

10 Min. säuerte man mit konz. Salzsäure an, wobei eine rote Lösung entstand, aus der das 1-*n*-Hexyl-5.6-dioxy-benzotriazolchinon-(4.7) z. Tl. auskristallisierte. Zur Reinigung wurde es in Äther aufgenommen und der äther. Lösung mit verd. Sodalösung wieder entzogen. Dabei fiel das blaue Natriumsalz in fester Form aus. Es wurde abzentrifugiert, mit Salzsäure zerlegt und aus Eisessig sowie aus Dioxan-Wasser umkristallisiert. Schön bronzierende rote Blättchen. Schmp. 166—167°. Ausb. 1 g (31% d. Th.). Zur Analyse wurde bei 100°/12 mm getrocknet.

$C_{12}H_{15}O_4N_3$ (265.26). Ber. C 54.33, H 5.70, N 15.84. Gef. C 54.32, H 5.96, N 15.69.

1-*n*-Dodecyl-5.6-dioxy-benzotriazolchinon-(4.7) (IV, R = n - $C_{12}H_{25}$): Es wurde in genau der gleichen Weise wie das vorher beschriebene Chinon dargestellt. Man erhielt aus 3 g 1-*n*-Dodecyl-triazoldialdehyd-(4.5), 0.65 g (18% d. Th.) 1-*n*-Dodecyl-5.6-dioxy-benzotriazolchinon-(4.7). Aus Eisessig und Dioxan-Wasser umkristallisiert. Schmp. 158—162°. Schön bronzierende rote Blättchen. Zur Analyse wurde 1 Stde. bei 100°/12 mm getrocknet.

$C_{18}H_{27}O_4N_3$ (349.41). Ber. C 61.87, H 7.78, N 12.03.
Gef. „ 61.00, 61.00, „ 7.74, 7.73, „ 12.16, 12.12.

124. Theodor Wieland und Liselotte Wirth: Quantitative Trennung von Asparaginsäure und Glutaminsäure mit der sauren Aluminiumoxydsäule.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 25. Juni 1943.)

Mit 0.5-*n*. Salzsäure können die Aminodicarbonsäuren aus der sauren Aluminiumoxydsäule¹⁾ eluiert werden. Dabei fanden wir, daß die Glutaminsäure rascher als die Asparaginsäure wandert, doch führten Versuche mit Salzsäure nicht zu einer quantitativen Trennung, da der Unterschied in den Elutionsgeschwindigkeiten beider Aminosäuren nicht genügend groß ist. Wendet man aber 0.5-*n*. Essigsäure zur Elution an, so ist die Asparaginsäure auf einer relativ kurzen Säule erst ein kleines Stück nach unten gewandert, wenn die Glutaminsäure bereits vollständig eluiert ist. Ähnliche Verhältnisse beobachteten F. Turba und M. Richter²⁾, die die Aminodicarbonsäuren an eine mit 1-*n*. Essigsäure-Acetattpuffer von p_H 3.3 vorbehandelte Al_2O_3 -Säule adsorbierten. Aus 30 g dieser Säule ließen sich 5 mg Glutaminsäure mit 160 ccm desselben Puffers bei 50° eluieren, während die Asparaginsäure an der Säule hängen blieb.

Bei Verwendung der salzsauren Säule als Adsorptionsmittel und 0.5-*n*. Essigsäure zur Elution, wie sie hier beschrieben wird, lassen sich 10 mg Glutaminsäure aus 10 g Säulenmaterial mit 50 ccm bei Zimmertemperatur quantitativ eluieren, während mindestens 10 mg Asparaginsäure noch in der Säule verbleiben. Zur Analyse dampfen wir die Eluate zur Trockne und nehmen in einem zur Amino-N-Bestimmung nach van Slyke geeigneten Volumen 2-*n*. Essigsäure auf. Dampft man unter Zusatz von Salzsäure ein, so wird die Glutaminsäure als Hydrochlorid kristallisiert erhalten. Die Elution der

¹⁾ Ztschr. physiol. Chem. **273**, 24 [1942]; Naturwiss. **30**, 374 [1942].

²⁾ B. **75**, 340 [1942].

Asparaginsäure erfolgt, wie schon beschrieben¹⁾, mit 0.5-n. Natronlauge. Das mit Salzsäure angesäuerte Eluat wird verdampft, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und zur N-Bestimmung gebracht.

Für serienmäßige Bestimmungen suchten wir nach einer schnelleren Methode. Aussichtsreich schien, da es sich nur um 2 Aminosäuren handelt, die von H. Riffart³⁾ angegebene colorimetrische Auswertung der Ninhydrinreaktion. Eine gewisse Vereinfachung dieser Methode konnte durch Verwendung des Eintauchcolorimeters erzielt werden. Man braucht von jeder der Aminosäuren nur eine einzige Vergleichsprobe mit anzusetzen. Wir fanden, daß sich so Lösungen von Glutamin- oder Asparaginsäure, deren Konzentration nicht stärker als 2:1 oder 1:2 von der der Vergleichslösung abweicht, gut analysieren lassen. Neben der Zeitersparnis, welche die colorimetrische Auswertung mit sich bringt, hat man den Vorteil, daß sich noch sehr kleine Mengen (bis zu 100 γ) bestimmen lassen.

Beschreibung der Versuche.

