

16. Hans Brockmann und Fritz Volpers: Zur Kenntnis der chromatographischen Adsorption, IV. Mittel.*): Trennung farbloser Stoffe an fluoreszierenden Adsorbentien.

[Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Göttingen.]

(Eingegangen am 8. Oktober 1948.)

Es wird an einer Reihe von Beispielen die Brauchbarkeit fluoreszierender Adsorbentien zur chromatographischen Trennung farbloser Verbindungen festgestellt, geklärt, auf welche Weise bei diesem Verfahren die Zonen sichtbar werden, der Einfluß funktioneller Gruppen auf die Adsorptionsaffinität untersucht und ein neues Verfahren zur Herstellung fluoreszierender Adsorbentien beschrieben.

Die chromatographische Adsorption farbloser Stoffe läßt sich, wie wir zeigen konnten¹⁾, durch die Verwendung fluoreszierender Adsorbentien sehr vereinfachen. Bei Bestrahlung mit UV-Licht geeigneter Wellenlänge werden die mit adsorbierter Substanz bedeckten Teile der Adsorptionssäule als dunkle Zonen sichtbar, die sich gegen die hell fluoreszierenden „leeren“ Partien scharf abheben. Als Adsorbentien verwendeten wir Aluminiumoxyd-Präparate mit Eigenfluoreszenz oder vorteilhafter Adsorptionsmittel, die mit kleinen Mengen fluoreszierender Stoffe „angefärbt“ waren.

Wir haben unser Verfahren, für das in unserer ersten Mitteilung¹⁾ nur einige Trennungsbeispiele beschrieben sind, an einer größeren Anzahl farbloser Verbindungen geprüft und es überall als brauchbar befunden. Bevor auf diese Versuche näher eingegangen wird, soll an Hand einiger neuer Beobachtungen erörtert werden, auf welche Weise die Chromatogrammzonen an den fluoreszierenden Adsorbentien sichtbar werden.

Bei unseren ersten Versuchen verwendeten wir Aluminiumoxyd, dessen Fluoreszenz durch kleine Beimengungen gewisser Schwermetalle bedingt war. Ist die Oberfläche eines solchen Aluminiumoxyd-Teilchens mit adsorbierter Substanz bedeckt, so wird diese einen Teil des eingestrahlten UV-Lichtes absorbieren. Infolgedessen ist die Fluoreszenzanregung hier geringer als bei Teilchen mit unbedeckter Oberfläche. Da die Schicht der adsorbierten Substanz aber sehr dünn ist, kann dieser Effekt allein nicht für die verringerte oder ganz ausfallende Fluoreszenz der Chromatogrammzonen verantwortlich sein. Viel wesentlicher ist dafür folgender Vorgang: Die Adsorbentien sind bis zu einem gewissen Grad für das eingestrahlte Licht durchlässig, besonders dann, wenn sie mit einem Lösungsmittel bedeckt sind, dessen Brechungsindex ihrem eigenen ähnlich ist. Die äußerste Schicht einer Adsorptionssäule bildet infolgedessen einen mehr oder weniger lichtdurchlässigen Mantel, durch den ein Teil des UV-Lichtes in die tiefer liegenden Schichten der Säule dringen kann. Umgekehrt läßt er das hier entstandene Fluoreszenzlicht nach außen durch. Dort, wo sich Zonen befinden, ist die Lichtabsorption in dem lichtdurchlässigen Mantel stärker, da hier die adsorbierte Substanz als Lichtfilter

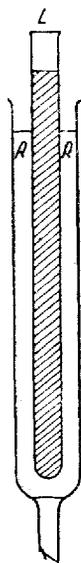
* I. Mittel.: B. 74, 73 [1941]; II. Mittel.: B. 80, 77 [1947]; III. Mittel.: Angew. Chem. 59, 199 [1947].

¹⁾ H. Brockmann u. F. Volpers, Naturwiss. 33, 58 [1946]; B. 80, 77 [1947].

wirkt. Die Fluoreszenzanregung der tiefer in der Säule liegenden Teilchen ist daher schwächer als da, wo nichts adsorbiert ist. Das einzelne Teilchen des fluoreszierenden Adsorbens hat also als Leuchtschirm zwei Funktionen. Es zeigt erstens die Lichtabsorption der an seiner Oberfläche adsorbierten Verbindung an und es macht zweitens die Lichtabsorption der — von ihm aus gesehen — weiter nach außen in der Säule liegenden Adsorbensteilchen sichtbar.

Wenn der zweite Vorgang für das Sichtbarwerden der Zonen die Hauptrolle spielt, müßte man die Zonen farbloser Verbindungen im UV-Licht auch dann erkennen können, wenn die Leuchtschirmfunktion durch einen zweiten an der Adsorption nicht beteiligten Stoff ausgeübt wird, d.h. wenn man das Adsorbens mit einer Leuchtfarbe vermischt, die selber nicht adsorbiert. Das ist nun, wie wir fanden, tatsächlich der Fall. Vermischt man z.B. Aluminiumoxyd mit etwa 5 % einer käuflichen fein gepulverten Leuchtfarbe (meistens Zinksulfidpräparate), so lassen sich die Zonen farbloser Verbindungen im UV-Licht genau so gut erkennen, wie an dem mit Morin angefärbten Aluminiumoxyd.

