

dem Wasserbad erwärmt; man fügte dann zur grün gewordenen Lösung noch 0,23 g Chromtrioxyd hinzu und erwärmte noch 1 Stunde, bis die Chromsäure erneut verbraucht war.

Dann verdampfte man den grössten Teil des Eisessigs im Vakuum, fügte zu der Lösung 25 cm³ 50-proz. Kalilauge hinzu und erhitzte auf dem Wasserbad während einer Stunde. Die alkalische Lösung wurde mit 50 cm³ Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Es wurden jedoch dabei keine neutralen Produkte erhalten. Die alkoholische Lösung wurde mit 50 cm³ konz. Salzsäure kongosauer gemacht und mit 100 cm³ Äther ausgeschüttelt. Man erhielt so 1,2 g Rohprodukt, das, dreimal aus Eisessig umkrystallisiert, 0,9 g der Dicarbonsäure C₂₇H₄₆O₄ vom Smp. 195—196° ergab.

3,858 mg Subst. gaben 10,54 mg CO₂ und 3,74 mg H₂O

| | | |
|--|--------------|----------|
| C ₂₇ H ₄₆ O ₄ | Ber. C 74,61 | H 10,67% |
| Gef. „ | 74,50 | „ 10,85% |

Dimethylester. 200 mg der Dicarbonsäure wurden in 5 cm³ Äther gelöst, mit einem Überschuss von Diazomethan versetzt und der erhaltene Ester aus Äther-Petroläther umkrystallisiert. Erhalten wurden 170 mg Dimethylester C₂₉H₅₀O₄ vom Smp. 60°.

Zum Vergleich wurde Cholestanol nach den Angaben von *Windaus* und *Ubrig*¹⁾ oxydiert. Die erhaltene Säure vom Smp. 196° und deren Dimethylester vom Smp. 61°²⁾ gaben mit den obigen Derivaten keine Erniedrigung des Schmelzpunktes.

Die Mikroanalysen wurden in unserer mikrochem. Abteilung (Leitung Privatdoz. Dr. M. Furter) ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Techn. Hochschule.

103. Qualitative Mikromethode zur Identifizierung von Alkylgruppen, die an Sauerstoff oder Stickstoff gebunden sind.

Beiträge zur Mikro-*Zeisel*-Methodik I

von M. Furter.

(3. VI. 38.)

Durch die von *Zeisel* vor etwa 50 Jahren gefundene Reaktion, Alkylgruppen, die an Sauerstoff oder Stickstoff gebunden sind, durch Jodwasserstoffsäure abzuspalten und das gebildete Alkyljodid in der Form der Silberjodidverbindung zu fassen, sind wir in der Lage, solche Gruppen quantitativ zu bestimmen. Zu diesem Zwecke muss uns aber die Art der Alkylgruppe bekannt sein,

¹⁾ B. 47, 2387 (1914).

²⁾ Zum Schmelzpunkt des Dimethylesters vgl. *Windaus* und *Kuhr*, A. 532, 66 (1937).

das heisst, wir müssen zum vorneherein wissen, ob Methyl-, Äthyl- oder höhere Homologe zur Abspaltung gelangen. Ist dies nicht der Fall, so gibt uns die *Zeisel*-Bestimmung wenig verwertbare Anhaltspunkte, da nur das Jod der Alkyljodidverbindung analytisch bestimmt, der Kohlenwasserstoffrest aber nicht erfasst wird.

Nicht nur zur quantitativen Bestimmung von Alkylgruppen ist es wichtig, diese zu kennen, sondern auch bei der Untersuchung von Naturprodukten, oder bei der Analyse von künstlichen Gemischen, wie Riechstoffgemischen, ist es von Interesse, über die Natur der durch Jodwasserstoffsäure abgespaltenen Alkylgruppen orientiert zu sein. Es sind verschiedene dieses Ziel anstrebende Makro- und Mikro-Verfahren bekannt.

