

reaktion liefert. Das krystallisierte β -Diketon liefert auch nach Schmelzen keine Eisenchloridreaktion, liegt also in der reinen, sehr beständigen Ketonform vor.

Beim längeren Kochen mit 2-proz. Barytlauge wird das Diketon, glatt in Benzoesäure und 1.3-Dimethyl-4-phenyl-cyclo-hexen-(?)-on-(6) gespalten. Letzteres bildet ein blaßgelbliches Öl vom Sdp.₁₈ 169—170°. Semicarbazon: Schmp. 193—194°; Oxim: Schmp. 179—181°.

Wasserabspaltung aus den Oxyketonen VIII oder IX.: 1.3-Dimethyl-4-phenyl-5-benzoyl-cyclohexadien (XI): 15 g eines der beiden Oxyketone VIII oder IX werden in 40 ccm Alkohol gelöst und 30 bis 40 Min. mit einer Auflösung von 1 g Kalium in 10 ccm Alkohol am Rückflußkühler zum lebhaften Sieden erhitzt, bis eine herausgenommene Probe unter dem Mikroskop nur aus glänzenden rhombischen Prismen besteht. Zu langes Kochen ist zu vermeiden, da die Substanz dann leicht unter Bräunung verharzt. Nach Beendigung der Reaktion wird angesäuert und abgekühlt. Beim Reiben scheidet sich XI rasch krystallinisch ab (11 g). Durch vorsichtigen Wasserzusatz läßt sich aus der Mutterlauge eine zweite Krystallisation von 2.5 g gewinnen. Gesamtausb. 80% d. Theorie. Aus Alkohol oder Eisessig prächtig ausgebildete rhombische Prismen vom Schmp. 86—87°. In konz. Schwefelsäure gelb löslich.

$C_{21}H_{20}O$. Ber. C 87.4, H 6.9. Gef. C 87.3, H 6.7.

Oxydative Alkalisplaltung des 1.3-Dimethyl-4-phenyl-5-benzoyl-cyclohexadiens in 2.4-Dimethyl-diphenyl (XII) und Benzoesäure: 10.5 g des obigen Cyclohexadiens werden mit 40 g Ätzkali und 12 g Bleiperoxyd in einem mit Stopfen und Ableitungsrohr versehenen Nickeltiegel 1 Stde. im Ölbad auf 220—240° erhitzt. Im Ableitungsrohr kondensieren sich einige Wasser- und Öl-Tröpfchen. Die erkaltete Schmelze wird in Wasser gelöst und das 2.4-Dimethyl-diphenyl mit Wasserdampf übergetrieben. Erhalten wurden 4 g eines farblosen, in seinem Geruch an Diphenyl erinnernden Öls von Sdp.₂₀ 144—145°¹⁵⁾. Beim Abkühlen in einer Kältemischung erstarrt das Öl nicht. Brom in Chloroform wird nicht entfärbt.

$C_{14}H_{14}$. Ber. C 92.3, H 7.7. Gef. C 92.24, H 7.99.

Aus dem Rückstand der Dampfdestillation erhält man beim Ansäuern 2.8 g Benzoesäure.

46. Theodor Wieland und Herta Fremerey: Trennung der neutralen Aminosäuren über die Kupferkomplexe durch Verteilungschromatographie.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 9. Februar 1944.)

Die prachtvoll krystallisierenden, tiefblauen Kupferkomplexe der Aminosäuren zeigen bedeutende Unterschiede der Löslichkeit in Wasser und Alkoholen. Diese sind von M. A. B. Brazier für eine Aufteilung des bei der

¹⁵⁾ Ein 2.4-Dimethyl-diphenyl ist von Jacobson durch Einwirkung von Benzol und Aluminiumchlorid auf das aus *asymm.* *m*-Xylidin bereitete Diazoniumchlorid dargestellt worden (A. 427, 216 [1922]). Sdp.₁₇ 150—152°, also etwas höher, als wir an unserem Präparat beobachtet haben.