Dieses Verfahren²⁾, fluoreszierende Adsorbentzien herzustellen, hat den Vorteil, daß es sich für jedes beliebige farblose Adsorptionsmittel anwenden läßt, so z.B. auch für Aluminiumoxyd der Aktivitätsstufe I³⁾, das durch Anfärben



Abbild. Anordnung zur Sichtbarmachung des Lichtfiltereffekts durch Leuchtfarbe im Chromatogrammrohr.

mit fluoreszierenden Stoffen nicht zu erhalten ist, weil diese die zur Gewinnung des Aktivitätsgrades I erforderliche Temperatur nicht vertragen. Das Verfahren ist kürzlich unabhängig von uns in Amerika von J. W. Sease⁴⁾ aufgefunden und an einer Reihe von Verbindungen erprobt worden. Da die meisten Leuchtfarben längere Zeit nachleuchten, lassen sich die Zonen auch nach dem Ausschalten der Lichtquelle erkennen, so daß das Zerlegen des Chromatogramms nicht unter der Analysenlampe durchgeführt zu werden braucht.

Sehr schön läßt sich der Lichtfiltereffekt der nahe der Säulenoberfläche liegenden Adsorbensteilchen durch die in der Abbildung skizzierte Anordnung zeigen. List ist ein mit Leuchtfarbe gefülltes Rohr, dessen Querschnitt so bemessen ist, daß ein schmaler Raum zwischen ihm und der Wand des Chromatogrammrohres entsteht, der zur Aufnahme des Adsorbens dient. Mit dieser Vorrichtung werden im UV-Licht die Absorptionszonen verblüffend gut sichtbar. Wie dick die Schicht R des Adsorbens maximal sein darf, hängt von der Natur des Adsorbens und des Lösungsmittels ab. Bei Kieselsäure, die in Benzol und Chloroform stark durchscheinend wird, lassen sich die Zonen noch gut erkennen, wenn $R = 0.5$ cm ist.

Das beste Verfahren zur Herstellung fluoreszierender Adsorbentzien besteht nach unseren Erfahrungen darin, das Adsorbens mit einer kleinen Menge einer fluoreszierenden

²⁾ Zuerst in der Diplomarbeit von F. Volpers 1944 beschrieben und veröffentlicht von H. Brockmann, *Angew. Chem.* **59**, 206 [1947].

³⁾ H. Brockmann u. H. Schodder, *B.* **74**, 73 [1941].

⁴⁾ *Journ. Amer. chem. Soc.* **69**, 2242 [1947].

Substanz anzufärben. Sie muß so fest am Adsorbens haften, daß sie durch die verwendeten Lösungsmittel nicht eluiert wird, und sie muß auch durch kurzwelliges UV-Licht, etwa von der Wellenlänge 250 μ , noch zur Fluoreszenz angeregt werden, wenn man Verbindungen trennen will, die in diesem Bereich absorbieren. Ferner muß sie in so geringer Menge auf der Oberfläche vorhanden sein, daß sie deren Adsorptionsfähigkeit nicht merklich herabsetzt. Für Aluminiumoxyd fanden wir besonders geeignet das Pentaoxyflavon Morin, für Kieselsäure Berberin. Beide verleihen dem Adsorbens eine leuchtend gelbe Fluoreszenz.

Bei diesen angefärbten Adsorbentzien sitzt die adsorbierte farblose Verbindung neben dem fluoreszierenden Stoff auf der Oberfläche, und es fragt sich, wie in diesem Fall die Sichtbarkeit der Zonen zustandekommt. Dafür gibt es zwei Möglichkeiten: entweder kommt es physikalisch oder chemisch zu einer direkten Fluoreszenzlöschung durch die adsorbierte farblose Verbindung, oder aber die Zonen werden genau so wie bei den Leuchtfarbenpräparaten dadurch sichtbar, daß der fluoreszierende Stoff als Leuchtschirm wirkt, nur mit dem Unterschied, daß er hier nicht getrennt zwischen den Partikeln des Adsorbens liegt, sondern molekulardispers an deren Oberfläche haftet. Daß bei manchen Verbindungen die Fluoreszenzlöschung eine entscheidende Rolle spielt, zeigen folgende Beobachtungen.

Eine Reihe von farblosen Verbindungen (Tafel I) zeigt bei Beleuchtung mit UV-Licht der Wellenlänge 365 μ an Morin-Aluminiumoxyd sehr dunkle Zonen, obgleich in Lösung die Absorption dieser Verbindungen bei 365 μ sehr gering ist. Hier könnte eine Lichtfilterwirkung der adsorbierten Verbindungen nur dann für das Sichtbarwerden der Zonen in Frage kommen, wenn die Lichtabsorption im adsorbierten Zustand wesentlich langwelliger wäre als in Lösung, also eine „polarisierende Adsorption“ vorläge, wie sie zuerst von Weitz⁵⁾ beobachtet worden ist.

Tafel I. Sichtbarkeit von Chromatogrammmzonen.

Substanz	Al ₂ O ₃ - Leuchtfarbe	Al ₂ O ₃ + Morin
Benzaldehyd	—	+
Tolylaldehyd	—	++
p-Chlor-benzaldehyd	—	+++
Acetophenon	—	+++
Anisaldehyd	—	+++
p-Phenyl-phenacyl-ester v. Fettsäuren	+	+++
Eugenol	+	++
Carvenon	+	++
Guajacol	—	+

— unsichtbar; + schwach sichtbar; ++ gut sichtbar; +++ dunkle Zone.

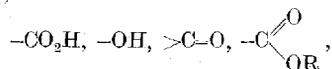
Um zu entscheiden, ob dieser Effekt eine Rolle spielt, haben wir die Verbindungen an mit Leuchtfarbe vermischtem Aluminiumoxyd gleicher Aktivität adsorbiert und gefunden, daß hier bei Beleuchtung mit der Wellenlänge 365 μ die Zonen unsichtbar bleiben. Damit ist bewiesen, daß ein Lichtfiltereffekt infolge polarisierender Adsorption ausscheidet⁶⁾ und die Zonen am Morin-Aluminiumoxyd infolge Fluoreszenzlöschung sichtbar

⁵⁾ E. Weitz u. F. Schmidt, B. 72, 1740, 2099 [1939]; E. Weitz, F. Schmidt u. J. Singer, Ztschr. Elektrochem. angew. physik. Chem. 46, 222 [1940].

