

Masse dick. Nach 2-stdg. Stehenlassen wird mit 14 ccm Essigsäure verrührt und zentrifugiert. Die Lösung wird mit 30 ccm Alkohol verdünnt und in 300 ccm Wasser gegossen. Die halb feste Ausscheidung wird nach 12 Stdn. in Chloroform gelöst, mit Chlorcalcium getrocknet, im Vak. eingedampft und durch Verdampfen mit Alkohol vom Chloroform völlig befreit. Der Rückstand wird 2-mal aus heißem Alkohol umkrystallisiert: 2.3 g lange, farblose Prismen, Schmp. 157°. Mit 2-Benzoyl-tetraacetyl-toluhydrochinon-glucosid-(5) starke Schmp.-Erniedrigung. $[\alpha]_D^{25}$: $-0.26^\circ \times 5/0.0744 = -17.5^\circ$ (in Chloroform).

Vor der Hydrolyse reduziert die Verbindung Fehlingsche Lösung nicht.

Pentaacetyl-toluhydrochinon-glucosid-(2) (XVI): 0.2 g XV werden in 4 ccm n_{10} -Natriummethylat-Methanol-Lösung gut verschlossen 24 Stdn. bei Zimmertemp. aufbewahrt. Nach dem Ansäuern wird im Vak. verdampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und die Benzoesäure ausgeäthert. Die wäßr. Lösung wird eingedampft. Der Rückstand zeigt keine Neigung zur Krystallisation. Deshalb wird er mit Pyridin und Essigsäureanhydrid bei Zimmertemp. vollständig acetyliert. Aus verd. Alkohol farblose, lange Prismen vom Schmp. 115°. Mit Pentaacetyl-toluhydrochinon-glucosid-(5) starke Erniedrigung des Schmelzpunktes. $[\alpha]_D^{25}$: $-0.25 \times 5/0.0512 = -24.4^\circ$ (in Chloroform).

ω -Brom-5-benzoyl-tetraacetyl-toluhydrochinon-glucosid-(2) (XVII): 1.01 g 5-Benzoyl-tetraacetyl-toluhydrochinon-glucosid-(2) werden in 50 ccm Chloroform mit 14.5 ccm 2-proz. Bromlösung in Chloroform unter den oben angegebenen Bedingungen bromiert. Die Reaktion ist in $1\frac{1}{2}$ Stdn. beendet. Nach zweimaligem Umlösen aus heißem Methanol 0.6 g farblose Stäbchen vom Schmp. 186°. $[\alpha]_D^{25}$: $+0.9^\circ \times 5/0.0326 = +13.8^\circ$ (in Chloroform).

$C_{28}H_{29}O_{12}Br$ (635.2). Ber. Br 12.5. Gef. Br 12.0.

1-Acetyl-5-benzoyl-tetraacetyl-salirepol-glucosid-(2) (XVIII): Die Umwandlung der vorangehenden Bromverbindung mit Essigsäureanhydrid und Silberacetat erfolgt wie diejenige des ω -Brom-2,5-dibenzoyl-toluhydrochinons. Nach zweimaligem Umlösen aus heißem Alkohol farblose Prismen vom Schmp. 158°. $[\alpha]_D^{25}$: $-0.15^\circ \times 5/0.0630 = -11.9^\circ$ (in Chloroform).

Hexaacetyl-salirepol-glucosid-(2) (XIX): 0.2 g 5-Benzoyl-pentaacetyl-salirepol-glucosid-(2) werden mit 4 ccm n_{10} -Natriummethylat in Methanol verseift. Da das freie Glucosid nicht krystallisierte, wurde es mit Essigsäureanhydrid in Pyridin acetyliert. Aus verd. Methanol farblose Prismen, Schmp. 117°. $[\alpha]_D^{25}$: $-0.26^\circ \times 5/0.0510 = -25.5^\circ$ (in Chloroform).

Der Wissenschaftlichen Gesellschaft Széchenyi sprechen wir für die Gewährung von Mitteln unseren besten Dank aus.

190. Ernst Schaaf und Otto Reinhard: Über das adsorptive Verhalten von Aminosäuren.

[Aus dem Hygiene-Institut der Waffen-SS Berlin.]

(Eingegangen am 2. Oktober 1943.)

