

# FORTSCHRITTE DER CHEMISCHEN FORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN VON

**F. G. FISCHER**  
WÜRZBURG

**H. W. KOHLSCHÜTTER**  
DARMSTADT

**KL. SCHÄFER**  
HEIDELBERG

SCHRIFTLEITUNG:

**H. MAYER-KAUPP**  
HEIDELBERG

**3. BAND, 1. HEFT**

MIT 29 TEXTABBILDUNGEN



BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG  
SPRINGER - VERLAG  
1954

Fortschr.  
chem. Forsch.

*Preis DM 24.—*

Die

**„Fortschritte der chemischen Forschung“**

erscheinen zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Ihre Aufgabe liegt in der Darbietung monographischer Fortschrittsberichte über aktuelle Themen aus allen Gebieten der chemischen Wissenschaft. Hauptgesichtspunkt ist nicht lückenloses Zitieren der vorhandenen Literaturangaben, sondern kritische Sichtung der Literatur und Verdeutlichung der Hauptrichtungen des Fortschritts. Auch wenden sich die Fortschrittsberichte nicht ausschließlich an den Spezialisten, sondern an jeden interessierten Chemiker, der sich über die Entwicklung auf den Nachbargebieten zu unterrichten wünscht. Die Berichterstattung erstreckt sich vorläufig über den Zeitraum der letzten 10 Jahre. Beiträge nichtdeutscher Autoren können in englischer oder französischer Sprache veröffentlicht werden.

In der Regel werden nur angeforderte Beiträge veröffentlicht. Nicht angeforderte Manuskripte werden dem Herausgeberkollegium überwiesen, das über die Annahme entscheidet. Für Anregungen betreffs geeigneter Themen sind die Herausgeber jederzeit dankbar.

Anschriften:

*Prof. Dr. F. G. Fischer, (13a) Würzburg, Röntgenring 11 (Organische Chemie und Biochemie).*

*Prof. Dr. H. W. Kohlschütter, (16) Darmstadt, Eduard-Zintl-Institut der T. H. (Anorganische Chemie).*

*Prof. Dr. Kl. Schäfer, (17a) Heidelberg, Plöck 55 (Physikalische Chemie).*

*Dr. H. Mayer-Kaupff, (17a) Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24 (Springer-Verlag).*

**Springer-Verlag****Heidelberg**

Neuenheimer Landstraße 24  
Fernsprecher 24 40

**Berlin W 35**

Reichpietschufer 20  
Fernsprecher 24 92 51

**Vertriebsvertretung des Verlages im Ausland:**

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W. 1

3. Band

**Inhaltsverzeichnis.**1. Heft  
Seite

WOLTER, H., Das Phasenkontrastverfahren und seine Anwendbarkeit auf chemische Untersuchungen. Mit 20 Textabbildungen . . . . .	1
KIESSLING, R., Die Nitride, Karbide, Boride und Silizide der Übergangsmetalle. Mit 2 Textabbildungen . . . . .	41
STEVENS, G. DE and F. F. NORD, Studies on native lignins and lignification. With 7 Figures . . . . .	70
WEYGAND, F., und H. GRISEBACH, Die Anwendung von Isotopen in der organischen Chemie. . . . .	108

# Das Phasenkontrastverfahren und seine Anwendbarkeit auf chemische Untersuchungen.

Von

H. WOLTER.

Mit 20 Textabbildungen.

## Inhaltsübersicht.

	Seite
Einleitung . . . . .	1
I. Das Wesen des Phasenkontrastverfahrens . . . . .	2
1. Über die optische Unterscheidbarkeit eines Objektes von seiner Umgebung . . . . .	2
2. Eingriffe in den optischen Strahlengang eines Mikroskops zur Umwandlung von Phasendifferenzen in Amplitudendifferenzen. . . . .	6
3. Abweichungen praktischer Phasenkontrastgeräte vom strengen Prinzip . . . . .	12
4. Moderne Formen der Phasenkontrastmikroskopie. . . . .	18
II. Anwendbarkeit des Phasenkontrastverfahrens auf chemische Untersuchungen . . . . .	21
5. Gestaltuntersuchungen an festen Körpern. . . . .	21
6. Identitätsprüfungen und Reinheitsprüfungen . . . . .	26
7. Messung des Brechungsindex und der Molekularrefraktion. . . . .	27
8. Beobachtungen von Phasenänderungen . . . . .	28
9. Brechungsindexdifferenzen einer Phase, insbesondere Konzentrationsdifferenzen. . . . .	30
III. Ausblick und Vergleich mit anderen Verfahren zur verdeutlichten Abbildung von Phasenobjekten . . . . .	34
10. Interferenzverfahren . . . . .	34
11. Moderne Schlierenverfahren. . . . .	36
Literatur. . . . .	38

## Einleitung.

Das Phasenkontrastverfahren ist ein optisches Verfahren zur verdeutlichten Abbildung nichtabsorbierender Objekte; es macht kleine Brechungsindexdifferenzen zwischen zwei Gegenständen oder zwei Stoffen sehr deutlich sichtbar, insbesondere auch bei kleinsten Mengen unter mikroskopischer Beobachtung. In dem Worte „Phasenkontrastverfahren“ steckt der physikalische Phasenbegriff im Zusammenhang mit einer Schwingung; dazu gibt der Teil I eine eingehende Darstellung.

Seit ZERNIKE das Phasenkontrastverfahren fand (57), (58) und die Firma Carl Zeiss (56) es zu einem bequem anwendbaren mikroskopischen Verfahren entwickelte, ist es mit großem Erfolg in der Biologie (23), (24)

und in der Medizin eingesetzt worden. Nur vereinzelt wurde es hier und da zu chemischen Untersuchungen benutzt (11), (38), (39), (43), (46). Seine Bedeutung für die Chemie liegt aber auf der Hand, werden doch praktisch alle chemischen Vorgänge von einer Brechungsindexänderung begleitet. Grobe Effekte wie Farbumschläge oder allgemeiner Lichtabsorptionsänderungen sind demgegenüber selten. Die Beobachtung von Phasenänderungen — das Wort „Phase“<sup>1</sup> ist jetzt im Sinne des Chemikers gebraucht — wie Niederschlagsbildung, Tröpfchen- oder Blasenbildung gehen vor allem mit Brechungsindexänderungen Hand in Hand. Bei der Untersuchung der Gestalt, Größe und Molekularrefraktion der Teilchen neuer Phase oder des Feinbaues von kolloidalen Lösungen, Gelen, Faserstoffen usw. muß ein Verfahren Vorteile bieten, das Brechungsindexdifferenzen empfindlicher anzeigt als die meisten älteren Verfahren. Darüber hinaus lassen sich viele Vorgänge, die keine Phasenänderungen im thermodynamischen Sinne zur Folge haben, z. B. Konzentrationsänderungen, optisch oft ausschließlich auf Grund der Brechungsindexänderungen verfolgen.

Freilich führen in allen solchen Fällen auch andere optische Verfahren zum Ziel; aber die einfacheren unter diesen (Schrägbeleuchtung, Dunkelfeld) stehen dem Phasenkontrastverfahren an Empfindlichkeit bzw. Deutlichkeit nach, und die besseren, etwa die interferometrischen Methoden, sind wesentlich umständlicher und kostspieliger. Das gibt dem Phasenkontrastverfahren, obwohl es dem Chemiker durchaus nicht alle hiermit zusammenhängenden Wünsche erfüllt, eine bemerkenswerte Bedeutung für chemische Untersuchungen.

Da diese Bedeutung bis vor kurzem wenig bekannt war, kann der vorliegende Artikel naturgemäß noch nicht zusammenfassend über Geschehenes berichten; er kann nur an Hand von Beispielen *Möglichkeiten aufweisen und künftige Anwendungen des Verfahrens* anzuregen versuchen.

Ein wesentlicher Gegenstand dieses Berichtes werden zunächst die physikalische Grundlage des Verfahrens, seine Wirkungsweise und die Deutung der mit ihm gesehenen Bilder sein.

## I. Das Wesen des Phasenkontrastverfahrens.

### 1. Über die optische Unterscheidbarkeit eines Objektes von seiner Umgebung.

Beobachten wir z. B. eine homogene nichtabsorbierende Flüssigkeit, die zwischen zwei parallelen Glasplatten gelagert sei, vor einer gleich-

<sup>1</sup> Das Wort „Phase“ hat leider in der Physik sehr verschiedene Bedeutungen. Hier wird sowohl die thermodynamische als auch die im Zusammenhang mit Schwingungen gebräuchliche Verwendung des Wortes benötigt. Verfasser glaubte von einer Wortneuschöpfung, die an sich zweckmäßig wäre, in diesem Bericht absehen zu müssen.

mäßig hellen Fläche, und enthält diese Flüssigkeit an einer Stelle ein irgendwie Licht absorbierendes Objekt, so erscheint dieses Objekt als dunkler — gegebenenfalls gefärbter — Fleck in heller Umgebung. Das Objekt verringert dann die Amplitude der Lichtwelle, wie die Abb. 1 b das im Vergleich zu Abb. 1 a veranschaulicht; wir nennen dann das

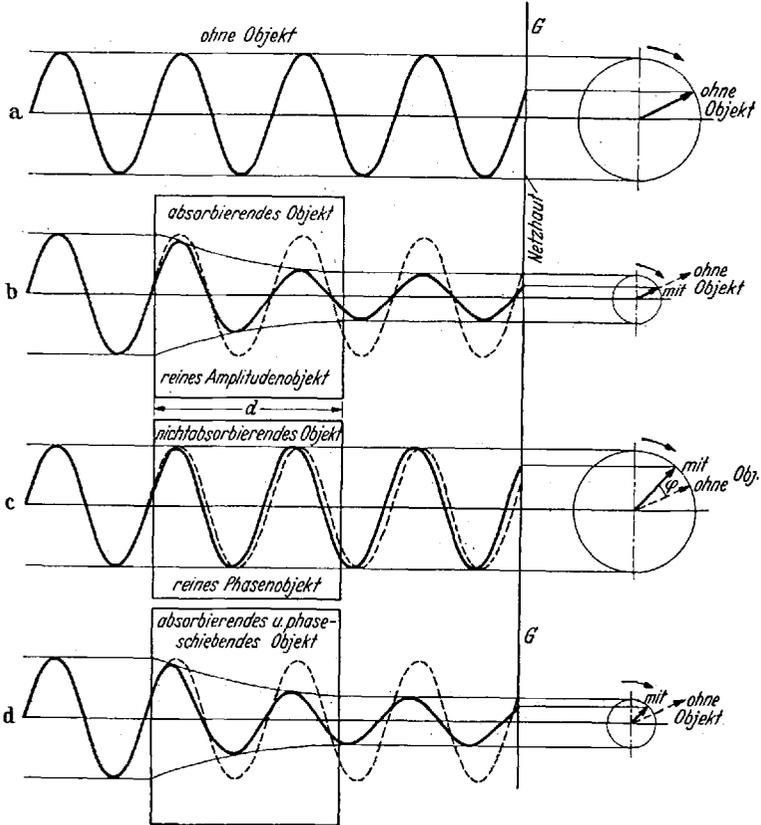


Abb. 1 a—d. Momentbild einer Welle (links) und zugehöriges Pfeilbild (rechts): a Ohne Objekt im Strahlengang; b bei reinem Amplitudenobjekt; c bei reinem Phasenobjekt; d bei gemischtem Objekt.

Objekt ein Amplitudenobjekt. Absorbiert aber das Objekt nicht, ist es also beispielsweise nur eine Stelle erhöhter Konzentration in der umgebenden nichtabsorbierenden Flüssigkeit, die wir uns etwa als Lösung denken wollen, so weicht die Lichtamplitude an dieser Objektstelle nicht von der in der Umgebung herrschenden ab, und dieses Objekt ist ohne weiteres nicht sichtbar. Trotzdem nimmt das nichtabsorbierende Objekt immer einen Einfluß auf das Licht, sofern sein Brechungsindex von dem der Umgebung abweicht. Dieser Einfluß betrifft aber nicht die Amplitude und damit die Intensität (Quadrat der Amplitude), sondern

nur die Zeit, zu der Wellenberge und -täler auf die Netzhaut treffen, mit anderen Worten, die „Phase“ der Welle. Abb. 1c veranschaulicht das. Ein Objekt, das sowohl im Brechungsindex als auch in der Absorption von der Umgebung abweicht, verändert Phase und Amplitude entsprechend der Abb. 1d.

In Abb. 1 rechts sind Pfeile gezeichnet, die wir uns mit der Frequenz des Lichtes im Kreise im Uhrzeigersinn umlaufen denken. Die Projektion des Pfeiles auf die vertikale Gerade  $G$  gibt dann in jedem Zeitpunkt die Lichterregung auf der von dieser Welle getroffenen Netzhautstelle an. In dem Augenblick, den wir bei der Zeichnung der Wellen links an der Netzhautstelle gezeichnet haben, hat der Pfeil jeweils die rechts gezeichnete Lage. In diesem Pfeilbilde äußert sich eine Amplitudenänderung als Längenänderung des Pfeiles — wir nennen die Pfeillänge geradezu „Amplitude“. Reine Phasenabweichung dagegen bedeutet reine Richtungsabweichung des Pfeiles ohne Längenabweichung (Abb. 1c). Das Objekt in Abb. 1d beschreiben wir bezüglich seines Einflusses auf das Licht durch Längenänderung und Richtungsänderung, entsprechend der Absorption und Brechungsindexänderung.

Quantitativ wird die Phasenabweichung also durch einen Winkel  $\varphi$  gemessen, der z. B.  $2\pi$  beträgt, wenn das Objekt eine ganze Wellenlänge mehr auf seiner Dicke  $d$  unterbringt als die Umgebung. Ist  $\lambda$  die Lichtwellenlänge in dem Objekt,  $\lambda_0$  die Lichtwellenlänge in dem umgebenden Medium, so ist die Zahl der Wellenlängen, die im Objekt mehr vorhanden ist als in einer gleich dicken Schicht des umgebenden Mediums

$$\frac{d}{\lambda} - \frac{d}{\lambda_0} = \frac{\varphi}{2\pi}. \quad (1)$$

Da die Wellenlängen mit Hilfe des Brechungsindex im Objekt  $n$  und in der Umgebung  $n_0$  sich nach

$$\lambda = \frac{\lambda_v}{n}, \quad \lambda_0 = \frac{\lambda_v}{n_0}$$

aus der Lichtwellenlänge im Vakuum  $\lambda_v$  berechnen, so folgt aus (1)

$$\varphi = 2\pi \frac{d}{\lambda_v} (n - n_0). \quad (2)$$

Maßgebend für die Phasenabweichung  $\varphi$ , die ein Objekt bewirkt, ist also das Produkt aus seiner Dicke und der Abweichung seines Brechungsindex von seiner Umgebung.

Für Objekte nach Abb. 1b und 1d hat sich die Bezeichnung „Amplitudenobjekte“ eingebürgert, für Objekte nach Abb. 1c, die nur die Phase ändern, ist die Bezeichnung „Phasenobjekte“ üblich geworden. Die Unsichtbarkeit der Phasenobjekte bei der oben beschriebenen einfachen Beobachtungsweise erklärt sich aus einer Eigenschaft unserer

Netzhaut, die Organe nur für Intensitätsunterschiede, nicht aber für Phasenunterschiede besitzt. Es wäre auch erstaunlich, wenn eine Phasenabweichung Einfluß auf den relativ zur Schwingungsperiode des Lichtes ( $1,3 \cdot 10^{-15}$  bis  $2,4 \cdot 10^{-15}$  sec) äußerst trägen photochemischen Vorgang in den Zapfen und Stäbchen hätte. Entsprechendes gilt für die photographische Schicht.

Abb. 2 zeigt oben links die Aufnahme eines Gitters, das in eine schwarze Lackschicht eingeschnitten wurde; es diene hier als Modell eines Amplitudenobjekts. Rechts oben ist entsprechend ein Gitter aufgenommen, das in eine völlig durchlässige Zaponlackschicht geschnitten

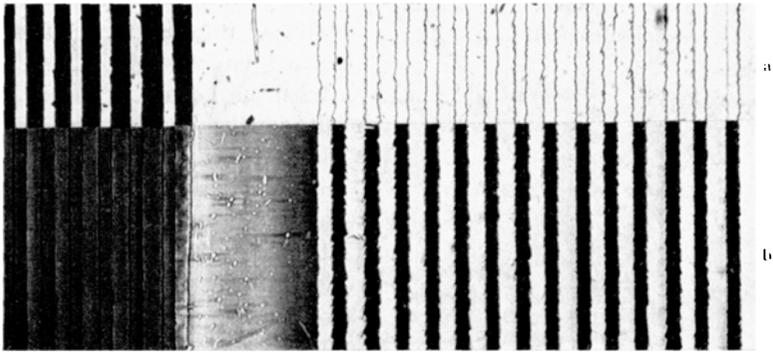


Abb. 2a u. b. Bilder eines Amplitudengitters (links) und eines Phasengitters (rechts). Beide Gitter oben (a) mit dem Hellfeldmikroskop, unten (b) mit dem Phasenkontrastmikroskop aufgenommen.

wurde. Da die überall gleichmäßig dicke Glasplatte, die als Trägerplatte diente, außer Betracht bleiben kann, stellen die Zaponlackstege Phasenobjekte in der umgebenden Luft dar. Dieses Gitter, wir nennen es ein „Phasengitter“, hatte die gleichen Abmessungen der Gitterstege und der Gitterzwischenräume wie das links abgebildete Amplitudengitter. Wie zu erwarten, kann man bei dem Phasengitter in der Abbildung nicht die Stege von den Zwischenräumen unterscheiden. Aber die Grenzen der Stege sind dunkel sichtbar — ähnlich wie die Ränder von Gasblasen in einer Flüssigkeit als dunkle Ringe erkennbar werden. Die Stegränder waren ohne Absicht etwas schräg geschnitten und lenkten als kleine Prismen das Licht so stark nach der Seite ab, daß es nicht mehr in das Objektiv eintreten konnte. Die Objektivfassung griff hier ein wenig helfend in den Strahlengang ein. Solche Eingriffe in wirksamerer Form sind es, die bei einer großen Zahl von Verfahren zur Verdeutlichung der Phasenobjekte entscheidend sind; das trifft auch für das Phasenkontrastverfahren zu, bei dem ein unten ausführlich zu besprechender Eingriff zu einem Bilde nach Abb. 2b für dieselben Gitter führt, die darüber in Abb. 2a in dem gewöhnlichen „Hellfeldbilde“ dargestellt sind. Das unmittelbare Ziel des Eingriffs in den Strahlengang muß allgemein die

Umwandlung von Phasendifferenzen in Amplitudendifferenzen sein; denn Amplitudenunterschiede im resultierenden Bilde sind die Voraussetzung für eine dem Auge oder der Platte bemerkbare Differenzierung verschiedener Bildteile gegeneinander.

## 2. Eingriffe in den optischen Strahlengang eines Mikroskops zur Umwandlung von Phasendifferenzen in Amplitudendifferenzen.

Die Lösung der im Abschnitt 1 beschriebenen Aufgabe sei, um etwas Bestimmtes und zugleich den praktisch wichtigsten Fall vor Augen zu

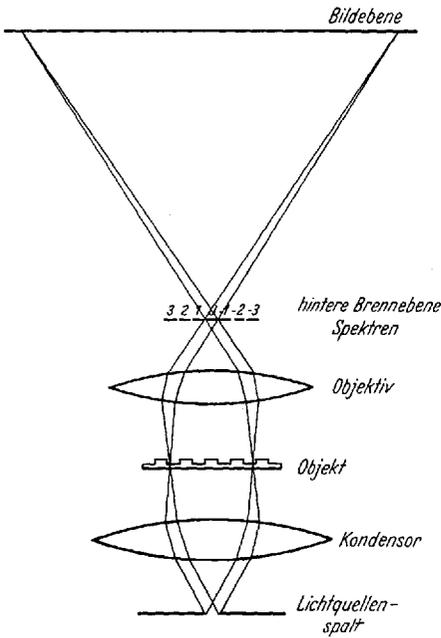


Abb. 3. Strahlengang im Mikroskop.

haben, an dem mit einem Mikroskop bewaffneten Auge dargestellt. Um der Einfachheit willen betrachten wir als Objekt zunächst ein Gitter, etwa ein Amplitudengitter oder dann auch ein Phasengitter. Dieses Gitter liege auf dem Objektisch eines üblichen Mikroskops, das wir mit Abb. 3 andeuten. Die Kondensorenblende in der unteren Kondensoren Brennebene denken wir uns zunächst als eine kleine Öffnung, durch die wir divergentes Licht auf den Kondensator schicken. Der Kondensator macht daraus ein Parallelstrahlbündel, das bei Abwesenheit jedes Objekts von dem Objektiv in einen Punkt der oberen Objektivbrennebene gesammelt würde.

Liegt aber ein Gitter auf dem Objektisch, so bildet es mit einem Teil der Mikroskopoptiken zusammen einen kleinen Gitterspektrographen, in dem z. B. der Kondensator die Rolle des Kollimators spielt. Die Spektren nullter, erster, zweiter Ordnung usw. liegen dann in der oberen Brennebene des Objektivs, und dort kann man sie nach Herausnehmen des Okulars aus dem Mikroskoptubus deutlich sehen, wenn man von oben in den Tubus blickt. Setzen wir der Einfachheit halber monochromatische Beleuchtung voraus, so ist jedes dieser Spektren nur eine neue punktförmige Lichtquelle, die für sich allein die Bildebene, die wir ja durch das Okular (Lupe) zu betrachten pflegen, mit gleichmäßiger Intensität beleuchtet, wie das die Abb. 4b für das Spektrum nullter Ordnung darstellt.

Das Licht aller dieser Lichtquellen (Spektren) interferiert in der Bildebene miteinander. Die Abb. 4a ist also zu verstehen als ein solches Interferenzphänomen, und diese auf ABBE zurückgehende Auffassung wird der Wellennatur des Lichtes gerecht im Unterschied zu der elementaren strahlenoptischen Betrachtung der Bildentstehung im Mikroskop, die nur die grössten Züge der Erscheinungen erfaßt.

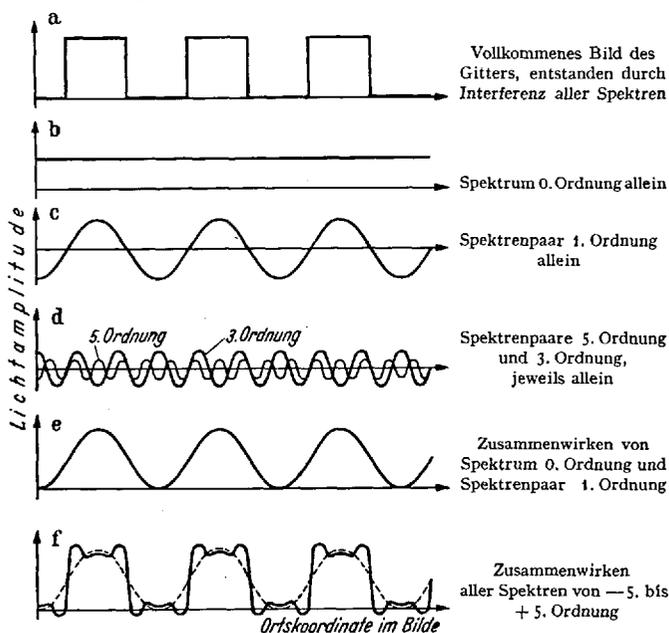


Abb. 4a–f. Bildentstehung im Mikroskop durch Zusammenwirken der Spektren, die in der oberen Brennebene des Mikroskopobjektivs liegen und wie kohärente Lichtquellen auf der Bildebene miteinander zu einem je nach Spektrenzahl mehr oder weniger vollkommenen Bilde des Objektgitters interferieren.

Das Spektrenpaar erster Ordnung für sich allein gibt ein Interferenzstreifen­system mit einem sinusförmigen Amplitudenverlauf nach Abb. 4c. Diese Wirkung zweier kohärenter punktförmiger Lichtquellen ist z. B. von FRESNELs Spiegelversuch her bekannt. Das Spektrenpaar  $n$ -ter Ordnung (Abb. 2d) gibt ein für sich allein ähnliches Interferenzstreifen­system mit einem entsprechend kleineren Streifenabstand.

Wir betrachten nun die Zusammenfügung dieser Einzelbilder zu dem Gesamtbilde des Objekts. Das Spektrensystem erster Ordnung und das Spektrum nullter Ordnung zusammen ergeben ein Bild 4e, das bereits dem vollständigen Bilde 4a nahekommt und annähernd richtige Intensitätswerte jedenfalls schon in der Mitte der Gitterstreifen und der Zwischenräume liefert. Die Spektren höherer Ordnung (z. B. Abb. 4d) treiben gemeinsam die zu stark gerundete Kurve 4e richtig in die Ecken der Kurve 4a, wie Abb. 4f das für die Spektren  $-5.$ ,  $-4.$ ,  $-3.$ ,  $-2.$ ,

-1., 0., +1., +2., +3., +4., +5. Ordnung in ihrem Zusammenwirken darstellt.

Jedes Spektrenpaar 1., 2. oder 3. Ordnung usw. gibt zum Interferenzbild einen Amplitudenanteil, der ebenso stark unter die Abszissen-

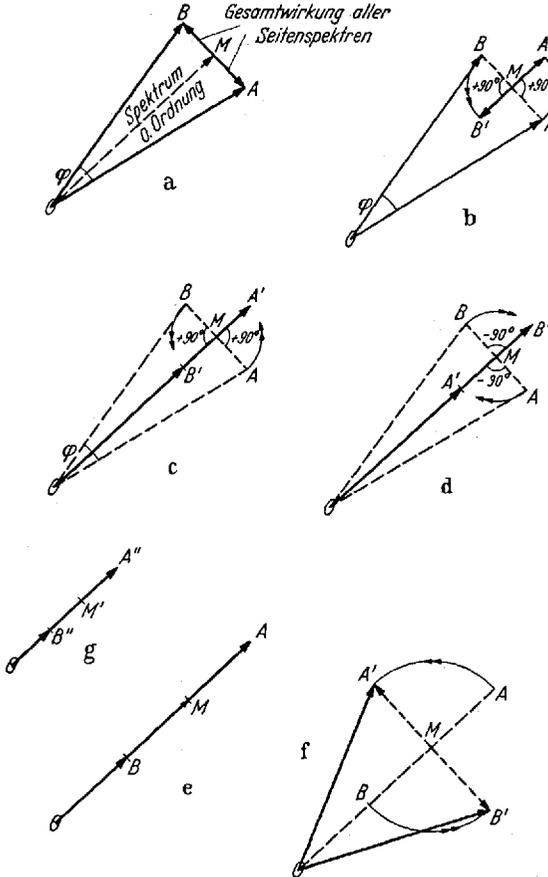


Abb. 5a—g. Pfeilkonstruktionen zur Anwendung des Phasenkontrastverfahrens auf die Abbildung eines Phasengitters (a—d) und eines Amplitudengitters (e, f). c Positives, d negatives Phasenkontrastverfahren. g' betrifft positiven Phasenkontrast bei gleichzeitiger Absorption im ZERNIKE-Plättchen nach S. 13.

achse sinkt, wie er sich darüber erhebt; es trägt also zum Mittelwert der Bildamplitude (gemittelt über die Bildkoordinate) nicht bei. Dieser Mittelwert ist daher durch das Spektrum nullter Ordnung (Abb. 4a) allein gegeben.

Hieran ändert sich auch nichts, wenn wir das Amplitudengitter durch ein „Phasengitter“ ersetzen. Die durch das Phasengitter verursachten Spektren sehen auch gleichartig aus wie die von einem Amplitudengitter gleicher Gitterkonstante erzeugten. Und doch interferieren sie zu einem

völlig anderen Bilde, das keine Intensitätsunterschiede aufweist. Die Ursache für diesen Unterschied kann nur in einem Unterschied der zwischen den Spektren bestehenden Phasenbeziehungen liegen. Ohne ins einzelne zu gehen, können wir nach ZERNIKES Vorgang (57), (58) diesen Unterschied an Hand der Pfeile, die den einzelnen Wellen zuzuordnen sind, überlegen. Die Pfeile  $OA$  und  $OB$  in Abb. 5 a seien die Lichterregungen im Bilde der Lackstreifen bzw. der Zwischenräume. Bei einem Phasengitter unterscheiden sich beide Vektoren, wie im Zusammenhang mit der Abb. 1 auseinandergesetzt wurde, nicht im Betrag sondern nur in der Phase, d.h. Richtung (Abb. 5 a). Das Spektrum nullter Ordnung für sich allein gibt den „Mittelwert“  $OM$ . Bei dieser

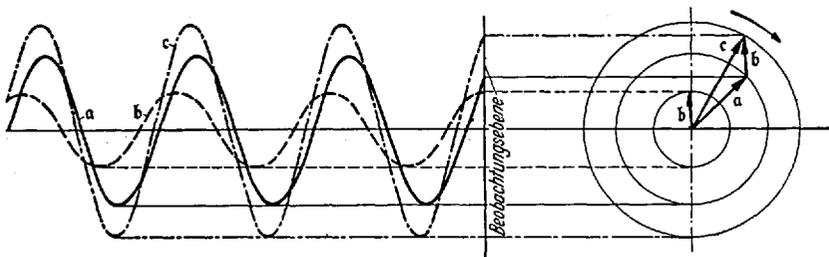


Abb. 6. Der Addition zweier Wellen  $a$  und  $b$  zu einer neuen Welle  $c$  links entspricht die Vektoraddition der zugehörigen Pfeile  $a + b = c$  rechts.

Mittelbildung hat jeder der beiden Punkte  $A$  und  $B$  ein „Gewicht“ entsprechend der Breite der Lackstreifen bzw. der Zwischenräume.

Für ein reines Amplitudengitter dagegen haben die beiden Lichtvektoren  $OA$  und  $OB$  gleiche Phase aber verschiedenen Betrag, wie Abb. 5 e das für ein Amplitudengitter mit etwas durchsichtigen Lackstreifen darstellt. Wieder gibt  $OM$  den Mittelwert, d.h. die Wirkung des Spektrums nullter Ordnung allein. Die Seitenspektren zusammen bewirken nun offenbar bei beiden Gittern gerade die Vektoren  $MA$  und  $MB$ , die zum Spektrum nullter Ordnung  $OM$  hinzukommen müssen, um das vollständige Bild  $OA$ ,  $OB$  zu geben. Dabei machen wir Gebrauch von der Tatsache, daß sich die Addition zweier Lichtwellen im Pfeilbilde als Aneinanderfügen der Pfeile darstellt, wie Abb. 6 das plausibel macht. Die Seitenspektren liegen also für ein Amplitudengitter nach Abb. 5 e gleichgerichtet, d.h. gleichphasig zum Spektrum nullter Ordnung, während sie für ein Phasengitter nach Abb. 5 a senkrecht stehen auf  $OM$ , d.h. um  $90^\circ$  phasenverschoben gegen das Spektrum nullter Ordnung sind.

Daraus folgt nun zwangsläufig, daß eine Phasendrehung aller Seitenspektren um  $90^\circ$  gegenüber dem Spektrum nullter Ordnung — etwa durch einen künstlichen Eingriff — automatisch das Bild eines Phasengitters in das eines Amplitudengitters — also in ein deutlich sichtbares

Gitterbild — verwandeln muß. Das war unser Ziel, und das Phasenkontrastverfahren besteht prinzipiell gesehen in der Durchführung dieser Phasendrehung, der übrigens natürlich eine Phasendrehung des Spektrums nullter Ordnung allein bei unveränderten Seitenspektren äquivalent ist (47), (48).

Die Phasendrehung der Seitenspektren um  $90^\circ$  kann in zwei verschiedenen Richtungen geschehen. Dreht man sie so, wie die Abb. 5 b und 5 c es zeigen, so erhält man ein Bild, in dem nun die Teile des Phasengitters mit größerem Brechungsindex ( $B$ ) dunkler erscheinen; zu ihnen gehört der Pfeil  $OB'$ , der kürzere im Vergleich zu dem Pfeil  $OA'$ , der den Gitterzwischenräumen zugeordnet ist. Man spricht dann von „positivem Phasenkontrastverfahren“. Dreht man die Seitenspektren um  $90^\circ$  in anderer Richtung, so spricht man von negativem Phasenkontrastverfahren; es führt für die Objektstellen größeren Brechungsindex zu dem längeren Pfeile  $OB'$  in Abb. 5 d, d. h. zu größerer Intensität im Bilde als für die Gitterzwischenräume. Aus Gründen der Gewohnheit bevorzugt wird meist das positive Phasenkontrastverfahren, obwohl beide bezüglich Deutlichkeit gleichwertig sind; denn es entspricht der Gewöhnung, wenn beispielsweise Bakterien dunkel in heller Umgebung erscheinen, wie es ja auch bei chemisch angefärbten biologischen Präparaten der Fall ist.

Praktisch durchgeführt wird die  $90^\circ$ -Phasenverschiebung z. B. durch Einbringen einer Glasplatte in den Strahlengang, und zwar am Orte der oberen Brennebene des Objektivs (s. Abb. 3!). Die Glasplatte — wir nennen sie kurz „ZERNIKE-Plättchen“ — trägt bei negativem Phasenkontrast dort, wo das Spektrum nullter Ordnung liegt, eine Erhöhung und bei positivem Phasenkontrast eine Vertiefung. Die Erhöhung oder Vertiefung ist so bemessen, daß sie einen Gangunterschied von einem Wellenlängenviertel, d. h. einen Phasenunterschied von  $90^\circ$ , bewirkt gegenüber der Umgebung, die Einfluß auf die Seitenspektren nimmt.

Mit einer Phasenkontrastvorrichtung, wie sie soeben beschrieben wurde, sind die Abb. 2 b, 7 b, 7 c und 8 b aufgenommen worden. Die Zaponlackstreifen, die hier als Phasenobjekte dienten, werden deutlich dunkel auf hellem Grunde dargestellt, während von ihnen in den zum Vergleich aufgenommenen Hellfeldbildern 2 a, 7 d und 8 d nur die Kanten angedeutet sind. Das Hellfeldbild 8 d läßt besonders rechts nicht einmal einen Schluß auf die Breite der Objektstreifen zu; erst das Phasenkontrastbild 8 c zeigt, daß es sich bei einigen der in Abb. 8 d erscheinenden Linien nicht um Objektgrenzen, sondern nur um Kratzer auf dem Objekt handelt.

Die Zaponlackstreifen in den Abb. 2, 7 und 8 hatten eine Dicke von  $55 \mu$ . Bei einem Brechungsindex 1,5 für Zaponlack bedeutet das gegenüber der umgebenden Luft eine Phasendifferenz nach Gl. (2) für

die optimal sichtbare Lichtwellenlänge  $\lambda_v = 550 \text{ m}\mu$ .

$$\varphi = 2\pi \cdot \frac{55}{550} \cdot 0,5 = \frac{\pi}{10} = 18^\circ.$$

Hier liegt also etwa der in den Abb. 5 a—d gezeichnete Phasenwinkel vor. Dünnere Platten hätten kleinere Phasenwinkel, die Punkte *A* und *B* in den Abb. 5 a—d und demnach auch die Punkte *A'* und *B'* lägen dann einander näher, und der Intensitätsunterschied im Bilde der Zaponlackstege und der Zwischenräume wäre geringer. Bei sehr dünnen Schichten schließlich würde der Kontrast unmerklich; doch werden wir im nächsten Abschnitt ein Mittel zur Kontrasterhöhung für allerfeinste Phasenobjekte diskutieren. Umgekehrt führen aber auch zu große Phasenwinkel zu Schwierigkeiten, wie an Hand der Abb. 5 leicht einzusehen ist. Erreicht der Phasenwinkel z. B.  $180^\circ$ , so fällt in der zur Abb. 5a dann entsprechenden Zeichnung *M* in *O*, und die  $90^\circ$ -Phasendrehung des Phasenkontrastverfahrens macht solche Objekte nicht sichtbar. Ein Phasenwinkel von  $360^\circ$  ist dem Phasenwinkel  $0$  äquivalent, und das Phasenkontrastverfahren ist in diesem Falle ebenfalls unwirksam.

Allgemein führt das beschriebene Phasenkontrastverfahren bei Phasenwinkeln  $n\pi$  (mit ganzer Zahl  $n$ ) nicht zu einem Intensitätskontrast. Aber auch z. B. für einen Phasenwinkel zwischen  $180$  und  $360^\circ$  ergibt sich bei positivem Phasenkontrast das ungewöhnliche Bild heller Zaponlackstreifen auf dunklem Grunde, das man bei unbekannter Objektstärke fehldeuten könnte. Aufschlußreiche und einfach deutbare Bilder erhält man also nur, wenn alle Phasenwinkel wesentlich unter

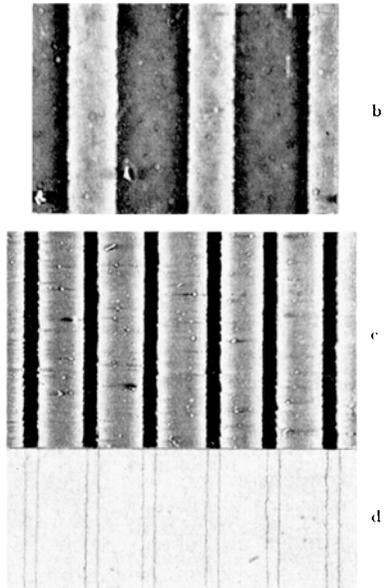
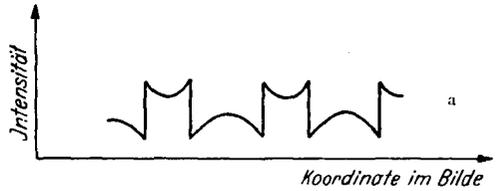


Abb. 7a—d. Phasenkontrastbilder von Phasengittern bei endlicher Breite des ZERNIKE-Streifens. a Theoretisch berechneter Intensitätsverlauf; b Phasenkontrastaufnahme entsprechend a; c Phasenkontrastaufnahme eines Phasengitters mit schmalen Zaponlackstegen und breiten Luftzwischenräumen; d Hellfeldbild desselben Objekts.

180° bleiben. Wünscht man auf Grund des Kontrastes auf die Phasendifferenz und also z. B. auf die Dicke oder den Brechungsindex zu schließen, so darf das  $\varphi$  aller Objekte 90° nicht überschreiten, d. h. nach Gl. (2) muß man

$$d \cdot (n - n_0) \leq \frac{\lambda_v}{4} \quad (3)$$

verlangen. Bei Zaponlack in Luft müßte also  $d \leq 225 \text{ m}\mu$  bleiben; in Wasser ( $n_0 = 1,33$ ) müßte  $d \leq 800 \text{ m}\mu$  sein. Wünscht man dickere Objekte zu betrachten, so sollten diese in ein geeignetes Medium eingeschlossen werden, dessen Brechungsindex  $n_0$  sich von dem Brechungsindex der Objekte  $n$  weniger unterscheidet. Aus diesem Grunde sind z. B. für die Aufnahmen 9 die Spinnenfäden in Xylol und der Glasfaden in Benzol gelegt worden, und entsprechend wurde bei fast allen Anwendungsbeispielen des Kapitels II verfahren.

Die Abb. 2b zeigt zugleich, daß ein Amplitudengitter (links) bei Phasenkontrastbeobachtung unkenntlich wird. Das ist verständlich auf Grund der Pfeilkonstruktion 5e und 5f für ein Amplitudengitter. In der letzten Skizze 5f wurden durch 90°-Phasendrehung der Seitenspektren (d. h. der Pfeile  $MA$  und  $MB$ ) die Punkte  $A$  und  $B$  in neue Punkte  $A'$  und  $B'$  übergeführt, die gleichen Abstand  $OA' = OB'$  vom Punkte  $O$  haben. Das Phasenkontrastverfahren muß daher bei Anwendung auf ein Amplitudengitter zu einem Bilde ohne merkliche Intensitätsänderungen führen. Moderne Formen des Phasenkontrastverfahrens suchen diesen Mangel zu beseitigen; über sie wird in Abschnitt 4 berichtet.

Wir haben hier das Prinzip des Phasenkontrastverfahrens am speziellen Beispiel der mikroskopischen Anwendung dargestellt. Um die Betrachtung auf makroskopische Abbildungen zu übertragen, genügt es, dem Kondensator und dem Objektiv in Abb. 3 größere Brennweiten und dem Objekt, den Abständen der Linsen und Blenden usw. entsprechende Abmessungen zu geben. Auch die Einfügung weiterer Linsen, wie sie bei makroskopischen Anwendungen üblich ist, ändert am Grundsätzlichen nichts.

### 3. Abweichungen praktischer Phasenkontrastgeräte vom strengen Prinzip.

Gegenüber der einfachen Vorrichtung, die im Abschnitt 2 zur prinzipiellen Erläuterung des Phasenkontrastverfahrens beschrieben wurde, zeigen die praktisch benutzten Phasenkontrasteinrichtungen Abweichungen vor allem in dreierlei Hinsicht.

a) Man benutzt im ZERNIKE-Plättchen am Orte des Spektrums nullter Ordnung einen 90°-Phasenstreifen, der zusätzlich etwas absorbiert (4), (14), (19), (29), (47), (48), (56), (57), (58), (59).

Die zusätzliche Absorption macht das Verfahren für kleine Brechungsindexdifferenzen empfindlicher. Denn nach Abb. 5c unterscheiden sich bei reiner  $90^\circ$ -Phasendrehung die Pfeile  $OA'$  und  $OB'$ , die zu einem schwachen Phasenobjekt mit kleinem Phasenwinkel gehören, prozentual wenig voneinander. Um ihren prozentualen Unterschied zu erhöhen, schwächt man das Spektrum nullter Ordnung und erreicht damit Pfeile, wie Abb. 5g sie zeigt; ihre absolute Differenz, die ja durch die Summe aller Seitenspektren gegeben ist, bleibt wie in Abb. 5c, während das Herabsetzen der Pfeillängen durch die zusätzliche Absorption des ZERNIKE-Phasenstreifens die relative Differenz vergrößert hat. Relative Differenzen sind es, die unser Auge als Kontrast empfindet, sofern die mittlere Bildintensität sich in vernünftigen Grenzen hält, insbesondere also nicht allzu gering wird. Eine veränderliche Absorption im ZERNIKE-Streifen zur Anpassung an die jeweils vorkommenden Objekte haben OSTERBERG (29), (30), LOCQUIN (16) und andere vorgeschlagen.

b) Ein ausreichend helles Bild erreicht man nur mit einem *hinreichend breiten Spalt in der unteren Kondensorbrennebene*, während das strenge Phasenkontrastverfahren, wie es oben beschrieben wurde, einen unendlich schmalen Spalt oder sogar eine punktförmige Öffnung voraussetzte. Die käuflichen Phasenkontrastmikroskope benutzen Spalte von größenordnungsmäßig 1 mm Breite. Die Bilder sind trotzdem schon erheblich dunkler als Hellfeldbilder, und eine wesentliche Spaltverkleinerung ist daher untragbar, zumal die Flächenhelligkeit irdischer Lichtquellen zwangsläufig eine Grenze hat.

Die relativ große Spaltbreite hat einen sehr ungünstigen Einfluß auf die Phasenkontrastbilder mancher Objekte. Der Grund hierfür wurde von MENZEL und WOLTER im einzelnen untersucht (19), (47), (48)<sup>1</sup>; er liegt — kurz gesagt — in der nicht mehr reinlichen Trennung der Seitenspektren vom Spektrum nullter Ordnung. Der breite Spalt hat ein breites Bild (Spektrum nullter Ordnung) in der oberen Objektivbrennebene und führt zu ebenfalls breiten Seitenspektren, deren mittlere Abstände vom Spektrum nullter Ordnung umgekehrt proportional zu der Gitterkonstante des Objektgitters (allgemeiner zur Objektgröße) sind und die deshalb bei breitem Spalt nur noch dann vom Spektrum nullter Ordnung zu trennen sind, wenn die Gitterkonstante (allgemein die Objektbreite) hinreichend klein ist.

Um das Spektrum nullter Ordnung (das direkte Spaltbild) nicht zu zerreißen sondern einheitlich zu behandeln, muß man den Phasenstreifen des ZERNIKE-Plättchens so breit wie das Spaltbild selbst ausführen. Die Seitenspektren breiter Objekte liegen dem Spektrum nullter Ordnung

<sup>1</sup> *Anmerkung bei der Korrektur.* Die gleiche Frage beantwortete K. SCHUSTER im Jenaer Jahrbuch 1951, S. 22, wenig später und ebenfalls unabhängig von den anderen Autoren.

so nahe, daß sie dann ebenfalls teilweise auf diesen Phasenstreifen fallen und — entgegen dem Programm des Phasenkontrastverfahrens — genau so behandelt werden wie das Spektrum nullter Ordnung. Davon werden am ehesten die Spektren erster Ordnung betroffen; sie machen daher die in Abb. 5c beschriebene Drehung gegenüber dem Spektrum nullter Ordnung nicht mit und bleiben dann ebenso unwirksam wie im

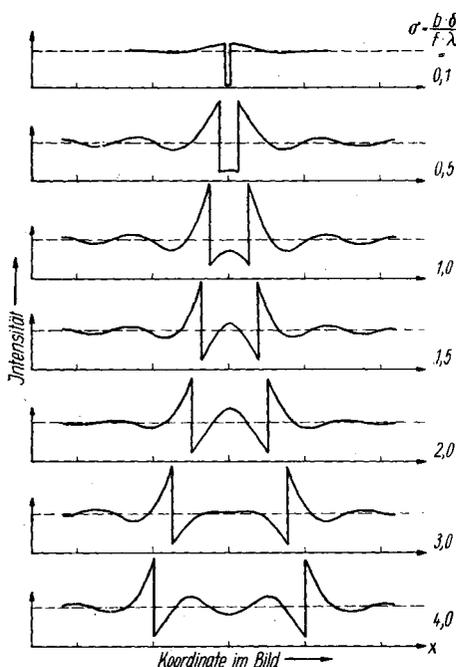


Abb. 8a. Theoretischer Intensitätsverlauf im Phasenkontrastbilde eines einzelnen dünnen Lackstreifens der Breite  $b$ ;  $f$  Objektivbrennweite;  $\lambda$  Wellenlänge des Lichtes;  $\delta$  Breite des  $90^\circ$ -Phasenstreifens (ZERNIKE-Streifens) in der Brennebene des Objektivs. Nur schmale Objekte werden unverfälscht wiedergegeben.

gewöhnlichen Hellfeldbild. Die Auswirkung dieses Fehlers muß daher annähernd so sein, als ob das Spektrenpaar erster Ordnung im Bilde fehlte. Nach Abb. 4 ist also zu erwarten, daß an dem vollkommenen Bilde 4a ein Anteil 4c fehlt. Subtrahiert man in diesem Sinne 4c von 4a, so erhält man qualitativ einen Verlauf, wie die Abb. 7a ihn theoretisch zeigt. Die Abb. 7b und c geben entsprechende praktische Phasenkontrastaufnahmen.

Für Einzelobjekte ergibt die genauere Theorie des Phasenkontrastverfahrens endlicher Spaltbreite einen Intensitätsverlauf (47), (48) nach Abb. 8a. Den entsprechenden experimentellen Befund gibt die Abb. 8b wieder. Während schmale Objekte noch „objekttreu“ abgebildet sind, erscheinen breitere Objekte in der Mitte aufgehellt und außen von einem hellen Hof begleitet.

Sehr breite Objekte werden nur noch am Rande „kontrastiert“ von der Umgebung und liefern in der Mitte die gleiche Bildintensität wie die Umgebung der Objekte, obwohl Brechungsindex und Dicke bei den in Abb. 8 abgebildeten Zaponlackstreifen über die ganze Breite hinweg konstant waren. Die „Schwärzung“ in den Aufnahmen und die Intensität im Bilde sind also leider nicht eindeutig einem bestimmten Produkt  $(n - n_0) \cdot d$  (Brechungsindexdifferenz  $\cdot$  Dicke) zugeordnet, auch wenn wir die oben formulierte Forderung nach hinreichend dünnen (in Blickrichtung) Objekten erfüllen. Wünscht man aus der Bildintensität auf die Brechungsindizes quantitativ zu schließen, so sind besondere

Vorsichtsmaßregeln nötig, während die übliche Verwendung käuflicher Phasenkontrastmikroskope fast nur qualitative Schlüsse auf Brechungsindexdifferenzen erlaubt.

Die Betrachtung der Abb. 7 und 8 von genau bekannten Objekten schützt vor einer zu optimistischen Deutung von Phasenkontrastbildern,

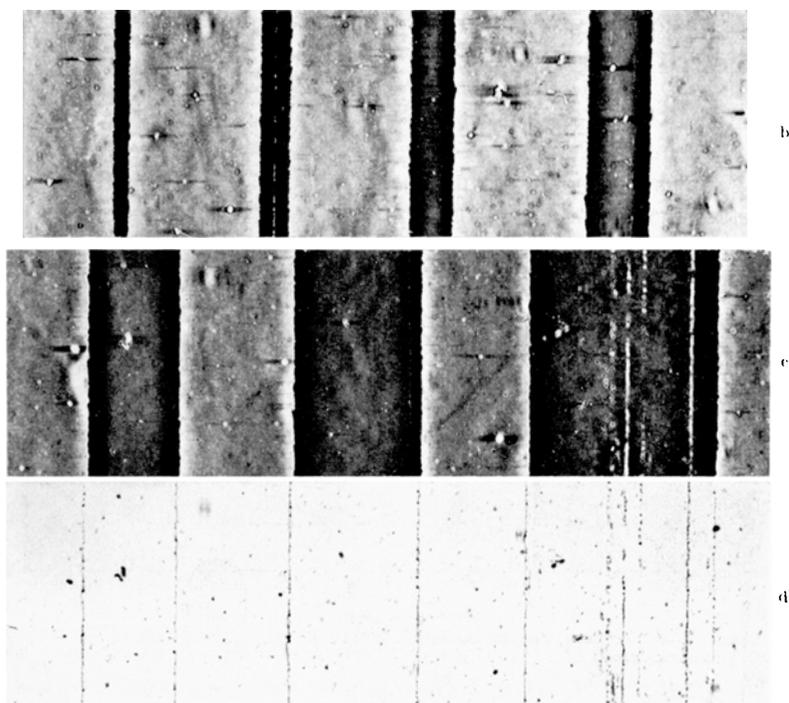


Abb. 8b—d. b u. c Phasenkontrastaufnahme einzelner Lackstreifen bei endlicher Breite des ZERNIKE-Streifens. d Hellfeldaufnahme zum Vergleich.

insbesondere vor dem falschen Schluß, daß helle Höfe außen mit Brechungsindexverkleinerung in der Umgebung und daß Aufhellungen in der Mitte (z. B. Abb. 8b unten) mit periodischen Strukturänderungen im Objekt zu tun hätten. Weder den Höfen noch den Aufhellungen entspricht etwas Reales im Objekt.

Ein psychologisches Moment kommt oft dem Phasenkontrastverfahren entscheidend zu Hilfe. Auf den ersten Blick erscheinen die Zaponlackstreifen in Abb. 8c unten Mitte als Ganzes wesentlich dunkler als die Zwischenräume. Die objektive Photometrie dagegen zeigt, daß die breiten Zaponlackstreifen in ihrer Mitte mit der gleichen Helligkeit abgebildet sind wie die Zwischenräume, entsprechend der theoretischen Kurve der Abb. 8a unten. Der Leser kann sich davon überzeugen,

indem er das Blatt mit der Abb. 8b so knickt, daß die Mitte eines Zwischenraumes unmittelbar neben die Mitte eines Zaponlackstreifens zu liegen kommt. Natürlich trifft dies nur für die breiten Zaponlackstreifen zu, während die schmalen in Abb. 8b oben links tatsächlich nahezu schwarz wiedergegeben sind.

Bei den in Abb. 8 abgebildeten künstlichen Zaponlackstreifen konstanter Dicke wird wenigstens die Streifenbreite unverfälscht im Phasenkontrastbilde wiedergegeben. Viele natürliche Objekte haben aber abgerundete Kanten, sie haben z. B. kugelähnliche oder zylindrische Gestalt. Solche Objekte gibt das Phasenkontrastverfahren zu klein im Bilde wieder, weil die umgebenden Höfe gleichsam die Objekte anfressen

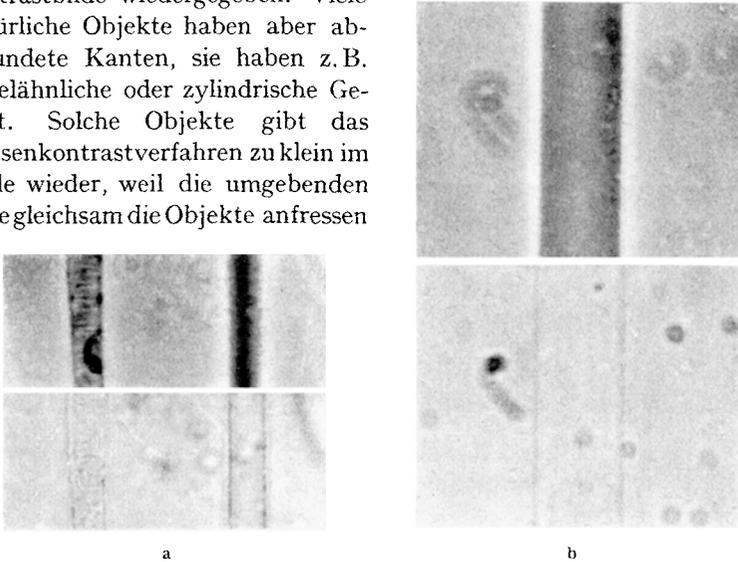


Abb. 9a u. b. Mikroaufnahmen zylindrischer Objekte, oben mit Phasenkontrast, unten im Hellfeld; 1800fach. a Zwei Spinnenfäden (links  $2,8\ \mu$  Durchmesser) in Xylol; b ein Glasfaden ( $6,7\ \mu$  Durchmesser) in Benzol.

und ein schmales Randgebiet des Objektes als zur Objektumgebung gehörend erscheinen lassen (47), (49). Die Abb. 9a zeigt zwei Spinnenfäden in Xylol und Abb. 9b einen Glasfaden in Benzol, oben jeweils das Phasenkontrastbild, unten das Hellfeldbild. Bei Phasenkontrastbeobachtung erscheinen die Objekte ersichtlich viel deutlicher aber auch merklich kleiner, obwohl die Vergrößerungen völlig dieselben waren.

Man könnte versucht sein, die im Phasenkontrastbild erscheinende Breite als die zuverlässigere anzusehen, da man die Objekte im Hellfeldbild bei ganz scharfer Einstellung überhaupt nicht sieht und deshalb bei Einstellung auf deutliches Sehen zwangsläufig etwas unscharf einstellt. In diesem Sinne schlossen KÖHLER und LOOS (14), daß die aus ihren Phasenkontrastbeobachtungen gewonnenen Größenmessungen an Erythrocyten richtig und die an Hellfeldbildern gewonnenen Größenangaben älterer Autoren um 10 bis 15% zu groß gewesen wären. Eine strenge Nachprüfung (49) zeigte jedoch, daß umgekehrt die Phasen-

kontrastmessungen in solchen Fällen um 10 bis 15% zu kleine Objektdurchmesser ergeben. Die Theorie führt z. B. bei zylindrischen Phasenobjekten zu Phasenkontrastbildern mit einem Amplitudenverlauf entsprechend der Abb. 10. Da man instinktiv die Objektgrenze an der Stelle größter Intensitätsänderung vermutet — der Leser erinnere sich an seinen ersten Eindruck von der Abb. 9 —, schließt man aus einem

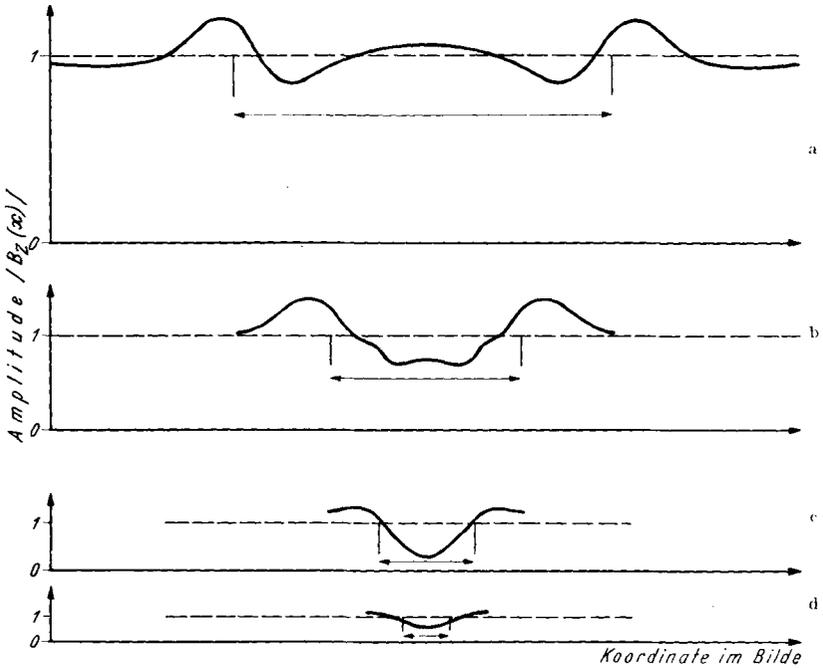


Abb. 10 a—d. Theoretischer Amplitudenverlauf im Phasenkontrastbilde zylindrischer Objekte verschiedener Breite.  $\leftrightarrow$  gibt jeweils den wahren Durchmesser der Objekte an. Das Phasenkontrastbild täuscht zu schmale Objekte vor. Eine Ausnahme machen nur solche Objekte, die an sich schon sehr schmal sind; diese erscheinen auf Grund des begrenzten Auflösungsvermögens sogar verbreitert.

Amplitudenverlauf nach Abb. 10 automatisch auf zu kleine Objekte. Erst an sich sehr kleine Objekte, die infolge des endlichen Auflösungsvermögens des Mikroskops im Hellfeldbild stets zu groß wiedergegeben werden, zeigt auch das Phasenkontrastverfahren richtig oder schließlich ebenfalls zu groß (Abb. 10 c und d).

c) Eine weitere Abweichung von dem strengen Phasenkontrastverfahren wie es oben im Abschnitt 2 beschrieben wurde, betrifft die Form des Spaltes in der unteren Kondensorbrennebene. Nach ZERNIKES Vorschlag benutzt man in der Mikroskopie und meist auch bei makroskopischen Anwendungen keinen linearen, sondern einen ringförmigen Spalt (14), (50) und dementsprechend auch in der oberen Objektiv-

brennebene einen zu dem Spaltbilde kongruenten *ringförmigen 90°-Phasenstreifen* im ZERNIKE-Plättchen (Abb. 11).

Der Ringspalt nutzt bei gleicher Breite die Objektivapertur besser aus als der lineare und führt daher unter anderem zu größerer Helligkeit; vor allem behandelt er alle Richtungen im Objekt gleichartig, während der lineare Spalt beispielsweise für ein Gitter, dessen Streifen senkrecht auf der Spaltrichtung stehen, keinerlei Trennung der Seitenspektren von dem Spektrum nullter Ordnung ermöglicht.

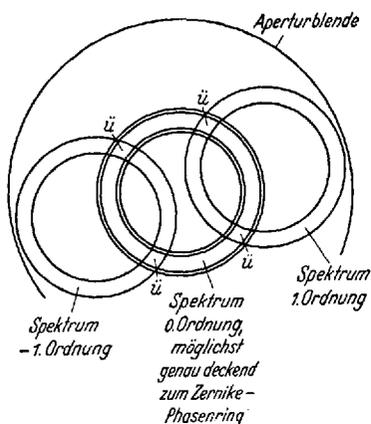


Abb. 11. Skizze der Erscheinung in der oberen Brennebene eines Mikroskopobjektivs, wenn auf dem Objektisch ein Gitter liegt.

Freilich lassen auch Ringspalt und ringförmiger Phasenstreifen im ZERNIKE-Plättchen keine völlige Trennung der Seitenspektren vom Spektrum nullter Ordnung zu. Die Abb. 11 zeigt eine Skizze von der oberen Brennebene eines Phasenkontrastobjektivs, wie sie sich bei Einblick in den Tubus nach Entfernen des Okulars darbietet, während ein Gitter auf dem Objektisch liegt. Hier ist jedoch offensichtlich die gegenseitige Überdeckung (in Abb. 11 bei  $\ddot{u}$ ) klein, und die aus ihr entstehenden Fehler in den Phasenkontrastbildern sind geringfügig im Vergleich zu denen,

die durch die endliche Spaltbreite bei breiten Objekten verursacht werden und bei einem Ringspalt unverändert so bleiben, wie sie im Teil b dieses Abschnitts beschrieben wurden.

#### 4. Moderne Formen der Phasenkontrastmikroskopie.

a) Der vorhergehenden Beschreibung lag die handelsübliche Ausführungsform der Phasenkontrastgeräte zugrunde, bei denen das ZERNIKE-Plättchen fest in dem Mikroskopobjektiv, und zwar dort in der bildseitigen Brennebene eingebaut ist. Dabei benötigt man also für die Phasenkontrastmikroskopie neue Objektive. FRANÇON und NOMARSKI (6), (7), (8) haben Geräte angegeben, die zu einem gewöhnlichen Mikroskop mit normalen Objektiven als Zusatz aufgelegt werden können und jedes Mikroskop in ein Phasenkontrastmikroskop umwandeln. Eine der FRANCONschen Ausführungsformen (7) ist auch für Auflichtmikroskopie verwendbar und zeigt Unebenheiten an Oberflächen opaker Stoffe mit größerer Deutlichkeit als die gewöhnlichen Auflichtmikroskope.

b) Tiefer greifende Abwandlungen des Phasenkontrastverfahrens durch KASTLER und MONTARNAL (12), OSTERBERG und seine Mitarbeiter

(26) bis (36), HARTLEY (10), TAYLOR (44), BARER (2), GRIGG (9), SAYLOR, BRICE und ZERNIKE (42) und WOLTER (51), (54) zielen vor allem auf bessere *Sichtbarkeit von Amplituden- und Phasenobjekten zugleich*.

Wie am Ende des Abschnitts 2 auseinandergesetzt wurde, zeigt das Phasenkontrastverfahren in seiner einfachsten Form Amplitudenobjekte undeutlicher, als es das Hellfeldverfahren tut. Wählt man statt einer Phasenverschiebung von  $90^\circ$  im ZERNIKE-Plättchen eine solche von  $45^\circ$  oder  $30^\circ$  oder  $50^\circ$ , so bedeutet dies einen Kompromiß, bei dem reine Amplitudenobjekte und reine Phasenobjekte sichtbar werden. Wie man aber auch die Phasenverschiebung wählen mag, immer gibt es Objekte, die eine Brechungsindexdifferenz gegenüber der Umgebung und zugleich Absorption besitzen und bei der für das ZERNIKE-Plättchen gewählten Phasenverschiebung undeutlich werden. Das kann man leicht an Hand der Abb. 5 einsehen. Um allen Anforderungen gerecht zu werden, hat man die Phasenverschiebung des ZERNIKE-Plättchens variabel gestaltet, so daß während der Beobachtung jeweils die Phasenverschiebung empirisch ermittelt und eingeregelt werden kann, bei der das interessierende Objekt besonders deutlich wird. Wenn dann zugleich auch die Absorption des ZERNIKE-Ringes ebenfalls regelbar ist, dann kann auch die Empfindlichkeit des Geräts dem jeweiligen Bedarf angepaßt werden, wie im Abschnitt 3a auseinandergesetzt wurde.

Solche Regelmöglichkeiten sind mit den Verfahren von HARTLEY (10), KASTLER und MONTARNAL (12), TAYLOR (44), zum Teil auch bei FRANÇON und NOMARSKI (6) [s. auch (20)] und in dem sog. POLANRET-Verfahren von OSTERBERG (29), (30) erreicht worden. Die Anordnungen enthalten Polarisatoren, Kristallplatten und verhältnismäßig schwer herstellbare ZERNIKE-Phasenplatten in den Objektiven. Diese Verfahren erlauben auch, das ZERNIKE-Plättchen auf 100%ige Absorption einzustellen und auf diese Weise ein strenges Dunkelfeldverfahren durchzuführen. Ferner kann positive und negative Phasenverschiebung im ZERNIKE-Plättchen nach Belieben gewählt und also zwischen negativem und positivem Phasenkontrast gewechselt werden.

In diesem Zusammenhang sei ein von HEINE konstruierter Kondensator der Firma Ernst Leitz, Wetzlar, genannt, der relativ bequem herstellbar ist und ebenfalls einen mühelosen Wechsel zwischen Phasenkontrast, Hellfeld und Dunkelfeld ermöglicht.

c) Ein zweiter Weg, die Beschränkung der Phasenkontrastmikroskopie auf Phasenobjekte zu umgehen, besteht in der *Kombination eines Hellfeldbildes mit einem Phasenkontrastbilde*.

WOLTER (54) läßt bei seinem Flimmerverfahren beide Bilder mehrmals pro Sekunde schnell wechseln. Dabei werden Objekte aller Art deutlich; schnell bewegte Objekte zeigen einen für Geschwindigkeitsmessungen gut ausnutzbaren, manchmal aber auch störenden Stroboskopeffekt.

Besser photographierbar und für bewegliche Objekte oft auch angenehmer sind die Kombinationsverfahren, die farbige Bilder verwenden und z. B. ein rotes Phasenkontrastbild mit einem grünen Hellfeldbilde kombinieren. Solche Verfahren stammen von BARER (2), GRIGG (9), SAYLOR, BRICE und ZERNIKE (41), (42) und WOLTER (51), (54).

SAYLOR, BRICE und ZERNIKE verwenden zu diesem Zweck im ZERNIKE-Plättchen einen Phasenring geeigneter Dispersion, der z. B. für einen Teil des sichtbaren Spektrums positiven, für einen anderen Teil negativen Phasenkontrast und für ein Zwischengebiet Hellfeld bewirkt<sup>1</sup>.

WOLTER benutzt bei einem seiner Verfahren einfache handelsübliche Phasenkontrastobjektive und in der unteren Kondensorbrennebene eine leicht herstellbare Ringblende, die in Polarisationsfolie (hergestellt von der Firma Erwin Käsemann, Oberaudorf am Inn) geschnitten wird. Damit entsteht zunächst eine Kombination eines Hellfeldbildes im Lichte der einen Polarisationsrichtung und eines Phasenkontrastbildes im Lichte der dazu senkrechten Polarisationsrichtung. Durch einen vor dem Kondensator drehbaren weiteren Polarisator können das Intensitätsverhältnis beider Bilder und die Polarisationsrichtung des Phasenkontrastbildes variiert werden. Die Polarisationsunterschiede des Hellfeldbildes und des Phasenkontrastbildes sind dem Auge nicht unmittelbar erkennbar und werden deshalb durch die Rotationsdispersion einer 4mm dicken Quarzplatte oder durch ähnlich wirkende Mittel und eine Analysatorfolie (im Mikroskoptubus) in Farbunterschiede umgewandelt. Die bei diesem Verfahren auftretenden Farben eignen sich besser als die bei anderen Farbverfahren verwendeten zu quantitativen Messungen.

Das letzte der beschriebenen Verfahren und einige andere, die hier nicht näher betrachtet werden können, geben außer Phasenobjekten, reinen und gemischten Amplitudenobjekten auch Polarisationsobjekte, d. h. doppelbrechende oder die Polarisationsebene drehende Gegenstände in vielfarbigen Bildern [eine farbige Bildtafel siehe in (54)!] deutlich wieder. Die Benutzung der Farben ist dabei unerlässlich, da eine so große Mannigfaltigkeit von Objekten nicht mit der Grauskala, die nur eine eindimensionale Mannigfaltigkeit ist, ausreichend gekennzeichnet werden kann.

Wenn Objekte, die das Licht stark ablenken, zugleich mit sehr subtilen Phasenobjekten erkennbar werden sollen, wird mit Vorteil ein mikroskopisches Farbschlierenverfahren, kombiniert mit einem Phasenkontrastverfahren, verwendet. Eine Vorrichtung, die ohne Bedienungsmaßnahmen des Beobachters ein so kombiniertes farbiges Bild im Mikroskop gibt, ist in (54) beschrieben.

---

<sup>1</sup> Dieses Verfahren wurde unabhängig auch in den Optischen Werken E. Leitz, Wetzlar, entdeckt (unveröffentlicht).

Alle in diesem Abschnitt genannten Verfahren benutzen neben anderen Bildbeimischungen echte Phasenkontrastbilder und leiden daher zwangsläufig unter den Bildverfälschungen, zu denen der endlich breite Lichtquellenspalt bei breiten Objekten Anlaß gibt. Die von solchen Verfälschungen freien Interferenzverfahren haben zwar das gleiche Ziel wie das Phasenkontrastverfahren, arbeiten aber nach einem anderen Prinzip und gehören daher nicht mehr zum Gegenstande dieses Berichtes; sie werden im Teil III noch kurz gestreift.

## II. Beispiele für die Anwendbarkeit des Phasenkontrastverfahrens auf chemische Untersuchungen.

### 5. Gestaltuntersuchungen an festen Körpern.

Fast alle bisher bekannt gewordenen Anwendungen des Phasenkontrastverfahrens beziehen sich auf Gestaltuntersuchungen fester Körper in Flüssigkeiten (11), (38), (39). Dabei wäre allerdings der Begriff des festen Körpers sehr weit zu fassen, und man müßte amorphe Massen, Gläser, Bestandteile von Gelen und kolloidalen Lösungen ebenso dazu rechnen wie Kristalle, die Festkörper im engeren Sinne.

Die Abb. 12—15 geben einige einfache Beispiele zu Gestaltuntersuchungen, wie sie in der Chemie Bedeutung haben können. Die Phasenkontrastaufnahme 12a einer sehr dünnen, in Anisol eingeschlossenen Glimmerplatte zeigt deutlich die Stufen wachsender Dicke durch Schwärzungsunterschiede voneinander abgesetzt. Die Hellfeldaufnahme desselben Objekts in Abb. 12b läßt hiervon nur andeutungsweise etwas erkennen. Deutlich wird im Hellfeldbild nur der Luftschluß rechts unten und höchstens noch das Dreieck nahe der Bildmitte. Da Glimmer kein reines Phasenobjekt ist, sondern auch etwas absorbiert, ist das ziemlich dicke dreieckige Plättchen als ein gemischtes Objekt anzusehen.

Die Abb. 13 zeigt Aufnahmen des Metaldehyds, der sich im Paraldehyd (acetaldehydhaltig) bei Einbringen eines Körnchens Natriumhydroxyd langsam in schönen Kristallnadeln bildet. Die Aufnahme 13b wurde einige Minuten nach der Aufnahme 13a gemacht und zeigt ein Stadium, in dem sich die Metaldehydnadeln auflösen, indem sie gleichsam vor neuen — vom Natriumhydroxydkörper vorstoßenden — derben Kristallen zurückweichen.