Willstätter und *Stoll*¹⁾, *Willstätter* und *Uttinger*²⁾ schlagen vor, die durch normale *Zeisel*-Spaltung erhaltenen Alkyljodide, es handelt sich dabei ausschliesslich um Methyl- und Äthylgruppen, mit Dimethylanilin oder Trimethylamin umzusetzen. Die sich bildenden Trimethyl-phenyl- bzw. Dimethyläthyl-phenyl-ammoniumjodide oder Tetramethyl- bzw. Trimethyläthyl-ammoniumjodide unterscheiden sich in ihren physikalischen Eigenschaften und können auf diese Weise mit Hilfe der verschiedenen Löslichkeit getrennt und durch die Schmelzpunkte identifiziert werden.

*Beckmann*³⁾ bringt die alkoxyhaltigen Substanzen mit Phenylisocyanat bei 150° in Reaktion. Die entstehenden Alkyl-phenyl-urethane dienen zur Unterscheidung. Diese Methode dürfte jedoch nur in Fällen mit sehr leicht abspaltbaren Alkoxygruppen erfolgreich sein.

W. Küster und *M. Maag*⁴⁾ haben die Methode von *Willstätter* und Mitarbeitern für Mikromengen umgearbeitet. Sie teilen mit, dass es ihnen gelungen sei, bei Gemischen der Methyl- und der Äthylverbindungen eine fast quantitative Trennung der Komponenten zu erreichen.

*A. Friedrich*⁵⁾ schlägt vor, vorerst eine normale quantitative Mikro-*Zeisel*-Bestimmung durchzuführen und aus dem gefundenen Jod das Sauerstoffäquivalent zu berechnen. Anschliessend hat eine zweite quantitative *Zeisel*-Spaltung zu folgen, wobei das gebildete Alkyljodid mit Hilfe einer Mikro-Kohlenwasserstoffbestimmungs-Apparatur verbrannt wird. Die gefundenen Kohlenstoff- und Wasserstoffwerte in Verbindung mit dem Sauerstoffäquivalent ergeben dann Grösse und Anzahl der vorhandenen Alkylgruppen. Die Anwendungsmöglichkeit dieser an sich sicheren Methode ist beschränkt durch ihre Kompliziertheit und die zu grosse Zeitbeanspruchung, abgesehen davon, dass Gemische von mehreren, zugleich abgespaltenen homologen Alkylgruppen durch diese Ausführungsform überhaupt nicht analysiert werden können.

Wir hatten mehrmals Gelegenheit, die Methode von *Willstätter* bzw. von *Küster* und *Maag* mit Trimethylamin zu erproben, leider fast durchwegs mit negativem Erfolge. Die Umsetzungsprodukte sind in den in Betracht kommenden kleinen Mengen äusserst schwer krystallisiert zu erhalten, besonders wenn Gemische vorliegen. In den meisten Fällen erhält man ölige Schmierer, deren Trennung, Reinigung und Identifizierung kaum gelingt. Es ist nicht anzunehmen, dass diese Methode allgemein anwendbar ist.

¹⁾ A. 378, 23 (1911).

¹⁾ Z. physiol. Ch. 127, 190 (1923).

²⁾ A. 382, 148 (1911).

²⁾ Mikrochemie 7, 185 (1929).

³⁾ A. 292, 9 (1896).