⁶⁾ Womit natürlich nicht bewiesen ist, daß überhaupt keine polarisierende Adsorption vorliegt.

werden. Dabei kann es sich nicht um eine Löschung durch chemische Veränderung des Morins handeln, denn beim Auswaschen der Zonen zeigen die vorher dunklen Partien der Säule wieder helle Fluorescenz. Daß farblose Verbindungen am Morin-Aluminiumoxyd keineswegs immer durch Fluorescenzlöschung erkennbar werden, zeigen die weiter unten beschriebenen Versuche mit kurzwellig absorbierender Stilben-Derivaten, deren Zonen bei Beleuchtung mit Licht der Wellenlänge 365 m μ unsichtbar bleiben und erst bei Verwendung der Wellenlänge 253.7 m μ infolge Lichtfilterwirkung sichtbar werden. Das zur Herstellung fluoreszierender Kieselsäure verwendete Berberin ist gegen fluorescenzlöschende Einflüsse weniger empfindlich als Morin, wie Versuche mit den *p*-Phenylphenacylestern der Fettsäuren ergeben haben, die bei 365 m μ kaum absorbieren. Im Licht dieser Wellenlänge sind ihre Zonen an Morin-Aluminiumoxyd gut zu erkennen, an Berberin-Kieselsäure dagegen kaum sichtbar.

Bei der Untersuchung unserer fluoreszierenden Adsorbentzien auf ihre Brauchbarkeit zur Trennung farbloser Stoffe interessierte uns besonders der Zusammenhang zwischen Adsorption und Konstitution. Das in dieser Hinsicht bisher vorwiegend an farbigen Verbindungen gewonnene Beobachtungsmaterial⁷⁾ erlaubt folgende Aussagen: Die Festigkeit, mit der undissoziierte Verbindungen aus nichtwäßrigen Lösungsmitteln an polar gebauten hydrophilen Adsorbentzien gebunden werden, ihre Adsorptionsaffinität, hängt einerseits von der Konstitution des Grundgerüsts ab – dieses wird im allgemeinen um so fester adsorbiert, je mehr konjugierte Doppelbindungen vorhanden sind – und wird andererseits sehr wesentlich beeinflußt von der Art und Zahl der funktionellen Gruppen. Diese lassen sich mit abnehmender Adsorptionsaffinität zu folgender Reihe ordnen:



die zuerst bei den Carotinoiden aufgefunden und später auch für andere Verbindungen bestätigt worden ist. Systematische Untersuchungen über das adsorptive Verhalten funktioneller Gruppen, die insbesondere auch andere als die oben genannten umfassen, liegen bisher nicht vor. Sie sind deswegen von Interesse, weil sie eine Reihe von Fragen klären könnten, die sowohl theoretisch als auch für die Praxis der Chromatographie von Bedeutung sind, so die Frage, ob sich eine für alle Verbindungen gültige, die Adsorptionsaffinität wiedergebende Reihe der funktionellen Gruppen aufstellen läßt, wie weit eine solche zunächst in einem „Adsorptionsmilieu“ ermittelte Reihe auch bei anderen Adsorbentzien und Lösungsmitteln Gültigkeit hat, und ob sich die Adsorptionsaffinität einer Verbindung additiv aus den Adsorptionsaffinitäten der funktionellen Gruppen und des Grundgerüsts zusammensetzt. Für solche Untersuchungen, die wir in Angriff genommen haben, braucht man Verbindungen, die sich bei gleichem Grundgerüst nur durch die Art einer in gleicher Stellung befindlichen funktionellen Gruppe unterscheiden. Wir wählten für unsere Versuche paraständig zur Äthylenbrücke substituierte Stilben-Derivate, die sich in ihrer funktionellen Gruppe weitgehend variieren lassen. Stilben selbst wird nur schwach adsorbiert, so daß in den Derivaten die Adsorptionsaffinität der funktionellen Gruppe gut zum Ausdruck kommt. Wir haben eine

⁷⁾ Vergl. L. Zechmeister u. v. Cholnoky, Die chromatographische Adsorptionsanalyse, Julius Springer, Wien 1938, 2. Aufl.; G. Hesse, Adsorptionsmethoden im chemischen Laboratorium, Walter de Gruyter & Co., Berlin 1943, S. 66; H. Brockmann, Angew. Chem. 59, 203 [1947].

Reihe von Stilben-Derivaten zunächst chromatographisch miteinander verglichen, wobei an gleich großen Säulen von Morin-Aluminiumoxyd jeweils ein Gemisch von zwei Verbindungen aus Tetrachlorkohlenstoff adsorbiert wurde. Wegen der großen Unterschiede in der Adsorptionsaffinität der untersuchten Stilbene war es nicht möglich, alle Trennungen an Aluminiumoxyd der gleichen Aktivitätsstufe durchzuführen. Die Aktivität des Adsorbens wurde nach einem von uns früher beschriebenen Verfahren mit Hilfe von Testfarbstoffen eingestellt⁸⁾. Da die Verbindungen erst unterhalb von 365 m μ merklich absorbieren, und die Zonen infolgedessen unter der Analysenlampe unsichtbar waren⁹⁾, wurde zur Beleuchtung der in einem Quarzrohr befindlichen Säule Quecksilberlicht der Wellenlänge 253.7 m μ verwendet, das mittels eines Chlorfilters mit Fenstern aus UG 5-Glas (Schott & Gen.) aus dem Licht einer Quecksilberlampe herausfiltriert war¹⁰⁾. Als Lösungsmittel wurde wegen seiner kurzwelligigen Absorption Tetrachlorkohlenstoff verwendet. Das Ergebnis ist in der Tafel 2 wiedergegeben, in der die Stilbene so geordnet sind, daß ihre Adsorptionsaffinität von oben nach unten abnimmt. Verbindungen, die durch einen

Tafel 2. Adsorptionsaffinität funktioneller Gruppen.