Großenteils erscheinen die Kristalle in beiden Bildern heller als der sie umgebende Paraldehyd. Doch sind die dünnsten Kristalle, z. B. die gerade erst anschießende Nadel links unten in Abb. 13a und auch die wachsenden derben Kristalle am Rande des Natriumhydroxydkörpers dunkel und von einem hellen Hof begleitet. Das beweist ihren höheren Brechungsindex. Für die dicken Kristalle ist die im Teil I (S. 12) genannte Bedingung, nach der die Phasenunterschiede der Objekte

gegenüber der Umgebung möglichst nicht größer als  $90^\circ$  und jedenfalls kleiner als  $180^\circ$  sein sollen, nicht mehr erfüllt.

Gestaltuntersuchungen an *Kristallen*, z.B. zur Identifizierung eines Niederschlages sind natürlich auch ohne Phasenkontrastverfahren seit

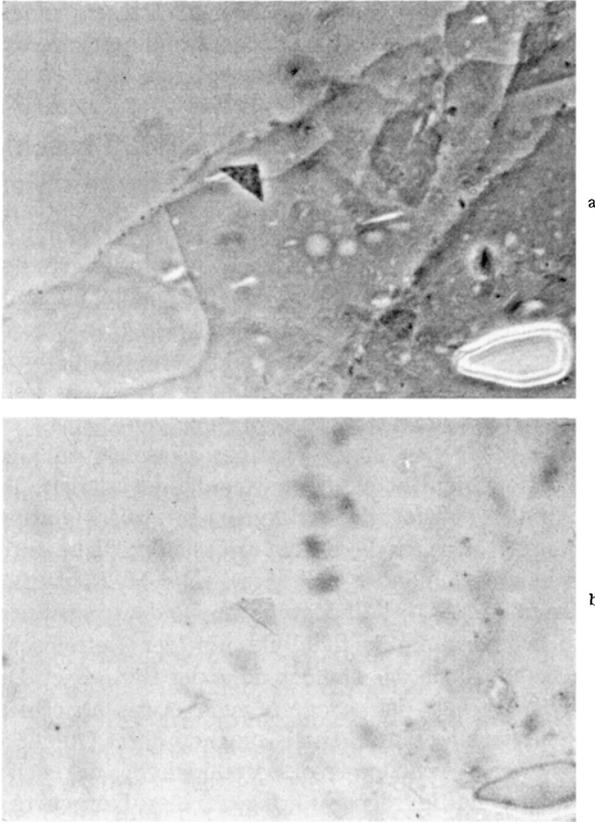
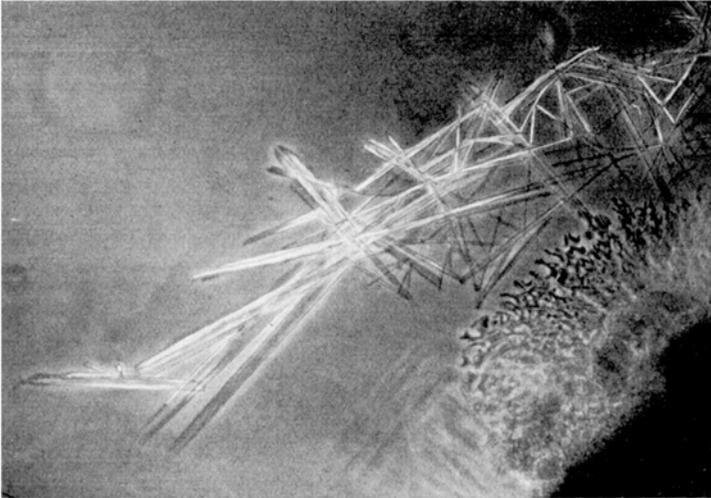


Abb. 12a u. b. Rand einer Glimmerplatte in Anisol, rechts unten eine flache Luftblase.  
a Positiver Phasenkontrast; b Hellfeld. 540mal.

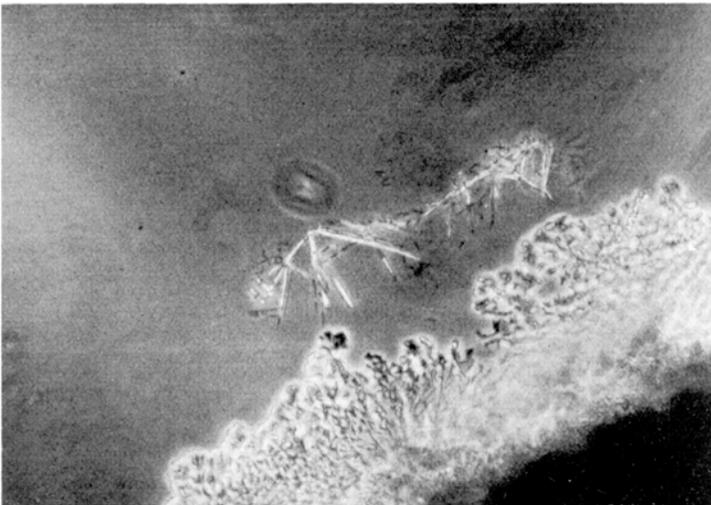
langer Zeit durchgeführt worden. Das Phasenkontrastverfahren bringt wichtige Fortschritte in der besseren Abschätzbarkeit des Brechungsindex und bezüglich der Empfindlichkeit bei Beobachtung kleiner Kristalle, insbesondere dünner Kristallplatten. In dieser Hinsicht ist es auch dem Polarisationsmikroskop stark überlegen, das es natürlich auch an Vielseitigkeit übertrifft, ohne es freilich für spezielle polarisationsmikroskopische Aufgaben ersetzen zu können.

Wo es nicht auf äußerste Empfindlichkeit, statt dessen aber auf klare Erkennbarkeit der Kristallflächen ankommt, ist das Phasenkontrast-

verfahren ungeeignet. Dieser Aufgabe ist speziell das zweidimensionale Farbschlierenverfahren angepaßt, das jede Kristallfläche in einer anderen Farbe erscheinen läßt und zugleich durch diese Farbe Aufschluß über



a



b

Abb. 13 a u. b. Metaldehydkristalle, in der Umgebung eines festen NaOH-Körnchens in Paraldehyd wachsend. Vom NaOH-Körper vordringende Kristallmassen lösen vor sich her die Metaldehydnadeln auf.  
a Frühes Stadium; b 4 min später. Beide Aufnahmen 150mal.

die Lage der Fläche im Raum gibt (50). Da es kein Phasenkontrastverfahren im engeren Sinne ist, wird es nur kurz im Teil III gestreift werden.

Den Kristalluntersuchungen verwandt sind bezüglich der optischen Anforderung die Untersuchungen von *Faserstoffen* (38), (39). Die

Abb. 14 gibt einige Phasenkontrastaufnahmen von Woll-, Baumwoll-, Zellwoll-, Leinen- und Papierfasern. Hier sei auch nochmals an den Spinnenfäden und den Glasfäden der Abb. 9 erinnert. Diese Objekte sind für Phasenkontrastbeobachtung ohne weiteres ebenso wie die meisten Kristalle zu dick, und sie ergeben durch den zu großen Phasenunterschied gegenüber der Umgebung schlecht deutbare Bilder, wenn sie

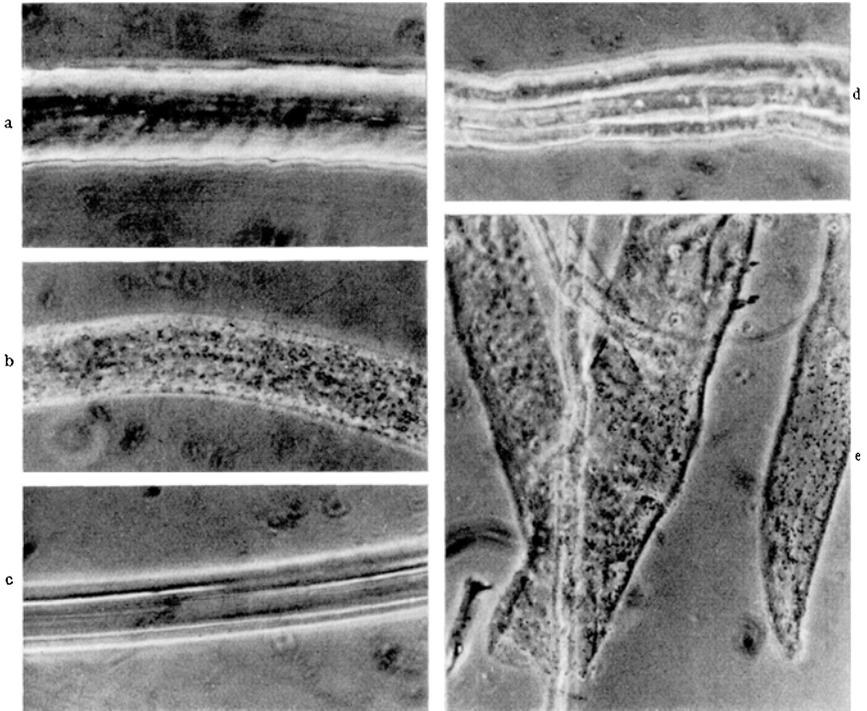


Abb. 14 a—e. Fasern in Anisol, mit Phasenkontrastmikroskop (450mal) aufgenommen. a Wollfaser; b Baumwolle; c Kunstseide; d Leinen; e Papier.

einfach in Luft beobachtet werden. Während bei Kristallen das umgebende Medium oft durch die Versuchsbedingungen festgelegt ist (z. B. Mutterlauge), wählt man bei Faserstoffuntersuchungen ein flüssiges Einschlußmedium, das im Brechungsindex dem zu untersuchenden Material nahekommt. Anisol, Benzol, Xylol, Kanadabalsam, Immersionsflüssigkeiten wie Immersol, Zedernholzöl und andere organische Flüssigkeiten erwiesen sich oft als geeignet. Im Zweifelsfalle ist das optimale Medium durch Versuchsbeobachtungen zusammen mit dem Objekt unter dem Phasenkontrastmikroskop zu ermitteln. Das führt zugleich zu einer groben Schätzung des Brechungsindex für das Objekt; eine Verfeinerung dieser Einbettungsmethode zum Zweck der Brechungsindexmessung wird im nächsten Abschnitt betrachtet.

Die besonderen Vorzüge des Phasenkontrastverfahrens kommen bei der Untersuchung von *Gelen* und *kolloidalen Lösungen* zum Ausdruck. Hier versagen die Polarisationsmikroskopie, die Schlierenmikroskopie

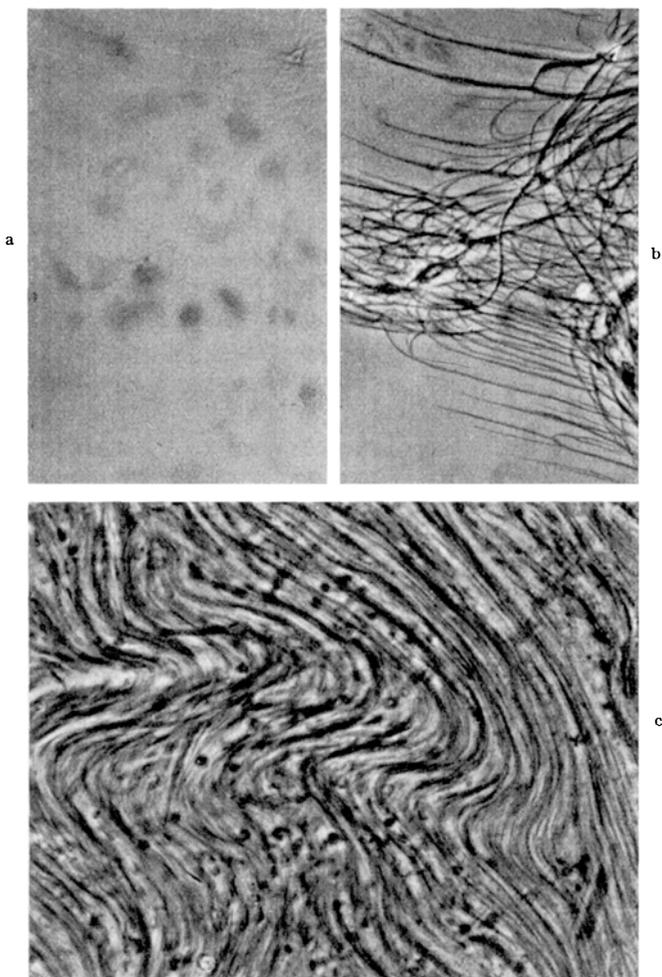


Abb. 15 a—c. Gelfasern einer Natronseife in Wasser. a Hellfeldbild derselben Objektstelle, die im Phasenkontrastbild b Einzelfasern des Seifengels zeigt. c Vollständiges Gel zwischen Deckglas und Objektträger. a—c 540mal.

und erst recht die einfache Methode der Schrägbeleuchtung, ja sogar die kostspielige Interferenzmikroskopie in den meisten Fällen. Das Phasenkontrastverfahren mit seiner großen Empfindlichkeit für Brechungsindexdifferenzen enthüllt dagegen noch sehr feine Strukturen, z. B. in dem Gel einer Natronseife in Abb. 15. Während das mit Schräg-

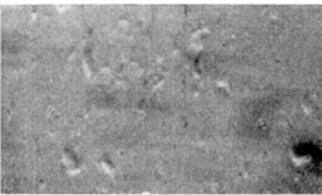
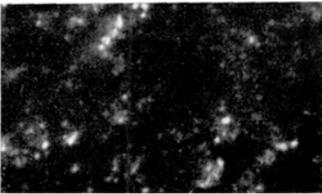
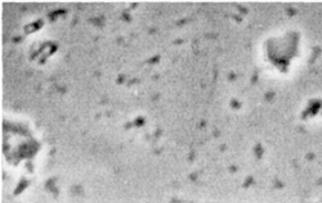
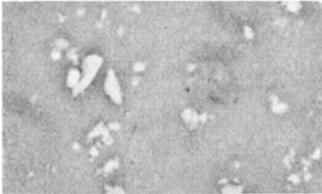
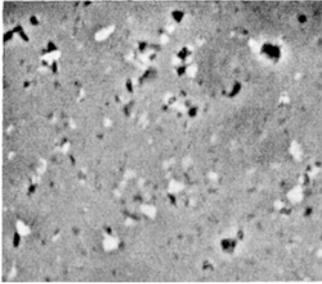


Abb. 16a—e. Zwei gepulverte Glasarten, die auf Identität zu prüfen waren. Umschließendes Medium ist Benzol. a Eine Mischung beider Glaspulver in Phasenkontrastaufnahme; b Phasenkontrastaufnahme der ersten Glasart; c Phasenkontrastaufnahme der zweiten Glasart; d dasselbe Objekt wie unter a im Dunkelfeld; e dasselbe Objekt wie unter a und d bei Schrägbeleuchtung. 560mal.

beleuchtung arbeitende Hellfeldbild (Abb. 15a) Gelfasern nur andeutet, gibt die Phasenkontrastaufnahme 15b derselben Objektstelle auch feinste Einzelfasern noch kontrastreich wieder. Die Abb. 15c zeigt einen ungestörten Teil des erstarrten Gels; hierzu seien auch die schönen Aufnahmen REUMUTHs (38), (39) erwähnt. Dunkelfeldbeleuchtung zeigt zwar bei Objekten dieser Art Strukturen, doch in recht verworrener und bei weitem nicht objekttrouer Form.

In manchen Gelen ist auch mit dem Phasenkontrastverfahren keinerlei Struktur erkennbar; z. B. erscheint Gelatinegel aus feinsten Gelatine optisch leer. Hier liegt, wie aus elektronenmikroskopischen Untersuchungen erschlossen werden kann, der Strukturabstand so weit unter einer Lichtwellenlänge, daß ein mit sichtbarem Licht arbeitendes Mikroskop, wie raffiniert es auch eingerichtet sein mag, ihn prinzipiell nicht auflösen kann.

## 6. Identitätsprüfung und Reinheitsprüfungen.

Die Reinheit eines Stoffes und die Identität zweier Stoffe läßt sich gelegentlich bereits auf dem Wege über eine Gestaltbeobachtung (z. B. an Kristallen, Fasern und anderen geformten Körpern) beurteilen, und hier leistet das Phasenkontrastverfahren gute Dienste, wie im Abschnitt 5 gezeigt wurde. Noch schärfer und vielseitiger verwendbar ist jedoch die Identitätsprüfung und Reinheitsprüfung durch genauen Brechungsindexvergleich mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens. Das sei an einem Beispiel und an Hand der Abb. 16 erläutert.

Zwei Glassorten waren auf ihre Identität zu prüfen. Beide Proben lagen nur in kleiner Menge vor, dabei die eine in

Form eines für Einschmelzungen bestimmten Rohrstückchens von 6 mm Durchmesser und 1 mm Wandstärke. Die Zurichtung der Proben zur Brechungsindexmessung im Refraktometer oder Spektrometer war nahezu unmöglich. Deshalb wurde von jeder Probe durch Abfeilen eine kleine Menge feinen Glaspulvers entnommen. Eine innige Mischung beider Pulverarten wurde portionsweise in verschiedene Flüssigkeiten eingetragen und zwischen Deckglas und Objektträger mit dem Phasenkontrastmikroskop beobachtet. Die meisten Einschlußmedien gaben wenig aufschlußreiche Bilder; mit Benzol als Einschlußmedium wurde die Aufnahme 16a gemacht, die deutlich zwei Arten von Glaskörnchen erkennen läßt, eine dunkel scheinende mit einem Brechungsindex von etwas über dem des Benzols und eine hell scheinende mit einem Brechungsindex von etwas weniger als dem des Benzols. Beide Glasarten waren, wie hieraus hervorging, offenbar nicht identisch.

Die Aufnahme 16b zeigt das Pulver des Glasrohres allein, die Aufnahme 16c das Pulver der zweiten Glasprobe; dieser kommt ersichtlich der höhere Brechungsindex zu.

Die Abb. 16d und 16e sind Aufnahmen des Pulvergemisches in Benzol mit dem Dunkelfeldverfahren, bzw. mit Schrägbeleuchtung. Beide zeigen zwar die Anwesenheit von Teilchen, deren Brechungsindex von dem des Benzols abweicht; das Dunkelfeldverfahren läßt aber keinen Schluß auf die Unterschiedlichkeit verschiedener Teilchen zu. Bei Schrägbeleuchtung erscheinen zwar einige Teilchen gleichsam von unten, andere von oben beleuchtet, und das läßt auf die Uneinheitlichkeit des Pulvers schließen; aber an Sicherheit steht dieses ältere Verfahren dem Phasenkontrastverfahren wesentlich nach.

Dieses Beispiel für eine Identitätsprüfung mag zugleich als Beispiel einer *Reinheitsprüfung* dienen; die eine Glassorte sei als Verunreinigung der anderen aufgefaßt. Über eine Anwendung des Phasenkontrastverfahrens in diesem Sinne hat WEBER (46) berichtet.

## 7. Messung des Brechungsindex und der Molekularrefraktion.

Zur Brechungsindexmessung und zu der darauf basierenden Molekularrefraktionsmessung verfährt man ähnlich wie bei dem im letzten Abschnitt beschriebenen Brechungsindexvergleich. Die genaue Brechungsindexmessung für eines der beiden Pulver in dem Beispiel des Abschnitts 6 geschieht durch Einschluß in Flüssigkeitsgemische (z. B. Benzol-Xylol), deren Mischungsverhältnis so lange geändert wird, bis das Pulver z. B. bei Beleuchtung mit Natriumlicht im Phasenkontrastmikroskop unsichtbar wird. Der Brechungsindex des Flüssigkeitsgemisches für Natriumlicht wird anschließend mit einem der bekannten Refraktometer gemessen und ist sehr genau zugleich der Brechungsindex des Pulvers. Die Beurteilung der „Unsichtbarkeit“ mit dem

Phasenkontrastmikroskop ist dabei schärfer als mit dem älteren Verfahren der Schrägbeleuchtung und führt daher zu wesentlich genaueren Werten, wie schon KÖHLER und LOOS (14) betont haben. Ferner ist bei Phasenkontrastbeobachtung sehr viel leichter als bei den älteren Verfahren abzuschätzen, nach welcher Richtung der Brechungsindex des Flüssigkeitsgemisches durch Zugabe der einen oder anderen Komponente noch geändert werden muß. Erscheinen bei positivem Phasenkontrast der handelsüblichen Geräte die Pulverteilchen noch hell wie in Abb. 16b, so ist der Brechungsindex des Flüssigkeitsgemisches zu verringern; bei dunkel erscheinenden Pulverteilchen wie in Abb. 16c ist er zu vergrößern. Wenn auch nicht immer ein völliges Unsichtbarwerden gelingt, so ist jedenfalls eine sichere Eingrenzung in sehr engen Grenzen und oft — jedenfalls nach einiger Übung — auf Grund der beobachteten Kontraststärke auch eine noch weiter gehende Interpolation erreichbar.

#### 8. Beobachtung von Phasenänderungen im thermodynamischen Sinne.

Phasenänderungen im thermodynamischen Sinne, z.B. Niederschlagsbildung oder -auflösung, Schmelzen oder Erstarren, Gasbildung oder das Entstehen mehrerer getrennter Flüssigkeitsphasen gehen meist mit so starken Änderungen des Brechungsindex einher, daß zur Beobachtung die älteren optischen Verfahren auszureichen pflegen. Welche Vorteile das Phasenkontrastverfahren aber auch hier bietet, wurde im Abschnitt über die Gestaltänderungen implizit bereits behandelt; denn die Beurteilung der Phasenänderungen geschieht auf dem Wege über eine Gestaltuntersuchung auch dann, wenn letzten Endes nicht die Gestalt sondern z.B. ein Siedepunkt, ein Gefrierpunkt oder Sättigungsfragen interessieren. Die Benutzung des Phasenkontrastverfahrens gibt hierbei die Möglichkeit, auch kleinste Mengen neuer Phase sofort zu erkennen, und wirkt sich daher meist in einer Genauigkeitssteigerung aus.

Ein Fall aber, das Auftreten einer *zweiten Flüssigkeitsphase* in einer vorhandenen Flüssigkeit sei an einigen Aufnahmen näher betrachtet. Die beiden Flüssigkeiten unterscheiden sich hier so wenig im Brechungsindex, daß ältere Beobachtungsverfahren die Erscheinung nicht erkennen lassen.

Den Aufnahmen 17<sup>1</sup> liegt folgender Versuch zugrunde. Zwischen Objektträger und Deckglas befand sich auf dem Objektisch des Phasenkontrastmikroskops ein trockenes Natriumhydroxydkörnchen. Neben das Deckglas wurde mit der Pipette ein Tropfen Paraldehyd — im Gleichgewicht mit der kleinen in ihm enthaltenen Menge Acetaldehyd —

<sup>1</sup> Die Geräte für diese und eine Reihe weiterer hier erstmals veröffentlichter Aufnahmen wurden dankenswerterweise von der Deutschen Forschungsgemeinschaft zur Verfügung gestellt.

gebracht und sofort capillar unter das Deckglas gezogen. Der Paraldehyd umgab völlig das Natriumhydroxydkörnchen. Nur vereinzelt waren einige Luftblasen nahe am Natriumhydroxyd verblieben; die Abb. 16a—d zeigen rechts eine solche Luftblase als dunklen Kreis. Nahe am Natriumhydroxydkörper begann rundherum die Bildung von Kristallen, wie das im Zusammenhang mit Abb. 13 beschrieben wurde.

Bei einigen Versuchen dieser Art traten an einer oder mehreren Stellen, an denen Paraldehyd und Natriumhydroxyd Kontakt miteinander hatten, Flüssigkeitstropfen auf, die über mehrere Minuten fortlaufend wuchsen. Die Aufnahmen zu den Abb. 17a—d geschahen mit rund 2 min Abstand.

Dieses Aussehen hatte der Vorgang in strömungsfreier Flüssigkeit; wurde eine leichte Strömung unter dem Deckglas erzeugt, so strömte die neuentstehende Flüssigkeit in perlchnurartig angeordneten Tröpfchen wie bei der Aufnahme 17e von der Erzeugungsstelle (rechts unten und außerhalb des Bildes) fort. Die Erzeugungsstelle selbst ist jeweils äußerst klein; die Erzeugung scheint an das Vorhandensein einer selten realisierten Bedingung, vielleicht an die Anwesenheit einer katalytisch wirkenden Verunreinigung gebunden zu sein.

Über die Natur der entstandenen Flüssigkeit

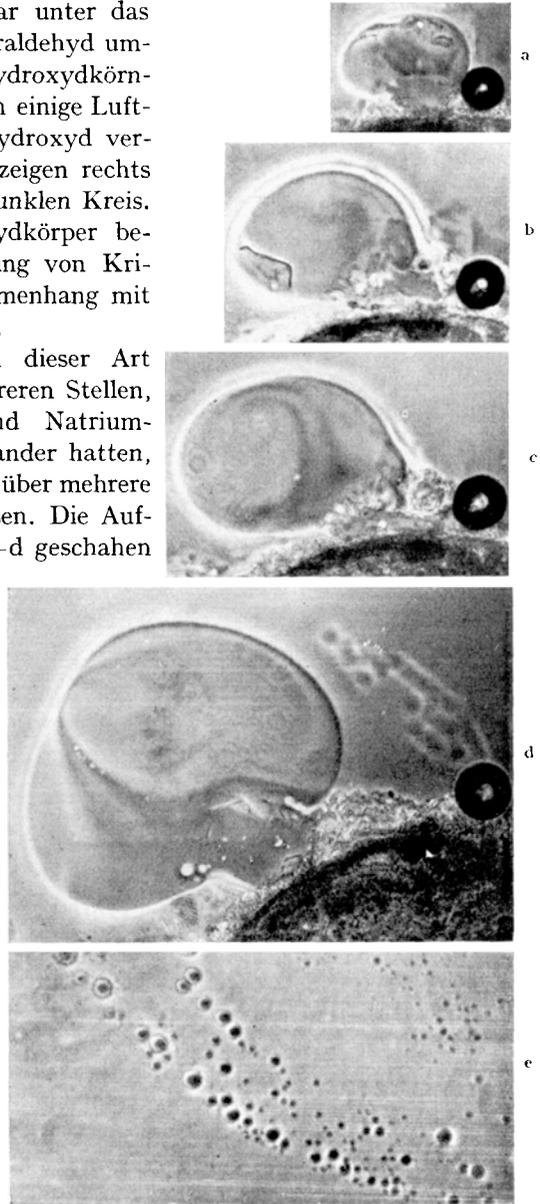


Abb. 17 a—e. Wachsender Flüssigkeitstropfen höheren Brechungsindex, an der Grenze eines trockenen NaOH-Körnchens gegen Paraldehyd. a—d In Abständen von je einigen Sekunden mit Phasenkontrastmikroskop aufgenommen. Im Innern des Tropfens wirbelnde Konzentrationsschlieren. Aufnahme e zeigt dieselbe Substanz in kleinen Tröpfchen nach Einleitung einer Strömung im Paraldehyd. a—e 150mal.

sollen hier Vermutungen nicht geäußert werden. Aber es handelt sich sicher weder um Wasser noch Natronlauge noch um eine Lösung dieser Substanzen in Paraldehyd; das Phasenkontrastverfahren zeigt eindeutig, daß dieser Stoff höheren Brechungsindex als Paraldehyd und jede der genannten Substanzen hat.

Von dem Natriumhydroxydkörper aus gingen oft stoßweise Konzentrationsschlieren in den Flüssigkeitstropfen und verursachten dort Wirbel, wie sie besonders in den Abb. 17c und d trotz der langen Belichtungsdauer (0,5 sec) sichtbar geblieben sind; die visuell beobachteten Wirbel waren wesentlich deutlicher und schärfer ausgeprägt, änderten aber in einer halben Sekunde ihr Aussehen schon beträchtlich. Konzentrationschlieren solcher Art sind der Gegenstand des nächsten Abschnitts.

### 9. Brechungsindexdifferenzen innerhalb einer Phase, insbesondere Konzentrationsdifferenzen.

Brechungsindexdifferenzen innerhalb einer Phase, z. B. Konzentrationsunterschiede sind bei ungefärbten Stoffen optisch recht subtil. An ihnen kann das Phasenkontrastverfahren seine hohe Empfindlichkeit besonders eindrucksvoll erweisen. Zwei einfache Vorgänge, die Elektrolyse eines farblosen Elektrolyten und ein Lösungsvorgang sollen als praktische Beispiele dienen.

Die *Elektrolyse* eines Elektrolyten mit gefärbten Ionen läßt in bekannter Weise die Ionenbeweglichkeit ohne optische Hilfsmittel beobachten. Einen verwandten Vorgang zeigt die Abb. 18 bei der Elektrolyse von Leitungswasser mit Kupferdrahtelektroden zwischen Objektträger und Deckglas. Um die Zeit für eine Reihe von Aufnahmen sicherzustellen, wurde dem Leitungswasser Leimlösung zugesetzt, die auf die Bilder (außer dem Auftreten der kolloidalen Granula) keinen entscheidenden Einfluß hatte und im wesentlichen nur die Diffusionsgeschwindigkeit herabsetzte.

Abb. 18a zeigt das Gebiet um die Anode kurz vor dem Einschalten des Stromes, und die weiteren Bilder zeigen die gleiche Objektstelle 4, 10, 16, 25, 34 und 50 sec nach dem Einschalten. Die beiden letzten Bilder enthalten schon Wasserstoffblasen, die aus dem Kathodenraum langsam herüberdrangen. Die Hellfeldaufnahme nach 34 sec (f) läßt zwar die Wasserstoffblasen erkennen, nicht aber die Konzentrationschlieren, die auf den Bildern b, c, d, e und g in wachsendem Abstand die Anode umgeben.

Innerhalb der schnell voraneilenden — immer farblos bleibenden Außenschliere umhüllt noch eine dunklere Innenschliere die Kupferanode. Diese zweite Schliere nimmt später eine leichte Grünfärbung an und setzt schließlich bei dem Zusammentreffen mit der Kathoden-

flüssigkeit eine hauchdünne Kupferhydroxydmembran ab, die dann natürlich auch mit dem Hellfeld sichtbar wird.

Als Beispiel für die Beobachtbarkeit von *Diffusionsvorgängen* mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens sei die Auflösung von Rohrzucker

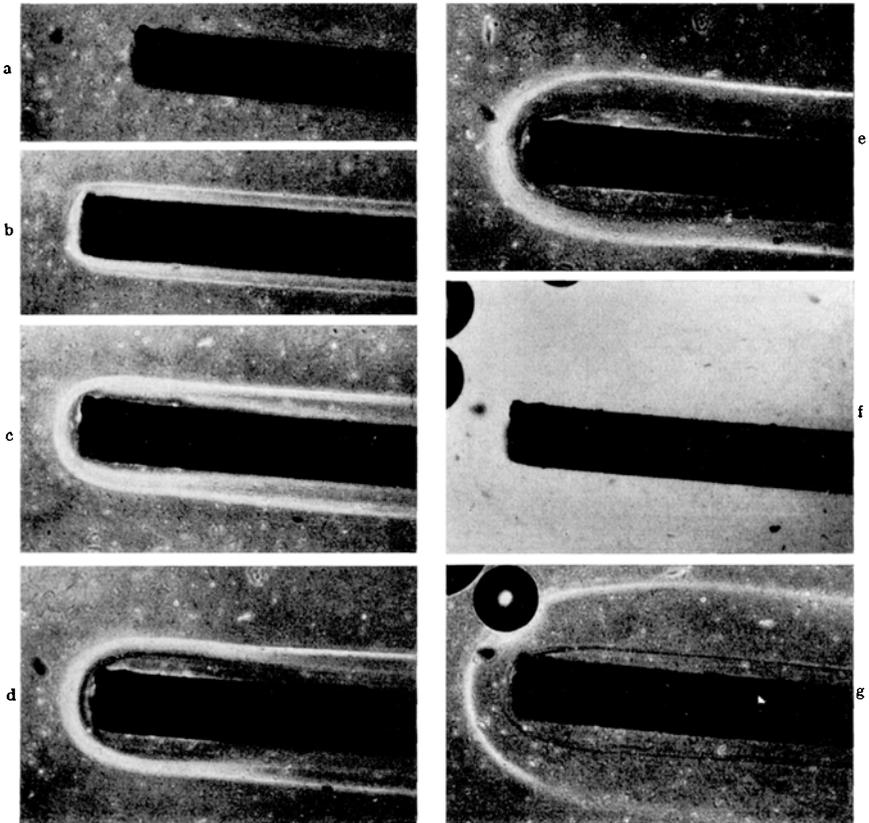
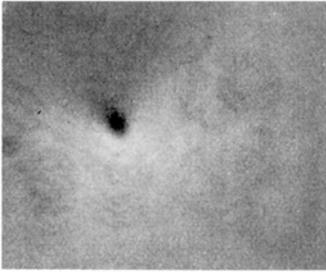


Abb. 18a—g. Wachsende Konzentrationsschliere im Anodenraum bei der Elektrolyse von Leitungswasser mit Leimzusatz bei Kupferelektroden zwischen Objektträger und Deckglas. a Vor Einschalten des Stromes; b—g nach Einschalten des Stromes in je einigen Sekunden Abstand; f im Hellfeld mit leichter Schrägbeleuchtung, alle anderen Aufnahmen im Phasenkontrast. 93mal.

im Wasser betrachtet. Im Bilde 19a ist links ein Zuckerkristall im Zustande der Auflösung abgebildet. Ihn umgibt ein heller Hof, wie er jedes große Objekt von hohem Brechungsindex im Phasenkontrastbild begleitet, ohne daß diesem Hof etwas Reales im Objekt zu entsprechen braucht. Man vgl. hierzu die Abb. 7, 8 und 9 des Teiles I, die solche Höfe auch an künstlich hergestellten und genau bekannten Objekten in homogener Umgebung zeigen. Dieser Hof verhindert zwar die Beurteilung des Brechungsindexgradienten und damit des Konzentrations-

gradienten in der Umgebung des Kristalls; er verschwindet aber natürlich zwangsläufig in dem Augenblick, in dem der Kristall sich völlig gelöst hat. Dieser Zeitpunkt wurde für einen zweiten, rechts in dem Objektfeld



b



a

Abb. 19a u. b. Zuckerkristalle, sich im Wasser lösend. a Links ein großer Kristall, rechts eine Stelle erhöhter Konzentration, an der sich 0,3 sec vorher ein Kristall restlos gelöst hatte. 120mal. b Eine Stelle erhöhter Konzentration wie bei a rechts, jedoch 300mal vergrößert.

des gleichen Bildes 19a befindlichen Kristall bei der Aufnahme abgepaßt. Dort, wo der letzte Rest des Kristalls verschwand, liegt in dem positiven Phasenkontrastbild eine dunkle Stelle; sie zeigt die erhöhte Konzentration an, und das Konzentrationsgefälle von ihr nach den Seiten glaubt man geradezu anschaulich zu erkennen.

Die Erscheinung ist bei Zucker rund 1,5 sec lang beobachtbar, bei Stoffen höheren Molekulargewichts länger und bei Kochsalz z. B. nur in einer so kurzen Zeit, daß eine Konzentrationsschlieren nicht photographiert und auch bei visueller Beobachtung nur mit Mühe ausgemacht werden konnte.

Es ist naheliegend, an eine Molekulargewichtsbestimmung aus solchen Beobachtungen der Diffusion unter Berücksichtigung der Löslichkeit zu denken. Doch bietet hierzu das Phasenkontrastverfahren nicht die beste Handhabe, da wegen der auf S. 14 geschilderten Bildverfälschungen quantitative Aussagen erschwert sind. Andere mikroskopische Verfahren, vor allem die Interferenzmikroskopie, bzw. entsprechende makroskopische Verfahren, sind in dieser Hinsicht leistungsfähiger.

Die Konzentrationsberge in Abb. 19a rechts und in Abb. 19b

zeigen eine unsymmetrische Lichtverteilung. Sie trat auch bei sorgfältigster Justierung des Phasenkontrastmikroskops immer wieder auf und wurde bedingt durch ein allgemeines langsam veränderliches Konzentrationsgefälle im Großen, das sich mit dem Konzentrationsberge zu einem

resultierenden Konzentrationsverlauf, wie die Abb. 20 ihn im Schnitt qualitativ andeutet, zusammenfügte. Der gleichmäßige großräumige Brechungsindexgradient selbst stellt ein zu großes Objekt dar, als daß er im Phasenkontrastbild noch durch einen Helligkeitsgradienten aufgewiesen werden könnte. Siehe hierzu S. 14! Wo aber jener Konzentrationsberg den Brechungsindexverlauf so deformiert, wie die Abb. 20 es andeutet, muß nicht nur das Gebiet relativ hoher Konzentration dunkel, sondern auch das Gebiet mit einer zur Umgebung relativ niedrigen Konzentration hell abgebildet werden, wie das in Abb. 20 angegeben ist. So erscheinen die Konzentrationsberge in der Abb. 19 wie einseitig beleuchtet und zeigen dadurch die Richtung des großräumigen Konzentrationsgradienten an. Die helle Seite befindet sich auf der Seite höherer Konzentration.

Auf dieser Beobachtung läßt sich eine Methode zur Messung großräumiger Konzentrationsgradienten mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens

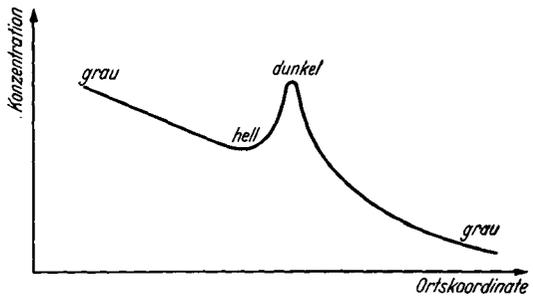


Abb. 20. Konzentrationsverlauf und qualitativ auch Brechungsindexverlauf in der Umgebung eines Konzentrationsberges bei allgemeinem Konzentrationsgefälle.

aufbauen. Man bringt zu diesem Zweck vor Versuchsbeginn kleine symmetrische Hilfskörper als „Brechungsindexberge“ — z. B. Zaponlackspritzer, Bärlappsamen oder ähnliches — auf dem Objektträger an. Anschließend wird das Deckglas fest mit Füßchen auf dem Objektträger montiert. Nach Einströmen der zu beobachtenden Flüssigkeit wird das Phasenkontrastmikroskop so justiert, daß das Bild des Ringspaltes in der oberen Objektivbrennebene genau konzentrisch mit dem 90°-Phasenring des ZERNIKE-Plättchens liegt. Die Hilfskörper erscheinen dann im Phasenkontrastbild als kreissymmetrische Gebilde. Tritt infolge eines chemischen oder physikalischen Vorgangs ein Brechungsindexgradient auf, so wird dies an dem nun unsymmetrisch werdenden Bilde der Hilfskörper erkennbar. Die Größe des Konzentrationsgradienten kann für die Umgebung eines jeden Hilfskörpers dadurch gemessen werden, daß die Kondensorringblende meßbar so verschoben wird, bis der Hilfskörper wieder symmetrisch erscheint. Das Verfahren wird aber an Genauigkeit und Bequemlichkeit von der Interferenzmikroskopie und von dem einfachen Schneidenschlierenverfahren übertroffen und ist daher nur ein Notbehelf für den Fall, daß diese für den vorliegenden Zweck geeigneteren Hilfsmittel nicht zur Verfügung stehen.

*Chemische Vorgänge in Gasen* ebenso wie rein thermische oder akustische Effekte in Gasen sind stets mit Brechungsindexänderungen verbunden und daher mit Phasenkontrastbeobachtungen — meist in der makroskopischen Form — sehr empfindlich zu erfassen. Das gilt auch für schnell veränderliche Vorgänge wie Explosionen. Das Phasenkontrastverfahren ist dabei ähnlich anzuwenden, wie das von SCHARDIN für den genannten Zweck ausführlich beschriebene Schlierenverfahren älterer Form (Schneidenverfahren) (40). An die Stelle der Schneide am Orte des Lichtquellenspaltbildes hat das ZERNIKE-Plättchen zu treten. ZERNIKE selbst hat in einer seiner ersten Veröffentlichungen zum Phasenkontrastverfahren (57) eine für solche Anwendungen leicht zu richtbare Apparatur beschrieben und den Vergleich mit dem Schneidenverfahren ausführlich dargestellt. Wenn bisher für quantitative Untersuchungen das Schneidenverfahren oder für anspruchsvollere Messungen das Interferenzverfahren vorgezogen wurde, so hängt das mit den im Teil I beschriebenen Mängeln des Phasenkontrastverfahrens zusammen, die ZERNIKE selbst noch nicht in Betracht gezogen hatte.

### III. Ausblick und Vergleich mit anderen Verfahren zur verdeutlichten Abbildung von Phasenobjekten.

#### 10. Die Interferenzverfahren.

In den letzten Absätzen des vorhergehenden Abschnitts und mehrfach weiter oben wurden die Vorzüge der Interferenzmikroskopie vor der Phasenkontrastmikroskopie bei quantitativen Untersuchungen erwähnt. Interferenzmikroskopische Bilder sind frei von allen Bildverfälschungen, z. B. Höfen um die Objekte und inneren Aufhellungen, Größenverfälschungen, wie sie an Hand der Phasenkontrastbilder 7, 8, 9 auf der S. 14 als Mängel diskutiert wurden. Die Interferenzmikroskopie gibt auch beliebig große Objekte, z. B. großräumige Konzentrationsgradienten, völlig objektrett und in einer für die quantitative Auswertung besonders geeigneten Form wieder. Entsprechendes gilt für makroskopisch abbildende Interferenzverfahren.

Das Wesen der Interferenzmikroskopie besteht darin, daß auf das wie üblich entstehende Hellfeldbild gleichmäßiges kohärentes Zusatzlicht gelenkt wird. Dieses interferiert mit dem Licht des Hellfeldbildes zu verschiedener Intensität an solchen Stellen, die verschiedene Phasen im Hellfeldbilde besitzen, und wirkt also als eine Art Detektor für Phasendifferenzen.

Dieses kohärente Zusatzlicht wird von der Beleuchtung vor dem Objekt abgezweigt und auf die Bildebene geworfen; es hat das Objekt nicht passiert. Bei der Interferenzmikroskopie findet also kein Eingriff

in die Spektren statt, der verschiedene Spektren voneinander zu trennen hätte, wie das bei dem Phasenkontrastverfahren der Fall ist; damit entfällt bei der Interferenzmikroskopie also die Ursache für die aus dem Eingriff bei dem Phasenkontrastverfahren entstehenden Verfälschungen. Interferenzmikroskopie und Phasenkontrastverfahren verwandeln Phasendifferenzen in Intensitätsdifferenzen, um sie dem Auge sichtbar zu machen; aber bei der Interferenzmikroskopie geschieht dies ohne Einbringen störender Kanten in den Strahlengang zwischen Objekt und Bild.

Im einzelnen können technische Ausführungsformen von Interferenzmikroskopen oder makroskopisch abbildenden Interferenzgeräten in diesem Artikel nicht beschrieben werden, da sie nicht zu seinem Gegenstande gehören (4), (20), (5), (55). Um aber den Vergleich mit dem Phasenkontrastverfahren zu vervollständigen, mag außer der größeren Kostspieligkeit der Interferenzgeräte ein wesentlicher Unterschied erwähnt werden, der sogar die Mängel des Phasenkontrastverfahrens auch in einem positiven Lichte erscheinen läßt; denn diese sind ganz unmittelbar mit einem Vorteil gekoppelt.

Wie die Abb. 8a und b zeigten, kontrastiert das Phasenkontrastverfahren breite Objekte nur an ihrem Rande; das macht zwar den Wunsch nach eindeutiger Zuordnung zwischen den Brechungsindizes des Objekts und der Bildintensität unerfüllbar; aber es macht auch das Innere des breiten Objekts gleichsam wieder frei für die praktisch unbeeinflusste Kontrastierung kleiner Objekte oder Einzelstrukturen.

Insbesondere sind Durchbiegungen des Objektträgers und des Deckglases solche breiten Objekte. Sie stören daher bei dem Phasenkontrastverfahren überhaupt nicht, wenn sie hinreichend großräumig sind, also keine scharfen Kanten ins Bild bringen. Die objekttreue Interferenzmikroskopie dagegen zeigt jede Dickenänderung des Deckglases und des Objektträgers mit der vollen Empfindlichkeit. Die Interferenzmikroskopie ist daher bezüglich aller verwendeten Teile und bei den meisten Interferenzgeräten auch hinsichtlich der Justierarbeit viel anspruchsvoller als die Phasenkontrastmikroskopie. Neben den älteren Interferenzmikroskopen nach LINNIK [s. (15)!] gibt es neuerdings einige Formen, die einfacher, billiger und bequemer bedienbar sind. Durch Einfachheit, aber beschränkte Anwendbarkeit ist das Verfahren von TOLANSKY und MERTON (21), (45) gekennzeichnet, die das Objekt zwischen halbdurchlässig verspiegelte Deckgläser und Objektträger legen und unter einem einfachen Hellfeldmikroskop betrachten; dabei werden die bekannten Interferenzen dünner Blättchen ausgenutzt. LAU und KRUG (15) bauten ein kleines MACH-ZEHNDERSches Interferenzgerät zwischen Objektiv und Kondensator eines Mikroskops und schufen damit ein Interferenzmikroskop für kleine Aperturen. DYSON (5) und WOLTER (55) gaben für größere Aperturen Zusatzgeräte an, die jedes

Mikroskop in ein hochauflösendes Interferenzmikroskop umzuwandeln gestatten; das letztgenannte Gerät automatisiert die Einstellung niedriger Ordnungen, die für aufschlußreiche farbige Bilder nötig sind.

### 11. Neue Schlierenverfahren.

Außer den geläufigen Dunkelfeldverfahren und dem älteren und allgemein bekannten Schneidenschlierenverfahren, dessen mikroskopische — freilich nicht immer streng durchgeführte — Form wir unter dem Namen Schrägbeleuchtung allenthalben mit dem Phasenkontrastverfahren verglichen haben, eignen sich gerade für chemische Untersuchungen zwei neue Schlierenverfahren.

Das als *Minimumschlierenverfahren* oder auch als Gegenfeldverfahren (52), (53) bezeichnete makroskopische oder mikroskopische Schlierenverfahren unterscheidet sich von dem Phasenkontrastverfahren einfachster Art, wie es im Abschnitt 2 beschrieben wurde, apparativ nur dadurch, daß statt der 90°-ZERNIKE-Platte eine Phasenplatte benutzt wird, die das Licht links des Spaltbildes um 180° dreht gegenüber dem Licht rechts des Spaltbildes. Im Bild erscheint eine dunkle Kurve in sonst hellem Felde; sie bezeichnet alle Objektpunkte, die das Licht nicht (oder um einen bestimmten einstellbaren Winkel) ablenken. Das Verfahren dient zu dem gleichen Zweck wie das Schneidenschlierenverfahren, führt jedoch zu übersichtlicheren Bildern und wesentlich genaueren Werten bei quantitativen Untersuchungen, ohne daß eine Photometrie erforderlich wäre.

Für Gestaltuntersuchungen ist das *zweidimensionale Farbschlierenverfahren* oft aufschlußreicher als das Phasenkontrastverfahren (50). Durch einen optischen Eingriff in den Strahlengang des Mikroskops (in der oberen Brennebene des Objektivs liegt eine in farbige Sektoren aufgeteilte durchlässige Platte) färbt es z. B. bei Kristallen alle Flächen in verschiedenen Farben; aus der jeweils auftretenden Farbe kann auf die Lage der Fläche im Raum geschlossen werden. Bezüglich der Wirkungsweise und der Ergebnisse sei auf die mit farbigen Mikrographien von Kristallen versehene Originalarbeit (50) hingewiesen. Kombinationen von Farbschlierenverfahren mit dem Phasenkontrastverfahren und ihre Anwendung auf die Untersuchung von Inhomogenitäten in Gläsern wurden in (54) beschrieben.

*Bezüglich der Schlieren-, Interferenz- und Phasenkontrastverfahren sei zusammenfassend festgestellt:* Alle diese Verfahren zeigen Schlieren an, und manche Autoren (57) bezeichnen sie daher mit Recht alle als Schlierenverfahren im weiteren Sinne; alle diese Verfahren zeigen Phasendifferenzen irgendwie an und werden daher alle unter die Phasenkontrastverfahren im weiteren Sinne (20) gerechnet. Mit dem gleichen

Recht kann man sie auch als Interferenzverfahren bezeichnen, da die entscheidende Wirkung in allen Fällen letzten Endes aus Interferenzphänomen verstanden werden muß. In diesem Bericht fand der sich mehr und mehr durchsetzende Sprachgebrauch Verwendung, der den drei Worten enger gewählte Begriffe zuordnet.

Als *Schlierenverfahren* im engeren Sinne wurden hier die Abbildungsverfahren bezeichnet, bei denen infolge eines Eingriffs in die Spektren jeweils die *Richtung*, in die eine Objektstelle das Licht lenkt, über die Kennzeichnung der zugehörigen Bildstelle entscheidet.

*Interferenzverfahren* im engeren Sinne wurden die *Abbildungsverfahren* genannt, die ohne unmittelbaren Eingriff in die Spektren kohärentes Licht auf die Bildebene werfen. Sie kennzeichnen eine Objektstelle nach der zu ihr gehörigen Lichtphase.

Die Bezeichnung *Phasenkontrastverfahren* im engeren Sinne fand nur dort Verwendung, wo ein Eingriff in die Spektren eine unterschiedliche Behandlung des Spektrums nullter Ordnung gegenüber den Seitenspektren zum Ziel hat. Phasenkontrastverfahren in diesem Sinne kennzeichnen eine Objektstelle im Bilde auf Grund der Phasendifferenzen gegenüber der näheren Umgebung.

Als *Dunkelfeldverfahren* können alle jene Abbildungsverfahren gelten, die das Spektrum nullter Ordnung (das direkte, nicht abgebeugte Licht) nicht am Bilde mitwirken lassen; sie können je nach der Ausführung ein Grenzfall des Phasenkontrastverfahrens oder ein Schlierenverfahren oder in dem strengen Fall, daß nur genau das Spektrum nullter Ordnung beseitigt wird („strenges Dunkelfeldverfahren“), Schlierenverfahren und Grenzfall des Phasenkontrastverfahrens zugleich sein.

Bezüglich eines Vergleichs der verschiedenen Verfahren im Grundsätzlichen sei auf die Literatur (20), (48), (57) hingewiesen. Eine ausführliche Behandlung würde über den Rahmen dieses Berichtes hinausführen.

Nicht nur bei der Behandlung der Verfahren, die dem Phasenkontrastverfahren in der Zielsetzung verwandt sind (Teil III), ganz allgemein verzichtete der Bericht auf Vollständigkeit. Für den zweiten Teil war das bei der geringen Zahl von bisher vorliegenden Anwendungen des Phasenkontrastverfahrens auf chemische Untersuchungen und bei der zugleich unübersehbaren Menge an Anwendungsmöglichkeiten ohnehin selbstverständlich. Aber es gilt auch mindestens in dem gleichen Maße für den Teil I. Die Zahl der heute bekannten echten Phasenkontrastverfahren ist so groß, daß ihre geschlossene und vollständige Behandlung nur im Rahmen eines Buches möglich erscheint.

Aber nicht einmal eine vollständige Darlegung der Physik des Phasenkontrastverfahrens im Grundsätzlichen war hier durchführbar; sie hätte umfangreichere mathematische Hilfsmittel vorausgesetzt, als hier

zweckensprechend schien, zumal an Darstellungen in mathematischer Strenge heute kein Mangel mehr besteht (7), (4), (48), (49), (57). Deshalb wurde hier statt auf Vollständigkeit und Strenge mehr Wert auf Anschaulichkeit gelegt.

### Literatur.

1. ALBER, H. K., and J. T. BRYANT: Determination of the refractive index of liquids. *Ind. Engng. Chem., anal. Edit.* **12**, 305—307 (1940).
2. BARER, R.: Some applications of phase-contrast microscopy. *Quart. J. microscop. Sci.* **88**, 491—500 (1947).
3. — Variable colour-amplitude phase-contrast microscopy. *Nature* **164**, 1087 bis 1088 (1949).
4. BENNETT, A. H., H. OSTERBERG, H. JUPNIK and O. W. RICHARDS: Phase microscopy, principles and applications. New York and London 1951.
5. DYSON, J.: A transmission-type interferometer microscope. *Nature* **164**, 229 (1949).
6. FRANÇON, M., and G. NOMARSKI: Dispositif à contraste de phase indépendant du microscope et utilisant une lame de phase à absorption variable. *C. R. hebd. Séances Acad. Sci.* **230**, 1050—1051 (1950).
7. — Le Contraste des Phase en Optique et en Microscopie. Paris (1950).
8. — Lamme de phase à contraste variable par réflexion. *C. R. hebd. Séances Acad. Sci.* **230**, 1392—1394 (1950).
9. GRIGG, F. C.: Colour-contrast phase microscopy. *Nature* **165**, 368—369 (1950).
10. HARTLEY, W. G.: A variable phase-contrast system for microscopy. *Nature* **159**, 880—881 (1947).
11. HORST, U.: Die Phasenkontrasteinrichtung als neues Hilfsmittel für mikroskopische Kohlenuntersuchungen. *Bergbau u. Energiewirtschaft* **3**, Sonderbeilage (1950).
12. KASTLER, A., and R. MONTARNAL: Phase-contrast in polarized light. *Nature* **161**, 357 (1948).
13. KECK, P. H., and A. T. BRICE: Image contrast in phase-contrast microscopy. *J. opt. Soc. America* **39**, 507—514 (1949).
14. KÖHLER, A., and W. LOOS: Das Phasenkontrastverfahren und seine Anwendungen in der Mikroskopie. *Naturwiss.* **29**, 49—61 (1941).
15. KRUG, W., u. E. LAU: Ein Interferenzmikroskop für Durch- und Auflichtbeobachtungen. *Ann. Physik (6)* **8**, 329 (1951).
16. LOCQUIN, M.: Plaque de phase à absorption réglable en lumière polarisée. *Microscopie (Paris)* **1**, M 47—M 48 (1948).
17. LOOS, W., W. KLEMM and A. SBEKAL: Anwendung der Phasenkontrastmikroskopie auf Modellversuche zum Poliovorgang an Gläsern. *Naturwiss.* **29**, 769—770 (1941).
18. MARX, T., and F. DIEHL: Die Anwendung des Phasenkontrastverfahrens in der Oberflächmikroskopie. *Naturwiss.* **35**, 91—92 (1948).
19. MENZEL, E.: Erhöhter Bildkontrast bei ausgedehnten Objekten. *Optik* **5**, 385 (1949).
20. — Phasenkontrastverfahren. *Z. angew. Physik* **3**, 308 (1951).
21. MERTON, T.: On a method of increasing contrast in microscopy. *Proc. Roy. Soc. [London] A* **189**, 309 (1947).
22. — On interference microscopy. *Proc. Roy. Soc. [London] A* **191**, 1 (1947).
23. MICHEL, K.: Die Darstellung von Chromosomen mittels des Phasenkontrastverfahrens. *Naturwiss.* **29**, 61—62 (1941).

24. MICHEL, K.: Das Phasenkontrastverfahren und seine Eignung für zytologische Untersuchungen. *Naturwiss.* **37**, 52—57 (1950).
25. — Die Grundlagen der Theorie des Mikroskops. *Physik u. Technik*, Bd. 1. Stuttgart 1950.
26. OSTERBERG, H.: Phase difference microscopy as a problem in diffraction. *J. opt. Soc. America* **34**, 773—774 (1944).
27. — A method of analysis of light polarizing systems. *J. opt. Soc. America* **36**, 364 (1946).
28. — Inhomogeneous light polarizing systems. *J. opt. Soc. America* **36**, 469—477 (1946).
29. — „Polanret“ microscopy. *J. opt. Soc. America* **36**, 710 (1946).
30. — The polanret microscope. *J. opt. Soc. America* **37**, 726—730 (1947).
31. — The theory of measuring unresolvable particles with the phase microscope. *J. opt. Soc. America* **37**, 523—524 (1947).
32. — The multipupil in phase microscopy. *J. opt. Soc. America* **38**, 668, 685—688 (1948).
33. — Phase microscopy with critical illumination. *J. opt. Soc. America* **38**, 1099 (1948).
34. —, and G. E. PRIDE: The measurement of unresolved, single particles of uniform thickness by means of variable phase microscopy. *J. opt. Soc. America* **40**, 64—73 (1950).
35. —, and H. S. SCHRADER: Microscope with special light modifiers. U.S. Pat. 2427689. (1947).
36. —, and J. E. WILKINS jr.: The resolving power of a coated objective. *J. opt. Soc. America* **39**, 553—557 (1949).
37. PICHT, J.: Zum Phasenkontrastverfahren von ZERNIKE. *Z. Instrumentenkunde* **58**, 1—12 (1938).
38. REUMUTH, H.: Phasenkontrastmikroskopie, Ergebnisse auf kolloidchemischen, textiltechnischen und biologischen Anwendungsgebieten. *Kolloid-Z.* **115**, 44—53 (1949).
39. — Ein Fortschritt der Textil-Mikroskopie, Phasenkontrast. *Kunstseide u. Zellwolle* **28**, 3—18 (1950).
40. SCHARDIN, H.: Die Schlierenverfahren und ihre Anwendungen. *Ergebn. exakt. Naturwiss.* **20**, 303 (1942).
41. SAYLOR, C. P., A. T. BRICE and F. ZERNIKE: Color phase contrast, requirements and applications. *J. opt. Soc. America* **39**, 1053 (1949).
42. — Color phase-contrast microscopy, requirements and applications. *J. opt. Soc. America* **40**, 329—334 (1950).
43. SMITHSON, F.: Phase-contrast microscopy for mineralogy. *Nature* **158**, 621 (1946).
44. TAYLOR, E. W., and B. O. PAYNE: A variable phase-contrast system for microscopy. *Nature* **160**, 338 (1947).
45. TOLANSKY, S.: Multiple-beam interferometry of surfaces and films. Oxford (1948).
46. WEBER, A. P.: Das Phasenkontrastverfahren nach ZERNIKE als Hilfsmittel für mikroskopische Untersuchungen durchsichtiger Stoffe. *Optik* **4**, 213—215 (1948).
47. WOLTER, H.: Zur Deutung von Beobachtungen mit dem Phasenkontrastverfahren. *Naturwiss.* **37**, 272—276 (1950).
48. — Experimentelle und theoretische Untersuchungen zur Abbildung nicht-absorbierender Objekte. *Ann. Physik* (6) **7**, 33 (1950).
49. — Zur Abbildung zylindrischer Phasenobjekte elliptischen Querschnitts. *Ann. Physik* (6) **7**, 147 (1950).

50. WOLTER, H.: Zweidimensionale Farbschlierenverfahren. *Ann. Physik* (6) **8**, 1 (1950).
51. — Farbige Phasenkontrastverfahren. *Naturwiss.* **37**, 491 (1950).
52. — Verbesserung der abbildenden Schlierenverfahren durch Minimumstrahlkennzeichnung. *Ann. Physik* (6) **7**, 182 (1950).
53. — Die Minimumstrahlkennzeichnung als Mittel zur Genauigkeitssteigerung optischer Messungen und als methodisches Hilfsmittel zum Ersatz des Strahlbegriffes. *Ann. Physik* (6) **7**, 341 (1950).
54. — Zur Abbildung von Amplituden-, Phasen- und Polarisationsobjekten in einem einzigen farbigen Bilde. *Ann. Physik* (6) **9**, 57 (1951).
55. — Interferenzgerät zur Umwandlung eines Mikroskops in ein Interferenzmikroskop. *Ann. Physik* (6) **9**, 65 (1951).
56. *Zeiss, Firma Carl*: Einrichtung zur Verdeutlichung optischer Abbildungen. Deutsches Reichspatent Nr. 636 168/42 h/6, 10 vom 26. 11. 1932.
57. ZERNIKE, F.: Beugungstheorie des Schneidenverfahrens und seiner verbesserten Form, der Phasenkontrastmethode. *Mitt. Naturkundig Labor. Univ. Groningen, Physica I*, 43 (1934).
58. — Das Phasenkontrastverfahren bei der mikroskopischen Beobachtung. *Z. techn. Physik* **16**, 454—457. — *Physik. Z.* **36**, 848—851 (1935).
59. — Diffraction theory of the knife edge test and its improved form, the phase contrast method. *Roy. Astron. Soc. M. N.* **94**, 377 (1934).

(Abgeschlossen am 3. Januar 1953.)

Dozent Dr. HANS WOLTER, Kiel,  
Institut für Experimentalphysik der Universität,  
Olshausenstraße 40—60.

---

## Die Nitride, Karbide, Boride und Silizide der Übergangsmetalle.

Von

ROLAND KIESSLING.

Mit 2 Textabbildungen.

### Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Einleitung . . . . .	41
II. Die Einlagerungsstrukturen . . . . .	42
III. Die Nitride, Karbide, Boride und Silizide der Übergangsmetalle . . . . .	46
A. Herstellungs- und Untersuchungsmethoden . . . . .	46
B. Die Nitride . . . . .	50
C. Die Karbide . . . . .	52
D. Die Boride . . . . .	54
E. Die Silizide . . . . .	56
IV. Ternäre Systeme . . . . .	57
A. Zwei verschiedene Übergangsmetalle und ein Nichtmetall. . . . .	58
B. Ein Übergangsmetall und zwei verschiedene Nichtmetalle . . . . .	59
V. Strukturelle Ähnlichkeiten der verschiedenen Gruppen . . . . .	59
VI. Die Bindung Übergangsmetall—Nichtmetall . . . . .	61
Literatur . . . . .	64

### I. Einleitung.

Die Nitride, Karbide, Boride und Silizide der Übergangsmetalle bilden eine Stoffgruppe, die während der letzten Jahre der Gegenstand vieler wissenschaftlicher und technischer Untersuchungen gewesen ist. Die physikalischen Eigenschaften dieser Verbindungen sind von großer technischer Bedeutung, da viele Nitride, Karbide, Boride und Silizide die Eigenschaften der hochschmelzenden Oxyde und die der Metalle kombinieren. Ihre Härte ist oft sehr groß, sie sind hochschmelzend und gegen chemische Angriffe sehr widerstandsfähig, aber zeigen auch oft eine elektrische und thermische Leitfähigkeit, die von derselben Größenordnung wie die der Metalle ist. In neuerer Literatur werden sie oft, nach einem Vorschlag von P. SCHWARZKOPF, als die hochschmelzenden metallischen Hartstoffe bezeichnet, eine Bezeichnung, die besonders für die Nitride, Karbide, Boride und Silizide der Übergangsmetalle der Gruppen IV, V und VI des Periodischen Systems verwendet wird.

Die technische Bedeutung und Verwendung dieser Gruppe ist nicht neu. Die Forschung über Stahl und Eisen hat sich schon lange mit diesen Verbindungen beschäftigt, da viele von ihnen einen großen Einfluß auf die Eigenschaften des Stahles haben. In der Hartmetall-

industrie sind seit 25 Jahren viele Karbide und auch einige Nitride und Boride verwendet worden. Die technische Entwicklung der letzten Jahre hat aber auch ganz neue und wichtige Gebiete eröffnet, wo die physikalischen Eigenschaften der Hartstoffe ausgenutzt werden können. Ein großer Bedarf an Hochtemperatur-Werkstoffen ist entstanden, der z. B. mit der Entwicklung der Verbrennungsmotoren, Düsenmotoren, Gasturbinen, mit der Entwicklung von Heizelementen verschiedener Hochtemperaturöfen und mit der Benutzung der Atomenergie verknüpft ist. Hochtemperatur-Werkstoffe müssen sehr hochschmelzend sein, sie müssen gute Festigkeits- und Korrosionseigenschaften bei hohen Temperaturen (1000 bis 1500° C) haben, und die thermische und elektrische Leitfähigkeit der Stoffe muß von derselben Größenordnung wie die der Metalle sein, damit sie den verschiedenen Beanspruchungen bei den hohen Temperaturen widerstehen können. Da viele von den hochschmelzenden metallischen Hartstoffen diese Bedingungen erfüllen, scheint es, als ob die Gruppe große Bedeutung bekommen wird, falls man die technischen Schwierigkeiten bei der Herstellung und Verformung lösen kann.

Auch vom wissenschaftlichen Gesichtspunkt aus sind die Nitride, Karbide, Boride und Silizide der Übergangsmetalle von großem Interesse. Die Kristallstrukturen der verschiedenen Verbindungen sind weitgehend aufgeklärt worden, woraus man Schlüsse auf die Bauprinzipien und die Bindungsart ziehen kann. Auch die Stellung dieser Stoffe zwischen Metallen und nichtmetallischen Stoffen mit Bindungen metallischer oder homöopolarer Natur und ihre eigenartigen physikalischen Eigenschaften berechtigen zu einer ausführlicheren Beschreibung.

In der vorliegenden Arbeit werden die verschiedenen Verbindungen zwischen Übergangsmetallen und Stickstoff, Kohlenstoff, Bor und Silizium behandelt; dabei werden speziell die metallischen Hartstoffe berücksichtigt. Der Zweck dieses Berichtes ist nicht, ein vollständiges Verzeichnis aller dieser Verbindungen zu geben, sondern die wichtigsten Forschungsergebnisse der letzten Jahre hervorzuheben und die allgemeinen strukturellen Aufbauprinzipien zu diskutieren.

## II. Die Einlagerungsstrukturen.

Die hochschmelzenden, metallischen Hartstoffe werden alle von den Übergangsmetallen gebildet. Die Übergangsmetalle sind bekanntlich die Metalle 21 Sc—28 Ni, 39 Y—46 Pd, 57 La—78 Pt und die Aktiniden, die zur Zeit von 89 Ac—98 Cf hergestellt worden sind. Die Übergangsmetalle unterscheiden sich von den anderen Metallen des Periodischen Systems dadurch, daß sie unvollständig aufgefüllte innere Elektronenschalen haben. Die röntgenspektroskopischen Methoden haben gezeigt,

daß sie alle in der Anordnung der äußeren *s*- und *p*-Elektronen weitgehend ähnlich sind, daß aber die Untergruppen der *10d*- und der *14f*-Elektronen (bei den Seltenen Erden und bei den Aktiniden) in diesen Metallen beim Durchlaufen der Perioden aufgebaut werden. Da die Energieunterschiede der verschiedenen *s*-, *p*-, *d*- und *f*-Zustände sehr klein sind, können Elektronen leicht bald in den einen, bald in den anderen Elektronenzustand übergehen. Es entsteht eine sog. Hybridisierung der *spd*-Zustände, und die Bindungsverhältnisse werden sehr verwickelt. Verbindungen zwischen einem Übergangsmetall und Wasserstoff, Stickstoff, Kohlenstoff, Bor oder Silizium zeigen komplizierte Bindungsverhältnisse und die Zusammensetzung der intermediären Phasen wird nicht durch die gewöhnlichen Valenzbedingungen der beiden Komponenten bestimmt. Die intermediären Phasen haben oft metallische Eigenschaften, z. B. eine hohe elektrische Leitfähigkeit mit negativem Temperaturkoeffizienten, Metallglanz, Supraleitfähigkeit; oft sind sie schwach paramagnetisch. Sie sind zum Teil chemisch sehr stabil. Das Kristallgitter wird von den größeren metallischen Atomen bestimmt und die kleineren Metalloidatome werden in dieses Metallgitter hauptsächlich in atomarem Zustande aufgenommen. Wahrscheinlich geschieht jedoch ein Elektronenaustausch mit dem Metallgitter, so daß eine partielle Ionisierung von den eingelagerten Metalloidatomen stattfindet, die aber nicht groß genug ist, um die Metalloidatome ganz in den ionisierten Zustand zu überführen (siehe weiter unten).

Die Verbindungen der genannten Nichtmetalle mit Übergangsmetallen unterscheiden sich weitgehend von ihren Verbindungen mit anderen Metallen. So sind z. B. die Karbide der Alkali- oder Erdalkalimetalle farblose Nichtleiter, die leicht von Wasser oder verdünnten Säuren zersetzt werden. Die Kristallgitter sind von Ionen aufgebaut, wobei die negativen Metalloidionen durch Elektronenaufnahme die größeren sind und die positiven Metallionen in die Zwischenräume eingelagert sind. Die physikalischen Eigenschaften dieser Verbindungen werden durch die elektropositive Natur und den Ionenradius der Metalle bestimmt.

In der Tabelle 1 sind die Atomradien der Nichtmetalle nach PAULING und HUGGINS angegeben, in der Tabelle 2 die Atomradien der Übergangsmetalle (in 12facher Koordination). Bei einer Einlagerung des Metalloidatoms in das Metallgitter kann man die Atome als Kugeln behandeln; eine Auffassung über die Einlagerungsmöglichkeiten kann man durch geometrische Raumdiskussionen bekommen. Solche Diskussionen bilden die Grundlage der fundamentalen Klassifizierung dieser Verbindungen von HÄGG (37), (40). Die Kristallgitter der Nitride, Karbide und Boride können alle als metallische Gitter aufgefaßt werden, in deren Zwischenräume die kleineren Metalliodatome eingelagert worden sind. HÄGG hat

Tabelle 1. Die Atomradien der Nichtmetalle (in  $\text{\AA}$ ) hauptsächlich nach PAULING und HUGGINS. Die Werte gelten für eine tetraedrische Koordination in homöopolaren Verbindungen, können aber als Grundlage für Raumdiskussionen dienen.

1H					
0,28					
	5B	6C	7N	8O	9F
	0,86	0,77	0,70	0,66	0,64
		14Si	15P	16S	17Cl
		1,17	1,10	1,04	0,99
		32Ge	33As	34Se	35Br
		1,22	1,21	1,17	1,14
		50Sn	51Sb	52Te	53J
		1,40	1,41	1,37	1,33
		82Pb	83Bi	84Po	85At
		1,46	1,51	—	—

Tabelle 2. Die Atomradien der Übergangsmetalle (in  $\text{\AA}$ ). Die Werte sind aus den Atomabständen der reinen Metalle berechnet und gelten für eine 12fache Koordination der Metallatome.

