benodigde hoeveelheid waterstof op.

Na filtratie en verwijdering van de alcohol door verdamping in vacuum wordt de achterblijvende vloeistof in vacuum gedistilleerd. Hierbij gaat de vloeistof geheel over van $68-70^{\circ}$ bij 0,5 mm druk. Het acetaal is kleurloos en verandert, in tegenstelling met het uitgangproduct, bij staan niet.

Analyse

5,571 mg stof	: 11,56 mg CO_2 ; 5,39 mg H_2O .
3,627 " "	: 0,217 cm^3 N_2 (22° , 771 mm).
5,773 " "	: 17,52 cm^3 $n/50$ $Na_2S_2O_3$.
Berekend voor $C_9H_{21}O_3N$ (191) : C	56,54; H 10,99; N 7,33; OCH_3 32,46.
Gevonden	: C 56,59; H 10,75; N 7,02; OCH_3 31,38.

Quaternair (trimethyl-) ammoniumjodide van *α -amino- β -oxy-*n*-valeeraldehyd-dimethylacetaal.*

Het tertiaire amine vormt, in alcohol opgelost, na twintig minuten koken met methyljodide, het quaternaire zout. Met droge aether

wordt dit, in bijna quantitative opbrengst, uit de oplossing neergeslagen. Het is een olie, welke zeer langzaam kristalliseert. Door kristallisatie in aceton kan de stof gezuiverd worden. Het smeltpunt is 114—115°. Een mengsel van deze stof met het quaternaire jodide van α -amino- β -oxo-valeeraldehyd-acetaal smelt bij 98—112°.

Analyse

3,974 mg stof	: 5,33 mg CO ₂ ; 2,59 mg H ₂ O.
4,043 " "	: 0,150 cm ³ N ₂ (26°, 762 mm).
4,084 " "	: 2,86 mg AgJ.
Berekend voor C ₁₀ H ₂₄ O ₃ NJ (333)	: C 36,04; H 7,21; N 4,20; J 38,14.
Gevonden	: C 36,58; H 7,24; N 4,25; J 37,85.

Chloorhydraat van α -dimethylamino- β -oxy-n-valeeraldehyd.

α -Dimethylamino- β -oxy-n-valeeraldehyd-dimethylacetaal wordt onder goede koeling in een tien- tot twintigvoudige overmaat geconcentreerd zoutzuur gebracht. Wij laten dit mengsel enige uren staan en verdampen vervolgens het zoutzuur in een vacuumexsiccator boven fosforpentoxyde en natronkalk.

Het heldere, lichtbruine stroopje, dat achterblijft, wordt ter verwijdering van de laatste resten zoutzuur in water opgelost en deze oplossing op dezelfde wijze ingedampt.

De resterende taaie stroop wordt nu bij zeer lage druk rigoureuus gedroogd, totdat geen gewichtsafneming meer te constateren valt.

Hieronder volgen de opbrengsten uit een serie proeven:

1. 33,4 mg acetaal:	31,4 mg chloorhydraat.	Berekend 31,7 mg.
2. 44,0 " " :	41,9 " " "	41,8 " "
3. 46,4 " " :	43,9 " " "	44,1 " "
4. 40,4 " " :	38,1 " " "	38,4 " "
5. 44,4 " " :	42,4 " " "	42,2 " "

Ter nadere contrôle titreren wij het gebonden zoutzuur van de eerste twee verzepingsproeven met een oplossing van natrium-methylaat in methylalcohol. Thymolphthaleïne dient hierbij als indicator.

1. Verbruikt: 0,34 cm ³ 0,48 n loog.	Berekend: 0,36 cm ³ .
2. " : 0,50 cm ³ 0,48 " " "	: 0,48 " "

Het chloorhydraat bezit sterk reducerende eigenschappen. Een waterige oplossing kleurt fuchsine-zwaveligzuur rood. Fehling's proefvocht wordt snel gereduceerd.

Met goudchloride en platinachloride vormt het olieachtige neerslagen.

α -dimethylamino- β -oxy-n-valeeraldehyd.

Aan 450 mg chloorhydraat van *α -dimethylamino- β -oxy-n-valeeraldehyd*, opgelost in absolute methylalcohol, wordt onder koeling de aequivalente hoeveelheid natriummethylaat toegevoegd. Een gedeelte van het gevormde natriumchloride kristalliseert. Om het zout volledig neer te slaan, voegen wij 50 cm³ droge aether toe en laten het mengsel enige minuten staan.

Daarna wordt gefiltreerd door een asbestfilter en het heldere, kleurloze filtraat in vacuum verdampt. De achterblijvende, gele vloeistof bezit sterk reducerende eigenschappen.

Bij een poging tot distillatie verandert het grootste gedeelte in een zeer visceuze, donker gekleurde massa. Slechts een klein deel distilleert bij ongeveer 65° onder 11 mm druk.

Deze gele vloeistof geeft met fuchsine-zwaveligzuur een intensieve roodkleuring en reduceert Fehling's oplossing zeer snel.

Reineekaat van de quaternaire (trimethyl-)ammoniumbase van α -amino- β -oxy-n-valeeraldehyd.

De hierboven beschreven gele vloeistof wordt in een weinig absolute methylalcohol opgelost en even opgekookt met methyljodide. Nadat het reactiemengsel afgekoeld is, slaan wij het gevormde quaternaire jodide neer met aether. Het is een enigszins bruin gekleurde olie, welke in water opgelost, met Reinecke's zout omgezet wordt tot een reineekaat.

Dit wordt opgelost in aceton, gefiltreerd van een geringe hoeveelheid onopgeloste stof en voorzichtig neergeslagen met water. Het neerslag bestaat uit prisma's en ruitjes. De opbrengst bedraagt 170 mg.

We herhalen deze laatste bewerking nog enige malen. Uit de analyse blijkt, dat de stof zeer zeker niet zuiver is.

Analyse

3,240 mg stof	: 3,82 mg CO ₂ ; 1,53 mg H ₂ O.
2,939 " "	: 0,475 cm ³ N ₂ (22°, 769 mm).
Berekend voor C ₁₂ H ₂₄ O ₂ N ₇ S ₄ Cr (478)	: C 30,13; H 5,02; N 20,50.
Gevonden	: C 32,15; H 5,25; N 18,93.

Ontleden wij het reineekaat weer tot het quaternaire chloride,

volgens de methode van Kapfhammer en Bischoff, en voegen we bij de waterige oplossing hiervan enkele druppels van een 20 proc. goudchloride-oplossing, dan slaat een slecht gekristalliseerd chloorauraat neer. Het smeltpunt van dit chloorauraat varieert bij verschillende proeven van 85° tot 114°.