Einige Veröffentlichungen in jüngster Zeit zeigen, daß auf dem Gebiete der adsorptiven Trennung von Aminosäuren-Gemischen wesentliche Fortschritte erzielt worden sind¹⁾. Die geschilderten Verfahren beruhen auf der Beobachtung, daß die Adsorbier-

¹⁾ Literatur s. Schramm u. Primosigh; B. 76, 373 [1943]; J. Wachtel u. H. Cassidy, Science [New York] (N. S.) 95, 233 [1942].

barkeit der einzelnen Aminosäuren an bestimmte oberflächenaktive Stoffe verschieden ist. Schon Abderhalden und Fodor²⁾ betonten, daß die Adsorption von Aminosäuren an Aktivkohle Unterschiede im Verhalten der untersuchten Aminosäuren erkennen läßt. Sie stellten weiterhin fest, daß dieser Adsorptionsvorgang nur innerhalb eines bestimmten Konzentrationsbereiches das Gesetz der Adsorptionsisothermie befolgt. Takeo Ito³⁾ konnte diese Ergebnisse bestätigen und fand, daß die adsorbierten Mengen eine Funktion der Kettenlänge sind. Die Ausdehnung derartiger Untersuchungen auf andere oberflächenaktive Stoffe wie Tonerden und Bleicherden haben die selektive Adsorption und schließlich ein chromatographisches Trennungsverfahren für Eiweißhydrolysate zum Ziel.

Durch Arbeiten auf bakteriologischem Gebiete veranlaßt, haben wir uns mit der Untersuchung von Aminosäure-Gemischen und deren Trennung näher befaßt. Eine befriedigende Lösung schien uns nur auf Grund umfangreicher Kenntnisse der Beziehungen zwischen Eiweißbausteinen und aktiver Oberfläche möglich. Wir haben daher versucht, systematisch die Grundlagen dieses Gebietes aufzuklären. Unsere erste Aufgabe sahen wir darin, die Adsorptionsisothermen der in Frage kommenden Aminosäuren aufzustellen. Ein Vergleich der Kurven muß weitere Möglichkeiten erkennen lassen.

Zur Untersuchung gelangten bisher folgende Aminosäuren: Glykokoll, *l*-Alanin, *l*-Valin, *l*-Leucin, *d,l*-Serin, *l*-Asparaginsäure, *l*-Glutaminsäurehydrochlorid, *l*-Histidin und *d*-Phenylalanin. Da sich nach Abderhalden und Fodor²⁾ die optischen Isomeren vollkommen gleich verhalten, haben wir keine bestimmte optische Konfiguration bevorzugt.

An oberflächenaktiven Stoffen wurden untersucht: Carbo medicinalis (Merck), Al₂O₃ reinst, wasserfrei (Merck), Al₂O₃ reinst, zur Adsorptionsanalyse nach Brockmann (Merck), Al₂O₃ sauer nach Wieland⁴⁾ (Merck), Bleicherde (Merck), Pfirschingerde, Floridin XXF und Filtrol-Neutrol.

Die Versuchsreihen sollten sich über einen möglichst weiten Konzentrationsbereich erstrecken. Daher war mit einer großen Anzahl von Reihenbestimmungen zu rechnen. Wir mußten also ein Verfahren anwenden, das eine schnelle und genaue quantitative Bestimmung der Aminosäuren gestattete. Nach eingehender Prüfung wählten wir die Titration nach Willstätter und Waldschmidt-Leitz⁵⁾ in 90-proz. Alkohol mit *n*/₁₀-alkohol. NaOH gegen Thymolphthalein als Indicator. Kontrollversuche zeigten, daß dieses Verfahren unter Beachtung bestimmter Vorsichtsmaßregeln sehr genaue Werte liefert. Sie läßt sich auf jede der untersuchten Aminosäuren anwenden.

Je nach der Löslichkeit der betreffenden Aminosäure wurden wäßr. Lösungen innerhalb der Grenzen *m*/5 bis *m*/50 angesetzt und für 10 ccm der Verbrauch an *n*/₁₀-alkohol. NaOH bestimmt (Titration A). Die Herstellung einer höheren Konzentration als *m*/5 ist wegen der Löslichkeitsverhältnisse in vielen Fällen unmöglich. Da der Farbumschlag bei der Titration nur allmählich erfolgt und der Endpunkt deshalb schwer zu erkennen ist, benutzten wir nach dem Vorschlag von Graßmann und Heyde⁶⁾ eine Vergleichslösung. Diese stellten wir her durch Versetzen von 150 ccm 90-proz. Alkohol mit 1.1 ccm *n*/₁₀-alkohol. NaOH in Gegenwart von 0.5 ccm 1-proz. alkohol. Thymolphthaleinlösung. Zur Adsorption wurden 50 ccm

²⁾ Fermentforsch. **2**, 74, 151 [1919].

³⁾ Bull. agric. chem. Soc. Japan **6**, 13 [1930].

⁴⁾ B. **75**, 1001 [1942].

⁵⁾ B. **54**, 2988 [1921]; Ztschr. physiol. Chem. **132**, 181, 192 [1924].