21Sc	22Ti	23V	24Cr	25Mn	26Fe	27Co	28Ni
1,60	1,47	1,35	1,28	~1,26	1,26	1,25	1,24
39Y	40Zr	41Nb	42Mo	43Tc	44Ru	45Rh	46Pd
1,81	1,60	1,47	1,40	—	1,34	1,34	1,37
57La—71Cp	72Hf	73Ta	74W	75Re	76Os	77Ir	78Pt
1,87—1,74	1,59	1,47	1,41	1,38	1,35	1,35	1,38
89Ac—98Cf—?							
$r_{Th} = 1,80$ $r_U = 1,52$							

bei einer zusammenfassenden Darstellung über die Karbide, Boride, Nitride und Hydride der Übergangsmetalle gefunden, daß diese Phasen

öfters metallisch sind, im Gegensatz zu Phasen zwischen diesen Metalloiden und anderen Metallen. Das Verhältnis Metalloidatomradius: Metallatomradius ist von entscheidender Bedeutung. Wenn dieses Verhältnis einen gewissen Wert ( $\sim 0,59$ ) nicht überschreitet, entstehen sehr einfache Kristallstrukturen, die als Einlagerungsstrukturen charakterisiert werden. Die Metalloidatome werden in die größten Zwischenräume der Metallgitter eingelagert, und die Metallgitter gehören einem der vier Grundtypen der kubisch dichtesten Kugelpackung, der hexagonal dichtesten Kugelpackung, dem raumzentrierten kubischen Gitter oder dem einfach hexagonalen Gitter an. Die drei erstgenannten Typen sind die drei Gittertypen der reinen Metalle und auch der vierte Typus ist diesen Gittern sehr ähnlich. Nach der Auffassung von HÄGG würden also die Gitter der Metalle durch die Einlagerung der kleinen Metalloidatome beibehalten werden und dadurch würden auch die metallischen Eigenschaften wie Leitfähigkeit, Supraleitfähigkeit, Metallglanz usw. bestehen bleiben. Wenn das Verhältnis Metalloidatomradius:Metallatomradius den Grenzwert  $\sim 0,59$  überschreitet, wird das einfache Gitter zu sehr expandiert, um stabil zu bleiben; es bricht zusammen und kompliziertere Gittertypen entstehen. Dadurch gehen auch die metallischen Eigenschaften verloren. Der Grenzwert 0,59 wurde von HÄGG empirisch gefunden durch ein Studium der zu dieser Zeit bekannten Karbid-, Nitrid-, Hydrid- und Boridstrukturen.

Wasserstoff, mit seinem sehr kleinen Atomradius, kann in die Zwischenräume der Gitter aller Übergangsmetalle eingelagert werden, ohne die Gitter zu deformieren. Die Hydride sind daher den Metallen sehr ähnlich, ihre Zusammensetzung ist wenig definiert; Wasserstoff kann leicht durch die Gitter diffundieren und aufgenommen oder abgegeben werden (z.B. Palladiumhydride, Titan- und Zirkoniumhydride). Daher sind die Hydride auch keine Hartstoffe, denn die plastischen Eigenschaften und ziemlich niedrigen Schmelzpunkte der Metalle überwiegen noch. Die eigentlichen Hartstoffe findet man unter den Nitriden, Karbiden und Boriden. Der Radius des Metalloides ist klein genug, um in die meisten Gitter der Metalle eingelagert zu werden, ohne daß diese hochgradig deformiert werden, ist aber doch so groß, daß die Metallatome und die Metalloidatome Bindungen ausbilden können. Aus geometrischen Gründen wären auch Einlagerungsstrukturen mit den Metalloiden der Gruppen VI und VII, insbesondere mit Sauerstoff und Fluor, zu erwarten. Hier tritt aber der starke elektronegative Charakter der Elemente der Gruppen VI und VII in Erscheinung. Die Halogenide sind alle ionisiert und von salzigem Charakter. Dies gilt auch für die Oxyde und Sulfide, doch mit einigen wichtigen Ausnahmen, die unten behandelt werden. Phosphor und Silizium mit ihrem großen Atomradius können nur mit den Metallen mit großem Atomradius Verbindungen

von metallischem Charakter bilden. Die Siliziumatome haben auch eine starke Tendenz Silizium—Silizium-Bindungen zu bilden; Silizium ähnelt darin weitgehend Bor.

Wie oben gesagt wurde, kennt man auch einige Oxyde und Sulfide mit metallischem Charakter. Festes Titan zeigt z. B. eine große Löslichkeit für Sauerstoff (bis zu ungefähr 30 Atom-%). Diese Phase sowie die erste intermediäre Titanoxydphase,  $TiO$ , mit einem breiten Homogenitätsbereich, zeigen metallische Eigenschaften; der Sauerstoff ist atomar eingelagert. Zirkonium bildet mit Sauerstoff metallische Phasen. Einige Metall—Titan-Doppeloxyde mit atomarem Sauerstoff und metallischen Eigenschaften, sind auch bekannt (54). Cerium bildet einige Sulphide mit metallischen Eigenschaften (22). So schmilzt z. B.  $CeS$  bei  $2450^{\circ}C$ ; es hat eine spezifische Leitfähigkeit von der Größenordnung eines Metalles und ist plastisch verformbar wie Gußeisen. Röntgenographische Untersuchungen haben gezeigt, daß Schwefel hier atomar gebunden ist. Es ist eigenartig, daß die Verbindungen mit atomarem Sauerstoff oder Schwefel vorzugsweise von den Metallen am Anfang einer Periode gebildet werden, da ja diese Metalle am stärksten elektropositiv sind und man also erwarten würde, daß sie mit Sauerstoff oder Schwefel Ionenverbindungen bilden würden.

### III. Die Nitride, Karbide, Boride und Silizide der Übergangsmetalle.

In den Tabellen 3—6 sind die bisher bekannten Nitride, Karbide, Boride und Silizide der Übergangsmetalle zusammengestellt worden. Die Silizide sind mit einbezogen, weil sie nach ihren physikalischen Eigenschaften als Hartstoffe zu bezeichnen sind. Vom kristallographischen Standpunkt aus aber nehmen sie eine Mittelstellung zwischen Einlagerungsstrukturen und Molekülverbindungen ein. Die eigentlichen Hartstoffe, d. h. die Verbindungen mit hohem Schmelzpunkt, metallischer Leitfähigkeit und einer allgemeinen chemischen Stabilität, sind die Nitride, Karbide, Boride und Silizide der Gruppen IV, V und VI. Die genannten Verbindungen der Gruppen VII und VIII sind weniger stabil und daher als Hartstoffe von geringerem Interesse. Ihre technische Bedeutung und ihre nahe Verwandtschaft mit den Hartstoffen sind aber groß. Die Verbindungen der Metalle der Gruppe III, einschließlich die der Lanthaniden und Aktiniden sind weniger erforscht worden, auch sie scheinen weniger stabil zu sein als die eigentlichen Hartstoffe.

#### A. Herstellungs- und Untersuchungsmethoden.

Die Herstellungsmethoden der Nitride, Karbide, Boride und Silizide sind sich ziemlich ähnlich. Die Synthese aus den Komponenten ist die

Tabelle 3. Die Nitride der Übergangsmetalle.

Die angegebenen Formeln sind oft nur Annäherungsformeln; viele Nitride haben ein weites Homogenitätsgebiet. Für jedes System sind Literaturangaben gegeben. Sterne deuten mehrere Modifikationen an.

21 Sc (27), (6)	22 Ti <sup>1</sup> (23), (27), (6)	23 V (31), (27), (6)	24 Cr (12), (25)	25 Mn (36)	26 Fe (35), (44), (47), (48), (49), (51)	27 Co (50), (53)	28 Ni (52)
ScN	TiN	V <sub>2</sub> N VN	Cr <sub>2</sub> N CrN	Mn—N (δ) Mn <sub>4</sub> N Mn <sub>2</sub> N Mn <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	Fe <sub>16</sub> N <sub>2</sub> (α'') Fe <sub>4</sub> N (γ') Fe <sub>2</sub> N (ε) Fe <sub>2</sub> N (ζ)	Co <sub>3</sub> N Co <sub>2</sub> N	Ni <sub>3</sub> N
39 Y	40 Zr (27), (6)	41 Nb (15), (16), (27), (6), (55)	42 Mo (38)	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd
	ZrN	Nb <sub>2</sub> N NbN*	Mo—N (β) Mo <sub>2</sub> N (γ) MoN (δ)				
57 La—71 Cp (27), (24)	72 Hf (118)	73 Ta (55), (27), (6)	74 W (38), (64)	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt
MeN	HfN	Ta <sub>2</sub> N TaN*	W <sub>2</sub> N				

Tabelle 4. Die Karbide der Übergangsmetalle.

Für jedes System sind Literaturangaben gegeben. Sterne deuten mehrere Modifikationen an. Eine Übersicht der verschiedenen Karbidssysteme ist von GOLDSCHMIDT (30) gegeben worden. Dort sind auch ausführliche Literaturangaben (bis zu 1948) für viele der hier diskutierten Systeme zu finden.

21 Sc	22 Ti (23), (5), (21)	23 V (5), (82)	24 Cr (99), (100), (33)	25 Mn (107), (69)	26 Fe (72), (101), (46), (47)	27 Co (76), (50)	28 Ni (65), (122)
	TiC	V <sub>2</sub> C (?) VC	Cr <sub>23</sub> C <sub>6</sub> Cr <sub>7</sub> C <sub>3</sub> Cr <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	Mn <sub>4</sub> C Mn <sub>23</sub> C <sub>8</sub> Mn <sub>3</sub> C Mn <sub>5</sub> C <sub>2</sub> Mn <sub>7</sub> C <sub>3</sub>	Fe <sub>3</sub> C ε—Fe <sub>3</sub> C Fe <sub>20</sub> C <sub>9</sub>	Co <sub>3</sub> C Co <sub>2</sub> C	Ni <sub>3</sub> C
39 Y	40 Zr (21), (5)	41 Nb (5), (74), (67)	42 Mo (102), (43), (81)	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd
	ZrC	Nb <sub>3</sub> C (?) NbC	Mo <sub>2</sub> C MoC*				
57 La—71 Cp (40)	72 Hf (5), (74), (118)	73 Ta (5), (21), (74), (67)	74 W (102), (4), (67)	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt
MeC <sub>2</sub>	HfC	Ta <sub>3</sub> C* TaC	W <sub>2</sub> C* WC				

<sup>1</sup> Die Angaben der Phasen Ti<sub>4</sub>N und Ti<sub>2</sub>N, z. B. in (78), gründen sich auf eine falsche Auslegung der Arbeiten von HÄGG (37), (40).

Tabelle 5. Die Boride der Übergangsmetalle.

Für jedes System sind Literaturangaben gegeben. Sterne deuten mehrere Modifikationen an.

21 Sc	22 Ti (23), (90), (3)	23 V (13)	24 Cr (60), (3), (114), (42)	25 Mn (62)	26 Fe (11), (39)	27 Co (11)	28 Ni (11), (3), (115)
	Ti <sub>2</sub> B TiB TiB <sub>2</sub> Ti <sub>2</sub> B <sub>5</sub>	V <sub>2</sub> B (?) VB V <sub>3</sub> B <sub>4</sub> (?) VB <sub>2</sub>	„Cr <sub>2</sub> B“ Cr <sub>3</sub> B <sub>3</sub> CrB Cr <sub>3</sub> B <sub>4</sub> CrB <sub>2</sub>	„Mn <sub>2</sub> B“ Mn <sub>2</sub> B MnB Mn <sub>3</sub> B <sub>4</sub>	Fe <sub>2</sub> B FeB	Co <sub>2</sub> B CoB	„Ni <sub>3</sub> B“ Ni <sub>2</sub> B Ni <sub>3</sub> B <sub>2</sub> NiB
39 Y (2), (93), (70)	40 Zr (59), (89), (90), (119)	41 Nb (3), (19)	42 Mo (58), (10), (9), (116)	43 Tc	44 Ru (20)	45 Rh (20)	46 Pd (20)
YB <sub>6</sub>	ZrB ZrB <sub>2</sub> ZrB <sub>12</sub>	Nb-B (β, β', β'') NbB Nb <sub>3</sub> B <sub>4</sub> NbB <sub>2</sub>	Mo <sub>2</sub> B Mo <sub>3</sub> B <sub>2</sub> MoB* MoB <sub>2</sub> Mo <sub>2</sub> B <sub>5</sub>		Ru <sub>2</sub> B RuB Ru <sub>2</sub> B <sub>3</sub> RuB <sub>2</sub>	Rh <sub>2</sub> B RhB RhB <sub>2</sub>	Pd <sub>3</sub> B <sub>2</sub>
57 La-71 Cp (106), (2), (93), (70)	72 Hf (74), (118)	73 Ta (61), (19)	74 W (58), (90)	75 Re	76 Os (20)	77 Ir (20)	78 Pt (20)
MeB <sub>4</sub> MeB <sub>6</sub>	HfB HfB <sub>2</sub>	Ta <sub>m</sub> B <sub>n</sub> Ta <sub>2</sub> B TaB Ta <sub>3</sub> B <sub>4</sub> TaB <sub>2</sub>	W <sub>2</sub> B WB* W <sub>2</sub> B <sub>5</sub>		OsB OsB <sub>2</sub>	Ir <sub>3</sub> B <sub>2</sub> IrB IrB <sub>2</sub>	PtB

weitaus üblichste Methode. Die Nitride können aus Metall und Stickstoff gewonnen werden, gewöhnlich verwendet man jedoch statt Stickstoff Ammoniak, der an der Oberfläche des Metalles in Wasserstoff und Stickstoff gespalten wird. Man kann thermodynamisch ableiten, daß durch diese Methode ein sehr viel höherer Stickstoffdruck als mit Stickstoff allein erreicht und dadurch die Reaktionsgeschwindigkeit beschleunigt wird (36). Die verschiedenen Metallboride, -karbide und -silizide können alle durch die Reaktion Übergangsmetall-Nichtmetall hergestellt werden. Die Umsetzungen können entweder in der Schmelze oder durch Sintern der festen Phasen nach pulvermetallurgischen Methoden hergestellt werden. Die Herstellung in der flüssigen Phase durch Zusammenschmelzen erfordert sehr hohe Temperaturen und muß in speziellen Hochtemperaturöfen durchgeführt werden. Man bevorzugt daher oft die Reaktion der festen Phasen, die bei mäßigen Temperaturen möglich ist (1000 bis 2000° C). Bei den grundlegenden systematischen Untersuchungen der verschiedenen Systeme ist diese Methode beinahe immer verwendet worden, da man die reinen Ausgangskomponenten in beliebiger Zusammensetzung einsetzen kann. Auch die

Tabelle 6. Die Silizide der Übergangsmetalle.

Für jedes System sind Literaturangaben gegeben. Sterne deuten mehrere Modifikationen an.

21 Sc	22 Ti (88), (71)	23 V (97), (98)	24 Cr (14)	25 Mn (14)	26 Fe (87), (103)	27 Co (14)	28 Ni <sup>1</sup> (14), (95), (96)
	Ti <sub>5</sub> Si <sub>3</sub> TiSi <sub>2</sub>	V <sub>3</sub> Si VSi <sub>2</sub>	Cr <sub>3</sub> Si Cr <sub>2</sub> Si CrSi CrSi <sub>2</sub>	Mn <sub>3</sub> Si Mn <sub>5</sub> Si <sub>3</sub> MnSi MnSi <sub>2</sub>	Fe <sub>3</sub> Si FeSi FeSi <sub>2</sub>	Co <sub>3</sub> Si CoSi	Ni <sub>3</sub> Si Ni <sub>5</sub> Si <sub>2</sub> Ni <sub>2</sub> Si Ni <sub>3</sub> Si <sub>2</sub> NiSi NiSi <sub>2</sub>
39 Y	40 Zr <sup>2</sup> (92), (77), (73)	41 Nb (18), (98)	42 Mo (94), (18), (104), (57)	43 Tc	44 Ru (20)	45 Rh (20)	46 Pd (20)
	Zr <sub>7</sub> Si Zr <sub>2</sub> Si Zr <sub>3</sub> Si <sub>2</sub> Zr <sub>4</sub> Si <sub>3</sub> Zr <sub>6</sub> Si <sub>5</sub> ZrSi ZrSi <sub>2</sub>	Nb <sub>2</sub> Si* NbSi <sub>2</sub>	Mo <sub>3</sub> Si Mo <sub>3</sub> Si <sub>2</sub> MoSi <sub>2</sub>		Ru <sub>3</sub> Si <sub>2</sub> RuSi Ru <sub>2</sub> Si <sub>3</sub>	Rh <sub>3</sub> Si <sub>2</sub> RhSi Rh <sub>2</sub> Si <sub>3</sub> (?)	PdSi
57 La – 71 Cp	72 Hf (17), (105)	73 Ta (18), (98), (121), (125)	74 W (18), (104), (120)	75 Re <sup>*</sup> (98), (127)	76 Os (20)	77 Ir (20)	78 Pt (20)
MeSi <sub>2</sub>		Ta <sub>5</sub> Si Ta <sub>3</sub> Si <sub>2</sub> Ta <sub>5</sub> Si <sub>3</sub> TaSi <sub>2</sub>	W <sub>3</sub> Si <sub>2</sub> WSi <sub>2</sub>	ReSi <sub>2</sub>	Os <sub>2</sub> Si <sub>3</sub> OsSi <sub>2</sub>	Ir <sub>3</sub> Si <sub>2</sub> IrSi Ir <sub>2</sub> Si <sub>3</sub> IrSi <sub>3</sub>	Pt <sub>2</sub> Si (?) PtSi

großtechnische Herstellung vieler Karbide, z. B. für die Hartmetallindustrie, geschieht durch Zusammensintern der Komponenten. Mehrere andere Herstellungsmethoden sind auch für diese Gruppen bekannt, z. B. Abscheidung aus der Gasphase, Schmelzflußelektrolyse, Umsetzungen von Metalloxyden mit Metalloidverbindungen usw. Die wichtigsten dieser Methoden sind neulich von KIEFFER und BENESOVSKY zusammengefaßt worden (56); hier sei nur noch das Aufwachsverfahren aus der Gasphase erwähnt. Eine flüchtige Metallverbindung, z. B. ein Metallhalogenid wird mit einem metalloidgehaltigen Gas (C<sub>x</sub>H<sub>y</sub>, N<sub>2</sub>, BBr<sub>3</sub>) an einer glühenden Metallfläche zur Reaktion gebracht. Dadurch entstehen oft größere Kristalle der betreffenden Verbindung, die für wissenschaftliche Untersuchungen geeignet sind; die Methode wird auch manchmal

<sup>1</sup> Mit Ausnahme von Ni<sub>2</sub>Si und NiSi stammen die Angaben der Zusammensetzung und Anzahl der Phasen aus älterer Literatur.

<sup>2</sup> Die Phasen sind alle, mit Ausnahme von ZrSi<sub>2</sub>, aus dem Referat eines neuen Aufsatzes (73) wiedergegeben. Diese Schrift ist im Original noch nicht zugänglich gewesen.

in technischem Maßstabe für Flächenbedeckungen verwendet. Für eine systematische Untersuchung eines Systemes eignet sich die Methode jedoch nicht, weil nur bestimmte intermediäre Phasen gebildet werden.

Schon MOISSAN hat die Bedeutung und den Zusammenhang dieser Gruppen erkannt und hat präparative und analytische Methoden für die Herstellung und Untersuchung von verschiedenen Nitriden, Karbiden, Boriden und Siliziden ausgearbeitet. Viele Forscher seiner Schule haben die genannten Stoffe weiter untersucht, aber die Möglichkeiten zur Identifizierung der intermediären Phasen waren sehr beschränkt, und daher sind viele Angaben der Zusammensetzung der Phasen in älterer Literatur unzuverlässig. Mit den röntgenographischen Methoden bekam man aber eine direkte Methode zur Identifizierung und Festlegung der Zusammensetzung der intermediären Phasen; diese Methoden sind bei der Erforschung dieser Stoffgruppen von außerordentlicher Bedeutung gewesen. Auf Grund der hohen Schmelzpunkte und allgemeinen chemischen Stabilität der Verbindungen war eine Untersuchung mit den klassischen metallographischen Methoden früher oft unmöglich.

Durch die röntgenographischen Methoden wurde es auch möglich den atomaren Aufbau und die Bindungsverhältnisse dieser Gruppen aufzuklären und den Zusammenhang der verschiedenen Gruppen zu erkennen. Die klassischen Untersuchungen von WESTGREN und Mitarbeitern über verschiedene Karbidsysteme, die zusammenfassende Arbeit von HÄGG über Einlagerungsstrukturen und die späteren Untersuchungen von verschiedenen Forschern über Hydrid-, Nitrid-, Karbid-, Borid- und Silizidsysteme sind alle mit Hilfe der röntgenographischen Methoden möglich geworden. Auch die bindungstheoretischen Betrachtungen von PAULING und Mitarbeitern sind auf Resultate der röntgenographischen Strukturbestimmungen gegründet.

## B. Die Nitride.

Die intermediären Phasen der binären Systeme Übergangsmetall-Stickstoff sind in der Tabelle 3 wiedergegeben. Die Nitride haben öfters ein ausgedehntes Homogenitätsgebiet und die angegebenen Formeln sind als Annäherungsformeln zu betrachten, oder sie geben die kristallographisch ideale Zusammensetzung wieder. Die Nitridsysteme von den Metallen der Gruppen IV, V und VI, die der Eisenmetalle und des Mangans sind ziemlich eingehend untersucht worden, die der Gruppen III und VII (mit Ausnahme von Mangan) und die der Platinmetalle sind gar nicht oder unvollständig bekannt.

Strukturchemisch schließen sich die Nitride den reinen Metallen nahe an. Stickstoff ist ja auch das Element der betrachteten Metalloide, das den kleinsten Atomradius ( $0,70 \text{ \AA}$ ) hat und das also am einfachsten

zwischen die Metallatome eingelagert werden kann, ohne die Metallgitter hochgradig zu deformieren. Eine Löslichkeit von Stickstoff in der reinen Metallphase ist für viele Metalle gefunden worden; die Strukturen der intermediären Phasen sind einfach. Nur für die Metalle mit den kleinsten Atomradien (Mn, Fe, Co, Ni) gehören die Strukturen nicht den einfachsten Typen an.

Für die Übergangsmetalle der Gruppen III und IV ist bisher nur eine Nitridphase beobachtet worden. Diese hat ein Metallgitter der kubisch dichtesten Kugelpackung und ein ausgedehntes Homogenitätsgebiet. Alle diese Nitride sind thermisch sehr stabil, TiN schmilzt z. B. ohne Zersetzung bei  $3200^{\circ}\text{C}$ . Sie sind farbig mit deutlichem Metallglanz, haben ein Leitungsvermögen in der Größenordnung der Metalle; für TiN und ZrN ist auch Supraleitfähigkeit beobachtet worden.

Die Nitride der Gruppe V sind kürzlich neu untersucht worden (55), (16), (31). Für jedes der Metalle V, Nb und Ta ist eine stickstoffärmere Nitridphase beobachtet worden mit der Zusammensetzung  $\text{Me}_2\text{N}$ , mit den Metallatomen in einem Gitter der hexagonal dichtesten Kugelpackung. Außerdem existieren in sämtlichen Systemen stickstoffreichere Phasen. VN ist mit den Nitriden der Gruppe IV isotyp, die Metallatome bilden also ein Gitter der kubisch dichtesten Kugelpackung. NbN scheint aber, im Gegensatz zu älteren Angaben, ein flächenzentriertes Metallgitter nur dann zu bilden, wenn auch Sauerstoff neben Stickstoff in dem Metallgitter vorhanden ist. Aus sauerstofffreiem Niob und Stickstoff werden dagegen drei Modifikationen der stickstoffreicheren Nitridphase gebildet, nämlich NbN,  $(\text{NbN})_2$  und  $(\text{NbN})_4$ . Sie sind alle nahe verwandt und von Schichten dichtester Packung der Metallatome gebildet. TaN existiert in zwei Modifikationen, TaN und  $(\text{TaN})_2$  (55). TaN und NbN sind isotyp, und  $(\text{TaN})_2$  ist mit den genannten Gittern verwandt. Es scheint, als ob die verschiedenen stickstoffreicheren Niob- und Tantalnitride nicht alle die stöchiometrische Zusammensetzung  $\text{MeN}$  haben, sondern daß die Unterschiede zwischen den Metallgittern durch eine geringe Änderung des Stickstoffgehaltes hervorgebracht werden. Eine ähnliche Erscheinung ist auch bei einigen Eisennitriden beobachtet worden (siehe weiter unten). Da diese Gitter Ähnlichkeit mit einigen Karbiden und Boriden zeigen, werden sie im Abschnitt V eingehender besprochen.

Die Nitridphasen von Gruppe VI haben alle Metallgitter, die als Strukturen dichtester Kugelpackung oder wenig deformierter dichtester Kugelpackung zu betrachten sind. Die einzige Ausnahme bildet  $\text{MoN}$ , wo die Metallatome ein einfach hexagonales Gitter bilden. Die Nitride der Gruppe VI sind weniger stabil als die der vorigen, und auch die Bildungsgeschwindigkeit ist kleiner. Das Wolframnitrid ( $\text{W}_2\text{N}$ ) wird z. B. nur in beschränkten Temperaturintervallen durch Azotierung von

Wolframpulver mit Ammoniak gebildet und immer in Mischung mit Wolfram (38), (64).

Die Nitride des Mangans, Eisens, Kobalts und Nickels zeigen abnehmende Stabilität mit steigender Atomnummer des Metalles. Auch können die stickstoffreichsten Mangannitride sowie die Nitride des Eisens, Kobalts und Nickels nicht durch Stickstoffazotierung hergestellt werden, sondern die Azotierung muß mit Ammoniak durchgeführt werden. Die Metallgitter zeigen alle nahe Verwandtschaft mit den Gittern der kubischen oder hexagonalen dichtesten Kugelpackung; besonders eingehend sind die Nitride des Eisens studiert worden. Neulich hat JACK durch eine wichtige Reihe von Arbeiten nicht nur die Metallgitter bestimmt, sondern auch gewisse Regelmäßigkeiten in der Einlagerung der Stickstoffatome gefunden (44), (48), (49), (51). Obgleich die Stickstoffatome nicht in Kontakt sind, sondern sich in einer Entfernung von mehreren Atomabständen befinden, sind sie in einigen Nitriden geordnet eingelagert und also nicht regellos in den Zwischenräumen des Metallgitters verteilt. Diese Tendenz zu einer Ordnung der Stickstoffatome ist sogar so stark, daß JACK sie als die primäre Ursache der Veränderung der Metallgitter bei der Umwandlung  $\epsilon\text{Fe}_2\text{N} \rightarrow \zeta\text{Fe}_2\text{N}$  ansieht.

Viele Nitride sind mit den entsprechenden Karbiden isotyp, und die Stickstoffatome können gegen Kohlenstoffatome kontinuierlich ausgetauscht werden. Diese Karbonitride werden im Abschnitt IV, B kurz besprochen.

### C. Die Karbide.

Die bisher bekannten Karbide der Übergangsmetalle sind in der Tabelle 4 zusammengestellt. Ziemlich eingehend untersucht worden sind die Karbide der Übergangsmetalle der Gruppen IV, V und VI, die des Mangans und die der Eisenmetalle. Unvollständig oder wenig untersucht sind die Systeme des Kohlenstoffs mit Metallen der Gruppe III, die Systeme mit den Platinmetallen und die mit Technetium und Rhenium. Zwar sind von einigen Lanthaniden und Aktiniden Karbide bekannt, z. B.  $\text{LaC}_2$ ,  $\text{ThC}_2$  und  $\text{Pu}_2\text{C}_3$ , aber die Natur dieser Karbide ist noch nicht aufgeklärt. Die Kohlenstoffatome bilden Paare; ob diese Karbide aber metallisch oder nichtmetallisch sind, ist nicht ganz klar.

Die Karbide der Gruppen IV, V und VI sind alle typisch metallische Hartstoffe mit hohem Schmelzpunkt, großer Härte und einer ziemlich guten Leitfähigkeit. Man merkt eine kontinuierliche Veränderung der physikalischen und strukturellen Eigenschaften, wenn man die Gruppen des Periodensystems vergleicht. Die Metalle der Gruppe IV bilden alle nur eine Karbidphase. Diese hat ein ausgedehntes Homogenitätsgebiet; das Metallgitter ist kubisch flächenzentriert (die Metallatome bilden ein Gitter der kubisch dichtesten Kugelpackung). Die Karbide sind

alle hochschmelzend ( $\text{TiC} = 3140^\circ \text{C}$ ,  $\text{ZrC} = 3530^\circ \text{C}$ ,  $\text{HfC} = 4160^\circ \text{C}$ ); Kohlenstoff ist auch in den Gittern der reinen Metalle hochgradig löslich. Bei den Metallen der Gruppe V tritt neben der Karbidphase mit dem Metallgitter der kubisch dichtesten Kugelpackung auch eine kohlenstoffärmere Phase mit einem Gitter der hexagonalen dichtesten Kugelpackung auf. Die Homogenitätsgebiete sind kleiner, die Löslichkeit des Kohlenstoffs in der festen Metallphase ebenso. Für die Gruppe VI sind die Strukturen komplizierter, die Homogenitätsbereiche sehr klein. Die Metallatome sind jetzt kleiner geworden, und die metallischen Gitter werden von den Kohlenstoffatomen weitgehend deformiert.  $\text{Mo}_2\text{C}$  und  $\text{W}_2\text{C}$  haben Metallgitter der hexagonalen dichtesten Kugelpackung,  $\text{WC}$  ein einfaches hexagonales Gitter; von  $\text{MoC}$  sind zwei oder drei Modifikationen bekannt, die alle als Schichtgitter betrachtet werden können und durch Packung dichter Schichten von Molybdänatomen gebildet sind (43), (81). (Da diese Schichtgitter große Ähnlichkeit mit der Struktur einiger Nitride und Boride zeigen, werden sie auch im Abschnitt V diskutiert.) Die Chromkarbide sind alle kompliziert, z. B. das eigentümliche  $\text{Cr}_3\text{C}_2$  (33), in welchem die Kohlenstoffatome Ketten bilden; gerade für Chrom überschreitet das Radienverhältnis  $r_{\text{C}}:r_{\text{Me}}$  den von HÄGG gegebenen Grenzwert 0,59. Bei Mangan sind die Verhältnisse noch verwickelter; es ist eine große Zahl Karbide entdeckt worden, die alle (mit Ausnahme von  $\text{Mn}_4\text{C}$ ) komplizierte Gitter haben (69), (107). Das Mangan-Kohlenstoffsystem scheint unter den Karbidsystemen eine Schlüsselstellung einzunehmen. Die Karbide sind sowohl mit den Eisen, wie mit den Chromkarbiden nahe verwandt. So sind  $\text{Mn}_{23}\text{C}_6$  und  $\text{Mn}_7\text{C}_3$  mit den entsprechenden Chromkarbiden isotyp, während  $\text{Mn}_3\text{C}$  mit  $\text{Fe}_3\text{C}$  isotyp ist.  $\text{Mn}_4\text{C}$  ist mit  $\text{Fe}_4\text{N}$  und  $\text{Mn}_4\text{N}$  isotyp und ist auch ferromagnetisch. Bei Mangan ist der Atomradius des Metalles so klein, daß mit Kohlenstoff der kritische Grenzwert überschritten ist ( $r_{\text{C}}:r_{\text{Me}} = 0,61$ ); aber durch die nicht zu hohe Atomnummer des Metalles ist die Bindungsstärke Mangan—Kohlenstoff noch groß (s. weiter im Abschnitt VI). Auch die komplizierte Struktur der verschiedenen Modifikationen des reinen Metalles, sowie die ferromagnetischen Eigenschaften von z. B.  $\text{Mn}_4\text{C}$  sind von großem Interesse.

Für Eisen, Kobalt und Nickel schließlich sind die meisten Phasen, besonders die gewöhnliche  $\text{Me}_3\text{C}$ -Phase, sehr kompliziert. Die fallende Bindungsstärke Metall—Kohlenstoff mit steigender Atomnummer des Metalles macht sich hier stark bemerkbar; daher sinkt die Anzahl der Phasen und der Kohlenstoffgehalt der metalloidgeichsten Phase. In dem technisch wichtigen Eisen—Kohlenstoff-System sind einige neue Karbide entdeckt worden, die eine wichtige Rolle bei dem Zerfall des Martensites zu spielen scheinen (47). So hat das instabile  $\epsilon\text{-Fe}_3\text{C}$  ein Eisengitter der hexagonal dichtesten Kugelpackung, was nicht bei

diesem kleinen Radienverhältnis zu erwarten ist. Auch ist das von HÄGG zuerst beobachtete und später von JACK näher beschriebene kohlenstoffreiche „HÄGG-Karbid“  $\text{Fe}_{20}\text{C}_9$  zu nennen (46). Die Martensitbildung und die verschiedenen Löslichkeits- und Umwandlungsphänomene, die sich im Eisen-Kohlenstoff-System abspielen, hängen natürlich mit den hier diskutierten Verbindungen eng zusammen; eine nähere Diskussion würde hier jedoch zu weit führen.

#### D. Die Boride.

Die Boride der Übergangsmetalle sind in der Tabelle 5 zusammengestellt. Die Boridsysteme sind alle ziemlich verwickelt; sie enthalten viele intermediäre Phasen. Trotzdem sind die meisten binären Systeme eingehend untersucht, auch die Strukturen der Phasen sind weitgehend bestimmt worden. Lücken findet man noch in der Gruppe III und bei Technetium und Rhenium. Auch sind die Strukturverhältnisse bei den Platinmetallen noch nicht aufgeklärt. Die Boride der Gruppen IV, V und VI sind alle metallische Hartstoffe mit hohen Schmelzpunkten, großer Härte und metallischen Eigenschaften; sie sind gegen chemische Angriffe sehr widerstandsfähig. Besonders bemerkenswert ist die sehr gute Leitfähigkeit von einigen Boriden, die für  $\text{ZrB}_2$  sogar größer ist als für das Zirkoniummetall (28). Die physikalischen Eigenschaften der Boride sind also denen der Karbide und Nitride ähnlich. Die Resultate der Strukturbestimmungen haben aber gezeigt, daß für die Boride noch eine große Tendenz der Boratome vorliegt, Bor-Bor-Bindungen von homöopolarer Natur auszubilden. Für die borarmen Phasen und für die Löslichkeit von Bor in den Gittern der reinen Metalle ist die Ähnlichkeit mit den Karbiden und Nitriden noch groß. So ist z. B. Bor in den Metallgittern von Titan, Zirkonium, Niob und Tantal löslich, während aber eine Löslichkeit in den Gittern der anderen Metalle mit kleinerem Atomradius nicht beobachtet worden ist. Die Phasen  $\text{TiB}$  und  $\text{ZrB}$ , die beide nur bei höheren Temperaturen stabil sind, haben ein Metallgitter der kubisch dichtesten Kugelpackung. Studiert man das Radienverhältnis  $r_{\text{B}}:r_{\text{Me}}$ , dann findet man, daß dieses bei den untersuchten Metallen nur für Zirkonium mit 0,54 unterhalb der kritischen Grenze liegt. Für Titan, Niob und Tantal liegt es auf der Grenze (0,59 bis 0,60) und für die anderen Metalle oberhalb der Grenze 0,59. Auf Grund der Radienverhältnisse sollte also die Struktur der Metallgitter der Boridphasen für alle andere Metalle kein Gitter der dichtesten Kugelpackung sein. Dies ist auch tatsächlich der Fall.

Eine zusammenfassende Darstellung der Boridsysteme ist vom Verfasser schon früher herausgegeben worden (63); deshalb werden hier nur die wichtigsten Resultate wiederholt.

Die Gitter der Boride können alle als Einlagerungsgitter aufgefaßt werden. Aber während die Metalloidatome der Karbide oder Nitride vereinzelt in den Zwischenräumen der Metallatome eingelagert sind, neigen die Boratome sehr stark dazu, Bor—Bor-Bindungen auszubilden; sie sind daher oft als Borketten oder Netze zwischen den Metallatomen eingelagert. Man kann die verschiedenen Strukturen der Metallboride systematisch am einfachsten beschreiben, wenn man die Anordnung der Boratome betrachtet (Abb. 1). In den borärmeren Boriden (z. B. bei den  $\text{Me}_2\text{B}$ -Boriden) sind die Boratome noch isoliert in den

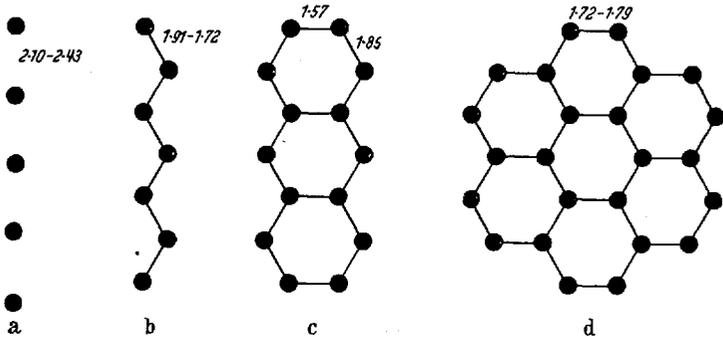


Abb. 1 a–d. Verschiedene Anordnungen der Boratome in den Boriden. a Isolierte Boratome (z. B. in  $\text{Ta}_2\text{B}$ ); b Boratomketten (z. B. in  $\text{TaB}$ ); c Doppelketten von Boratomen (z. B. in  $\text{Ta}_3\text{B}_4$ ); d Boratomnetze (z. B. in  $\text{TaB}_2$ ). Die Abstände Bor—Bor sind in Å gegeben.

Zwischenräumen der Metallgitter vorhanden und noch keine Bor—Bor-Bindungen ausgebildet. Von den  $\text{MeB}$ -Boriden kennt man verschiedene Typen. Aber mit Ausnahme von dem schon besprochenen  $\text{ZrB}$  oder  $\text{TiB}$  bilden in allen diesen Boriden die Boratome zickzackförmige Ketten, die durch Kanäle der Metallgitter laufen. In Systemen mit noch größerem Borgehalt, 57 Atom-%, werden die Metallgitter von Doppelketten von Boratomen durchdrungen; das sind Doppelketten, die auch als Netzfragmente betrachtet werden können. Bei den Boriden mit der Zusammensetzung  $\text{MeB}_2$  bilden die Boratome hexagonale Netze, die alle in den Zwischenräumen der Metallgitter liegen; diese Boride scheinen sehr stabil zu sein. Alle Boratome haben hier in gleicher Entfernung drei Bornachbarn. Zu diesen Boriden gehören die technisch verwendeten Boride  $\text{ZrB}_2$  und  $\text{TiB}_2$ , die auch eine gute elektrische Leitfähigkeit haben. In den borreicheren Boriden  $\text{MeB}_4$ ,  $\text{MeB}_6$  und  $\text{MeB}_{12}$  bilden die Boratome ein dreidimensionales Netzwerk; jedes Boratom ist mit fünf anderen Boratomen in gleicher Entfernung verbunden. In diesen Boriden sind die Metallatome vereinzelt in den Zwischenräumen des Bornetzwerkes eingelagert, aber die metallischen Eigenschaften sind trotzdem noch vorhanden. Boride mit mehr als fünf Bor—Bor-Bindungen sind nicht gefunden worden. Ob dieses ein Zeichen dafür ist, daß auch in

dem noch nicht strukturbestimmten reinen Bor nicht mehr als fünf Bor—Bor-Bindungen vorhanden sind, ist schwer zu sagen. Fünf Nachbarn wären in Übereinstimmung mit der sog. (8-N)-Regel für das dreiwertige Bor zu erwarten, aber Elektroneninterferenzaufnahmen mit kleinen Mengen von reinem Bor deuten darauf hin, daß jedes Boratom sechs Bornachbarn hat (29).

Alle Boride der Übergangsmetalle lassen sich in die obige Beschreibung einfügen; und in allen Systemen Übergangsmetall—Bor erkennt man dieselbe Tendenz der intermediären Phasen: Mit *kleinem Borgehalt* eine Einlagerung der isolierten Boratome in die Metallgitter, mit *größerem Borgehalt* eine allmähliche Zunahme der Anzahl der Bor—Bor-Bindungen, die über Ketten, Doppelketten und Netze zu einem dreidimensionalen „Bor“gitter führt, in die jetzt die Metallatome eingelagert sind. Alle diese Stadien werden natürlich nicht immer gebildet, aber die Tendenz ist für jedes System dieselbe.

Die Boride zeigen also einerseits große Ähnlichkeiten mit den Nitriden und Karbiden. Sie unterscheiden sich jedoch von diesen durch die große Tendenz der Boratome, Bor—Bor-Bindungen auszubilden und zeigen darin eine Verwandtschaft mit den Siliziden, die im nächsten Abschnitt besprochen werden.

### E. Die Silizide.

Einige Silizide sind schon lange bekannt, z. B.  $\text{MoSi}_2$  und  $\text{FeSi}$ ; aber eine mehr systematische Forschung auf dem Gebiet der Silizide ist erst während der letzten Jahre angefangen worden. Man hat nämlich entdeckt, daß viele Silizide auch die Eigenschaften der Hartstoffe haben. So ist z. B.  $\text{MoSi}_2$  gegen Oxydation auch bei  $1700^\circ \text{C}$  gut beständig; es hat auch ein ziemlich gutes elektrisches Leitvermögen. Es wird daher als Widerstandsmaterial für Hochtemperaturöfen fabriziert und auch als oxydationsfeste Deckschicht verwendet (7), (26).

Neuere Untersuchungen haben gezeigt, daß viele Silizide sich an die Nitride, Karbide und Boride anschließen. Eigentliche Einlagerungsstrukturen nach der Definition von HÄGG sind nicht gefunden worden und sind auch nicht zu erwarten. Der Atomradius von Silizium beträgt ja etwa  $1,17 \text{ \AA}$ ; und auch bei den Übergangsmetallen mit den größten Atomradien, z. B. Thorium (1,80), wird das Verhältnis  $r_{\text{Si}}:r_{\text{Me}}$  bedeutend größer als 0,59. In der Tabelle 6 sind die bisher bekannten Silizide zusammengestellt. Neben den dort angegebenen Systemen ist das System Uranium—Silizium von ZACHARIASEN (105) eingehend untersucht worden. Es besteht eine auffallende Ähnlichkeit zwischen diesem System und vielen Boridsystemen. Man beobachtet für die Siliziumatome dasselbe Bestreben, Silizium—Silizium-Bindungen homöopolarer

Natur auszubilden, wie bei den Boratomen in den Boriden. In  $U_3Si$  sind die Siliziumatome isoliert; in  $U_3Si_2$  bilden sie Paare, in  $USi$  zickzackförmige Ketten, in  $\beta USi_2$  hexagonale Netze und in  $\alpha USi_2$  dreidimensionale Netzwerke mit vier Silizium—Silizium-Bindungen und mit den Uraniumatomen in den Zwischenräumen.  $USi$  ist mit  $FeB$ ,  $\beta USi_2$  mit z. B.  $UB_2$  ( $AlB_2$ -Typ) isotyp. Trotzdem bestehen viele Unterschiede, die auf den großen Atomradius des Siliziumatoms zurückzuführen sind. So sind z. B. nur für  $U_3Si$ ,  $U_3Si_2$  und vielleicht auch für  $USi$  metallische Bindungen zwischen den Metallatomen vorhanden.  $\beta USi_2$  enthält keine Uranium—Uranium-Bindungen metallischer Natur, während dies bei dem isostrukturellen  $UB_2$  noch der Fall ist. (Der Abstand  $U-U$  ist bei  $\beta USi_2 = 3,85 \text{ \AA}$ , bei  $UB_2 = 3,18 \text{ \AA}$ .)

In  $MoSi_2$ ,  $TiSi_2$  und in den verschiedenen Chrom-, Eisen-, Kobalt- und Nickelsiliziden liegen keine metallischen Bindungen  $Me-Me$  vor. Die Metallatome sind hier alle an Siliziumatome gebunden. Alle Siliziumatome haben Bindungen mit Metallatomen ausgebildet. Außerdem liegen in einigen siliziumreicheren Phasen Bindungen mit anderen Siliziumatomen vor. Eine Tendenz zur Bildung von Molekülverbindungen bestimmter chemischer Zusammensetzung ist bemerkbar. Die Strukturen ähneln weitgehend denen der Verbindungen zwischen Übergangsmetallen und den Elementen der sog. B-Untergruppen des Periodensystems ( $Sn$ ,  $Pb$ ,  $As$ ,  $Sb$ ,  $Bi$ ,  $S$ ,  $Se$  und  $Te$ ). So hat z. B.  $NiSi$  einen  $NiAs$  ähnlichen Aufbau (95).

Die Verbindungen der letztgenannten Gruppe sind auch oft metallähnlich und ziemlich gute Leiter des elektrischen Stromes. Das Leitvermögen zeigt jedoch für diese Verbindungen ein Minimum bei der stöchiometrischen Zusammensetzung, sie sind diamagnetisch und unterscheiden sich darin von den paramagnetischen metallischen Einlagerungsstrukturen. Ein weiteres Erforschen der physikalischen, chemischen und strukturellen Eigenschaften der Silizidsysteme ist daher von größtem theoretischem Interesse. Kürzlich ist eine Reihe von Arbeiten erschienen (57), (73), (17), (18), (120), (121), (124), (125), (127), die wohl bald eine nähere Diskussion der Silizide ermöglichen werden.

#### IV. Ternäre Systeme.

Um ein vollständigeres Bild der verschiedenen Einlagerungsstrukturen zu bekommen, sind auch einige Untersuchungen über ternäre Systeme zu nennen. Es sind Untersuchungen sowohl über Systeme mit zwei Übergangsmetallen und einem Metalloid, als auch Untersuchungen mit einem Übergangsmetall und zwei verschiedenen Metalloiden ausgeführt worden.

## A. Zwei verschiedene Übergangsmetalle und ein Nichtmetall.

Zu der ersten Gruppe gehören die Untersuchungen über mehrkomponentige Nitrid-, Karbid-, Borid- und Silizidsysteme (66), (75), (79), (80), (117), (123), (124), (126), (128). Die kubischen Karbide der Gruppen IV und V können z.B. beträchtliche Mengen der hexagonalen Karbide der Gruppe VI, diese umgekehrt aber nur sehr wenig kubisches Karbid lösen, ein Verhältnis, das von der Stärke der Bindung Metall—Metalloid abhängig zu sein scheint (siehe weiter unten). Diese Untersuchungen sind für die Hartmetalle und Hochtemperaturmaterialien technisch sehr wichtig.

Auch in einigen Nitrid- und Boridsystemen sind ähnliche Untersuchungen durchgeführt worden (32), (42), (117), (126). Wenn die betreffenden Karbide, Boride oder Nitride isotyp sind und der Unterschied im Metallatomradius nicht zu groß ist (nach der Regel von HUME-ROTHERY nicht größer als etwa 15%) besteht eine lückenlose Mischbarkeit. Die beiden Arten von Metallatomen können einander unter Substitution ersetzen.

Ternäre Phasen mit einer Kristallstruktur, die sich von denen der binären Verbindung unterscheidet, sind ungewöhnlich (68), (128). Eine Ausnahme bildet die sog.  $\eta$ -Phase, die in vielen Karbidsystemen vorkommt und von technischer Bedeutung ist. Dieses Karbid ist kubisch mit einer komplizierten Kristallstruktur und hat etwa die Zusammensetzung  $(Me_1)_3(Me_2)_3C$ . Man kennt es z.B. seit langem in den Systemen Fe—W—C, Co—W—C und Ni—W—C. Das sog. Karbid des Schnelldrehstahles,  $Fe_3W_3C$ , gehört zu diesem Typus (1). Die Metallatome  $Me_1$  und  $Me_2$  besetzen verschiedene Plätze im Kristallgitter;  $Me_2$  hat einen größeren Atomradius als  $Me_1$ . Nach einer neuen Untersuchung von Kuo (68) können nicht beliebige Metalle dieses Karbid bilden, sondern nur diejenigen Metallpaare, die in der Tabelle 7 genannt sind. Nach Kuo muß ein gewisser Unterschied der Bindungsstärke  $Me_1-C$  und  $Me_2-C$  vorhanden sein, damit dieses Karbid gebildet werden kann. Die Bindung

Tabelle 7. Metallpaare, die zusammen die  $\eta$ -Karbide bilden können.

[Nach Kuo (68).] Ta und Nb können auch ternäre  $\eta$ -Karbide bilden, z.B.  $(V, Fe)_3Ta_3C$ ,  $(Cr, Fe)_3Ta_3C$  oder  $(V, Ni)_3Nb_3C$ .

21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu
39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	
57 La	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	

$Me_1-C$  ist immer schwächer als die  $Me_2-C$ -Bindung, aber der Unterschied darf nicht zu groß sein. So bildet z. B. Niob eine  $\eta$ -Phase mit Chrom, dagegen nicht mit Vanadium oder Mangan, Molybdän nur mit Mangan, Eisen, Kobalt oder Nickel, nicht aber mit Chrom oder Kupfer usw. Interessant in diesem Zusammenhang sind auch die Oxyde mit der Struktur des Schnelldrehstahles mit der idealen Formel  $Me_3Ti_3O$ , wo Me Mangan, Eisen, Kobalt, Nickel oder Kupfer sein kann (54). Hier ist Sauerstoff atomar eingelagert; die Sauerstoffatome haben dieselben Plätze wie die Kohlenstoffatome in den vorher genannten Karbiden.

Kürzlich sind im Co—W—C-System noch zwei Doppelkarbide entdeckt worden,  $Co_3W_6C_2$  und  $Co_3W_{10}C_4$  (91), die beide eine ziemlich komplizierte Kristallstruktur haben, aber die physikalischen Eigenschaften sind nicht näher untersucht worden.

## B. Ein Übergangsmetall und zwei verschiedene Nichtmetalle.

Ternäre Systeme einer ganz anderen Art werden aus einem Übergangsmetall und zwei verschiedenen Metalloiden gebildet. So sind z. B. TiC und TiN lückenlos mischbar; man kann beliebige Karbonitride  $Ti(C, N)$  herstellen. Solche Karbonitride entstehen auch als Zwischenprodukt bei der Reduktion von  $TiO_2$  mit Kohlenstoff in Stickstoffatmosphäre, z. B. bei der technischen Herstellung von Titan.

JACK hat in einer interessanten Reihe von Arbeiten über die Karbonitride des Eisens und Kobalts berichtet und die Vorgänge studiert, die sich bei dem technisch wichtigen Nitrieren des Eisens abspielen (45), (47), (50). Bei dem Karborieren von  $Fe_2N$  oder  $Co_2N$  werden die kleineren Stickstoffatome durch die größeren Kohlenstoffatome unter Erhaltung des Metallgitters substituiert. Trotzdem sinkt aber der Abstand zwischen den Metallatomzentren. JACK nimmt daher an, daß Elektronen von den eingelagerten Metalloidatomen an die Metallatome abgegeben werden (45).

Versuche zur Herstellung von Metall—Bor—Stickstoff- oder Metall—Bor—Kohlenstoff-Verbindungen sind bisher gescheitert (64), (28), obgleich z. B. Bor und Stickstoff den graphitähnlichen Borstickstoff bilden, der als ein „Pseudokohlenstoff“ dienen könnte.

Auf Grund der Ähnlichkeit zwischen Siliziden und Boriden wären auch Versuche über die Herstellung von Metall—Borsiliziden von Interesse.

## V. Strukturelle Ähnlichkeiten der verschiedenen Gruppen.

Aus der voranstehenden Beschreibung der verschiedenen Nitride, Karbide, Boride und Silizide ergeben sich schon viele Ähnlichkeiten zwischen den Gruppen. Nicht nur die physikalischen Eigenschaften und

die Herstellungsmethoden, sondern auch die Strukturen vieler Phasen deuten auf eine nahe Verwandtschaft der Gruppen. Viele Beispiele der strukturellen Ähnlichkeit zwischen den Gruppen sind schon erwähnt worden, hier sei nur noch ein Beispiel gegeben: Viele der intermediären Phasen in verschiedenen Gruppen haben Metallgitter, die formal als Schichtgitter aufgefaßt werden können. Bekanntlich kann man ein einfach hexagonales Metallgitter mit der Bezeichnung *AAA* --- einfach beschreiben, wobei *A* eine zweidimensionale Schicht von Metallatomen dichtester Kugelpackung ist. Ein Gitter der hexagonalen dichtesten Packung wird dann als *ABABAB* --- beschrieben, und *ABCABCABC* --- stellt ein Gitter der kubisch dichtesten Packung dar. Die Schichten *A*, *B*, *C* sind identisch aber gegeneinander verschoben. Die Metalloidatome sind in vielen Nitriden, Karbiden, Boriden und Siliziden zwischen solche Schichten eingelagert, so z.B. kann  $ZrB_2$  als eine Packung *AHAAH* --- beschrieben werden. *H* bedeutet dabei Netze von Boratomen, die in die größten Zwischenräume zwischen den Metallschichten

Tabelle 8. Ähnlichkeiten im Gitteraufbau einiger Nitride, Karbide, Boride und Silizide.

Der Abstand zwischen den dichtgepackten Metallschichten *A*, *B* oder *C* ist größer als in den Gittern der hexagonal oder kubisch dichtesten Kugelpackung.

Anordnung der Metallschichten ( <i>A</i> , <i>B</i> , <i>C</i> Schichten dichtester Packung)	Beispiele einiger Gitter			
	Nitride	Karbide	Boride	Silizide
---AAAAAAA---	NbN, TaN	$\gamma$ MoC, WC	CrB <sub>2</sub> , TaB <sub>2</sub>	$\beta$ USi <sub>2</sub>
---ABABABA---	(NbN) <sub>2</sub>	Mo <sub>2</sub> C, W <sub>2</sub> C	—	—
---ABCABCACA---	TiN, ZrN	TiC, ZrC	TiB, ZrB	—
---AABBAAB---	(NbN) <sub>4</sub>	$\gamma'$ MoC	Ti <sub>2</sub> B <sub>5</sub> , W <sub>2</sub> B <sub>5</sub>	—
---AABBCCA---	—	—	Mo <sub>2</sub> B <sub>5</sub>	—

aufgenommen worden sind. In der Tabelle 8 sind verschiedene solche Packungen der Metallschichten wiedergegeben, wie sie in verschiedenen Nitriden, Karbiden, Boriden und Siliziden vorkommen. Die Ähnlichkeiten zwischen den verschiedenen Phasen (unabhängig von der Art der Metalloidatome) sind auffällig.

Die von HÄGG schon 1931 vorgebrachte Auffassung von den Nitriden, Karbiden, Boriden (und Hydriden) als Einlagerungsstrukturen bei einem genügend kleinen Radienverhältnis ist heute noch gültig; sie ist für die Erforschung dieser Gruppen von entscheidender Bedeutung gewesen (37), (40). Zwar haben spätere Forschungen gezeigt, daß einige der von HÄGG als einfach aufgefaßte Gitter in Wirklichkeit komplizierter sind, z.B. die Nitride von Niob und Tantal (16), (55), und einige Karbide von Molybdän (43). Aber diese sind den einfachen Gittern nahe verwandt. Für die Boride bestehen Ausnahmen, die von den Bindungen Bor—Bor abhängig sind (63). Die metallischen Eigenschaften bestehen oft auch

dann noch, wenn das Radienverhältnis  $r_x:r_{Me}$  größer als 0,59 ist. Ein kritischer Grenzwert, über welchen ein metallisches Gitter, ohne zusammenzuberechnen, nicht expandiert werden kann, scheint jedoch zu bestehen und spiegelt sich auch in der Löslichkeit der Metalloide in den festen Metallen wider. Für die Boride z.B. scheint eine größere feste Löslichkeit von Bor in den Metallgittern nur dann zu bestehen, wenn das Radienverhältnis  $r_B:r_{Me} \leq 0,59$  ist (63).

## VI. Die Bindung Übergangsmetall—Nichtmetall.

Das Zusammenbrechen der metallischen Gitter und das Verschwinden der metallischen Eigenschaften bei einer zu großen Entfernung der Metallatome voneinander (zu großer Expansion des Gitters), — sei es durch Einlagerung von zu großen Metalloidatomen oder durch zu große Konzentration bei der festen Lösung eines Metalloides in einem Metalle — hat zu einem näheren Studium der Bindungsverhältnisse in den Karbiden, Nitriden und Boriden geführt.

Die Bindungsverhältnisse in metallischen Gittern sind von PAULING in einer Reihe von Arbeiten während der letzten Jahre behandelt worden (83) bis (86). Nach PAULING ist eine metallische Bindung als eine Art von homöopolarer Bindung aufzufassen. Eine einfache homöopolare Bindung wird von einem Elektronenpaar gebildet. So kommt z.B. eine C—C-Bindung dadurch zustande, daß jedes der beiden Kohlenstoffatome mit einem Elektron an der Bindung teilnimmt. Auch eine metallische Bindung wird durch Elektronen von den beiden Metallatomen gebildet, doch kann ein Elektron zwischen mehreren Bindungen oscillieren, und die Elektronenkonzentrationen pro Metallatom in einer Bindung wird daher kleiner als 1. Die Elektronenkonzentration pro Metallatom in einer Bindung wird durch eine Bindungszahl charakterisiert, und einfache Regeln für die Ausrechnung der Bindungszahlen durch Berücksichtigung der interatomaren Abständen sind aufgestellt worden.

Die klassische Valenz eines Atomes ergibt sich ja aus der Zahl der äußeren Elektronen, d.h. derjenigen Elektronen, die an Bindungen teilnehmen können. Nach der PAULINGSchen Auffassung erhält man in derselben Weise die Valenz der Metallatome in metallischen Gittern oder in intermetallischen Phasen durch Addition der verschiedenen Bindungszahlen aller Bindungen, die von einem Atom gebildet werden. Durch Vergleich der Valenzen der verschiedenen Atome in einer intermetallischen Phase mit ihren normalen Valenzen könnte man Schlüsse auf Elektronenverschiebungen in dem Gitter ziehen. Die PAULINGSche Auffassung hat sich für intermetallische Phasen gut bewährt und ist auch mit Erfolg an gewissen metallischen Hydriden verwendet worden. Sie führt aber bei Einlagerungsstrukturen zu Widersprüchen gegen die experimentellen Untersuchungen der Bindungsstärke (63), (45), (50);

und es muß noch als fraglich angesehen werden, ob man die Bindung Metall—Kohlenstoff, -Bor oder -Stickstoff als eine metallische Bindung behandeln kann. Die PAULINGSche Theorie ist aber von großer Bedeutung gewesen auch für die hier behandelte Art von Verbindungen, dadurch, daß sie die entscheidende Bedeutung der Bindungsstärke der einzelnen Bindungen hervorhebt.

Die quantitative Berechnung der Bindungsstärke auf Grund thermodynamischer Daten ist noch nicht möglich, denn die experimentellen

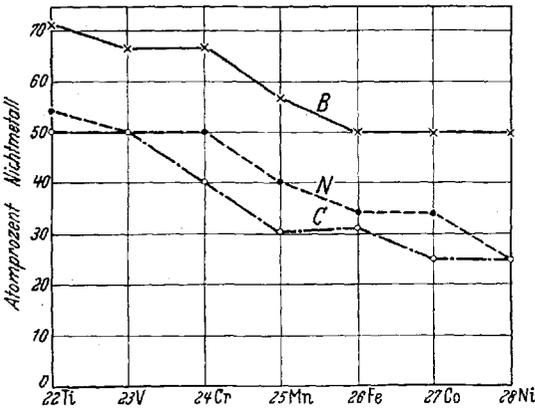


Abb. 2. Nichtmetallgehalt der metalloidgeichsten Phase für die Übergangsmetalle der ersten Periode. Für Kobalt ist die Phase  $Co_3C(50)$  nicht mitgenommen worden, da diese Phase noch wenig erforscht ist und nur bei niedrigen Temperaturen stabil zu sein scheint.

Schwierigkeiten der Bestimmung der nötigen Konstanten sind noch zu groß. In letzter Zeit sind einige Arbeiten erschienen, die einen Vergleich der relativen Bindungsstärken Übergangsmetall — Nichtmetall für verschiedene Metalle und Nichtmetalle geben (41), (42), (34). Schon wenn man in einer Periode den Nichtmetallgehalt der metalloidgeichsten Phasen der verschiedenen Metalle vergleicht, so findet man ein deutliches Abnehmen mit steigender Atomnummer des Metalles und zwar sowohl für die Karbide, wie für die Boride und Nitride (Abb. 2). Dasselbe gilt auch, wenn man die Wärmebeständigkeit der Phasen mit steigender Atomnummer einer Periode betrachtet. Dies ist ein deutliches Zeichen dafür, daß die Stärke der Bindung Metall—Metalloid mit steigender Atomnummer des Übergangsmetalles in einer Periode abnimmt.

Ein anderes Beispiel der abnehmenden Stärke der Bindung Metall—Metalloid mit steigender Atomnummer des Metalles in den verschiedenen Perioden findet man, wenn man die Löslichkeitsverhältnisse der Karbide und Boride betrachtet. Die Karbide und Boride der Gruppe IV des Periodensystems zeigen, wie oben erwähnt, ein großes Lösungsvermögen für die Karbide der Gruppe VI, während die Karbide und Boride der Gruppe VI nur eine sehr beschränkte Löslichkeit für Karbide der Gruppe IV zeigen. Die Metalle mit der geringeren Atomnummer haben also einen größeren Einfluß auf den Gittertypus als die Metalle mit der höheren Atomnummer in einer Periode, was auch auf eine abnehmende Stärke der Bindung Metall—Metalloid hindeutet.

Die systematischen Untersuchungen der relativen Bindungsstärken sind an Dreistoffsystemen vorgenommen worden, und zwar entweder an solchen aus zwei verschiedenen Übergangsmetallen und einem Metalloid, oder an solchen aus einem Übergangsmetall und zwei Metalloiden. Man läßt z. B. zwei verschiedene Metalle um die Kohlenstoffatome konkurrieren und kann durch systematische Untersuchungen die Bindungsstärken der verschiedenen Metalle mit Kohlenstoff vergleichen. HULTGREN und KUO haben z. B. die Verteilung verschiedener Legierungsmetalle zwischen Zementit und Ferrit untersucht (34). Für das Konzentrationsverhältnis (Legierungselement in Zementit):(Legierungselement in Ferrit) sind folgende Werte gefunden worden: 24Cr:28, 25Mn:11,4, 26Fe:0,93, 27Co:0,23, 28Ni: etwa 0,3, 29Cu:0. HÄGG hat darauf hingewiesen (41), daß die Verteilung der Legierungselemente von ihrer Tendenz, Kohlenstoff zu binden, abhängt. Je stärker die Bindung Kohlenstoff—Legierungsmetall ist, um so größer wird der Anteil der Atome des Legierungsmetalles in der kohlenstoffreicheren der beiden Phasen, d. h. im Zementit. Die abfallende Stärke der Bindung Metall—Kohlenstoff geht aus diesen Zahlen deutlich hervor. Die Verteilung der Metalle zwischen einer borreichen und einer borärmeren Phase sind an den Systemen Metall—Metall—Bor studiert worden (42). Durch eine Betrachtung der Verhältnisse in diesen festen Phasen, in Analogie mit Verhältnissen in flüssigen Phasen, sind Verteilungskoeffizienten für die Verteilung der Metalle zwischen den borreichen und borärmeren Phasen aufgestellt worden. Auch hier wird ein Abfall der Bindungsstärke Übergangsmetall—Bor mit steigender Atomnummer der Metalle in einer Periode für die Boride gefunden.

Das Verhältnis der relativen Bindungsstärken in den Gruppen des Periodensystems ist schwerer zu vergleichen, da hier der Unterschied des Metallatomradius bei den Metallen der ersten und zweiten Übergangsperioden einen Einfluß hat; dieser ist schwer zu überblicken. Einige orientierende Versuche an Karbiden deuten aber an, daß die Bindungsstärke Metall—Metalloid mit steigender Atomnummer des Metalles in einer Gruppe abfällt. Die oben genannten Untersuchungen der Verteilung von Legierungselementen zwischen Zementit und Ferrit (34) ergaben für die Gruppe VI Cr:28, Mo:8 und W:2. Die Stärke der Bindung Metall—Kohlenstoff fällt also mit steigender Atomnummer des Übergangsmetalles in dieser Gruppe ab. KUO hat auch gezeigt, daß WC mit Cr im Vakuum erhitzt unter Bildung von Chromkarbid und Wolfram zerfällt (68). Wird aber Chromkarbid mit Wolfram erhitzt, dann findet keine Reaktion statt. Kohlenstoff ist also stärker an Chrom als an Wolfram gebunden. Mit derselben Methode hat auch GLASER gefunden, daß die Bindungsstärke Metall—Bor größer ist als die Bindungsstärke Metall—Kohlenstoff (28).

Obgleich die Untersuchungen der relativen Bindungsstärken, die hier wiedergegeben worden sind, den Anfang für eine quantitative Behandlung der Bindungsverhältnisse bilden, scheint es doch noch nicht möglich zu sein, die Elektronenverteilung zu bestimmen und eine Erklärung für die eigenartigen physikalischen Eigenschaften dieser Gruppen von Verbindungen zu geben. Es ist z. B. noch nicht klar, ob die Metalloidatome unter Elektronenabgabe oder Elektronenaufnahme in das Metallgitter eingelagert werden. Werden die Valenzverhältnisse nach der PAULINGschen Methode ausgerechnet, dann findet man, daß die Elektronenkonzentration des Metallgitters abnimmt, während die eingelagerten Metalloidatome Elektronen aufnehmen. Die Ergebnisse der Strukturbestimmungen an Boriden (63) und die Radienverhältnisse bei der Bildung von den Karbonitriden des Eisens und Kobalts (45), (50) deuten aber an, daß Elektronen von den eingelagerten Metalloidatomen an das Metallgitter abgegeben werden, daß also die Metalloidatome mit positiver Ladung eingelagert sind.

Weitere physikalische Untersuchungen der elektrischen und magnetischen Eigenschaften sind noch nötig, um ein vollständiges Bild dieser Verbindungen zu geben. Schließlich würde auch ein Studium der Neutronendiffraktion von größtem Interesse sein. Mit den Röntgenmethoden sind die Plätze der leichten Metalloidatome im Gitter schwer festzustellen, da die Streuung der Röntgenstrahlen mit steigender Atomnummer der Elemente kräftig zunimmt. In vielen der genannten Phasen sind die Plätze der Metalloidatome daher indirekt, z. B. durch Raumdiskussionen, festgelegt worden. Die Neutronen werden aber nach ganz anderen Gesetzen gestreut, da sie nicht von Elektronen, sondern von den Atomkernen gestreut werden. Dabei wird z. B. der Einfluß von Kohlenstoff, Bor, Stickstoff oder Wasserstoff im Vergleich zu den Metallen viel größer, und die Plätze der Metalloidatome können direkt bestimmt werden. Die Methodik ist im Anschluß an die Arbeiten mit Atomreaktoren entwickelt worden (108) bis (110). Einige Untersuchungen an Hydriden und Thoriumkarbid sind schon veröffentlicht; dabei sind die Plätze der Wasserstoff- und Kohlenstoffatome einwandfrei festgelegt worden (111), (112), (113).

### Literatur.

1. ADELSKÖLD, V., A. SUNDELIN u. A. WESTGREN: Carbide in kohlenstoffhaltigen Legierungen von Wolfram und Molybdän mit Chrom, Mangan, Eisen, Kobalt und Nickel. *Z. anorg. allg. Chem.* **212**, 401 (1933).
2. ALLARD, G.: Etude roentgenographique de quelques borures. *Bull. Soc. chim. France.* **51**, 1213 (1932).
3. ANDERSSON, L.-H., and R. KIESSLING: Investigations on the Binary Systems of Boron with Chromium, Columbium, Nickel, and Thorium, Including a Discussion of the Phase „TiB“ in the Titanium-Boron System. *Acta chem. scand.* **4**, 160 (1950).

4. BECKER, K.: Die Kristallstruktur und der lineare Wärmeausdehnungskoeffizient der Wolframcarbide. *Z. Physik* **51**, 481 (1928).
5. — Die physikalischen Eigenschaften hochschmelzender Verbindungen. *Physik. Z.* **34**, 105 (1933).
6. —, u. F. EBERT: Die Kristallstruktur einiger binärer Carbide und Nitride. *Z. Physik* **31**, 268 (1925).
7. BEIDLER, E. A., C. F. POWELL and I. E. CAMPBELL: The Formation of Molybdenum Disilicide Coatings on Molybdenum. *J. electrochem. Soc.* **98**, 21 (1951).
8. BENESOVSKY, F., u. R. KIEFFER: Neuere Forschungsergebnisse auf dem Gebiete der hochschmelzenden, metallischen Hartstoffe. *Metall* **6**, 171 (1952).
9. BERTAUT, F., et P. BLUM: Existence et structure d'une nouvelle phase dans le système Mo-B. *Acta crystallogr. (London)* **4**, 72 (1951).
10. BINDER, I., D. MOSKOWITZ and R. STEINITZ: System Molybdenum-Boron and Some Properties of the Molybdenum-Borides. *J. Metals* **4**, 983 (1952).
11. BJURSTRÖM, T.: Röntgenanalyse der Systeme Eisen—Bor, Kobalt—Bor und Nickel—Bor. *Arkiv för Kemi. Min. Geol.* **11A**, Nr. 5 (1933).
12. BLIX, R.: Röntgenanalyse des Chrom-Stickstoffsystems nebst einer orientierenden Konstitutionsuntersuchung des stickstoffhaltigen Ferrochroms. *Z. physik. Chem. B* **3**, 229 (1929).
13. BLUMENTHAL, H.: Vanadium Monoboride. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2942 (1952).
14. BORÉN, B.: Röntgenuntersuchungen der Legierungen von Silizium mit Chrom, Mangan, Kobalt und Nickel. *Arkiv Kemi. Min. Geol. A* **11**, Nr. 10 (1933).
15. BRAUER, G.: Zur Frage der niederen Oxyde von Niob und über ein Niob-Subnitrid. *Z. Elektrochem.* **46**, 397 (1940).
16. —, u. J. JANDER: Die Nitride des Niobs. *Z. anorg. allg. Chem.* **270**, 160 (1952).
17. —, u. H. HAAG: Über Darstellung und Kristallstruktur der Disilicide von einigen Metallen der Seltenen Erden. *Z. anorg. allg. Chem.* **267**, 198 (1952).
18. BREWER, L., A. W. SEARCY, D. TEMPLETON and C. H. DAUBEN: High-Melting Silicides. *J. Amer. ceram. Soc.* **33**, 291 (1950).
19. — D. L. SAWYER, D. H. TEMPLETON and C. H. DAUBEN: A study of the refractory Borides. *J. Amer. ceram. Soc.* **34**, 173 (1951).
20. BUDDERY, J. H., and A. J. E. WELCH: Borides and Silicides of the Platinum Metals. *Nature* **167**, 362 (1951).
21. BURGERS, W. G., u. J. C. M. BASART: Über die Bildung hochschmelzender Metallcarbide beim Glühen eines Kohlenfadens im Dampf einer flüchtigen Halogenverbindung des Metalles. *Z. anorg. allg. Chem.* **216**, 209 (1934).
22. EASTMAN, E. D., L. BREWER, L. A. BROMLEY, P. W. GILLES and N. L. LOFGREN: Preparation and Properties of Refractory Cerium Sulfides. *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 2248 (1950).
23. EHRLICH, P.: Über die binären Systeme des Titans mit den Elementen Stickstoff, Kohlenstoff, Bor und Beryllium. *Z. anorg. allg. Chem.* **259**, 1 (1949).
24. ENDTER, F.: Die Kristallstruktur des Gadoliniumnitrids. *Z. anorg. allg. Chem.* **257**, 127 (1947).
25. ERIKSSON, S.: Röntgenundersökningar över systemet järn-krom-kväve. *Jernkontorets Ann.* **118**, 530 (1934).
26. FITZER, E.: Höchsttemperaturbeständige Werkstoffe durch Silizieren von Wolfram und Molybdän. 1. Plansee-Seminar „De re metallica“, Reutte, 22.—26. Juni 1952.
27. FRIEDRICH, E., u. L. SITTIG: Herstellung und Eigenschaften von Nitriden. *Z. anorg. allg. Chem.* **143**, 293 (1925).
28. GLASER, F. W.: Contribution to the Metal-Carbon-Boron Systems. *J. Metals* **4**, 391 (1952).