Reductie van α -dimethylamino- β -oxo- n -valeeraldehyd-dimethylacetaal met natriumamalgaam volgens W. E. Bachmann.

Van het acetaal wordt 3,8 g in een mengsel van 25 cm³ droge aether en 25 cm³ droge benzol, hetwelk zich in een stopflesje bevindt, gebracht. Hierbij 60 g 2 proc. natriumamalgaam en 3 cm³ absolute aethylalcohol gevoegd.

Het flesje wordt nu stevig gesloten en gedurende tien uren geschud. Het natriumamalgaam is volkomen verbruikt. We schenken de vloeistof af en schudden deze vijf malen met een geringe hoeveelheid water, om het gevormde natriumalcoholaat te verwijderen.

Vervolgens wordt gedroogd op natriumsulfaat en tot een klein volume ingedampt. Onder koeling aangezuurd met 4 n zoutzuur en enige keren met aether geëxtraheerd. Hierna basisch gemaakt met sterke loog, verzadigd met potas en vijf malen uitgetrokken met aether. De aetherische oplossing wordt gedroogd op natriumsulfaat en de aether verdampt. Bij distillatie van de achterblijvende bruine olie gaat 300 mg over bij 42—43° onder 12 mm druk. De rest gaat onder 1 mm druk over tussen 100° en 130°, als een zeer visceuze, gele olie, welke waarschijnlijk uit polymerisatieproducten bestaat.

De geringe hoeveelheid van het laagkokende bestanddeel is een kleurloze, bewegelijke vloeistof, welke met methyljodide een gekristalliseerd quaternair zout vormt. Na enige malen kristalliseren uit isopropylalcohol is het smeltpunt 131°. Een mengsmeltpunt met het hierna beschreven quaternair ammoniumjodide van α -amino-diaethylketon, dat bij dezelfde temperatuur smelt, vertoont geen depressie.

Analyse

4,072 mg stof	: 5,26 mg CO ₂ ; 2,41 mg H ₂ O.
4,266 „ „	: 0,180 cm ³ N ₂ (22°, 761 mm).
4,801 „ „	: 4,17 mg AgJ.
Berekend voor C ₆ H ₁₃ ONJ (271)	: C 35,42; H 6,64; N 5,17; J 46,86.
Gevonden	: C 35,23; H 6,58; N 4,89; J 46,94.

α -Broom-diaethylketon.

De bereiding ¹⁾ hiervan geschiedt als volgt: 50 g diaethylketon, 50 cm³ water en 50 g calciumcarbonaat worden op een waterbad verwarmd, in een kolf voorzien van een rechtopstaande koeler en een druppeltrechter.

Onder voortdurend schudden wordt nu 93 g broom toegedruppeld. Het broom wordt zeer vlot opgenomen. Vervolgens voegen we 500 cm³ aether toe, scheiden de onderste laag af en wassen de aetherische laag twee keren met 25 cm³ water.

Na drogen op natriumsulfaat wordt de aether bij gewone druk verdampt en de resterende vloeistof onder verlaagde druk zorgvuldig enige malen gefractioneerd. Bij een druk van 28 mm is het kookpunt van het kleurloze broom-keton 65°. De opbrengst bedraagt 39 g.

Analyse

7,221 mg stof	: 9,62 mg CO ₂ ; 3,44 mg H ₂ O.
5,801 " "	: 6,61 " AgBr.
Berekend voor C ₆ H ₉ OBr (165)	: C 36,36; H 5,45; Br 48,48.
Gevonden	: C 36,33; H 5,29; Br 48,49.

 α -Dimethylamino-diaethylketon.

Bij 35 g broom-diaethylketon, opgelost in 100 cm³ droge benzol, wordt onder goede koeling 25 g dimethylamine gevoegd. Het geheel bevindt zich in een dikwandige glazen buis, welke wij nu dichtsmelten en 24 uur bij kamertemperatuur laten staan.

Het gevormde witte precipitaat [NH(CH₃)₂HBr] wordt door filtratie verwijderd, het filtraat drie keren geschud met 25 cm³ water en overnacht gedroogd op calciumchloride.

We verdampen hierna de benzol en distilleren de achterblijvende vloeistof enige malen onder verlaagde druk.

Het kleurlooze amino-keton kookt bij 63° onder 26 mm druk. De opbrengst bedraagt 15 g.

Analyse

2,758 mg stof	: 6,57 mg CO ₂ ; 2,81 mg H ₂ O.
5,515 " "	: 0,523 cm ³ N ₂ (22°, 760 mm).
Berekend voor C ₇ H ₁₅ ON (129)	: C 65,12; H 11,63; N 10,85.
Gevonden	: C 64,97; H 11,32; N 10,97.

¹⁾ Vgl. H. Pauly, B. 34, 1771 (1901); E. Venus-Daniloff, Bl. (4) 43, 582 (1928).

Quaternair (trimethyl-)ammoniumjodide van α -amino-diaethylketon.

Opgelost in absolute methylalcohol vormt α -dimethylamino-diaethylketon met methyljodide het quaternaire jodide. Dit wordt uit het reactiemengsel met absolute aether neergeslagen en gekristalliseerd uit isopropylalcohol. Smeltpunt $131-132^{\circ}$.

Analyse

4,259 mg stof	: 5,57 mg CO ₂ ; 2,50 mg H ₂ O.
5,127 " "	: 0,210 cm ³ N ₂ (22°, 768 mm).
6,114 " "	: 5,31 mg AgJ.
Berekend voor C ₈ H ₁₈ ONJ (271)	: C 35,42; H 6,64; N 5,17; J 46,86.
Gevonden	: C 35,67; H 6,52; N 4,79; J 46,94.

Chloorhydraat van α -dimethylamino- β -oxo- n -valeeraldehyd.

Het α -dimethylamino- β -oxo- n -valeeraldehyd-dimethylacetaal wordt onder sterke koeling opgelost in de tienvoudige hoeveelheid geconcentreerd zoutzuur. Als de vloeistof enige uren heeft gestaan, wordt het zoutzuur in een vacuumexsiccator boven fosforpentoxyde en natronkalk verdampt.

Dikwijls treedt, als het zoutzuur verdwenen is, reeds kristallisatie op. Het verdient echter aanbeveling, het residu op te lossen in een weinig water en wederom in een vacuumexsiccator in te dampen. De achterblijvende olie kristalliseert nu spoedig. De kristallen kunnen gezuiverd worden door op te lossen in absolute alcohol en neer te slaan met droge aether.