Es gelangte mit verd. Salzsäure vorbehandeltes und gut mit Wasser gewaschenes Aluminiumoxyd (Merck, stand. nach Brockmann) zur Verwendung, von dem 10 g in ein Rohr von 10 mm Durchmesser und 200 mm Höhe auf wenig Watte unter schwachem Saugen eingefüllt wurden. Dann ließ man die Mischung der Aminosäuren in wenig Wasser und anschließend 0.5-n. Essigsäure durchlaufen, bis das Filtrat 50 ccm betrug. Die Säule wurde mit 20 ccm Wasser nachgewaschen, welches nach dem Durchlaufen keine Ninhydrinreaktion gab. Das essigsäure Ftrat wurde dann zur Amino-N-Bestimmung im Vak. zur Trockne verdampft und in 3.0 oder 5.0 ccm 2-n. Essigsäure aufgenommen. 2 ccm dieser Lösung dienten zur Bestimmung der Glutaminsäure.

Die mit Wasser gewaschene Säule wurde dann mit 0.5-n. NaOH eluiert, bis das Eluat 20 ccm betrug. Dieses wurde nach Ansäuern mit wenigen Tropfen konz. Salzsäure ebenfalls im Vak. abgedampft, der Rückstand in 3.0 ccm Wasser gelöst und nach van Slyke analysiert. Da bei der Elution mit Lauge Aluminium-Ion ins Eluat gelangt, das beim Neutralisieren als Hydroxyd ausfällt, eluierten wir, wenn der Asparaginsäuregehalt colorimetrisch bestimmt werden sollte, mit *m/15 tert.* Natriumphosphatlösung, bis das Volumen des Eluats 50.0 ccm war.

Tafel 1.
Analysen nach van Slyke.

Analysemlösung		Gef. (ccm N ₂) mg Aminosäure					
Glutaminsäure mg	Asparaginsäure mg	Glutaminsäure			Asparaginsäure		
		in 2 ccm	im Ganzen	mg	in 2 ccm	im Ganzen	mg
5.0	10.0	0.53	0.80	4.9	1.14	1.71	9.8
10.0	5.0	0.64	1.60	9.8	0.61	0.91	5.13
5.0	10.0	0.52	0.78	4.8	1.22	1.83	10.0

Da sowohl der Farbton als auch die Farbstärke bei der Ninhydrin-Reaktion stark vom pH abhängig sind, müssen die Eluate zur colorimetri-

³⁾ Biochem. Ztschr. **131**, 78 [1922].

schen Bestimmung auf etwa p_H 7 eingestellt werden. Der Salzgehalt der Lösung hat Einfluß auf die Beständigkeit der Farbe. Deshalb wurden die Vergleichslösungen (meist 167 γ Aminosäure/ccm) analog zu den Probelösungen bereitet. Je 1.0 ccm beider Lösungen wurden dann mit 2.5 ccm $m/15$ Phosphatpuffer von p_H 6.9, 1.0 ccm Wasser und 0.5 ccm 1-proz. wäßr. Ninhydrinlösung versetzt und im leicht verstopften Reagensglas 30 Min. im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach 15 Min. Abkühlen erfolgte der Farbvergleich mit dem Eintauchcolorimeter. Die nach dieser Methode erhaltenen Werte (Tafel 2) waren weniger genau als die nach van Slyke gefundenen.

Tafel 2.
Colorimetrische Analysen.

Analyselösung		Gef.	
Glutaminsäure (mg)	Asparaginsäure (mg)	Glutaminsäure (mg)	Asparaginsäure (mg)
5.0	10.0	5.6	10.4
5.0	10.0	5.4	9.4
10.0	5.0	9.9	4.8
7.0	7.0	6.6	6.9
10.0	5.0	10.4	4.8

125. A. Cirulis und M. Straumanis: Komplexverbindungen des Kupfer(II)-azids, V. Mitteil.: Kuproate mit organischen Kationen.

[Aus d. Analyt. Laborat. d. Universität Riga, Lettland.]
(Eingegangen am 28. Mai 1943.)

Versuche zeigten¹⁾, daß sich das Kupferazid in vielen wasserlöslichen Aziden mehr oder minder leicht unter Bildung von Anlagerungsverbindungen, den Kuproaten, auflöst.

Es wurden im ganzen 38 neue Verbindungen isoliert, womit wohl der größte Teil der möglichen Kuproate erfaßt ist. Bisher sind 25 derartige Verbindungen mit Aziden rein anorganischen oder überwiegend anorganischen Charakters beschrieben worden¹⁾.

Hier soll über die Kuproate mit organischen Aminen als Kationen berichtet werden.

Die Auflösung des Kupferazids in den löslichen Aziden erfolgt ausnahmslos mit so dunkelrotbrauner Farbe, daß die Lösungen undurchsichtig erscheinen. Die gebildeten Verbindungen können auch in den meisten Fällen krystallisiert erhalten werden, und zwar als rotbraune oder braune, mitunter auch grünliche und violette Nadeln.

Das Vorliegen eines Kuproates kann schon daran erkannt werden, daß die Salze beim Behandeln mit Wasser durch Ausscheidung von $Cu(N_3)_2$ schwarz werden; Schwärzung tritt auch beim Verdünnen der Lösungen ein, im Gegensatz zu dem Verhalten der Einlagerungsverbindungen und der Nicht-

¹⁾ IV. Mitteil. über Komplexverbindungen des Kupfer(II)-azids (Kuproate) s. M. Straumanis u. A. Cirulis, Ztschr. anorgan. allgem. Chem., im Druck [1943].