Stilbenreihe		Azobenzolreihe	
1.	<u>R-CO₂H</u> <u>R-CONH₂</u>	1.	<u>R-CO₂H</u>
2.	<u>R-OH</u>	2.	<u>R-OH</u>
3.	<u>R-NH₂</u> <u>R-NH-Ac</u> <u>R-O-Ac</u>	3.	<u>R-NH₂</u> <u>R-NH-Ac</u> <u>R-O-Ac</u> <u>R-O-Bzl</u>
4.	<u>R-CO₂·CH₃</u>	4.	<u>R-CO₂·CH₃</u>
5.	<u>R-N(CH₃)₂</u> R-O-Bzl	5.	<u>R-N(CH₃)₂</u>
6.	<u>R-NO₂</u>	6.	<u>R-NO₂</u>
7.	<u>R-OCH₃</u>	7.	<u>R-OCH₃</u>
8.	R-H	8.	R-H
9.	R-Cl		

R = C₆H₅·CH:CH·C₆H₄- R = C₆H₅·N:N-C₆H₄-

Ac = Acetyl; Bzl = Benzoyl.

waagerechten Strich getrennt sind, lassen sich unter den im Versuchsteil angegebenen Bedingungen trennen, solche bei denen der Strich fehlt, sind nicht vollständig trennbar. Zum Vergleich ist in der zweiten Spalte die Adsorptions-

⁸⁾ H. Brockmann u. H. Schodder, B. 74, 73 [1941].

⁹⁾ Eine Ausnahme machte *p*-Nitro-stilben, das eine blaßgelbe, schon im Tageslicht erkennbare Zone bildete, sowie Stilbencarbonsäure und ihr Methylester, deren Zonen unter der Analysenlampe durch ihre blaue Fluorescenz sichtbar waren.

¹⁰⁾ H. Brockmann u. F. Volpers, B. 80, 80 [1947].

Rangordnung der analog gebauten Azobenzol-Derivate angegeben¹¹⁾. Sie gilt für die Adsorption aus Benzol an Aluminiumoxyd. Ein Vergleich beider Reihen in Tetrachlorkohlenstoff verbot sich wegen ungünstiger Löslichkeitsverhältnisse bei den Azobenzol-Derivaten. Beide Reihen stimmen weitgehend überein. Unterschiede finden sich nur bei den in der Tafel 2 nicht nummerierten nach rechts herausgerückten drei Acyl-Derivaten, die in der Azobenzolreihe etwas höher liegen als in der Stilbenreihe, ohne daß ihre Reihenfolge untereinander verändert ist. Vielleicht ist diese Abweichung darauf zurückzuführen, daß nicht das gleiche Lösungsmittel verwendet wurde.

Weitere Beziehungen zwischen Konstitution und Adsorption zeigt die Tafel 3 am Beispiel ungesättigter Ketone, die aus Benzol an Morin-Aluminiumoxyd adsorbiert unter der Analysenlampe gut erkennbare Zonen gaben.

Tafel 3. Trennung ungesättigter Ketone.

	Al ₂ O ₃	SiO ₂
CH ₃ O·C ₆ H ₄ ·CH:CH·CO·CH:CH·C ₆ H ₄ ·OCH ₃	↑	↑
H ₅ C ₆ ·CH:CH·CH:CH·CO·CH:CH·CH:CH·C ₆ H ₅	↓	↓
H ₅ C ₆ ·CH:CH·CO·CH:CH·C ₆ H ₅	↓	↓
CH ₃ O·C ₆ H ₄ ·CH:CH·CO·R	↑	↑
H ₅ C ₆ ·CH:CH·CH:CH·CO·R	↓	↓
H ₅ C ₆ ·CH:CH·CO·R	↓	↓
H ₅ C ₆ ·CO·R	↓	↓

R = CH₃ oder C₆H₅

←—————→ trennbar

←—————→ nicht vollständig trennbar

Die Verbindungen sind wiederum so angeordnet, daß die Adsorptionsaffinität von oben nach unten abnimmt. In Übereinstimmung mit den Verbindungen 7 und 8 der oben angegebenen Adsorptionsreihe der funktionellen Gruppen ließ sich Anisalacetophenon von Benzalacetophenon, Anisalaceton von Benzalaceton und Dianisalaceton von Dibenzalacetone trennen. Aus der Tafel ergibt sich weiter, daß Doppelbindungen in Konjugation zur CO-Gruppe die Adsorptionsaffinität erhöhen. Benzalacetophenon wird an Aluminiumoxyd stärker adsorbiert als Acetophenon, doch tritt unter den angewandten Bedingungen keine völlige Trennung ein. Das gleiche gilt für die Paare Benzalacetophenon und Cinnamalacetophenon sowie Benzalaceton und Dibenzalacetone. Adsorbiert man dagegen aus Chloroform-Tetrachlorkohlenstoff (1:1) an Berberin-Kieselsäure, so zeigt sich, daß in diesem Adsorptionsmilieu der Mehrgehalt einer Doppelbindung für eine glatte Trennung ausreichend ist. Cinnamalacetone und Dicinnamalacetone, die um zwei Doppelbindungen differieren, lassen sich auch an Aluminiumoxyd gut trennen. Die Reihenfolge R-OCH₃, R-H der beiden obigen Adsorptionsreihen bestätigt sich weiterhin in der Trennung von Benzaldehyd und *p*-Methoxybenzaldehyd sowie Acetanilid und Phenacetin (die Äthoxygruppe hat die gleiche Adsorptionsaffinität wie die Methoxygruppe, tritt also auch beim Vorhandensein anderer ziemlich stark adsorptionsaktiver Gruppen (-CHO und -NH·COCH₃) in Erscheinung.