Een andere methode is kristallisatie uit droge aceton, waarbij echter nogal veel verloren gaat.

De witte kristallen smelten bij 161° , onder ontleding. Fuchsine-zwaveligzuur wordt niet gekleurd. Wel reduceert de stof Fehling's oplossing. Met ferrichloride geeft het chloorhydraat een intensief rode kleur, welke spoedig verdwijnt.

Analyse

4,170 mg stof	: 7,195 mg CO ₂ ; 2,940 mg H ₂ O.
1,305 " "	: 0,088 cm ³ N ₂ (20°, 761 mm).
3,652 " "	: 2,850 mg AgCl.
Berekend voor C ₇ H ₁₄ O ₂ NCl (179,5)	: C 46,80; H 7,80; N 7,80; Cl 19,78.
Gevonden	: C 47,06; H 7,83; N 7,87; Cl 19,31.

Reineekaart van de quaternaire (trimethyl-)ammoniumbase van α -amino- β -oxo- n -valeeraldehyd.

Bij verschillende proeven wordt elke keer 50 mg chloorhydraat

van α -dimethylamino- β -oxo-n-valeeraldehyd in 0,3 cm³ absolute methylalcohol opgelost en 0,7 cm³ methylalcoholisch natriummethylaat (0,37 n) toegevoegd. Vervolgens verwarmen wij de vloeistof enige tijd met 2 cm³ methyljodide.

Na verdampen van het methyljodide en de methylalcohol, wordt het residu in water opgenomen, gefiltreerd en het gevormde jodide omgezet tot een onoplosbaar reineekaat.

Hebben wij gedurende vijf minuten met methyljodide verwarmd, dan bedraagt de opbrengst aan reineekaat 14 mg. Vijftien minuten koken met methyljodide levert 52 mg. Langer verwarmen verhoogt de opbrengst niet. Deze is maximaal 40% van de theorie.

Door oplossen in aceton en neerslaan met water kan het verkregen reineekaat gezuiverd worden.

Analyse

4,067 mg stof	: 4,54 mg CO ₂ ; 1,70 mg H ₂ O.
4,733 " "	: 0,803 cm ³ N ₂ (24°, 770 mm).
5,420 " "	: 10,52 mg BaSO ₄ .
Berekend voor C ₁₃ H ₂₂ O ₂ N ₇ S ₄ Cr (476) :	C 30,25; H 4,62; N 20,59; S 26,89.
Gevonden	: C 30,44; H 4,64; N 19,77; S 26,66.

Chloorauraat van de quaternaire (trimethyl-)ammoniumbase van α -amino- β -oxo-n-valeeraldehyd.

50 mg reineekaat wordt volgens Kapfhammer en Bischoff ontleed. Daartoe wordt, na oplossen in 5 cm³ aceton-water (1:1), 4,5 cm³ zilversulfaatoplossing (4,2012 g Ag₂SO₄/1) en na filtreren van het gevormde zilverreineekaat, 1,5 cm³ bariumchlorideoplossing (9,8734 g BaCl₂.2aq/1) toegevoegd. Hierna wordt de vloeistof weer gefiltreerd, bij 35° in vacuum ingedampt en het residu in 1,5 cm³ water opgenomen. Deze waterige oplossing van het quaternaire chloride reduceert Fehling's proefvocht, geeft echter met fuchsine-zwaveligzuur geen rode kleur. Ferrichloride kleurt de oplossing zwak violet.

Met een 20 proc. oplossing van goudchloride in water slaat 25 mg gekristalliseerd chloorauraat neer. Dit kan uit alcohol gekristalliseerd worden. Het smeltpunt is 102°.

Analyse

2,880 mg stof	: 11,52 mg Au.
Berekend voor C ₈ H ₁₆ O ₂ NAuCl ₄ (497) :	Au 39,64.
Gevonden	: Au 40,00.

3. Experimentele gegevens betreffende hoofdstuk V.

α-Broom-*β*-methoxy-*n*-butyraldehyd-dimethylacetaal.

106 g kwikacetaat wordt in een halve liter kokende methylalcohol gebracht. Bij de nog warme oplossing voegen wij 23 g vers gedistilleerd crotonaldehyd en laten het mengsel enige dagen bij kamertemperatuur staan.

Dan brengen wij een waterige oplossing van 40—50 g kaliumbromide in het reactiemengsel en verdunnen dit tot ongeveer 1800 cm³. De dikke kleurloze olie, welke zich afscheidt, wordt onmiddellijk in 100 cm³ chloroform opgenomen en de waterlaag nog drie keren met 50 cm³ chloroform uitgeschud.

Na enige uren drogen van de chloroformoplossing op natriumsulfaat, voeren we de bromering zo snel mogelijk uit, door onder koeling in ijs, een oplossing van 53 g broom in 100 cm³ chloroform toe te druppelen. Gewoonlijk wordt minder, dikwijls slechts driekwart van de berekende hoeveelheid broom opgenomen. De reactie, waarbij kwikbromide neerslaat, verloopt zeer vlot.

Na filtreren door een zuigfilter, schudden we de chloroformoplossing met 300 cm³ water. Hierbij ontstaat wederom een wit neerslag, dat weer snel gefiltreerd wordt. Vervolgens wordt nog vijf malen met hetzelfde volume water geschud en gedroogd op natriumsulfaat. Tenslotte verdampen wij de chloroform in vacuum en onderwerpen de resterende vloeistof aan een vacuumdestillatie. Na een geringe voorloop gaat de hoofdfractie over van 60.5° tot 61.5° onder 0,4 mm druk. De kleurloze vloeistof wordt nog eenmaal gedistilleerd en vervolgens geanalyseerd. De opbrengst bedraagt 35 g.

Analyse

3,058 mg stof	: 4,13 mg CO ₂ ; 1,76 mg H ₂ O.
4,120 „ „	: 15,48 cm ³ n/50 Na ₂ S ₂ O ₃ .
4,280 „ „	: 3,47 mg AgBr.
Berekend voor C ₇ H ₁₅ O ₃ Br (227)	: C 37,00; H 6,61; Br 35,24; OCH ₃ 40,97.
Gevonden	: C 36,83; H 6,39; Br 34,50; OCH ₃ 38,82.

α -Broom- β -methoxy-n-butyraldehyd.

10 g acetaal wordt gedurende een half uur geschud met 80 cm³ 6 n zoutzuur. Na verloop van deze tijd is het acetaal opgelost en hebben we een kleurloze heldere oplossing. Deze wordt verdund met 100 cm³ water en zes keren uitgetrokken met aether, de aetherische oplossing gedroogd op natriumsulfaat.