Proteinhydrolyse entstehenden Aminosäuregemisches herangezogen worden¹⁾. Sie zerlegte zunächst das Gemisch der Kupferkomplexe mit Wasser in einen löslichen und unlöslichen Anteil, brachte die wäßrige Lösung zur Trockne und zog aus dem Rückstand mit Methanol die Cu-Salze von Valin und Prolin aus. Die weitere Zerlegung der erhaltenen Cu-Salz-Fractionen geschah nach Entkupferung mit Hilfe anderer Verfahren.

Bei der Suche nach organischen Flüssigkeiten, die für die Cu-Komplexe ein besseres Lösungsvermögen besitzen als die Alkohole und die zudem mit Wasser nur begrenzt mischbar sind, so daß man mit ihnen die Cu-Salze aus wäßriger Lösung ausschütteln kann, stießen wir auf die mit Wasser liquifizierten Phenole. 10—20% Wasser enthaltendes Phenol löst mit Leichtigkeit die Cu-Komplexe der höheren Monoaminomonocarbonsäuren, die in Wasser nur sehr wenig löslich sind²⁾. Auch Alanin-, Prolin- und Oxyprolin-Kupfer werden leicht aufgenommen, während Serin- und Glykokoll-Kupfer weniger löslich sind. Diese Löslichkeitseigenschaften beherrschen das Bild der Verteilung zwischen phenolgesättigtem Wasser und wassergesättigtem Phenol. Es bestehen in den Verteilungskoeffizienten (λ) (Konz. in der wäßr. Phase:Konz. in der phenol. Phase) zwischen den verschiedenen Cu-Salzen bedeutende Unterschiede, die durch Zusatz eines dritten, mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittels, z. B. Chloroform, noch verstärkt werden können.

Durch dieses Verhalten der Cu-Salze war die Voraussetzung für die Anwendung der „Verteilungschromatographie“ nach A. J. P. Martin und R. L. M. Synge³⁾ gegeben. Dabei findet infolge säulenförmiger Anordnung der wäßrigen Phase in Form wasserhaltigen Kieselsäuregels beim Durchtreten der im organischen Lösungsmittel gelösten Substanz der Verteilungsvorgang sehr oft hintereinander statt. Diese Summation führt zur Trennung von Substanzen mit verschiedenem λ , welche als Zonen mehr oder weniger schnell vom reinen Lösungsmittel durch die Säule gewaschen werden. Substanzen, deren Löslichkeit in der wäßrigen Phase (Säule) größer ist als in der organischen, deren λ also groß ist, wandern langsamer als solche, die sich im organischen Lösungsmittel leichter lösen.

Der Verteilungskoeffizient von Valin-Kupfer zwischen phenol-chloroformgesättigtem Wasser und wassergesättigtem Phenol-Chloroform (1:1) liegt für eine 1-proz. Lösung bei 0.1, der des Alanin-Kupfers bei 2.85. Demgemäß bilden sich nach dem Aufgeben eines Gemisches einiger Milligramme beider Cu-Salze in möglichst wenig Phenol-Chloroform auf eine Säule von 1.0 g Kieselgelpulver, das, mit 1 ccm phenolgesättigtem Wasser getränkt und im phenolreicheren Lösungsmittelgemisch aufgeschlämmt, eingefüllt ist, beim Entwickeln mit derselben Mischung bald 2 blaue scharfe Zonen, die mit verschiedener Geschwindigkeit nach unten wandern. Die jodometrische Cu-Bestimmung⁴⁾ der schneller laufenden Zone, die in 1—2 ccm als tiefblaue Lösung austritt, ergibt, daß sie quantitativ das Valin enthält. Die Alanin-Kupferzone wandert bedeutend langsamer und kann leicht getrennt auf-

¹⁾ Biochemic. Journ. **24**, 1188 [1930].

²⁾ Die freien Aminosäuren sind ebenfalls in Pherolum liquefactum leicht löslich.

³⁾ Biochemic. Journ. **35**, 1358 [1941].

⁴⁾ E. Abderhalden u. E. Schnitzler, Ztschr. physiol. Chem. **168**, 94 [1927].

gefangen und jodometrisch ausgewertet werden, wobei das Alanin-Kupfer ebenfalls quantitativ wiedergefunden wird.

