

### Saure Natriumsalze des 2-Glucosyl-chinalizarins.

**Mononatriumsalz:** 0.5 g des 2-Acetoglucosyl-chinalizarins werden mit 20 ccm Alkohol aufgekocht, mit einigen Tropfen konz. Natronlauge versetzt und der ausfallende, rote Niederschlag mit Wasser knapp in Lösung gebracht. In einigen Minuten scheiden sich dann dunkelrote Rosetten ab, die einen metallischen Oberflächenglanz besitzen. Beim Aufbewahren im Exsiccator wird die Farbe rötlichbraun, und der Oberflächenglanz geht verloren. Ausbeute 0.28 g = 74% d. Th.

Zur Analyse wurde das Salz in der Trockenpistole über Phosphor(V)-oxyd bei 125° getrocknet.

43.4 mg Sbst.: 6.4 mg  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

$\text{C}_{30}\text{H}_{17}\text{O}_{11}\text{Na}$  (457.2). Ber. Na 5.04. Gef. Na 4.81.

**Dinatriumsalz:** Wird eine Suspension des Acetoglucosids oder eine Lösung des obigen Glucosid-Salzes in 50-proz. Alkohol mit verd. Alkali im Überschuß versetzt und 3 Min. gekocht, dann filtriert und bis zur beginnenden Trübung Alkohol zugefügt, so scheidet sich nach einigem Stehen ein tiefrotes Krystallpulver ab, das seine Farbe auch beim Trocknen nicht merklich verändert. Die Ausbeute ist fast quantitativ.

17.6 mg Sbst.: 5.4 mg  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

$\text{C}_{30}\text{H}_{16}\text{O}_{11}\text{Na}$  (478.2). Ber. Na 9.62. Gef. Na 9.93.

## 160. Erich Gebauer-Fuelnegg und Arthur I. Kendall: Die Trennung und Isolierung organischer Basen durch Elektro- dialyse.

[Northwestern University, Medical School, Chicago, Ill., U. S. A.]

(Eingegangen am 5. Februar 1931.)

Im Verlaufe von Versuchen, physiologisch aktive Substanzen aus Pflanzen- und vor allem Organ-Extrakten zu isolieren, wurde auch zur Abtrennung derselben mittels Elektrolyse bzw. Elektrodialyse geschritten. Diese Arbeitsweise schien besonders aussichtsreich, da es sich ja meist um chemisch nicht indifferente Körper, welche im elektrischen Strom, je nach ihrer Natur, wandern sollten, handelt. Die Vorteile einer derartigen Trennung sind vor allem die größere Geschwindigkeit und einfachere Handhabung, sowie die Vermeidung mancher Reagenzien im Arbeitsgang.

Protein-Hydrolysate wurden scheinbar von K. Ikeda und S. Suzuki (U. S. A.-Patent Nr. 1 015 891) zum erstenmal der Elektrodialyse in einem Drei-Kammer-Apparat unterworfen, wobei beobachtet wurde, daß sich die Amino-säuren in 3 Gruppen teilen lassen: In eine mit vornehmlich saurem Charakter, die sich im Anodenraum ansammelt, in basische Amino-säuren, die im Kathodenraum gefunden werden, und in eine dritte Gruppe mit weder ausgesprochen saurem noch basischem Charakter, welche in der Mittelzelle bleibt.

G. L. Foster und C. L. A. Schmidt<sup>1)</sup> verwerteten diese Beobachtung zur Trennung der Hexonbasen aus Protein-Hydrolysaten. Es gelang ihnen, auf diese Weise Histidin, Arginin und Lysin von dem Reste der Produkte

<sup>1)</sup> Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 19, 348 [1921—1922]; Journ. biol. Chem. 56, 545 [1923]; s. a. Taro Noguchi, Bull. Instit. phys. chem. Research Tokio 8, 152 [1929].

zu trennen und weiterhin auch eine fraktionierte Abtrennung des Histidins von den beiden anderen Amino-säuren auf Grund der Beobachtung, daß bei  $p_H = 7.5$  Histidin nicht mehr wandert, sondern in der Mittelzelle verbleibt. Bei  $p_H = 5.5$  hingegen wandern die drei genannten Säuren noch gemeinsam zur Kathode.

Diese Beobachtung wurde vor nicht langer Zeit von A. Werner Keil und Hans G. Schieck<sup>2)</sup> bestätigt und insofern erweitert, als gezeigt wurde, daß unter gewissen Bedingungen auch Glykocholsäure mit Hilfe der Elektrodialyse isoliert werden kann.