Hierna verdampen wij de aether en distilleren de achterblijvende vloeistof in vacuum. Dit levert 5—6 g van een kleurloze vloeistof, welke bij 61—64° kookt, onder 15 mm druk.

Het product reduceert Fehling's oplossing en geeft met fuchsine-zwaveligzuur een rode verkleuring.

Analyse

5,964 mg stof	: 7,20 mg CO ₂ ; 2,58 mg H ₂ O.
6,235 " "	: 6,62 " AgBr.
6,685 " "	: 7,794 " AgJ.
Berekend voor C ₅ H ₉ O ₂ Br (181) :	C 33,15; H 4,97; Br 44,20; OCH ₃ 17,13.
Gevonden	C 32,92; H 4,81; Br 45,18; OCH ₃ 15,62.

 α -Broom- β -methoxy-n-boterzuur.

Bij 1,4 g aldehyd wordt een oplossing van 820 mg kaliumpermanganaat in 14 cm³ water gedruppeld. De kleur van het permanganaat verdwijnt direct, onder een geringe temperatuursverhoging.

Het ontstane bruinsteen wordt verwijderd en de oplossing na aanzuren uitgetrokken met aether. Door verdampen van de aether krijgen wij een heldere, gele olie, welke nog onveranderd aldehyd bevat.

In een vacuumexsiccator bewaard, begint de olie dikker te worden en na enige dagen te kristalliseren. De witte kristallen worden van de stroop gescheiden door deze laatste op te nemen in cyclohexaan. Zodoende kan 180 mg kristallijn product verkregen worden, dat na enige keren kristalliseren uit cyclohexaan bij 61—63° smelt.

Langs andere weg bereid broom-methoxy-boterzuur ¹⁾ smelt even hoog en het mengsmeltpunt van deze twee stoffen vertoont geen depressie.

¹⁾ Zie noot 3 op blz. 49.

Analyse

4,086 mg stof	: 4,58 mg CO ₂ ; 1,70 mg H ₂ O.
4,508 " "	: 4,12 " AgBr.
3,432 " "	: 5,30 cm ³ n/50 Na ₂ S ₂ O ₃ .
Berekend voor C ₆ H ₉ O ₃ Br (197) :	C 30,46; H 4,56; Br 40,61; OCH ₃ 15,74.
Gevonden	C 30,57; H 4,62; Br 38,89; OCH ₃ 15,96.

α-dimethylamino-*β*-methoxy-*n*-butyraldehyd.

Bij 30 cm³ 33 proc. aetherische dimethylamine-oplossing druppelen wij onder goede koeling in ijs en zout een mengsel van 15 g *α*-broom-*β*-methoxy-butryaldehyd en 15 cm³ droge aether. Dit reactiemengsel wordt gedurende twee dagen bij 0° gehouden. In deze tijd is het witte neerslag, dat vrij spoedig ontstaat, goed bezonken en bruin van kleur geworden. De aether wordt nu afgeschonken en de vaste stof met droge aether gewassen. Na verdampen van de aether nemen wij de achterblijvende bruine olie onder koeling op in 6 n zoutzuur en extraheren vijf malen met aether, om alle niet-basische bestanddelen te verwijderen.

Vervolgens maken we voorzichtig basisch met potas en verzadigen hiermede de waterige oplossing. Nu wordt vijf keren uitgetrokken met peroxyde-vrije aether. De aetherische oplossing gedroogd op natriumsulfaat, de aether verdampt en de resterende olie onder lage druk gedistilleerd. Tussen 35 en 40° onder 0,6 mm druk gaat een gele vloeistof over, terwijl een deel verharst. De opbrengst bedraagt 2,5 g.

Deze vloeistof reduceert Fehling's oplossing, is sterk basisch, bevat nog halogeen. Daar bij een hernieuwde zuivering vrij veel verloren zou gaan, wordt het product direct verder verwerkt.

Quaternair (trimethyl-)ammoniumjodide van *α*-amino-*β*-methoxy-*n*-butyraldehyd.

Van het ruwe *α*-dimethylamino-*β*-methoxy-butryaldehyd wordt 1,7 g opgelost in 5 cm³ droge methylalcohol, waaraan 5 cm³ methyljodide is toegevoegd. Nadat het mengsel enige tijd gestaan heeft, koken wij het gedurende tien minuten. Vervolgens wordt het gevormde jodide met droge aether neergeslagen als olie, die spoedig begint te kristalliseren.

De gele stof smelt bij 148°, de opbrengst is 3,2 g. Wij kristalliseren een gedeelte van het ruwe product enige keren uit absolute

alcohol en verkrijgen aldus een mooie witte stof. Het smeltpunt is 160°. De stof reduceert Fehling's proefvocht.

Analyse

4,063 mg stof	: 5,02 mg CO ₂ ; 2,25 mg H ₂ O.
4,889 " "	: 0,189 cm ³ N ₂ (23°, 772 mm).
4,727 " "	: 3,85 mg AgJ.
3,758 " "	: 4,01 cm ³ n/50 Na ₂ S ₂ O ₄ .
Berekend voor C ₈ H ₁₈ O ₂ NJ (287)	: C 33,45; H 6,27; N 4,88; J 44,36; OCH ₃ 10,80.
Gevonden	: C 33,70; H 6,15; N 4,53; J 44,02; OCH ₃ 11,03.

Reineekaart van de quaternaire (trimethyl-)ammoniumbase van α -amino- β -oxy-n-butyraldehyd.

De ontmethylering van het ruwe quaternaire jodide van α -amino- β -methoxy-butyraldehyd geschiedt in een micro-Zeisel-apparaat. Daarin brengen wij ongeveer 50 mg stof en verwarmen deze gedurende 15 minuten op 125°. Uit de hoeveelheid gevormd zilverjodide kan worden berekend, dat de omzetting voor 90 % verlopen is.

Het reactiemengsel wordt verdund met water en de base met een oplossing van Reinecke's zout neergeslagen. De opbrengst aan reineekaart bedraagt 86 % van de theorie.

α -broom- β -methoxy-n-valeeraldehyd-dimethylacetaal.

Wij voegen 30 g α , β -pentalen bij een nog warme oplossing van 114 g kwikacetaat in een halve liter methylalcohol en laten dit mengsel twee weken bij kamertemperatuur staan.

Na verloop van deze tijd wordt op geheel overeenkomstige wijze als in de C₄-reeks een oplossing van kaliumbromide toegevoegd, verdund met water, uitgetrokken met chloroform, de chloroformoplossing gedroogd en onder koeling gebromeerd.