29. GODFREY, T. N., and B. E. WARREN: The Coördinate Scheme in Crystalline Boron. *J. chem. Phys.* **18**, 1121 (1950).
30. GOLDSCHMIDT, H. J.: The Structure of Carbides in Alloy Steels. *J. Iron Steel Inst.* **160**, 345 (1948).
31. HAHN, H.: Über das System Vanadium-Stickstoff. *Z. anorg. allg. Chem.* **258**, 58 (1949).
32. —, u. H. MÜHLBERG: Das System Eisen-Nickel-Stickstoff. *Z. anorg. allg. Chem.* **259**, 121 (1949).
33. HELLBOM, K., u. A. WESTGREN: Den rombiska kromkarbidens kristallbyggnad. *Svensk kem. Tidskr.* **45**, 141 (1933).
34. HULTGREN, A., u. K. KUO: Isoterm omvandling av austenit. *Jernkontorets Ann.* **135**, 449 (1951).
35. HÄGG, G.: X-ray Studies on the Binary Systems of Iron with Nitrogen, Phosphorus, Arsenic, Antimony and Bismuth. *Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis IV/7*, Nr. 1 (1929).
36. — Röntgenuntersuchungen über die Nitride des Mangans. *Z. physik. Chem. B* **4**, 346 (1929).
37. — Eigenschaften der Phasen von Übergangselementen in binären Systemen mit Bor, Kohlenstoff und Stickstoff. *Z. physik. Chem. B* **6**, 221 (1929).
38. — Röntgenuntersuchungen über Molybdän- und Wolframnitride. *Z. physik. Chem.* **7**, 339 (1930).
39. — Kristallbau der Verbindung  $\text{Fe}_2\text{B}$ . *Z. physik. Chem. B* **11**, 152 (1930); **12**, 413 (1931).
40. — Gesetzmäßigkeiten im Kristallbau bei Hydriden, Boriden, Carbiden und Nitriden der Übergangselemente. *Z. physik. Chem. B* **12**, 33 (1931).
41. — Diskussionsbeitrag. *Jernkontorets Ann.* **135**, 492 (1951).
42. —, and R. KIESSLING: Distribution Equilibria in Some Ternary Systems  $\text{Me}_1\text{—Me}_2\text{—B}$  and the Relative Strength of the Transitionmetal-Boron Bond. *J. Inst. Metals* **81**, 57 (1952).
43. —, and K. KUO: A New Molybdenum Carbide. *Nature* **170**, 245 (1952).
44. JACK, K. H.: Binary and Ternary Interstitial Alloys. I. The Iron Nitrogen System: The Structures of  $\text{Fe}_4\text{N}$  and  $\text{Fe}_2\text{N}$ . *Proc. Roy. Soc. (London) A* **195**, 34 (1948).
45. — Binary and Ternary Interstitial Alloys. II. The Iron-Carbon-Nitrogen System. *Proc. Roy. Soc. (London) A* **195**, 41 (1948).
46. — Binary and Ternary Interstitial Alloys. III. The Iron-Carbon System: The Characterization of a New Iron Carbide. *Proc. Roy. Soc. (London) A* **195**, 56 (1948).
47. — Results of Further X-Ray Structural Investigations of the Iron-Carbon and Iron-Nitrogen Systems and of Related Interstitial Alloys. *Acta crystallogr. (London)* **3**, 392 (1950).
48. — The Iron-Nitrogen System: The Preparation and the Crystal Structures of Nitrogen-Austenite ( $\gamma$ ) and Nitrogen-Martensite ( $\alpha'$ ). *Proc. Roy. Soc. (London) A* **208**, 200 (1951).
49. — The Occurrence and the Crystal Structure of  $\alpha''$ -Iron Nitride; a New Type of Interstitial Alloy formed during the Tempering of Nitrogen-Martensite. *Proc. Roy. Soc. (London) A* **208**, 216 (1951).
50. — The Preparation and the Crystal Structures of Cobalt Nitride,  $\text{Co}_2\text{N}$ , of Cobalt Carbonitrides,  $\text{Co}_2(\text{C}, \text{N})$ , and of Cobalt Carbide,  $\text{Co}_3\text{C}$ . *Chem. week* **68**, 1004 (1951).
51. — The Iron-Nitrogen System: The Crystal Structures of  $\epsilon$ -Phase Iron Nitrides. *Acta crystallogr. (London)* **5**, 404 (1952).

52. JUZA, R., u. W. SACHSZE: Zur Kenntnis des Systems Nickel/Stickstoff. *Z. anorg. allg. Chem.* **251**, 204 (1943).
53. — — Über das System Kobalt/Stickstoff. *Z. anorg. allg. Chem.* **253**, 95 (1947).
54. KARLSSON, N.: Metallic Oxides with the Structure of High-speed Steel Carbide. *Nature* **168**, 558 (1951).
55. — An X-ray investigation of the Ta—N system. Some features of the Nb—N—O system. *Acta chem. scand.* **8**, 199 (1954).
56. KIEFFER, R., u. F. BENESOVSKY: Neuere Forschungsergebnisse auf dem Gebiete der hochschmelzenden, metallischen Hartstoffe. *Metall* **6**, 171, 243 (1952).
57. —, u. E. CERWENKA: Beitrag zum System Molybdän-Silizium. *Metallkde.* **43**, 101 (1952).
58. KIESSLING, R.: The Crystal Structures of Molybdenum and Tungsten Borides. *Acta chem. scand.* **1**, 893 (1947).
59. — The Binary System Zirconium-Boron. *Acta chem. scand.* **3**, 90 (1949).
60. — The Binary System Chromium-Boron. I. Phase Analysis and Structure of the  $\delta$ - and  $\Theta$ -phases. *Acta chem. scand.* **3**, 595 (1949).
61. — The Borides of Tantalum. *Acta chem. scand.* **3**, 603 (1949).
62. — The Borides of Manganese. *Acta chem. scand.* **4**, 146 (1950).
63. — The Borides of Some Transition Elements. *Acta chem. scand.* **4**, 209 (1950).
64. —, and L. PETERSON: The Nitrides and Oxide-Nitrides of Tungsten. *Acta Met.* (in press).
65. KOHLHAAS, R., u. W. F. MEYER: Bildung, Stabilität und Struktur des Nickelkarbides. *Metallwirtsch.* **17**, 786 (1938).
66. KOVALSKI, A. E., and Y. S. UMANSKI: X-Ray Investigation of Pseudo-Binary Systems. I. TaC—TiC; CbC—TiC; TaC—ZrC; CbC—ZrC. *J. phys. Chem. (USSR.)* **20**, 769 (1946).
67. — — Interaction of the Monocarbides of Tungsten, Tantalum and Columbium. *J. phys. Chem. (USSR.)* **20**, 773 (1946).
68. KUO, K.: The Formation of  $\eta$  Carbides. *Acta Met.* **1**, 301 (1953).
69. — Constitution of the ternary system Iron-Manganese-Carbon. (in press.)
70. LAVES, F.: Zur Kristallstruktur der Boride vom Typus  $MeB_3$ . *Z. physik. Chem. B* **22**, 114 (1933).
71. —, u. H. J. WALLBAUM: Die Kristallstruktur von  $Ni_3Ti$  und  $Si_2Ti$ . *Z. Kristallogr. A* **101**, 78 (1939).
72. LIPSON, H., and N. J. PETCH: The Crystals Structure of Cementite,  $Fe_3C$ . *J. Iron Steel Inst.* **142**, 95 (1940).
73. LUNDIN, C. E., D. J. MCPHERSON, and M. HANSEN: The System Zirconium-Silicon. *Trans. Amer. Soc. Metals*, Preprint No. 41 (1952).
74. MCKENNA, P. M.: Tantalum Carbide and its Relation to Other Hard Refractory Compounds. *Ind. Engng. Chem., Ind. Ed.* **28**, 767 (1936).
75. METCALFE, A. G.: The Mutual Solid Solubility of Tungsten Carbide and Titanium Carbide. *J. Inst. Metals* **73**, 591 (1947).
76. MEYER, W. F.: Zur Kenntnis des Systems Kobalt-Kohlenstoff. *Metallwirtsch.* **17**, 413 (1938).
77. NARAY-SZABO, ST.: Die Struktur des Zirconiumsilizides  $ZrSi_2$ . *Z. Kristallogr. A* **97**, 223 (1937).
78. NIELSEN, J. P.: First Progress Report on Titanium-Carbon and Titanium-Nitrogen Phase Diagrams, Office of Naval Research, Titanium, Washington, 153 (1949).
79. NORTON, J. T., and A. L. MOWRY: Solubility Relations in Some of the Ternary Systems of Refractory Monocarbides. *J. Metals* **3**, 923 (1951).

80. NOWOTNY, H., and R. KIEFFER: X-Ray Investigation of Carbide Systems. *Metallforsch.* **2**, 257 (1947).
81. —, u. R. KIEFFER: Eine Bemerkung zur Existenz des kubischen Molybdän-carbides. *Z. anorg. allg. Chem.* **267**, 261 (1952).
82. OSAWA, A., and M. OYA: An Investigation of the Vanadium-Carbon System. *Science Reports of the Tôhoku Imperial University.* **19**, 95 (1930).
83. PAULING, L.: The Nature of the Interatomic Forces in Metals. *Physic. Rev.* **54**, 899 (1938).
84. — Atomic Radii and Interatomic Distances in Metals. *J. Amer. chem. Soc.* **69**, 542 (1947).
85. — A Resonating-Valence-Bond Theory of Metals and Intermetallic Compounds. *Proc. Roy. Soc. [London] A* **196**, 343 (1949).
86. — Electron transfer in intermetallic compounds. *Proc. nat. Acad. Sci.* **36**, 533 (1950).
87. PHRAGMÉN, G.: The Constitution of the Iron-Silicon Alloys. *J. Iron Steel Inst.* **114**, 397 (1926).
88. PIETROWSKY, P., and P. DUWEZ: Crystal Structure of  $Ti_5Si_3$ ,  $Ti_5Ge_3$  and  $Ti_3Sn_3$ . *J. Metals* **3**, 772 (1951).
89. POST, B., and F. W. GLASER: Crystal Structure of  $ZrB_{12}$ . *J. Metals* **4**, 631 (1952.)
90. — — Borides of Some Transition Metals. *J. chem. Physics* **20**, 1050 (1952).
91. RAUTALA, P., and J. T. NORTON: Tungsten-Cobalt-Carbon System. *J. Metals* **4**, 1045 (1952).
92. SEYFARTH, H.: Die Struktur des Zirkoniumsilicides ( $ZrSi_2$ ). *Z. Kristallogr.* **67**, 295 (1928).
93. STACKELBERG, U. v., u. F. NEUMANN: Die Kristallstruktur der Boride der Zusammensetzung  $MeB_3$ . *Z. physik. Chem. B* **19**, 314 (1932).
94. TEMPLETON, D. H., and C. H. DAUBEN: The Crystal Structure of  $Mo_3Si$ . *Acta crystallogr.* (London) **3**, 261 (1950).
95. TOMAN, K.: The Structure of  $NiSi$ . *Acta crystallogr.* (London) **4**, 462 (1951).
96. — The Structure of  $Ni_2Si$ . *Acta crystallogr.* (London) **5**, 329 (1952).
97. WALLBAUM, H. J.: Über das Vanadinsilicid  $V_3Si$ . *Z. Metallkde.* **31**, 362 (1939).
98. — Disilicide des Niobs, Tantals, Vanadiums und Rheniums. *Z. Metallkde.* **33**, 378 (1941).
99. WESTGREN, A.: Den kubiska kromkarbidens kristallbyggnad och sammansättning. *Jernkontorets Ann.* **117**, 501 (1933).
100. — De trigonala krom- och mangankarbidernas kristallbyggnad och sammansättning. *Jernkontorets Ann.* **119**, 231 (1935).
101. —, and G. PHRAGMÉN: X-Ray Studies on the Crystal Structure of Steel. *J. Iron Steel Inst.* **105**, 241 (1922).
102. — — Röntgenanalyse der Systeme Wolfram-Kohlenstoff und Molybdän-Kohlenstoff. *Z. anorg. allg. Chem.* **156**, 27 (1926).
103. YAP, CH. PH.: A Critical Study of Some Iron-Rich Iron-Silicon Alloys. *J. physic. Chem.* **37**, 951 (1933).
104. ZACHARIASEN, W.: Über die Kristallstruktur von  $MoSi_2$  und  $WSi_2$ . *Z. physik. Chem.* **128**, 39 (1927).
105. — Crystal Chemical Studies of the *5f*-Series of Elements. VIII. Crystal Structure Studies of Uranium Silicides and of  $CeSi_2$ ,  $NpSi_2$  and  $PuSi_2$ . *Acta crystallogr.* (London) **2**, 94 (1949).
106. ZALKIN, A., and D. H. TEMPLETON: The Crystal Structures of  $CeB_4$ ,  $ThB_4$ , and  $UB_4$ . *J. chem. Physics* **18**, 391 (1950). — *Acta crystallogr.* [London] **6**, 269 (1953).
107. ÖHMAN, E.: Karbiderna i systemet järn-mangan-kol. *Jernkontorets Ann.* **128**, 13 (1944).

*Nachtrag 1.*

108. WOLLAN, E. O., and C. G. SHULL: The Diffraction of Neutrons by Crystalline Powders. *Physic. Rev.* **73**, 830 (1948).
109. SHULL, C. G., and E. O. WOLLAN: Coherent Scattering Amplitudes as Determined by Neutron Diffraction. *Physic. Rev.* **81**, 527 (1951).
110. BACON, G. E., and R. D. LOWDE: Secondary Extinction and Neutron Crystallography. *Acta crystallogr. (London)* **1**, 303 (1948).
111. RUNDLE, R. E., C. G. SHULL, and E. O. WOLLAN: The Crystal Structure of Thorium and Zirconium Dihydrides by X-Ray and Neutron Diffraction. *Acta crystallogr. (London)* **5**, 22 (1952).
112. RUNDLE, R. E.: The Hydrogen Positions in Uranium Hydride by Neutron Diffraction. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 4172 (1951).
113. HUNT, E. B., and R. E. RUNDLE: The Structure of Thorium Dicarbide by X-Ray and Neutron Diffraction. *J. Amer. Chem. Soc.* **73**, 4777 (1951).

*Nachtrag 2.*

114. BERTAUT, F., et P. BLUM: Étude des borures de chrome. *C. R. hebd. Séances Acad. Sci.* **236**, 1055 (1953).
115. BLUM, P.: La structure du borure de nickel NiB. *J. Physique Radium* **13**, 430 (1952).
116. GILLES, P. W., and B. D. POLLOCK: The Molybdenum-Boron System. *J. Metals* **5**, 1537 (1953).
117. GLASER, F. W., and W. IVANICK: The pseudo-binary system  $ZrB_2-TiB_2$ . *Powder Met. Bull.* **6**, 126 (1953).
118. —, D. MOSKOWITZ and B. POST: A study of some binary hafnium compounds. *J. Metals* **5**, 1119 (1953).
119. —, and B. POST: System Zirconium-Boron. *J. Metals* **5**, 117 (1953).
120. KIEFFER, R., F. BENESOVSKY u. E. GALLISTL: Beitrag zum System Wolfram—Silizium und über die Zunderbeständigkeit einiger Silizide. *Metallkde.* **43**, 284 (1952).
121. — — H. NOWOTNY u. H. SCHACHNER: Beitrag zum System Tantal—Silizium. *Metallkde.* **44**, 242 (1953).
122. MEYER, G., and F. E. C. SCHEFFER: The properties of nickel carbide. *J. Amer. Chem. Soc.* **75**, 486 (1953).
123. McMULLIN, J., and J. T. NORTON: The ternary system Ti—Ta—C. *J. Metals* **5**, 1205 (1953).
124. NOWOTNY, H., R. KIEFFER u. H. SCHACHNER: Strukturuntersuchungen an Disiliziden: *Mh. Chem.* **83**, 1243 (1952).
125. — H. SCHACHNER, R. KIEFFER u. F. BENESOVSKY: Röntgenographische Untersuchungen im System Tantal—Silizium. *Mh. Chem.* **84**, 1 (1953).
126. SCHÜTER, W.: Über das System Eisen—Nickel—Stickstoff. *Stahl u. Eisen* **72**, 197 (1952).
127. SEARCY, A. W., and R. A. McNEES: The silicides of rhenium. *J. Amer. Chem. Soc.* **75**, 1578 (1953).
128. STEINITZ, R., and I. BINDER: New ternary boride compounds. *Powder Met. Bull.* **6**, 123 (1953).

(Abgeschlossen im Februar 1953.)

Dozent Dr. ROLAND KIESSLING, Aktiebolaget Atomenergie,  
hövholm svägen 5, Stockholm 5/Schweden.

## Studies on native lignins and lignification\*.

By

GEORGE DE STEVENS and F. F. NORD\*\*.

With 7 Figures.

Contents.	Page
I. Introduction . . . . .	70
II. Enzymatic Degradation of Cellulose . . . . .	71
III. The Lignin Problem . . . . .	75
IV. Isolation of Lignin . . . . .	76
1. Chemical Methods . . . . .	76
2. Native and Enzymatically Liberated Lignins . . . . .	77
V. Chemical Reactivity of Native and Enzymatic Lignins . . . . .	80
VI. Discussion of Analytical Data of Native and Enzymatically Liberated Lignins . . . . .	86
1. Ultraviolet Absorption Spectra . . . . .	86
2. Infrared Absorption Spectra . . . . .	91
3. Electrophoresis . . . . .	93
VII. On the Nature of the Linkage between Lignin and Carbohydrates in Wood . . . . .	97
1. Chemical Combination . . . . .	98
2. Physical Association . . . . .	98
VIII. Enzymatic Degradation of Native Lignin . . . . .	99
IX. Lignification . . . . .	100
References . . . . .	102

### I. Introduction.

The remarkable processes of *life* and *decay* are based on the ability of enzyme systems to function in a dual rôle in the dynamic metabolism associated with living systems. On the one hand, the enzymes present in organisms promote the synthesis of complex organic compounds from low molecular weight intermediates, and, on the other hand and simultaneously, other enzymes present therein facilitate the degradation of such compounds. Thus, in the study of the source and ultimate fate of a natural substance in living cells, the investigation of both the pathway of its synthesis and its breakdown are of equal importance.

The two most important chemical constituents of wood are cellulose and lignin. Through the efforts of many investigators over the past

\* Extension of an address given at the Lignin Symposium held during the XIIth International Congress of Pure and Applied Chemistry, Stockholm, July 1953.

\*\* Department of Organic Chemistry and Enzymology: Communication No. 281. The experimental work in Fordham was carried out under the auspices of the Office of Naval Research, the Atomic Energy Commission and the National Science Foundation.

thirty years the chemical structure and spatial configuration of cellulose has been quite completely elucidated (48), (96). Although over a hundred years have elapsed since the discovery of lignin in plant materials and a tremendous amount of work has been carried out on it, lignin chemists are still far from understanding its structure.

Thus, when lignin studies were begun in this laboratory, it was felt that an investigation of the fate of cellulose in wood might give rise to information concerning the source and mode of formation of the lignin present herein. Other problems to be resolved in this work were the nature of the linkage involved between the carbohydrate portion of the wood and lignin, the homogeneity of the total lignin present in the wood and finally chemical studies on the structural aspects of this enigmatic substance. The work of NORD and co-workers in the past eight years has answered some of these questions and has stimulated fundamental research with regard to the solution of the others.

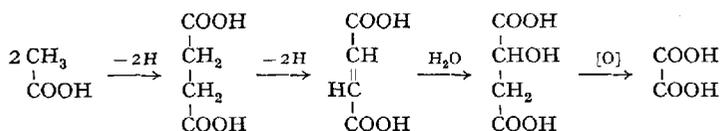
## II. Enzymatic Degradation of Cellulose.

Although the decay of wood and its prevention are matters of great economic importance, relatively little was known, until recently, about the mechanism of this decay caused by the activity of microorganisms. Perhaps the main reason for the lack of knowledge concerning the mechanism of this process has been the inability to isolate intermediate breakdown products, which would assist in indicating the phase sequence of the degradation process and further, since part of the cellulose is invariably destroyed during decay, would contribute towards determining the fate of the decayed cellulose, when wood is attacked by fungi. Thus, an attempt to elucidate the mechanism of the enzymatic degradation of cellulose in wood was undertaken in this laboratory (77).

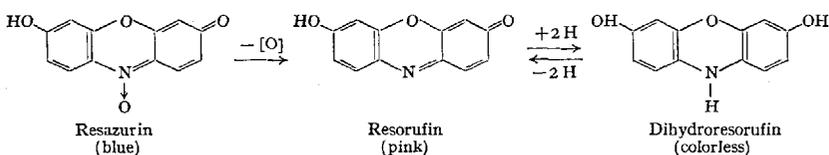
The microorganisms used in this study were wood-destroying molds of the "brown rot" type. These assimilated mainly the carbohydrate portion of the wood, while "white rot" fungi utilize lignin as a substrate (25). On first consideration, the obvious line of attack would be to inoculate finely divided wood with the "brown rot" molds and then after a definite period of decay, to isolate and identify the intermediate degradation products. However, such an approach is beset with difficulties. First of all, the decay of wood by microorganisms is a very slow process, and secondly, no definite knowledge would be obtained concerning the true source of the degradation products, since besides cellulose and lignin wood also contains several other constituents, although these are present in much smaller amounts. Consequently, it was decided to study the action of the "brown rot" molds on cellulose itself and several simple sugars. Moreover, if one assumes that cellulose

is enzymatically hydrolyzed to cellobiose and glucose (82), (95), then the study of the degradation of the simple sugars might afford a means of deducing a phase sequence for the degradation of the cellulose portion of the wood.

With this approach in mind, studies were made on the dissimilation of cellulose, its hydrolytic product, glucose, and several other simple sugars. Thus, it was found that the organisms *Merulius niveus*, *Merulius tremellosus*, *Merulius confluens* and *Fomes annosus* produced ethyl alcohol, acetaldehyde, acetic acid and succinic acid as metabolic products, when grown on glucose as a substrate. On the other hand, *Merulius lacrymans*, *Poria vaillantii*, *Coniophora cerebella* and *Marasmius chordalis* gave rise to oxalic acid as a terminal metabolite (78), (103), (117). Since ethyl alcohol could give rise to acetic acid, which in turn, through a THUNBERG dehydrogenation, leads to succinic acid, it is possible for oxalic acid to arise as follows:



The formation of sodium oxalate, when sodium acetate served as the sole carbon source, gave valid support to this mechanism. The presence and action of the dehydrogenating enzyme system was evidenced by incorporating into the medium the dye, Resazurin (118). In the course of dehydrogenation this interagent was discolored. It behaves as follows:



This indicator possesses the advantage that it may be used under aerobic conditions, in contrast to dyes such as methylene blue (115). Resazurin has also been applied in the study of the dehydrogenation of isopropanol and sorbitol (103), (118).

The possibility that the discoloration of the interagent could also be due to a second and different mechanism was also considered. That is, a dehydrogenation of acetic acid could also give rise to glycolic acid. The course of such a change could be illustrated as follows:

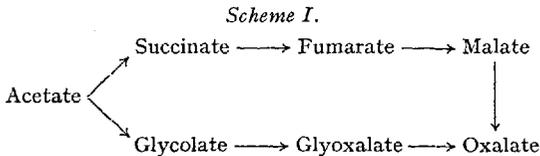


In order to determine which one of the two mechanisms suggested was giving rise to oxalic acid, or whether both pathways were concurrently in operation, the method employed was to observe the formation or non-formation of oxalic acid, when the organisms were grown on media containing salts of the acids to be investigated as the sole carbon source. The following groups of acids were employed:

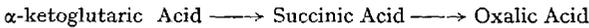
- (a) Two carbon acids: Acetic and glycolic acids.
- (b) Four carbon acids: Succinic, fumaric and malic acids.

The wood-destroying molds used in this investigation were *Merulius niveus*, *Merulius tremellosus*, *Merulius confluens* and *Fomes annosus*. With the exception of *Merulius confluens*, oxalic acid was produced and isolated as a salt through the action of these molds (78). Oxalic acid was also formed, when the metabolism of succinic acid was inhibited. Moreover, glyoxylic acid was isolated from metabolizing cultures of *Merulius lacrymans* (103).

These results, therefore, attest to the production of oxalic acid from acetic acid via the two pathways indicated and also lend support to the suggested intermediary stages involved in the genesis of the terminal acid. The mechanism of acetate  $\rightarrow$  oxalate formation, consequently, was shown to proceed along the following two pathways:



It has also been shown (22) that  $\alpha$ -ketoglutaric acid gives rise to oxalate, viz:



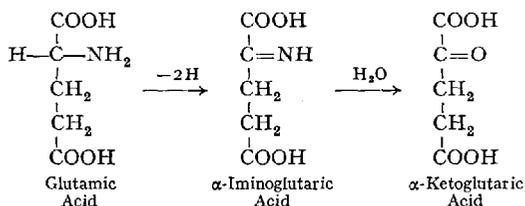
The relationship of the dicarboxylic amino acids, aspartic and glutamic acids to this process has also been studied (106). This investigation has been facilitated by a quantitative method for the codetermination (23) of the dehydrogenation indicator, resazurin, and its reduction product, resorufin. The wood destroying molds used were *Trametes cinnabarina* and *Lentinus lepideus*.

It was observed that glutamate and aspartate are diverted predominantly to the synthesis of cell substance rather than to the formation of oxalate. It is not inconsistent to see  $\alpha$ -ketoglutarate being formed from glutamate, while no oxaloacetic acid can be detected in the medium containing aspartate, as the oxaloacetic acid is known to be extremely unstable (2), (62), (114). The relatively low yields of oxalic acid, derived

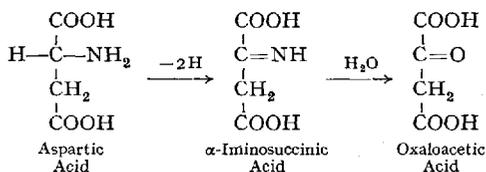
from glutamic and aspartic acids respectively, are probably due to the fact that the substrate must also serve for the synthesis of cell material and, in addition, are utilized in the metabolic activities of the molds.

The metabolism studies with cyanide present showed no dehydrogenation whatsoever of the substrate. It is thus considered likely that the resazurin and the resorufin interact with some metal bearing system, possibly the cytochromes participating in the hydrogen transfer. Although the resazurin (or resorufin) may interact in a system several steps removed from the dehydrogenation of the particular substrates, the relative rates of reduction of the indicator are still comparable with the relative oxidation rates of the substrates.

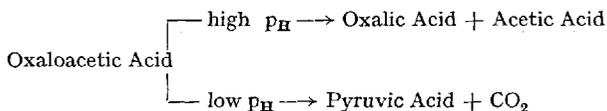
It was also observed that glutamate appears to be dehydrogenated more rapidly than succinate. If the first dehydrogenation step in the dissimilation of glutamate were the succinate-fumarate conversion, then the dehydrogenation of glutamate could not be more rapid than that of succinate. Thus, glutamate is directly dehydrogenated and appears to be converted as follows:



Aspartic acid appears to be dehydrogenated in the same manner:



The formation of oxaloacetic acid by dehydrogenation implies that this acid may be dissimilated by two mechanisms. It is known (62), (114) that oxaloacetic acid is subject to decarboxylation under acid conditions, and that higher  $p_{\text{H}}$  is favorable to its stability. Thus, alkaline media enable the acid to remain unchanged long enough to be split, yielding acetate and oxalate, while acidic media cause decarboxylation.

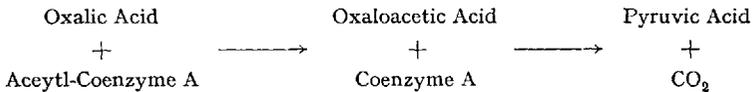


This offers an explanation for the frequently noticed effect of alkalinity in the accumulation of oxalate.

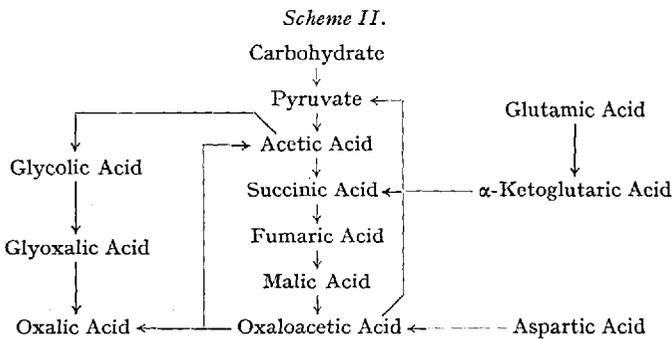
Another observation on oxalate formation is that other  $\alpha$ -keto acids, such as oxalosuccinic acid (74) and  $\alpha$ -ketoglutaric acid (106) do not seem to yield oxalate directly but indirectly (123). This appears to be due to the fact that only oxaloacetic acid can function as an acetate donor. In this connection the intervention of Coenzyme A may be considered, since it is reported to function in the acetylation of sulfanilamide and choline (73) and recently was shown to take part in the enzymatic synthesis of citric acid. This concept may be illustrated as follows:



Moreover, an explanation can now be offered for the disappearance of oxalic acid from culture media. This involves a reversal of the above reaction, followed by decarboxylation of oxaloacetate.



These considerations allow for a cyclic mechanism to occur in the formation of oxalic acid, where oxaloacetic acid yields either oxalate and acetate, which may be reoxidized, or pyruvate, which will then in turn yield acetate. This is illustrated in the following phase sequence of oxalate formation by these organisms:



### III. The Lignin Problem.

Since PAYEN'S first series of papers in 1838 (84), (85), (86) on the "matière incrustante," i.e., lignin, innumerable workers dwelled upon and literally thousands of papers have been published with regard to

the chemical nature of this natural product. Moreover, the millions of tons of waste of probably valuable raw materials occurring annually in the pulp industries has played no small part in stimulating fundamental research on the chemistry of lignin in the second quarter of this century. Through this intensified research new organic compounds have been isolated on degradation of the lignin, and some derivatives of these compounds have proved useful in the field of pharmaceuticals (87). Thus, one need not be too optimistic in foreseeing, at some future date, that the by-product of the pulping process, the sulfite waste liquor, may serve as a tremendous source for a wide variety of organic chemicals.

Many definitions have been proposed for lignin, but the one, which seems to describe it most satisfactorily is:

"Lignin may be defined as the incrusting material of the plant which is built up mainly, if not entirely, of phenylpropane building stones; it carries the major part of the methoxyl content of the wood; it is unhydrolyzable by acids; readily oxidizable, soluble in hot alkali and bisulfite, and readily condenses with phenols and thio compounds" (14).

This rather general definition conveys some idea of the properties of this elusive substance.

## IV. Isolation of Lignin.

### I. Chemical Methods.

Much of the difficulty involved in studying the chemistry of lignin can be attributed to the fact that for almost a century no method was known of isolating the lignin from wood in an unaltered form. PETER KLASON, "the father of lignin chemistry," used 72% sulfuric acid for the isolation of lignin (61). This method is still used as the standard method for the determination of the percentage of lignin present in woody tissues (101). Lignin isolated in this manner is usually known as "KLASON" lignin. KALB and LIESER (57) were able to isolate lignin from wood by means of fuming hydrochloric acid. Ten percent alkali (94) as well as cuprammonium hydroxide (26) have also been used. However, these methods give a lignin preparation, which is no longer identical with lignin as it exists in nature. Either the strong chemical reagent, or the elevated temperatures employed in the reaction played some part in altering the original substance.

However, in 1939 this difficulty was obviated by BRAUNS' extraction of about 3% lignin from spruce wood by means of the solvent, ethyl alcohol, at room temperature (9). He termed this preparation native lignin. It was found to be soluble in methanol, ethanol, dioxane, dilute sodium hydroxide and pyridine, and insoluble in water, ether, petroleum ether and benzene. Chemically it behaved the same as lignin as it exists in woody tissues. It also reduced FEHLING'S solution and gave a strong

reddish, purple color reaction with phloroglucinol and hydrochloric acid. On treatment with 72% sulfuric acid, 92% of the material with a similar chemical composition was recovered. This established the absence of carbohydrates and other extraneous materials. In Table 1 are recorded the chemical compositions of the spruce native lignin and spruce lignins isolated by chemical means.

Table 1. *Chemical Composition of Spruce Native Lignin and Spruce Chemical Lignins.*

Spruce lignin	C%	H%	OCH <sub>3</sub> %	Ref.
Native lignin . . . . .	63.8	6.2	14.8	(9)
42% Hydrochloric acid	62.4	6.4	14.6	(49)
72% Sulfuric acid . . . .	63.9	5.3	14.5	(60)
Cuoxam <sup>1</sup> . . . . .	63.6	5.7	16.0	(26)

Prior to BRAUNS' investigations BARTON-WRIGHT and BOSWELL (5) extracted with ethyl alcohol from Norwegian spruce wood, which had been decayed by wood-destroying fungi of the "brown rot" type, a lignin preparation which had properties very similar to those of spruce native lignin. Thus, these two investigations along with previous studies done in the Fordham laboratories concerning the mechanism of cellulose and carbohydrate degradation by "brown rot" molds suggested the possibility of the utilization of cellulolytic enzyme systems as a convenient method for obtaining additional amounts of unaltered lignin from wood.

Consequently, and in order to have a material which could be compared with spruce native lignin, sound samples of the soft-wood, white Scots pine, were infected with the "brown rot"

*Lentinus lepideus*, and the chemical effects of decay of the wood by the mold were progressively followed by periodic analyses of the resulting wood residues. The results of this decay are presented in Table 2.

Table 2. *The Effect of Decay by Lentinus lepideus on the Chemical Composition of White Scots Pine (98).*

Period of Decay (mo.)	Cellulose %	Lignin %
0	61.7	26.8
4	49.5	31.8
5	46.1	37.4
6	46.0	40.0
7	39.9	44.9

## 2. Native and Enzymatically Liberated Lignins.

As stated previously, only about 3% of the lignin content of sound wood was isolated by alcoholic extraction. It was therefore of interest to determine, whether increased amounts of lignin could be extracted from the decayed wood. Thus, both sound and decayed white Scots

<sup>1</sup> Cuprammonium hydroxide.

pine wood were thoroughly extracted with ethyl alcohol at room temperature (98). A comparison of their respective yields is recorded in Table 3.

Table 3. *Yields of Lignin Isolated from Sound and Decayed White Scots Pine (98).*

White Scots Pine	Alcohol extractable lignin %
Sound wood . . .	3.2
Decayed wood . . .	6.9

As can be seen, the cellulolytic action of the fungus has indeed brought about a two-fold increase in the yield of extractable lignin. The native and enzymatically liberated lignins were then chemically compared and found to be identical in all respects examined (Table 4).

Finally, in order to establish unequivocally the identity of the native and residual lignin of white Scots pine wood, the sound wood was first extracted with ethyl alcohol to remove the native lignin fraction. The extracted wood was then decayed by means of the "brown rot" fungi,

Table 4. *Comparison of Lignins Isolated from Sound and from Decayed (Lentinus lepideus) White Scots Pine (79).*

	Lignin from Sound Wood	Lignin from Decayed Wood
C % . . . . .	64.0	63.7
H % . . . . .	6.3	6.3
OCH <sub>3</sub> % . . . . .	14.5	14.5
OCH <sub>3</sub> % of acetate . . . . .	10.1	10.4
OCH <sub>3</sub> % of phenylhydrazone . . . . .	13.3	13.0
Soluble in . . . . .	ethanol, methanol, dioxane, pyridine, 4% NaOH	Same
Insoluble in . . . . .	water, ether, benzene petroleum ether	Same
Reducing ability . . . . .	Reduces FEHLING'S solution	Same
Color reaction with phoroglucinol . . . . .	red-violet	Same

*Poria vaillantii* and *Lenzites sepiaria*, for a fifteen month period. At the end of this time the decayed samples yielded an alcohol extractable lignin in about 20% yield, which was once again found to be chemically identical with the native lignin. These results are recorded in Table 5.

Table 5. *Comparison of the Native and Enzymatically Liberated Lignins from White Scots Pine with Spruce Native Lignin (99).*

	Spruce Native	Lignins White Scots Pine Native	White Scots Pine Liberated
C % . . . . .	63.8	64.0	64.2
H % . . . . .	6.2	6.3	6.0
OCH <sub>3</sub> % . . . . .	14.8	14.5	14.4

Moreover, the identity of the native and enzymatically liberated lignins from this softwood is further corroborated by their ultraviolet and infrared absorption spectra (79), (99). (See page 88, 92 and Fig. 1 and 5.)

Similar studies were conducted by KUDZIN and NORD (64) on the hardwoods oak, birch and maple. The fungus employed to bring about the decay of these wood samples was *Daedalea quercina*. The results of the periodic analyses of the decayed wood and the chemical compositions of the alcohol extractable lignins are outlined in Tables 6 and 7 respectively.

Table 6. *Effect of the Action of Daedalea quercina on the Composition of Oak, Birch and Maple (64).*

	Period of Decay (mo.)	Holocellulose %	Klason Lignin %
Oak	0	80.7	20.0
	10	68.1	32.5
Birch	0	79.0	21.6
	10	64.8	35.0
Maple	0	76.8	22.9
	10	66.2	33.7

Table 7. *Comparison of the Native and Enzymatically Liberated Hardwood Lignins (64)*

	Oak		Birch		Maple	
	N. L. <sup>1</sup>	E. L. <sup>2</sup>	N. L.	E. L.	N. L.	E. L.
C %	58.6	58.4	61.4	61.6	61.0	61.3
H %	5.3	5.2	5.5	5.6	5.6	5.5
OCH <sub>3</sub> %	14.8	14.6	14.9	14.8	17.4	17.8
OCH <sub>3</sub> % of acetate.	10.2	10.3	10.2	10.4	12.8	12.9
OCH <sub>3</sub> % of phenylhydrazone	13.7	13.6	13.1	13.4	15.5	15.8

It is of interest to observe that the native lignins and the enzymatically liberated lignins of oak and birch resemble more closely softwood lignins in their methoxyl contents and also in their ultraviolet and infrared absorption spectra (comp. p. 88, 92). However, this similarity has no further extension as will be borne out in the discussion on their oxidation products. Nevertheless, the native and enzymatic lignins from these hardwoods have the same solubility characteristics as spruce native lignin. They reduce FEHLING'S solution and give a positive WIESNER color test. These properties, supplemented by the analytical and absorption spectra data give excellent support to the identity of the two preparations (63), (64).

<sup>1</sup> Native Lignin.

<sup>2</sup> Enzymatically Liberated Lignin.

Moreover, it should be noted that in interpreting and evaluating results obtained in this field of chemical research the necessity of applying highly purified lignin preparations (9) cannot be overstressed. Recently, ERDTMAN and co-workers (3) depleted spruce wood with several wood-destroying fungi and claimed a non-identity of the lignin from the sound and decayed wood. Their argument is based, in part, on the lowering of the methoxyl content of their "KLASON" lignins and more so on the increase of reducing ability of the enzymatically liberated lignin with respect to the native lignin. These investigators determined the copper numbers on the total, unpurified benzene-alcohol extract from the decayed spruce. That this residue contains contaminants and cellulose degradation products must be realized, since the benzene-alcohol mixture, used by these authors, is a suitable de-resinifying agent (17). The recent results of LEOPOLD (71) must be evaluated in the same light.

DE STEVENS and NORD (108) have compared the native lignin isolated from bagasse, the supporting fiber of the annual plant, sugar cane, with the lignin liberated from this woody tissue by the cellulolytic action of four representative species of "brown rot" fungi. In each case the residue from the alcohol extraction was purified by precipitation of a 10% dioxane solution of the preparation, first by filtering into distilled water and then into ether. This purification was repeated, until a constant methoxyl value was obtained. The results of their analyses are recorded in Table 8. This comparison is further extended with the lignin liberated by *Poria vaillantii* to the acetate and phenylhydrazone derivatives and also to their absorption spectra (107). (See Fig. 2.)

These data amply confirm the original contention concerning the feasibility of using cellulolytic enzyme systems for the isolation of additional amount of native lignin from various woody tissues. Moreover, this method can be applied not only to perennial plants, but also to annual plants.

Table 8. Comparison of Bagasse Native Lignin with Bagasse Lignin (108) Liberated by Various Fungi.

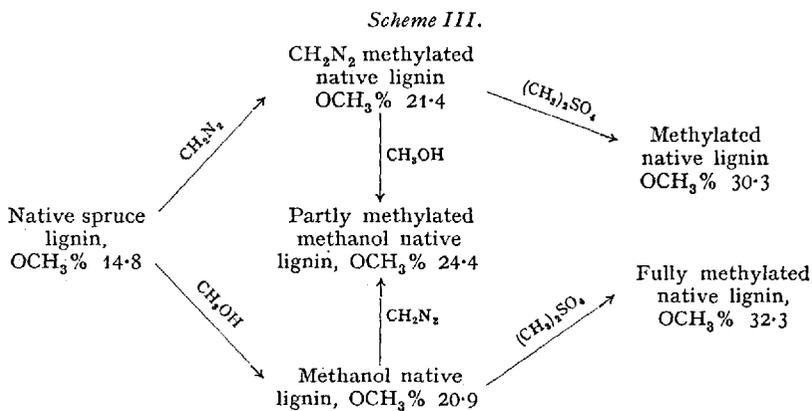
	Native Lignin	<i>Poria vaillantii</i>	<i>Polyporus sulfureus</i>	<i>Lentius lepideus</i>
C% . . . . .	61.5	61.6	61.2	61.8
H% . . . . .	5.7	5.9	5.5	5.6
OCH <sub>3</sub> % . . . . .	15.3	15.4	15.0	15.2
.OCH <sub>3</sub> % of acetate . . . . .	13.3	13.2		
OCH % of phenylhydrazone . . . . .	14.1	14.0		

## V. Chemical Reactivity of Native and Enzymatic Lignins.

The preponderance of evidence favors the presence of only carbon, hydrogen and oxygen in lignin. Although some workers (8), (36) have

reported the presence of nitrogen in their preparations, it appears that this is probably due to the presence of some unhydrolyzed protein, which was not removed in the course of the isolation. BRAUNS' spruce native lignin and the native and enzymatically liberated lignins isolated in NORD's laboratory have been found to be devoid of nitrogenous materials. Since these preparations are representative of the total lignin present in some woody tissues (80), it can be stated with little doubt that the lignin molecule does not contain nitrogen.

Methylation studies on lignin have given much information concerning the number and the nature of the hydroxyl groups present. Dimethyl sulfate and alkali will methylate all types of hydroxyl groups, diazomethane usually attacks phenols, enol and carboxyl groups, and methanol and hydrochloric acid usually react with carbonyl groups, forming acetals, and with carboxyl groups to form esters. Since carboxyl groups are absent in lignin, the choice of an alkylating agent should reveal the total number of hydroxyl groups present in lignin, the number of phenolic groups, and finally whether or not the carbonyl group is enolizable. This approach was applied with success by BRAUNS in his studies on the methylation of spruce native lignin (9). An outline of this work is presented in Scheme III.



Spruce native lignin was found to contain one phenolic group per lignin unit weight of 840. Diazomethane reacted with this phenol group and with the enol form of the carbonyl to give an enol ether. This derivative was insoluble in alkali, and the methoxyl content did not change on treatment with 72% sulfuric acid. However, the methanol methylated spruce native lignin was soluble in alkali, and reaction with strong acid removed two methoxyl groups. This, in accordance with other methylations, prompted BRAUNS to conclude that the reaction with methanol

led to the formation of an acetal by virtue of the enolized carbonyl group.

DE STEVENS and NORD (*III*) have reacted bagasse native lignin with diazomethane and with methanolic hydrogen chloride and have obtained similar results (Table 9).

Table 9. *Methoxyl Content of Bagasse Native Lignin and its Derivatives (III).*

Lignin Sample	No. of entering groups	Molecular weight	Methoxyl %	
			Calc.	Observed
1. Native lignin . . . . .	—	810 <sup>1</sup>		15.3
2. Acetate of 1 . . . . .	3	936	13.2	13.3
3. 1, CH <sub>2</sub> N <sub>2</sub> methylated . . . . .	2	838	22.2	21.9
4. 3, phenylhydrazone . . . . .	0	838		22.0
5. 3, acetylated . . . . .	2	922	20.2	19.5
6. 1, methanol methylated . . . . .	2	856 <sup>2</sup>	21.7	21.5
7. 1, fully methylated . . . . .	4	866	28.8	29.1
8. 7, acetylated . . . . .	1	908	27.4	27.9
9. 6, 72% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> treatment . . . . .				16.0

Acetylation of bagasse native lignin established the presence of three hydroxyl groups. Methylation with diazomethane yielded a product containing two new methoxyl groups, which are not hydrolyzed by strong acid. This methylated product is insoluble in dilute alkali, suggesting that one of the groups methylated was of the phenolic type. The acetylation of the diazomethane methylated derivative indicates that the other two hydroxyl groups are alcoholic. Reaction of this native lignin with methanol and anhydrous hydrochloric acid once again gave a product, which contained two additional methoxyl groups. However, this preparation did dissolve in alkali, and two methoxyl groups were removed by 72% sulfuric acid hydrolysis. Thus, in agreement with BRAUNS' experiments, these methylation studies indicate that the carbonyl group in bagasse native lignin is enolized.

Repeated methylation of bagasse native lignin with dimethyl sulfate yielded a product with a 29.1% methoxyl content. Four such methylations did not change this value. However, the infrared spectrum of this derivative still revealed a small absorption band at 3400 cm<sup>-1</sup>. Thus, it appeared that at least one hydroxyl group could not be methylated. Treatment of this methylated product with acetic anhydride and pyridine gave an acetate, which did not exhibit an absorption band at 3400 cm<sup>-1</sup>. Consequently, a tertiary hydroxyl group, which can be acetylated but not methylated, seems to be present in this lignin.

<sup>1</sup> Molecular weight calculated on the basis of one carbonyl and four methoxyl groups per lignin unit.

<sup>2</sup> The increase of 32 is the result of acetal formation at the carbonyl group, whereby methanol (molecular 32) must be added.

Although it was expected that three hydroxyl groups would be methylated with dimethyl sulfate and 30% alkali, in reality four such groups reacted. This is probably due to the splitting of a cyclic ether ring under the conditions of the reaction.

The methylation of the native and enzymatically liberated lignins from white Scots pine, oak, birch and maple with diazomethane lends further support to the identity of the lignins (65) (Table 10). The hydroxyl group methylated in the white Scots pine lignins is phenolic, since (a) these methylated lignins gave a phenylhydrazone derivative, and (b) they did not react with methanol and hydrochloric acid, thus discounting the presence of an enolizable carbonyl group (110). The significance of this observation will be discussed in the section on ultra-violet absorption spectra.

Table 10. *Methoxyl Content of Diazomethane Methylated Native and Enzymatically Liberated Lignins (65).*

Lignin	Unit mol. wt. <sup>1</sup>	No. of groups introduced	Methoxyl %	
			Calc.	Observed
White Scots Pine N.L. <sup>3</sup> . . . . .	848	1	18.0	18.5
White Scots Pine E.L. <sup>4</sup> . . . . .	848	1	18.0	17.5
Oak N.L. . . . .	838	3	24.7	25.0
Oak E.L. . . . .	838	3	24.7	24.8
Birch N.L. . . . .	833	3-4	24.8-27.8	26.0
Birch E.L. . . . .	833	3-4	24.8-27.8	25.8
Maple N.L. . . . .	875 <sup>2</sup>	2	24.0	23.6
Maple E.L. . . . .	875	2	24.0	23.9

BUCHANAN, BRAUNS and LEAF (18) have isolated native lignin from the hardwood aspen in 0.7% yield. The elementary composition of this lignin and of its derivatives is recorded in Table 11.

Methylation with diazomethane results in the introduction of 1.5 methoxyl groups per six methoxyl groups originally present. On the other hand, diazomethylation of the methanol aspen native lignin introduced one additional methoxyl group. These results indicate the presence of one phenolic group per six methoxyl groups in the aspen native lignin. The above investigators feel that the additional 0.5 methoxyl group introduced by diazomethane may represent the methylation of one enolic group per 12 original methoxyl groups.

<sup>1</sup> Molecular weight calculated on the basis of one carbonyl and four methoxyl groups per unit.

<sup>2</sup> Molecular weight calculated on the basis of one carbonyl and five methoxyl groups per unit.

<sup>3</sup> Native lignin.

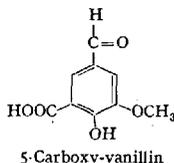
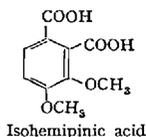
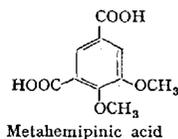
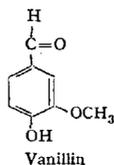
<sup>4</sup> Enzymatically liberated lignin.

Table 11. *Chemical Composition of Aspen Native Lignin (18).*

	No. of groups introduced	Calc. for 945 unit OCH <sub>3</sub> % other %	OCH <sub>3</sub> %	other %
Aspen Native Lignin (N.L.) . .		19.7 C, 63.5 H, 6.0	19.5	C, 63.2 H, 5.9
N.L. methylated with diazo- methane . . . . .	1.5	24.1	24.1	
Methanol N.L. . . . .	2.5	26.2	26.1	
Methanol N.L. methylated with CH <sub>2</sub> N <sub>2</sub> . . . .	1	28.8	28.8	
Completely methylated N.L. . . .	6	36.2	36.1	
Acetylated N.L. . . . .	6	15.5	15.4	
Phenylhydrazone of N.L. . . . .	0.5	18.8	18.5	

However, the methoxyl content of the methanol derivative suggests that there may be as many as 2.5 carbonyl groups per 12 original methoxyl groups, if one assumes that an enolizable carbonyl group is present. Nevertheless, the analytical data for the phenylhydrazone of the aspen native lignin indicate that only a half group was introduced per unit weight of 945.

Although as early as 1897 KLASON (59) proposed that possibly coniferyl alcohol was the basic building stone of lignin, much controversy raged for many years as to whether or not lignin consisted of aromatic units. HILPERT (53) was foremost among those who believed that lignin was a secondary product of wood, formed from cellulose during its isolation. However, LANGE (68) has shown that the ultraviolet absorption maximum of lignin in spruce wood is the same as that of the isolated lignin. Moreover, a number of aromatic compounds have been isolated as degradation products of lignin (20), (21), (66), (97). Some of these compounds are listed below:



It was found that hardwood lignins yielded both guaiacyl and syringyl units on oxidation, whereas softwood lignins yielded only guaiacyl units. HIBBERT and co-workers (20), (21) distinguished perennial plant lignins

from annual plant lignins in that the latter gave small amounts of p-hydroxybenzaldehyde on oxidation with nitrobenzene and alkali. Lignin isolated by means of 72% sulfuric acid was used in their oxidation studies. LEOPOLD (70) in ERDTMAN'S laboratory reported the isolation of p-hydroxybenzaldehyde as a degradation product of spruce lignin. However, in this case the wood itself, containing some protein and other extraneous materials, was oxidized. In this connection it should be kept in mind that in a recent report by STONE *et al.* (112) p-hydroxybenzaldehyde could be derived from proteinaceous materials present in the lignin isolated with strong chemical reagents. They believe that the tyrosine in the protein is responsible for the formation of this aldehyde.

Since the work of NORD and co-workers (80) has established the chemical identity of native and enzymatically liberated lignins, then it must follow that native lignin is representative of lignin as it exists *in situ* in some woody tissues. Moreover, native lignin is devoid of nitrogenous materials. Therefore, it appears that the oxidation of this lignin preparation can leave little doubt concerning the source of the degradation products.

Consequently, the native and enzymatically liberated lignins from white Scots pine, oak, birch, maple, kiri<sup>1</sup> wood and bagasse were oxidized with nitrobenzene in alkali. The method of STONE (113) was applied quantitatively in this study. The amount of each degradation product obtained from each of the lignins is listed in Table 12 (110).

Table 12. *Oxidation Products Derived from Native and Enzymatically Liberated Lignin (111).*

Lignin	p-hydroxy benzaldehyde	Vanillin	Syringaldehyde
	%	%	%
White Scots Pine N.L. <sup>2</sup> . . . . .	3.5	19.5	—
White Scots Pine E.L. <sup>3</sup> . . . . .	2.4	18.7	—
Oak N.L. . . . .	—	21.3	4.0
Oak E.L. . . . .	—	20.9	3.6
Birch N.L. . . . .	> 0.5	18.6	1.7
Birch E.L. . . . .	> 0.5	19.1	2.0
Maple N.L. . . . .	—	17.2	4.5
Maple E.L. . . . .	—	16.9	4.2
Bagasse N.L. . . . .	9.8	17.8	13.3
Bagasse E.L. . . . .	10.2	17.3	12.9
Kiri N.L. . . . .	—	20.8	11.2

<sup>1</sup> The native lignin from *Paulownia tomentosa* has been isolated and characterized in this laboratory. It has a methoxyl content of 16.6% and properties very similar to other native lignins (110).

<sup>2</sup> Native lignin.

<sup>3</sup> Enzymatically liberated lignin.

The lignin from the annual plant bagasse and from the softwood white Scots pine gave rise to significant amounts of p-hydroxybenzaldehyde, whereas birch lignin yielded only traces of this substance. A re-investigation of the oak and birch native and enzymatic lignins in order to determine, whether or not a non-methoxylated aromatic building stone was present, revealed that these relatively low (15%) methoxyl containing hardwood lignins indeed contain small amounts of syringyl building stones. This once again poses the question concerning the possibility of these lignin fractions being intermediates in the formation of a more highly methoxylated (20%) lignin unit in some hardwoods (63).

A recent report (7a) presents evidence for the existence of sinapaldehyde in the free state in many hardwoods. This finding corroborates the results of NORD and co-workers concerning the low methoxyl value of the native and enzymatically liberated lignins from hardwoods relative to the "Klason" lignins from the same species of wood. The sinapaldehyde would add to the methoxyl value of the "Klason" lignin. The absence of this aldehyde in native lignin follows from the fact that native lignin is purified by dissolving it in dioxane and then precipitating by addition to ether, the sinapaldehyde being soluble in the latter solvent.

FREUDENBERG has condensed coniferyl alcohol to a ligninlike material through the action of a mushroom phenol oxidase (31). Although this biochemically obtained preparation has properties, which are comparable with those of softwood native lignin (37), nevertheless it cannot be identified with the natural product because of the absence of a non-methoxylated aromatic building stone. Thus, his claim that coniferyl alcohol is the lignin progenitor in softwoods is not unequivocal.

## VI. Discussion of Analytical Data of Native and Enzymatically Liberated Lignins.

### I. Ultraviolet Absorption Spectra.

The importance of ultraviolet absorption spectroscopy as a tool for the elucidation of the chemical structure of organic compounds is well established. Although it has been extensively used in lignin research, as yet definite conclusions have not been attained.

HERZOG and HILLMER (40), (41), (42), (43), (44), (45) in 1927 were the first to show lignin solutions gave characteristic absorption bands in ultraviolet light. Both isoeugenol and coniferyl alcohol were polymerized to substances possessing absorption spectra similar to that of lignin. By the study of the spectra of simple aromatic compounds comparable with those isolated as decomposition products of lignin these authors discovered certain relationships between chemical structure and ultraviolet absorption spectra of this group of compounds. They

concluded from these studies that the basic unit of lignin is a di- or trihydroxy-phenol, containing a three carbon aliphatic side chain without chromophoric groups being conjugated with the benzene ring.

STAMM, SEMB and HARRIS (104) in 1932 indicated that hardwood lignins gave a maximum absorption peak at 274–276  $m\mu$ , and softwood lignins gave maxima at 281–285  $m\mu$ .

Later, PATTERSON and HIBBERT (83) stated that ultraviolet absorption of lignin corresponded with the absorptions of hydroxy derivatives of 1-(4,hydroxy-3, methoxyphenyl)-1-propanone and 1-(4,hydroxy-3,5,dimethoxyphenyl)-1-propanone. These authors, therefore, assumed the presence in lignin of a carbonyl group, or of an ethylenic double bond conjugated with an aromatic nucleus. They ascribed the 280  $m\mu$  band to "m-position freedom" in the benzene ring and the 310  $m\mu$  band to a masked carbonyl group in conjugation with a benzene nucleus.

The various conflicting interpretations are attributed in part to the non-specific nature of the spectrum of lignin and more so to the fact that the molecular weight of lignin is, as yet, unknown. Recently, AULIN-ERDTMAN (4) has successfully used the methoxyl content of various lignins instead of molecular weights in the determination of extinction coefficients.

This section will deal with the absorption spectra of the native and enzymatically liberated lignins from various woody tissues. With the exception of aspen native lignin, bagasse native and enzymatically liberated lignins and "kiri" native lignin, all the native lignins and their derivatives have one maximum at about 280  $m\mu$ . Some of these results are included in Table 13. The absorption curves of some native and enzymatically liberated lignins are presented in Fig. 1.

Table 13. *Absorption Maxima and Extinction Coefficients of Various Lignins.*

Type of Lignin	Solvent	Maximum $m\mu$	$E_{1\%}^{1\text{cm}}$	Ref.
Spruce native <sup>1</sup> . . . . .	99% ethanol	280	3.58 <sup>3</sup>	(33)
Hemlock native . . . . .	95% ethanol	280	—	(10)
White Scots pine <sup>2</sup> native and enzymatic .	dioxane	282	204	(98), (99)
Oak native and enzymatic <sup>2</sup> .	dioxane	282	195	(64)
Birch <sup>2</sup> native and enzymatic .	dioxane	280	120	(64)
Maple <sup>2</sup> native and enzymatic .	dioxane	280	150	(64)
Aspen native . . . . .	dioxane	no maximum	—	(18)
Kiri native . . . . .	dioxane	280	137	(110)

<sup>1</sup> See ref. (54).

<sup>2</sup> Methylated lignins all have absorption maxima at 280  $m\mu$ <sup>3</sup>.

<sup>3</sup> log. E.

The band at 280  $m\mu$  persists in spite of such alterations in the molecule as are caused by methylation, acetylation and treatment with sodium hydroxide. However, the absorption of the phenylhydrazones of spruce (33) and white Scots pine native lignins (111) are peculiar in that a second maximum occurs at 352  $m\mu$ . GLADING (33) suggests that the carbonyl group in spruce native lignin is highly enolized, and, therefore,

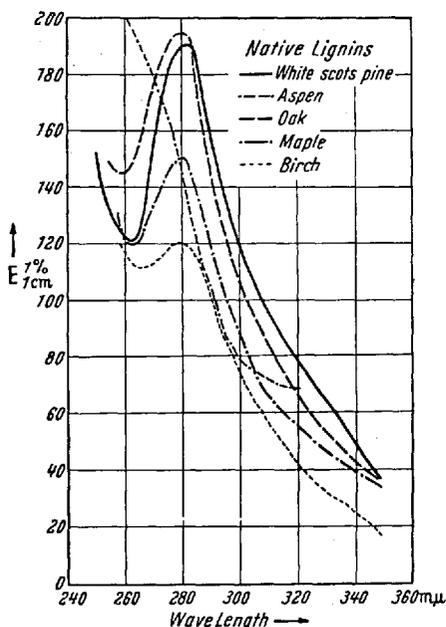


Fig. 1. (Solvent: 90% Dioxane). — White Scots Pine Native Lignin; - - - Aspen Native Lignin; - · - · Oak Native Lignin; - - - Maple Native Lignin; · · · Birch Native Lignin.

there are too few ketone groups to produce a recognizable absorption band at 352  $m\mu$ . When the phenylhydrazone is formed, however, all the ketone groups are fixed in the ketone configuration, and there are enough of these groups to produce a definite absorption band. This interpretation of the effect of an enolizable carbonyl group does not seem to be sufficient.

DE STEVENS and NORD (111) have found that although the phenylhydrazone derivative of white Scots pine native lignin gives an absorption maximum at 352  $m\mu$ , nevertheless the carbonyl group of the native lignin is not enolized. Furthermore, the phenylhydrazone of the diazomethane methylated white Scots pine native lignin does give some absorption at 352  $m\mu$ , whereas the methylated lignin does not. Thus,

it seems more correct to state that absorption at 352  $m\mu$  is not governed by either the presence or absence of an enolized carbonyl group but by the relative strength of the carbonyl absorption band at that wave length. The phenylhydrazone of the native lignin seems to intensify this absorption band.

Ultraviolet spectroscopic studies on bagasse native lignin demonstrated that (a) the native and enzymatically liberated lignins are identical, and (b) that it has a molecular constitution somewhat different from other lignins (54), (107), (111). (See Fig. 2.)

It gives an absorption plateau between 282  $m\mu$  and 295  $m\mu$  and an absorption peak at 315  $m\mu$ . It has been amply demonstrated that absorption above 300  $m\mu$  is due to the presence of a chromophoric group conjugated with an oxygen substituted benzene ring (51), (52), (69), (75). To ascertain the nature of the chromophoric group (carbonyl or ethylenic

double bond) bagasse native lignin was hydrogenated in the presence of Raney nickel at temperatures from 25 to 50° C. and relatively low pressures (2–10 atm.). Under these conditions ethylenic double bonds of an aliphatic straight chain system will be readily reduced. The hydrogen uptake was nil, and the nature of the ultraviolet absorption spectrum did not change. Moreover, there was no change in the methoxy content after hydrogenation, and the preparation still gave the phloroglucinol-hydrochloric acid color test. These experiments seem to indicate that the chromophore is a carbonyl group.

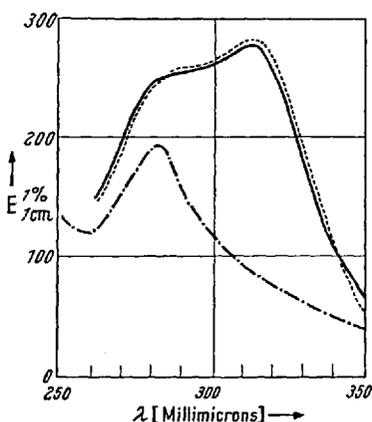


Fig. 2. (Solvent: 90% Dioxane). — Bagasse Native Lignin; - - - Bagasse Enzymatically Liberated Lignin (*Poria vaillantii*); - · - · White Scots Pine Native Lignin.

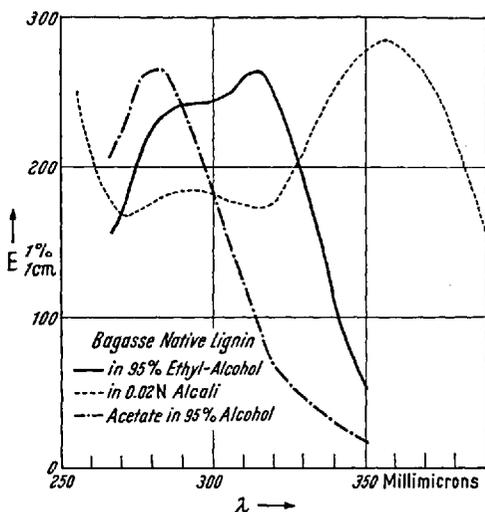
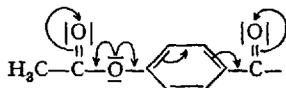


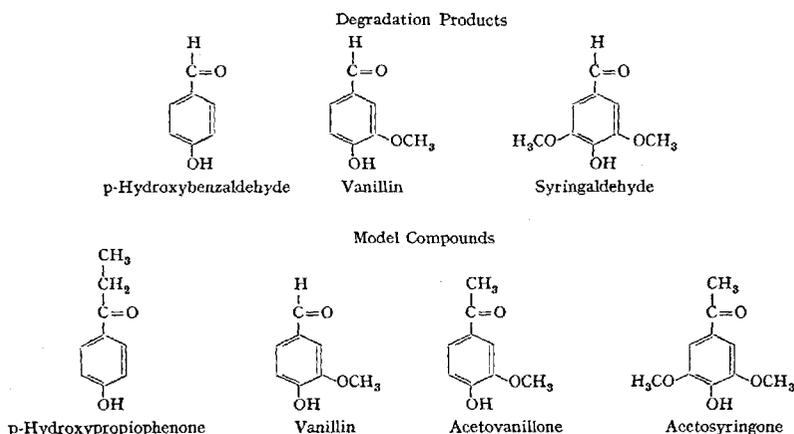
Fig. 3. — Bagasse Native Lignin in 95% Ethyl Alcohol; - - - Bagasse Native Lignin in 0.02 N Alkali; - · - · Acetate of Bagasse Native Lignin in 95% Ethyl Alcohol.

As previously stated, the absorption spectra of the derivatives of many of the native lignins under consideration are very similar to the spectra of the original substance. Due to the unusual absorption band above 300  $m\mu$  for bagasse native lignin, it was of interest to study the ultraviolet spectroscopic behavior of its derivatives in this region.

In 0.02 N alkali the maximum absorption peak has been shifted to 355  $m\mu$  (see Fig. 3). However, the acetate derivative in a non-alkaline solvent did not absorb at 315  $m\mu$  but gave one maximum at 282  $m\mu$ . This hypsochromic shift could be attributed to crossed conjugation. This resonance phenomenon is considered to be as follows:



To correlate these changes in absorption with theory, the ultraviolet spectroscopic behavior of model compounds closely related to the degradation products isolated from bagasse native lignin, i.e., p-hydroxybenzaldehyde, vanillin and syringaldehyde, was determined. The compounds used were p-hydroxypropiophenone, vanillin, acetovanillone and acetosyringone and their derivatives.



The results of these analyses are recorded in Table 14.

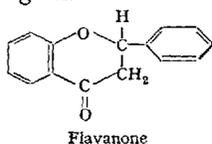
Table 14. *Ultraviolet Absorption Maxima and Extinction Coefficients of Model Compounds (109).*

Compound	Non-alkaline				Alkaline	
	$\lambda_{\max}$ m $\mu$	$E_{1\%}^{1\text{cm}}$	$\lambda_{\max}$ m $\mu$	$E_{1\%}^{1\text{cm}}$	$\lambda_{\max}$ m $\mu$	$E_{1\%}^{1\text{cm}}$
1. Native lignin . . . . .			315	268	355	285
2. Acetate of 1 . . . . .	282	266				
3. p-hydroxypropiophenone . . . . .	276	945			326	1554
4. p-acetoxypropiophenone . . . . .	243	747				
5. Vanillin . . . . .	280	680	310	685	348	1850
6. p-acetoxyvanillin . . . . .	257	584	305	226		
7. Acetovanillone . . . . .	275	596	303	515	343	1420
8. p-acetoxyacetovanillone . . . . .	255	563	303	215		
9. Acetosyringone . . . . .			302	557	362	1192
10. p-acetoxyacetosyringone . . . . .	270	344				

In all cases the absorption maximum in alkaline solution is shifted to a higher wavelength. This is probably due to the electronic interaction of the sodium salt of the phenolic group with the conjugated carbonyl group. The acetates of these compounds exhibit a hypsochromic effect. This lends support to the crossed conjugation phenomenon attributed to the shift in absorption for the acetate derivative of bagasse native lignin.

The ultraviolet absorption spectra of the methylated bagasse native lignins are represented in Fig. 4. Once again absorption at 282  $m\mu$  has been magnified relative to that in the region above 300  $m\mu$ . Furthermore, the completely methylated lignin exhibits an absorption maximum at 310  $m\mu$ , rather than at 315  $m\mu$ . It is significant that these spectra are similar to those obtained by PATTERSON and HIBBERT for the 3,4-dimethoxyphenyl-1-propanone compounds (83).

SKARZYNSKY (102) has shown that flavanones containing phenolic groups have a characteristic absorption peak at 320  $m\mu$  in a neutral solvent and also undergo a bathochromic shift in alkaline solution. Moreover, their acetates give maximum absorption at lower wavelengths. In the light of this observation and our chemical and physical investigations it appears reasonable to assume that a flavanone type moiety is present in bagasse native lignin.



## 2. Infrared Absorption Spectra.

The infrared spectrum of spruce native lignin was first obtained by JONES (55). He found it to be generally similar to lignins isolated by strong chemical reagents. Since then the infrared spectra of the native and enzymatically liberated lignins from white Scots pine, oak, birch, maple, bagasse and "kiri" wood have been determined by NORD and coworkers (63), (99), (107). In all cases, they were found to resemble closely the spectrum of spruce native lignin. A few of these are presented in Fig. 5.

The band at 3400  $\text{cm}^{-1}$  is due to the presence of bonded hydroxyl groups in the lignin complex. However, the intensity of the absorption band in this region is less pronounced in the case of bagasse native lignin than in the other lignin preparations. This supports the chemical data in that bagasse native lignin contains fewer hydroxyl groups than the other lignins. Absorption from 1700 to 1660  $\text{cm}^{-1}$  is characteristic

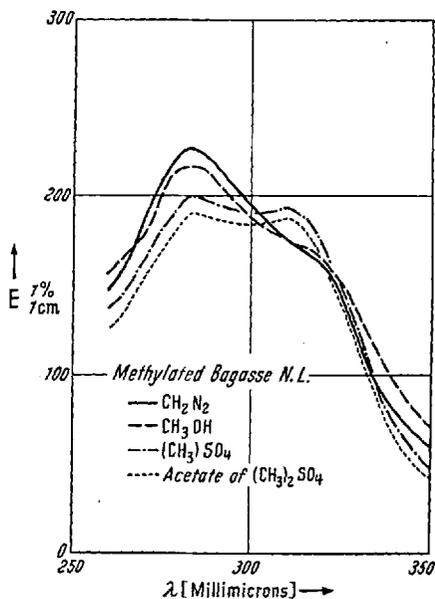


Fig. 4. Methylated Bagasse Native Lignins in 90% Dioxane. — Diazomethane; - - - Methanol; - · - · - Dimethyl Sulfate; · · · · · Acetate of Dimethyl Sulfate.

for the presence of an aldehyde or ketone carbonyl group. This band is very weak in the case of maple lignin. Phenyl ring skeletal vibrations with possible *para* substitution are evidenced at 1600 and 1510  $\text{cm}^{-1}$ .