Wir haben versucht, auf anderem Wege eine in allen Fällen zum Ziele führende, qualitative Mikro-Halbmikromethode auszuarbeiten, die gestattet, einwandfrei die Natur jeglicher durch *Zeisel*-Spaltung erhaltener Alkylgruppen zu bestimmen. Und zwar benützen wir zum Erfassen und zur Identifizierung der Alkyle die Umsetzung der durch Spaltung mittels Jodwasserstoff nach *Zeisel* erhaltenen Alkyljodide mit dem Silbersalz einer organischen Säure, in unserm Falle der 3,5-Dinitro-benzoesäure¹⁾. Die neben dem leicht abtrennbaren Silberjodid entstehenden Ester sind wohldefinierte, feste Substanzen, deren Schmelzpunkte im Bereiche zwischen 30° und 150° liegen. Als Dinitroderivate bilden sie mit α -Naphthylamin zudem äusserst leicht ebenso gut krystallisierende rote Molekelverbindungen, deren Eigenschaften, besonders aber die scharfen Schmelzpunkte zur Erhärtung des Identifizierungsergebnisses herangezogen werden können. Die Misch-Schmelzpunkte zweier ähnlich schmelzender, aber nicht identischer Produkte geben durchwegs Depressionen bis zu 20°. Die Löslichkeit ist genügend verschieden, um Trennungen von Gemischen durchführen zu können. Die physikalischen Eigenschaften dieser Gruppe von Substanzen sind demnach in bezug auf unsere Forderung, es solle mit möglichst wenig Zeitaufwand und mit einfachen Hilfsmitteln eine sichere Unterscheidung der einzelnen Ester durchgeführt werden können, als sehr günstig zu bezeichnen.

Die Ausführung der Bestimmung.

Ein normaler Apparat zur Mikro-Methoxylbestimmung nach *Pregl* wird so abgeändert (Fig. 1), dass nach der Waschvorrichtung mittels eines Schliffes ein Calciumchlorid-Röhrchen in den Gasstrom zur Absorption von Wasserdampf eingeschaltet wird²⁾. Das Wasser würde die nachfolgende Reaktion zwischen dem Silbersalz der Säure und dem Alkyljodid insofern stören, als dadurch wesentliche Mengen des Silbersalzes zersetzt würden. Zur Füllung des Röhrchens verwendet man wenige Körner des feinkörnigen „Calciumchlorids zur Mikroanalyse nach *Pregl*“.

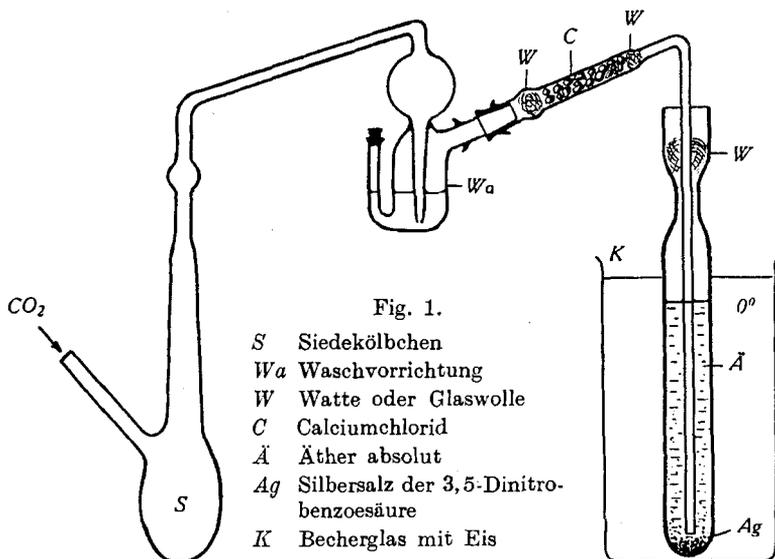
Das Siedekölbchen wird mit der zu untersuchenden Substanz, etwa 10—30 mg, je nach Molekelgrösse und Alkylgruppengehalt, 2 cm³ Jodwasserstoffsäure ($d = 1,7$) und 1—2 Platintetraedern³⁾ zur

¹⁾ Die 3,5-Dinitro-benzoesäure wurde besonders deshalb für den erwähnten Zweck gewählt, weil die meisten Ester, bzw. α -Naphthylaminverbindungen derselben in der Literatur schon beschrieben sind. *T. Reichstein* hat diese Säure s. Z. zur Identifizierung der Alkohole herangezogen. In seiner diesbezüglichen Veröffentlichung (*Helv.* **9**, 799 (1926)) finden sich wertvolle Hinweise über die Reinigung der Ester, Herstellung der α -Naphthylaminverbindungen und Schmelzpunktstabellen.