Daarna wordt ook hier het reactiemengsel gefiltreerd van het gevormde kwikbromide en goed gewassen met water. Na verdampen van de chloroform, distilleren wij de achterblijvende vloeistof onder lage druk. De hoofdfractie, welke bijna kleurloos overgaat bij 65—73° onder 0,4 mm druk, ontleedt zeer spoedig en moet ter voorkoming van dit euvel nog drie tot vier malen gedistilleerd worden. Dat dit uiteraard de opbrengst niet ten goede komt, is begrijpelijk. Tenslotte verkrijgen wij 15 g van een kleurloos product, dat bij 66—68° overgaat, onder 0,4 mm druk.

De vloeistof kleurt fuchsine-zwaveligzuur rood, hetgeen er op wijst,

dat het product niet zuiver is. De analyse duidt op een mengsel van acetaal en halfacetaal. Om in het theoretisch gedeelte uiteen-gezette redenen, wordt het product niet verder gezuiverd.

Analyse

5,099 mg stof	: 7,08 mg CO ₂ ; 2,89 mg H ₂ O.
5,012 " "	: 4,20 " AgBr.
5,352 " "	: 17,22 cm ³ n/50 Na ₂ S ₂ O ₃ .
Berekend voor C ₇ H ₁₀ O ₃ Br (227) :	C 37,00; H 6,61; Br 35,24; OCH ₃ 27,31.
" " C ₈ H ₁₇ O ₃ Br (241) :	C 39,83; H 7,05; Br 33,20; OCH ₃ 38,59.
Gevonden	: C 37,87; H 6,30; Br 35,66; OCH ₃ 33,25.

α-Broom-*β*-methoxy-*n*-valeeraldehyd.

10 g van het onzuivere acetaal wordt gedurende een half uur geschud met 80 cm³ 6 n zoutzuur. Een niet opgelost gedeelte wordt afgescheiden en blijkt na een distillatie onveranderd uitgangproduct te zijn (3,8 g).

We verdunnen de zoutzure oplossing met 100 cm³ water, schudden zes keren met aether uit en drogen de aetherische oplossing op natriumsulfaat.

Na verdampen van de aether, resteert een vloeistof, welke tussen 75 en 83° distilleert, onder 11 mm druk. De opbrengst bedraagt 3,7 g van een heldere, kleurloze vloeistof, die met fuchsine-zwavelig-zuur een sterke roodkleuring geeft.

Voor een analyse wordt het product nog eens gedistilleerd. Het kookpunt is 79—82° onder 11 mm druk.

Analyse

3,973 mg stof	: 5,37 mg CO ₂ ; 1,96 mg H ₂ O.
4,628 " "	: 4,60 " AgBr.
5,653 " "	: 6,74 cm ³ n/50 Na ₂ S ₂ O ₃ .
Berekend voor C ₆ H ₁₁ O ₂ Br (195) :	C 36,92; H 5,64; Br 41,03; OCH ₃ 15,94.
Gevonden	: C 36,86; H 5,48; Br 42,30; OCH ₃ 12,32.

α-dimethylamino-*β*-methoxy-*n*-valeeraldehyd.

Op analoge wijze als bij de omzetting van het overeenkomstige product in de de C₁-reeks, laten we nu ook *α*-broom-*β*-methoxy-*n*-valeeraldehyd met dimethylamine in absolute aether reageren.

Na twee dagen schenken we de aetherische oplossing van de gevormde kristallen af en verdampen de aether gedeeltelijk in vacuum, om zodoende de overmaat dimethylamine kwijt te raken. De op-

lossing wordt dan enige keren gewassen met water en gedroogd. De aether verdampt en de achterblijvende vloeistof in vacuüm gedistilleerd. Het kookpunt is 41—42° bij 0,25 mm. Het geelgekleurde product bevat nog broom en wordt spoedig troebel; het reduceert Fehling's vloeistof en kleurt fuchsine-zwaveligzuur rood.

Zonder verdere zuivering wordt het omgezet met methyljodide.

Quaternair (trimethyl-)ammoniumjodide van α -amino- β -methoxy- n -valeeraldehyd.

Bij het ruwe tertiaire amino-aldehyd, opgelost in absolute methylalcohol, wordt methyljodide gevoegd. Nadat het mengsel uit zichzelf warm geworden is, koken wij het nog enige tijd op een waterbad.

Met absolute aether slaat een donkerbruine olie neer, die in vacuüm gebracht, gedeeltelijk kristalliseert.

Met een gedeelte van deze onzuivere stof worden nu direct enkele ontmethyleringen uitgevoerd met joodwaterstofzuur, in een micro-Zeisel-apparaat.

De rest laten we intussen nog enige dagen in vacuüm staan, waarbij echter de kristallisatie niet verder voortschrijdt. De massa is nu zeer donker geworden. Om hieruit het quaternaire jodide te isoleren gaan wij als volgt te werk: de kristallen worden van de olie bevrijd door schudden met isopropylalcohol. Hierna koken wij de kristallen met absolute alcohol, waarbij een gedeelte oplost. Na filtreren, kristalliseert het quaternaire (trimethyl-)ammoniumjodide van α -amino- β -methoxy- n -valeeraldehyd uit. Het smelt bij 186—187° (onder ontleding). Evenals bij Veldstra, ontstaan hier bij langzaam kristalliseren goed gevormde ruitjes. De stof reduceert Fehling's proefvocht.

Analysen

1.	3,926 mg stof	: 5,20 mg CO ₂ ; 2,30 mg H ₂ O.
2.	3,491 „ „	: 4,61 „ CO ₂ ; 2,04 „ H ₂ O.
1.	2,895 „ „	: 0,118 cm ³ N ₂ (22°, 760 mm).
2.	3,032 „ „	: 0,123 „ N ₂ (22°, 760 „).
1.	4,600 „ „	: 3,59 mg AgJ.
2.	5,116 „ „	: 3,98 „ AgJ.
	Berekend voor C ₉ H ₂₀ O ₂ NJ (301)	: C 35,88; H 6,64; N 4,65; J 42,19.
	Gevonden	1 : C 36,12; H 6,51; N 4,72; J 42,18.
		2 : C 36,02; H 6,49; N 4,69; J 42,04.

Het in aethylalcohol onoplosbare gedeelte kan uit een mengsel van water en alcohol gekristalliseerd worden.

De in lange prisma's gekristalliseerde stof begint bij 250° te ontleden en reduceert Fehling's proefvocht niet. De door analyse verkregen waarden komen overeen met de berekende voor tetramethylammoniumjodide.