Von dem eingangs erwähnten Gedanken geleitet, haben wir unsere informativen Versuche, welche einen Hinweis bzgl. der allgemeinen Anwendbarkeit der Arbeitsweise geben sollten, in drei Richtungen ausgeführt:

1. Trennung von Histidin und Histamin bzw. Histidin und Cholin; 2. Trennung eines künstlichen Gemisches von Protein bzw. Gelatine und Histamin bzw. Cholin; 3. Abtrennung der Base aus Histamin-Dipikrat und Histamin-Chlorplatinat.

Zu 1: Da Histidin bei  $p_H = 7.5$  nicht mehr an die Kathode wandert, haben wir die Mischungen dieser Säure mit Histamin bei dieser Alkalität elektrodialysiert, wobei die Ergebnisse die Durchführbarkeit der Arbeitsweise erwiesen haben<sup>3)</sup>. Auch Cholin läßt sich aus einem Gemisch mit Histidin ohne weiteres in den Kathodenraum schaffen.

Zu 2: Mischungen von Eierklar und Histamin bzw. Cholin haben wir als Modell eines kolloidalen Systems untersucht, um zu sehen, ob auch unter diesen Umständen die Trennung möglich ist. Hier, ebenso wie im Falle der Gelatine, konnte die Base im Kathodenraum wiedergefunden werden. Diese Versuche schienen uns wünschenswert im Zusammenhang mit später zu berichtenden Untersuchungen.

Zu 3: Werden Basen im Verlaufe der chemischen Isolierung als Pikrate abgeschieden, so erfolgt die Entfernung der Pikrinsäure und Überführung in ein anderes Salz der Base gebräuchlicherweise durch Ansäuern und Ausschütteln mit Lösungsmitteln, wie Äther oder Benzol. Diese Arbeitsweise kann umgangen werden, wenn das — auch unreine — Pikrat der Elektrodialyse unterworfen wird, wobei die Pikrinsäure in den Anoden-, der Basenteil hingegen in den Kathodenraum befördert wird. Ähnlich gestaltet sich die Trennung eines Chlorplatinates.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sich die Elektrodialyse in den untersuchten Fällen als geeignetes Mittel zur Abtrennung relativ starker kristalloider Basen aus Gemischen mit amphoterer bzw. schwächer basisch reagierenden Stoffen, sowie mit Kolloiden erwiesen hat. Auch zur Reinigung der Basen durch Trennung aus beispielsweise ihren Pikraten, Chlorplatinaten und wohl auch ihren Verbindungen mit Schwermetallsalzen kann das Verfahren mit Vorteil angewendet werden. Ganz allgemein kann die Elektro-

<sup>2)</sup> Ztschr. Biol. 88, 153 [1928].

<sup>3)</sup> Zur rein chemischen Trennung von Histamin und Histidin s. a. Karl K. Köbeler u. Milton T. Hanke, Journ. biol. Chem. 39, 521 [1919].

dialyse das rein organisch-chemische Arbeiten mit Vorteil ergänzen<sup>4)</sup> und sollte deshalb mehr Verwendung finden als es bisher der Fall war<sup>5)</sup>.

### Beschreibung der Versuche.

Die im nachfolgenden beschriebenen Versuche sind in einem Drei-Zellen-Apparat ausgeführt worden, bestehend aus einem zylindrischen, beiderseits mit Flansch und Schliff versehenen, gläsernen Mittelstück, das einen Abflußhahn und eine Einfüllöffnung trägt (Fassungsraum 200 ccm), sowie zwei aufgeschliffenen Glasglocken (Fassungsraum 300 ccm) als Anoden- bzw. Kathodenraum, ebenfalls mit je einem Abflußhahn und Einfüllöffnung ausgestattet. Die Platin-Elektroden werden durch die zentrische Tubulatur in die beiden Glocken eingeführt. Die drei Zellen werden in einem geeigneten Gestell durch Schrauben zusammengedrückt und sind voneinander durch Pergamentpapier-Membranen getrennt. Diese erwiesen sich für die vorliegenden Zwecke als vollkommen ausreichend.

Für Vorversuche und bei Materialmangel haben wir uns eines primitiven Apparates bedient, der kurz beschrieben werden soll, weil er mit Leichtigkeit in jedem Laboratorium aus Vorhandenem hergestellt werden kann. In die Mitte eines kurzen Stückes Glasrohr beliebiger Weite wird ein Loch geblasen. In dieses werden von den beiden Seiten je ein (mit einem als Einfüllöffnung dienenden Loch versehenes) kurzes Stück Glasrohr von etwas kleinerem Lumen eingeschoben. Als Membran war über das eine Ende jedes dieser Rohre ein Pergamentpapier gestülpt worden. Als Dichtung der Membran wurden dünnes Gummiband und Kollodium verwendet. Doppelt durchbohrte Gummistopfen dienten zur Befestigung der Platin-Elektroden und zur Aufnahme von gebogenen Glasröhren, durch welche die Kathoden- bzw. Anoden-Flüssigkeit abgehebert werden konnte.