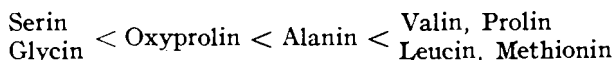
Beispiele: 8.0 mg Valin-Cu und 8.0 mg Alanin-Cu in 0.6 ccm Phenol-Chloroform (2:1) auf die Säule gegeben, mit wassergesätt. Phenol-Chloroform (1:1) entwickelt und eluiert:

1. Eluat verbr. 2.65 ccm 0.095-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = 1.6$ mg Cu, entspr. 7.9 mg Valin-Cu.
2. Eluat verbr. 3.25 ccm 0.095-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = 2.0$ mg Cu, entspr. 7.6 mg Alanin-Cu.

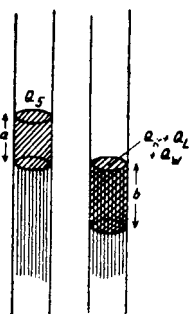
Je 7.5 mg Valin- und Alanin-Cu, wie oben:

1. Eluat verbr. 2.50 ccm 0.095-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = 1.52$ mg Cu, entspr. 7.5 mg Valin-Cu.
2. Eluat verbr. 3.25 ccm 0.095-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = 2.0$ mg Cu, entspr. 7.6 mg Alanin-Cu.

Die Zonen der bisher untersuchten Cu-Komplexe wandern im selben Lösungsmittelgemisch in der angegebenen Reihenfolge mit wachsender Geschwindigkeit:



Die Wanderungsgeschwindigkeiten der Zonen im Vergleich zur Sinkgeschwindigkeit des oberen Flüssigkeitsmeniskus im freien Rohrteil lassen sich aus den Verteilungskoeffizienten sowie den Einfüll- und Rohrdaten in einfacher Weise berechnen:



Abbild.

Besteht das Säulenmaterial aus inertem Füllmittel (z. B. Kieselgel ohne Wasser), so wandert in der Säule die untere Front einer Cu-Salz-Lösung mit einer Geschwindigkeit, die der Querschnittverringerung, welche das Lumen durch das Füllmaterial erfahren hat, umgekehrt proportional ist. Die auf der Säule zurückgelegte Strecke b verhält sich zur Strecke, um die der Meniskus in der gleichen Zeit gesunken ist (a), wie der Rohrquerschnitt (Q_S) zum Querschnitt, den das organische Lösungsmittel in der Säule einnimmt (Q_L) (s. Abbild.).

$$b/a = Q_S/Q_L.$$

Dasselbe gilt auch bei wasserhaltigem Kieselgel (Querschnittsanteil des Wassers = Q_W), wenn die im organischen Lösungsmittel gelöste Substanz im Wasser nicht löslich, λ also Null ist. Hat λ aber einen endlichen Wert, so bedeutet das, daß beim Eindringen der Lösung in die Säule aus dem organischen Lösungsmittel ein gewisser Bruchteil des Gelösten in das Wasser übergeht, nämlich der Bruchteil $\lambda \cdot Q_W$. Je größer λ ist, desto kürzer wird b auf der Säule

$$b/a = Q_S/(Q_L + \lambda \cdot Q_W).$$

Wir bezeichnen das Verhältnis b/a als „relative Wanderung“ (R), d. i. die von der untersten Zonenfront dann zurückgelegte Strecke, wenn der Flüssigkeitsmeniskus um 1 cm gesunken ist, also: $b/a = R$.