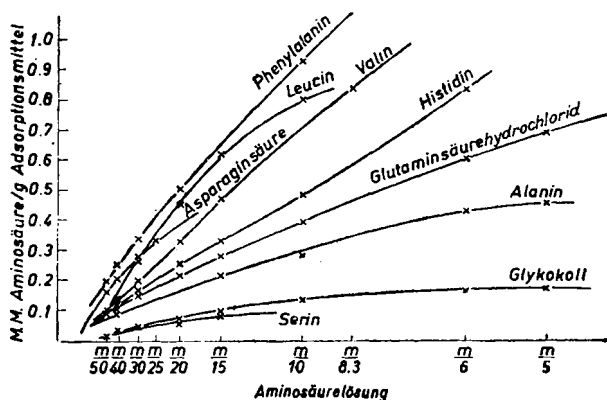
⁶⁾ Ztschr. physiol. Chem. **183**, 32 [1929].

einer Aminosäurelösung bestimmter Konzentration in einer Glasstöpsel- flasche mit 10 g Adsorptionsmittel bis zur Einstellung des Adsorptions- gleichgewichtes geschüttelt, abfiltriert und in 10 ccm des Filtrats die noch vorhandene Menge Aminosäure titrimetrisch bestimmt (Titration B). Aus der Differenz der Titrations A und B berechnet sich die adsorbierte Menge Aminosäure je g Adsorptionsmittel. Von der Verwendung eines Thermo- staten während der Adsorption sahen wir ab, da sich zeigte, daß Temperaturschwankungen von 1—2° sich in den Ergebnissen nicht bemerkbar machen. Die Temperaturen unserer Untersuchungen lagen zwischen 20° und 22°.

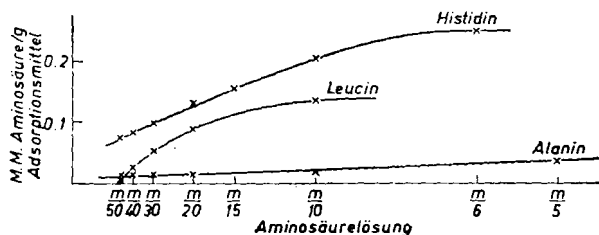
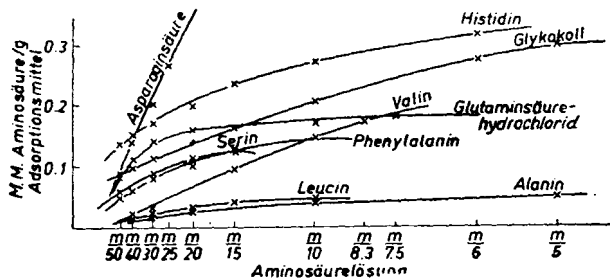
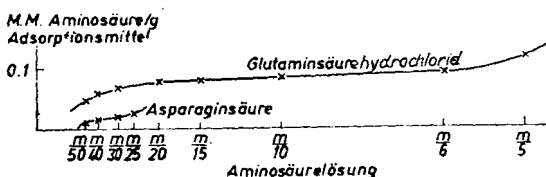
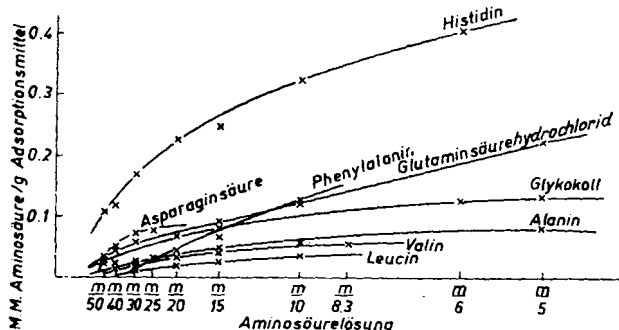
Die Einstellung des Adsorptionsgleichgewichtes erfolgt bei den einzelnen Adsorbentien verschieden schnell. In Vorversuchen haben wir die Zeit bis zum Erreichen dieses Punktes jeweils festgelegt. Bei unseren Untersuchungen wendeten wir zur Sicherheit die doppelte Reaktionszeit an. Im Falle des Al_2O_3 mußten wir berücksichtigen, daß dieses Präparat geringe Mengen Alkali an das umgebende Medium abgibt, worauf Wieland hingewiesen hat.