Elektrolysiert wurde mit 110 Volt bei 0.8—0.1 Amp.

I. Trennung von Histamin und Histidin: Wir versicherten uns zunächst von neuem, daß bei  $p_H = 7.5$  nach 2-stdg. Elektrodialyse tatsächlich nur geringfügige Mengen Histidin<sup>6)</sup> zur Kathode wandern: 250 mg Histidin-Chlorhydrat und 25 mg Histamin-Dichlorhydrat wurden in 150 ccm Wasser gelöst, dann wurde mit Hilfe von geeigneten anorganischen Puffer-Salzen auf  $p_H = 7.5$  eingestellt. In den Elektroden-Räumen befanden sich sehr verdünnte Lösungen des jeweiligen anorganischen Elektrolyten. Die Alkalität der Mittelzelle wurde durch wiederholte Zugabe des anorganischen Salzes während der Elektrolyse auf der gewünschten Höhe gehalten. Die Kathoden-Flüssigkeit wurde nach jeder Stunde gewechselt. Nach 3 Stdn. wurde die Elektrolyse beendet. Die vereinigten Kathoden-

<sup>4)</sup> Über die bisherige Anwendung der Elektrodialyse s.: Ch. Dhéré, Kolloid-Ztschr. 41, 234, 315 [1927]; Reitstötter, Kolloid-Ztschr. 43, 35 [1927]; I. Traube, Ber. pharmaz. Ges. 25, 379 [1915]. Trennung von Alkaloidbasen aus Gemengen, allerdings ohne Diaphragma.

<sup>5)</sup> Über Versuche zur Trennung primärer, sekundärer und tertiärer Amine soll noch berichtet werden.

<sup>6)</sup> Es soll an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß wir anfangs, gestützt auf die Beobachtungen von Kößler und Hanke, die angesäuerten Histidin-Lösungen auf einer Heizplatte ohne Vorsichts-Maßnahmen weitgehend, jedoch unter Vermeidung des völligen Eintrocknens, einengten. Derartige neutralisierte Lösungen riefen jedoch am überlebenden Meerschweinchen-Darm eine Kontraktion hervor. Eine Zersetzung des Histidins, wohl unter teilweiser Bildung von Histamin, scheint also eingetreten zu sein. Beim Einengen im Vakuum und am siedenden Wasserbade wird diese Zersetzung vermieden.

Flüssigkeiten zeigten eine intensive Farbreaktion nach Pauly. Nach weitgehendem Einengen konnte mittels Pikrinsäure das Histamin-Dipikrat abgeschieden werden; Schmp. 231–232°, der Misch-Schmp. mit einwandfreiem Material ergab keine Depression. Zur weiteren Identifizierung wurde ein Krystall dieses Pikrats in wenig Wasser gelöst und mit wenigen Tropfen einer solchen Lösung an einem Stück eines überlebenden Meerschweinchen-Darmes (im Tyrode-Bade mittels des Kymographen) Kontraktion hervorgerufen.

Die neutralisierte Anoden-Flüssigkeit wurde ebenfalls weitgehend eingengt und eine Probe mittels diazotierter Sulfanilsäure in der gebräuchlichen Weise gekuppelt. Es entwickelte sich nach einiger Zeit eine bald in braun umschlagende, wenig deutliche Rotfärbung. Die Abwesenheit von Histamin konnte hier, ebenso wie in der Mittelzelle, durch das Ausbleiben einer Kontraktion des überlebenden Meerschweinchen-Darmes erwiesen werden (Fig. I).

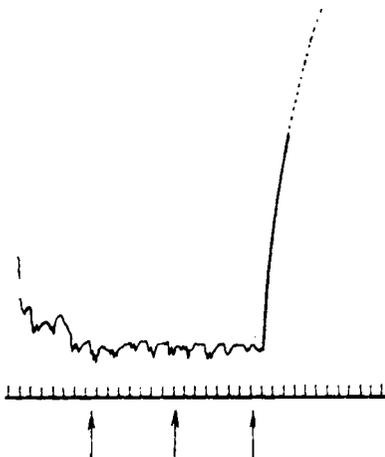


Fig. I: Histidin-Histamin. Je 1 ccm aus der Anoden-, Mittel- und Kathoden-Zelle.