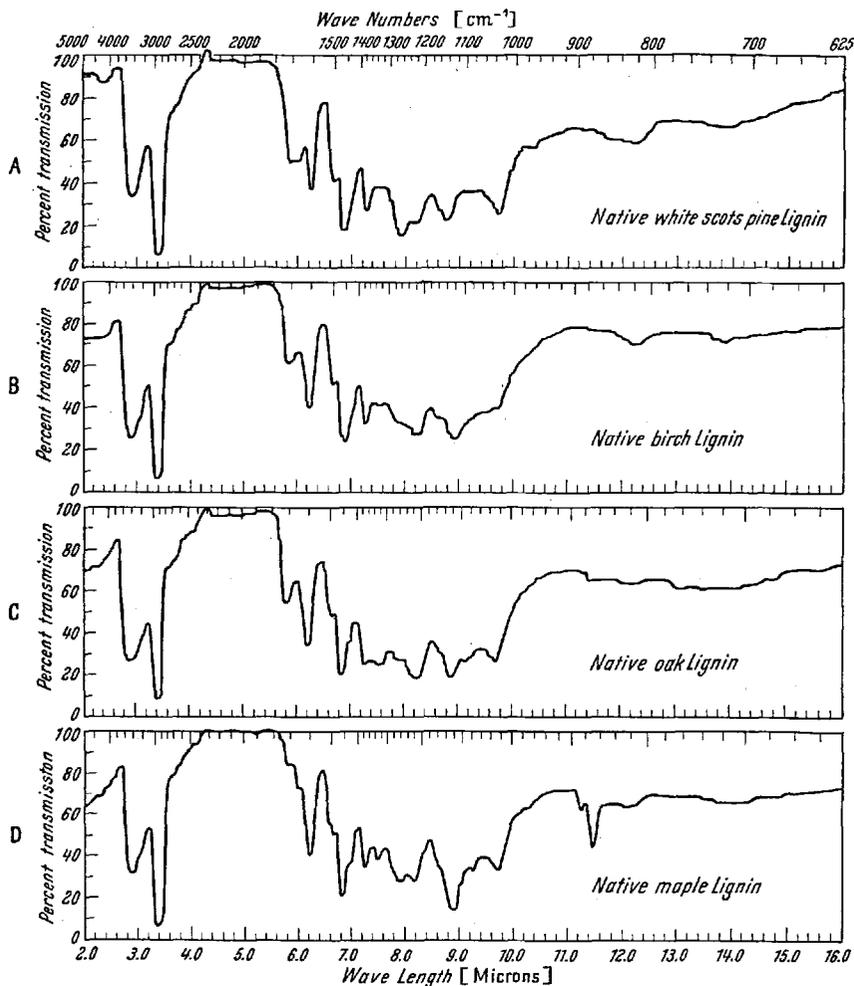


Fig. 5 A—D. A White Scots Pine Native Lignin; B Birch Native Lignin; C Oak Native Lignin; D Maple Native Lignin.

The 1430  $\text{cm}^{-1}$  band establishes the presence of aliphatic groupings in the lignin complex. A difference in relative intensity at 1325  $\text{cm}^{-1}$  should also be pointed out. Such variations are more evident at 1265, 1255 and 1220  $\text{cm}^{-1}$ , which are in the spectral region of aromatic or aliphatic unsaturated C—O groups, and also at 1140, 1163, 1155 and 1125  $\text{cm}^{-1}$ . These differences possibly are due to different atomic

environments in the lignin complex, and since bands in this region arise from vibrations of the molecule as a whole, interpretation cannot be specific. The bands at 2945, 1460, 1380 and 725  $\text{cm}^{-1}$  are due to Nujol absorption and thus are of no interpretative value. Bagasse native lignin and kiri native lignin have sharp bands at 835  $\text{cm}^{-1}$ , whereas pronounced bands at 890 and 870  $\text{cm}^{-1}$  are found in the maple lignin curve. JONES (56), using a film technique by evaporation of a dioxane solution of spruce native lignin, reported bands in the same region even after prolonged drying. Dioxane is known to absorb in this part of the spectrum, but since mineral oil mulls were used with the other lignins, it can safely be stated that the bands are characteristic of the lignin studied. These bands are suggestive of strong absorption of trisubstituted phenyl groups. Therefore, a comparative evaluation of the absorption spectra of these lignins reveals that they are generally similar, but noticeable differences are observed in the relative intensities of the bands, suggesting some deviations in the arrangement of groups present therein. Moreover, it was found that the spectra of the enzymatically liberated lignins from each species of wood were identical with their corresponding native lignin fractions (64), (99), (107).

### 3. Electrophoresis.

The literature is devoid of any studies on the electrophoretic behavior of lignins. However, due to the presence of at least one phenolic hydroxyl group per lignin building unit, it appeared that such an investigation would be feasible. Moreover, due to the success of applying electrophoretic methods to the characterization and fractionation of proteins, a study as to the possible availability of the method to lignins was undertaken in this laboratory.

Preliminary measurements have indicated that both the native lignins from white Scots pine and oak woods are electrophoretically inhomogeneous. Therefore, the effect of repeated precipitation of lignin from dioxane solutions on the electrophoretic patterns was first studied. In Fig. 6 are presented the patterns obtained on the oak lignin after four (1) and eight (2) precipitations. It can easily be recognized that the oak lignin appears electrophoretically homogeneous, whereas the patterns obtained with the white Scots pine lignin are characteristic of a multicomponent system. Whereas occasionally two well defined peaks appeared, the inhomogeneity revealed itself only in the existence of the trailing boundaries. The inhomogeneous white Scots pine lignin contains components of both higher and lower mobility than the main components.

The oak lignin was electrophoretically analyzed after every precipitation. Under identical conditions ( $p_{\text{H}}$  10,  $\text{KCl} = 0.1 \text{ M}$ , sodium

glycinate-HCl = 0.05 M), the electrophoretic mobility was not affected by the purification to any significant degree. The mobility of the ascending boundary was found to be always slightly higher than that of the descending boundary, the respective values being  $-10.7 \pm 0.3$  and  $-10.0 \pm 0.3 \times 10^{-5}$  cm.<sup>2</sup>/v.sec. Moreover, the oak lignin possesses a lower mobility than that of the white Scots pine lignin. However, methylation studies with diazomethane have shown that white Scots

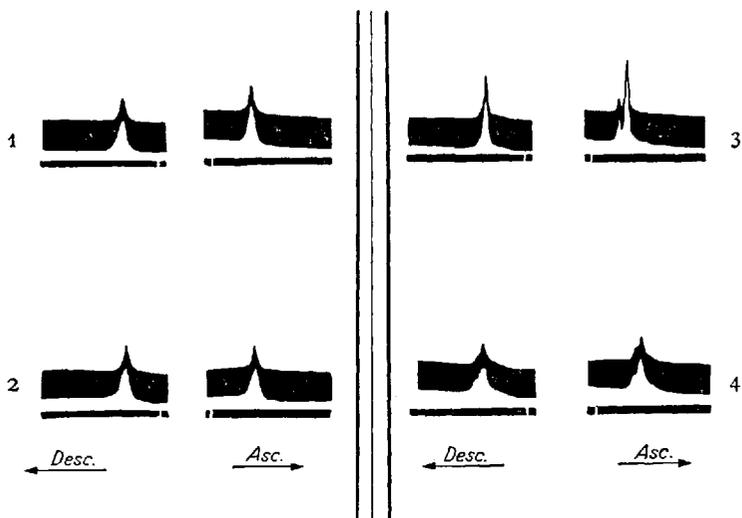


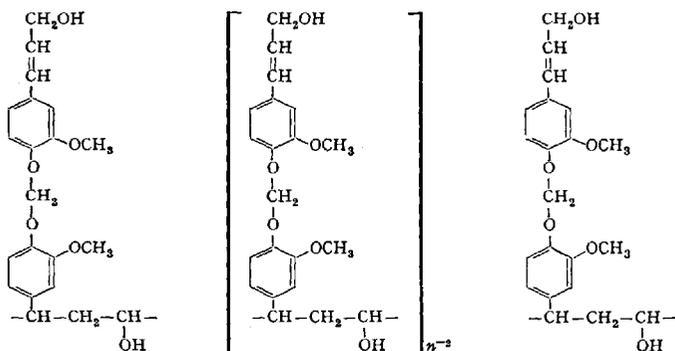
Fig. 6. 1 Oak Native Lignin after four precipitations; 2 Oak Native Lignin after eight precipitations; 3 and 4 White Scots Pine Native Lignin.

pine lignin contains one phenolic group, whereas oak lignin seems to contain three phenolic groups per lignin building unit. Thus, the differences in electrophoretic behavior are a reflection of the difference in the chemical composition of the two lignins.

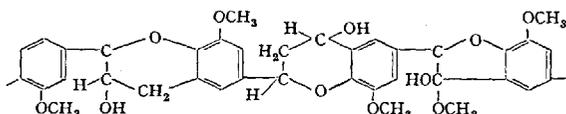
The mobility of the lignins is relatively large over the whole  $p_H$  range of their solubility. Certainly the origin of the charge causing this migration is the most puzzling aspect. In the case of proteins, the charge is due to the ionization of a number of different groups, such as carboxyl, amino, or guanidino groups. It is known that phenolic hydroxyl groups also contribute to the total charge of a protein, as they dissociate in the  $p_H$  range 10-12. In the case of lignin, we may consider the dissociation of phenolic groups as the main source of charge together with some enolizable carbonyl groups.

Although many suggestions have been advanced for the structure of lignin (15), establishment of a valid constitutional formula for this substance is still far from realized. It was considered (67) that the building stones of lignin are linked together by a methylene dioxy bridge

and also through  $C_3$  and  $C_1$  of the propane side chain:



According to an early speculation (30), the various types of building stones occur irregularly in lignin. Nevertheless, it was claimed that lignin is formed through the condensation of coniferyl alcohol groups with the formation of benzofuran or/and benzopyran rings:



Recent chemical and physical studies of this laboratory gave support to the consideration that a flavanone type moiety can reasonably be considered to be present in bagasse lignin (111).

The discrepancies encountered on attempting to interpret the physico-chemical properties of lignin are even more striking. For example, there are reported in the literature values for the molecular weight of lignin<sup>1</sup> ranging from 250 to the colloidal dimensions of 12,000 (16).

It can, therefore, be concluded that the status of the phenolic groups and ketonic groups in lignin is not at all well defined.

In Table 15 are recorded the dissociation constants of certain phenolic compounds. From these data it becomes obvious that the introduction of aldehyde groups, or other substituents, changes the dissociation constant of phenolic hydroxyls by over one-hundred fold. Moreover, oxidation studies carried out in this laboratory have shown that the native lignins from bagasse, white Scots pine and birch contain

<sup>1</sup> Recent determinations carried out by W. J. SCHUBERT and MARY BOLTON in this laboratory indicate the following molecular weights for certain of our lignin samples: native White Scots pine: 815, enzymatically liberated White Scots pine: 695, native Oak: 910, enzymatically liberated Oak: 855.

not only guaiacyl building stones but also p-hydroxyphenyl building stones. This is based on the finding that p-hydroxybenzaldehyde was

Table 15. Comparison of the Dissociation Constants of Various Phenolic Compounds<sup>1</sup>.

Compound	Dissociation Constant	
Phenol . . . . .	1.2	$10^{-10}$
p-Hydroxybenzaldehyde . . . . .	2.2	$10^{-9}$
m-Hydroxybenzaldehyde . . . . .	1.0	$10^{-8}$
Catechol . . . . .	3.5	$10^{-10}$
Protocatechualdehyde . . . . .	2.8	$10^{-8}$
Resorcinol . . . . .	3.7	$10^{-10}$
Guaiacol . . . . .	1.2	$10^{-10}$
o-Cresol . . . . .	6.3	$10^{-11}$
m-Cresol . . . . .	9.8	$10^{-11}$
p-Cresol . . . . .	6.7	$10^{-11}$
Benzaldehyde . . . . .	5.0	$10^{-13}$

identified as a degradation product of these lignins (III). Furthermore, the lignins from oak, birch, maple and bagasse also give rise to syringaldehyde upon oxidation. Consequently, the evidence establishes the presence in lignin of phenolic building stone units, which exhibit different degrees of substitution. In view of this finding and also of the fact that the introduction of substituents alters the dissociation

constant of phenolic hydroxyl groups, no rational explanation of the dissociation of lignins is as yet possible. This might also have some

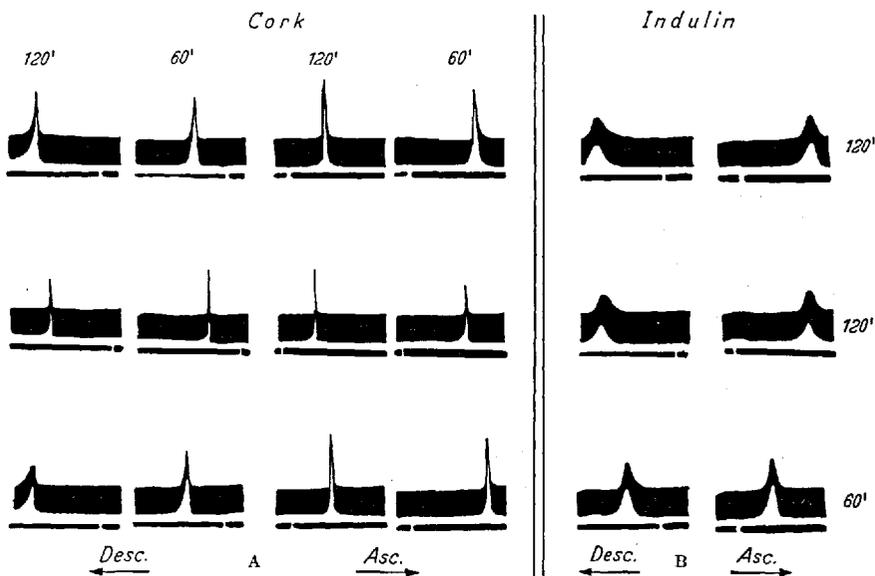


Fig. 7 A and B. A Cork Native Lignin; B Indulin.

bearing on the difficulties encountered in explaining their base binding capacity (58) along with the well known difficulties involved in the exact measurement of hydroxyl binding at very high  $p_H$ .

<sup>1</sup> Compiled from data recorded in Landolt-Börnstein, Physikalisch-chemische Tabellen, Verlag Julius Springer, Berlin.

As further examples of electrophoretically homogeneous lignins the electrophoretic patterns of cork lignin and commercial indulin purified by fractional precipitation are presented in Fig. 7.

Since the electrophoretic pattern of white Scots pine native lignin was found to be inhomogeneous, it was of particular interest to compare it with the pattern of enzymatically liberated lignin from this wood. A comparison with the patterns of preparations of native lignin demonstrated that both are identical. Of the other lignins investigated maple native lignin was found to be electrophoretically homogeneous, while bagasse native lignin presents only a very slight inhomogeneity. The results of these analyses are summarized in Table 16.

In view of the complexity of the lignin molecule and the possibility of variations in structure, it was noteworthy to find that the majority of lignins do give patterns characteristic of electrophoretically homogeneous compounds, the most significant exception being the white Scots pine lignin. It was of particular interest to observe here that the enzymatically liberated lignin and the native lignin did present identical patterns, and, on mixing the two samples, the electrophoretic patterns did not change. Therefore, it must be assumed that this lignin is a mixture of electrophoretically distinct lignins, the ease of extraction of the components being the same both before and after enzymatic decay. As a result it is justifiable to assume that the electrophoretic analysis reflects the relative concentration of the two components in the total lignin of the woody tissue.

The electrophoretic analyses of our various lignin samples has thus yielded results, which could not be obtained as yet by any other method. As in the case of proteins, electrophoresis supplies us with valuable information on the purity and homogeneity of the lignin preparations. The main limitation to a wider application of this method to lignin lies in the comparatively close mobility of all the samples thus far investigated (100).

## VII. On the Nature of the Linkage between Lignin and Carbohydrates in Wood.

There are two schools of thought debating this question. On the one hand, there are those who believe that the cellulose of the wood is

Table 16. *Electrophoretic Mobility of Various Lignins in Glycine-NaCl Buffer, pH 10.7 (100).*

Lignin Samples	Mobility (cm. <sup>2</sup> /v.sec) × 10 <sup>-3</sup>	
	Ascending	Descending
Indulin . . . . .	9.9	9.7
White Scots Pine . . . . .	10.2	10.1
Bagasse . . . . .	9.8	9.1
Maple . . . . .	9.3	8.3
Oak . . . . .	8.7	8.2
Cork . . . . .	9.5	8.9

mechanically encased by the encrusting material, lignin. This is known as the *mechanical incrustation theory*. On the other hand, many believe that a chemical linkage exists between cellulose and lignin. The highlights of the work done to support each theory will be briefly presented.

### 1. Chemical Combination.

HARRIS, SHERRARD and MITCHELL (38) have found that methylation of the lignin in the wood is not complete, until the wood has been hydrolyzed. After hydrolysis all the hydroxyl groups present in the lignin can be methylated. This has been taken to indicate that lignin is chemically combined to the carbohydrate portion of the wood.

URBAN (116), found that completely methylated cellulose was soluble in chloroform, whereas methylated lignin was insoluble in this solvent. Therefore, he reacted the wood with dimethyl sulfate until methylation was complete. On extraction of this wood with chloroform, both the methyl lignin and methylcellulose were dissolved without being separated.

The support for a chemical linkage between cellulose and lignin in wood, presented by HIBBERT and co-workers (90), is based on their treatment of oak wood with acetic anhydride, glacial acetic acid and catalytic amounts of sulfuric acid. A fraction soluble in dioxane was found to have, after several precipitations, the same composition of lignin, cellulose and pentosan as that of the wood itself.

PHILLIPS (91) extracted different amounts of lignin from corncobs by altering the concentration of alkali and the temperature of extraction. This was taken by him as evidence in favor of a chemical linkage between the lignin and the carbohydrate.

More recently, BRAUNS and SEILER (12), (13) extracted native lignin from spruce wood and then homogenized the wood in a colloidal mill. A suspension of approximately one gram of colloidal wood per liter of water was obtained. After the colloidal wood was changed to a solid form, it was found that its cell structure was completely destroyed. However, extraction of this wood with ethyl alcohol at room temperature did not yield further quantities of native lignin. These investigators have also reported the isolation of a lignosulfonic acid-carbohydrate compound.

### 2. Physical Association.

That some of the lignin, undoubtedly, is present in a free state in wood, is concluded from the fact that up to 10% of the total native lignin in the wood can be extracted with ethyl alcohol at room temperature. Further support for the incrustation theory is given by NORD in that an additional 23% of the native lignin in white Scots pine wood

can be extracted with ethyl alcohol after fungal decay of the cellulose. This observation would seem to negate the assumption that the unextractable lignin is present in a highly condensed or polymerized form, thus being insoluble in ethyl alcohol (13).

FREUDENBERG (30) has concluded that a chemical linkage between the main part of the cellulose and lignin in spruce wood is impossible. His argument is based on the spatial location of these two components in the cell. HESS (47) propounded a similar argument in that the distance from the cellulose lamella to the lignin intermediate layer is too great to permit a carbon to oxygen linkage.

HERZOG and JANKE (46) found that the intensity of the X-ray spectrum of the wood and of the cellulose in the wood was the same. Thus, they suggested that cellulose is not chemically combined with the lignin of the wood.

Finally, MÜHLETHALER (76) took electron micrographs of various woody tissues, before and after the lignin layer had been removed by mild treatment. The structural arrangement of the cellulose had not been altered, indicating that the cellulose was physically encased by the lignin.

### VIII. Enzymatic Degradation of Native Lignin.

The ideal path to the solution of the problem of the structure of lignin would be the attempt to isolate through degradation studies a dimeric unit of the lignin complex. Such a unit would thus reveal the nature of the linkage, or linkages between the phenylpropane units in lignin. To date all chemical methods of degradation along this line have been to no avail.

Wood-destroying molds are often classified as either "brown rot" or "white rot" fungi, the former assimilating mainly the carbohydrate portion of the wood, while the latter utilizes lignin as its substrate. Several investigators (39), (122) have corroded wood with "white rot" fungi but have not attempted the isolation of lignin degradation products. Moreover, it at once becomes obvious that, even if products were to be isolated, it cannot be stated unequivocally that they were derived from the lignin of the wood, since it is known that "white rots" attack the carbohydrate portion of the wood to a certain extent. In all the work thus far carried out on the microbiological degradation of lignin by fungi, the presence of carbohydrate seemed to be a necessary pre requisite.

Recently, after screening 35 cultures of "white rot" fungi, PELCZAR and co-workers (89) have claimed that *Polyporus abietinus* and *Poria subacida* could be adapted to utilize spruce native lignin as its sole carbon source. This was reported after growing the cultures on a spruce

native lignin-glucose medium with time gradually diminishing the glucose concentration, until native lignin was the only carbon source.

GOTTLIEB and GELLER (34) reported further to have obtained an enzyme preparation from mushroom spawn, which they claim to catalyze a reaction between native lignin and oxygen. They believe that this enzyme is different from other phenol oxidases heretofore studied. It was later reported that the enzyme acts on low molecular weight water soluble compounds closely related to native lignin. The nature of these compounds was, however, not determined (35).

GOTTLIEB and PELCZAR (35) also reported that conidindrin (10), (11), spruce native lignin and sodium lignosulfonate were found to be rapidly depleted by pure cultures of an unidentified bacterium. As much as 90% of the conidindrin disappeared within a ten day growth period. However, PELCZAR et al. (39) were unable to find any intermediates in their experiments describing a utilization of lignin or lignin sulfonates. This latter fact clearly indicates that the well known observation of BAVENDAMM (6) is probably correct and that the "utilization" of these compounds is nothing more than their adsorption on the lower surface of the mycelia.

### IX. Lignification.

A great deal of work is reported in the literature concerning the formation of lignin directly from cellulose or pentosans. PHILLIPS (92), (93), on the basis of his work on annual plants, opposed this theory. According to him, lignin is produced in the plant directly from glucose or sucrose.

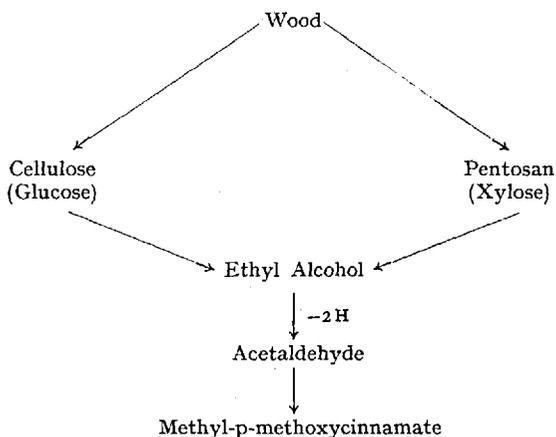
KLASON (59) suggested that coniferyl alcohol could be the lignin progenitor in plant tissues. More recently, the formation of a lignin-like material by the action of mushroom phenol oxidase on coniferyl alcohol was reported (31). It was thought (37) that this material is comparable with the native lignin from the softwood black spruce. This has been taken as support for the contention concerning the biosyntheses of softwood lignin from coniferyl alcohol. If such were the case, it would necessarily follow that softwood lignins are made up completely of guaiacyl units.

However, in the light of the results presented herein, this cannot be stated unequivocally, otherwise it would follow that only guaiacyl type compounds would be obtained as softwood lignin degradation products. It has been found that the native lignin from the softwood white Scots pine also yields p-hydroxybenzaldehyde upon oxidation. Thus, it seems that either coniferyl alcohol is not the only lignin progenitor in woody tissues, or that this coniferyl compound is preceded in the process of

lignification by a simpler, less substituted aromatic system, which in turn is formed from carbohydrates.

A mold used with success in the Fordham laboratories is *Lentinus lepideus*. This mold produces methyl-p-methoxycinnamate, methyl cinnamate and methyl anisate, when grown on pine wood (7). Since a solution of the problem concerning the substrate, from which these compounds were formed, would be of great significance in the elucidation of the mechanism of lignification, the action of *Lentinus lepideus* on glucose and xylose, the hydrolysis products of cellulose and pentosans, respectively, was studied. In both cases methyl-p-methoxycinnamate was formed (120). Furthermore, it was also demonstrated that this mold gave rise to the formation of the same ester, when ethyl alcohol itself served as the substrate (121). Since ethyl alcohol is easily dehydrogenated to acetaldehyde, it was concluded that this two carbon compound was the key intermediate in the enzymatic formation of the ester from carbohydrates. This was confirmed by trapping experiments using dimedon (121).

Thus, the ester is formed from the carbohydrate portion of the wood rather than from lignin.



This evidence demonstrated for the first time the transition from carbohydrates to a methoxylated aromatic ( $C_6-C_3$ ) compound by the action of enzymes. Moreover, it is known that this mold is capable of overcoming the toxic effects of phenolic constituents through the process of methylation (7). Thus, it is a reasonable assumption that methyl-p-hydroxycinnamate is the primary metabolic product of the fungus. Hence, the mechanism of lignification can now be considered to be as follows: carbohydrates are enzymatically transformed via a  $C_2$  fragment to a p-hydroxyphenylpropane unit. This primary lignin progenitor then can undergo methoxylation to give a guaiacyl unit (19). These two

aromatic building stones in turn could form lignin by repeated condensations.

Evidence for this consideration lies in the fact that the basic structure of methyl-p-methoxycinnamate is analogous to that of a p-hydroxyphenylpropane unit from which p-hydroxybenzaldehyde could arise upon oxidation. This consideration supports and amplifies the experimental findings embodied in the phase sequence devised previously (79).

Moreover, these results verify PHILLIPS' prediction concerning the formation of lignin in the leaves and stalks of barley (92). On the basis of his preliminary studies on the variation of the methoxyl content of this plant at different periods of growth, PHILLIPS rejected KLASON'S hypothesis that a coniferyl type compound is the primary lignin progenitor. If such a methoxylated aromatic compound were the only lignin precursor, then the percentage of methoxyl in lignin should remain substantially constant. His results demonstrate that this is not the case<sup>1</sup>. Thus, PHILLIPS postulated that "it appears more probable that several intermediate substances are utilized by the plant in the synthesis of lignin. These substances do not contain the same percentage of methoxyl, and some may be entirely free of methoxyl. In the process of synthesis of lignin by the plant, these building stones are combined in different proportions during the development of the plant".

### References.

1. ADKINS, H.: Reactions of Hydrogen, p. 47. Madison, Wis.: University of Wisconsin Press 1937.
2. ALLSOPP, A.: Formation of Oxalic Acid by *Aspergillus niger*. New Phytologist **36**, 327 (1937).
3. APENITIS, A., H. ERDTMAN and B. LEOPOLD: The Decay of Spruce Wood by Brown-rotting Fungi. Svensk kem. Tid. **63**, No. 9, 195 (1951).
4. AULIN-ERDTMAN, G.: Ultraviolet Spectroscopy of Lignin and Lignin Derivatives. Techn. Assoc. Pulp. Paper Ind. **32**, 160 (1949).
5. BARTON-WRIGHT, E. C., and J. G. BOSWELL: The Biochemistry of Dry-Rot in Wood. II. An Investigation of the Products of Decay of Spruce Wood Rotted by *Merulius lacrymans*. Biochem. J. **25**, 494 (1931).
6. BAVENDAMM, W.: Ein Beitrag zur Frage der Krankheitsempfänglichkeit unserer Holzpflanzen. Zbl. Bakter. II. Abt. **76**, 172 (1928).
7. BIRKINSHAW, J. H., and W. P. K. FINDLAY: Biochemistry of Wood-rotting Fungi. I. Metabolic Products of *Lentinus lepideus*. Biochem. J. **34**, 82 (1940).
- 7a. BLACK, R. A., A. A. ROSEN and S. L. ADAMS: The Chromatographic Separation of Hardwood Extractive Components Giving Color Reactions with Phloroglucinol. J. Amer. chem. Soc. **75**, 5344 (1953).

<sup>1</sup> The data presented in a recent communication by FREUDENBERG et al. (32) show that the methoxyl content of the dehydrogenation polymers of coniferyl alcohol do not change with condensation time. However, their reference to p-hydroxycinnamyl alcohols seems to indicate their appreciation of the significance of a p-hydroxyphenylpropane unit in the mechanism of lignin formation.

8. BONDI, A., and H. MEYER: Lignins in Young Plants. *Biochem. J.* **43**, 248 (1948).
9. BRAUNS, F. E.: The Isolation and Methylation of Native Lignin. *J. Amer. chem. Soc.* **61**, 2120 (1939).
10. — The Native Lignin from Western Hemlock (*Tsuga heterophylla*). *J. org. Chemistry* **10**, 211 (1945).
11. — The Occurrence of Conidendrin in Western Hemlock (*Tsuga heterophylla*). *J. org. Chemistry* **10**, 216 (1945).
12. —, and H. SEILER: Reactions with Homogenized Spruce Wood. XII. International Congress of Pure and Appl. Chem., Abstract of Papers, Plant and Cell Wall Division, 618 (1951).
13. — — Techn. Assoc. Pulp. Paper Ind. **35**, No. 2, 67 (1952).
14. — The Chemistry of Lignin, p. 15. New York: Academic Press 1952.
15. — The Chemistry of Lignin, p. 621—672. New York: Academic Press 1952.
16. — The Chemistry of Lignin, p. 192. New York: Academic Press 1952.
17. BRAY, M. W.: Methods for the Chemical Analysis of Pulps and Pulpwoods. Forest Prod. Labor. Madison, Wis. 1939.
18. BUCHANAN, M. A., F. E. BRAUNS and R. L. LEAF: Native Aspen Lignin. *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 1297 (1949).
19. BYERRUM, R. U., and J. H. FLOKSTRA: Possible Origin of the Methoxyl Carbon of Lignin in Barley (*Hordeum vulgare*). *Fed. Proc.* **11**, 193 (1952).
20. CREIGHTON, R. H. J., R. D. GIBBS and H. HIBBERT: Studies on Lignin and Related Compounds. LXXV. Alkaline Nitrobenzene Oxidation of Plant Materials and Application to Taxonomic Classification. *J. Amer. chem. Soc.* **66**, 32 (1944).
21. —, and W. HIBBERT: Studies on Lignin and Related Compounds. LXXVI. Alkaline Nitrobenzene Oxidation of Cornstalks. Isolation of p-Hydroxybenzaldehyde. *J. Amer. chem. Soc.* **66**, 37 (1944).
22. DE BAUN, R. M., S. F. KUDZIN and W. J. SCHUBERT: On the Mechanism of Enzyme Action. XLI. A Rôle of  $\alpha$ -Ketoglutaric Acid in the Carbohydrate Metabolism of Wood-Destroying Molds. *Arch. Biochem.* **26**, 375 (1950).
23. —, and G. DE STEVENS: Co-determination of Resazurin and Resorufin in Enzymatic Dehydrogenation Experiments. *Arch. Biochem. Biophysics* **31**, 300 (1951).
24. —, and F. F. NORD: Investigations on Lignin and Lignification. V. Lignin of Cork. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 1358 (1951).
25. FALCK, R.: Über korrosive und destruktive Holz-Zersetzung. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **44**, 652 (1927).
26. FREUDENBERG, K., H. ZOCHER u. W. DÜRR: Weitere Versuche mit Lignin. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **62**, 1814 (1929).
27. —, K. ENGLER, E. FLICKINGER, A. SOBEK u. F. KLINK: Der Abbau des Fichten-Lignins zu Phenolcarbonsäuren. XVII. Mitt. über Lignin. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **71**, 1810 (1938).
28. — Über Lignin. *Angew. Chem.* **51**, 362 (1939).
29. —, u. R. KRAFT: Methyliertes Fichtenlignin und seine künstliche Nachbildung. *Chem. Ber.* **83**, 530 (1950).
30. — Tannin, Zellulose, Lignin, p. 139. Berlin: Springer 1933.
31. — Die Bildung ligninähnlicher Stoffe unter physiologischen Bedingungen. *Sitzgsber. Heidelb. Akad. Wiss.* **1949**, Nr. 5.
32. —, u. H. H. HUEBNER: Oxyzimtalkohole und ihre Dehydrierungs-polymerisate. *Chem. Ber.* **85**, 1181 (1952).
33. GLADING, R. E.: Ultraviolet Absorption Spectra of Lignin and Lignin Derivatives. *Paper Trade J.* **111**, No. 23, 32 (1940).

34. GOTTLIEB, S., and J. H. GELLER: Enzymic Decomposition of Lignin. *Science* **110**, 189 (1949).
35. —, and M. PELCZAR JR.: Microbiological Aspects of Lignin Degradation. *Bacteriol. Rev.* **15**, 55 (1951).
36. HÄGGLUND, E.: Beiträge zur Kenntnis des Lignins. *Arkiv. Kemi. Mineral. Geol.* **7**, No. 8, 1 (1918).
37. — *Chemistry of Wood*, p. 194. New York: Academic Press 1951.
38. HARRIS, E. E., E. C. SHERRARD and R. L. MITCHELL: Some Chemical Reactions of Maple and Spruce Lignin. *J. Amer. chem. Soc.* **56**, 889 (1934).
39. HARTIG, R.: *Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten*, 3. Aufl., S. 173. Berlin: Springer 1900.
40. HERZOG, R. O., and A. HILLMER: Das ultraviolette Absorptionsspektrum des Lignins. I. *Ber. dtsh. chem. Ges. B* **60**, 365 (1927).
41. — — Über das ultraviolette Absorptionsspektrum des Lignins und von Körpern mit dem Coniferylrest. *Z. physiol. Chem.* **168**, 117 (1927).
42. — — Zur Kenntnis des Lignins. II. *Ber. dtsh. chem. Ges. B* **62**, 1600 (1929).
43. — — Zur Kenntnis des Lignins. III. *Ber. dtsh. chem. Ges. B* **64**, 1288 (1931).
44. — — Zur Kenntnis des Lignins. IV. *Papier-Fabrikant (Fest- und Auslandsheft)* **29**, 40 (1931).
45. — — Zur Kenntnis des Lignins. V. *Papier-Fabrikant* **30**, 205 (1932).
46. —, and W. JANKE: Über den physikalischen Aufbau einiger hochmolekularer organischer Verbindungen. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **53**, 2163 (1920).
47. HESS, K.: Ist das Holz ein einheitlicher Rohstoff? *Holzforsch.* **2**, 44 (1948).
48. HEUSER, E.: Unsolved Cellulose Problems. *Techn. Assoc. Pulp. Paper Ind., Monograph "Wood Components"* **1948**, No. 6, 1—74.
49. —, R. SCHMITT u. L. GUNKEL: Die Methylierung des Lignins. *Cellulosechemie* **2**, 82 (1921).
50. HILLMER, A.: Zur Kenntnis des Lignins. VI. *Ber. dtsh. chem. Ges. B* **66**, 1600 (1933).
51. —, u. P. SCHORNING: Ultraviolette Absorptions-Spektren einiger aromatischer Substanzen. I. *Z. physik. Chem. A* **167**, 407 (1933).
52. — — Ultraviolette Absorptions-Spektren einiger aromatischer Substanzen. II. *Z. physik. Chem. A* **168**, 81 (1934).
53. HILPERT, R. S.: Über die Zusammensetzung der pflanzlichen Zellwand. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **69**, 1509 (1936).
54. JONES jr., E. J.: The Ultraviolet Absorption Spectra of Complex Hydroxy Aromatic Compounds and Derivatives. *Techn. Assoc. Pulp. Paper Ind.* **32**, 311 (1949).
55. — The Infrared Spectrum of Spruce Native Lignin. *Techn. Assoc. Pulp. Paper Ind.* **32**, 167 (1949).
56. — *Dissertation. Inst. Paper Chem., Appleton, Wis.* 1949.
57. KALB, L., and T. LIESER: Zur Isolierung des Lignins. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **61**, 1007 (1928).
58. —, F. NEVELY and O. TOURSEL: Über die Aufnahme von Basen durch Willstaetter-Lignin und die damit verbundenen Quellungserscheinungen. *Cellulosechemie* **12**, 1 (1931).
59. KLASON, P.: On sulfitecelluloseafamställningens teori samt om granvedens eteriska olja. *Svensk kem. Tids.* **9**, 133 (1897).
60. — Über den Ligningehalt des Fichtenholzes. *Cellulosechemie* **4**, 81 (1923).
61. — Beiträge zur näheren Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Fichtenholzes. *Arkiv Kemi. Mineral. Geol.* **3**, No. 5, 1 (1908).

62. KREBS, H. A.: The Effect of Inorganic Salts on the Ketone Decomposition of Oxalacetic Acid. *Biochem. J.* **36**, 303 (1942).
63. KUDZIN, S. F., and F. F. NORD: Investigations on Lignin and Lignification. IV. Studies on Hardwood Lignin. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 690 (1951).
64. — — Investigations on Lignin and Lignification. VII. Characterization of Enzymatically Liberated Hardwood Lignins. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 4619 (1951).
65. — —, R. M. DE BAUN and F. F. NORD: Investigations on Lignin and Lignification. VI. The Comparative Evaluation of Native Lignins. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 4615 (1951).
66. KÜRSCHNER, K.: Die Darstellung größerer Mengen von Vanillin aus Sulfitablage. *J. prakt. Chem.* (2) **118**, 238 (1928).
67. — — Schwankende Grundlagen der gesamten Lignin Chemie? Bemerkung zu den Veröffentlichungen R. S. HILPERTS. *Zellstoff-Faser* **32**, 19 (1935).
68. LANGE, P. W.: Ultravioletabsorption av fast Lignin. *Svensk Papperstidn.* **48**, 241 (1945).
69. LEMON, H. W.: The Effect of Alkali on the Ultraviolet Absorption Spectra of Hydroxyaldehydes, Hydroxyketones and other Phenolic Compounds. *J. Amer. chem. Soc.* **69**, 2998 (1947).
70. LEOPOLD, B.: Oxidation of Wood from *Picea abies* (L) Karst. with Nitrobenzene and Alkali. *Acta chem. scand.* **6**, 38 (1952).
71. — — Studies on Lignin. XIV. The Composition of Douglas Fir Wood Digested by the West Indian Dry-Wood Termite (*Cryptoterms brevis* WALKER). *Svensk Papperstidn.* **55**, No. 20, 784 (1952).
72. LEWIS, H. J.: Lignin — An Economic Liability or Chemical Asset. *Chem. Engng. News* **23**, No. 12, 1074 (1945).
73. LIPMANN, F.: Biosynthetic Mechanisms. *Harvey Lect.*, Ser. XLIV 1949, 99.
74. LYNEN, F., u. FR. LYNEN: Zum biologischen Abbau der Essigsäure. IV. Die Bildung von Oxalsäure durch *Aspergillus niger*. *Liebigs Ann. Chem.* **560**, 149 (1948).
75. MORTON, R. A., and A. L. STUBBS: Absorption Spectra of Hydroxyaldehydes, Hydroxy-ketones and their Methyl Ethers. *J. chem. Soc.* **1940**, 1347.
76. MÜHLETHALER, K.: Electron Micrographs of Plant Fibers. *Biochem. biophysica Acta* **3**, 15 (1949).
77. NORD, F. F., and J. C. VITUCCI: Certain Aspects of the Microbiological Degradation of Cellulose. *Adv. Enzymol.* **8**, 253 (1948).
78. — —, and L. J. SCIARINI: On the Mechanism of Enzyme Action. Part. 27. The Action of Certain Wood-Destroying Fungi on Glucose, Xylose, Raffinose and Cellulose. *Arch. Biochem.* **9**, 419 (1946).
79. — —, and W. J. SCHUBERT: Enzymatic Studies on Cellulose, Lignin, and the Mechanism of Lignification. *Holzforsch.* **5**, 1 (1951).
80. — —, and G. DE STEVENS: Studies on Lignin and Lignification. *Trans. N.Y. Acad. Sci.* (2), **14**, 97 (1951).
81. — — On the Mechanism of Lignification. *Naturwiss.* **39**, 479 (1952).
82. NORMAN, A. G., and W. H. FULLER: Cellulose Decomposition by Microorganisms. *Advances in Enzymol.* **2**, 239 (1942).
83. PATTERSON, R. F., and H. HIBBERT: Studies on Lignin and Related Compounds. LXXII. The Ultraviolet Absorption Spectra of Compounds Related to Lignin. *J. Amer. chem. Soc.* **65**, 1862 (1943).
84. PAYEN, A.: Mémoire sur la Composition du Tissu propre des Plantes et du Ligneux. *C. R. hebd. Séances Acad. Sci.* **7**, 1052 (1838).
85. — — Sur un Moyen d'isoler le Tissu élémentaire des Bois. *C. R. hebd. Séances Acad. Sci.* **7**, 1125 (1838).

86. PAYEN, A.: Über die Zusammensetzung der Holzsubstanz. J. prakt. Chem. **16**, 436 (1839).
87. PEARL, I. A., and D. BEYER: Reactions of Vanillin and Derived Compounds. VII. Some New Esters of Vanillic Acid and Related Acids. J. Amer. chem. Soc. **71**, 1066 (1949).
88. PELCZAR jr., M. J., S. GOTTLIEB and W. C. DAY: The Biological Degradation of Lignin. I. Utilization of Lignin by Fungi. Arch. Biochem. **23**, 360 (1949).
89. — — Growth of *Polyporus versicolor* in a Medium with Lignin as the Sole Carbon Source. Arch. Biochem. **25**, 449 (1950).
90. PENISTON, Q. P., J. L. MCCARTHY and H. HIBBERT: Fractionation of Acetylated Cell Wall Constituents of Red Oak Wood. J. Amer. chem. Soc. **62**, 2284 (1940).
91. PHILLIPS, M.: The Chemistry of Lignin. I. Fractional Extraction of Lignin from Corncobs. J. Amer. chem. Soc. **50**, 1986 (1928).
92. —, and M. J. GOSS: Composition of the Leaves and Stalks of Barley at Successive Stages of Growth with Special Reference to the Formation of Lignin. J. agric. Res. **51**, 301 (1935).
93. — — and H. STEVENS: Composition of the Various Parts of the Oat Plant at Successive Stages of Growth with Special Reference to the Formation of Lignin. J. agric. Res. **59**, 319 (1939).
94. POWELL, W. J., and H. WHITTAKER: XXII. The Chemistry of Lignin. Part II. A Comparison of Lignins Derived from Various Woods. J. chem. Soc. **127**, 132 (1925).
95. PRINGSHEIM, H.: Über den fermentativen Abbau der Zellulose. Z. physiol. Chem. **78**, 268 (1912).
96. RANBY, B. G.: Fine Structure and Reactions of Native Cellulose. Diss. Uppsala 1952.
97. RICHTZENHAIN, H.: Zur Konstitution des Fichtenlignins. Acta chem. scand. **4**, 589 (1950).
98. SCHUBERT, W. J., and F. F. NORD: Investigations on Lignin and Lignification. I. Studies on Softwood Lignin. J. Amer. chem. Soc. **72**, 977 (1950).
99. — — Investigations on Lignin and Lignification. II. The Characterization of Enzymatically Liberated Lignin. J. Amer. chem. Soc. **72**, 3835 (1950).
100. —, A. PASSANNANTE, G. DE STEVENS, M. BIER and F. F. NORD: Investigations on Lignin and Lignification. XIII. Electrophoresis of Native and Enzymatically Liberated Lignins. J. Amer. chem. Soc. **75**, 1869 (1953).
101. SHERRARD, E. C., and E. E. HARRIS: Factors Influencing Properties of Isolated Wood Lignins. Ind. Engng. Chem. **24**, 103 (1932).
102. SKARZYNSKI, B.: Spektrographische Untersuchung von Flavonfarbstoffen. Biochem. Z. **301**, 150 (1939).
103. SMITH, V. M.: On the Mechanism of Enzyme Action. XXXVI. Dehydrogenation Studies on *Mercutius lacrymans* and *Marasmius chordalis* and the Mechanism of Oxalic Acid Formation. Arch. Biochem. **22**, 275 (1949).
104. STAMM, A. J., J. SEMB and E. E. HARRIS: Absorption Spectra of Lignin Solutions. J. phys. Chem. **36**, 1574 (1932).
105. STERN, J. R., B. SHAPIRO and S. OCHOA: Synthesis and Breakdown of Citric Acid with the Crystalline Condensing Enzyme. Nature **166**, 403 (1950).
106. STEVENS, G. DE, R. M. DEBAUN and F. F. NORD: On the Mechanism of Enzyme Action. XLV. The Rôle of Certain Dicarboxylic Acids in the Formation of Oxalic Acid by Wood-Destroying Molds. Arch. Biochem. Biophysics **33**, 304 (1951).

107. STEVENS, G. DE and F. F. NORD: Investigations on Lignin and Lignification. VIII. Isolation and Characterization of Bagasse Native Lignin. J. Amer. chem. Soc. **73**, 4622 (1951).
108. — — Investigations on Lignin and Lignification. IX. The Relationship between the Action of Brown Rot Fungi, Cellulose Degradation, and Lignin Composition in Bagasse. J. Amer. chem. Soc. **74**, 3326 (1952).
109. — — Investigations on Lignin and Lignification. XI. Structural Studies on Bagasse Native Lignin. J. Amer. chem. Soc. **75**, 305 (1953).
110. — — Investigations on Lignin and Lignification. X. The Isolation and Characterization of the Native Lignin from Kiri Wood. J. Amer. chem. Soc. **74**, 3447 (1952).
111. — — Investigations on Lignin and Lignification. XII. A Study of Lignin Formation Based on the Oxidation of Native and Enzymatically Liberated Lignins. Proc. nat. Acad. Sci. USA. **39**, 80 (1953).
112. STONE, J. E., M. J. BLUNDELL and K. G. TANNER: Formation of Lignin in Wheat Plants. Canad. J. Chem. **29**, 734 (1951).
113. — — Rapid Micromethod for Alkaline Nitrobenzene Oxidation of Lignin and Determination of Aldehydes. Analytic. Chem. **23**, 771 (1951).
114. STRAUB, F. B.: Quantitative Methoden zur Untersuchung der Fumarsäurekatalyse. Z. physiol. Chem. **244**, 117 (1936).
115. THUNBERG, T.: Zur Kenntnis des intermediären Stoffwechsels und der dabei wirksamen Enzyme. Skand. Arch. Physiol. **40**, 1 (1920).
116. URBAN, H.: Zur Kenntnis des Fichtenholzes. Cellulosechemie **7**, 73 (1926).
117. VITUCCI, J. C.: Diss. Fordham University. New York, N.Y. 1949.
118. —, E. SODI PALLARES and F. F. NORD: On the Mechanism of Enzyme Action. Part 28. Application of Resazurin to the Study of Dehydrogenations by Certain *Merulii* and *Fomes annosus*. Arch. Biochem. **9**, 439 (1946).
119. —, and F. F. NORD: On the Mechanism of Enzyme Action. XXIX. The Acetate Metabolism of Certain Wood-Destroying Molds and the Mechanism of Wood Decay. Arch. Biochem. **14**, 229 (1947).
120. — — On the Mechanism of Enzyme Action. XXX. The Formation of Methyl p-Methoxycinnamate by the Action of *Lentinus lepideus* on Glucose and Xylose. Arch. Biochem. **14**, 243 (1947).
121. — — On the Mechanism of Enzyme Action. XXXI. The Mechanism of Methyl p-Methoxycinnamate Formation by *Lentinus lepideus* and its Significance in Lignification. Arch. Biochem. **14**, 465 (1947).
122. WARD, M. V.: On the Biology of *Stereum hirsutum* (Fr.). Philos. Trans. Roy. Soc. (London) B **189**, 123 (1897).
123. WEINHOUSE, S., and K. F. LEWIS: Assimilation of Carbon Dioxide in Oxalate and Citrate by *Aspergillus niger*. J. Amer. chem. Soc. **73**, 290 (1951).

(Completed July 1953.)

DR. GEORGE DE STEVENS and Prof. Dr. F. F. NORD.  
Department of Organic Chemistry and Enzymology  
Fordham University, New York 58, N.Y.

# Die Anwendung von Isotopen in der organischen Chemie.

Von

FRIEDRICH WEYGAND und HANS GRISEBACH.

## Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Einleitung . . . . .	110
II. Umlagerungsreaktionen . . . . .	113
1. CLAISEN-Umlagerung . . . . .	113
2. WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung . . . . .	115
3. Umlagerung von 2,2-Diaryläthylaminen . . . . .	119
4. WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung von Camphenhydrochlorid . . . . .	120
5. Racemisierung von Camphen . . . . .	120
6. Umlagerungen von $\alpha$ -Diketonen . . . . .	121
a) Umlagerung von Phenylglyoxal in Mandelsäure . . . . .	121
b) Umlagerung von unsymmetrischen $\alpha$ -Diketonen (Benzilsäure- umlagerung) . . . . .	121
7. Umlagerung bei der Desaminierung von Phenyläthylaminen mit salpetriger Säure . . . . .	123
8. Desaminierung von Äthylamin und n-Propylamin mit salpetriger Säure. . . . .	123
9. Umlagerung der Kohlenstoffkette bei t-Butyl- und t-Amylderivaten	124
10. Isomerisierung von Propan und n-Butan . . . . .	125
11. Umlagerung bei der Hydrolyse von Butanol-2-p-toluolsulfosäureester	126
12. Umlagerung bei der Überführung von Allylalkohol in Allylhalogenide	126
13. FAVORSKY-Reaktion . . . . .	127
14. TIFFENEAU-Umlagerung . . . . .	127
15. ROWE-Umlagerung . . . . .	127
16. Abbau nach CURTIUS . . . . .	128
17. ARNDT-EISSERT-Synthese . . . . .	128
18. BECKMANNsche Umlagerung. . . . .	129
19. Benzidinumlagerung . . . . .	129
20. WILLGERODT-Reaktion . . . . .	130
21. Umlagerung von Chloralchinaldin zu 3-Acetyl-1,2-dihydrochinolin- 2-carbonsäure . . . . .	131
22. Umlagerung von $\beta$ -Glycerinphosphorsäure in die $\alpha$ -Form . . . . .	133
23. Umlagerung von 2-Monopalmitin in 1-Monopalmitin . . . . .	133
24. Hexoseumlagerung in schwerem Wasser . . . . .	133
25. Bildung der Saccharinsäuren . . . . .	134
26. „Umlagerung“ von Diazoamidobenzol in p-Aminoazobenzol . . . . .	134
27. „Umlagerung“ von N-Chloracetamid . . . . .	135
III. Verlauf von Synthesen . . . . .	135
1. FISCHERSche Indolsynthese und Synthese von 2-Aminoazobenzol . . . . .	135
2. Anilin aus Chlorbenzol . . . . .	136
3. Methylierung von Aminen mit Formaldehyd und Ameisensäure . . . . .	137
4. 9-Oxymethyl-fluoren aus 9-Formyl-fluoren mit Formaldehyd . . . . .	137
5. Bildung von $\alpha$ -Acylaminoketonen aus $\alpha$ -Aminosäuren . . . . .	137

	Seite
6. Bildung von Acetaldehyd aus Bariumacetat und Bariumformiat durch Pyrolyse . . . . .	138
7. Synthese der 2-Oxy-naphthalin-3-carbonsäure aus $\beta$ -Naphtholnatrium. . . . .	138
8. Methylierung von Stilböstrol mit Diazomethan . . . . .	140
9. Darstellung von Propen-1-[1- $^{14}\text{C}$ ] . . . . .	140
10. Reduktion nach MEERWEIN-PONNDORF-VERLEY . . . . .	140
11. MANNICH-Reaktion . . . . .	141
12. CANNIZZARO-Reaktion . . . . .	141
13. Synthese der Pteroyl-l-glutaminsäure . . . . .	141
14. Harnsäuresynthesen . . . . .	142
15. ELBS-Reaktion . . . . .	143
16. FRIEDEL-CRAFTS-Synthese . . . . .	143
17. MENSCHUTKIN-Reaktion . . . . .	143
18. Alkalischmelze der Arylsulfonsäuren . . . . .	144
19. Die Reaktion zwischen Isocyanaten und Carbonsäuren . . . . .	144
20. KOLBE-Synthese . . . . .	144
21. Transaminierung . . . . .	145
22. FISCHER-TROPSCH-Synthese . . . . .	146
23. Polymerisation von Allylverbindungen . . . . .	147
24. Kettenanstoß bei der Emulsionspolymerisation von Styrol . . . . .	148
25. Vinylpolymerisation durch Azobisnitrile als Startmittel . . . . .	148
26. Osotriazolbildung aus Osazonen . . . . .	148
27. Weitere Synthesen . . . . .	149
a) Veresterung . . . . .	149
b) Darstellung von Kaliumcyanat . . . . .	149
c) Bildung des Diphenyl-jodonium-ions . . . . .	149
d) Xanthogenatbildung . . . . .	149
e) Ätherbildung . . . . .	150
f) Chlorierung von 2-Methyl-propen-1 . . . . .	150
28. Bestimmung der Ausbeute einer chemischen Reaktion mit Hilfe der radioaktiven Verdünnungsanalyse . . . . .	150
IV. Austauschreaktionen . . . . .	151
1. Tautomerie . . . . .	151
2. Deuteriumaustausch bei der Chlorwasserstoffabspaltung aus $\beta$ -Benzolhexachlorid . . . . .	153
3. Enolisierung und Aldolkondensation . . . . .	154
4. Austausch zwischen der Formamidogruppe und Formamid . . . . .	154
5. WALDENSche Umkehrung . . . . .	154
6. Austausch im Chinhydrongkomplex . . . . .	155
7. Austausch von Wasserstoff bei Trioxy- und Dioxybenzolen . . . . .	155
8. Austausch von Phenylhydrazinresten bei Zuckerosazonen . . . . .	156
9. Austauschreaktionen bei Kohlenwasserstoffen . . . . .	156
10. Austauschreaktionen bei Carbonsäuren . . . . .	158
11. Sonstige Austauschreaktionen . . . . .	158
V. Strukturbeweise . . . . .	161
1. Struktur von Diketen . . . . .	161
2. Struktur des Phenylazids . . . . .	162
3. Struktur von Tribromphenol-brom . . . . .	163
VI. Abbau- und Zersetzungsreaktionen . . . . .	163
1. Einwirkung von Bromwasserstoffsäure auf d-Glucose . . . . .	163

2. Bildung von Milchsäure bei der Einwirkung von Alkali auf Kohlenhydrate . . . . .	164
3. Zersetzung von Diacetylperoxyd in Essigsäure . . . . .	165
4. Decarboxylierung von Diphenyl-triketon . . . . .	165
5. Oxydation der Harnsäure . . . . .	166
6. Decarboxylierung von Brenztraubensäureester . . . . .	167
7. Oxydation und Decarboxylierung von Säuren . . . . .	167
8. Spaltung der 1.2-Glykole . . . . .	168
9. Esterhydrolyse . . . . .	169
10. Lactonhydrolyse . . . . .	169
11. Thermische Zersetzung von Hydrazobenzol . . . . .	170
12. Zersetzung von Phenylhydrazin . . . . .	170
13. Crackmechanismus von N.N-Diphenylhydrazin . . . . .	171
14. Desaminierung von Diazoniumsalzen mit Hypophosphorsäure . . . . .	171
15. Photolyse . . . . .	171
VII. Isotopieeffekt . . . . .	172
1. Normaler Isotopieeffekt . . . . .	172
2. Anomaler Isotopieeffekt . . . . .	174
3. Anwendung des Isotopieeffektes zur Aufklärung von Reaktionsmechanismen . . . . .	174
Literatur . . . . .	175

## I. Einleitung.

In der Biochemie ist in den letzten Jahren die Anwendung der Isotopen stark in den Vordergrund getreten. Ohne dieses Hilfsmittel hätte man z. B. die Photosynthese oder die Bildungsweise und den Stoffwechsel einzelner Verbindungen gar nicht aufklären können. Dagegen war es in der organischen Chemie auch mit den klassischen Methoden noch möglich, die Forschung erheblich voranzutreiben. Doch sind auch hier schon, wie im folgenden gezeigt wird, mit Hilfe der Isotopentechnik wesentliche Erkenntnisse gewonnen worden (8), (18), (177), (181), (206).

Schon im Jahre 1920 konnten HEVESY und ZECHMEISTER (97) mit Hilfe des Bleisotops ThB zeigen, daß zwischen dem Blei im Tetraphenylblei und Bleionen in Amylalkohol kein Austausch stattfindet. Doch war man damals auf die natürlich vorkommenden radioaktiven Isotope beschränkt, weshalb die neuartige Methodik keine allgemeine Anwendung finden konnte. Erst nach der Entdeckung der künstlichen Radioaktivität und der darauffolgenden Auffindung zahlreicher neuer Kernreaktionen standen auch radioaktive Isotope anderer Elemente zur Verfügung (etwa ab 1937). Allerdings waren die mit dem Cyclotron oder mit Hochspannungsanlagen zu gewinnenden Mengen an radioaktiven Isotopen zu klein, um eine allgemeine Verbreitung der Isotopentechnik zu gestatten. Durch die Entdeckung der Kernspaltung durch HAHN und STRASSMANN und die daraufhin erfolgende Einrichtung von Uranmeilern (Piles) in USA., in England und Kanada, die Neutronenquellen von bis

dahin unbekanntem Ausmaß darstellen, wurden schließlich die radioaktiven Isotope, vor allem der für die organische Chemie so wichtige Kohlenstoff  $^{14}\text{C}$ , in größeren Mengen zugänglich. Ebenso wurden durch die Entwicklung neuartiger Methoden (etwa ab 1930) die stabilen Isotope von Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Kohlenstoff verfügbar (Elektrolyse zur Gewinnung von Deuterium, Austauschverfahren von UREY, CLUSIUS-DICKEL'Sches Trennrohr, Diffusionsverfahren, elektromagnetische Trennanlagen).

Die durch die Verwendung von Isotopen in der organischen Chemie gegebenen Möglichkeiten lassen sich folgendermaßen gruppieren: Es kann leicht geprüft werden, ob eine Verbindung (z.B. ein Katalysator oder ein Lösungsmittel) an einer Reaktion teilnimmt und im Endprodukt erscheint. Umlagerungsreaktionen können ohne die Einführung störender oder die Reaktion beeinflussender Substitutionen untersucht werden. Es lassen sich Strukturbeweise ausführen, was unter Umständen nach anderen Methoden unmöglich ist (z.B. beim Phenylazid). Der Verlauf von Synthesen läßt sich studieren, wobei die Reihenfolge, in der die einzelnen Atome zweier Reaktionspartner im Endprodukt erscheinen, festgelegt werden kann. Auch zum Studium von Austauschreaktionen

nach dem Schema  $\text{RX} + \overset{*}{\text{X}} \rightarrow \text{R}\overset{*}{\text{X}} + \text{X}$  ist die Isotopenmarkierung unentbehrlich. Hierbei ist besonders der Austausch von Wasserstoff gegen Deuterium wichtig, der zum Nachweis der Beteiligung eines Carbanions (durch Abspaltung von  $\text{H}^{(+)}$ ) an einer Reaktion dienen kann. Schließlich können sog. Kreuzversuche zur Prüfung der Frage, ob eine Reaktion intra- oder intermolekular ist, durch Isotopenmarkierung wesentlich erleichtert werden. In besonderen Fällen ist es auch möglich, aus der Veränderung der Geschwindigkeitskonstanten, die durch die Substitution mit einem Isotop bewirkt wird, dem Isotopieeffekt, Rückschlüsse auf den Reaktionsmechanismus zu ziehen.

In den meisten Fällen muß man zunächst die Ausgangsverbindung mit dem Isotop an der gewünschten Stelle synthetisieren. Hierzu sind in den letzten Jahren zahlreiche neue Methoden ausgearbeitet worden (40), (215). Da man bei solchen Synthesen damit rechnen muß, daß eine nicht vorausgesehene Verteilung des Isotops eintreten kann, muß man vor Beginn der weiteren Untersuchungen auf jeden Fall durch einen geeigneten Abbau feststellen, ob das eingeführte Isotop tatsächlich nur an der gewünschten Stelle im Molekül sitzt. So entsteht z.B. bei der Dehydratisierung von Propanol-[1- $^{14}\text{C}$ ] mit Metaphosphorsäure oder mit erhitztem Aluminiumoxyd nicht nur das erwartete Propen-1-[1- $^{14}\text{C}$ ], sondern daneben auch das Propen-1-[3- $^{14}\text{C}$ ]. Die Pyrolyse von n-Propyl-[1- $^{14}\text{C}$ ]-trimethylammoniumhydroxyd liefert dagegen nur Propen-1-[1- $^{14}\text{C}$ ] (83). Ferner fand LOFTFIELD (129) bei der Darstellung von

Cyclopentancarbonsäure-[1- $^{14}\text{C}$ ] aus Cyclopentanol-[1- $^{14}\text{C}$ ] über Cyclopentylbromid, Cyclopentylcyanid und Verseifung, daß 20% der Aktivität sich in den Methylengruppen des Ringes befanden. Dies ergab sich durch einen Abbau mit Stickstoffwasserstoffsäure zu Putrescin.

Die Auswahl des zu verwendenden Isotops richtet sich naturgemäß nach der zu untersuchenden Reaktion. Am häufigsten wird neben dem stabilen Isotop des Kohlenstoffs  $^{13}\text{C}$  der radioaktive Kohlenstoff  $^{14}\text{C}$  angewandt, der infolge seiner großen Halbwertszeit von über 5000 Jahren innerhalb der Versuchszeiten praktisch keinen Abfall an Aktivität zeigt. Bei der Untersuchung chemischer Reaktionen wird man hierbei im allgemeinen mit einer Aktivität von 1 mC pro Mol auskommen. Bei dieser geringen Aktivität fällt auch die durch die ausgesandte  $\beta$ -Strahlung und die sich unter Umständen anschließende Kettenreaktion zu erwartende Eigenzersetzung der markierten Verbindungen nicht ins Gewicht (201a), (128a), (205). Sind an der zu untersuchenden Reaktion Stickstoff-, Sauerstoff- oder Wasserstoffatome unmittelbar beteiligt, so ist man auf die Anwendung der stabilen Isotope dieser Elemente angewiesen. Das Tritium ( $^3\text{H}$ ) wird nur bei wenigen Untersuchungen verwendet, da infolge der dreimal so großen Masse gegenüber dem gewöhnlichen Wasserstoff ( $^1\text{H}$ ) und dem dadurch bedingten großen Isotopieeffekt die Geschwindigkeitskonstanten zu stark beeinflußt werden.

Bei der Durchführung der Reaktionen ist besonders auf unerwartete Austauschreaktionen zu achten, die unter Umständen eine Untersuchung zunichte machen können. Nach beendeter Reaktion wird durch einen geeigneten Abbau die Stellung des Isotops ermittelt, wobei gerade bei den Abbaureaktionen geprüft werden muß, ob eine nachträgliche Verteilung des Isotops stattfindet oder ob etwa andere Atomgruppierungen als die gewünschten erfaßt werden (z. B. bei einem oxydativen Abbau), wodurch sich eine falsche Verteilung des Isotops ergeben kann. So ist z. B. bei der Decarboxylierung von Phenyllessigsäure-[2- $^{14}\text{C}$ ] mit Kupferchromit das gebildete  $\text{CO}_2$  schwach radioaktiv, da das entstehende Toluol in geringem Umfang durch Kupferoxyd, das stets im Kupferchromit enthalten ist, weiter oxydiert wird (64). In diesem Falle muß man mit Kupferpulver decarboxylieren, da dieses das Toluol nicht angreift.

Die Messung von radioaktiven Präparaten erfolgt mit Hilfe des GEIGER-MÜLLERSCHEN Zählrohrs, dem Gasflußzähler (Flow Counter), dem Szintillationszähler oder der Ionisationskammer. Diese Methoden sind an anderen Stellen ausführlich beschrieben worden (40), (117). Die Radioaktivität der Präparate wird entweder direkt gemessen oder nach Umwandlung in zur Messung geeignete Verbindungen. So ist es häufig vorteilhaft,  $^{14}\text{C}$ -haltige Substanzen als  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$  oder  $^{35}\text{S}$ -haltige als  $\text{Ba}^{35}\text{SO}_4$  zu messen. Bei Anwendung von stabilen Isotopen ist die Bestimmung mit dem Massenspektrometer oder bei  $^{15}\text{N}$  auch durch eine

bandenspektroskopische Methode (98) vorzunehmen. Zur Bestimmung des Deuteriumgehaltes sind Spezialmethoden ausgearbeitet worden, wobei man die Verbindungen zunächst verbrennt und sodann z. B. die Dichte des entstandenen Wassers oder die Wärmeleitfähigkeit des Wasserdampfs bestimmt.

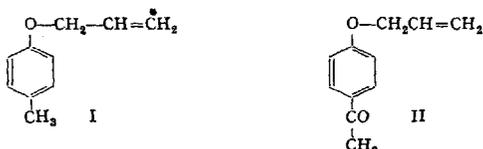
Im folgenden werden die bisher auf organisch-chemischem Gebiet mit Isotopen ausgeführten Arbeiten besprochen, wobei für die Einteilung chemische Gesichtspunkte und nicht die verwendeten Isotope maßgeblich waren.

## II. Umlagerungsreaktionen.

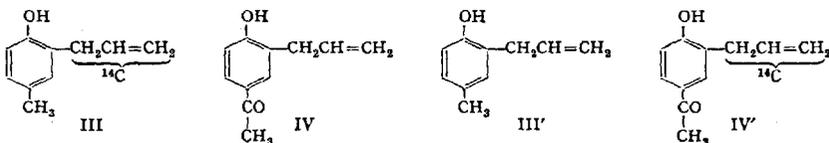
### I. CLAISEN-Umlagerung.

Die Umlagerung von O-Allylthern von Phenolen in C-Allylphenole, unter dem Namen CLAISEN-Umlagerung bekannt, ist eine der am besten untersuchten Umlagerungsreaktionen. KISTIAKOWSKY und TICHE-NOR (122) fanden schon 1942 durch Umlagerung des Allylthers von 2.4.6-Trideuterophenol, daß dasjenige Deuteriumatom, das durch die Allylgruppe ersetzt wird, das phenolische Deuterium des Umlagerungsproduktes wird. Russische Forscher zeigten später (80) durch Umlagerung eines Allylphenolthers in Gegenwart von 3.5-Deuterophenol, daß in dem erhaltenen Allylphenol kein Deuterium eingebaut ist, was sich nur durch einen *intramolekularen* Reaktionsmechanismus erklären läßt.

H. SCHMID und K. SCHMID (183) konnten dieses Ergebnis sicherstellen, indem sie 3-(p-Kresoxy)-propen-(1)-[1-<sup>14</sup>C] (I) im Gemisch mit Allyl-(p-acetylphenyl)-äther (II) der CLAISEN-Umlagerung unterwarfen.



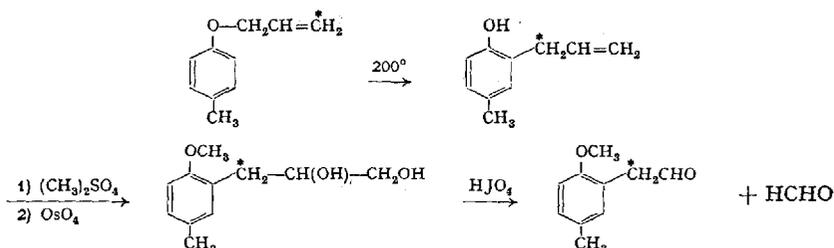
Falls die Reaktion intermolekular verlief, sollten neben den bei der intramolekularen Umlagerung zu erwartenden Verbindungen III und IV auch die Kreuzprodukte III' und IV' entstehen.



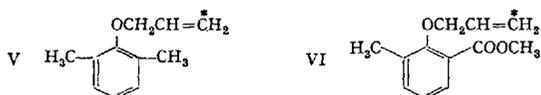
Nach der Umlagerung wurde IV isoliert und zeigte nur 0,007% der Radioaktivität von I. Die CLAISEN-Umlagerung verläuft daher zu mehr als 99,9% intramolekular.

Bei der Durchführung solcher Kreuzversuche hat man darauf zu achten, daß sich die Kinetik der Umlagerung bei beiden Verbindungen nicht zu stark unterscheidet. Ferner muß die Umlagerung nach dem gleichen Mechanismus erfolgen.

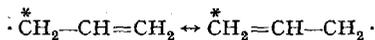
Weiterhin konnten SCHMID und SCHMID (183) und ebenso RYAN und O'CONNOR (179) zeigen, daß die *ortho*-CLAISEN-Umlagerung unter vollständiger Inversion der Allylkette verläuft. Dies wurde durch folgenden Abbau sichergestellt. Der am Ende erhaltene Aldehyd hatte die gleiche molare Aktivität wie der O-Allyläther, der zur Umlagerung kam.



In einer weiteren Arbeit wurde von SCHMID und SCHMID (184) durch Kreuzversuche zwischen 3-(2',6'-Dimethylphenoxy)propen-(1)-[1-<sup>14</sup>C] (V) und 2-Allyloxy-3-methyl-benzoesäuremethylester (VI) gezeigt, daß auch die *para*-CLAISEN-Umlagerung zu mehr als 99,8% *intramolekular* verläuft.



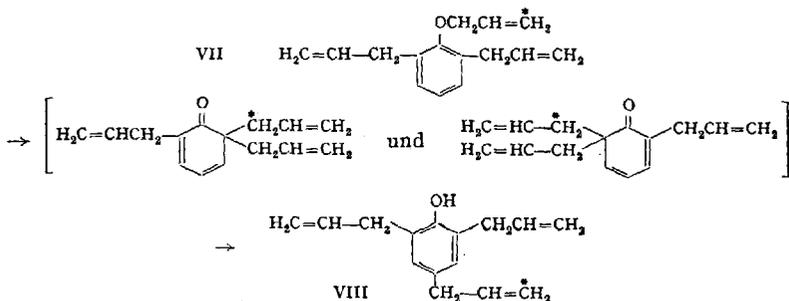
RYAN und O'CONNOR (179) und ebenso SCHMID und SCHMID (184) untersuchten nach der Umlagerung von V die Aktivitätsverteilung nach den oben beschriebenen Abbaureaktionen und stellten fest, daß die *p*-Umlagerung ohne Inversion der Allylkette verläuft. Dagegen findet nach SCHMID und SCHMID (185) bei der durch UV-Licht bewirkten CLAISEN-Umlagerung [KHARASCH (119)] von V eine Gleichverteilung der Radioaktivität zwischen dem  $\alpha$ - und dem  $\gamma$ -C-Atom des Allylrestes statt. Im Gegensatz zur thermischen *p*-CLAISEN-Umlagerung verläuft also die durch UV-Licht bewirkte CLAISEN-Umlagerung über Radikale, bei denen infolge der Resonanz



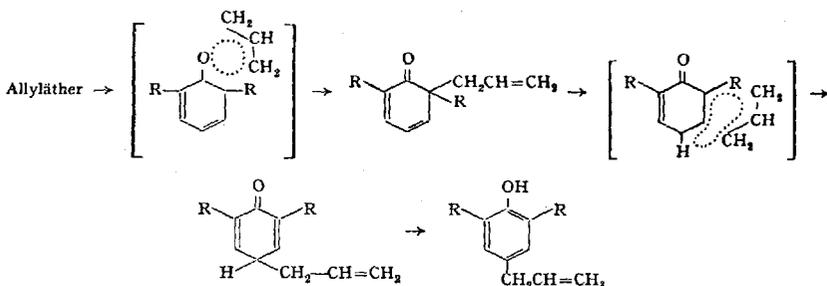
eine Gleichverteilung der Radioaktivität auf das  $\alpha$ - und  $\gamma$ -C-Atom des Allylrestes eintritt.