²⁾ Die Apparate werden in zweckmässiger Ausführung von der Fa. *K. Kirchner*, Glasbläserei, Freiestrasse, Bern, geliefert.

³⁾ *F. Pregl* hat solche Platintetraeder für seine ebullioskopische Mikromolekulargewichtsbestimmung vorgeschlagen. Wir verwenden dieselben schon seit Jahren mit bestem Erfolg bei allen Mikro-*Zeisel*-Bestimmungen als siedeverzögerndes Mittel.

Verhinderung des Siedeverzuges beschickt. In die Waschvorrichtung kommt die bekannte Phosphorsuspension, Natrium-thiosulfat- und Cadmiumsulfatlösung zur Absorption von Jod, Jodwasserstoff und Schwefelwasserstoff. An Stelle der beim Analysengang nach *Pregl-Zeisel* vorgelegten alkoholischen Silbernitratlösung kommt eine Aufschwemmung des Silbersalzes der 3,5-Dinitrobenzoesäure in absolutem Äther in einem oben verengten, gut getrockneten, dickwandigen Jenaer Reagenzrohr (vgl. Fig. 1). Mit Vorteil wird im oberen Teil des Vorlagegefäßes etwas Watte um das Einleitungsrohr gelegt. Dadurch wird eine Entzündung der Ätherdämpfe verhindert. Um die Verdunstung des Äthers und eventuell niedrig siedender Alkyljodide zu mässigen, wird die Vorlage vorteilhaft in einer Eismischung gekühlt.



Der erste Teil der Versuchsdurchführung, Abspaltung der Alkylgruppen durch die siedende Jodwasserstoffsäure, entspricht in allen Phasen genau der *Pregl'schen* Mikro-Methoxylbestimmung. Zuerst Durchleiten von Kohlendioxyd aus einem *Kipp*-Apparat, so dass zugleich etwa 2—3 Blasen in der Äthervorlage aufsteigen. Dann, nachdem alle Luft aus dem Apparat verdrängt ist, Entzünden der Mikroflamme unter dem Siedegefäß. Die Flamme wird so einreguliert, dass die Jodwasserstoffsäure im Sieden erhalten wird, ohne dass die Säure in das Waschgefäß überdestilliert.

Für schwerer abspaltbare Alkyle und höher siedende Alkyljodide (vgl. dazu die entsprechende Tabelle am Schluss des Abschnittes) muss länger und intensiver erhitzt und die Geschwindigkeit des Kohlendioxydstromes erhöht werden. So gelingt es einerseits, auch Alkylgruppen, die an Stickstoff gebunden sind, in genügender Menge zur Identifikation abzuspalten, und andererseits trotz der tiefen Siedetemperatur der Jodwasserstoffsäure von etwa

120° auch höher siedende Alkyljodide, wie etwa Octyljodid (Sdp. 236°), im Verlaufe von etwa 2 Stunden in die Vorlage überzutreiben. Je höher der Siedepunkt des Alkyljodids, desto länger dauert der Versuch und desto weniger quantitativ ist der Verlauf. Dies ist für unseren Zweck aber belanglos, wenn wir nur so viel des Alkyljodids mit dem Silbersalz in Reaktion bringen können, dass die einwandfreie Feststellung der Identität gelingt¹⁾.

Wenn die Abspaltung der Alkylgruppen beendet und genügend Alkyljodid in die Vorlage überdestilliert ist, wird letztere ohne Unterbrechung des Kohlendioxidstromes entfernt und im Gebläse an der vor Beginn des Versuches verengten Stelle zugeschmolzen. Dies bereitet weiter keine Schwierigkeiten, wenn nur dafür gesorgt wird, dass der Äther nicht durch die Erwärmung zu rasch verdunstet (Kühlung in Eis). Vorteilhaft entfernt man die über dem Äther befindlichen Dämpfe vor dem Zuschmelzen durch etwas Kohlendioxid.