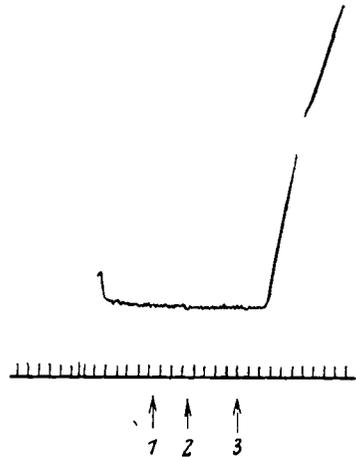


Fig. II: Histamin-Eierklar. Je 1 ccm aus der Anoden-, Mittel- und Kathoden-Zelle.

II. Histamin und Eierklar bzw. Gelatine: 10 ccm frischen Eierklars wurden mit 100 ccm einer  $\frac{1}{10}$ -proz. Trinatriumphosphat- oder Natriumborat-Lösung versetzt; hierin wurden dann 25 mg Histamin-Dichlorhydrat gelöst und das Ganze wie vorbeschrieben elektrolysiert. Auch in diesem Falle wurde die Abwesenheit der Base im Anoden-Raum, dagegen deren Ansammlung im Kathoden-Raum, beobachtet und im physiologischen Experiment (Fig. II) wie auch durch Isolierung als Dipikrat erwiesen. Die analogen Versuche unter Verwendung einer 1-proz. Gelatinelösung führen zum gleichen Ergebnis (Fig. IIa).

III. Histamin-Dipikrat und Histamin-Chlorplatinat: In dem eingangs erwähnten kleinen Elektrodialysier-Apparat wurden je 5 mg Histamin-Dipikrat bzw. -Chlorplatinat in je 15 ccm  $H_2O$  gelöst und sowohl bei  $p_1 = 7.5$ , als auch bei  $p_1 = 6$  elektrolysiert. In beiden Fällen wurde die Abwesenheit des Histamins im Anoden-Raum, seine Entfernung

aus der Mittelzelle und seine schließliche Anreicherung in der Kathodenkammer festgestellt (Fig. III und IV).

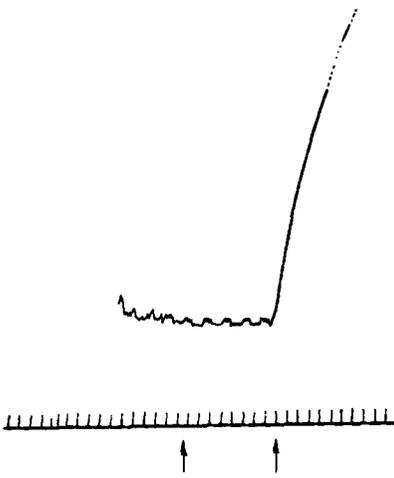


Fig. IIa: Histamin-Gelatine. Je 1 ccm aus der Anoden- und Kathoden-Zelle.

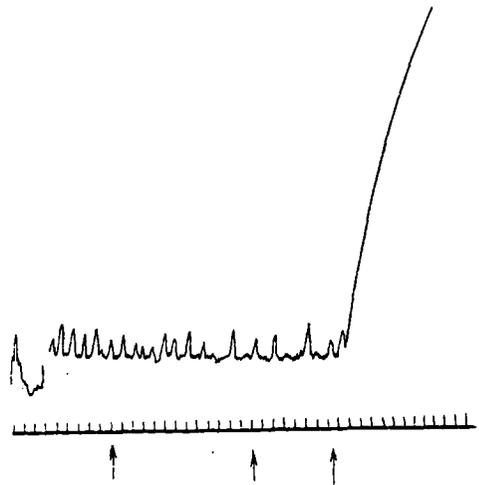


Fig. III: Histamin-Dipikrat. Je 1 ccm aus der Anoden-, Mittel- und Kathoden-Zelle.



Fig. IV: Histamin-Chlorplatinat. Je 1 ccm aus der Anoden-, Mittel- und Kathoden-Zelle.