Mit Vorteil lassen sich die fluoreszierenden Adsorbentien zur Trennung von Oxybenzolen verwenden, was bei manchen Konstitutionsermittlungen zur

¹¹⁾ Die Versuche mit den Azobenzol-Derivaten wurden von Hrn. Dr. G. Reuter durchgeführt.

Identifizierung von Abbauprodukten wichtig ist. In Form ihrer Benzoate werden Phloroglucin, Resorein (bzw. Brenzcatechin oder Hydrochinon) und Phenol an Morin-Aluminiumoxyd III aus Tetrachlorkohlenstoff glatt getrennt, wobei sich die Zonen mit Hilfe des oben erwähnten Chlorfilters gut erkennen lassen. Dagegen war eine Trennung von Brenzcatechin, Hydrochinon und Resorein nicht möglich.

Von besonderem Interesse hinsichtlich der Leistungsfähigkeit der chromatographischen Adsorption ist die Frage, in welchem Umfang sich Verbindungen trennen lassen, die bei sonst gleichem Bau nur eine verschiedene Länge einer aliphatischen Seitenkette aufweisen. Das hier anzustrebende Ziel ist die Trennung von Homologen, die sich durch nur eine CH_2 -Gruppe unterscheiden. Für aliphatische Aminosäuren mit kürzerer Kette ist dies erreicht worden durch die von Karrer¹²⁾ beschriebene Trennung von Glykokoll-Alanin und Valin-Leucin in Form ihrer mit Azobenzol-carbonsäure-(4) acylierten Ester. In den homologen Reihen der Fettsäuren, Aldehyde und Ketone geben die bisher vorliegenden Befunde noch kein klares Bild. Von Kirchner u. Mitarbb.¹³⁾ ist angegeben worden, daß sich die *p*-Phenacyl-ester der Fettsäuren bis herauf zur Decansäure an Kieselsäure trennen lassen und dabei im UV-Licht fluoreszierende Zonen bilden. Bei einer Nacharbeitung dieser Angaben beobachteten wir keine Fluoreszenz der Zonen und konnten mit der von uns verwendeten Kieselsäure auch keine so weitgehende Trennung erreichen. An Morin-Aluminiumoxyd ließen sich die Ester der Essigsäure und Capronsäure glatt trennen, nicht dagegen die der Essigsäure und Buttersäure. Dieses Ergebnis hat uns veranlaßt, die Trennung von Verbindungen, die sich so ähnlich sind wie die aufeinanderfolgenden Glieder einer homologen Reihe, näher zu untersuchen. Unsere bisherigen Befunde haben gezeigt, daß für eine solche Trennung offenbar nicht allein ein optimales Adsorptionsmilieu erforderlich ist, das nur mit bestimmten Adsorptionsmitteln und auch bei diesen nur mit einer bestimmten Adsorptionsaktivität zu erreichen ist, sondern daß auch ein genügend langer Wanderungsweg der Zonen vorhanden sein muß, wie er nur mit sehr langen Adsorptionssäulen möglich wird.

Beschreibung der Versuche.

Trennung von *p*-substituierten Stilbenen.

Als Adsorbens wurde Morin-Aluminiumoxyd in verschiedenen Aktivitätsstufen verwendet, das nach der früher angegebenen Vorschrift¹⁰⁾ hergestellt und dessen Aktivität mit Hilfe von Testfarbstoffen⁸⁾ bestimmt worden war. Lösungsmittel war, wenn nichts anderes angegeben, Tetrachlorkohlenstoff. Als Lichtquelle diente eine Quarz-Quecksilber-Lampe, deren Licht eine chlorgefüllte Küvette von 25 cm Länge und 8 cm Durchmesser mit Fenstern aus Schottischem Filterglas UG 5 passierte, oder die bekannte Analysen-Quecksilber-Lampe von Heraeus, deren Filter praktisch nur die Hg-Linien 365,0 und 366,3 μ durchließ. Die zu trennenden Verbindungen, die vorher chromatographisch gereinigt waren, wurden in Mengen von etwa je 50 mg gemischt, in 10–20 ccm Lösungsmittel aufgenommen und an einer in einem Quarzrohr befindlichen Säule von 8 cm Länge und 1,5 cm Durchmesser adsorbiert. Die angegebenen Schmelzpunkte beziehen sich auf den Rückstand, der beim Verdampfen der Eluate der einzelnen Zonen erhalten wurde; die Schmelzpunkte der reinen im Gemisch enthaltenen Verbindungen sind in Klammern dahinter gesetzt. Von den im Folgenden angeführten Substanzpaaren zeigt jeweils die zuerst genannte Verbindung die größere Adsorptionsaffinität.

Stilben-carbonsäure–Stilben-carbonsäureamid: Beide Verbindungen wurden an Aluminiumoxyd III aus Tetrachlorkohlenstoff unter Bildung einer hell fluoreszierenden Zone sehr fest adsorbiert. Durch Nachwaschen mit Aceton ließ sich das Amid in das Filtrat bringen, während die Zone der Säure kaum merklich wanderte.

Stilben-carbonsäureamid–Oxystilben: Nach der Adsorption an Morin-Aluminiumoxyd III aus Chloroform trennte sich beim Nachwaschen mit Chloroform die Zone des Oxystilbens von der hell fluoreszierenden des Amids.