Analyse

4,008 mg stof	: 3,56 mg CO ₂ ; 2,13 mg H ₂ O.
4,266 „ „	: 0,238 cm ³ N ₂ (23°, 766 mm).
5,269 „ „	: 6,13 mg AgJ.
Berekend voor C ₄ H ₁₂ NJ (201)	: C 23,88; H 5,97; N 6,97; J 63,18.
Gevonden	: C 24,22; H 5,90; N 6,48; J 62,89.

Bij de scheiding der kristallen van de olie lost een gedeelte van het kristallijne product in de isopropylalcohol op. Daarom wordt bij de isopropylalcohol aether gevoegd, waardoor de quaternaire zouten weer neerslaan. De aether wordt afgeschonken en de donkerbruine olie gedurende enige tijd in vacuüm gehouden. Er treedt een gedeeltelijke kristallisatie op. Nu schudden wij deze massa met juist zoveel watervrije aethylalcohol, dat de olie in oplossing gaat en de kristallen achterblijven. Deze worden gefiltreerd en gezuiverd door oplossen in absolute methylalcohol en neerslaan met droge aether. Bij kristallisatie uit alcohol treedt ontleding op. De witte stof blijft ook na deze herhaalde zuivering een onscherp smeltpunt vertonen (169—174°).

Bovendien bezit het product geen reducerende eigenschappen, zodat het zeer zeker niet overeenkomt met het gezochte diastereomeer.

4. Experimentele gegevens betreffende hoofdstuk VI.

Chloorhydraat van allo-threonine-aethylester.

5 g d.l.-allo-threonine (smp. 238—239°, onder ontleding) wordt overgoten met 60 cm³ absolute aethylalcohol. Dit mengsel wordt verzadigd met droge chloorwaterstof. Gedurende deze bewerking lost de vaste stof op. Na enige uren koken verdampen wij het oplosmiddel in vacuum en lossen de achterblijvende lichtbruine stroop op in 40 cm³ 5 proc. alcoholisch zoutzuur.

De volgende dag wordt het reactiemengsel nog een uur verwarmd, vervolgens het oplosmiddel weer verdampt, het residu opgenomen in 20 cm³ absolute alcohol en deze oplossing, indien troebel, gefiltreerd. Na verwijdering van de alcohol, kristalliseert de resterende stroop vrij langzaam. De goedgevormde, witte kristallen kunnen uit aceton gekristalliseerd worden. Na eenmaal kristalliseren bedraagt de opbrengst 6 g. Het smeltpunt is 116—118°.

Analyse

4,120 mg stof	: 5,94 mg CO ₂ ; 2,75 mg H ₂ O.
4,751 " "	: 0,296 cm ³ N ₂ (22°, 761 mm).
4,772 " "	: 3,75 mg AgCl.
Berekend voor C ₆ H ₁₄ O ₃ NCl (183,5)	: C 39,24; H 7,63; N 7,63; Cl 19,35.
Gevonden	: C 39,32; H 7,42; N 7,22; Cl 19,44.

Chloorhydraat van threonine-aethylester.

Op dezelfde wijze wordt 5 g d.l.-threonine (smp. 228—229°, onder ontleding) veresterd. De opbrengst bedraagt 6,9 g.

De stof kan uit methylaethylketon gekristalliseerd worden. Voor de zuivering van een grotere hoeveelheid is het voldoende, de fijn gemaakte kristallen in de warmte met dit oplosmiddel uit te trekken. Het smeltpunt is 120—122°.

Het mengsmeltpunt met het chloorhydraat van de allo-threonine-ester is 90—105°.

Analyse

4,090 mg stof	: 5,89 mg CO ₂ ; 2,78 mg H ₂ O.
3,937 " "	: 0,257 cm ³ N ₂ (26°, 758 mm).
5,111 " "	: 3,97 mg AgCl.
Berekend voor C ₈ H ₁₄ O ₃ NCl (183,5)	: C 39,24; H 7,63; N 7,63; Cl 19,35.
Gevonden	: C 39,28; H 7,55; N 7,43; Cl 19,22.

Allo-threoninal-diaethylacetaal.

10 g chloorhydraat van de aethylester van allo-threonine wordt in een wijde glazen buis gebracht en opgelost in 100 cm³ 50 proc. alcohol. In de buis bevindt zich een thermometer en een roerder.

Met behulp van ijs en zout koelen we de vloeistof tot -10° en brengen, onder heftig roeren, 10 g 2 à 3 proc. natriumamalgam in het vat. Na ongeveer tien minuten wordt een, aan het natrium aequivalente hoeveelheid 5 n zoutzuur toegevoegd en vervolgens weer 10 g amalgam. Deze bewerking wordt om de tien minuten herhaald, waarbij de temperatuur zorgvuldig op -10° gehouden.

Wanneer in het geheel 200 g amalgam verbruikt is, schenken we de vloeistof van het kwik af, voegen onder sterke koeling 15 cm³ met chloorwaterstof verzadigde alcohol toe en filtreren het neergeslagen natriumchloride. Hierna wordt de vloeistof in vacuum verdampt, het residu opgenomen in 100 cm³ absolute alcohol en wederom gefiltreerd, nu van de laatste rest natriumchloride. Bij het filtraat voegen wij 50 cm³ watervrije benzol en verdampen vervolgens de vloeistof in vacuum. De achterblijvende stroop wordt in 100 cm³ 3 proc. alcoholisch zoutzuur opgelost.

Na een nacht staan wordt de alcohol in vacuum verdampt en de stroop, die Fehling's vloeistof reduceert, opgenomen in 25 cm³ absolute alcohol. Deze oplossing wordt, onder koeling, verzadigd met zoutzuur en na enkele uren staan bij kamertemperatuur, opnieuw in vacuum bevrijd van het oplosmiddel.

De bruin gekleurde, heldere stroop reduceert Fehling's oplossing niet meer en wordt nu opgenomen in 7 cm³ absolute alcohol. Onder sterke koeling in ijs en zout voegen we bij deze vloeistof een eveneens sterk gekoelde oplossing van 10 g natriumhydroxyde in 35 cm³ water en schudden dit mengsel gedurende tien minuten, onder koeling. Vervolgens schudden we 6-8 keren uit met aether en drogen de aetherische oplossing op natriumsulfaat. Na verdampen van de aether, drogen we de achterblijvende vloeistof,

eventueel na toevoegen van een weinig absolute alcohol, nog enige uren op bariumoxyde en verwijderen de vaste stof door filteren of centrifugeren.

Tenslotte wordt de vloeistof in vacuüm gedistilleerd. Bij 81—82° onder 0,4 mm druk gaat een heldere, kleurloze olie over. De opbrengst bedraagt 1,6 g, d.i. 16,6 %.