Es hat sich herausgestellt, dass die Umsetzung zwischen Alkyljodid und 3,5-dinitrobenzoesaurem Silber bei niedriger Temperatur nur sehr langsam und unvollständig vor sich geht. Wenn man dagegen die Komponenten in der Ätherlösung ungefähr 2 Stunden auf etwa 100° erhitzt, so verläuft die Veresterung quantitativ.

Die zugeschmolzenen Reagenröhren können mit einem Tuchstreifen umwickelt in einem Wasserbad, das mit einem Drahtnetz zugedeckt wird, erhitzt werden. Es kommt ziemlich selten vor, dass eine der Röhren platzt, doch dürfen Sicherheitsmassnahmen gegen Splitterwirkung nicht unterlassen werden.

Angenehmer und einfacher geschieht das Erhitzen in einem elektrischen Bombenofen, dessen Temperaturregulierung automatisch erfolgt²⁾.

¹⁾ Über die Behandlung von tiefsiedenden Untersuchungssubstanzen wird in einer folgenden Abhandlung berichtet.

²⁾ Der hier abgebildete Bombenofen ist zwischen 50 und 150° durch eine Stellenschraube RK regulierbar. Durch ein Metallkontaktthermometer und zweckdienliche Schaltung über ein Relais TR wird die eingestellte Temperatur automatisch mit maximaler Schwankung von $\pm 3^\circ$ aufrechterhalten. Der eigentliche Ofenkörper O ist aus einem massiven Metallstück angefertigt, das auf seiner Oberfläche die Heizwicklung trägt und im Innern parallel zur Längsachse 4 durchgehende Bohrungen aufweist, welche zur Aufnahme der Druckgefässe dienen. Letztere werden am Herausfallen gehindert durch Metallstifte S. Um die Bombengefässe aus dem Apparat herauszuholen, werden die Stifte S entfernt, wodurch die Bohrungen des Ofens im untern Teil für den Durchtritt der Röhren frei werden. — Zur Vervollständigung des Apparates dient ein Metalldeckel D als Verschluss der obern Öffnungen und ein Thermometer T zur Temperaturmessung. Der Apparat eignet sich auch sehr gut für präparative Zwecke, da er tagelang ohne Wartung auf jeder im angegebenen Bereiche liegende Temperatur gehalten werden kann. Der Ofen ist von uns speziell für solche Bedürfnisse entwickelt worden und kann von Dr. H. Höstli, Ing. Chem., Bischofszell (St. Gallen), bezogen werden.

Wenn unter allen Umständen ein Platzen von Einschlussröhren vermieden werden soll, z. B. bei Untersuchungen, wo nur sehr wenig Substanz zur Verfügung steht, erhitzt man die Röhren im Autoklaven. Zur Kompensation des Innendruckes in der zugeschmolzenen Vorlage wird diese in der Autoklavenbohrung mit einer tief-siedenden Flüssigkeit, z. B. Methylalkohol, umgeben.

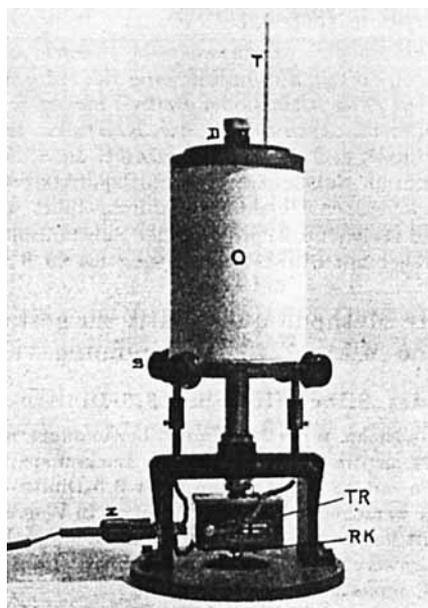


Fig. 2.