Oxystilben–Aminostilben: Aus Chloroform an Morin-Aluminiumoxyd III adsorbiert; beim Nachwaschen mit Chloroform war bei Belichtung mit der Analysenlampe

¹²⁾ P. Karrer, R. Keller u. G. Szonyi, *Helv. chim. Acta* **26**, 38 [1943].

¹³⁾ J. G. Kirchner, A. N. Prater u. A. J. Haagen-Smit, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Edit.* **16**, 31 [1944].

eine ziemlich rasch wandernde dunkle Zone, mit Chlorfilter eine darüber liegende zweite Zone sichtbar. Als die untere Zone vollständig in das Filtrat übergeführt war, befand sich die obere in der Mitte der Säule. Der Verdampfungsrückstand des Filtrats bestand aus kristallisiertem Aminostilben vom Schmp. 149° (150°), das Eluat der oberen Zone lieferte kristallisiertes Oxystilben vom Schmp. 182° (182°).

Aminostilben-Acetaminostilben: Aus Chloroform an Morin-Aluminiumoxyd III adsorbiert; beim Nachwaschen mit Chloroform war deutlich das Vorauslaufen eines nur mit Chlorfilter sichtbaren Teils zu bemerken. Als die unter der Analysenlampe deutlich sichtbare Zone des Acetaminostilbens den unteren Rand der Säule erreicht hatte, befand sich ein Teil der Acetaminoverbindung bereits im Filtrat. Eine vollständige Trennung war mit der verwendeten kurzen Säule nicht zu erreichen.

Acetaminostilben - Acetoxystilben: Aus Tetrachlorkohlenstoff-Chloroform (1:1) an Morin-Aluminiumoxyd III adsorbiert; nach längerem Nachwaschen bildeten sich im mittleren Teil der Säule zwei Zonen. Aus der oberen wurde Acetaminostilben vom Schmp. 220° (224°), aus der unteren Acetaminostilben vom Schmp. 150° (150°) in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten. Die Trennung läßt sich in gleicher Weise auch aus Tetrachlorkohlenstoff allein durchführen.

Aminostilben - Acetoxystilben: Adsorption an Morin-Aluminiumoxyd III aus Tetrachlorkohlenstoff; beim Nachwaschen mit dem Lösungsmittel trat eine Aufspaltung in zwei Zonen ein, von denen die obere unter der Analysenlampe, die untere nur mit dem Chlorfilter sichtbar war. Schon daraus ging hervor, daß die Aminoverbindung fester adsorbiert wurde. Schmelzpunkt und Misch-Schmelzpunkt der eluierten Verbindungen bestätigten dieses.

Acetoxystilben - Stilben-carbonsäuremethylester: Aus Tetrachlorkohlenstoff an Morin-Aluminiumoxyd III adsorbiert bildete sich zunächst eine dunkle, nur mit Chlorfilter sichtbare Zone, vor der sich beim Nachwaschen eine blau fluoreszierende Zone entwickelte. Nach dem Entwickeln mit 60 cem Lösungsmittel befand sich die blau fluoreszierende Zone im Filtrat, die andere Zone lag im unteren Teil der Säule und wurde mit Äther eluiert. Aus dem ersten Eluat wurden blau fluoreszierende Krystalle des Stilben-carbonsäuremethylesters vom Schmp. 155-156° (158°) erhalten; der Rückstand des Äther-eluats bestand aus Acetoxystilben vom Schmp. 150° (150°).

Stilben-carbonsäuremethylester - Benzoyloxystilben: Aus 10 cem Tetrachlorkohlenstoff an Morin-Aluminiumoxyd adsorbiert; die Zone hatte nach dem Entwickeln mit 50 cem Lösungsmittel ohne Aufteilung die untere Säulengrenze erreicht. Die ersten 10 cem des bei weiterem Nachwaschen erhaltenen Filtrats ergaben einen Rückstand vom Schmp. 188° (Schmp. der feinen Benzoyloxyverbindung 194°). Die Trennung ist also in der kurzen Säule nicht vollständig; sie gelingt aber in einer längeren Säule, wie der folgende Versuch zeigt: Je 120 mg der beiden Verbindungen wurden an einer Säule von nunmehr 20 cm Länge und 1.8 cm Durchmesser adsorbiert. Es wurde so lange entwickelt, bis der blau fluoreszierende Bereich den unteren Säulenrand erreicht hatte; eine Trennung der Zonen trat nicht ein. Aus dem Filtrat konnten 95 mg Benzoyloxyverbindung vom Schmp. 192° isoliert werden. Der in der Säule verbliebene Ester war durch Benzoyloxyverbindung verunreinigt.

Acetoxystilben - Benzoyloxystilben: Aus Tetrachlorkohlenstoff an Morin-Aluminiumoxyd bildete sich eine dunkle, nur mit Chlorfilter sichtbare Zone, die sich schnell aufspaltete. Nach dem Entwickeln mit 50 cem Lösungsmittel saß das Acetoxystilben in der Mitte der Säule, das Benzoyloxystilben befand sich zum größten Teil im Filtrat. Der Rückstand des Filtrats schmolz bei 194° (Schmp. von Benzoyloxystilben 194°). Das aus dem Eluat der oberen Zone erhaltene Acetoxystilben hatte den Schmp. 150° (150°).

Stilben-carbonsäuremethylester - Dimethylaminostilben: Aus Tetrachlorkohlenstoff an Morin-Aluminiumoxyd bildete sich zunächst eine einheitliche, unter der Analysenlampe schwarze Zone; beim Nachwaschen wanderte der schwarze Teil rasch nach unten, ein blau fluoreszierender Bereich blieb zurück. Die beiden Zonen lagen ohne Zwischenraum untereinander. Aus den ersten 10 cem des Filtrats konnte Dimethylaminostilben vom Schmp. 145° (147°) isoliert werden. Die Trennung in der kurzen Säule war nicht vollständig.