Analyse

6,338 mg stof	: 12,65 mg CO ₂ ; 5,89 mg H ₂ O.
4,451 " "	: 0,308 cm ³ N ₂ (21°, 771 mm).
Berekend voor C ₈ H ₁₉ O ₃ N (177)	: C 54,24; H 10,73; N 7,91.
Gevonden	: C 54,43; H 10,33; N 8,15.

Pikraat van allo-threoninal-diaethylacetaal.

Wordt bij een oplossing van allo-threoninal-acetaal in benzol, pikrinezuur, eveneens in benzol opgelost, gevoegd, dan slaat het pikraat neer. Het kan gekristalliseerd worden uit een mengsel van benzol en aethylacetaat. Smeltpunt 139—140°.

Analyse

3,900 mg stof	: 5,95 mg CO ₂ ; 1,89 mg H ₂ O.
4,213 " "	: 0,504 cm ³ N ₂ (22°, 756 mm).
Berekend voor C ₁₄ H ₂₂ O ₁₀ N ₄ (406)	: C 41,38; H 5,42; N 13,79.
Gevonden	: C 41,61; H 5,38; N 13,77.

Threoninal-diaethylacetaal.

De reductie van de threonine-ester verloopt volkomen analoog aan die van de allo-threonine-ester. Alleen schijnt hier iets minder ontleding op te treden, daar de kleur van de stroop vóór de behandeling met loog lichtgeel is. Het kookpunt van het acetaal is 75—76° onder 0,4 mm druk. De stof kookt dus iets lager dan allo-threoninal-acetaal. De verdere eigenschappen zijn gelijk. Het product is een kleurloze olie, die Fehling's vloeistof niet reduceert.

De opbrengst van de reductie is eveneens dezelfde.

Analyse

3,401 mg stof	: 6,77 mg CO ₂ ; 3,24 mg H ₂ O.
5,400 " "	: 0,373 cm ³ N ₂ (22°, 759 mm).
Berekend voor C ₈ H ₁₉ O ₃ N (177)	: C 54,24; H 10,73; N 7,91.
Gevonden	: C 54,29; H 10,59; N 7,98.

Pikraat van threoninal-diethylacetaal.

Dit pikraat kan op dezelfde wijze als het pikraat van allo-

threoninal-acetaal bereid worden. Smeltpunt 136—137°. Het mengsmeltpunt van de beide pikraten is 122—134°.

Analyse

4,242 mg stof	: 6,46 mg CO ₂ ; 2,03 mg H ₂ O.
3,889 „ „	: 0,466 cm ³ N ₂ (22°, 762 mm).
Berekend voor C ₁₄ H ₂₂ O ₁₀ N ₄ (406)	: C 41,38; H 5,42; N 13,79.
Gevonden	: C 41,53; H 5,32; N 13,90.

Quaternair (trimethyl-)ammoniumjodide van allo-threoninal-diaethylacetaal.

Bij 177 mg allo-threoninal-acetaal wordt 3 cm³ methyljodide gevoegd. Nadat het mengsel een kwartier gestaan heeft, verwarmen wij het een half uur op een waterbad en voegen vervolgens 1,25 cm³ 0,80 n methylalcoholisch natriummethylaet toe. Hierna wordt een uur verwarmd, dezelfde hoeveelheid loog toegevoegd en opnieuw een uur verwarmd. Tenslotte verdampen wij het methyljodide en de alcohol in vacuum en verwijderen de laatste resten vloeistof in een vacuumexsiccator.

De gele, grotendeels kristallijne massa wordt met chloroform geschud. Hierin lost het natriumjodide niet op, zodat deze stof door filtratie verwijderd kan worden. Wij verdampen de chloroform in een vacuumexsiccator. De achterblijvende, taaië stroop begint na verloop van enkele dagen te kristalliseren. De kristal massa wordt dan met enkele cm³ aethylacetaat geschud, totdat de nog aan de kristallen hechtende olie in oplossing is gegaan. De witte kristallen worden nu afgezonderd en wegen 242 mg d.i. 70% van de theorie. Smeltpunt 111—112°.

Het quaternaire jodide kan uit aethylacetaat gekristalliseerd worden, waarbij echter een geringe ontleding optreedt.

Analyse

4,124 mg stof	: 5,76 mg CO ₂ ; 2,73 mg H ₂ O.
4,390 „ „	: 0,153 cm ³ N ₂ (22°, 747 mm).
4,123 „ „	: 2,79 mg AgJ.
Berekend voor C ₁₁ H ₂₅ O ₃ NJ (347)	: C 38,04; H 7,49; N 4,03; J 36,60.
Gevonden	: C 38,09; H 7,36; N 3,96; J 36,57.

Quaternair (trimethyl-)ammoniumjodide van threoninal-diaethylacetaal.

De methylering van threoninal-acetaal geschiedt op dezelfde wijze als die van het diastereomeer. De opbrengst is nog beter, nl. 80% van de theorie.

De witte stof kan zonder ontleding uit een mengsel van aethylacetaat en isopropylalcohol gekristalliseerd worden. Het smeltpunt is 128—129°.

Analyse

3,980 mg stof	: 5,57 mg CO ₂ ; 2,62 mg H ₂ O.
4,351 " "	: 0,147 cm ³ N ₂ (22°, 765 mm).
4,627 " "	: 3,13 mg AgJ.
Berekend voor C ₁₁ H ₂₆ O ₃ NJ (347)	: C 38,04; H 7,49; N 4,03; J 36,60.
Gevonden	: C 38,17; H 7,31; N 3,94; J 36,56.

Chloorauraat van quaternair (trimethyl-)ammoniumchloride van allo-threoninal-diaethylacetaal.

Bij 50 mg quaternair jodide, opgelost in 1 cm³ absolute alcohol, wordt 150 mg zilverchloride gevoegd en dit mengsel enkele uren geschud. Vervolgens gefiltreerd en de alcohol in een vacuum-exsiccator verdampt. Het quaternaire chloride, dat in quantitative opbrengst achterblijft, is een hygroscopische, kleurloze stroop, die na rigoreus drogen gedeeltelijk kristalliseert.

Opgelost in water geeft het product met een 20 proc. oplossing van goudchloride een onmiddellijk, in mooie blaadjes kristalliserend chloorauraat. Smeltpunt 67—68°.

Analyse

4,245 mg stof	: 3,69 mg CO ₂ ; 1,73 mg H ₂ O; 1,498 mg Au.
3,555 " "	: 0,078 cm ³ N ₂ (23°, 766 mm).
5,549 " "	: 5,70 mg AgCl.
Berekend voor C ₁₁ H ₂₆ O ₃ NAuCl ₄ (559)	: C 23,61; H 4,65; N 2,50; Au 35,24; Cl 25,40.
Gevonden	: C 23,71; H 4,53; N 2,55; Au 35,29; Cl 25,41.