Näheren Einblick in den Verlauf der thermischen *p*-CLAISEN-Umlagerung erhielten SCHMID, HAEGELE und SCHMID (186) durch die Umlagerung von <sup>14</sup>C-markiertem 2,6-Diallyl-phenyl-allyläther (VII). Im

umgelagerten Triallylphenol (VIII) fand sich  $23 \pm 0,8\%$  der Gesamtaktivität am  $\gamma$ -C-Atom.



Im Verlaufe der Umlagerung muß also ein Zwischenprodukt aufgetreten sein, in dem alle 3 Allylreste gleichwertig geworden sind. Unter der Annahme eines 5%igen Isotopieeffektes berechnen sich für diesen Fall für das  $\gamma$ -C-Atom 23,7% der Gesamtaktivität. Folgender Reaktionsmechanismus ist mit den Ergebnissen im Einklang:

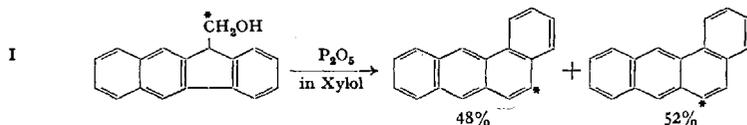


CONROY und FIRESTONE (61) konnten das erste Zwischenprodukt mit Maleinsäureanhydrid als DIELS-ALDER-Addukt fassen. Weiterhin fanden SCHMID, HAEGELE und SCHMID, daß die o-Umlagerung von 2-Allylphenylallyläther zu 2.6-Diallylphenol zu 10 bis 13% von einer p-Umlagerung in 2.4-Diallylphenol begleitet ist.

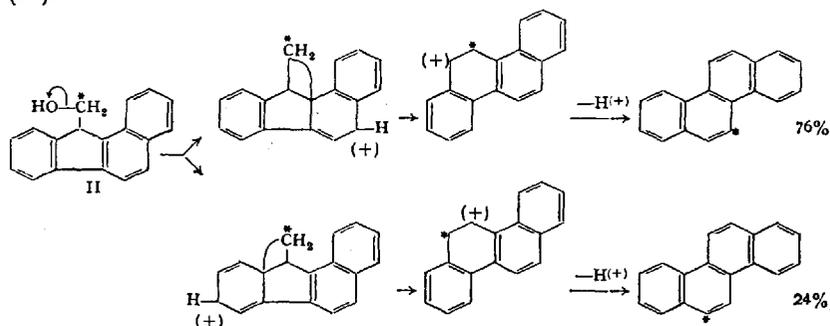
## 2. WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung.

Bei der Dehydratisierung von 9-Fluorenyl-carbinol mit Phosphor-pentoxyd erhält man durch eine WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung (häufig nur als WAGNER-Umlagerung bezeichnet) das Phenanthren. COLLINS und Mitarbeiter (56) übertrugen diese Reaktion auf  $^{14}\text{C}$ -markierte benzo-substituierte Fluorenyl-carbinole. Sie erhielten durch Behandeln von I mit  $\text{P}_2\text{O}_5$  in Xylol das Benz[a]anthracen-[5.6- $^{14}\text{C}$ ]. Da das Carbinol und so auch das als Zwischenstufe anzunehmende Carbeniumion unsymmetrisch sind, war eine unsymmetrische Verteilung des

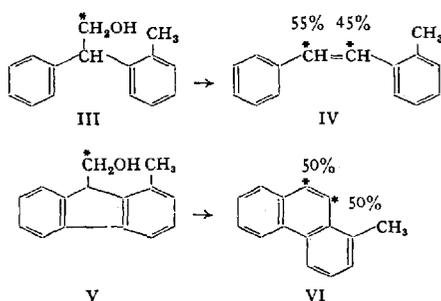
radioaktiven Kohlenstoffs auf die 5- und die 6-Stellung des Benzanthracens zu erwarten. Durch Abbau wurde festgestellt, daß 48% der Radioaktivität in der 5-Stellung und 52% in der 6-Stellung waren.



Entsprechend wurde aus II das Chrysen-[5,6- $^{14}\text{C}$ ] erhalten. Hier verhielten sich die Radioaktivitäten der 5- und der 6-Stellung wie 76:24 (57).

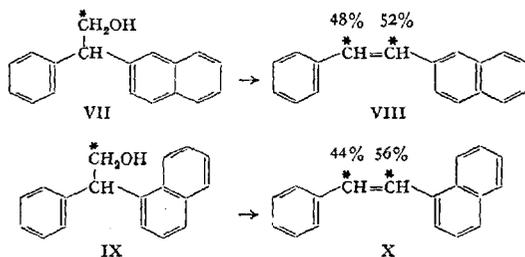


Weiterhin wurden aus 2-Phenyl-2-o-tolyl-äthanol-[ $^{14}\text{C}$ ] (III) und 1-Methyl-9-fluorenyl-(carbinol-[ $^{14}\text{C}$ ]) (V) durch WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung das o-Methylstilben IV und das 1-Methylphenanthren (VI) dargestellt, um den sterischen Effekt der o-Methylgruppe auf den Verlauf der Umlagerung zu untersuchen (15).



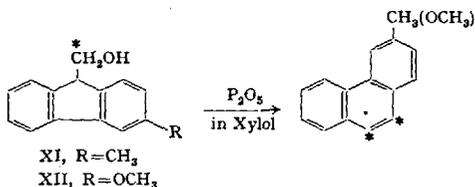
Durch den Abbau von IV zeigte sich, daß die Phenylgruppe bevorzugt vor der o-Tolylgruppe im Verhältnis 55:45 wandert, was man durch den sterischen Effekt der o-Methylgruppe erklären kann. Bei VI dagegen war die Radioaktivität gleichmäßig auf beide Kohlenstoffatome verteilt. Der Phenyl- bzw. der o-Tolylrest wandern in diesem Falle ohne Bevorzugung eines Restes. Ein weiterer Hinweis auf die Wirksamkeit eines

sterischen Effektes ergibt sich bei der Umlagerung von 2-Phenyl-2-( $\alpha$ -naphthyl)- $\beta$ -<sup>14</sup>C] (VII) und von 2-Phenyl-2-( $\beta$ -naphthyl)- $\beta$ -<sup>14</sup>C] (IX) in die entsprechenden Stilbene VIII bzw. X.



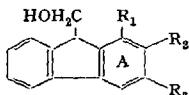
Hierbei wanderten:  $\alpha$ -Naphthyl:Phenyl = 52:48;  $\beta$ -Naphthyl:Phenyl = 56:42.

Auch beim 3-Methyl-9-fluorenyl-(carbinol-[<sup>14</sup>C]) (XI, R=CH<sub>3</sub>) und beim 3-Methoxy-9-fluorenyl-(carbinol-[<sup>14</sup>C]) (XII, R=OCH<sub>3</sub>) konnte eine erhöhte Wanderungstendenz der substituierten gegenüber der nicht-substituierten Phenylgruppe festgestellt werden (59). Bei der Substitution durch Methyl war das Verhältnis 73:27, bei der durch die Methoxygruppe 98:2.



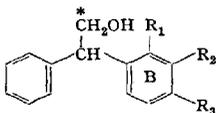
In der nachfolgenden Tabelle sind die bisher erhaltenen Ergebnisse über den Einfluß der Substituenten bei der WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung von 9-Fluorenyl-carbinolen und von 2,2-Diphenylcarbinolen zusammengestellt.

*Direkter Einfluß der Substituenten bei der WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung von 9-Fluorenyl-carbinolen.*



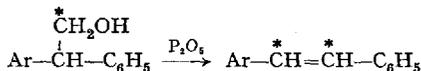
Substituenten in A	Umlagerungsprodukt	Wanderung der substituierten Phenylgruppe
R <sub>10</sub> =CH <sub>3</sub> ; R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =H	1-Methylphenanthren-[9.10- <sup>14</sup> C]	50%
R <sub>1</sub> =H; R <sub>2</sub> -R <sub>3</sub> =o-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	Benzanthracen-[5.6- <sup>14</sup> C]	52%
R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =H; R <sub>3</sub> =CH <sub>3</sub>	3-Methylphenanthren-[9.10- <sup>14</sup> C]	73%
R <sub>1</sub> -R <sub>2</sub> =o-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ; R <sub>3</sub> =H	Chrysen-[5.6- <sup>14</sup> C]	76%
R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =H; R <sub>3</sub> =OCH <sub>3</sub>	3-Methoxyphenanthren-[9.10- <sup>14</sup> C]	98%

Direkter Einfluß der Substituenten bei der WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung von 2.2-Diphenyl-äthanolen.



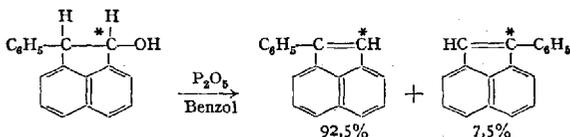
Substituenten in B	Umlagerungsprodukt	Wanderung der substituierten Phenylgruppe
$R_1 = \text{CH}_3; R_2 = R_3 = \text{H}$	2-Methyl-stilben	45%
$R_1 - R_2 = \text{O}-\text{C}_6\text{H}_4; R_3 = \text{H}$	2.3-Benzostilben	52%
$R_1 = \text{H}; R_2 - R_3 = \text{O}-\text{C}_6\text{H}_4$	3.4-Benzostilben	56%
$R_1 = R_2 = \text{H}; R_3 = \text{CH}_3$	4-Methyl-stilben	66%
$R_1 = R_2 = \text{H}; R_3 = \text{OCH}_3$	4-Methoxy-stilben	95%

Auch BURR und CIERESZKO (36) haben die Wanderungstendenz verschiedener Arylreste im Verhältnis zum Phenylrest bei der WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung bestimmt. Die Aktivitätsverteilung wurde nach der Umlagerung an den Stilbenderivaten durch Abbau zur Benzoesäure bzw. substituierten Benzoesäure bestimmt. Die Resultate lassen sich nicht nach der Theorie von HAMMETT (92) erklären:



Arylrest	Wanderung in % von Ar	Wanderungsverhältnis von Ar:C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
p-Xenyl . . . . .	57,2	1,34
m-Tolyl . . . . .	61,3	1,58
p-(2-Propyl)-pheny . . . . .	64,5	1,82
3.4-Dimethylpheny . . . . .	65,6	1,91
p-Tolyl . . . . .	66,4	1,98
p-Äthylphenyl . . . . .	68,6	2,18
p-(t-Butyl)phenyl . . . . .	76,3	3,22
p-Methoxyphenyl . . . . .	95,5	21,2

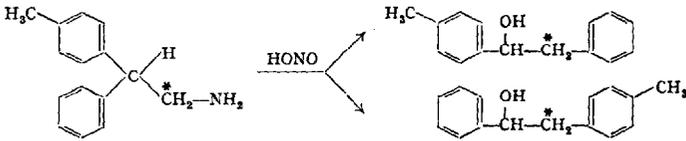
Bei der WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung eines Isomeren (vermutlich der cis-Form) von 2-Phenyl-1-acenaphthenol-[1-<sup>14</sup>C] mit P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> findet Phenylwanderung zu 7,5% statt [BONNER und COLLINS (26)].



Der Abbau wurde durch Ozonspaltung des gebildeten 1-Phenyl-acenaphthylens zur 8-Benzoyl-1-naphthoesäure und Decarboxylierung zum 1-Benzoyl-naphthalin durchgeführt, dessen Radioaktivität bestimmt wurde.

### 3. Umlagerung von 2.2-Diaryläthylaminen.

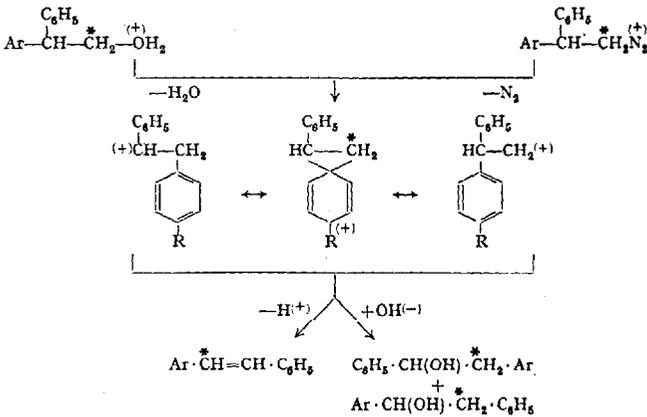
CIERESZKO und BURR (48) haben die Wanderungstendenz substituierter Arylreste im Vergleich mit dem Phenylrest bei den 2.2-Diaryläthylaminen untersucht, die sich unter der Einwirkung von salpetriger Säure in die 1.2-Diaryläthanole umlagern. Ein Vergleich mit den



Ergebnissen bei der Umlagerung der Diaryläthanole zeigt große Unterschiede, wie aus der folgenden Tabelle zu ersehen ist.

Arylrest	Prozentwanderung des Arylrestes beim Carbinol	Prozentwanderung des Arylrestes beim Amin
p-Tolyl . . . . .	66	47
m-Tolyl . . . . .	61	48
p-Xenyl . . . . .	57	50
p-Methoxyphenyl . . . . .	96	59

Nach BAILEY und BURR (10) hängt die Wanderungstendenz der Arylreste weder von der Nitritkonzentration noch von der Acidität des Lösungsmittels ab. Sie nehmen ein cyclisches Intermediärprodukt an.



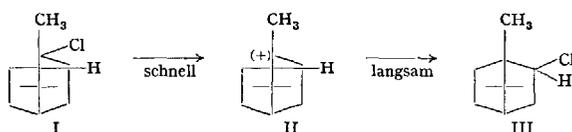
Bei der Überführung von 2-Phenyl-2-(p-tolyl)-äthyl-[1-<sup>14</sup>C]-tosylat in Methylstilben durch Erhitzen in Eisessig (Reaktion 1. Ordnung) wandert die p-Tolylgruppe zu 71,2%, bei der Umsetzung der gleichen Verbindung mit Natriummethylat in Glykolmonomethyläther (Reaktion 2. Ordnung) jedoch nur zu 2% [BURR (38)].

#### 4. WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung von Camphenhydrochlorid.

NEVELL, DE SALAS und WILSON (143) untersuchten mit Hilfe von  $D^{35}Cl$  die Umlagerung von Camphenhydrochlorid (I) in iso-Bornylchlorid (III). Durch Vergleich der Geschwindigkeitskonstanten für die Umlagerung und den Austausch von D und  $^{35}Cl$  wurde gezeigt, daß die Reaktion in zwei Stufen verläuft:

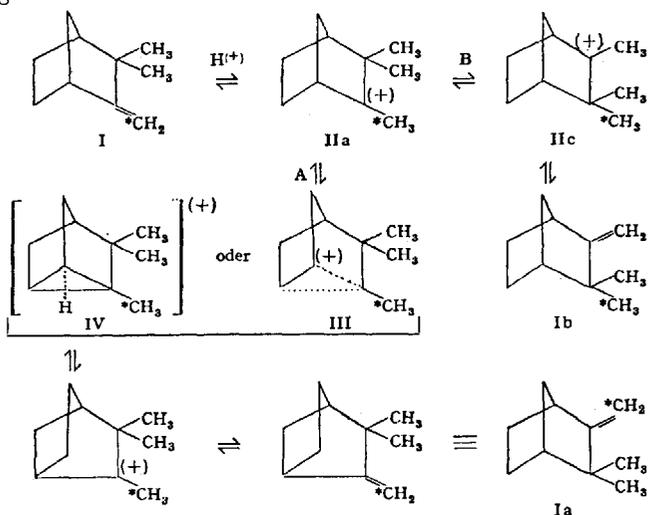
1. Schnelle Einstellung eines Ionengleichgewichtes erfolgt durch die Abtrennung von  $Cl^{-}$ , die unter Reaktionsbedingungen verläuft ( $20^{\circ}$ ), bei denen keine Umlagerung stattfindet.

2. Es läuft eine langsame bimolekulare Reaktion zwischen dem Ion II und einem Molekül HCl statt unter Umlagerung.



#### 5. Racemisierung von Camphen.

Für die Racemisierung von Camphen (I) sind 2 Reaktionsfolgen vorgeschlagen worden. Beide verlaufen über ein Kation (IIa), das durch Addition eines Protons an I entsteht. Bei Mechanismus A wird eine 2.6-Wasserstoffwanderung angenommen, die zum Kation III oder vielleicht zum symmetrischen Ion IV führt. Eine dieser beiden Formen ergibt dann Ia und Ib und damit racemisches Camphen. Mechanismus B schließt eine Methylwanderung ein, bekannt als NAMETKINSche Umlagerung.

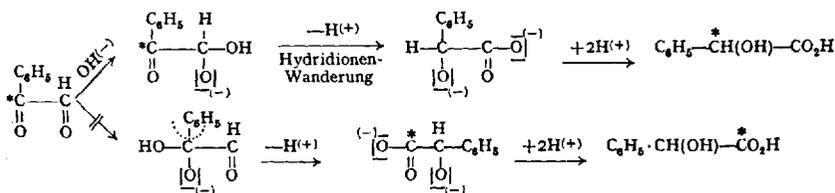


Geht man von Camphen-[8- $^{14}\text{C}$ ] aus, so kann zwischen Mechanismus A und B unterschieden werden. Nach A erfolgt keine Veränderung in der Isotopenverteilung, bei B dagegen wird der radioaktive Kohlenstoff gleichmäßig auf die C-Atome der Methylgruppen und der Methylen-Gruppe verteilt. ROBERTS und YANCEY (169) fanden, daß in keinem der Versuche ausschließlich die Racemisierung nach A oder B abläuft. Mit wasserhaltigem Titandioxyd oder Anilin-hydrochlorid als Katalysator überwiegt Mechanismus A, mit Brenztraubensäure in Acetonitril dagegen B. Der verschiedenartige Einfluß der Katalysatoren konnte bisher nicht erklärt werden. Durch Umlagerung von Camphen-[8- $^{14}\text{C}$ ] mit HCl in Äther kamen VAUGHAN und PERRY (204) zu einem ähnlichen Resultat.

## 6. Umlagerungen von $\alpha$ -Diketonen.

a) Umlagerung von Phenylglyoxal in Mandelsäure. Für diese Reaktion werden zwei Mechanismen diskutiert. 1. Es findet Addition eines Hydroxyl-ions an die Aldehydgruppe und daraufhin Hydridionen-Wanderung statt. 2. Ein Hydroxylion addiert sich an die Ketogruppe und eine Phenylgruppe wandert samt Elektronenpaar.

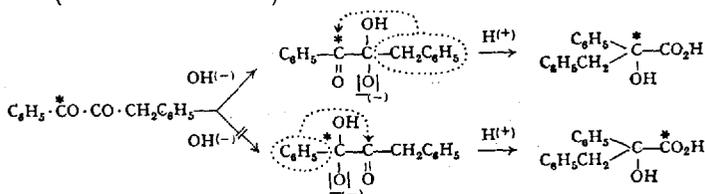
Zur Prüfung dieser Fragen verwandte NEVILLE (145) Phenylglyoxal, das in der Ketogruppe mit  $^{14}\text{C}$  markiert war. Durch Abbau der erhaltenen Mandelsäure fand er, daß während der Reaktion keine Umlagerung der Kohlenstoffkette eingetreten war. Der zweite Mechanismus ist daher ausgeschlossen.



Das gleiche Ergebnis war früher schon von DOERING, TAYLOR und SCHOENEWALDT (69) mit  $^{13}\text{C}$  erhalten worden. Außerdem zeigten diese Autoren, daß bei der Durchführung der Umlagerung in  $\text{D}_2\text{O}$  kein Deuterium in die Mandelsäure fest eingebaut wird, d.h. der Wasserstoff wandert als Hydridion.

b) Umlagerung von unsymmetrischen  $\alpha$ -Diketonen (Benzilsäureumlagerungen). Ein schönes Beispiel, wie man durch die Anwendung von  $^{14}\text{C}$  die Wanderungstendenz verschiedener Substituenten bestimmen kann, ist die Umlagerung von carbonyl-markierten unsymmetrischen  $\alpha$ -Diketonen. So wandert nach COLLINS und NEVILLE (60) bei der Umlagerung von Phenyl-benzyl-glyoxal zu 2,3-Diphenyl-propionsäure mit alkoholischer Lauge nur die Benzylgruppe. Das aus der Säure durch

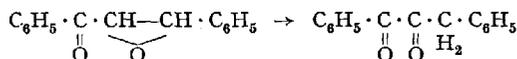
Decarboxylierung erhaltene Desoxybenzoin enthält die gesamte Radioaktivität (obere Formelreihe).



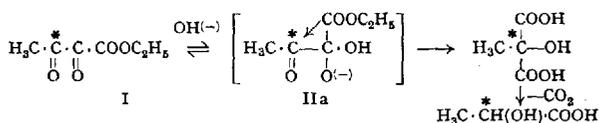
Auf die gleiche Weise wurde die Wanderungstendenz verschiedener Gruppen bestimmt (s. die nachfolgende Tabelle).

R	R'	Wanderung von R in %	Wanderung von R' in %
Phenyl	H (69), (145)	0	100
Methyl	Carbäthoxy (144)	0	100
Phenyl	Benzyl (60)	0	100
Phenyl	p-Methoxybenzyl (95)	0	100
Phenyl	p-Methoxyphenyl (146)	68,5	31,5
Phenyl	p-Methylphenyl (144)	61,8	38,2
Phenyl	p-Chlorphenyl (146)	38,8	61,2
Phenyl	m-Chlorphenyl (144)	18,9	81,1

Einige dieser Umlagerungen wurden auch mit den Benzylidenacetophenonoxyden (60), (95) studiert. Diese gehen schon bei kurzer Behandlung mit alkoholischer Lauge in die Diketone über, die dann die Umlagerung erleiden.



$\alpha,\beta$ -Diketobuttersäureester (I) geht in alkalischer Lösung in Methyltartronsäure über. Hierbei wandert die Carbäthoxygruppe, wie sich durch Markierung einer Ketogruppe und anschließende Verseifung und Decarboxylierung zur Milchsäure ergab; nichtradioaktives  $\text{CO}_2$  wird frei [DAVIS, GROVENSTEIN und NEVILLE (67)].



Da  $\alpha,\beta$ -Diketobuttersäure ein stabiles Hydrat bildet, kann angenommen werden, daß die Zwischenstufe IIa durch Abspaltung eines Protons aus dem Hydrat  $\text{H}_3\text{C} \cdot \text{CO} \cdot \text{C}(\text{OH})_2 \cdot \text{COOC}_2\text{H}_5$  hervorgeht.

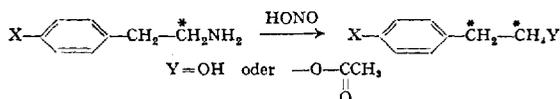
Überblickt man alle beschriebenen Umlagerungen von 1,2-Diketonen (67), so scheint die Möglichkeit zur Hydratbildung einer CO-Gruppe ein

Maß für ihre Aktivität zu sein. Der Rest R, der dieser CO-Gruppe benachbart ist, wandert an die zweite CO-Gruppe.

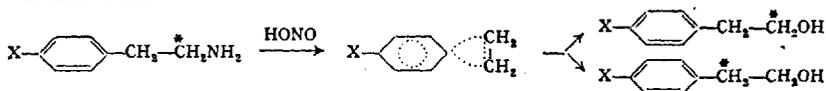
Daß die Benzylsäureumlagerung durch Addition eines  $\text{OH}^{(-)}$ -Ions an eine CO-Gruppe eingeleitet wird, geht auch aus Versuchen von ROBERTS und UREY (158) hervor, wonach Benzil seinen Sauerstoff mit  $\text{H}_2^{18}\text{O}$  viel schneller in alkalischer als in neutraler Lösung austauscht.

### 7. Umlagerung bei der Desaminierung von Phenyläthylaminen mit salpetriger Säure.

Durch Behandlung einer Reihe  $^{14}\text{C}$ -markierter p-substituierter Phenyläthylamine mit salpetriger Säure in Wasser und Essigsäure wurden von ROBERTS und REGAN (164) mehr oder weniger umgelagerte Produkte mit dem isotopen Kohlenstoff in der  $\alpha$ -Stellung gefunden.

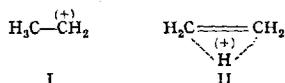


Der Grad der Umlagerung hängt dabei von der Natur des Lösungsmittels und dem Substituenten X ab. Mit den Substituenten  $\text{X} = \text{OCH}_3$ , H und  $\text{NO}_2$  wurde die Reaktion untersucht. Die stärkste Umlagerung (45%) wurde mit  $\text{X} = \text{OCH}_3$  in Essigsäureanhydrid, die geringste (5%) mit  $\text{X} = \text{NO}_2$  in Wasser und Essigsäure beobachtet. Wenn die Reaktion ausschließlich über ein Zwischenprodukt folgender Art verlaufen würde, müßte der radioaktive Kohlenstoff gleichmäßig auf die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Stellung verteilt sein.



### 8. Desaminierung von Äthylamin und n-Propylamin mit salpetriger Säure.

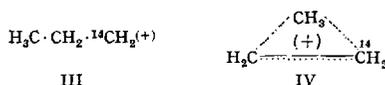
Das Äthylkation kann folgendermaßen formuliert werden:



Es spielt eine Rolle bei der Desaminierung von Äthylamin. Aus Äthylamin-[1- $^{14}\text{C}$ ] mit  $\text{HClO}_4$  und  $\text{NaNO}_2$  wurde von ROBERTS und YANCEY (166) Äthylen und 38%  $^{14}\text{C}$ -markiertes Äthanol erhalten. Dieses enthielt, wie sich aus dem Abbau zu Jodoform ergab, 1,5% des Umlagerungsproduktes Äthanol-[2- $^{14}\text{C}$ ]. Man muß daher annehmen, daß das Äthylkation (I) viel schneller mit Wasser zu Äthanol reagiert als es sich in II umlagert. Die Umsetzung von Äthylamin mit Natriumnitrit

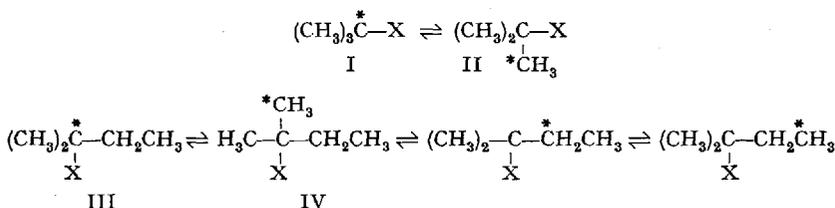
und Perchlorsäure wurde auch in 99,8% D<sub>2</sub>O ausgeführt, wobei ein Äthanol mit einem Deuteriumgehalt von nur 1,1% erhalten wurde. Demnach ist weniger als 1% des Äthanol über Diazoäthan als Zwischenstufe gebildet worden.

Bei der Umsetzung von 1-Aminopropan-[1-<sup>14</sup>C] mit salpetriger Säure entsteht neben 2-Propanol (~41%) ein 1-Propanol, das 8,5% 1-Propanol-[2-<sup>14</sup>C] enthält. Die Umlagerung ist somit beträchtlich größer als bei der Desaminierung von Äthylamin [ROBERTS und HALMAN (171a)]. Dies bedeutet, daß 17% des n-Propanols über das symmetrische Zwischenprodukt IV (Äthylalkoniumion) und 83% über das Kation III entstehen.



### 9. Umlagerung der Kohlenstoffkette bei t-Butyl- und t-Amylderivaten.

Die über Carbeniumionen verlaufende Isomerisation einiger <sup>14</sup>C-markierter t-Butyl- und t-Amylderivate wurde von ROBERTS, MCMAHON und HINE (162) untersucht, um ihre Umlagerungsfähigkeit in Verbindungen mit gleichem Kohlenstoffgerüst, aber verschiedener Stellung des Isotops bestimmen zu können. Solche Untersuchungen vertiefen das Verständnis von Reaktionen, die über Carbeniumionen verlaufen, da man mit ihrer Hilfe die Größe der Übergangsenergien bestimmen kann, wobei jeder Fehler wegfällt, der durch eine Energiedifferenz zwischen Ausgangs- und Endprodukt bedingt ist.

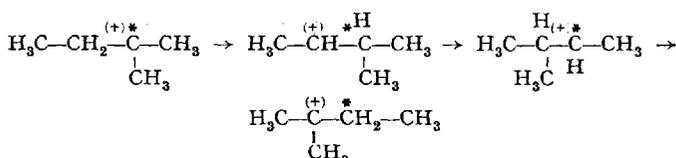


Die Ausgangsverbindungen waren 2-Methyl-2-propanol-[2-<sup>14</sup>C] (I, X=OH), 2-Methyl-2-butanol-[2-<sup>14</sup>C] (III, X=OH) und 2-Methyl-2-butanol-[1-<sup>14</sup>C] (IV, X=OH). Bei der Umsetzung von I (X=OH) zu t-Butylchlorid (I, X=Cl) mit HCl wurde keine Umlagerung zu II beobachtet. Ein analoges Ergebnis wurde mit t-Amylalkohol erhalten.

Der zweite untersuchte Reaktionstyp war die Überführung der Alkohole in Alkene durch Wasserabspaltung mit Schwefelsäure. III (X=OH) und IV (X=OH) ergaben dabei Trimethyläthylen mit weniger als 2% Änderung in der Isotopenverteilung der Kohlenstoffkette.

Weiterhin wurde die Reaktion von tertiären Halogeniden mit Aluminiumchlorid studiert. Nach Behandlung von 2-Methyl-2-chlorbutan-[1-<sup>14</sup>C] (IV, X = Cl) mit Aluminiumchlorid bei 0° wurden 20% t-Amylchlorid zurückerhalten, dessen Isotopenanalyse eine fast gleiche Verteilung von <sup>14</sup>C zwischen C<sub>1</sub> und C<sub>4</sub> zeigte. Wenig oder keine Radioaktivität enthielten C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub>. Die entsprechende Behandlung von 2-Methyl-2-chlorbutan-[2-<sup>14</sup>C] (III, X = Cl) mit Aluminiumchlorid unter Bedingungen, die 57% des Chlorids wiedergewinnen ließen, ergab einen Austausch zwischen C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub> mit etwa 70% der statistischen Wahrscheinlichkeit und schwache Radioaktivität an C<sub>1</sub> und C<sub>4</sub>. Diese Ergebnisse und die vorerwähnten zeigen, daß während der Gleichverteilung des Isotops zwischen C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub> oder zwischen C<sub>1</sub> und C<sub>4</sub> nur ein geringer Austausch zwischen den Methylgruppen und den C-Atomen in der Mitte der Kette eintritt. Die Umlagerungen lassen sich befriedigend durch die intermediäre Bildung von Carbeniumionen erklären. Dabei ist die Stabilität der Carbeniumionen folgende:

tertiär ≫ sekundär > primär



Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den Resultaten, die von anderen Forschern bei der *Gasphasenisomerisierung* von <sup>13</sup>C-markierten Butanen mit Aluminiumbromid erhalten wurden. Hierbei findet eine vollständige Gleichverteilung der Aktivität über alle C-Atome statt (12), (151).

### 10. Isomerisierung von Propan und n-Butan.

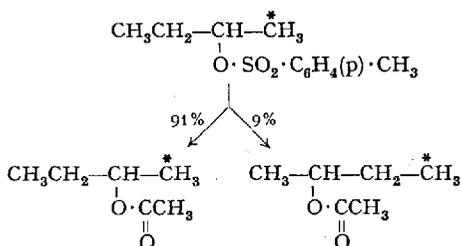
Die durch AlBr<sub>3</sub> katalysierte Isomerisierung von Propan-[1-<sup>13</sup>C] wurde durch BEECK, OTVOS, STEVENSON und WAGNER (12) untersucht. Hiernach ist die Isomerisierungsgeschwindigkeit von Propan-[1-<sup>13</sup>C] zu Propan-[2-<sup>13</sup>C] mit derjenigen von n-Butan zu Isobutan vergleichbar. Wie zu erwarten ist, verhält sich das statistische Gleichgewicht der beiden Verbindungen wie 2:1, da die Einführung von <sup>13</sup>C die Verteilungsfunktion nur wenig ändert. Da keine Moleküle gefunden werden, die an zwei C-Atomen <sup>13</sup>C enthalten, muß die Isomerisierung einen rein intramolekularen Verlauf nehmen.

Die Isomerisierung von n-Butan-[1-<sup>13</sup>C] wurde ebenfalls über einem AlBr<sub>3</sub>-Katalysator untersucht (151). Nach 12 Std. war das Verhältnis n-Butan-[2-<sup>13</sup>C]:iso-Butan-[1-<sup>13</sup>C]:iso-Butan-[2-<sup>13</sup>C] = 2:3:1, wie nach der Statistik zu erwarten ist. Daraus muß man auf eine Aktivierung des gesamten Moleküls schließen.

2-Methylbutan-[1- $^{14}\text{C}$ ] isomerisiert sich in flüssiger Phase mit  $\text{AlBr}_3$  als Katalysator bedeutend schneller zum 2-Methylbutan-[4- $^{14}\text{C}$ ] als zum 2-Methylbutan-[2-oder 3- $^{14}\text{C}$ ], wie ROBERTS und CORAOR fanden (168). Außerdem wurde eine starke Umlagerung bei der Überführung von 2-Methylbutan-[1- $^{14}\text{C}$ ] in tert. Amylbromid durch Behandlung mit tert. Butylbromid und  $\text{AlBr}_3$  beobachtet, selbst wenn die Kontaktzeit nur etwa  $5 \cdot 10^{-3}$  sec betrug.

### 11. Umlagerung bei der Hydrolyse von 2-Butanol-p-toluolsulfosäureester.

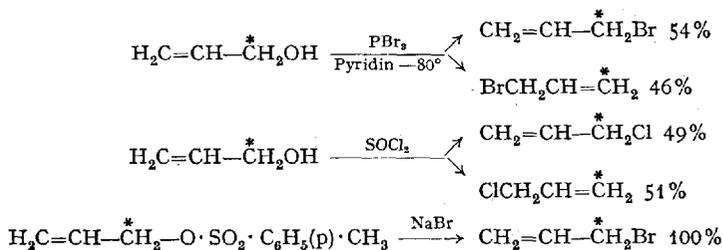
Die Hydrolyse von 2-Butanol-[1- $^{14}\text{C}$ ]-p-toluolsulfosäureester in Essigsäure in Gegenwart von Acetationen unter Bedingungen, bei denen die Reaktionsgeschwindigkeit unabhängig von der Acetationenkonzentration ist, führt zu einer Mischung von 91% 2-Butyl-[1- $^{14}\text{C}$ ]-acetat und 9% 2-Butyl-[4- $^{14}\text{C}$ ]-acetat [ROBERTS und Mitarbeiter (167)].



Hierbei lagert sich das Ausgangsmaterial nicht um und die Umlagerung verläuft auch nicht über Butan, da sonst Gleichverteilung von  $^{14}\text{C}$  in den beiden Reaktionsprodukten auftreten müßte. Bei Durchführung der Hydrolyse in 75% Aceton + 25% Wasser ist die Umlagerung viel geringer.

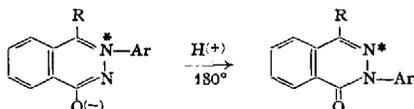
### 12. Umlagerung bei der Überführung von Allylkohol in Allylhalogenide.

NYSTROM und LEAK (148) bestimmten das Ausmaß der Allylumlagerung bei der Überführung von Allylkohol-[1- $^{14}\text{C}$ ] in Allylchlorid bzw. in Allylbromid. Dabei wurden folgende Reaktionen ausgeführt:

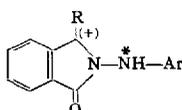




zu entscheiden, ob im Verlaufe der Umlagerung die Arylgruppe von einem Stickstoff zum anderen wandert oder nicht.



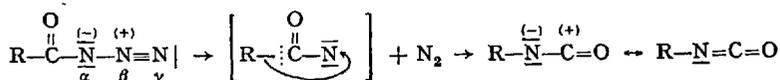
Als Zwischenstufe ist von VAUGHAN (203) ein Carbeniumion des Isoindolons angenommen worden.



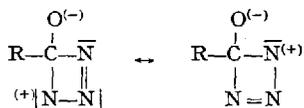
Bei der Umlagerung von 3-(4'-Nitrophenyl)-4-methyl- $\psi$ -phthalazon mit einem Überschuß von  $^{15}\text{N}$  in der 2-Stellung wurde mit 1,2 n-Säure bei  $180^\circ$  nach 9 Stdn. ein Phthalazon erhalten, das in der 3-Stellung mit  $^{15}\text{N}$  angereichert war. Es findet daher keine Wanderung des Arylrestes von einem Stickstoff zum anderen statt. Das Ergebnis ist mit der formulierten Zwischenstufe im Einklang und auch eine Stütze für die lineare Struktur der Diazoniumionen.

## 16. Abbau nach CURTIUS.

Von mehreren Forschern wurde für den CURTIUSSchen Abbau folgender Mechanismus vorgeschlagen:



BOTHNER-BY und FRIEDMAN (30) verfolgten den Abbau von 3,5-Dinitrobenz-azid- $[\gamma\text{-}^{15}\text{N}]$ . Der gesamte isotope Stickstoff befand sich im abgespaltenen Stickstoff (0,1%  $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ , 31,1%  $^{15}\text{N}^{14}\text{N}$ , Rest  $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ ). Im 3,5-Dinitroanilin war kein Überschuß an  $^{15}\text{N}$  vorhanden. Außerdem findet kein Austausch zwischen der  $\alpha$ - und der  $\beta$ -Stellung statt. Aus diesen Ergebnissen folgt, daß die intermediäre Bildung cyclischer Strukturen wie

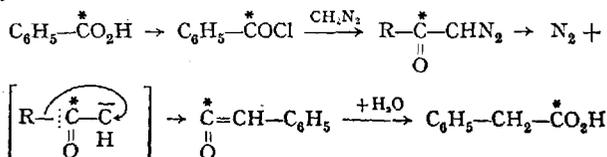


ausgeschlossen ist. Die kleine Menge  $^{15}\text{N}^{16}\text{N}$  zeigt, daß die  $\beta$ - $\gamma$ -N-N-Bindung während des Abbaus erhalten bleibt.

## 17. ARNDT-EISTERT-Synthese.

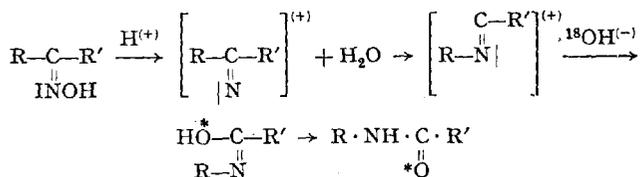
Bei der ARNDT-EISTERT-Synthese, der Verlängerung einer Carbonsäure um ein C-Atom, spielt die WOLFFSche Umlagerung eine entscheidende

Rolle. Als Zwischenprodukt wurde von EISTERT (71) ein Keten vorgeschlagen. HUGGETT, ARNOLD und TAYLOR (104) untersuchten die Reaktion mit Benzoesäure, die einen Überschuß von 2,51%  $^{13}\text{C}$  in der Carboxylgruppe enthielt. Die durch ARNDT-EISTERT-Synthese erhaltene Phenylelessigsäure wurde mit Kupferchromit in Chinolin decarboxyliert und ergab  $\text{CO}_2$  mit einem Überschuß von 2,5%  $^{13}\text{C}$ . Hierdurch wird der vorgeschlagene Mechanismus in bezug auf die Reihenfolge der C-Atome bestätigt.



### 18. BECKMANNsche Umlagerung.

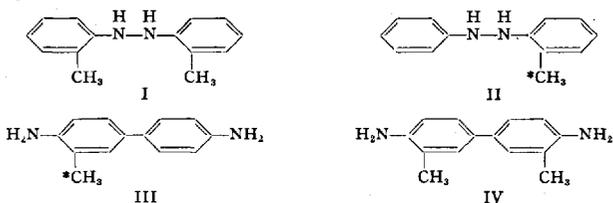
Das Studium der BECKMANNschen Umlagerung von Benzophenonoxim mit  $\text{PCl}_5$ , gefolgt von  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ , zeigte, daß die Reaktion über einen Dehydratisierungs-Hydratisierungsmechanismus verläuft. Wie MIKLUKHIN und BRODSKY (137) fanden, erhält das dabei gebildete Benzanilid  $^{18}\text{O}$ . Zwischen Benzanilid und  $\text{H}_2^{18}\text{O}$  findet unter den experimentellen Bedingungen kein  $^{18}\text{O}$ -Austausch statt. Diese Beobachtungen stützen die Theorie, nach der die BECKMANNsche Umlagerung über einen ionischen Mechanismus verläuft, z. B.



### 19. Benzidinumlagerung.

Von mehreren Forschern ist bereits sehr wahrscheinlich gemacht worden, daß die Benzidinumlagerung intramolekular verläuft. So fanden z. B. INGOLD und KIDD (109b) bei der Umlagerung einer Mischung 2,2'-Dimethoxy-hydrazobenzol und 2,2'-Diäthoxy-hydrazobenzol nicht das bei einer intermolekularen Umlagerung zu erwartende 3-Methoxy-3'-äthoxy-benzidin. SMITH, SCHWARTZ und WHELAND (186a) konnten nun mit Hilfe von  $^{14}\text{C}$  den rein intramolekularen Verlauf der Benzidinumlagerung beweisen. Als geeignet für die Kreuzversuche erwiesen sich 2,2'-Dimethyl-hydrazobenzol (I) und 2-Methyl- $^{14}\text{C}$ -hydrazobenzol (II), da sich II mit etwa der gleichen Geschwindigkeit (etwa  $\frac{1}{3}$  so schnell wie I) umlagert. Die beiden Umlagerungsprodukte 3-Methyl-benzidin (III)

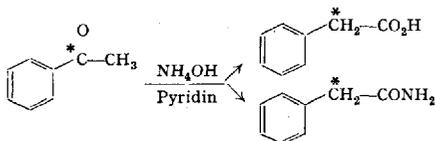
und *o*-Tolidin (IV) ließen sich leicht über ihre Benzalderivate an Aluminiumoxyd trennen.



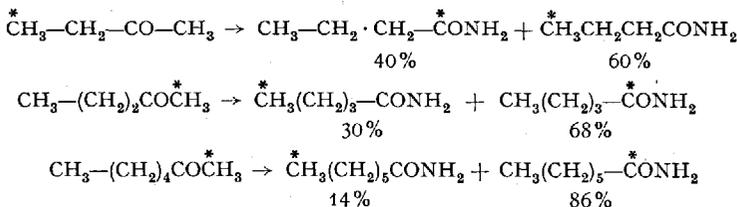
IV enthielt etwa 0,03% der Radioaktivität von III. Falls dieser geringen Aktivität überhaupt eine reale Bedeutung zukommt, verläuft die Benzidinumlagerung also höchstens zu 0,03% intermolekular.

## 20. WILLGERODT-Reaktion.

CALVIN und Mitarbeiter (65) untersuchten die WILLGERODT-Reaktion mit Hilfe von Acetophenon, das in der Carbonylgruppe mit  $^{14}\text{C}$  markiert war. Sie erhielten dabei eine Phenylelessigsäure, die bei der Decarboxylierung mit Kupferchromit  $\text{CO}_2$  lieferte, das 8% der Radioaktivität enthielt. Danach schien die WILLGERODT-Reaktion unter teilweiser Umlagerung der Kohlenstoffkette verlaufen zu sein. Doch konnten DAUBEN und COAD (64) später zeigen, daß die Decarboxylierung mit Kupferchromit keine geeignete Abbaumethode darstellt, weil teilweise auch aus dem  $\beta$ -C-Atom durch Oxydation  $\text{CO}_2$  entsteht. In einer späteren Arbeit ergab sich dann mit Sicherheit, daß bei der WILLGERODT-Reaktion keine Änderung des Kohlenstoffskeletts eintritt (32).



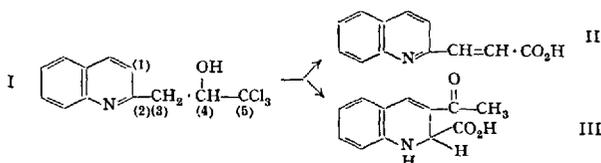
Das gleiche Ergebnis wurde von SHANTZ und RITTENBERG (188) auch bei der nach KINDLER modifizierten Reaktion (wasserfreies Amin an Stelle von Ammoniak) erhalten. Der Verlauf der WILLGERODT-Reaktion bei einigen aliphatischen, mit  $^{14}\text{C}$ -markierten Diketonen, wurde von CERWONKA, ANDERSON und BROWN (45) untersucht. Durch anschließenden Abbau nach HOFMANN ergab sich die Aktivitätsverteilung. Die funktionelle Gruppe wandert hierbei bevorzugt an das kürzere Ende der Kette.



Bei der WILLGERODT-Reaktion mit Phenyl-*n*-butylketon- $[\beta\text{-D}_2]$  erhielt das entstandene  $\delta$ -Phenyl-valeramid nur noch 5% vom Deuteriumgehalt des Ausgangsketons, wie CERWONKA, ANDERSON und BROWN (46) fanden. Die Reaktion muß also über eine ungesättigte Zwischenstufe verlaufen. Dieses Ergebnis läßt sich z. B. nach dem Reaktionsmechanismus von CARMACK und DE TAR (41) deuten, die eine Zwischenstufe mit einer Dreifachbindung annehmen.

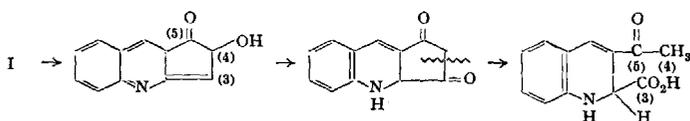
## 21. Umlagerung von Chloralchinaldin zu 3-Acetyl-1.2-dihydrochinolin-2-carbonsäure.

Chloralchinaldin (I) gibt bei der Behandlung mit alkoholischer Lauge neben der zu erwartenden Chinolylacrylsäure (II) eine weitere Verbindung (EINHORN), die von WOODWARD und KORNFELD (222) als 3-Acetyl-1.2-dihydrochinolin-2-carbonsäure (III) erkannt worden ist.

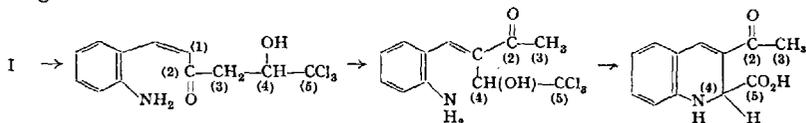


Bei der Bildung von III muß eine tiefgreifende Umlagerung des Moleküls stattgefunden haben.

Nach WOODWARD und KORNFELD (222) sollen dabei folgende Zwischenstufen durchlaufen werden:

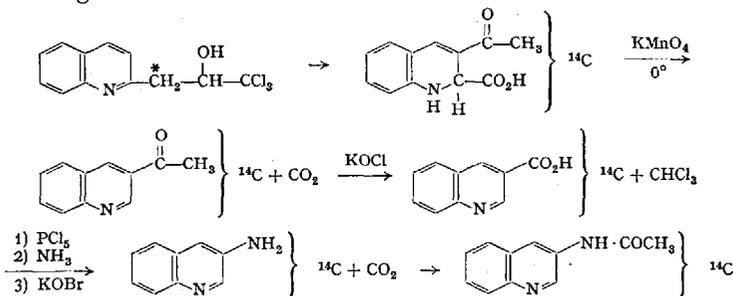


BROWN, HAMMICK und ROBINSON (34) formulierten die Reaktion folgendermaßen:

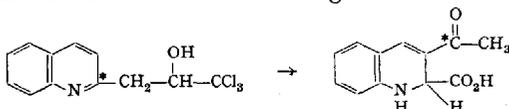


Da nach beiden Vorstellungen die Reihenfolge der C-Atome in dem Endprodukt verschieden ist, kann eine geeignete Markierung mit isotopem Kohlenstoff zur Prüfung dieser Hypothesen dienen. DAUBEN und VAUGHAN (66) stellten zunächst in der Methylengruppe mit  $^{14}\text{C}$  markiertes Chloralchinaldin her und lagerten es um. Folgender Abbau

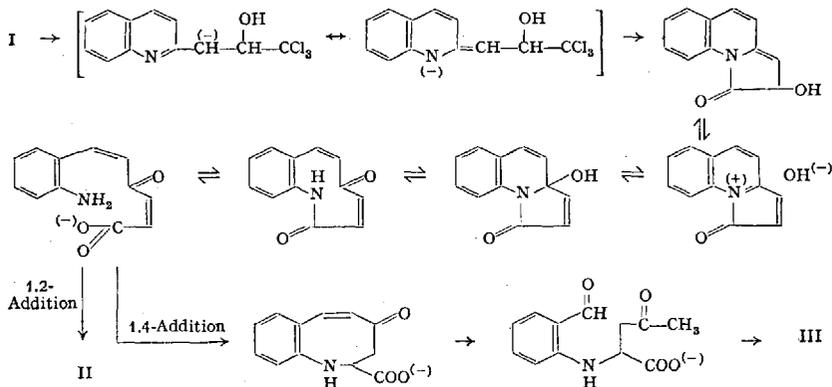
wurde ausgeführt:



Das  $\text{CO}_2$ , das bei der Oxydation der radioaktiven 3-Acetyl-1,2-dihydrochinolin-2-carbonsäure mit Permanganat bei  $0^\circ$  frei wurde, war nichtradioaktiv. Damit ist der Mechanismus von WOODWARD und KORN-FELD unzutreffend, da nach diesen Vorstellungen die 2-ständige Carboxylgruppe in III aus der markierten Methylengruppe stammt. Beim weiteren Abbau mit  $\text{KOCl}$  war das Chloroform praktisch inaktiv und nach dem HOFMANNschen Abbau der Chinolin-3-carbonsäure hatte das gebildete 3-Aminochinolin (als N-Acetylderivat gemessen) die gleiche molare Aktivität wie das ursprüngliche Chloralchinaldin. Das bedeutet, daß das C-Atom der Methylengruppe nun im Chinolinkern sitzt. Da der Abbau des Aminochinolins zu definierten Verbindungen schwierig ist, wurde zur weiteren Aufklärung ein anderweitig, nämlich am C-Atom 2 mit  $^{14}\text{C}$ -markiertes Chloralchinaldin umlagert.



Der wie oben durchgeführte Abbau ergab, daß das  $\text{CO}_2$  vom HOFMANNschen Abbau radioaktiv ist, d. h., daß das C-Atom 2 nach der Umlagerung in der Ketogruppe der Seitenkette erscheint. Dies entspricht



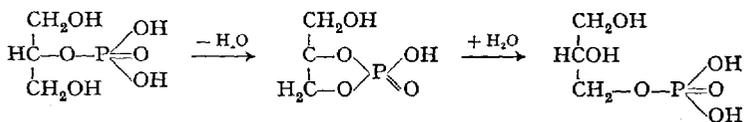
den Vorstellungen von BROWN, HAMMICK und ROBINSON. Doch nehmen DAUBEN und VAUGHAN einen anderen Verlauf der Umlagerung an, der allerdings die gleiche Reihenfolge der C-Atome liefert wie die Vorstellungen von BROWN, HAMMICK und ROBINSON. Danach ist der Verlauf der Umlagerung von Chloralchinaldin zu 3-Acetyl-1.2-dihydrochinolin-3-carbonsäure der Aufspaltung des Chinolinringes bei der Umsetzung mit Benzoylchlorid unter SCHOTTEN-BAUMANN-Bedingungen analog.

## 22. Umlagerung von $\beta$ -Glycerinphosphorsäure in die $\alpha$ -Form.

CHARGAFF (47) untersuchte in Gegenwart von radioaktivem anorganischem Phosphat

1. die Umlagerung der  $\beta$ -Glycerinphosphorsäure in die isomere  $\alpha$ -Form durch starke Säure und
2. die unvollständige Hydrolyse der  $\beta$ -Glycerinphosphorsäure in alkalischem Medium durch Schweineierenphosphatase.

In beiden Fällen fand kein Austausch zwischen dem radioaktiven Phosphat des Mediums und dem organischen Phosphorsäureester statt. Die Isomerisierung verläuft demnach wahrscheinlich über einen cyclischen Diester, wie er bereits von VERKADE formuliert wurde.



Der Enzymversuch beweist, daß bei der Hydrolyse von Glycerophosphat keine merkliche Resynthese aus Glycerin und anorganischem Phosphat stattfindet.

## 23. Umlagerung von 2-Monopalmitin in 1-Monopalmitin.

Bei der Umlagerung von 2-Monopalmitin in Gegenwart von Glycerin- $^{14}\text{C}$  in Alkohol mit 0,6 n HCl bei Zimmertemperatur (36 Stdn.) findet sich im isolierten 1-Monopalmitin keine Radioaktivität. Die Umlagerung findet daher intramolekular, vermutlich über einen Orthoester statt [DOERSCHUK (70a)].

## 24. Hexoseumlagerung in schwerem Wasser.

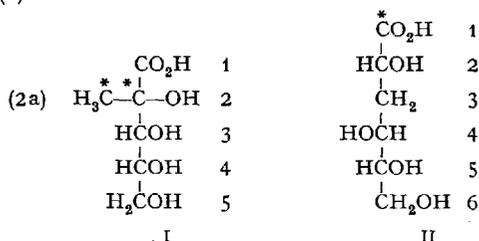
Nach FREDENHAGEN und BONHOEFFER (82) soll bei der basenkatalysierten LOBRY DE BRUYN-VAN EKENSTEINSchen Isomerisierung von *d*-Glucose zu *d*-Fructose und *d*-Mannose bei Zimmertemperatur in schwerem Wasser kein Einbau von Deuterium in die CH-Bindung erfolgen. SOWDEN und SCHAFFER (191) konnten dieses Ergebnis aber nicht

bestätigen. Sie fanden in Übereinstimmung mit dem klassischen Endiol-Mechanismus einen Einbau in die CH-Bindung. Aus den quantitativen Ergebnissen über den Einbau in die gebildete Fructose und Mannose und der Bestimmung der Verteilung in der Fructosekette wird gefolgert, daß die Fructose kein notwendiges Zwischenprodukt bei der Umwandlung von Glucose in Mannose ist.

Bei der Epimerisierung von Glucose-[1-<sup>14</sup>C] findet nach BOTHNER-BY und GIBBS (29) keine Umlagerung der Glucosekette statt.

### 25. Bildung der Saccharinsäuren.

Die Saccharinsäurebildung aus *d*-Mannose-[1-<sup>14</sup>C] und *d*-Galaktose-[1-<sup>14</sup>C] wurde von SOWDEN und KUENNE (192) untersucht. Bei der Einwirkung von Kalkwasser auf *d*-Mannose-[1-<sup>14</sup>C] wird „Glucosaccharinsäure-[<sup>14</sup>C]“ (I) erhalten.



Durch oxydativen Abbau mit Natriumperjodat werden aus ihr CO<sub>2</sub> (aus C<sub>1</sub>), Essigsäure (aus C<sub>2a</sub>, C<sub>2</sub>), Ameisensäure (aus C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>) und Formaldehyd (aus C<sub>5</sub>) gebildet. Über 95% der ursprünglichen Radioaktivität findet man dabei in der Essigsäure. In dieser ist das Verhältnis der Aktivität C<sub>2a</sub>:C<sub>2</sub> = 2:3. Dieses Ergebnis ist unvereinbar mit dem Benzilsäuremechanismus von NEF und ISBELL. Es läßt sich aber durch eine Rekombination von intermediär gebildeten Zuckerfragmenten erklären, deren Natur bisher unbekannt ist.

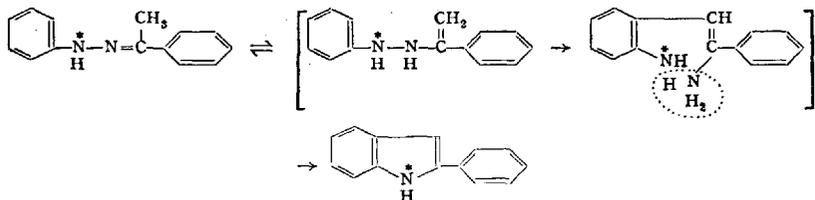
Bei der Einwirkung von Kalkwasser auf *d*-Galaktose-[1-<sup>14</sup>C] entsteht „*d*-Galakto-metasaccharinsäure-[<sup>14</sup>C]“ (II). Der RUFFSche Abbau zeigte, daß im zurückbleibenden Fragment (C<sub>2</sub> bis C<sub>6</sub>) nur noch 5% der ursprünglichen Aktivität vorhanden sind. Hiernach könnte die Bildung der Metasaccharinsäure nach dem Benzilsäure-Mechanismus von NEF und ISBELL erfolgen.

### 26. „Umlagerung“ von Diazoamidobenzol in *p*-Aminoazobenzol.

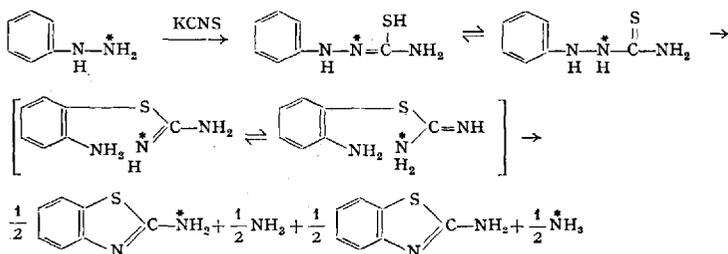
Schon 1888 ist von ZINCKE und JAENKE (223) durch Kreuzversuche mit substituierten Diazoamidobenzolen sehr wahrscheinlich gemacht worden, daß es sich bei der Umlagerung von Diazoamidobenzol in *p*-Aminoazobenzol in Gegenwart von Anilinhydrochlorid um keine echte



Das im Phenylhydrazin  $\alpha$ -ständige Stickstoffatom ist im Verlauf der Synthese mit dem Benzolkern verknüpft geblieben, während das  $\beta$ -ständige als Ammoniak abgespalten worden ist.

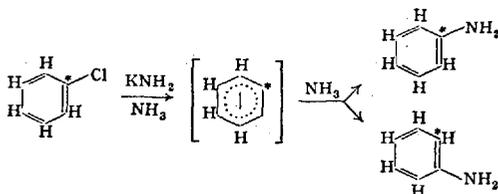


Einen weiteren Einblick in den Reaktionsmechanismus konnten CLUSIUS und WEISSER (51) erhalten. Sie synthetisierten das 2-Aminobenzthiazol aus Phenylhydrazin- $[\beta\text{-}^{15}\text{N}]$  über das 1-Phenyl-thiosemicarbazid und konnten aus den  $^{15}\text{N}$ -Analysen das intermediäre Auftreten eines Diamins beweisen, wie es der ROBINSONSche Reaktionsmechanismus fordert.



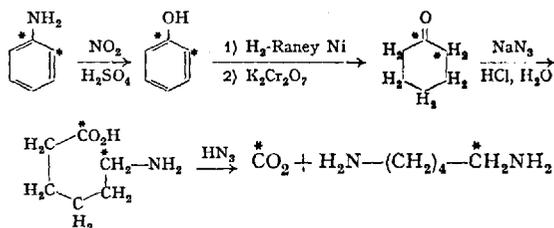
## 2. Anilin aus Chlorbenzol.

Bei der Umsetzung von Arylhalogeniden mit Alkalimetallamiden treten öfters Umlagerungen ein, die bisher noch nicht befriedigend erklärt werden konnten. So erhält man z. B. aus *o*- und *m*-Methoxy- und Trifluormethyl-halogenbenzolen mit Alkalimetallamiden ausschließlich *m*-substituierte Aniline, während die *p*-Isomeren Mischungen von *m*- und *p*-substituierten Anilinen ergeben. ROBERTS und Mitarbeiter (170) nehmen ein elektroneutrales Zwischenprodukt an.



Bei der Durchführung der Reaktion mit Chlorbenzol- $[1\text{-}^{14}\text{C}]$  (I) müssen wegen der symmetrischen Zwischenstufe II gleiche Mengen

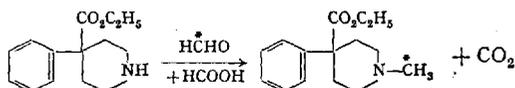
Anilin-[1-<sup>14</sup>C] und Anilin-[2-<sup>14</sup>C] gebildet werden. Dies ist auch tatsächlich der Fall, wie durch folgenden Abbau gezeigt wurde.



Das 1,5-Diaminopentan hatte 51,8% und das  $\text{CO}_2$  43,1% der Radioaktivität des Cyclohexanon.

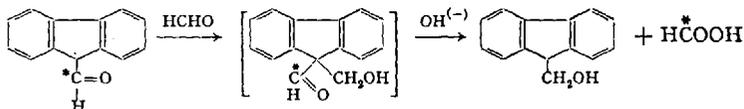
### 3. Methylierung von Aminen mit Formaldehyd und Ameisensäure.

Die Quelle der Methylgruppe bei der Methylierung von Aminen mit Formaldehyd und Ameisensäure ist im Falle des 4-Phenyl-4-carbäthoxy-N-methyl-piperidins (Dolantin, Demerol) der Formaldehyd. Die Ameisensäure wirkt als Reduktionsmittel. Dies konnte TARPEY (199) mit Formaldehyd-[<sup>14</sup>C] und nichtradioaktiver Ameisensäure zeigen. Das erhaltene 4-Phenyl-4-carbäthoxy-N-methylpiperidin hatte die gleiche molare Aktivität wie der Formaldehyd. Beim Kontrollversuch mit Ameisensäure-[<sup>14</sup>C] und nichtradioaktivem Formaldehyd war die molare Aktivität des Kohlendioxyds gleich der der Ameisensäure.



### 4. 9-Oxymethyl-fluoren aus 9-Formyl-fluoren mit Formaldehyd.

Bei der Einwirkung von wäßriger, alkalischer Formaldehydlösung auf 9-Formyl-fluoren wird 9-Oxymethyl-fluoren erhalten. Aus 9-Formyl-fluoren-[10-<sup>14</sup>C] entsteht nach BURR (37) nichtradioaktives 9-Oxymethyl-fluoren, das gebildete Formiation enthält die gesamte Radioaktivität. Durch dieses Ergebnis wird der von BROWN und BLUESTEIN (33) vorgeschlagene Reaktionsmechanismus erhärtet, bei dem als Zwischenstufe ein alkaliinstabiler tertiärer Aldehyd angenommen wird.



### 5. Bildung von $\alpha$ -Acylaminoketonen aus $\alpha$ -Aminosäuren.

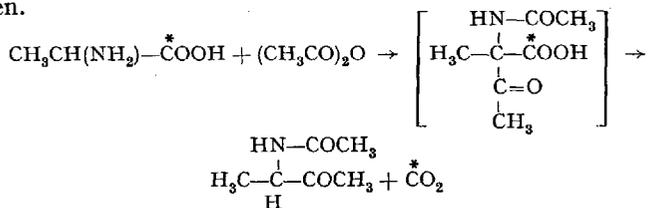
Für die Umwandlung von  $\alpha$ -Aminosäuren in  $\alpha$ -Acylaminoketone und  $\text{CO}_2$  bei der Einwirkung von Essigsäureanhydrid in Gegenwart einer

Base (z. B. Pyridin) sind zwei Reaktionsmechanismen vorgeschlagen worden.

1. Kondensation einer Methylgruppe des Essigsäureanhydrids mit der Carboxylgruppe der Acylaminosäure, Hydrolyse des so entstandenen gemischten Anhydrids und Decarboxylierung der  $\beta$ -Ketosäure.

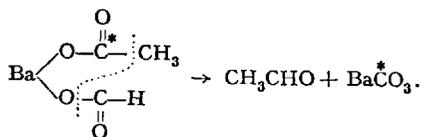
2. Acylierung des  $\alpha$ -C-Atoms der Aminosäure, der eine Decarboxylierung vorangeht oder folgt.

FRY und RAPAPORT (86) erhielten mit Alanin-[1- $^{14}$ C] bzw. Phenylalanin-[1- $^{14}$ C] und inaktivem Essigsäureanhydrid ein radioaktives Kohlendioxyd, das dieselbe molare Aktivität wie die Aminosäure hatte. Das 1-Phenyl-2-acetamino-butanon bzw. das 3-Acetamido-butanon-2 waren nichtradioaktiv. Dadurch wird der erste Mechanismus ausgeschlossen.



## 6. Bildung von Acetaldehyd aus Bariumacetat und Bariumformiat durch Pyrolyse.

Man könnte die Bildung von Acetaldehyd bei der Pyrolyse von Bariumacetat + Bariumformiat als eine Reduktion des Acetats durch das Formiat auffassen. Bei der Verwendung von Bariumacetat-[1- $^{13}$ C] und gewöhnlichem Bariumformiat wurde von BELL und REED (13) aber gefunden, daß der entstandene Acetaldehyd im Carbonyl-C-Atom keinen Überschuß an  $^{13}\text{C}$  enthielt, was unvereinbar ist mit der obigen Auffassung. Es muß also eine Abtrennung der Methylgruppe von der Carboxylgruppe erfolgen. Schematisch läßt sich die Reaktion folgendermaßen formulieren:



Vielleicht verläuft die Reaktion über einen Radikal-Ketten-Mechanismus mit freien Methyl-Radikalen.

## 7. Synthese der 2-Oxy-naphthalin-3-carbonsäure aus $\beta$ -Naphtholnatrium.

Die großtechnische Synthese der 2-Oxy-naphthalin-3-carbonsäure, dem Ausgangsprodukt für die Naphthol-AS-Farbstoffe, aus  $\beta$ -Naphthol-

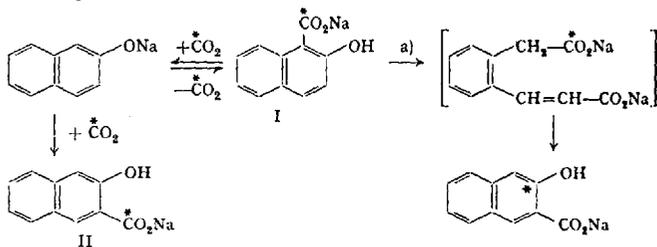
natrium und  $\text{CO}_2$  bei  $240^\circ$  durchläuft die als Zwischenprodukt bei tieferer Temperatur ( $150^\circ$ ) faßbare 2-Oxy-naphthalin-carbonsäure-1.

Es sind zwei Möglichkeiten denkbar, nach denen die 3-Säure aus der 1-Säure entsteht. Entweder

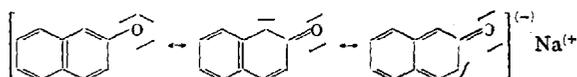
a) findet eine Aufspaltung des Ringes statt unter intermediärer Ausbildung des Salzes der o-Phenylen-essig-acryl-säure, die sofort wieder den Ring schließt zum Salz der 3-Säure, oder

b) es findet bei höherer Temperatur eine Spaltung des Salzes der 1-Säure statt und das Kohlendioxyd tritt nunmehr in die 3-Stellung ein.

BURGDORF, GRISEBACH, KRACKER und WEYGAND (35) untersuchten den Vorgang mit Hilfe von  $^{14}\text{C}$ . Zunächst wurde durch direkte Carboxylierung von  $\beta$ -Naphtholnatrium mit  $^{14}\text{CO}_2$  bei  $240^\circ$  die 3-Säure dargestellt, ferner bei  $150^\circ$  aus den gleichen Komponenten die 1-Säure (I), die  $^{14}\text{C}$  in der Carboxylgruppe trägt. Diese wurde im Bombenrohr unter Zugabe von nichtradioaktivem  $\text{CO}_2$  in die 3-Säure umgelagert. Die nach dem soeben geschilderten Versuch erhaltene und auch die direkt gewonnene 3-Säure wurden nach HOFMANN zum 2-Oxy-3-amino-naphthalin bzw. nach BUCHERER zum  $\beta$ -Naphthol abgebaut. In keinem Falle waren diese Verbindungen radioaktiv. Außerdem wurde eine Gleichverteilung der Radioaktivität bei dem erwähnten Umlagerungsversuch der 2-Oxy-naphthalin-(1-carbonsäure- $^{14}\text{C}$ ) in Gegenwart von nichtradioaktivem  $\text{CO}_2$  in die 3-Säure zwischen dem  $\text{CO}_2$  im Gasraum und der gebildeten 3-Säure festgestellt.

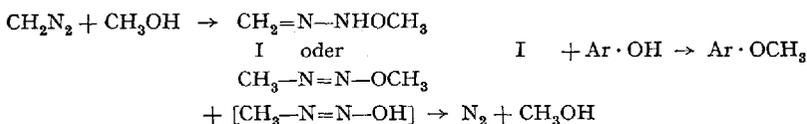


Nach Hypothese a) hätte sich in der 3-Säure  $^{14}\text{C}$  im Naphthalinkern befinden müssen. Da dies nicht der Fall ist, läuft die Reaktion also über eine intermediäre Bildung der 1-Säure, die bei höherer Temperatur decarboxyliert, worauf erneute Carboxylierung in 3-Stellung stattfindet. Dies läßt sich am besten nach der von KARPUCHIN und CHUSSID (118) ausgesprochenen Vermutung verstehen, wonach das Naphthol in drei mesomeren Grenzformen auftritt, die mit steigender Temperatur nacheinander zur Geltung kommen:



### 8. Methylierung von Stilböstrol mit Diazomethan.

Nach SCHÖNBERG und MUSTAFA (187) steigt bei der Methylierung von Stilböstrol mit Diazomethan in Äther die Ausbeute an Stilböstrol-dimethyläther von etwa 25 auf 80% d. Th., wenn man unter sonst gleichen Versuchsbedingungen in Gegenwart von Methanol methyliert. Zur Deutung dieser Befunde wurde angenommen, daß das Diazomethan mit dem Methanol eine Zwischenverbindung (I) bildet, die ein starkes Methylierungsmittel darstellt und nach folgendem Schema weiterreagieren soll:



Gemäß dieser Formulierung muß die Methylgruppe, die schließlich in dem Methylierungsprodukt erscheint, aus dem Methanol und nicht aus dem Diazomethan stammen. Bei Zusatz eines anderen Alkohols müßte also die aus diesem herrührende Alkylgruppe im Endprodukt zu finden sein.