Nach dem Abkühlen, zuletzt in fließendem Wasser, wird das Einschlussröhrchen mit einem Diamanten an der Spitze geritzt und vorsichtig geöffnet. Der Inhalt wird filtriert, Rohr und Filter mit $3 \times 2 \text{ cm}^3$ Äther nachgewaschen. Die nunmehr auf etwa 15 cm^3 angewachsene Ätherlösung wird in einem kleinen Scheidetrichter zuerst zweimal mit einer gleichen Menge 1-proz. Alkalilösung, dann mit 1-proz. Salzsäure und zuletzt gründlich mit destilliertem Wasser ausgewaschen. Zur Trocknung wird die Ätherschicht einige Stunden über Natriumsulfat stehen gelassen.

Bei Vorliegen von einheitlichen Estern genügt es nun in den meisten Fällen, die Ätherlösung zu filtrieren, den Äther abzu-dunsten und vom krystallisierten Umsetzungsprodukt den Schmelz-punkt und Mischschmelzpunkt mit dem entsprechenden syn-thetischen Ester zu bestimmen. Unter Umständen muss eine weitere Reinigung durch Umkrystallisieren aus Pentan oder Benzin, bzw. durch Herstellen der α -Naphthylaminverbindung erfolgen.

Gemische von Estern oder deren α -Naphtylaminverbindungen werden fraktioniert krystallisiert, wobei von Vorteil ist, dass die Löslichkeit der verschiedenen Ester differiert. Als Lösungsmittel eignen sich besonders Pentan, Benzine, Methyl- und Äthylalkohol oder Gemische derselben.

Es ist uns so gelungen, z. B. in einer einzigen Fraktion (Siedeintervall 5°) eines natürlichen Riechstoffgemisches drei gänzlich verschiedene Alkylgruppen festzustellen.

Wenn nur sehr kleine Mengen Ausgangsmaterial (weniger als 10 mg) zur Verfügung stehen, ist es von grossem Vorteil, zur Bestimmung der Schmelzpunkte einen Mikro-Schmelzpunktsapparat nach *Klein*¹⁾ oder *Kofler*²⁾ benützen zu können. Die Operationen des Umkrystallisierens, Auswaschens der Krystalle, der Schmelzpunkts- und Mischschmelzpunktsbestimmung, das heisst die gesamte Identifizierung kann in diesem Falle mit einem Minimum an Substanz (zur Schmelzpunktsbestimmung genügen 3—5 Krystalle) auf ein und demselben Objektträger durchgeführt werden.

Es gelingt sogar bei geeigneter Anordnung der Substanzen und peinlicher Arbeitsweise auf dem Objektträger mit einer Beobachtung bis zu 6 Mischschmelzpunkte zu bestimmen.

Die geschilderte Methode quantitativ zu gestalten, ist zwecklos, da dafür die übliche Mikro-*Zeisel*-Bestimmung vollauf genügt.

Herstellung des Silbersalzes der 3,5-Dinitro-benzoesäure.

Die im Handel erhältliche, reine 3,5-Dinitro-benzoesäure wird in 50-proz. Alkohol gelöst, mit 0,1-n. NaOH neutralisiert (Indikator: Lackmuspapier) und dann bis zur schwach sauren Reaktion mit einigen Tropfen einer 3,5-Dinitro-benzoesäurelösung versetzt. Dazu gibt man die berechnete Menge Silbernitrat in Wasser gelöst. Das Silbersalz fällt sofort aus, wird abfiltriert und gründlich mit Alkohol und Äther gewaschen und dann bei 50° über Phosphorpentoxyd im Vakuum getrocknet. Im Dunkeln über Pentoxyd aufbewahrt, hält es sich monatelang unverändert.