Chloorauraat van quaternair (trimethyl-)ammoniumchloride van threoninal-diaethylacetaal.

Op dezelfde wijze, als hierboven beschreven is voor de allo-vorm, wordt uit het quaternaire jodide van threoninal-acetaal het chloride bereid, dat ook hier een kleurloze, hygroscopische stroop is, die na lang drogen grotendeels kristalliseert.

Met goudchloride geeft deze stof een olie, die na enige tijd staan kristalliseert. Het smeltpunt van het chloorauraat is 76—77°. Het mengsmeltpunt met de diastereomere vorm is 57—64°.

Analyse

4,297 mg stof	: 3,72 mg CO ₂ ; 1,77 mg H ₂ O; 1,523 mg Au.
3,721 „ „	: 0,083 cm ³ N ₂ (23°, 766 mm).
5,681 „ „	: 5,87 mg AgCl.
Berekend voor C ₁₁ H ₂₆ O ₃ NAuCl ₄ (559) :	C 23,61; H 4,65; N 2,50; Au 35,24; Cl 25,40.
Gevonden	: C 23,61; H 4,58; N 2,59; Au 35,44; Cl 25,56.

Verzeping van quaternair (trimethyl-)ammoniumchloride van allo-threoninal-diaethylacetaal.

46,9 mg quaternair chloride van allo-threoninal-acetaal wordt opgelost in 0,7 cm³ 12 n zoutzuur. Wij verdampen de vloeistof boven fosforpentoxyde en natronkalk in een vacuumexsiccator en drogen het achterblijvende, kleurloze stroopje nog enkele uren boven vers fosforpentoxyde. Het gewicht is nu 33,6 mg. De stof reduceert Fehling's oplossing in de kou, geeft echter met fuchsine-zwaveligzuur geen reactie.

Wij lossen het product op in 1,5 cm³ water en voegen hierbij een 20 proc. oplossing van goudchloride. Een kristallijn chloorauraat slaat neer. Na filtreren en drogen bedraagt de opbrengst 41 mg. Het smeltpunt is 138—140° (onder ontleding).

Analyse

4,313 mg stof	: 2,81 mg CO ₂ ; 1,21 mg H ₂ O; 1,810 mg Au.
4,168 „ „	: 0,110 cm ³ N ₂ (21°, 767 mm).
4,790 „ „	: 5,90 mg AgCl.
Berekend voor C ₇ H ₁₆ O ₂ NAuCl ₄ (485) :	C 17,32; H 3,30; N 2,89; Au 40,62; Cl 29,28.
„ „ C ₇ H ₁₄ ONAuCl ₄ (467) :	C 17,99; H 3,00; N 3,00; Au 42,18; Cl 30,41.
Gevonden	: C 17,77; H 3,12; N 3,09; Au 41,97; Cl 30,47.

Verzeping van quaternair (trimethyl-)ammoniumchloride van threoninal-diaethylacetaal.

50,7 mg quaternair chloride van threoninal-acetaal wordt overgoten met 0,7 cm³ 12 n zoutzuur. Vervolgens wordt de vloeistof in vacuum boven fosforpentoxyde en natronkalk verdampt en het kleurloze residu gedurende enige uren onder lage druk gedroogd.

Het gewicht is nu 41,3 mg. De stof kleurt fuchsine-zwaveligzuur niet, reduceert echter Fehling's proefvocht.

Opgelost in 1,5 cm³ water wordt met goudchloride een kristal-
lijn chloorauraat gevormd. Het gewicht is 42 mg. De stof smelt
bij 138—140° (onder ontleding). Het mengsmeltpunt met de allo-
vorm vertoont geen depressie.

Analyse

4,123 mg stof	: 2,67 mg CO ₂ ; 1,20 mg H ₂ O; 1,720 mg Au.
4,126 " "	: 0,111 cm ³ N ₂ (21°, 767 mm).
4,787 " "	: 5,86 mg AgCl.
Berekend voor C ₇ H ₁₆ O ₂ NAuCl ₄ (485)	: C 17,32; H 3,30; N 2,89; Au 40,62; Cl 29,28.
" " C ₇ H ₁₄ ONAuCl ₄ (467)	: C 17,99; H 3,00; N 3,00; Au 42,18; Cl 30,41.
Gevonden	: C 17,66; H 3,23; N 3,15; Au 41,72; Cl 30,28.

STELLINGEN.

I.

Muscarine moet worden beschouwd als een derivaat van α -aminovaldeeraldehyd.

II.

Het is gewenst, bij onderzoekingen over de stereochemische specificiteit van peptidasen, de splitsing zowel door bepalingen van de optische rotatie als titrimetrisch na te gaan.

O. K. Behrens en M. Bergmann, J. biol. Chem. 129, 587 (1939).

E. Waldschmidt-Leitz en K. Mayer, H. 262, IV (1939).

III.

Het is niet bewezen, dat „calcium-borogluconaat”, opgelost in water, volledig is gesplitst in zijn componenten.

H. T. Macpherson en J. Stewart, Biochem. J. 32, 76 (1938).

IV.

Voor de bepaling van het aantal bacteriën in rauwe melk verdient de directe microscopische methode de voorkeur, voor de bepaling van het aantal bacteriën in gepasteuriseerde melk de plaatmethode.

Melkbesluit 1939 (Staatsblad no. 863).

Standard Methods for the examination of dairy products, Am. Pub. Health Assn. 1939.

V.

De beschouwingen van Audubert over de dissociatie van de peptiserende zuren bij mastix-solen zijn onjuist.

R. Audubert, Trans. Faraday Soc. 36, 144 (1940).

VI.

Boutaric en Breton hebben niet bewezen, dat de neutralisatie van een zuur kolloïd volgens een totaal ander mechanisme verloopt dan die van een moleculair dispers zuur.

M. A. Boutaric en M. Breton, Bl. (5) 6, 274 (1939).

VII.

Het is niet bewezen, dat de door Przylecki en medewerkers verkregen modificatie van glycine uit de niet geïoniseerde moleculen zou bestaan.

St. J. von Przylecki en mw., Bio. Z. 300, 128 (1939).

VIII.

Door verhitten van cholesteryl-acetaat met 2-methyl-1,4-naphtochinon ontstaat een provitamine D. Hieraan mag echter geen physiologische betekenis worden toegekend.

P. P. T. Sah, R. 59, 454 (1940).

D
otr
19