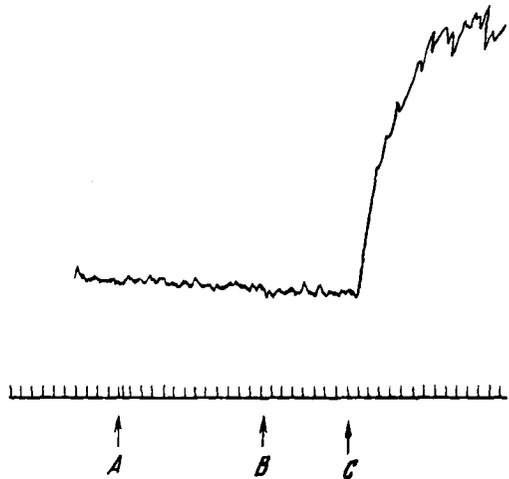


Fig. V: Cholin-Histidin. Je 1 ccm aus den eingengten Flüssigkeiten in der Anoden-, Mittel- und Kathoden-Zelle.

IV. Versuche mit Cholin: Die unter I und II angeführten Versuche wurden mit je 75 mg Cholin-Chlorhydrat an Stelle des Histamins durchgeführt. Der Erfolg war der gleiche wie in den vorbeschriebenen Fällen (z. B. Fig. V). Das Cholin wurde sowohl als Enneajodid<sup>7)</sup> gefällt und isoliert,

<sup>7)</sup> z. B. Stanek, Ztschr. physiol. Chem. 46, 280 [1905].

als auch durch die am überlebenden Meerschweinchen-Darm hervorgerufene Kontraktion nachgewiesen. Da diese physiologische Reaktion nicht so empfindlich ist wie diejenige mit Histamin, haben wir es vorgezogen, die Acetylierung<sup>8)</sup> der zu prüfenden, zur Trockne gebrachten Lösungen dann vorzunehmen, wenn wir uns der Abwesenheit des Cholins im Anoden-Raum, bzw. nach erfolgter Elektrolyse in der Mittelzelle, versichern wollten.

### 161. B. Emmert und R. Jarczynski: Über einige innere Komplexsalze des zweiwertigen Eisens.

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Würzburg.]  
(Eingegangen am 26. Februar 1931.)

Wie bekannt, bilden Acetyl-aceton, Benzoyl-aceton, Acetessigester sehr charakteristische Innerkomplexsalze mit einer Reihe von Metallen, darunter auch mit dreiwertigem Eisen. Dagegen sind die zugehörigen Ferro-Salze nicht oder wenig beschrieben. Zu erwähnen ist hier hauptsächlich eine Beobachtung von Reihlen, Gruhl und v. Hessling<sup>1)</sup>. Diese Autoren erhielten durch Einwirkung von Acetyl-aceton auf Eisen-carbonyl bei starker Bestrahlung mit ultraviolettem Licht, neben Ferri-acetyl-acetonat und einem in seiner Konstitution nicht aufgeklärten Produkt, eine farblose, ungemein luft-empfindliche Substanz, die als Eisen(II)-acetyl-acetonat angesprochen wurde. Doch konnte dieses Produkt selbst nicht analysiert werden, sondern nur sein schwarzes Oxydationsprodukt, für das Reihlen und seine Mitarbeiter die Formel eines Peroxydes  $[\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2)_2]_2\text{O}_2$  in erster Linie in Betracht ziehen.

Einen ersten Hinweis, unter welchen Umständen derartige innerkomplexe Ferro-Salze sich etwa leicht bilden können, entnahmen wir einer Arbeit Tschugaeffs<sup>2)</sup>, nach der Dimethyl-glyoxim mit Ferro-Salzen leicht bei Gegenwart von Pyridin unter Bildung einer Additionsverbindung des Dimethyl-glyoxim-Eisens(II) mit 2 Mol. Pyridin (I) reagiert, während das von Addenden freie Dimethyl-glyoxim-Eisen(II) nicht ohne weiteres zu entstehen scheint. Als wir dementsprechend Acetyl-aceton oder die anderen, oben genannten Stoffe auf Ferrosulfat bei Gegenwart eines Überschusses von Pyridin einwirken ließen, erhielten wir die folgenden Verbindungen:

Acetyl-aceton-Eisen(II) + 2 Pyridin (Formel II),

Benzoyl-aceton-Eisen(II) + 2 Pyridin (analog Formel II),

Acetessigester-Eisen(II) + 2 Pyridin (Formel III)<sup>3)</sup>.

<sup>8)</sup> M. Guggenheim u. W. Löffler, Biochem. Ztschr. **74**, 209 [1916].

<sup>1)</sup> A. **472**, 275, 283 [1929].

<sup>2)</sup> Ztschr. anorgan. allgem. Chem. **46**, 158 [1905], **80**, 401 [1914].

<sup>3)</sup> Wie leicht ersichtlich, müssen hier *cis*- und *trans*-Formen existieren. Wir erhielten bisher jeweils nur eine Form.