Herstellung der α -Naphtylaminverbindungen.

Die Esterprobe wird in möglichst wenig (0,1—2 cm³) Äther gelöst und mit einem Überschuss einer konz. Lösung von α -Naphtylamin in 80-proz. Alkohol versetzt. Die in kurzer Zeit krystallisiert ausfallende Molekelverbindung wird sofort abgenutscht und mit wenig 80-proz. Alkohol ausgewaschen. Eine weitere Reinigung ist meist nicht notwendig, kann aber durch Umkrystallisieren aus Pentan oder Petroläther erfolgen. Alkohol eignet sich als Lösungsmittel wegen Umesterungs- und Spaltungsgefahr weniger gut.

Schlussbemerkung.

Sollte in einem Naturprodukt zufällig eine Alkylgruppe gefunden werden, deren 3,5-Dinitro-benzoesäure-ester bis jetzt nicht bekannt ist, so dass die Schmelzpunktsbestimmung also keine Identifizierung ermöglicht, so kann eine Bestimmung des Kohlenstoffgehaltes des Esters zum Ziele führen. Die Berechnung zeigt, dass bei den niedersten Gliedern eine CH₂-Gruppe einen Unterschied von 2,5% im Kohlenstoffgehalt bedingt und dieser Unterschied beim

¹⁾ G. Klein, Mikrochemie, Festschrift f. F. Pregl, 192 (1929).

²⁾ L. Kofler und H. Hilbck, Mikrochemie 9, 38—44 (1931).

Octylester immer noch 1,4% beträgt. Das heisst, dass auch bei nicht ganz reinen Umsetzungsprodukten die Kohlenstoffbestimmung noch mit genügender Sicherheit auf den Alkylgehalt schliessen lässt.

Siedepunkte einiger Alkyljodide¹⁾.

| Methyl- | Äthyl- | Propyl- | Amyl- | Hexyl- | Heptyl- | Octyl-jodid |
|---------|--------|---------|-------|--------|---------|-------------|
| 42,3° | 72,5° | 102,5° | 155° | 180° | 201° | 236° |

Schmelzpunkte bekannter 3-5-Dinitro-benzoesäure-ester und deren α -Naphthylaminverbindungen.

| Abgespaltene Alkylgruppe | Smp. des Esters der Dinitro-benzoesäure | Smp. der α -Naphthylaminverbindung davon |
|----------------------------------|---|---|
| Propyl (Iso) | 121—122° | 143—144° |
| Amyl (tertiär) | 117—118° | 123—124° |
| Benzyl | 113—114° | 117—118° |
| Amyl (Cyclo) | 113—115° | 134—135° |
| Hexyl (Cyclo) | 112—113° | 125—126° |
| Methyl | 110—111° | 121—122° |
| Phenyl-äthyl | 106—107° | 104—105° |
| Äthyl | 92—93° | 120—121° |
| Butyl (Iso) | 87—88° | 105—106° |
| Phenyl-propyl (n) | 86—87° | 77—78° |
| Terpineyl (α) | 78—79° | 92—94° |
| Propyl (n) | 74—75° | 103—104° |
| Geranyl. | 62—64° | 68—70° |
| Butyl (n) | 61—63° | 92—93° |
| Amyl (Iso) | 60—61° | 104—105° |
| Octyl (n) | 60—62° | 48—49° |
| Hexyl (n) | 57—59° | 103—104° |
| Decyl (n) | 56—57° | 48—50° |
| Heptyl (n) | 47—48° | 57—58° |
| Amyl (n) | 45—46° | 88—89° |
| Hexyl (sek.) | 39—40° | 92—93° |
| Octyl (sek.) | 31—34° | 66—67° |

Organisch-chemisches Laboratorium,
Mikroanalytische Abteilung,
Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

¹⁾ Siedepunkt bei 760 mm; von den Isomeren wurde nur der höchste Siedepunkt berücksichtigt.