Die Abbildungen I—VIII zeigen die Ergebnisse unserer Untersuchungen. Auf der Abszisse sind die Konzentrationen der Aminosäurelösungen auf- getragen. Die Ordinate gibt die adsorbierte Menge Aminosäure in Millinolen je g Adsorptionsmittel an. Durch die Eintragung der Adsorptionsisothermen aller untersuchten Aminosäuren für das gleiche Adsorptionsmittel auf einem gemeinsamen Koordinatensystem lassen sich die Unterschiede im adsorptiven Verhalten unmittelbar erkennen. Ebenso gut kann man auch umgekehrt die Adsorptionsisothermen einer Aminosäure an verschiedene Adsorbentien in einem Koordinatensystem zusammenfassen. Aus dem Vergleich der beiden Arten der Darstellung ergeben sich künftige Möglichkeiten zu einer Trennung von Aminosäuregemischen. Wir haben uns hier, um Raum zu sparen, auf eine Art der Darstellung beschränkt.

Es ergeben sich somit folgende grundlegende Tatsachen. Die Adsorbier- barkeit an Carbo medicinalis ist für die neutralen aliphatischen Aminosäuren eine Funktion der Kettenlänge. Bei anderen Adsorbentien trifft dies nicht in gleichem Maße zu. An Bleicherde kehren sich diese Verhältnisse sogar um. Aktivkohle zeigt sich den meisten Adsorbentien überlegen. Manche Adsorbentien zeigen für bestimmte Aminosäuren ein derart schwaches Adsorptionsvermögen, daß auf die Darstellung ihrer Isotherme verzichtet

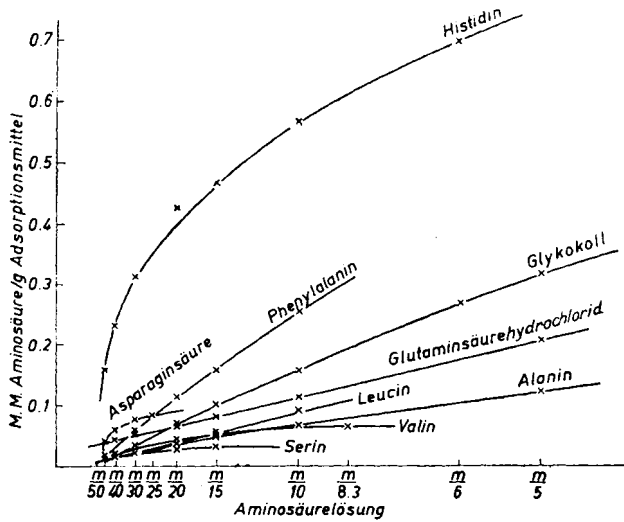


Abbild. 1. Adsorption an Carbo med.

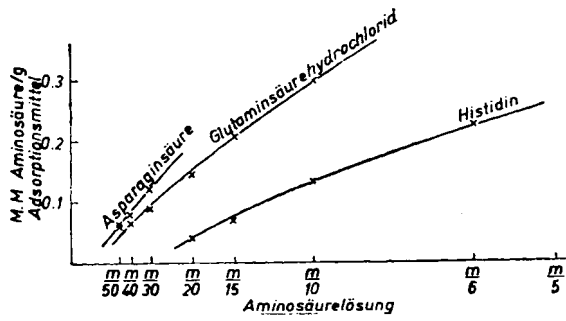
Abbild. 2. Adsorption an Al_2O_3 , Merck.Abbild. 3. Adsorption an Al_2O_3 , Brockmann.Abbild. 4. Adsorption an Al_2O_3 sauer, Merck.

Abbild. 5. Adsorption an Bleicherde.

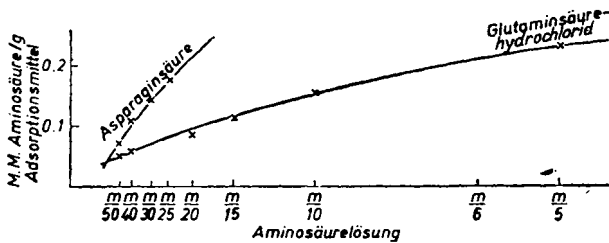
wurde. In einigen Fällen konnte aus noch nicht geklärten Gründen keine Isotherme erhalten werden. Daher enthalten einige der Abbildungen weniger Kurven als die übrigen. Die Feststellung von Abderhalden und Fodor, daß das Gesetz der Adsorptionisotherme nur innerhalb eines engen Konzentrationsbereiches befolgt wird, kann durch Darstellung unserer Ergebnisse in logarithmischem Maßstabe erneut getroffen werden. Mit Rücksicht auf



Abbild. 6. Adsorption an Pfirsinger Erde.



Abbild. 7. Adsorption an Floridin XXF.



Abbild. 8. Adsorption an Filtrol Neutrol.

die ausführliche Besprechung der theoretischen Grundlagen dieser Zusammenhänge durch Abderhalden und Fodor können wir auf eine eingehende Diskussion der erhaltenen Kurven verzichten.

Die Adsorptionsverhältnisse weiterer, in vorliegender Arbeit nicht erwähnter, Aminosäuren werden zur Zeit noch geprüft.