Da die Querschnitte Q_S , Q_L und Q_W den entsprechenden Volumina (V_S , V_L , V_W) in der Säule proportional sind, ist

$$R = V_S/(V_L + \lambda \cdot V_W). \quad (1)$$

In den folgenden Versuchen zur Bestimmung von R für Valin- und Alanin-Cu wurde ein Röhrchen vom Durchmesser 1.04 cm verwendet, es war also $Q_S = 0.85$ qcm. Eine 7.5 cm hohe Säule aus 1.5 g Kieselgel, mit

2.0 ccm Wasser verrieben und mit Phenol-Chloroform (1:1) ins Rohr gefüllt, hatte ein V_8 von 6.4 ccm. Der Volumanteil des Kieselgels (V_K , d 2.3) war dann 0.65 ccm, der des Wassers (V_W) 2.0 ccm und der des organischen Lösungsmittels (V_L) als Differenz 3.75 ccm. Die experimentelle Bestimmung von R ergab für Alanin-Cu ($b = 5.0$ cm, $a = 7.5$ cm) 0.66, für *d,l*-Valin-Cu ($b = 4.0$, $a = 6.0$) 1.5. Aus (1) errechnet man für $R_{\text{Alanin-Cu}}$ 0.68, für $R_{\text{Valin-Cu}}$ 1.60.

Aus Gl. (1) kann man auch ausrechnen, daß sich 2 Substanzen mit Verteilungskoeffizienten von 0.1 und 0.01, wie sie z. B. dem Valin-Cu und Leucin-Cu im oben besprochenen System zukommen, in den R-Werten nur wenig unterscheiden (1.60 bzw. 1.70). Die unteren Fronten beider Cu-Salz-Zonen, die selbst etwa 1—2 cm breit sind, trennen sich auf einer Säule von 10 cm Länge nur um 0.6 cm. Um eine effektive Trennung zu erreichen, muß das λ der einen Komponente mindestens ~ 0.5 sein, wenn das der anderen kleiner als 0.1 ist. λ von Valin- und Prolin-Cu zwischen Wasser und Phenol-Benzol (1:5) = 0.5, während das von Leucin-Cu im selben System kleiner als 0.1 ist. Daher gelingt es aus der letzten Gruppe der obigen Reihe durch Anwendung eines Phenol-Benzol-Gemisches (1:5) Prolin- und Valin-Kupfer von den anderen quantitativ chromatographisch abzutrennen

Beispiele: 6.0 mg Leucin-Cu und 3.0 mg Valin-Cu in 0.4 ccm Phenol-Benzol (1:3) auf einer Säule von 2.0 g Kieselgel und 1.5 ccm phenolgesättigtes Wasser mit Phenol-Benzol (1:5) entwickelt.

1. Eluat verbr. 2.20 ccm 0.089-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8 = 1.25$ mg Cu, entspr. 6.3 mg Leucin-Cu.

2. Eluat (Phenol) verbr. 1.10 ccm 0.089-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8 = 0.63$ mg Cu, entspr. 3.1 mg Valin-Cu.

6.0 mg Leucin-Cu und 3.0 mg Prolin-Cu, wie oben:

1. Eluat verbr. 2.10 ccm 0.089-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8 = 1.19$ mg Cu, entspr. 6.06 mg Leucin-Cu.

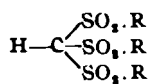
2. Eluat (Phenol) verbr. 1.15 ccm 0.089-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8 = 0.66$ mg Cu, entspr. 3.02 mg Prolin-Cu.

Frl. H. Zimmer danken wir für die eifrige Mithilfe bei der vorliegenden Untersuchung.

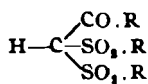
47. Horst Böhme und Harriet Fischer: Enolbestimmungsmethoden und ihre Gültigkeitsgrenzen bei sulfonylhaltigen Verbindungen.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut f. physikal. Chemie und Elektrochemie, Berlin-Dahlem.]
(Eingegangen am 11. Februar 1944.)

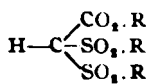
Wenn man ausgehend vom Trisulfonylmethan eine Reihe aufstellt, deren Glieder dadurch charakterisiert sind, daß die Sulfonylgruppen nach und nach



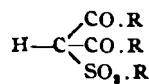
I.



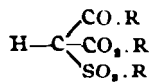
II.



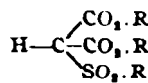
III.



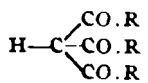
IV.



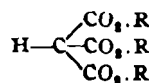
V.



VI.



VII.



VIII.