SCHÖNBERG und MUSTAFA (187) und GERBER und CURTIN (88) waren bei der Prüfung dieser Vorstellungen zu widersprechenden Ergebnissen gekommen.

WEYGAND, GRISEBACH und KIRCHNER (210), (211) untersuchten daher die Methylierung von Stilböstrol mit Diazomethan in Gegenwart von Methanol- $^{14}\text{C}$  oder von Propanol-1- $^{14}\text{C}$ . Sie konnten in keinem Falle Radioaktivität in den Reaktionsprodukten feststellen. Die günstige Wirkung des zugesetzten Alkohols hat also eine andere Ursache.

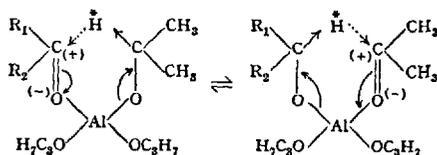
### 9. Darstellung von Propen-1- $^{14}\text{C}$ .

Nach FRIES und CALVIN (83) entstehen bei der Dehydrierung von n-Propanol- $^{14}\text{C}$  mit Metaphosphorsäure oder mit erhitztem Aluminiumoxyd Mischungen von Propen-1- $^{14}\text{C}$  und Propen-1- $^{3-14}\text{C}$ . Die Doppelbindung wandert also teilweise unter diesen Bedingungen der Wasserabspaltung. Dagegen wird beim Erhitzen von n-Propyl- $^{14}\text{C}$ -trimethylammoniumhydroxyd nur Propen-1- $^{14}\text{C}$  erhalten.

### 10. Reduktion nach MEERWEIN-PONNDORF-VERLEY.

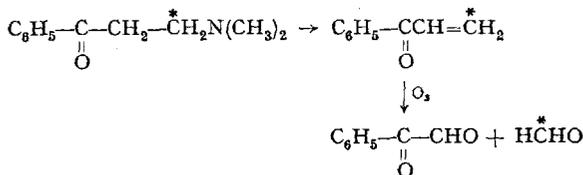
WILLIAMS, KRIEGER und DAY (219) bestimmten bei der Reduktion von Cyclohexanon mit Aluminiumisopropylat, das Deuterium an den Carbinol-C-Atomen enthielt, die Übertragung des Deuteriums auf das Reduktionsprodukt. Außerdem wurde der Deuteriumaustausch unabhängig von der Reduktion untersucht. Die Reduktion verläuft so, daß

nur der Wasserstoff der Carbinolgruppen des Aluminiumisopropylats auf die Carbonylgruppen des Ketons übertragen wird. Dieses Resultat läßt sich durch einen Mechanismus erklären, bei dem ein cyclischer Komplex angenommen wird.



### 11. MANNICH-Reaktion.

Aus radioaktivem Paraformaldehyd, Acetophenon und Dimethylaminhydrochlorid wurde von LOGAN, HUSTON und DORWARB (130) die MANNICH-Base  $\beta$ -Dimethylaminopropiophenon- $[\beta\text{-}^{14}\text{C}]$  hergestellt und aus dieser durch Pyrolyse das Phenyl-vinyl-keton. Durch Abbau mit Ozon zu Phenylglyoxal und Formaldehyd ergab sich, daß der Formaldehyd praktisch die gesamte Radioaktivität enthielt. Bei der MANNICH-Reaktion tritt also kein Austausch der C-Atome ein.



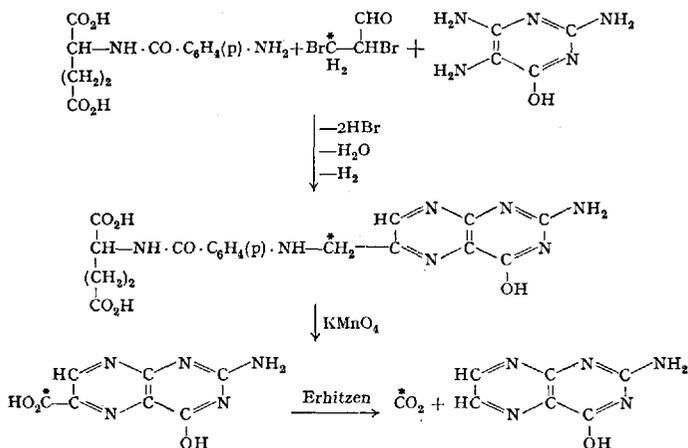
### 12. CANNIZZARO-Reaktion.

FREDENHAGEN und BONHOEFFER (81) führten die CANNIZZARO-Reaktion mit Benzaldehyd in  $\text{D}_2\text{O}$  durch und fanden dabei kein Deuterium in der  $\text{CH}_2$ -Gruppe des entstandenen Benzylalkohols. Dies kann durch Wanderung des Wasserstoffs als Hydridion erklärt werden.

### 13. Synthese der Pteroyl-l-glutaminsäure.

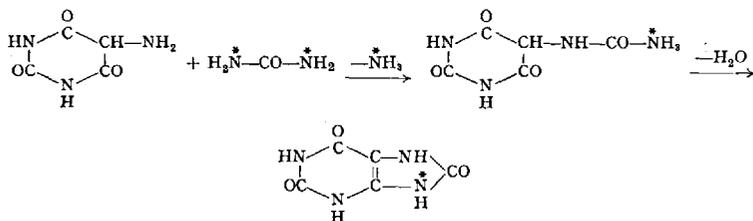
Bei der zuerst bekanntgewordenen Folsäuresynthese wird 2,3-Dibrompropionaldehyd mit 6-Oxy-2,4,5-triamino-pyrimidin und p-Aminobenzoyl-l-glutaminsäure kondensiert. Um zu klären, ob hierbei die Aldehydgruppe oder die  $\text{CH}_2\text{Br}$ -Gruppe des Acroleindibromids die Methylengruppe der Folsäure liefert, verwendeten WEYGAND und SCHAEFFER (213) Acrolein- $[\beta\text{-}^{14}\text{C}]$ . Zur Ermittlung der Stellung des radioaktiven Kohlenstoffs im Endprodukt wurde die Folsäure zunächst zur 2-Amino-6-oxy-pteridin-carbonsäure-8 oxydiert, die beim Erhitzen zum 2-Amino-6-oxy-pteridin decarboxyliert. Das dabei abgespaltene Kohlendioxyd hatte die gleiche molare Aktivität wie die Folsäure. Somit steht fest,

daß die  $\text{CH}_2\text{Br}$ -Gruppe des Acroleindibromids die Methylenebrücke in der Folsäure liefert.

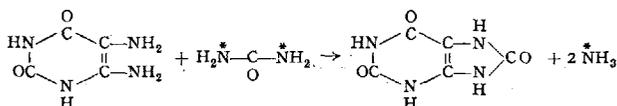


#### 14. Harnsäuresynthesen.

Bei der Harnsäuresynthese nach GRIMAUX mit  $^{15}\text{N}$ -markiertem Harnstoff wird ein Äquivalent  $^{15}\text{NH}_3$  im Laufe der Reaktion abgespalten und die Harnsäure enthält die Hälfte des schweren Stickstoffs, wie CAVALIERI, BLAIR und BROWN (42) zeigten. Durch Abbau wurde bewiesen, daß sich der  $^{15}\text{N}$ -Überschuß in der 9-Stellung der Harnsäure befindet. Die Synthese verläuft also folgendermaßen:

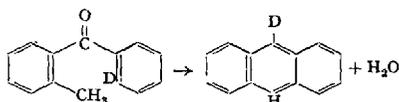


Ganz analog wurde die Harnsäuresynthese nach TRAUBE aus 4,5-Diamino-uracil und  $^{15}\text{N}$ -markiertem Harnstoff von CLUSIUS und VECCHI (54a) studiert. Auch hier stammt das abgespaltene Ammoniak nur aus dem Harnstoff. Man kann ähnlich wie bei der FISCHERSchen Indolsynthese, die intermediäre Bildung eines Diamins vermuten.



### 15. ELBS-Reaktion.

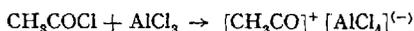
Der einfachste Fall der ELBS-Reaktion liegt vor bei der Bildung von Anthracen aus *o*-Methylbenzophenon durch Erhitzen. Mit Hilfe von 2.5.4'-Trimethyl-benzophenon-[2'-D] bzw. 2.5-Dimethyl-benzophenon-[2'-D] wurde nun von HURD und AZORLOSA (107) untersucht, ob das Wasserstoffatom, das in der 9-Stellung des Anthracens erscheint von der *ortho*-Position des Phenylkerns oder von der Methylgruppe stammt. Das bei der Reaktion entstandene Wasser enthielt kein Deuterium, während fast alles Deuterium im Anthracen wiedergefunden wurde. (Ein Teil geht vermutlich durch Austauschreaktionen mit Nebenprodukten verloren.) Der Wasserstoff in der 9-Stellung des Anthracens stammt also aus der *o*-Position des Kernes.



Dieses Resultat ist mit dem von J. W. COOK (62) wie auch mit dem von FIESER und DIETZ (78) vorgeschlagenen Reaktionsmechanismus vereinbar.

### 16. FRIEDEL-CRAFTS-Synthese.

FAIRBROTHER (76) fand bei der FRIEDEL-CRAFTS-Reaktion zwischen Benzol und Acetylchlorid in Gegenwart von  $\text{AlCl}_3$ , das mit radioaktivem Chlor markiert war, einen vollständigen Austausch zwischen dem radioaktiven und dem inaktiven Chlor. Dieses Ergebnis spricht für die Theorie von MEERWEIN (136) und W. HÜCKEL (103), nach der intermediär ein komplexes Anion gebildet wird.



### 17. MENSCHUTKIN-Reaktion.

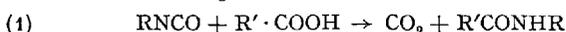
Für die Reaktion zwischen tertiären Aminen und Alkyl- bzw. Arylhalogeniden ist von einigen Autoren die Bildung eines reversiblen Zwischenkomplexes angenommen worden. HARMAN, STEWART und RUBEN (94) fanden aber bei der Umsetzung von Trimethylamin mit Methyljodid, das durch Tritium markiert war, die gesamte Radioaktivität im quartären Salz und keine im überschüssigen Trimethylamin. Auch bei der unvollständigen Reaktion zwischen Dimethylanilin und dem gleichen Methyljodid-[T] enthielt die nicht in Reaktion getretene Base kein Tritium. Diese Ergebnisse schließen ein reversibles Zwischenprodukt aus, bei dem das Jodatome seine Bindung an die ursprüngliche Methylgruppe verliert.

### 18. Alkalischemelze der Arylsulfonsäuren.

Bei der Alkalischemelze von Benzolsulfonsäure,  $\beta$ -Naphthalin-sulfonsäure und  $\beta$ -Anthrachinon-monosulfonsäure mit  $^{18}\text{O}$ -markiertem Natriumhydroxyd wird nach MAKOLKIN (134) die  $\text{SO}_3\text{Na}$ -Gruppe eliminiert. Das Wasser, das aus den Phenolen durch Hydrieren erhalten wurde, enthielt einen Überschuß von schwerem Sauerstoff.

### 19. Die Reaktion zwischen Isocyanaten und Carbonsäuren.

Die Umsetzung von Isocyanaten mit Carbonsäuren kann nach zwei verschiedenen Wegen verlaufen:



Bei höherer Temperatur [Gl. (2)] erhält man das Carbonsäure-anhydrid, den Harnstoff und  $\text{CO}_2$ . Als erstes Reaktionsprodukt wurde von DIECKMANN und BREEST [Ber. 39, 3052 (1906)] das gemischte Carbaminsäure-carbonsäure-anhydrid

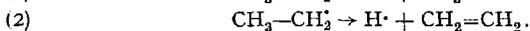
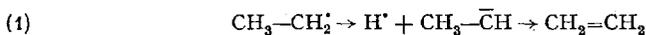


isoliert. Dieses zersetzt sich dann weiter und gibt dabei die in Gl. (1) und (2) aufgeführten Reaktionsprodukte. FRY (87) untersuchte nun, aus welcher Komponente das abgespaltene Kohlendioxyd stammt. Er setzte in der Carboxylgruppe mit  $^{14}\text{C}$ -markierte Essigsäure oder Phenyl-essigsäure mit Phenylisocyanat bzw. mit p-Bromphenylisocyanat um. Die erhaltenen N-substituierten Amide hatte die gleiche molare Aktivität wie die eingesetzte Säure, während das Kohlendioxyd und der substituierte Harnstoff praktisch inaktiv waren. Das  $\text{CO}_2$  entstammt also bei der Reaktion zwischen Isocyanaten und Carbonsäuren aus dem Isocyanat, wie zu erwarten war.

### 20. KOLBE-Synthese.

Die Elektrolyse von deuterierter Essigsäure in Wasser und die von Essigsäure in  $\text{D}_2\text{O}$  wurde von HÖLEMANN und CLUSIUS (99) untersucht. Die isotope Zusammensetzung des gebildeten Äthans entsprach dabei eindeutig der Art des verwendeten Acetations, so daß bei der Elektrolyse von deuterierter Essigsäure in Wasser reines  $\text{C}_2\text{D}_6$  gebildet wird. Es tritt also kein Austausch der Wasserstoffatome des intermediär gebildeten Methylradikals mit dem Lösungsmittel ein.

Weiterhin wurde der Mechanismus der Äthylenbildung bei der Elektrolyse der Propionsäure, die entweder in  $\alpha$ - oder in  $\beta$ -Stellung durch Deuterium substituiert war, untersucht (100). Es gibt zwei Möglichkeiten, nach denen das intermediär entstehende Radikal dehydriert werden könnte:

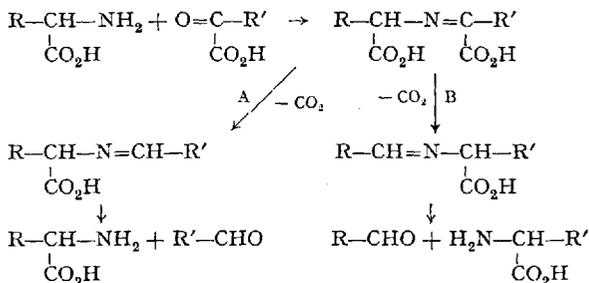


Die Versuchsergebnisse zeigen eindeutig, daß der zweite Weg beschritten wird, da in beiden Fällen  $\text{CH}_2=\text{CD}_2$  erhalten wurde.

KRUIS und SCHANZER (124) elektrolysierten  $\text{CH}_3 \cdot \text{CD}_2 \cdot \text{COOD}$  und konnten außer dem Hauptprodukt  $\text{CH}_2=\text{CD}_2$  noch folgende Verbindungen isolieren:  $\text{CD}_2\text{H} \cdot \text{CH}_3$ ;  $\text{CH}_3 \cdot \text{CD}_2 \cdot \text{CD}_2 \cdot \text{CH}_3$  und außerdem noch Äthanol. Die zuerst genannte Verbindung ist durch Disproportionierung des intermediär gebildeten Äthylradikals, die zweite durch Zusammenlagerung der Äthylradikale (KOLBE-Synthese) entstanden. Bei der Elektrolyse von  $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$  in  $\text{D}_2\text{O}$  waren das gebildete Äthylen „leicht“ und ebenso der Alkohol. Demnach kann der Alkohol nicht durch Wasseranlagerung an Äthylen entstanden sein. Man kann annehmen, daß der Alkohol durch Oxydation der Äthylradikale am  $\beta$ -C-Atom gebildet wird. Der zur Vervollständigung der Methylgruppe des Alkohols erforderliche Wasserstoff wird CH-Bindungen entnommen und nicht dem Elektrolytwasser.

## 21. Transaminierung.

Für die in vitro stattfindende Transaminierungsreaktion zwischen einer  $\alpha$ -Aminosäure und einer  $\alpha$ -Ketosäure sind zwei Reaktionswege möglich:

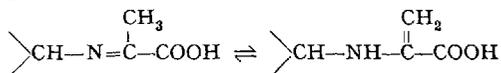


Bei Umsetzung von  $\alpha$ -Aminophenylelessigsäure und Brenztraubensäure ( $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$ ;  $\text{R}' = \text{CH}_3$ ) verläuft die Reaktion nach Weg B und man erhält Benzaldehyd und Alanin. HERBST und RITTENBERG (96) untersuchten diese Reaktion in  $\text{D}_2\text{O}$ . Hierbei gibt es zwei Möglichkeiten.

a) Wenn das  $\alpha$ -ständige H-Atom der ursprünglichen Aminosäure nicht an der Reaktion beteiligt ist, enthält der entstandene Aldehyd kein Deuterium, wohl aber die Aminosäure in  $\alpha$ -Stellung.

b) Ist das  $\alpha$ -ständige H-Atom reaktionsfähig, so muß der Aldehyd Deuterium enthalten und die neue Aminosäure kann Deuterium enthalten oder nicht.

Es wurde kein Deuterium im Benzaldehyd gefunden; das Alanin enthielt jedoch zwei Atomäquivalente davon, wahrscheinlich in der Methylengruppe. Das läßt sich durch folgende Tautomerie erklären:

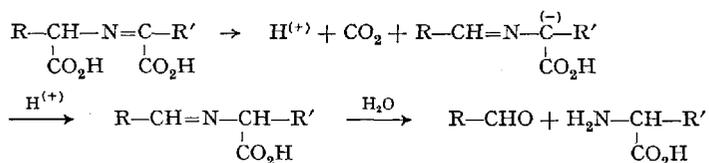


Setzt man eine  $\alpha$ -Deutero-aminosäure in Wasser mit einer  $\alpha$ -Keto-säure um, so ergeben sich folgende Möglichkeiten:

a) Wenn das  $\alpha$ -D-Atom der Aminosäure in Reaktion tritt, enthält der Aldehyd kein Deuterium mehr. Die Aminosäure muß Deuterium enthalten, vorausgesetzt, daß kein Austausch mit dem Wasser stattfindet.

b) Nimmt das  $\alpha$ -D-Atom nicht an der Reaktion teil, muß der Aldehyd Deuterium enthalten ( $R \cdot CDO$ ) und die neue Aminosäure dagegen keines.

Da dieses tatsächlich der Fall ist, verläuft die Transaminierung in vitro daher über eine Decarboxylierung der intermediär gebildeten SCHIFFSchen Base, wobei sich wahrscheinlich gleichzeitig die Doppelbindung verschiebt und ein Proton aus dem Lösungsmittel an das Carbenium addiert wird.



## 22. FISCHER-TROPSCH-Synthese.

F. FISCHER und zahlreiche andere Forscher haben Metallcarbide als Zwischenstufen bei der Synthese von Kohlenwasserstoffen aus Kohlenoxyd und Wasserstoff an Fe-, Ni- oder Co-Katalysatoren angenommen. Zur Prüfung dieser Annahme erzeugten KUMMER, DE WITT und EMMETT (125) auf der Oberfläche des Kontaktes eine Schicht von Carbid, die  $^{14}\text{C}$  enthielt. Zunächst wurde festgestellt, daß ein Austausch zwischen dem  $^{14}\text{C}$  im Carbid und Butan, Buten-1 und Acetylen, sowie ein minimaler Austausch mit CO stattfindet. Dagegen erfolgt kein Austausch mit Methan und den übrigen Kohlenwasserstoffen. Würden bei der FISCHER-TROPSCH-Synthese Metallcarbide als Zwischenstufen auftreten, so müßten die gebildeten Kohlenwasserstoffe etwa die gleiche molare Radioaktivität haben wie die Kontaktoberfläche. Umgekehrt müßten bei Verwendung eines nichtradioaktiven Kontaktes und einer  $\text{H}_2$ - $^{14}\text{CO}$ -Mischung als Synthesegas zunächst Kohlenwasserstoffe mit viel niedriger molarer Aktivität als der der  $\text{H}_2$ - $^{14}\text{CO}$ -Mischung gebildet werden.

In allen Experimenten mit radioaktiver Kontaktoberfläche war jedoch die Radioaktivität der Kohlenwasserstoffe sehr klein, verglichen mit der der Oberfläche. Im umgekehrten Experiment war die Radioaktivität der gebildeten Kohlenwasserstoffe nur wenig verschieden von der des Synthesegases. Nur etwa 40% der Kohlenwasserstoffe scheinen daher über Carbide als Zwischenprodukte gebildet zu werden, die Hauptmenge aber auf andere Weise.

In einer weiteren Arbeit untersuchten KUMMER, PODGURSKI, SPENCER und EMMETT (126) die Theorie von ELVINS und NASH (73) nach der C—H—O-Komplexe Zwischenverbindungen bei der FISCHER-TROPSCH-Synthese sind. Zu diesem Zweck wurden Äthanol-[1-<sup>14</sup>C] und Äthanol-[2-<sup>14</sup>C] im Verhältnis 1:1 dem H<sub>2</sub>-CO-Synthesegas zugesetzt und bei 1 Atm und 230° über einen Eisen-Katalysator geleitet. Das gebildete Methan war kaum radioaktiv, während die Kohlenwasserstoffe der Fraktionen C<sub>5</sub> bis C<sub>10</sub> fast konstante Radioaktivität hatten (2150 ± 100 Imp./min/cm<sup>3</sup>). Die Radioaktivität der Kohlenwasserstoffe mit 2, 3 und 4 C-Atomen war etwas kleiner. Durch thermischen Abbau des nach Zusatz von Äthanol-[1-<sup>14</sup>C] gebildeten Propans zu Methan und Äthylen wurde ein Methan mit geringer Radioaktivität, durch Abbau des nach Zusatz von Äthanol-[2-<sup>14</sup>C]-Zusatz gebildeten Propans ein Methan mit größerer Radioaktivität erhalten. Der Aufbau von Propan aus Alkohol geschieht also hauptsächlich durch Addition eines C-Atoms an das α-C-Atom des Alkohol-Adsorptionskomplexes. Der Abbau von Propylen lieferte das gleiche Resultat.

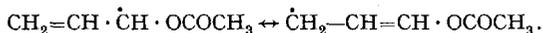
Die eben geschilderten Versuche wurden unter Verwendung von <sup>14</sup>C-markiertem Methanol, n-Propanol, Isopropanol und Isobutanol, sowie nichtradioaktivem t-Butanol fortgesetzt [KUMMER und EMMETT (126a)]. Wie Äthanol kann auch Methanol als Ausgangsmolekül für den Aufbau von höheren Kohlenwasserstoffen dienen, doch beträgt seine Wirksamkeit nur 1/4 derjenigen der anderen Alkohole. Isopropylalkohol wird hauptsächlich in Isobutan und Isobuten umgewandelt. Bei Zusatz von radioaktivem n-Propanol war das gebildete n-Butan radioaktiv, das Isobutan aber nichtradioaktiv. Umgekehrt bildete sich aus radioaktivem Isopropanol radioaktives Isobutan, während das n-Butan inaktiv war. t-Butanol scheint kein Vorläufer von Neopentan zu sein.

Nach den vorliegenden Versuchen scheinen sich aus CO und H<sub>2</sub> bei der FISCHER-TROPSCH-Synthese Komplexe zu bilden, die den adsorbierten Alkoholen ähneln und die als Zwischenprodukte beim Aufbau höherer Kohlenwasserstoffe dienen.

### 23. Polymerisation von Allylverbindungen.

Allylacetat, das Deuterium in der 1-Stellung der Allylgruppe enthält, wurde von BARTLETT und TATE (11) durch Benzoylperoxyd polymerisiert, wobei die Reaktionsgeschwindigkeiten gemessen wurden. Diese waren 1,93- bis 2,89mal größer als in identischen Experimenten mit nichtdeuteriertem Allylacetat. Ebenfalls übertraf das durchschnittliche Molekulargewicht dasjenige des nichtdeuterierten Materials um das 2,38fache. Diese Ergebnisse festigen die Annahme, die schon früher auf Grund kinetischer Messungen gemacht worden war, daß der Kettenabbruch durch die Übertragung eines H-Atoms von der 1-Stellung des

Allylacetats auf das kettenträgende freie Radikal bewirkt wird, wobei sich ein Acetoxyallylradikal bildet, das anderweitig weiterreagiert.



Es kann abgeschätzt werden, daß bei dieser Kettenabbruchreaktion der gewöhnliche Wasserstoff etwa 3mal so schnell wie das Deuterium übertragen wird.

#### 24. Kettenanstoß bei der Emulsionspolymerisation von Styrol.

Bruchteile des Startmittels Persulfat sind chemisch an das Polymere gebunden. SMITH (189) konnte nun mit Hilfe von radioaktivem Persulfat messen, wie schnell sich die Monomeren kombinieren, indem er den Polymerisationsgrad und die Radioaktivität des gebildeten Polystyrols bestimmte. Wie die Ergebnisse zeigen, wird der Polymerisationsbeginn durch die Zahl der gebildeten freien Radikale bestimmt.

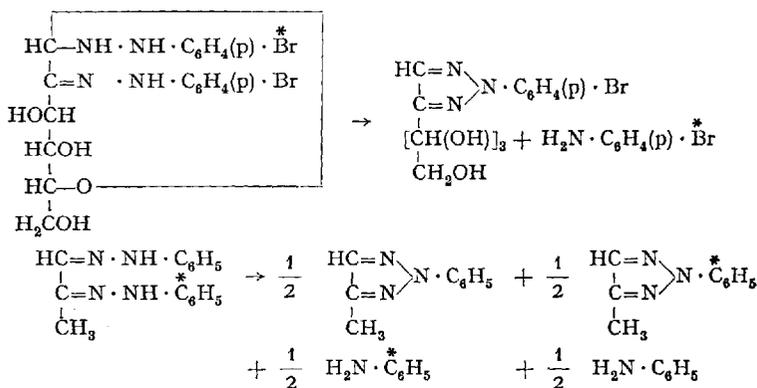
#### 25. Vinylpolymerisation durch Azobisnitrile als Startmittel.

Als Wirksamkeit eines Polymerisationsinitiators bezeichnet man das Verhältnis der Radikale, welche die Polymerisation anstoßen, zu der Gesamtzahl der Radikale, die durch den Zerfall des Initiators gebildet werden. ARNETT und PETERSON (5) bestimmten diese Wirksamkeit, indem sie einige Vinylmonomere (Vinylchlorid, Acrylnitril usw.) in Gegenwart von  $\alpha,\alpha'$ -Azo-bisisobutyronitril, das mit  $^{14}\text{C}$  markiert war, polymerisierten und anschließend die Radioaktivität der Polymeren bestimmten. Die gemessene Initiatorwirksamkeit lag bei etwa 50% für Methacrylsäureester bis etwa 100% für Acrylnitril.

#### 26. Osotriazolbildung aus Osazonen.

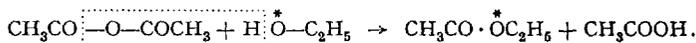
Mit einem *d*-Glucose- $p$ - $^{82}\text{Br}$ -phenylosazon, das eine größere Radioaktivität an dem an  $\text{C}_1$  haftenden *p*-Bromphenylhydrazinrest hatte (s. S. 156), konnte festgestellt werden, daß bei der Osotriazolbildung, die durch Kupfersalze katalysiert wird, das abgespaltene *p*-Bromanilin aus dem an  $\text{C}_1$  haftenden *p*-Bromphenylhydrazinrest stammt [WEYGAND und GRISEBACH (209), (212)]. Hingegen findet eine solche bevorzugte Aufspaltung des einen Phenylhydrazinrestes beim Methylglyoxal-phenylosazon nicht statt (WEYGAND und HASELHORST, unveröffentlicht). Dieses unterschiedliche Verhalten beruht auf dem Vorhandensein eines vom  $\text{C}_1$  ausgehenden Ringes im Glucose- $p$ -bromphenylosazon. Auch beim *d*-Glucose-phenylosazon erfolgt nach Versuchen mit  $^{14}\text{C}$ -markiertem

Phenylhydrazin die Aufspaltung des an C<sub>1</sub> haftenden Phenylhydrazinrestes bei der Osotriazolbildung.

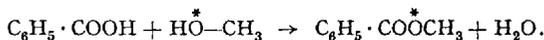


## 27. Weitere Synthesen.

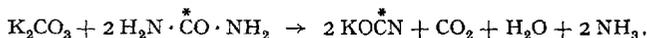
a) **Veresterung.** DEDUSSENKO und BRODSKY (68) zeigten mit <sup>18</sup>O-haltigem Äthanol, daß bei der Reaktion mit Essigsäureanhydrid der Sauerstoff des Alkohols sich im Ester wiederfindet.



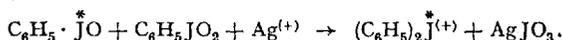
Dies entspricht dem Mechanismus der Veresterung der Benzoesäure mit CH<sub>3</sub> · <sup>18</sup>OH, der schon früher von ROBERTS und UREY (159) untersucht worden war:



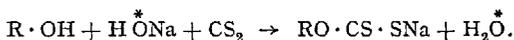
b) **Darstellung von Kaliumcyanat.** WILLIAMS und RONZIO (218) fanden bei der Darstellung von Kaliumcyanat durch Schmelzen von Kaliumcarbonat und Harnstoff, daß der Kohlenstoff des Cyanats nur aus dem Harnstoff stammt.



c) **Bildung des Diphenyl-jodonium-ions.** Mit Hilfe von <sup>131</sup>J zeigten ATEN und ATEN jr. (9), daß bei der Bildung des Diphenyl-jodonium-ions aus Jodosobenzol, Jodbenzol und Ag-ionen das Jod des Diphenyl-jodonium-ions nur aus dem Jodosobenzol stammt.

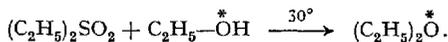


d) **Xanthogenatbildung.** Russische Forscher [vgl. (18)] fanden, daß bei der Xanthogenatbildung aus Alkohol, CS<sub>2</sub> und Na<sup>18</sup>OH die O—H-Bindung des Alkohols gelöst wird:



Mit Alkalicellulose verlief die Reaktion analog.

e) **Ätherbildung.** LAUDER und GREEN (127) studierten den Mechanismus der Ätherbildung mit Äthanol- $^{18}\text{O}$ . Nach  $3\frac{1}{2}$  Stdn. war das Verhältnis  $^{18}\text{O}:^{16}\text{O}$  im Äther 85% desjenigen des benutzten Alkohols.



Nach 35 Stdn. war das  $^{18}\text{O}:^{16}\text{O}$ -Verhältnis nur noch 60%, bezogen auf den ursprünglichen Alkohol, infolge der Reaktion von Diäthylsulfat mit gewöhnlichem Alkohol, der durch Nebenreaktion gebildet wird.

f) **Chlorierung von 2-Methyl-propen-1.** Die Chlorierung von 2-Methyl-propen-1- $^{14}\text{C}$  führt zu dem Isopropenylchlorid- $^{14}\text{C}$ , wie REEVE und CHAMBERS (156) fanden. Dieses wurde mit Ozon in Chloraceton und Formaldehyd gespalten, worauf das Chloraceton mit platinierterm Zink in Aceton übergeführt wurde. Das Aceton enthielt 97% der Radioaktivität. Demnach verläuft die Chlorierung von Isobutylen bei  $0^\circ$  so, daß zunächst ein elektrophiles Cl-Atom an  $\text{C}_1$  angreift, worauf ein Proton unter Verschiebung der Doppelbindung abgespalten wird.

## 28. Bestimmung der Ausbeute einer chemischen Reaktion mit Hilfe der radioaktiven Verdünnungsanalyse.

Interessiert bei einer chemischen Reaktion die tatsächliche Ausbeute und nicht nur die Menge an isolierbarer Substanz, so verwendet man vorteilhaft die radioaktive Verdünnungsanalyse [vgl. KAMEN, S. 112 bis 118 (117)]. Hierzu stellt man zunächst die Verbindung, deren wahre Ausbeute ermittelt werden soll, radioaktiv markiert her und mißt ihre spezifische Aktivität. Dann setzt man eine bestimmte Menge der aktiven Verbindung zu der Lösung unbekanntes Gehaltes hinzu, wodurch eine „Verdünnung“ der Aktivität eintritt. Um den Verdünnungsgrad zu bestimmen, hat man lediglich eine kleine Menge der verdünnten Substanz in reinem Zustand zu isolieren und die Aktivität zu messen. Die Fehlergrenze dieser Methode wird mit unter 1% liegend angegeben.

Wenn  $x_1$  g der aktiven Substanz mit der Aktivität  $X/\text{min}$  zu der Lösung, die  $x_2$  g inaktive (chemisch gleiche) Substanz enthält, gegeben werden, dann ist die spezifische Aktivität nach der Verdünnung  $\frac{X}{x_1 + x_2}$  geworden, während sie zu Anfang  $\frac{X}{x_1}$  betrug. Hat man durch Aktivitätsmessungen beide Größen bestimmt, dann läßt sich die Menge Substanz, die sich in der Lösung befindet, in einfacher Weise berechnen:

$$\frac{\text{Spez. Akt. v. d. Verd.}}{\text{Spez. Akt. n. d. Verd.}} = \frac{x_1}{x_1 + x_2} = \frac{A_a}{A_e} \quad \text{oder} \quad \frac{A_e}{A_a} = \frac{x_1 + x_2}{x_1}.$$

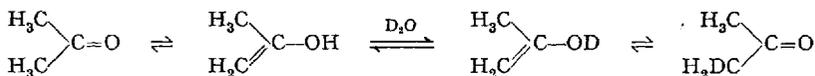
Durch Umformung ergibt sich:  $x_2 = \left(\frac{A_e}{A_a} - 1\right) \cdot x_1$ .

## IV. Austauschreaktionen.

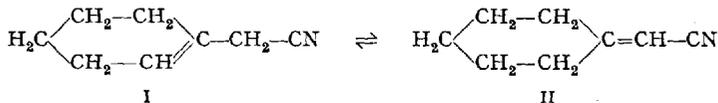
### 1. Tautomerie.

IVES und RYDON (110) fanden 1935, daß in Gegenwart von 1,05 Mol NaOH Buttersäure und Crotonsäure ihre an Kohlenstoff gebundenen Wasserstoffatome nicht gegen Deuterium in  $D_2O$  austauschen, während ein beträchtlicher Austausch bei der Vinylessigsäure auftritt. Es besteht eine Beziehung zwischen diesem Austausch und der Tautomerisierung zu Crotonsäure. Man kann daher annehmen, daß ein Proton vom  $\alpha$ -C-Atom der Vinylessigsäure durch ein protophiles Lösungsmittel entfernt wird [vgl. HAMMETT, Kap. VII (92)]. Nach einer Elektronenverschiebung tritt ein Deuteron in die  $\gamma$ -Stellung ein und zwar zu einem statistischen Betrag, der hauptsächlich durch die Zusammensetzung des Lösungsmittels bestimmt wird. Da das Lösungsmittel eine entscheidende Rolle spielt, muß die Reaktion intermolekular sein. Später wurde von IVES (111) gezeigt, daß der Austausch bei der Vinylessigsäure schneller als die Tautomerisierung abläuft, woraus hervorgeht, daß die Reaktion bimolekular ist.

KLAR (123) fand einen langsamen Austausch von H gegen D in  $D_2O$  beim Acetaldehyd, während bei Formaldehyd, Aceton und Acetylaceton alle Wasserstoffatome ausgetauscht werden. Beim Aceton verläuft der Austausch am schnellsten in alkoholischer Lösung. Mit dem Gleichgewicht zwischen Keto- und Enolform ist der schnell verlaufende Austausch des aciden H-Atoms der Enolform gekoppelt.

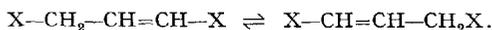


Nach Versuchen von INGOLD, DE SALAS und WILSON (108) ist die Isomerisierung von Cyclohexenyl-acetonitril ein bimolekularer Prozeß.

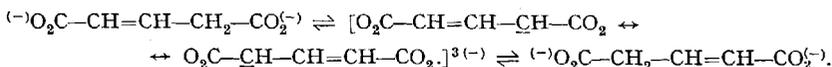


Löst man das  $\beta$ -Isomere (I) in  $D_2O$ , so ist der Austausch zweier Wasserstoffatome bedeutend schneller als die Umlagerung in das  $\alpha,\beta$ -Isomere (II). Dagegen ist beim Lösen von II in  $D_2O$  nur eine sehr kleine Aufnahme von D vorhanden, die auf eine Verunreinigung zurückzuführen ist. Zur Erklärung kann man annehmen, daß zu Beginn der Reaktion das  $\alpha$ -H-Atom von I als Proton abgespalten wird. Die Geschwindigkeit, mit der sich das so gebildete Ion in I zurückverwandelt, muß viel größer sein als die Umlagerung zu der stabilen  $\alpha,\beta$ -Form.

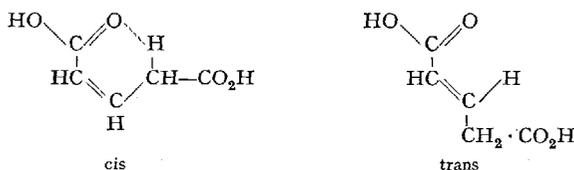
Die cis- und trans-Formen der Glutaconsäure sind ein Beispiel für eine Tautomerie, bei der aus Gründen der Symmetrie die beiden tautomeren Formen identisch sind.



Nach EVANS, RYDON und BRISCOE (74) sind beim Austausch dieser Säuren in  $D_2O$  in Gegenwart von überschüssigem Alkali drei Wasserstoffatome an der Tautomerie beteiligt. Es wird angenommen, daß die Reaktion über ein mesomeres Anion verläuft.



Im Gleichgewicht ist der Austausch für die cis- und die trans-Verbindung gleich. Bei  $20^\circ$  tauscht die cis-Säure viermal schneller aus als die trans-Säure. Die Autoren nehmen zur Erklärung dieses Befundes an, daß die Ionisation des Wasserstoffatoms der Methylengruppe über eine Wasserstoffbrückenbindung in der cis-Form erleichtert wird.



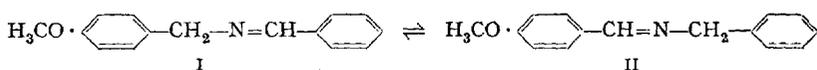
Einen wichtigen Hinweis über den Verlauf der Tautomerisierung erhält man durch gleichzeitige Messung der Geschwindigkeit des Deuteriumaustausches und der Geschwindigkeit der Isomerisierung. Die Geschwindigkeit des Deuteriumaustausches ist ein Maß für die Geschwindigkeit der Ionisation durch den Verlust eines Protons. Oft wird gefunden, daß die Geschwindigkeit der Ionisation und der Isomerisierung gleich sind. Dies führt zu dem Schluß, daß in diesen Fällen die Abgabe eines Protons der erste Schritt der Reaktion ist.

So fanden HSÜ, INGOLD und WILSON (102), daß die Racemisierungsgeschwindigkeit und die Geschwindigkeit der Deuteriumaufnahme von 4-Phenyl- $\beta$ -n-butylketon in  $D_2O$ -Dioxan bei der Katalyse durch  $OD(^-)$  gleich waren. Man kann daher annehmen, daß die Racemisierung und die Austauschreaktion durch denselben fundamentalen Prozeß, die Ionisierung des Ketons, bestimmt werden.

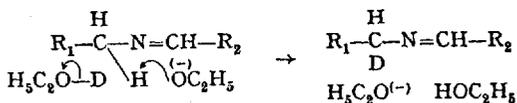
Ein ähnlicher Fall ist die Racemisierung von optisch aktiver Phenyl-p-tolyl-deuteroessigsäure, die von IVES und WILKS (112) untersucht wurde. In alkalischer Lösung geht der Verlust an optischer Aktivität mit der gleichen Geschwindigkeit vor sich wie der Verlust an Deuterium. Hingegen vollzieht sich bei der optisch aktiven Phenyl-p-tolyl-essigsäure

in 3% D<sub>2</sub>O der Verlust an optischer Aktivität schneller als bei der deuterierten Verbindung in H<sub>2</sub>O und auch schneller als die begleitende Austauschreaktion. Die Geschwindigkeit der Racemisierung läßt sich mit der Ionisationsgeschwindigkeit des  $\alpha$ -H- bzw. des  $\alpha$ -D-Atoms vergleichen und man kann daher annehmen, daß die Racemisierung über einen Ionisationsmechanismus verläuft.

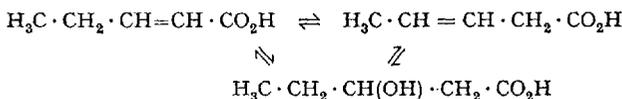
DE SALAS und WILSON (180) bestimmten die Geschwindigkeit der Isomerisierung und des Deuteriumaustausches unter gleichen Bedingungen (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH—C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OD mit NaOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) bei folgenden tautomeren Azomethinen



Nach den Ergebnissen spektroskopischer Untersuchungen wurde vermutet, daß die Umlagerung unter gleichzeitiger Ablösung und Addition eines Protons verläuft. Nach dieser Annahme würde jede Isomerisierung zu einem Austausch führen. Der Austausch war jedoch für I und wahrscheinlich auch für II schneller als die Isomerisierung. Die Autoren vermuten daher einen zweiten Mechanismus, der den Ersatz eines labilen Wasserstoffatoms erlaubt, ohne daß dabei eine Isomerisierung eintritt.



Von IVES und KERLOGUE (113) wurde die Methode auf ein System angewandt, bei dem die beiden Isomeren in fast gleichen Mengen vorhanden sind. Wie aus kinetischen Messungen folgt, stehen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pentensäure, sowie  $\beta$ -Oxyvaleriansäure untereinander in direktem Gleichgewicht.

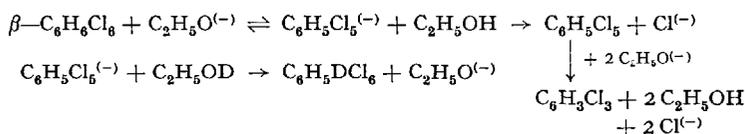


Die Isomerisierung erfolgt hauptsächlich durch einen direkten prototropen Austausch. Der Deuteriumaustausch in D<sub>2</sub>O, der die Isomerisierung begleitet, steht in Übereinstimmung mit den kinetischen Messungen und zeigt, daß die Isomerisierung über einen bimolekularen Mechanismus verläuft.

## 2. Deuteriumaustausch bei der Chlorwasserstoffabspaltung aus $\beta$ -Benzolhexachlorid.

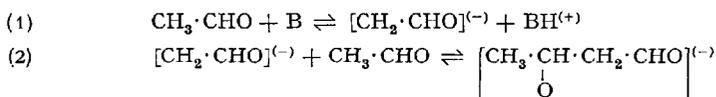
Bei der HCl-Abspaltung aus  $\beta$ -Benzolhexachlorid mit C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ONa in C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OD fanden CRISTOL und FIX (62a) nach der Umsetzung der Hälfte

der Verbindung im restlichen  $\beta$ -Benzolhexachlorid einen geringen Deuteriumgehalt, der dafür spricht, daß die HCl-Abspaltung über ein Carbanion verläuft. Im Durchschnitt wird auf 150 Molekel Benzolhexachlorid 1 Deuteriumatom aufgenommen.



### 3. Enolisierung und Aldolkondensation.

Bei der Aldolkondensation von Acetaldehyd und bei der Hexosenbildung aus Glycerinaldehyd oder einem Gemisch von Glycerinaldehyd und Dioxyceton in  $\text{D}_2\text{O}$  fanden BONHOEFFER und WALTERS (24) keinen Einbau von Deuterium. Man muß daher annehmen, daß die Geschwindigkeit der Aldolkondensation gleich der Geschwindigkeit der Enolisierung des Aldehyds ist. Die Reaktion ist 1. Ordnung für den Aldehyd und nahezu proportional der OH-Ionenkonzentration. Wahrscheinlich verläuft die Reaktion folgendermaßen:



Die Reaktion (1) muß geschwindigkeitsbestimmend sein, da im anderen Falle ein Einbau von D in die CH-Bindung erfolgen würde.

Dagegen verläuft die Aldolkondensation von Aceton mit NaOH in  $\text{D}_2\text{O}$  unter Einbau von Deuterium (25). Die Geschwindigkeit der Deuteriumaufnahme ist 1000mal größer als die der Aldolbildung.

### 4. Austausch zwischen der Formamidogruppe und Formamid.

Bei der Synthese von Adenin-[8- $^{13}\text{C}$ ] aus 4,6-Diamino-(5-formamido-[ $^{13}\text{C}$ ])-pyrimidin (I) durch Erhitzen in Formamid stellten CAVALIERI und BROWN (44) einen erheblichen Austausch zwischen I und dem Formamid fest, was eine Umamidierung darstellt. Nur 25% des  $^{13}\text{C}$ -Überschusses von I wurden im Adenin wiedergefunden. Durch Verwendung anderer Lösungsmittel an Stelle von Formamid kann der Austausch, der insbesondere bei der Synthese hochradioaktiver, in 9-Stellung  $^{14}\text{C}$ -markierter Purine sehr störend ist, vermieden werden [vgl. (215)].

### 5. WALDENSche Umkehrung.

HUGHES und Mitarbeiter (106) haben mit Hilfe von  $^{82}\text{Br}$  die Austauschgeschwindigkeit des Broms in *d*- $\alpha$ -Phenyl-äthylbromid im Vergleich zu der Racemisierungsgeschwindigkeit der Verbindung durch

LiBr in Aceton bestimmt. Innerhalb der Fehlergrenzen (10%) sind beide Geschwindigkeiten gleich. Analoge Verhältnisse wurden bei der Racemisierung von *d*-sek. Octyljodid durch Na<sup>131</sup>J angetroffen (105).

### 6. Austausch im Chinhydronkomplex.

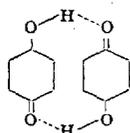
GRAGEROW und MIKLUKHIN (91) fanden keinen Austausch des Deuteriums zwischen Benzochinon und Hydrochinon-[2,3,4,6-D] im Chinhydronkomplex.

Bei der Reaktion zwischen Durohydrochinon-[1-<sup>14</sup>C] und inaktivem Durochinon bzw. bei der umgekehrten Markierung wurden von BOTHNER-BY (31) folgende Werte gemessen:

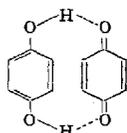
	Durochinon	Durohydrochinon
Vor Bildung des Komplexes . . . . .	0	1950 Imp./min/mg
Gleich nach der Bildung des Komplexes . . .	209	1513 (als BaCO <sub>3</sub> )
24 Stdn. danach . . . . .	190	1550
Vor Bildung des Komplexes . . . . .	1950	0
Gleich nach der Bildung des Komplexes . . .	843	321
24 Stdn. danach . . . . .	833	301

Daraus folgt, daß ein schneller Austausch der Oxydationsstufen zwischen Chinon und Hydrochinon in der Lösung vor der Bildung des Komplexes stattfindet. Nach Bildung der Chinhydronverbindung ist aber innerhalb 24 Stdn. kein nachweisbarer Austausch mehr vorhanden.

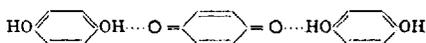
Mehrere Formulierungen sind für die Chinhydronen vorgeschlagen worden:



WILLSTÄTTER,  
PICCARD



MICHAELIS



PALACIOS, FOX

Die Formulierung von WILLSTÄTTER und PICCARD ist mit den obigen Ergebnissen unvereinbar, da in ihr die beiden Komponenten durch die Bildung eines symmetrischen Resonanzhybrids ihre Identität verloren haben. Bei den Formulierungen nach MICHAELIS und PALACIOS und FOX bleibt die Identität beider Komponenten gewahrt.

### 7. Austausch von Wasserstoff bei Trioxy- und Dioxybenzolen.

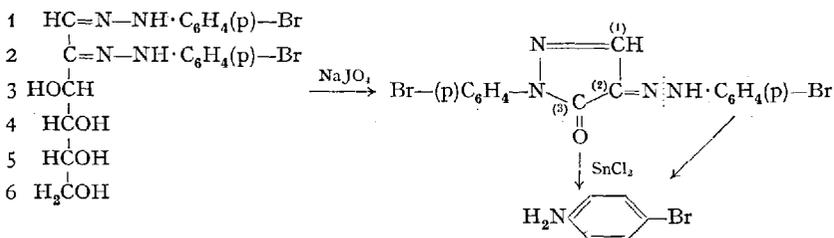
MÜNZBERG (138) untersuchte die Austauschgeschwindigkeit der Wasserstoffatome von Pyrogallol, Natriumgallat und Phloroglucin gegen Deuterium in D<sub>2</sub>O. Beim Pyrogallol werden die drei Hydroxylwasserstoffatome unmeßbar schnell, die an C gebundenen Wasserstoffatome

langsamer und zwar jedes mit einer charakteristischen Geschwindigkeit ausgetauscht ( $o > m > p$ ). Allgemein ist festzustellen, daß Kernwasserstoffe, die zu OH-Gruppen orthoständig sind, recht schnell ausgetauscht werden. Daraus kann geschlossen werden, daß neben der Enolform noch eine Ketoform existiert.

Weiterhin wurde die Austauschgeschwindigkeit der Wasserstoffatome beim Resorcin, Orcin und Hydrochinon bestimmt (139). Beim Resorcin werden die Hydroxylwasserstoffe sehr schnell, zwei Wasserstoffatome des Kerns durch Keto-Enol-Umlagerung mit meßbarer Geschwindigkeit und die übrigen Kernwasserstoffe nur sehr langsam ausgetauscht. Beim Orcin sind die Ergebnisse ähnlich, während beim Hydrochinon die Kernwasserstoffe alle sehr langsam ausgetauscht werden.

### 8. Austausch von Phenylhydrazinresten bei Zuckerosazonen.

WEYGAND und GRISEBACH (209), (212) fanden durch Verwendung von p-<sup>82</sup>Brom-phenylhydrazin, daß die beiden p-Bromphenylhydrazinreste von Zuckerosazonen gegen p-Bromphenylhydrazin in alkoholisch-wäßriger, schwach essigsaurer Lösung in der Siedehitze nicht gleich schnell ausgetauscht werden. Bei den p-Bromphenylosazonen von Glucose, Xylose und 5,6-Dimethylglucose wird der an C<sub>1</sub> haftende p-Bromphenylhydrazinrest schneller als der an C<sub>2</sub> gebundene ausgetauscht. Die Aktivitätsverteilung nach erfolgtem Austausch wurde durch folgenden Abbau bestimmt. Hierbei wird der an C<sub>2</sub> haftende p-Bromphenylhydrazinrest als p-Bromanilin abgespalten.



Die Annahme eines Ringes, der in den Zuckerosazonen von C<sub>1</sub> ausgeht, trägt den Versuchsergebnissen am besten Rechnung.

Ganz analoge Ergebnisse wurden auch durch Verwendung von <sup>14</sup>C-markiertem Phenylhydrazin gewonnen (WEYGAND und KIRCHNER, unveröffentlicht).

### 9. Austauschreaktionen bei Kohlenwasserstoffen.

Bei Anwendung eines DBr—AlBr<sub>3</sub>-Katalysators auf n- oder iso-Butan fanden PINES und WAKHER (152) keine Isomerisierung und nur 6 bzw. 9% Austausch des Deuteriums. Bei Gegenwart von 0,1 Mol n-Buten werden



die der Reaktion  $\text{Br} + \text{C}_2\text{H}_2\text{Br}_2^* \rightarrow \text{C}_2\text{H}_2\text{BrBr}^* + \text{Br}$  und diese ist doppelt so groß wie die der Reaktion  $\text{Br} + \text{cis-C}_2\text{H}_2\text{Br}_2 \rightarrow \text{Br} + \text{trans-C}_2\text{H}_2\text{Br}_2$ . Die cis-trans-Umlagerung kann danach über zwei rotationsisomere  $\text{C}_2\text{H}_2\text{Br}_2$ -Radikale erfolgen.

### 10. Austauschreaktionen bei Carbonsäuren.

Löst man eine Carbonsäure in  $\text{D}_2\text{O}$ , so wird das Wasserstoffatom der Carboxylgruppe sehr schnell durch Deuterium ersetzt (93).

IVES (114) untersuchte nun den durch Alkalien katalysierten Austausch der an Kohlenstoff gebundenen Wasserstoffatome bei einigen Carbonsäuren. Bei Essigsäure, Phenylelessigsäure, Acrylsäure, Crotonsäure und Sorbinsäure wurde ein Austausch gefunden, dagegen konnte bei Propionsäure, n-Buttersäure, Isobuttersäure, Benzoesäure, p-Tolylsäure und  $\alpha$ - und  $\beta$ -Phenylpropionsäure kein Austausch festgestellt werden. Das Fehlen eines Austausches bei der Propion-, Butter- und Isobuttersäure läßt sich durch den positiven induktiven Effekt der Alkylgruppen erklären, wodurch das  $\alpha$ -C-Atom negativiert wird. IVES diskutiert zwei mögliche Reaktionsmechanismen. Doch findet nach SCHANZER und CLUSIUS (182) auch bei Propionsäure und n-Buttersäure Einbau von Deuterium in die  $\alpha$ -Stellung statt. Neuerdings haben BELL und Mitarbeiter (14) den Deuteriumaustausch von aliphatischen Carbonsäuren in Gegenwart von Platinkatalysatoren [VAN HEYNINGEN, RITTENBERG und SCHOENHEIMER (201b)] eingehender untersucht. Der Platinkatalysator fördert die Deuterierung derjenigen Carbonsäuren, die schon in homogener Lösung austauschen und ermöglicht den Austausch bei solchen Säuren, die sonst nicht oder kaum austauschen. So wird Propionsäure in  $\text{D}_2\text{O}$  bei 125 bis 130° nur in der  $\alpha$ -Stellung deuteriert, beim Zusatz von Pt auch in der  $\beta$ -Stellung und Trimethylelessigsäure (kein H am  $\alpha$ -C-Atom!) tauscht in homogener Phase nicht aus, wohl aber bei Anwesenheit eines Pt-Katalysators.

Der Austausch zwischen Essigsäureanhydrid und Natriumacetat-[1- $^{14}\text{C}$ ] verläuft bei Zimmertemperatur sehr schnell, ebenso der zwischen Buttersäureanhydrid und Natriumbutyrat-[1- $^{14}\text{C}$ ] (178).

Durch Vergleich der Austauschergebnisse mit schwerem Sauerstoff schlossen ROBERTS und UREY (160), daß die säurekatalysierte Esterhydrolyse, die Veresterung und der Sauerstoffaustausch von Carbonsäuren auf einem ähnlichen Reaktionsmechanismus beruhen.

### 11. Sonstige Austauschreaktionen.

MEARS und SOBOTKA (135) untersuchten den Sauerstoffaustausch zwischen Proteinen und Proteinderivaten gegenüber  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ . Die einzige



Für die Reaktion zwischen Methan und Deuterium sind zwei Mechanismen vorgeschlagen worden.

1.  $D + CH_4 = CH_3 + HD$ , gefolgt von einem Austausch des Methylradikals vor der Stabilisierung.

2.  $D + CH_4 = CH_3D + H$ .

COLLET und HARRIS (55) fanden bei der Analyse der Reaktionsprodukte 80%  $CD_4$  und als Rest in der Hauptsache  $CHD_3$ . Dies zeigt, daß der erste Mechanismus sehr wahrscheinlich allein für den Austausch verantwortlich ist.

Acetylen tauscht seine Wasserstoffatome gegen Deuterium in alkalischer Lösung aus, aber nicht in reinem  $D_2O$  oder in *n*-Phosphorsäure (157).

THOMPSON, TURKEWICH und IRSA (201) untersuchten den Wasserstoffaustausch gegen Deuterium über einem FISCHER-TROPSCH-Kobaltkatalysator bei Äthan, Propan und Isobutan.

Bei der Pyrolyse von Bariumbutyrat und Bariumbutyrat-[2- $D_2$ ] ist schon vollständiger Austausch eingetreten, wenn erst 25% decarboxyliert sind. K. B. WILBERG (216) nimmt daher an, daß die Reaktion über das Anion  $C_2H_5-\bar{C}H-COO^{(-)}$  verläuft.

Der Austausch zwischen radioaktivem  $Na^{131}J$  in Alkohol-Wasser wurde bei folgenden Verbindungen untersucht: Isopropyljodid, *n*-Propyljodid, Propylenjodid, Äthyljodid, Methyljodid, Dijodmethan und Trijodmethan. Mit Methyljodid und Propyljodid wurde nach 1 min bei Raumtemperatur mehr als 50% Austausch gefunden. Bei den anderen Verbindungen war der Austausch vernachlässigbar oder klein (116).

WEYGAND und GRISEBACH (214) fanden einen Austausch zwischen dem Brom in *p*-Bromanilin und Bromwasser beim Fällen des *p*-Bromanilins als Tribromanilin. Auch Brombenzol tauscht sein Halogen mit Bromwasser aus.

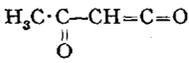
NEIMANN, MAXIMOWA und SCHAPOWALOW (142) untersuchten die Kinetik des Bromaustausches zwischen Propylbromid und  $NaBr$ . Aus der Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten von der Konzentration wird geschlossen, daß der Austausch weder zwischen den undissoziierten Molekülen über einen Komplex  $C_3H_7Br-NaBr^*$  noch über eine Dissoziation in die Ionen  $C_3H_7^{(+)}$  und  $Br^{(-)}$  verläuft. Die Werte stimmen dagegen für den Komplex  $C_3H_7Br-Br^*$ .

Bei der Alkylierung von Isobutan mit Buten-2 in Gegenwart tritiumhaltiger Schwefelsäure als Katalysator tritt eine vollständige Gleichverteilung des Tritium zwischen dem Katalysator und dem Alkylierungsprodukt ein (196).

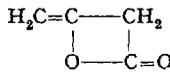
## V. Strukturbeweise.

### 1. Struktur von Diketen.

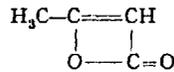
Fünf Strukturen sind für Diketen vorgeschlagen worden, von denen eine (IV) zwei äquivalente Carbonylgruppen hat.



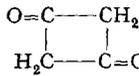
I  
Acetylketen



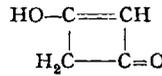
II  
Vinylaceto- $\beta$ -lacton



III  
 $\beta$ -Crotonlacton

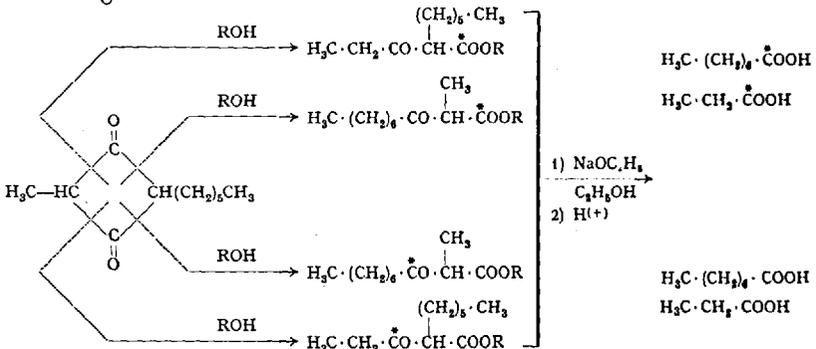


IV  
Cyclobutadienon-1.3

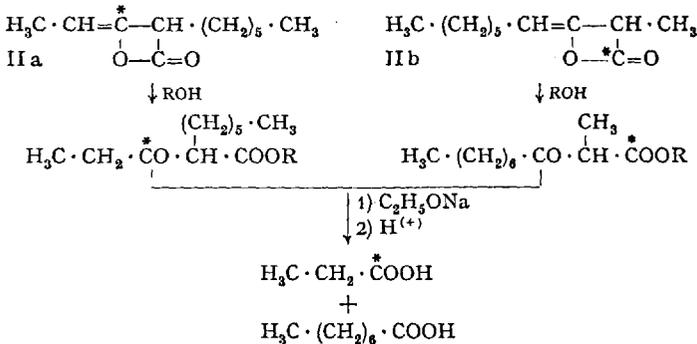


V  
Monoenol von IV

ROBERTS, ARMSTRONG, TRIMBLE und BURG (161) stellten aus Propionylchlorid-[1- $^{14}\text{C}$ ] und Caprylchlorid das gemischte Diketen dar. Es wurde über die mit Alkohol erhältlichen substituierten  $\beta$ -Ketosäureester abgebaut:

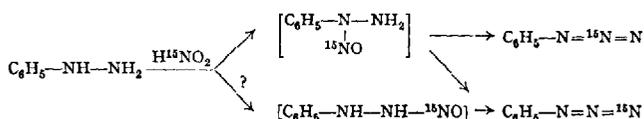


Nimmt man Struktur IV an, so müßte wegen der Äquivalenz der Carbonylgruppen radioaktive Propionsäure und radioaktive Caprylsäure in gleicher Menge entstehen. Falls die Struktur II vorliegt, kann nur radioaktive Propionsäure und inaktive Caprylsäure gebildet werden. Die



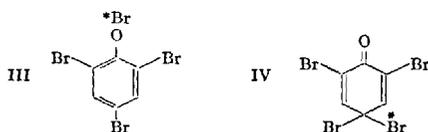


Bei der Bildung des Phenylazids aus Phenylhydrazin und  $H^{15}NO_2$  entstehen neben dem Hauptprodukt  $R-N=N=^{15}N$  auch noch einige Prozente  $R-N=^{15}N=N$ . Man muß daher annehmen, daß bei der Umsetzung mit Phenylhydrazin mindestens zwei Reaktionswege beschriftet werden.



### 3. Struktur von Tribromphenol-brom.

Zwischen den für Tribromphenol-brom (I) in Frage kommenden Formulierungen als eines Esters von HOBr oder einer Verbindung mit chinoider Struktur gibt es bisher noch keine anerkannte Entscheidung. JASSNIKOW und SCHILOW (115) behandelten 2.4.6-Tribromphenol (II) mit radioaktivem Brom und reduzierten das entstandene I wieder zu II. Im Falle der Esterstruktur (III) muß das zurückgewonnene II inaktiv sein, während im Falle der chinoiden Struktur IV im Reduktionsprodukt die Hälfte der Radioaktivität vorhanden sein müßte, da die am gleichen



C-Atom gebundenen Br-Atome gleichwertig sind. Die nach der Reduktion in II gefundene Radioaktivität war aber von den Versuchsbedingungen abhängig, so daß keine Entscheidung getroffen werden konnte.

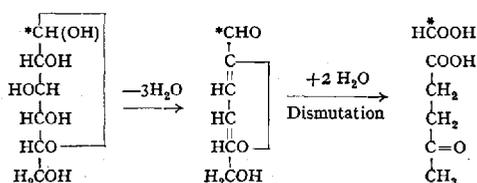
Nach eigenen Erfahrungen (WEYGAND und GRIEBACH, unveröffentlicht) kann diese Methode zu keinen definitiven Aussagen beitragen, da auch im Tribromanilin die Bromatome mit wäßrigem, radioaktivem Brom in Austausch treten.

## VI. Abbau und Zersetzungsreaktionen.

### 1. Einwirkung von Bromwasserstoffsäure auf *d*-Glucose.

Durch Einwirkung von Mineralsäuren auf *d*-Glucose erhält man Lävulinsäure und Ameisensäure. Als Zwischenprodukt wurde von KIERMAYER (121), wie auch von VAN EKENSTEIN und BLANKSMA (72) und von PUMMERER (155) das 5-Oxymethyl-furfurol postuliert. Nach dem

vorgeschlagenen Reaktionsmechanismus sollte das Aldehyd-C-Atom der Glucose das C-Atom der Ameisensäure liefern. SOWDEN (190) erhielt durch Einwirkung von Bromwasserstoffsäure auf *d*-Glucose-[1-<sup>14</sup>C] neben nichtradioaktiver Lävulinsäure radioaktive Ameisensäure derselben molaren Aktivität wie sie die Glucose hatte.

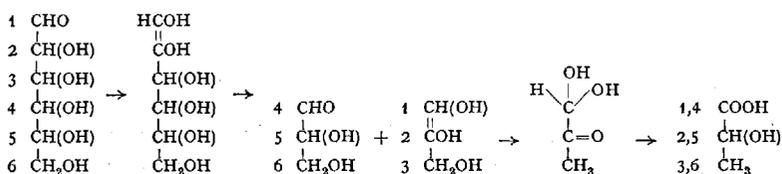


Dieses Ergebnis ist eine Stütze für den vorgeschlagenen Reaktionsmechanismus (155), aber kein Beweis für die Richtigkeit der formulierten Zwischenstufen.

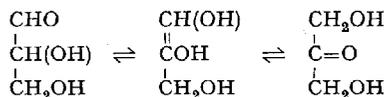
## 2. Bildung von Milchsäure

bei der Einwirkung von Alkali auf Kohlenhydrate.

Von EVANS (75) wurde die Bildung von Milchsäure bei der Einwirkung von Alkali auf Kohlenhydrate folgendermaßen formuliert:



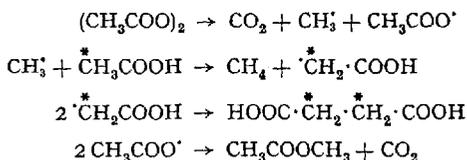
Weiterhin nimmt EVANS an, daß in der alkalischen Lösung der primär entstehende Glycerinaldehyd eine LOBRY DE BRUYN-VAN EKENSTEIN-Umlagerung zu Dioxyaceton erleidet und somit ebenfalls in Milchsäure übergeht.



Nach diesen Vorstellungen sollte C<sub>1</sub> der Glucose das Carboxyl-C der Milchsäure und wegen der symmetrischen Zwischenstufe Dioxyaceton auch das Methyl-C der Milchsäure ergeben. In Übereinstimmung hiermit erhielt GIBBS (89) bei der Einwirkung von Alkali auf Glucose-[1-<sup>14</sup>C] eine Milchsäure, die in der Carboxyl- und Methylgruppe die gleiche Radioaktivität hatte.

### 3. Zersetzung von Diacetylperoxyd in Essigsäure.

Für die thermische Zersetzung von Diacetylperoxyd in Essigsäure wurde von KHARASCH und GLADSTONE (120) ein Radikal-Ketten-Mechanismus formuliert:



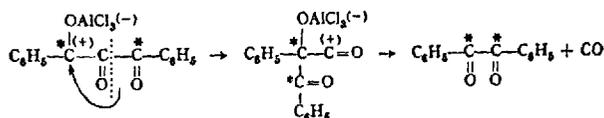
FRY, TOLBERT und CALVIN (85) führten die Reaktion mit Essigsäure-[2-<sup>14</sup>C] und nichtradioaktivem Diacetylperoxyd durch. Nach obigem Schema sollte man dabei inaktives CO<sub>2</sub>, Methan und Essigsäuremethylester erwarten, jedoch radioaktive Bernsteinsäure, die die doppelte molare Aktivität wie die Essigsäure haben muß. Die Versuchsergebnisse standen in weitgehender Übereinstimmung mit dem geforderten Mechanismus. Jedoch wurde auch im Essigsäuremethylester Radioaktivität gefunden, was noch nicht erklärt wurde. Unter den Versuchsbedingungen tritt kein Austausch zwischen Essigsäure und Diacetylperoxyd oder zwischen Essigsäure und Essigsäuremethylester ein.

### 4. Decarboxylierung von Diphenyl-triketon.

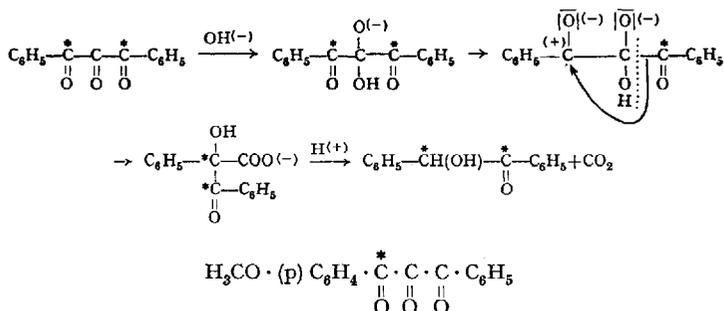
Diphenyl-triketon verliert, wie eine Anzahl anderer  $\alpha$ -Poly-carbonylverbindungen unter dem Einfluß verschiedener basischer oder saurer Katalysatoren CO oder CO<sub>2</sub> und geht dabei in Benzil oder Benzoin über. ROBERTS, SMITH und LEE (165) untersuchten nun mit Hilfe von Diphenyl-triketon-[1-<sup>14</sup>C], ob dabei die mittlere oder eine dem Kern benachbarte Carbonylgruppe verloren geht.

Mit AlCl<sub>3</sub>, Kupferacetat oder Natriumhydroxyd wurde in jedem Falle die mittlere Carbonylgruppe abgespalten. Die jeweils gebildeten Produkte waren Benzil und CO, Benzil und CO<sub>2</sub> und Benzoin und CO<sub>2</sub>. Mit Aluminiumchlorid in Gegenwart von Wasser wurde Benzoin und CO<sub>2</sub> gebildet. Analoge Ergebnisse wurden mit p-Methoxyphenyl-phenyl-triketon erhalten.

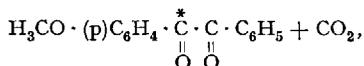
Die Decarboxylierung läßt sich im Falle der durch AlCl<sub>3</sub> und Cupriacetat katalysierten Reaktion nach einer Umlagerung vom WAGNER-MEERWEIN-Typ erklären:



Die basenkatalysierte Reaktion ist analog der Benzilsäureumlagerung formulierbar:



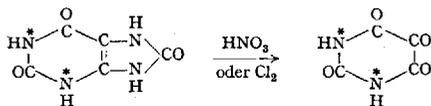
gibt mit Kupferacetat fast nur



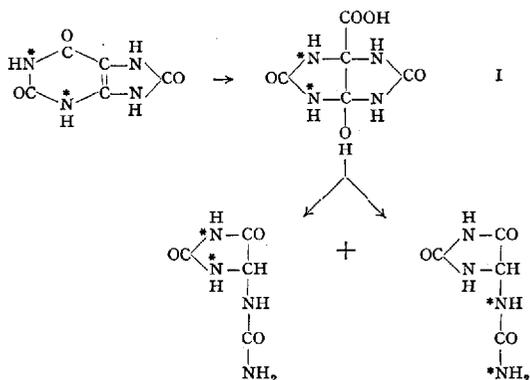
d. h. die Phenylgruppe wandert fast ausschließlich.

### 5. Oxydation der Harnsäure.

Bei der Oxydation der Harnsäure, die in 1- und 3-Stellung mit  $^{15}\text{N}$  markiert war, mit Salpetersäure oder Chlor entsteht nach CAVALIERI, BLAIR und BROWN (43) das Alloxan aus dem Pyrimidinring.