Dimethylaminostilben - Nitrostilben: Aus Tetrachlorkohlenstoff an Morin-Aluminiumoxyd I adsorbiert; beim längeren Nachwaschen blieb eine unter der Analysenlampe dunkle Zone zurück, eine im Tageslicht gelbe Zone trennte sich davon ab. Als die gelbe Zone vollständig in das Filtrat übergeführt war, befand sich die obere in der Mitte

der Säule. Das Filtrat hinterließ beim Verdampfen gelbe Krystalle von Nitrostilben; Schmp. 154° (155°). Das Eluat der oberen Zone lieferte beim Vordampfen Dimethylaminostilben, farblose Blättchen vom Schmp. 145° (147°).

Benzoyloxystilben – Nitrostilben: Aus Tetrachlorkohlenstoff an Morin-Aluminiumoxyd I bildete sich eine im Tageslicht gelbe Zone. Nachdem mit 100 ccm Lösungsmittel nachgewaschen war, befand sich die gelbe Zone der Nitroverbindung in der Mitte der Säule, darüber deutlich abgetrennt, jedoch nur mit Hilfe des Chlorfilters erkennbar, die Zone des Benzoyloxystilbens. Der Rückstand aus dem Eluat der oberen Zone bestand aus weißen Kryställchen vom Schmp. 192° (194°), der Rückstand aus dem Eluat der unteren Zone aus gelben Krystallen vom Schmp. 154° (155°).

Nitrostilben – Methoxystilben: Aus Tetrachlorkohlenstoff an Morin-Aluminiumoxyd I adsorbiert. Nach dem Entwickeln mit 300 ccm Lösungsmittel lag die nur mit Hilfe des Chlorfilters sichtbare Zone des Methoxystilbens in der Mitte der Säule, die im Tageslicht gelbe Nitrostilben-Zone dicht darüber. Aus der oberen Zone wurden gelbe Kryställchen vom Schmp. 150° (155°), aus der unteren farblose Krystalle vom Schmp. 133° (134°) erhalten.

Methoxystilben – Stilben: Aus Tetrachlorkohlenstoff an Morin-Aluminiumoxyd I adsorbiert. Mit dem Chlorfilter waren beide Verbindungen als breite Zone zu erkennen, mit der Analysenlampe nur die schmalere Zone des Methoxystilbens. Nach dem Entwickeln mit 25 ccm Lösungsmittel begann die Trennung der Zonen; es wurde so lange nachgewaschen, bis die untere Zone ganz in das Filtrat übergeführt war. Aus dem Filtrat wurde Stilben vom Schmp. 122° (122°), aus der oberen Zone Methoxystilben vom Schmp. 132° (134°) erhalten.

Stilben – Chlorstilben: Es wurde aus 10 ccm Tetrachlorkohlenstoff an Aluminiumoxyd I (Säulenlänge 20 cm, Durchmesser 1.8 cm) adsorbiert, wobei sich eine einheitliche, nur mit dem Chlorfilter sichtbare Zone ausbildete, die nach dem Waschen mit 100 ccm Lösungsmittel ohne Auftrennung den unteren Rand der Säule erreichte. Es wurde weiter nachgewaschen und das Filtrat in Fraktionen zu 25 ccm aufgefangen. Die Rückstände der Fraktionen zeigten folgende Schmelzpunkte: I: 128° (Misch-Schmp. mit Chlorstilben 128°); II: 128°; III: 126°; IV: 117°; V: 117°; VI: 118°; VII: 120°; VIII: 122° (Misch-Schmp. mit Stilben 122°). Die erste und die letzte Fraktion enthalten also die reinen Komponenten; Stilben wird etwas fester adsorbiert als die *p*-Chlor-Verbindung.

Trennung ungesättigter Ketone.

Die zu trennenden Verbindungen wurden in Mengen von jeweils 50 mg miteinander vermischt und aus 10–20 ccm Lösungsmittel an Säulen von 8 cm Länge und 1.8 cm Durchmesser adsorbiert. Das verwendete Kieselgel hatte eine Korngröße von 0.09 mm und war nach dem früher angegebenen Vorfahren mit Berberin angefärbt. Es hatte nach dem Erhitzen auf 150° eine Aktivität, die gemessen mit unseren Testfarbstoffen der Stufe II des Aluminiumoxyds entsprach. Als Lichtquelle diente die Analysenlampe.

Benzalacetophenon – Acetophenon: Aus Benzol an Morin-Aluminiumoxyd III adsorbiert; auch bei längerem Nachwaschen trat keine völlige Trennung ein, jedoch schob sich allmählich beim Wandern der Zonen ein unter der Analysenlampe dunkler Bereich vor die bei Tageslicht blaßgelbe Zone des Benzalacetophenons, ein Zeichen für die geringere Adsorption des Acetophenons.

Cinnamalacetophenon – Benzalacetophenon: Die Adsorption aus Benzol an Morin-Aluminiumoxyd III gab keine Aufspaltung in zwei Zonen; jedoch ließ sich aus den ersten Anteilen des nach längerem Nachwaschen erhaltenen Filtrats reines Benzalacetophenon vom Schmp. 55° gewinnen. Eine Trennung der beiden Verbindungen gelang, als aus Chloroform-Tetrachlorkohlenstoff (1 : 1) an Berberin-Kieselgel adsorbiert und längere Zeit nachgewaschen wurde.