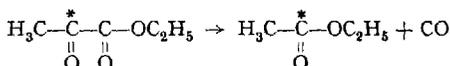


Anders verläuft jedoch die Oxydation mit alkalischem Permanganat, bei der Allantoin gebildet wird. Da im Allantoin eine Gleichverteilung des schweren Stickstoffs auf alle N-Atome festgestellt wurde, muß eine symmetrische Zwischenstufe (I) durchlaufen werden:



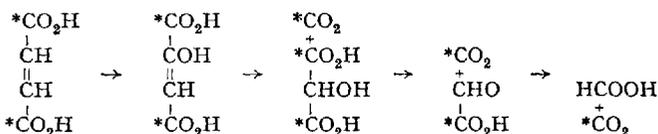
### 6. Decarboxylierung von Brenztraubensäureester.

Bei der thermischen Decarboxylierung des Brenztraubensäureäthylesters bei 110 bis 130° fanden CALVIN und LEMMON (39), daß das Kohlendioxyd aus der Carboxylgruppe des  $\alpha$ -Ketoesters stammt.



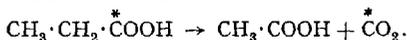
### 7. Oxydation und Decarboxylierung von Säuren.

Bei der Oxydation von Fumarsäure in saurerer Lösung entstehen Ameisensäure und Kohlendioxyd. Durch Oxydation von Fumarsäure-[carboxyl- $^{14}\text{C}$ ] mit Permanganat erhielten ARNSTEIN und BENTLEY (7) nichtradioaktive Ameisensäure und  $\text{CO}_2$ , das die gesamte Aktivität enthielt. Da die Ameisensäure demnach aus einer Methingruppe stammen muß, entwickelten die Verfasser folgende Vorstellung über den Reaktionsablauf:



Zum gleichen Ergebnis waren schon ALLEN und RUBEN (3) gekommen.

Bei der Oxydation von Propionsäure mit Kaliumbichromat in saurerer Lösung erhält man Essigsäure und Kohlendioxyd. Dieses stammt allein aus der Carboxylgruppe der Propionsäure [NAHINSKY und RUBEN (140)].



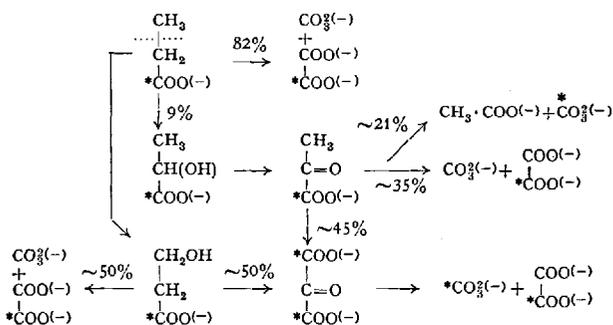
Dagegen entsteht bei der Oxydation der Propionsäure mit alkalischer Permanganatlösung Oxalsäure und  $\text{CO}_2$ . NAHINSKY, RICE, RUBEN und KAMEN (141) untersuchten den Oxydationsverlauf mit Hilfe von Propionsäure-[1- $^{14}\text{C}$ ] und fanden, daß dabei das Oxalat, das nach der Gleichung

$$\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \overset{\ast}{\text{C}}\text{OO}^{(-)} + 4 \text{MnO}_4^{(-)} = \overset{\ast}{\text{C}}_2\text{O}_4^{2(-)} + \overset{\ast}{\text{C}}\text{O}_3^{(-)} + 4 \text{MnO}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} + \text{OH}^{(-)}$$

gebildet wird, 87% der Radioaktivität des Ausgangsproduktes enthielt. Da bei der Oxydation Brenztraubensäure als Zwischenprodukt angenommen wird, oxydierten MAHLER und ROBERTS (133) Brenztraubensäure-[2- $^{14}\text{C}$ ] in alkalischer Lösung mit Permanganat. Dabei wurde folgende Verteilung der Radioaktivität gefunden:

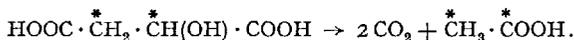
	Relative molare Aktivität
Brenztraubensäure . . . . .	100
Oxalat . . . . .	95
Carbonat . . . . .	< 1
Acetat . . . . .	100

Das gebildete Acetat muß also durch Decarboxylierung entstanden sein, während alles Carbonat aus der Carboxylgruppe der Brenztraubensäure stammt. Folgendes Schema kann daher für die Oxydation der Propionsäure angenommen werden:



WOOD und Mitarbeiter (220) kamen mit  $^{13}\text{C}$ -markierter Propionsäure zu etwas anderen Prozentzahlen.

Bei der Oxydation von  $\beta$ -markierter Äpfelsäure mit  $\text{CrO}_3$  erhielten BENSON und BASSHAM (16) inaktives  $\text{CO}_2$  und radioaktive Essigsäure.



Bei der Decarboxylierung von Phenylelessigsäure- $[\beta\text{-}^{14}\text{C}]$  in Gegenwart von Kupferchromit fanden DAUBEN und COAD (64) etwas radioaktives Kohlendioxyd. Das zuerst gebildete Toluol wird in geringem Umfang durch Kupferoxyd, das im Kupferchromit enthalten ist, weiteroxydiert zu Benzoesäure; diese decarboxyliert. Bei Anwendung von Kupferpulver als Decarboxylierungskatalysator wird keine Radioaktivität im gebildeten  $\text{CO}_2$  gefunden.

WOOD und Mitarbeiter (221) untersuchten die Oxydation von Buttersäure mit Wasserstoffsuperoxyd, wobei  $\text{CO}_2$ , Essigsäure, Aceton, Acetaldehyd und Propionaldehyd gebildet werden. Mit Buttersäure- $[1\text{-}^{13}\text{C}]$  war  $\text{CO}_2$  das einzige Produkt, das  $^{13}\text{C}$  im Überschuß enthielt. Die anderen Verbindungen werden daher aus dem  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -C-Atom gebildet. Bei der Oxydation von  $\text{CH}_3\text{-}^{13}\text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$  enthält das entstehendem Aceton  $^{13}\text{C}$  nur in der Carbonylgruppe.

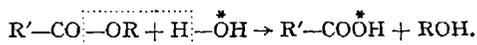
## 8. Spaltung der 1.2-Glykole.

Bei der Oxydation von 1.2-Glykolen mit Perjodat bzw. Bleitetraacetat wird angenommen, daß der Formaldehyd ausschließlich aus der primären alkoholischen Gruppe, die Ameisensäure vom sekundären alkoholischen C-Atom stammt. Es läßt sich aber auch ein Mechanismus formulieren,

der die Entstehung der Ameisensäure aus einer primären alkoholischen Gruppe erlaubt (Diproportionierung eines Koordinationskomplexes). Von DOERSCHUK (70) wurden nun nach Oxydation von Glycerin-[1- $^{14}\text{C}$ ] die Reaktionsprodukte auf ihre Aktivität hin untersucht. Die Ameisensäure enthielt nach der Oxydation des Glycerins mit Perjodat 0,25% und nach Oxydation mit Bleitetraacetat 4,2% der Radioaktivität. Diese geringen Mengen lassen sich durch eine Weiteroxydation des Formaldehyds erklären und schließen den erwähnten Reaktionsmechanismus aus.

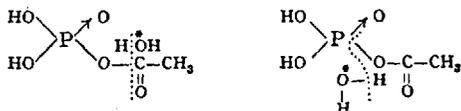
### 9. Esterhydrolyse.

DATTA, DAY und INGOLD (63) fanden bei der saueren Hydrolyse von Bernsteinsäure-dimethylester in  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ , daß der isotope Sauerstoff nicht im Alkohol erscheint. Die Hydrolyse muß also nach folgendem Schema verlaufen sein:



Ein analoges Ergebnis erhielten POLANYI und SZABO (153) bei der alkalischen Verseifung von Amylacetat in  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ .

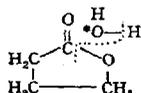
Die Hydrolyse von Acetyl-phosphat verläuft dagegen nach zwei verschiedenen Wegen, je nachdem, ob man im alkalischen oder saueren Medium hydrolysiert [BENTLEY (17)]. In alkalischem Medium wird die C—O-Bindung gelöst, in saurem dagegen die P—O-Bindung.



### 10. Lactonhydrolyse.

OLSON und HYDE (150) untersuchten die Hydrolyse von  $\beta$ -Butyrolacton in Gegenwart von  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ . Verläuft die Hydrolyse so, daß die Bindung zwischen dem Lacton-Sauerstoff und der Carbonylgruppe gelöst wird, so sollte das eintretende schwere Sauerstoffisotop in der Carboxylgruppe gefunden werden, wohingegen bei der Lösung der Bindung zwischen dem  $\beta$ -C-Atom und dem Lactonsauerstoff  $^{18}\text{O}$  am  $\beta$ -C-Atom haften sollte. Durch Zersetzung des Kaliumsalzes der entstandenen  $\beta$ -Oxybuttersäure zu Crotonsäure und Wasser und Bestimmung des  $^{18}\text{O}$ -Gehaltes des Wassers wurde gefunden, daß die Hydrolyse nicht nach einem einheitlichen Schema abläuft, sondern vom  $\text{p}_\text{H}$ -Wert der Hydrolysenlösung abhängt.

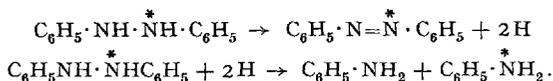
Dagegen wurde bei der Hydrolyse von  $\gamma$ -Butyrolacton in  $H_2^{18}O$  von LONG und FRIEDMAN (131) die Sprengung der Acyl-Sauerstoff-Bindung festgestellt.



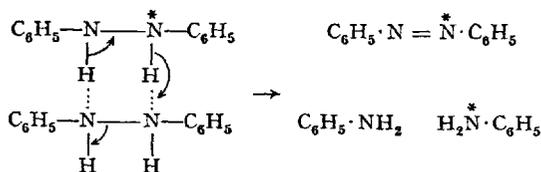
## 11. Thermische Zersetzung von Hydrazobenzol.

Bei der Disproportionierung von Hydrazobenzol, in dem ein Stickstoffatom durch  $^{15}N$  markiert war, durch Erhitzen in Alkohol auf  $150^\circ$  wurde von HOLT und HUGHES (101) festgestellt, daß die beiden N-Atome nicht getrennt werden. Das erhaltene Azobenzol wurde nach DUMAS verbrannt, wobei der erhaltene Stickstoff ( $N_2$ ) keine statistische Verteilung zwischen  $^{14}N$  und  $^{15}N$  zeigt. Bei der massenspektrographischen Methode sind normalerweise Ionen vorhanden, die sich von folgenden Molekülen ableiten:  $^{14}N^{14}N$ ,  $^{14}N^{15}N$ ,  $^{15}N^{15}N$ . Es kann gezeigt werden, daß bei statistisch erfolgender Paarbildung das Verhältnis  $R = (^{14}N^{15}N)^2 / ^{15}N^{15}N \cdot ^{14}N^{14}N$  den theoretischen Wert von 4 hat. Höhere R-Werte zeigen, daß statistische Paarbildung nicht in der ganzen Probe erfolgt sein kann. Das verwendete Hydrazobenzol ergab  $R = 7,36$  und das Azobenzol aus dem Zersetzungsversuch den gleichen Wert.

Das erhaltene Ergebnis ist unvereinbar mit dem von STIEGLITZ und CURME (197) vorgeschlagenen Reaktionsmechanismus, wonach die Reaktion über freie Radikale  $C_6H_5N^\cdot$  oder  $C_6H_5NH^\cdot$  verläuft. Dagegen erhärtet es den von H. WIELAND (217) diskutierten Mechanismus der intermolekularen Oxydoreduktion:



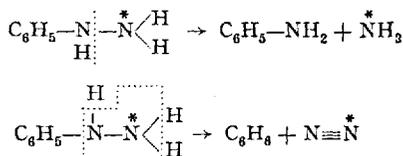
Auch ein cyclisches Dimeres kann als Zwischenprodukt angenommen werden. Hierbei mag die Bildung der sehr stabilen Azobindung die Reaktion einleiten, indem Elektronen den NH-Bindungen entnommen werden:



## 12. Zersetzung von Phenylhydrazin.

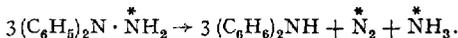
CLUSIUS und HOCH (50) zersetzten Phenylhydrazin- $[\beta\text{-}^{15}N]$  und fanden dabei, daß das entstehende Ammoniak den  $^{15}N$ -Überschuß

quantitativ, der Stickstoff den hälfteigen und das Anilin gar keinen  $^{15}\text{N}$ -Überschuß enthielt. Danach dürfte eine Molekel Phenylhydrazin  $\text{N}_2$  verlieren und den Phenylrest sowie eine zweite Molekel Phenylhydrazin hydrieren.



### 13. Crackmechanismus von N.N-Diphenylhydrazin.

N.N-Diphenylhydrazin zerfällt beim Erhitzen in Diphenylamin, Stickstoff und Ammoniak. Folgende Isotopenverteilung wurde von CLUSIUS und VECCHI (54) mit N.N-Diphenylhydrazin- $[\beta\text{-}^{15}\text{N}]$  gefunden:



Der Befund erklärt sich zwanglos durch eine über die Radikale  $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{N}\cdot$ ,  $\overset{*}{\text{N}}\text{H}_2$  und  $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{N}\cdot\overset{*}{\text{N}}\text{H}$  verlaufende Zersetzung.

### 14. Desaminierung von Diazoniumsalzen mit Hypophosphorsäure.

Im Gegensatz zu ihren früheren Befunden (1) fanden ALEXANDER und BURGE in einer zweiten Arbeit (2), daß bei der reduktiven Desaminierung von diazotiertem m-Nitranilin zu Nitrobenzol mit Hypophosphorsäure in  $\text{D}_2\text{O}$  das Deuterium in den aromatischen Kern eintritt, jedoch reagiert Wasserstoff 2- bis 6mal schneller als Deuterium. Bei der Desaminierung von Benzoldiazoniumchlorid in Gegenwart von Hypophosphorsäure werden außer 41% Benzol auch 9,1% Diphenyl und 2,6% p-Terphenyl gebildet. Führt man die Reaktion in Gegenwart von  $\text{D}_2\text{O}$  aus, so enthalten Diphenyl und p-Terphenyl Deuterium, können also nicht durch Vereinigung von Phenyl- bzw. Phenylen-Radikalen entstanden sein.

### 15. Photolysen.

Bei der Photolyse von Bleitetramethyl und Bleitetraphenyl, die mit Radium-D markiert waren, bestimmten LEIGHTON und MORTENSON (128) aus der Radioaktivität des abgeschiedenen Bleis die Quantenausbeute.

Die Photolyse der Essigsäure zu Methan und  $\text{CO}_2$  wurde von CLUSIUS und SCHANZER (49) mit  $\text{CH}_3\cdot\text{COOD}$  in  $\text{D}_2\text{O}$  untersucht. Sie verläuft wenigstens nach zwei Wegen. Bei dem ersten (21 bis 36%) wird die Methylgruppe durch Wasserstoff hydriert, der aus der Carboxylgruppe bzw. dem Lösungsmittel stammt. Beim zweiten Weg wird die

eingestrahlte Energie zur Zerlegung der Essigsäure an der C—C-Bindung verwandt; die entstandenen Methylradikale reagieren nur mit C-gebundenem Wasserstoff unter Methanbildung.

## VII. Isotopieeffekt.

### I. Normaler Isotopieeffekt.

Es ist eine fundamentale Annahme der Isotopentechnik, daß Isotopisomere, d. h. markierte und nichtmarkierte Moleküle derselben Struktur, chemisch identisch sind. Anders verhält es sich dagegen mit den Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der markierten und nichtmarkierten Moleküle. Hier kann ein Isotopieeffekt auftreten, der definiert ist als die Veränderung der Geschwindigkeitskonstanten, bewirkt durch die Substitution eines Isotops durch ein anderes Isotop des gleichen Elementes. [Bezüglich der älteren Arbeiten mit dem Isotopenpaar Deuterium—Wasserstoff sei auf die Zusammenfassungen WYNNE-JONES (208 a), INGOLD und WILSON (109 a), GEIB (87 a) und SCHÄFER (181 a) hingewiesen.]

In einer großen Anzahl von Arbeiten über die Geschwindigkeitskonstanten isotopenhaltiger Verbindungen sind für  $^{13}\text{C}$ -markierte Verbindungen Abweichungen bis 5 % und für  $^{14}\text{C}$ -haltige bis 40 % gegenüber den  $^{12}\text{C}$ -haltigen angegeben worden. Doch sind viele widersprechende Angaben in der Literatur zu finden und einige Messungen müssen sicherlich revidiert werden.

Beim normalen Isotopieeffekt reagieren die schweren Moleküle langsamer, so daß zunächst eine Anreicherung des schweren Moleküls in der reagierenden Verbindung eintritt. Von BIGELEISEN (20) wurden einige Werte für das Verhältnis  $k^*/k$  vom Anfang der Reaktion bis zum vollständigen Ablauf berechnet. Außer in einigen Fällen, bei denen intramolekulare Isotopieeffekte eine Rolle spielen, wird kein Isotopieeffekt beobachtet, wenn die Reaktion vollständig abgelaufen ist. Fehler beim Studium von Reaktionsabläufen mit Isotopen, die auf dem einfachen Isotopieeffekt beruhen, können also vermieden werden, wenn man die Reaktion vollständig ablaufen läßt.

Bei Gleichgewichtsreaktionen aber oder bei unvollständig verlaufenden chemischen Prozessen kann ein Fehler bis zu einigen Prozenten durch den Isotopieeffekt bewirkt werden. Der Fehler ist naturgemäß um so größer, je größer das Massenverhältnis der Isotopen ist. FRY und CALVIN (84) haben die Möglichkeit der Multiplikation des Isotopieeffektes bei einer aufeinanderfolgenden Kette von Gleichgewichtsprozessen bei komplexen biologischen Systemen diskutiert.

Der Einfluß des Isotopieeffektes auf die Geschwindigkeitskonstante läßt sich nach BIGELEISEN (21) und PITZER (152a) berechnen.

Im folgenden soll nun der Isotopieeffekt an einigen charakteristischen Beispielen näher erläutert werden. Eine vollständige Zusammenfassung der bis zum Sommer 1952 auf diesem Gebiet erschienenen Arbeiten findet sich bei ROPP (176).

Ein typisches Beispiel für einen *intramolekularen Isotopieeffekt* ist die Decarboxylierung von carboxylmarkierter  $^{14}\text{C}$ -Malonsäure, bei der die beiden Reaktionskonstanten



zu beachten sind. Die Malonsäure-[1- $^{14}\text{C}$ ] wird so lange erhitzt, bis sie vollständig in  $\text{CO}_2$  und Essigsäure zerfallen ist. Von beiden Produkten werden dann die molaren Aktivitäten bestimmt. Es gilt die Beziehung:

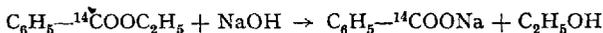
$$\frac{k_{14}}{k_{12}} = \frac{S_{\text{CO}_2}}{S_{\text{CH}_3\text{COOH}}}$$

wo  $S$  die molare Aktivität bedeutet.

ROE und HELLMANN (174) fanden für diese Reaktion bei 153 bis 154°:

$$\frac{k_{12}}{k_{14}} = 1,06 \pm 0,02.$$

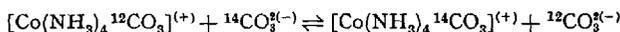
Ein Beispiel für einen *intermolekularen Isotopieeffekt* ist die Verseifung von Benzoesäure-[1- $^{14}\text{C}$ ]äthylester durch überschüssige Lauge. Dabei wurde von BOTHNER-BY und BIGELEISEN (28) die molare Aktivität der Benzoesäure nach 10%igem Ablauf der Reaktion verglichen mit der molaren Aktivität nach vollständiger Verseifung. Daraus errechnet sich für die Reaktion



bei Raumtemperatur ein Wert

$$\frac{k_{14}}{k_{12}} = 0,86 \pm 0,016.$$

Bei dem Gleichgewicht



fanden BIGELEISEN (22), sowie STRANKS und HARRIS (198) für die Gleichgewichtskonstante

$$k = \frac{[\text{Co}(\text{NH}_3)_4 \text{ }^{14}\text{CO}_3]^{(+)}}{[\text{Co}(\text{NH}_3)_4 \text{ }^{12}\text{CO}_3]^{(+)}} \bigg/ \frac{[\text{}^{14}\text{CO}_3]^{(-)}}{[\text{}^{12}\text{CO}_3]^{(-)}} = 0,89 \text{ bei } 20^\circ$$

bei 0° 0,875 ± 0,002 und bei 30° 0,9000 ± 0,004. Das sind bis über 11% Abweichung.

In einigen Fällen wurde *kein* Isotopieeffekt gefunden. So z. B. bei der Pyrolyse von Lithiumacetat-[1- $^{14}\text{C}$ ] zu Aceton und Lithiumcarbonat (172).

Auch bei der katalytischen Hydrierung ist der Isotopieeffekt beobachtet worden. BONNER und COLLINS (27) fanden bei der *unvollständigen* Hydrierung von Stilben-[ $\alpha$ - $^{14}\text{C}$ ] mit  $\text{H}_2$  + Raney Ni in Benzol oder mit  $\text{H}_2$  + Pt in Alkohol zu Dibenzyl-[ $\alpha$ - $^{14}\text{C}$ ] einen 2%igen Isotopieeffekt. So hatte z. B. das Ausgangsmaterial eine Aktivität von 1,076 mC/Mol nach 10%iger Hydrierung, das Dibenzyl-[ $\alpha$ - $^{14}\text{C}$ ] eine solche von 1,054 mC/Mol und nach 90%iger Hydrierung das Stilben-[ $\alpha$ - $^{14}\text{C}$ ] 1,097 mC/Mol (bestimmt nach Ozonspaltung als Benzaldehyd-[ $\alpha$ - $^{14}\text{C}$ ]-2,4-dinitrophenylhydrazon).

Acetophenon-[ $\alpha$ - $^{14}\text{C}$ ] wird zu 1-Phenyl-äthanol-[ $^{14}\text{C}$ ] mit  $\text{H}_2$  + Pt in Äthanol mit einem Isotopieeffekt von 11,5%, mit  $\text{LiAlH}_4$  mit einem Isotopieeffekt von 8% reduziert. Durch Kontrollversuche wurde festgestellt, daß diese Isotopieeffekte nicht auf Austauschreaktionen beruhen. Ob die Fraktionierung der markierten Verbindung während der heterogenen Katalyse bei der Adsorption der Verbindung an den Katalysator oder während der Addition von Wasserstoff erfolgt, konnte noch nicht ermittelt werden.

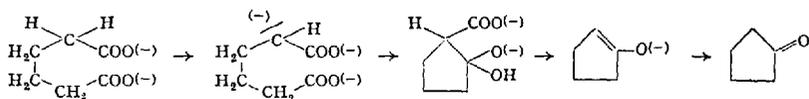
## 2. Anomaler Isotopieeffekt.

Bei der Einwirkung von alkalischer Hypojodidlösung auf Aceton-[1- $^{14}\text{C}$ ] fanden ROE und ALBENESIUS (173) im gebildeten Jodoform mehr als die Hälfte und im Acetat weniger als die Hälfte der Radioaktivität des Acetons. In diesem Falle wird also offenbar die  $^{12}\text{C}$ - $^{14}\text{C}$ -Bindung leichter gesprengt als die  $^{12}\text{C}$ - $^{12}\text{C}$ -Bindung. Die Größe des Isotopieeffektes beträgt etwa 3 bis 6%. Bei der Hydrolyse von Triphenyldeuteriosilan in feuchtem Piperidin wird ebenfalls ein anomaler Isotopieeffekt beobachtet. Die Deuteriumverbindung soll sechsmal schneller als die nichtdeuterierte Verbindung reagieren. Das reagierende Wasserstoffatom soll als Hydridion abgespalten werden [GILMAN, DUNN und HAMMOND (89a)].

## 3. Anwendung des Isotopieeffektes zur Aufklärung von Reaktionsmechanismen.

Aus theoretischen Gründen kann ein Isotopieeffekt nur dann beobachtet werden, wenn das markierte Atom am geschwindigkeitsbestimmenden Reaktionsschritt mitbeteiligt ist [ROPP, WEINBERGER und NEVILLE (175), BIGEISEN, BOTHNER-BY und FRIEDMAN (23)].

Die Abwesenheit eines Isotopieeffektes bei der Pyrolyse von Bariumadipinat (23)



kann daher so gedeutet werden, daß die Reaktion nicht über das Salz der cyclischen  $\beta$ -Ketosäure und anschließende Decarboxylierung erfolgt, wobei ein Isotopieeffekt zu erwarten wäre, sondern so, daß vielmehr aus der  $\alpha$ -Stellung ein Proton abgespalten wird, worauf Ringschluß zum Enolat-anion und Carbonatbildung gleichzeitig erfolgen. Hierbei ist kein Isotopieeffekt zu erwarten. Mit diesen Vorstellungen sind auch die Versuche von WIBERG (216) in Einklang (s. S. 160).

Die Geschwindigkeit, mit der 2-Deuteropropanol-2 von Chromsäure oxydiert wird, betrug nur 52% derjenigen für gewöhnliches Isopropanol, wie WESTHEIMER und NICOLAIDES (208) fanden. Die geringe Oxydationsgeschwindigkeit der D-Verbindung beweist, daß die Entfernung des sekundären Wasserstoffes der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Reaktion ist.

## Literatur.

- ALEXANDER, E. R., and R. E. BURGE: Studies on the Mechanism of the Deamination of Diazonium Salts with Hypophosphorous Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 876 (1948).
- — The Hypophosphorus Acid Deamination of Diazonium Salts in Deuterium Oxide. *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 3100 (1950).
- ALLEN, M. B., and S. RUBEN: Tracer Studies with Radioactive Carbon and Hydrogen. The Synthesis and Oxidation of Fumaric Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **64**, 948 (1942).
- ALLEN, C. F. H., and C. V. WILSON: The Use of  $^{15}\text{N}$  as a Tracer Element in Chemical Reactions. The Mechanism of the FISCHER Indole Synthesis. *J. Amer. chem. Soc.* **65**, 611 (1943).
- ARNETT, L. M., and J. H. PETERSON: Vinyl Polymerization with Radioactive Aliphatic Azobisnitrile Initiators. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2031 (1952).
- ARNOLD, R.: Ring Enlargement by TIFFENEAU Rearrangement. *Univ. Calif. Radiation Labor. Rep. (UCRL)* 451 (1949).
- ARNSTEIN, H. R. V., and R. BENTLEY: Acid Oxidation of Fumaric Acid. *Nucleonics* **6**, No. 6, 11 (1950).
- and R. BENTLEY: Isotopes in the Study of Chemical Reactions. *Nucleonics*, June 1950, 11.
- ATEN, J. B. TH., and A. H. W. ATEN jr.: Mechanism of the Formation of the Diphenyliodonium Ion. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2411 (1952).
- BAILEY, P. S., and J. G. BURR jr.: Evidence for a Cyclic Intermediate in the Reaction of Diarylethylamines with Nitrous Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 2951 (1953).
- BARTLETT, P. D., and F. A. TATE: The Polymerization of Allyl Compounds VI. The Polymerization of Allyl-1- $\text{d}_2$ -Acetate and the Mechanism of its Chain Termination. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 91 (1953).

12. BEECK, O., J. V. OTVOS, D. P. STEVENSON and C. D. WAGNER: The Isomerization of Propane with  $^{13}\text{C}$  in One End Position. *J. chem. Physics* **16**, 255 (1948).
13. BELL, J., and R. I. REED: Isotopic Tracer Studies of Pyrolytic Reactions. I. The Formation of Acetaldehyde. *J. chem. Soc. [London]* **1952**, 1383.
14. — T. HILL, K. A. MACDONALD, R. I. REED and A. MACDONALD: Part III. Exchange Reactions of Saturated Aliphatic Carboxylic Acids. *J. chem. Soc. [London]* **1953**, 3456.
15. BENJAMIN, B. M., and C. J. COLLINS: Studies in the WAGNER Rearrangement. IV. The Steric Effect of an Ortho Methyl Group. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 402 (1953).
16. BENSON, A. A., and J. A. BASSHAM: Chemical Degradation of Isotopic Succinic and Malic Acids. *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 3939 (1948).
17. BENTLEY, R.: Hydrolysis of Acetylphosphate. *Nucleonics*, February **1948**, 27.
18. — Oxygen-18 as a Tracer Element. *Nucleonics*, February **1948**, 18.
19. BEST, A. P., and C. L. WILSON: Structure of Benzene. Part XIII. Hydrogen Exchange Reactions with Benzene Derivatives. Preparation of 1:3:5-Tri-, 1:2:4:5-Tetra- and Pentadeuterobenzene. *J. chem. Soc. [London]* **1946**, 239.
20. BIGELEISEN, J.: The Validity of the Use of Tracers to Follow chemical Reactions. *Science* **110**, 14, Korrektur 149 (1949).
21. — The Relative Reaction Velocities of Isotopic Molecules. *J. chem. Physics* **17**, 675 (1949).
22. — Isotope Effect in the Decarboxylation of labelled Malonic Acid. *J. chem. Physics* **17**, 425 (1949).
23. — A. A. BOTHNER-BY and L. FRIEDMAN: Fractionation of Carbon Isotopes in Decarboxylation Reactions. V. The Mechanism of the Pyrolysis of Barium Adipate. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 2908 (1953).
24. BONHOEFFER, K. F., u. W. D. WALTERS: Enolisierung und Aldolkondensation. *Z. physik. Chem. Abt. A* **181**, 441 (1938).
25. — Über die Geschwindigkeit des Wasserstoffatom-Austausches von Aceton in verdünnter wäßriger Natronlauge. *Z. physik. Chem. Abt. A* **182**, 265 (1938).
26. BONNER, W. A., and C. J. COLLINS: Studies in the WAGNER Rearrangement. VII. The Dehydration of 2-Phenyl-1-acenaphthenol-[ $1-^{14}\text{C}$ ]. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 3831 (1953).
27. — and C. J. COLLINS: Isotope Effects during Catalytic Hydrogenations. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 4516 (1953).
28. BOTHNER-BY, A. A., and J. BIGELEISEN: Fractionation of the Carbonisotopes in Decarboxylation Reactions. III. The Relative Rates of Decomposition of Carboxyl-[ $^{13}\text{C}$ ] and  $^{-13}\text{C}$  Mesitoic Acids. *J. chem. Physics* **19**, 755 (1951).
29. — and M. GIBBS: The Epimerization of Glucose-[ $1-^{14}\text{C}$ ]. *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 4805 (1950).
30. — and L. FRIEDMAN: A Nitrogen $^{15}$  Tracer Study of Organic Azide Reactions. I. The CURTIUS Rearrangement of 3,5-Dinitrobenzazide- $^{15}\text{N}$ . *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 5391 (1951).
31. — Quinone-Hydroquinone Exchange Reactions. I. Non-Exchange in Duroquinhydrone. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 4228 (1951).
32. BROWN, E. V., E. CERWONKA and R. C. ANDERSON: Studies on the Mechanism of the WILLGERODT Reaction. I. The Over-all Mechanism. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 3735 (1951).
33. BROWN, G. W., and B. A. BLUESTEIN: Alkylation and other Reactions of 9-Formylfluorene. *J. Amer. chem. Soc.* **65**, 1082 (1943).

34. BROWN, B. R., D. L. HAMMICK and R. ROBINSON: Mechanism of the Molecular Rearrangement produced by the Action of Alkali on Chloralquinaldine 2-(3:3:3-Trichloro-2-hydroxypropyl)-quinoline. *J. chem. Soc. [London]* **1950**, 780.
35. BURGDORF, K., H. GRISEBACH, H. KRACKER u. F. WEYGAND: Untersuchung über die Bildungsweise von 2-Oxy-naphthoesäure-3- mit Hilfe von  $^{14}\text{C}$ . *Chem. Ber.* **87**, 87 (1954).
36. BURR, J. G., and L. S. CIERESZKO: Migration Ratios in the Rearrangement of 2,2-Diarylethanols. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 5426 (1952).
37. — The Reaction of 9-Formylfluorene-[10- $^{14}\text{C}$ ] with Formaldehyde. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 823 (1951).
38. BURR jr., J. G.: The Rates and Migration Ratios observed in the unimolecular and bimolecular Reaction of 2-Phenyl-2-(p-tolyl)-ethyl Tosylate and Related Compounds. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 5008 (1953).
39. CALVIN, M., and R. M. LEMMON: The Decarbonylation of Ethyl Pyruvate. *J. Amer. chem. Soc.* **69**, 1232 (1947).
40. — C. HEIDELBERGER, J. C. REID, B. M. TOLBERT and P. F. YANKWICH: Isotopic Carbon. New York: J. Wiley & Sons 1949.
41. CARMACK, M., and D. L. F. DE TAR: The WILLGERODT and KINDLER Reactions. III. Amides from Acetylenes and Olefins; Studies Relating to the Reaction Mechanism. *J. Amer. chem. Soc.* **68**, 2029 (1946).
42. CAVALIERI, L. F., V. E. BLAIR and G. B. BROWN: The Synthesis of Uric Acid Containing Isotopic Nitrogen. *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 1240 (1948).
43. — — — The Mechanism of the Oxydation of Uric Acid Studied with Isotopic Nitrogen as a Tracer. *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 1242 (1948).
44. — and G. B. BROWN: The Exchange between a Formamido Group and Formamide, Studied with  $^{13}\text{C}$ . *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 2246 (1949).
45. CERWONKA, E., R. C. ANDERSON and E. V. BROWN: Studies in the Mechanism of the WILLGERODT Reaction. II. Direction of Migration of the Functional Group in Aliphatic Ketones. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 28 (1953).
46. — III. Nature of the Labile Intermediate. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 30 (1953).
47. CHARGAFF, E.: Note on the Mechanism of Conversion of  $\beta$ -Glycophosphoric Acid into the  $\alpha$ -Form. *J. biol. Chemistry* **144**, 455 (1942).
48. CIERESZKO, L. S., and J. G. BURR jr.: Migration Ratios Observed in the Reaction of Diarylethylamines with Nitrous Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 5431 (1952).
49. CLUSIUS, K., u. W. SCHANZER: Zum Mechanismus der Photolyse der Essigsäure im Quarz Ultraviolett. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **75**, 1795 (1942).
50. — u. M. HOCH: Reaktionen mit  $^{15}\text{N}$ . I. Zum Zersetzungsmechanismus des Phenylhydrazins. *Helv. chim. Acta* **33**, 2122 (1950).
51. — u. H. R. WEISSER: III. Zum Mechanismus der FISCHERSCHEN Indolsynthese. *Helv. chim. Acta* **35**, 400 (1952).
52. — — V. Zum Mechanismus der „Umlagerung“ von Diazoamidobenzol in p-Aminoazobenzol. *Helv. chim. Acta* **35**, 1524 (1952).
53. — VI. Zur Struktur des Phenylazids. *Helv. chim. Acta* **35**, 1548 (1952).
54. — u. M. VECCHI: Reaktionen mit  $^{15}\text{N}$ . VIII. Zum Crackmechanismus des N,N-Diphenylhydrazins. *Helv. chim. Acta* **36**, 933 (1953).
- 54a. — u. M. VECCHI: Zum Mechanismus der Harnsäuresynthese von Traube. *Helv. chim. Acta* **36**, 1324 (1953).
55. COLLET, D. W., and G. M. HARRIS: Exchange Reactions of Methane and Monodeuteromethane with Atomic Deuterium. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 1486 (1953).

56. COLLINS, C. J., J. G. BURR jr. and D. N. HESS: Studies in the WAGNER Rearrangement. II. The Synthesis and Structure Determination of Benz[a]-anthracene-[5,6-<sup>14</sup>C<sub>1</sub>]. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 5176 (1951).
57. — D. N. HESS, R. H. MAYOR, G. M. TOFFEL and A. R. JONES: III. Chrysene-[5,6-<sup>14</sup>C<sub>1</sub>]. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 397 (1953).
58. — L. S. CIERESZKO and J. G. BURR jr.: V. Further Evidence for a Steric Effect. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 405 (1953).
59. — and B. M. BENJAMIN: VI. The Directive Effects of the Methyl and Methoxyl Groups. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 1644 (1953).
60. — and O. K. NEVILLE: <sup>14</sup>C Tracer Studies in the Rearrangement of Unsymmetrical  $\alpha$ -Diketones. II. The Alkaline Rearrangement of Benzylideneacetophenone Oxide. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 2471 (1951).
61. CONROY, H., and R. A. FIRESTONE: The Mechanism of the Para-CLAISEN Rearrangement. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 2530 (1953).
62. COOK, J. W.: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Part II. The Nonexistence of 1:2:7:8-Dibenzanthracene. *J. chem. Soc. [London]* **1931**, 487.
- 62a. CRISTOL, S. J., and D. D. FIX: Mechanism of Elimination Reactions. X. Deuterium Exchange in Base-Promoted Dehydrochlorination of  $\beta$ -Benzene Hexachloride. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 2647 (1953).
63. DATTA, S. C., J. N. E. DAY and C. K. INGOLD: Mechanism of Hydrolysis of Carboxylic Esters and of Esterification of Carboxylic Acids. Acid Hydrolysis of an Ester with Heavy Oxygen as Isotopic Indicator. *J. chem. Soc. [London]* **1939**, 838.
64. DAUBEN, W. G., and P. COAD: Oxydation in Decarboxylation of Acids with Copper Chromite. *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 2928 (1949).
65. — J. C. REID, P. E. YANKWICH and M. CALVIN: The Mechanism of the WILLGERODT Reaction. *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 121 (1950).
66. — and C. W. VAUGHAN jr.: The Mechanism of the Reaction of Chloralquinaldine with Alkali. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 4651 (1953).
67. DAVIS, H. W., E. GROVENSTEIN jr. and O. K. NEVILLE: <sup>14</sup>C Tracer Studies in the Rearrangements of unsymmetrical  $\alpha$ -Diketones. IV. Ethyl  $\alpha,\beta$ -Diketobutyrate to Methyltartronic Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 3304 (1953).
68. DEDUSSENKO, N. J., u. A. E. BRODSKY: Die Anwendung der Isotopenmethode auf die Erforschung chemischer Reaktionen. III. Der Mechanismus der Reaktion von Säureanhydriden mit Alkoholen. *Acta physicochim. URSS.* **17**, 314—18 (1942).
69. DOBRING, W. V. E., T. I. TAYLOR and E. F. SCHOENEWALDT: Mechanism of the Conversion of Phenylglyoxal to Mandelic Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 455 (1948).
70. DOBERSCHUK, A. P.: On the Oxidation of Glycerol-[1-<sup>14</sup>C] by 1,2-Glycol-cleaving Reagents. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 5453 (1951).
- 70a. — Acyl Migrations in Partially Acylated, Polyhydroxylic Systems. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 4202 (1952).
71. EISTERT, B.: Die Bildung und Zersetzung der Diazoketone und der sogenannten Diazoanhydride vom Standpunkt der Elektronen-Theorie. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **68**, 208 (1935).
72. EKENSTEIN, W. A. VAN, u. J. J. BLANKSMA: Über das  $\omega$ -Oxymethylfurfural als Ursache einiger Farbreaktionen der Hexosen. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **43**, 2355 (1910).
73. ELVINS, O. C., and A. W. NASH: The Reduction of Carbon Monoxide. *Nature* **118**, 154 (1926).

74. EVANS, E. M., H. N. RYDON and H. V. A. BRISCOE: The Isotopic Exchange Reaction between Deuterium Oxide and cis- and trans-Glutaconic Acids. *J. chem. Soc. [London]* **1939**, 1673.
75. EVANS, W. M. L.: Some Less Familiar Aspects of Carbohydrate Chemistry. *Chem. Rev.* **31**, 537 (1942).
76. FAIRBROTHER, F.: Electrolytic Dissociation Processes. Part II. The FRIEDEL-CRAFTS Reaction. *J. chem. Soc. [London]* **1937**, 503.
77. FAVORSKY, J.: *J. Russ. chem. Soc.* **26**, 559 (1894).
78. FIESER, L. F., u. E. M. DIETZ: Beitrag zur Kenntnis der Synthese von mehrkernigen Anthracenen. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **62**, 1827 (1929).
79. FISCHER, E., u. O. HESS: Synthese von Indolderivaten. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **17**, 559 (1884).
80. FOMENKO, A. S., G. P. MIKLUKHIN u. E. A. SADOWNIKA: CLAISEN Umlagerung. *Doklady Akad. Nauk SSSR.* **62**, 91 (1948). — *C. A.* **43**, 602 (1949).
81. FREDENHAGEN, H., u. K. F. BONHOEFFER: Zur Kenntnis der Cannizzaro-Reaktion. *Naturwiss.* **25**, 459 (1937). — *Z. physik. Chem. Abt. A* **181**, 379 (1938).
82. — Untersuchungen über Hexosenumlagerungen in schwerem Wasser. *Z. physik. Chem. Abt. A* **181**, 392 (1938).
83. FRIES, B. A., and M. CALVIN: Preparation of 1-<sup>14</sup>C-Propene-1 and the Mechanism of Permanganate Oxydation of Propene. *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 2235 (1948).
84. FRY, A. J., and M. CALVIN: Univ. Calif. Radiation Labor. Rep. (UCRL) 1565 (1951).
85. — B. M. TOLBERT and M. CALVIN: Decomposition of Diacetyl Peroxide in Acetic Acid. (UCRL) 573 (1949).
86. — and H. RAPAPORT: Formation of  $\alpha$ -Acylaminoketones from Amino-Acids. (UCRL) 877, Aug. 23 (1950). *Nuclear Sci. Abstr.* **4**, No. 23, 965 (1950).
87. — A Tracer Study of the Reaction of Isocyanates with Carboxylic Acids. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 2686 (1953).
- 87a. GEIB, K. H.: Chemische Reaktionen der schweren Wasserstoffatome. *Z. Elektrochem. angew. physik. Chem.* **44**, 81 (1938).
88. GERBER, S. M., and D. Y. CURTIN: The Reaction of Diazomethane with Phenols in the Presence of Propanol. *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 1499 (1949).
89. GIBBS, M.: On the Mechanism of the chemical Formation of Lactic Acid from Glucose Studied with <sup>14</sup>C Labeled Glucose. *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 3964 (1950).
- 89a. GILMAN, H., G. E. DUNN and G. S. HAMMOND: An Unusual Isotope Effect. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 4499 (1951).
90. GOLD, V., and F. A. LONG: Hydrogen Isotope Exchange between Anthracene and Sulfuric Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 4543 (1953).
91. GRAGEROW, J. P., and G. P. MIKLUKHIN: Wasserstoffbrücke im Benzochinhydrone und seine Struktur. *Doklady Akad. Nauk. SSSR.* **62**, 79 (1948).
92. HAMMETT, L. P.: „Physical Organic Chemistry“. 1st Ed. New York, N. Y.: Mc Graw-Hill Book Co. Inc. 1940, S. 198.
93. HARADA, M., and T. TITANI: Austausch der Carbonsäuren mit schwerem Wasser. *Bull. chem. Soc. Japan* **10**, 554 (1935); **11**, 465 (1936).
94. HARMAN, D., T. D. STEWART and S. RUBEN: A Study of the MENSCHUTKIN Reaction Using Radioactive Hydrogen as a Tracer. *J. Amer. chem. Soc.* **64**, 2294 (1942).
95. HENDLEY, E. C., and O. K. NEVILLE: <sup>14</sup>C Tracer Studies in the Rearrangements of Unsymmetrical  $\alpha$ -Diketones. III. p-Methoxy-benzylideneacetophenone Oxide. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 1995 (1953).

96. HERBST, R. M., and D. RITTENBERG: The Transamination Reaction. The Mechanism of the Reaction between alpha Keto Acids and alpha Amino Acids. *J. org. Chem.* **8**, 380 (1943).
97. HEVESY, G. V., u. L. ZECHMEISTER: Über den intermolekularen Platzwechsel gleichartiger Atome. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **53**, 410 (1920).
98. HOCH, M., u. H. R. WEISSER: Reaktionen mit  $^{15}\text{N}$ . II. Eine Spektroskopische Mikromethode zur Bestimmung von  $^{15}\text{N}$ . *Helv. chim. Acta* **33**, 2128 (1950).
99. HÖLEMANN, P., u. K. CLUSIUS: Zur Elektrolyse deuteriumhaltiger Fettsäuren. I. Die Elektrolyse der Deuteroessigsäure. *Z. physik. Chem. Abt. B* **35**, 261 (1937).
100. — II. Der Mechanismus der Äthylenbildung bei der Elektrolyse der Propionsäure. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **70**, 819 (1937).
101. HOLT, P. F., and B. P. HUGHES: Thermal Decomposition of Hydrazobenzene, Studied by the Use of Nitrogen Isotopes. *J. chem. Soc. [London]* **1953**, 1666.
102. HSÜ, S. K., C. K. INGOLD and C. L. WILSON: Prototropy in Relation to the Exchange of Hydrogen Isotopes. Part III. Comparison of the Rates of Racemisation and of Hydrogen Exchange in a  $\psi$ -Acidic Ketone. *J. chem. Soc. [London]* **1938**, 78.
103. HÜCKEL, W.: Theoretische Grundlagen der organischen Chemie. 1931, Band I, S. 351. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1931.
104. HUGGETT, C., R. T. ARNOLD and T. J. TAYLOR: The Mechanism of the ARNDT-EISSERT Reaction. *J. Amer. chem. Soc.* **64**, 3043 (1942).
105. HUGHES, E. D., F. JULIUSBERGER, S. MASTERMAN, B. TOPLEY and J. WEISS: Aliphatic Substitution and the WALDEN INVERSION. Part I. *J. chem. Soc. [London]* **1935**, 1525.
106. — F. JULIUSBERGER, A. D. SCOTT, B. TOPLEY and J. WEISS: Part II. *J. chem. Soc. [London]* **1936**, 1173.
107. HURD, C. D., and J. AZORLOSA: Deuterium Tracers in the ELBS Reaction. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 37 (1951).
108. INGOLD, C. K., E. DE SALAS and C. L. WILSON: Prototropy in Relation to the Exchange of Hydrogen Isotopes. Part I. Rates of Isomerisation and of Hydrogen Isotope Exchange in Unsaturated Nitriles. *J. chem. Soc. [London]* **1936**, 1328.
109. — C. G. RAISIN and C. L. WILSON: Direct Introduction of Deuterium into the Aromatic Nucleus. Part I. Qualitative Comparison of the Efficiencies of some Acidic Deuterating Agents and of Influence of some Aromatic Substituents. *J. chem. Soc. [London]* **1936**, 1637.
- 109a. — u. CH. L. WILSON: Austauschreaktionen zwischen leichtem und schwerem Wasser. *Z. Elektrochemie* **44**, 62 (1938).
- 109b. — and H. V. KIDD: The Mechanism of Aromatic Rearrangements. Part II. The Benzidine Change. *J. chem. Soc. London* **1933**, 984.
110. IVES, D. J. G., and H. N. RYDON: Isotopic Exchange Reactions of Organic Compounds. Part I. The Intermolecular Nature of Three-carbon Tautomerism. *J. chem. Soc. [London]* **1935**, 1735.
111. — Part III. Kinetics of the Isomerisation and Isotope Exchange of Vinylacetic Acid. *J. chem. Soc. [London]* **1938**, 91.
112. — and G. C. WILKS: Part IV. The Mechanism of Racemisation of Phenyl-p-tolylacetic Acid. *J. chem. Soc. [London]* **1938**, 1455.
113. — and R. H. KERLOGUE: Part V. The Kinetics of the Isomerisation and the Deuterium Exchange Reaction of  $\Delta\alpha$  Pentenoic Acid. *J. chem. Soc. [London]* **1940**, 1362.

114. IVES, D. J. G.: Part II. A Survey of the Monocarboxylic Acid Series. *J. chem. Soc. [London]* **1938**, 81.
115. JASSNIKOW, A. A., u. J. A. SCHILOW: Die Struktur von Tribromphenolbrom. *Ber. Akad. Wiss. UdSSR. N. S.* **78**, 925, 11/6 (1951).
116. JULIUSBERGER, F., B. TOPLEY and J. WEISS: Isotopic Exchange Reactions with Jodine. *J. chem. Physics* **3**, 437 (1935).
117. KAMEN, M. D.: *Radioactive Tracers in Biology*. New York, N. Y.: Academic Press Inc. 1947.
118. KARPUCHIN, P. P., u. I. J. CHUSSID: Untersuchung des Bildungsprozesses von 2,3-Oxynaphtoesäure. *Chem. Zentralbl.* **1936**, I, 4803.
119. KHARASCH, M. S., G. STAMPA and W. NUDENBERG: Photochemical para Rearrangement of Phenyl Ethers. *Science* **116**, 309 (1952).
120. — and M. T. GLADSTONE: Reactions of Atoms and Free Radicals in Solution IV. Decomposition of Acetyl-Peroxyde in Aliphatic Acids. — A New Synthesis of Succinic Acid and its Substitution Derivatives. *J. Amer. chem. Soc.* **65**, 15 (1943).
121. KIERMAYER, J.: Über ein Furfurolderivat aus Lävulose. *Chemiker-Ztg.* **19**, 1003 (1895).
122. KISTIAKOWSKY, G. B., and R. L. TICHENOR: Use of Deuterium as a Tracer in the CLAISEN Rearrangement. *J. Amer. chem. Soc.* **64**, 2302 (1942).
123. KLAR, R.: Über die Austauschbarkeit von Wasserstoffatomen in organischen Verbindungen mit den Wasserstoffatomen des Wassers. *Z. physik. Chem. Abt. B* **26**, 335 (1934).
124. KRUIS, A., and W. SCHANZER: Zur Elektrolyse deuteriumhaltiger Fettsäuren. IV. Der Mechanismus der Äthan-, Butan- und Alkoholbildung bei der Elektrolyse der Propionsäure. *Z. physik. Chem. Abt. A* **191**, 301 (1942).
125. KUMMER, J. T., T. W. DE WITT and P. H. EMMETT: Some Mechanism Studies on the FISCHER-TROPSCH Synthesis Using  $^{14}\text{C}$ . *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 3632 (1948).
126. — H. H. PODGURSKI, W. B. SPENCER and P. H. EMMETT: Mechanism Studies of the FISCHER-TROPSCH Synthesis, The Addition of Radioactive Alcohol. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 564 (1951).
- 126 a. — and P. H. EMMETT: FISCHER-TROPSCH Synthesis. The Addition of Radioactive Alcohols to the Synthesis Gas. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 5177 (1953).
127. LAUDER, T., and J. H. GREEN: Mechanism of Formation of Ether, Using the Heavy Oxygen Isotope  $^{18}\text{O}$  as a Tracer Element. *Nature* **157**, 767 (1946).
128. LEIGHTON, P. A., and R. A. MORTENSON: The Photolysis of Lead Tetramethyl and Lead Tetraphenyl. *J. Amer. chem. Soc.* **58**, 448 (1936).
- 128 a. LEMMON, R. M.: Radiation Decomposition of Carbon-14-labeled Compounds *Nucleonics* **11**, Nr. 10, 44 (1953).
129. LOFTFIELD, R. B.: On the Mechanism of the FAWORSKI Rearrangement of  $\alpha$ -Haloketones. *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 632 (1950); **73**, 4707 (1951).
130. LOGAN, A. V., J. L. HUSTON and D. L. DORWARB: The Use of  $^{14}\text{C}$  Labeled Formaldehyde in the MANNICH Reaction. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 2952 (1951).
131. LONG, F. A., and L. FRIEDMAN: Determination of the Mechanism of  $\gamma$ -Lactone Hydrolysis by a Mass Spectrometric Method. *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 3692 (1950).
132. LORD, R. C., and W. D. PHILLIPS: Exchange Reaction of  $\gamma$ -Pyrone and Synthesis of Deuterated Pyrones. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2429 (1952).

133. MAHLER, H. R., and A. ROBERTS: Chemical Oxydation of Organic Acids. I. Some Observations on the Oxidation of Propionate by Alkaline Permanganate. *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 5095 (1950).
134. MAKOLKIN, J.: Die Untersuchung des Mechanismus der Alkalischnmelzreaktionen mit Hilfe des schweren Sauerstoffisotopes. *Acta physicochim. URSS.* **16**, 88—96 (1942).
135. BEARS, W. H., and H. SOBOTKA: Heavy Oxygen Exchange of Proteins and Amino Acids. *J. Amer. chem. Soc.* **61**, 880 (1939).
136. MEERWEIN, H.: Über die Vergrößerung der Ionisationsfähigkeit schwacher Elektrolyte durch Komplexbildung und ihre Bedeutung für katalytische Prozesse. *Liebigs Ann. Chem.* **455**, 227 (1927).
137. MIKLUKHIN, G., u. A. BRODSKY: Erforschung der Mechanismen chemischer Reaktionen mit Hilfe von Sauerstoffisotopen. II. Mechanismus der BECKMANNschen Umlagerung. *Acta physicochim. URSS.* **16**, 63—70 (1942).
138. MÜNZBERG, F. K.: I. Austauschversuche mit Trioxybenzolen und schwerem Wasser. *Z. physik. Chem. Abt. B* **33**, 23 (1936).
139. — Austauschversuche mit Dioxybenzolen und schwerem Wasser. *Z. physik. Chem. Abt. B* **33**, 39 (1936).
140. NAHINSKY, P., and S. RUBEN: Tracer Studies with Radioactive Carbon. The Oxydation of Propionic Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **63**, 2275 (1941).
141. — C. N. RICE, S. RUBEN and M. D. KAMEN: Tracer Studies with Radioactive Carbon. The Synthesis and Oxidation of Several Three Carbon Acids. *J. Amer. chem. Soc.* **64**, 2299 (1942).
142. NEIMANN, M. B., G. W. MAXIMOWA u. I. M. SCHAPOWALOW: Austauschmechanismus zwischen Alkylhalogeniden und Halogensalzen. *Ber. Akad. Wiss. UdSSR, N. S.* **85**, 1289, 21/8 (1952). — *Chem. Zentralbl.* **9**, 1310 (1953).
143. NEVELL, P. T., E. DE SALAS and C. L. WILSON: Use of Isotopes in Chemical Reactions. Part. I. The Mechanism of the WAGNER-MEERWEIN Rearrangement. Exchange of Radioactive Chlorine and of Deuterium between Camphene Hydrochloride and Hydrogen Chloride. *J. chem. Soc. [London]* **1939**, 1188.
144. NEVILLE, O. K., M. T. CLARK, C. J. COLLINS, H. W. DAVIS, E. GROVENSTEIN jr. and E. C. HENDLEY:  $^{14}\text{C}$  Tracer Studies in the Rearrangement of Unsymmetrical  $\alpha$ -Diketones. *Abstr. Amer. chem. Soc. 6<sup>th</sup> Southwest Regional Meeting (San Antonio, 1950)*.
145. —  $^{14}\text{C}$  Tracer Studies in the Rearrangement of Unsymmetrical  $\alpha$ -Diketones: Phenylglyoxal to Mandelic Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 3499 (1948).
146. —  $\text{C}^{14}$  Tracer Studies in the Rearrangements of  $\alpha$ -Diketones. III. The Rearrangement of Unsymmetrical Benzils. *Brookhaven Conf. Rep., Chem. Conf. Nr. 4*, 49—58 (1950). Vgl. U.S. Atomic Energy Commission Document, BNL 44 (1950).
147. NOYES, R. M., R. G. DICKINSON and V. SCHOMAKER: The Kinetics of the cis-trans Isomerization of Diiodoethylene and of its Exchange with Iodine. *J. Amer. chem. Soc.* **67**, 1319 (1945).
148. NYSTROM, R. F., and J. C. LEAK: Reactions of Allyl Alcohol-[ $1\text{-}^{14}\text{C}$ ]. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 3039 (1953).
149. OLSON, A. R., R. S. HALFORD and J. C. HORNEL: The Rearrangement of N-Chloroacetanilide. *J. Amer. chem. Soc.* **59**, 1613 (1937).
150. — and J. L. HYDE: The Mechanism of Lactone Hydrolysis. *J. Amer. chem. Soc.* **63**, 2459 (1941).

151. OTVOS, J. V., D. P. STEVENSON, C. D. WAGNER and O. BEECH: The Isomerization of *n*-Butane-[1-<sup>13</sup>C]. *J. chem. Physics* **16**, 745 (1948).
152. PINES, H., and R. C. WACKHER: Isomerization of Alkanes. IV. Deuterium Exchange in the Isomerization of *n*-Butane. *J. Amer. chem. Soc.* **68**, 2518 (1946).
- 152a. PITZER, K. S.: Carbon Isotope Effect on Reaction Rates. *J. chem. Physics* **17**, 1341 (1949).
153. POLANYI, M., and A. L. SZABO: On the Mechanism of Hydrolysis. *Trans. Faraday Soc.* **30**, 508 (1934).
154. POWELL, T. M., and E. B. REID: Investigation of the Mechanism of Butane Isomerization Using Radioactive Hydrogen as a Tracer. *J. Amer. chem. Soc.* **67**, 1020 (1945).
155. PUMMERER, R., u. W. GUMP: Über die Aufspaltung des Furfuralkohols und den Mechanismus der Lävulinsäure-Bildung aus Hexosen. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **56**, 999 (1923); **68**, 480 (1935).
156. REEVE, W., and D. H. CHAMBERS: Mechanism of the Low-Temperature Chlorination of Isobutylene. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 4499 (1951).
157. REYERSON, L. H., and S. YUSTER: An Isotopic Exchange between D<sub>2</sub>O and Acetylen. *J. Amer. chem. Soc.* **56**, 1426 (1934).
158. ROBERTS, I., and H. C. UREY: The Exchange of Oxygen between Benzil and Water and the Benzil Acid Rearrangement. *J. Amer. chem. Soc.* **60**, 880 (1938).
159. — A Study of the Esterification of Benzoic Acid with Methyl Alcohol Using Isotopic Oxygen. *J. Amer. chem. Soc.* **60**, 2391 (1938).
160. — and H. C. UREY: The Mechanism of Acid Catalyzed Ester Hydrolysis. Esterification and Oxygen Exchange of Carboxylic Acids. *J. Amer. chem. Soc.* **61**, 2584 (1939).
161. ROBERTS, J. D., R. ARMSTRONG, R. F. TRIMBLE jr. and M. BURG: The Use of Carbon-14 in the Determination of the Structures of Aldoketene Dimers. *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 843 (1949).
162. — R. McMAHON and J. HINE: Rearrangement of Carbon Atoms in *t*-Butyl and *t*-Amyl Derivatives. *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 1896 (1949); **72**, 4237 (1950).
163. — C. M. REGAN and J. ALLEN: Mechanism of Acid Catalysis. The Kinetics and Mechanism of the Acid-Catalyzed Reactions of Ethyl Diazoacetate with Ethanol and Acetic Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 3679 (1952).
164. — and C. M. REGAN: Rearrangement in the Reactions of 2-(4 Substituted)-Phenylethylamines-[1-<sup>14</sup>C] with Nitrous Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 2069 (1953).
165. — D. R. SMITH and C. C. LEE: The Decarbonylation of Diphenyl Triketone. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 618 (1951).
166. — and J. A. YANCEY: The Reaction of Ethylamine-[1-<sup>14</sup>C] with Nitrous Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 5943 (1952).
167. — W. BENNETT, R. E. McMAHON and E. W. HOLROYD jr.: Rearrangements in the Solvolysis of 2-Butyl-[1-<sup>14</sup>C]-*p*-Toluenesulfonate. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 4283 (1952).
168. — and G. R. CORAØR: Rearrangement of 2-Methylbutane-[1-<sup>14</sup>C] over Aluminium Bromide. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 3586 (1952).
169. — and J. A. YANCEY: Mechanisms of Racemization of Camphene-[8-<sup>14</sup>C]. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 3165 (1953).
170. — H. E. SIMMONS jr., L. A. CARLSMITH and C. W. VAUGHAN: Rearrangement in the Reaction of Chlorobenzene-[1-<sup>14</sup>C] with Potassium Amide. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 3290 (1953).

- 171a. ROBERTS, J. D., and M. HALMAN: Rearrangement in the Reaction of  $C^{14}$ -Labeled *n*-Propylamine (1-Aminopropane-1- $C^{14}$ ) with Nitrous Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 5759 (1953).
171. ROBINSON, G. M., and R. ROBINSON: A New Synthesis of Tetraphenylpyrrole. *J. chem. Soc. [London]* **113**, 639 (1918); **1924**, 827.
172. ROE, A., and J. B. FINLAY: The Isotope Effect. II. Pyrolysis of Lithium Acetate-[1- $C^{14}$ ]. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2442 (1952).
173. — and E. L. ALBENESIUS: The Isotope Effect. III. The Reaction of Acetone-[1- $C^{14}$ ] with Alkaline Hypiodite. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2402 (1952).
174. — and M. HELLMANN: Determination of an Isotope Effect in the Decarboxylation of Malonic-1- $C^{14}$  Acid. *J. chem. Physics* **19**, 660 (1951).
175. ROPP, G. A., A. J. WEINBERGER and O. K. NEVILLE: *Abstr. Pap.* **119**<sup>th</sup> meeting Amer. chem. Soc., p. 8 P (Apr. 1950).
176. — Effect of Isotope Substitution on Organic Reaction Rates. *Nucleonics*, October **1952**, 22.
177. — and O. K. NEVILLE: A Review of the Uses of Isotopic Carbon in Organic Chemical Research. *Nucleonics*, August **1951**, 22.
178. RUBEN, S., M. B. ALLEN and P. NAHINSKY: Tracer Studies with Radioactive Carbon. The Exchange between Acetic Anhydride and Sodium Acetate. *J. Amer. chem. Soc.* **64**, 3050 (1942).
179. RYAN, J. P., and O. R. O'CONNOR: The CLAISEN Rearrangement of Phenyl Allyl Ethers, Labeled with Carbon-14. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 5866 (1952).
180. SALAS, E. DE, and C. L. WILSON: Prototropy in Relation to the Exchange of Hydrogen Isotopes. Part IV. Osomerization and Exchange in Methyleneazomethines. *J. chem. Soc. [London]* **1938**, 319.
181. SCHACHT, M.: Verwendung von Radioelementen und stabilen Isotopen für Indikatormethoden in der nichtbiologischen Chemie. *Angew. Chem.* **61**, 465 (1949).
- 181a. SCHÄFER, K.: Die physikalisch-chemischen Unterschiede der Isotopen. *Angew. Chem.* **59**, 42 (1947).
182. SCHANZER, W., u. K. CLUSIUS: Zur Elektrolyse deuteriumhaltiger Fettsäuren. III. Über den Mechanismus der Propylen- und Propanbildung bei der Elektrolyse der Buttersäure. *Z. physik. Chem.* **190**, A 241 (1942).
183. SCHMID, H., u. K. SCHMID: Zur Kenntnis der CLAISEN-Umlagerung. I. *Helv. chim. Acta* **35**, 1879 (1952).
184. — II. *Helv. chim. Acta* **36**, 489 (1953).
185. — III. *Helv. chim. Acta* **36**, 687 (1953).
186. SCHMID, K., W. HAEGELE u. H. SCHMID: *Experientia* **9**, 414 (1953).
- 186a. SMITH, D. H., J. R. SCHWARTZ and G. WHELAND: The Intramolecular Character of the Benzidine Rearrangement. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2282 (1952).
187. SCHÖNBERG, A., and A. MUSTAFA: Action of Diazomethane on Hydroxy-Compounds and of Diazomethane Derivatives on Phenanthraquinone. *J. chem. Soc. [London]* **1946**, 746; *ebd.* **1951**, 1369.
188. SHANTZ, E. M., and D. RITTENBERG: Retention of the Carbon Skeleton in the KINDLER-WILLGERODT Reaction. *J. Amer. chem. Soc.* **68**, 2109 (1946).
189. SMITH, W. V.: Chain Initiation in Styrene Emulsion Polymerization. *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 4077 (1949).
190. SOWDEN, J. C.: The Action of Hydrobromic Acid on 1- $C^{14}$ -d-Glucose. *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 3568 (1949).
191. — and R. SCHAFFER: The Isomerization of d-Glucose by Alkali in  $D_2O$  at 25°. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 505 (1952).

192. SOWDEN, J. C., and D. J. KUENNE: Concerning the Mechanism of Formation of Saccharinic Acids. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 2788 (1953).
194. STEINMETZ, H., and R. M. NOYES: The Mechanism of Halogen-atom Catalyzed cis-trans Isomerization Studies with Bromine and Dibromoethylene. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 4141 (1952).
195. STEVENSON, D. P., C. D. WAGNER, O. BEECK and J. W. OTVOS: Hydrogen Exchange and Isomerization of Saturated Hydrocarbons with Sulfuric Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 3269 (1952).
196. STEWART, T. D., and D. HARMANN: The Exchange of Hydrogen and Tritium Ions During Alkylation, Catalyzed by Tritium Sulfuric Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **68**, 1135 (1946).
197. STIEGLITZ, J., u. G. O. CURME jr.: Die Umwandlung von Hydrazobenzol in Azobenzol und Anilin — eine Reaktion erster Ordnung. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **46**, 911 (1913).
198. STRANKS, D. R., and B. M. HARRIS: Carbon<sup>14</sup> Isotope Effect in an Inorganic Equilibrium. *J. chem. Physics* **19**, 257 (1951).
199. TARPEY, W.: Source of the N-Methyl Group in the Preparation of Demerol. UCRL — 563 (1949).
200. TCHOUBAR, B.: Obtension de l'acide Cyclohexyl-1 Cyclohexanecarboxylique par la déshalogénéation alcaline de la chloro-1 dicyclohexylcétone. *C. R. hebdom. Séances Acad. Sci.* **228**, 580 (1949).
201. THOMPSON, S. O., J. TURKEWICH and A. P. IRSA: Reaction of Deuterium with Hydrocarbons over a Cobalt-Thoric FISCHER-TROPSCH Catalyst. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 5213 (1951).
- 201a. TOLBERT, B. M., P. T. ADAMS, E. L. BENNETT, A. M. HUGHES, M. R. KIRK, R. M. LEMMON, R. M. NOLLER, R. OSTWALD and M. CALVIN: Observations on the Radiation Decomposition of Some C<sup>14</sup>-Labeled Compounds. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 1867 (1953).
- 201b. VAN HEYNINGEN, W. E., D. RITTENBERG u. R. SCHOENHEIMER: The Preparation of Fatty Acids Containing Deuterium. *J. biol. Chemistry* **125**, 495 (1938).
202. VAUGHAN, W. R., D. J. McCANE and G. J. SLOAN: The Rowe Rearrangement. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 2298 (1951).
203. — The Chemistry of the Phthalazines. *Chem. Rev.* **43**, 447 (1948).
204. — and R. PERRY jr.: Racemization in the Camphene Hydrochloride-Isobornyl Chloride Rearrangement. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 3168 (1953).
205. WAGNER, C. D., and V. P. GUINN: Self-radiolysis of <sup>14</sup>C-Compounds. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 4861 (1953).
206. WAHL, A. C., and N. A. BONNER: Radioactivity Applied to Chemistry. New York, N. Y.: John Wiley & Sons, Inc. 1951.
207. WALLACH, O.: Verhalten des 4,5-Dibrommentanons-3 gegen Kali. *Liebigs Ann. Chem.* **414**, 292 (1918).
208. WESTHEIMER, F. H., and N. NICOLAIDES: The Kinetics of the Oxidation of 2-Deuteropropanol-2 by Chromic Acid. *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 25 (1949).
- 208a. WYNNE-JONES, W. F. K.: The Use of Isotopes in Acid and Basic Catalysis. *Chem. Rev.* **17**, 115 (1935).
209. WEYGAND, F., H. GRISEBACH u. K. SCHMEISER: Untersuchung der Osotriazolbildung mit Hilfe von p-82 Bromphenylhydrazin. *Angew. Chem.* **63**, 27 (1951).
210. — u. K. D. KIRCHNER: Methylierung von Stilböstrol mit Diazomethan in Gegenwart von Methanol-<sup>14</sup>C. *Angew. Chem.* **64**, 203 (1952).
211. — u. H. GRISEBACH: Methylierung von Stilböstrol mit Diazomethan in Gegenwart von n-Propanol-[1-<sup>14</sup>C]. *Angew. Chem.* **64**, 643 (1952).

212. WEYGAND, F.: Studies on Osazones with p-Bromophenylhydrazine labelled with  $^{82}\text{Br}$ . Radioisotope Techniques, Vol. I. Her Majesty's Stationary Office, London 1953.
213. — u. G. SCHAEFFER: Synthese von Pteroyl-1-glutamin-säure-[11- $^{14}\text{C}$ ] (Folsäure-[11- $^{14}\text{C}$ ]). Chem. Ber. **85**, 307 (1952).
214. — u. H. GRISEBACH: Unveröffentlicht.
215. — u. H. SIMON: Darstellung isotopenhaltiger organischer Verbindungen. Houben-Weyl, Meth. d. org. Chem. Bd. 4. Stuttgart: Georg Thieme (im Druck).
216. WIBERG, K. B.: The Thermal Decomposition of Deuterated Barium Butyrate. J. Amer. chem. Soc. **74**, 4381 (1952).
217. WIELAND, H.: Über Hydrierung und Dehydrierung. Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 484 (1912).
218. WILLIAMS, D. L., and A. R. RONZIO: Preparation of Potassium Cyanate from Urea. Atomic Energy Commission Doc. (AECU) 662 (1949).
219. WILLIAMS, E. D., K. A. KRIEGER and A. R. DAY: The Mechanism of the MEERWEIN-PONNDORF-VERLEY Reaction. A Deuterium Tracer Study. J. Amer. chem. Soc. **75**, 2404 (1953).
220. WOOD, H. G., C. H. WERKMAN, A. HENNINGWAY, A. O. NIER and C. G. STUCKWISCH: Reliability of Reactions Used to Locate Assimilated Carbon in Propionic Acid. J. Amer. chem. Soc. **63**, 2140 (1941).
221. — R. W. BROWN, C. H. WERKMAN and C. G. STUCKWISCH: The Degradation of Heavy-Carbon Butyric Acid from the Butyl Alcohol Fermentation. J. Amer. chem. Soc. **66**, 1812 (1944).
222. WOODWARD, R. B., and E. C. KORNFELD: The Action of Alkali on Chloral-Quinaldine. J. Amer. chem. Soc. **70**, 2508 (1948).
223. ZINCKE, TH., u. H. JAENKE: Über Orthoamidoazoverbindungen des Xylois und Pseudocumols. Ber. dtsch. chem. Ges. **21**, 540 (1888).

(Abgeschlossen im November 1953.)

Professor Dr. F. WEYGAND und Dr. H. GRISEBACH, Tübingen,  
Chemisches Institut der Universität.