Cinnamalacetophenon – Acetophenon: Aus Benzol an Morin-Aluminiumoxyd II adsorbiert; nach längerem Nachwaschen bildeten sich zwei durch einen hell fluoreszierenden Zwischenraum getrennte Zonen. Aus der unteren Zone ließ sich reines Acetophenon gewinnen, aus der oberen, im Tageslicht blaßgelblichen Zone wurde Cinnamalacetophenon vom Schmp. 100° (102°) erhalten.

Anisalacetophenon – Benzalacetophenon: Bei der Adsorption an Morin-Aluminiumoxyd II aus Benzol trat rasch eine Trennung in zwei deutlich voneinander abgesetzte Zonen ein, die beide aus der Säule herausgehoben und eluiert wurden; aus der

oberen Zone ließen sich gelbe Nadelchen vom Schmp. 77° (77–78°, Anisalacetophenon), aus der unteren vom Schmp. 55° (57–58°, Benzalacetophenon) isolieren.

Cinnamalacetone – Benzalacetone: Bei dem Adsorptions-Versuch aus Benzol an Morin-Aluminiumoxyd II trat keine Auftrennung in Zonen, jedoch Fraktionierung ein. In das Filtrat ging zuerst reines Benzalacetone vom Schmp. 40°. Eine Aufspaltung in zwei Zonen, aus denen die Komponenten rein erhalten wurden, gelang durch Adsorption aus Chloroform-Tetrachlorkohlenstoff an Berberin-Kieselgel nach längerem Nachwaschen mit dem Lösungsmittel.

Anisalacetone – Benzalacetone: Aus Benzol an Morin-Aluminiumoxyd II adsorbiert; nach dem Entwickeln mit 50 cm Benzol trat eine Aufspaltung in zwei Zonen ein. Die obere enthielt Anisalacetone vom Schmp. 73° (73°), die untere Benzalacetone vom Schmp. 40° (41–42°).

Dicinnamalacetone – Dibenzalacetone: Aus Benzol an Morin-Aluminiumoxyd II bildeten sich beim Nachwaschen zwei Zonen, von denen die obere im Tageslicht blaßgelb war. Aus der oberen Zone wurde Dicinnamalacetone in goldgelben Kryställchen vom Schmp. 144° (144°), aus der unteren Dibenzalacetone vom Schmp. 111° (112°) erhalten.

Dianisalacetone – Dibenzalacetone: Die Trennung erfolgte sehr leicht an Morin-Aluminiumoxyd III aus Benzol. Dianisalacetone bildete eine im Tageslicht gelbe Zone, die des Dibenzalacetons war nur unter der Analysenlampe zu erkennen; beide Verbindungen wurden nach dem Verdampfen der Eluate in reinem Zustand erhalten.

Dibenzalacetone – Benzalacetone: Aus Benzol war an Morin-Aluminiumoxyd II in der kurzen Säule keine Aufspaltung in getrennte Zonen möglich; dagegen gelang die völlige Trennung, als aus Tetrachlorkohlenstoff an Berberin-Kieselgel adsorbiert wurde.

Trennung von Benzoesäuren der Oxybenzole.

Die Adsorption wurde in allen Fällen aus Tetrachlorkohlenstoff an Morin-Aluminiumoxyd III durchgeführt. Folgende Verbindungen bildeten beim Nachwaschen zwei Zonen, aus denen die Komponenten rein erhalten wurden: Hydrochinondibenzoesäure – Phenolbenzoesäure, Phloroglucintribenzoesäure – Resoreindibenzoesäure, Phloroglucintribenzoesäure – Hydrochinondibenzoesäure, Phloroglucintribenzoesäure – Brenzcatechindibenzoesäure.

Phenacetin – Acetanilid: Ein Gemisch gleicher Mengen der beiden Verbindungen wurde aus Chloroform-Benzin (1 : 1) an Morin-Aluminiumoxyd adsorbiert; nach dem Entwickeln mit dem Lösungsmittel bildeten sich zwei gut voneinander getrennte, nur mit dem Chlorfilter sichtbare Zonen, aus denen die beiden Komponenten rein erhalten wurden.

Ergosterin – Ergosterinbenzoesäure: Ein Gemisch aus gleichen Teilen Ergosterin (Schmp. 148–150°) und Ergosterinbenzoesäure (Schmp. 157°) wurde aus Tetrachlorkohlenstoff an Morin-Aluminiumoxyd V adsorbiert. Beim Nachwaschen mit dem Lösungsmittel trennte sich die nur mit dem Chlorfilter erkennbare Zone schnell in zwei Teile; Ergosterin blieb im oberen Teil der Säule als schmale Zone zurück, das Benzoyl-Derivat ging leicht in das Filtrat über. Aus dem Eluat der oberen Zone wurde Ergosterin vom Schmp. 148–150°, aus dem Filtrat Ergosterinbenzoesäure vom Schmp. 155° erhalten.

17. Hans Henecka: Zur Kenntnis der β -Dicarbonyl-Verbindungen, VII. Mitteil. *): Synthese von Derivaten des Piperidins, ausgehend von Michael-Addukten von β -Dicarbonyl-Verbindungen.

[Aus dem wissenschaftlichen Forschungslaboratorium der Farbenfabriken Bayer, Wuppertal-Elberfeld.]

(Eingegangen am 11. April 1947.)

Es wird eine neue Synthese von Derivaten des Piperidins beschrieben, die darin besteht, daß man Derivate des 1-Cyan-pentanons-(4), bzw. des 4-Amino-1-cyan-pentans oder diesem entsprechender Dinitrile katalytisch hydriert.

Wählt man die Komponenten der Michael-Addition derart, daß Derivate des 1-Cyan-pentanons-(4) entstehen, so gelingt es, durch katalytische Hydrie-

*) VI. Mitteil.: B. 82, 41 [1949].