

174. Die Zerlegung eines Gemisches von Roh-Thevetin in die Komponenten Cerberosid und Thevetin A mit Hilfe einer neuen Apparatur zur vielstufigen Verteilung zwischen zwei flüssigen Phasen

von R. Signer und M. Studer

(25. V. 60)

In mehreren kurzen Mitteilungen wurde über die Entwicklung eines vielseitig anwendbaren Verfahrens der Gegenstromextraktion berichtet¹⁻⁴), bei dem die beiden Lösungsmittel gleichförmig durch eine Reihe horizontal angeordneter Kammern bewegt werden, wobei eine Rührbewegung zur raschen Gleichgewichtseinstellung in jeder Kammer ohne Zerteilung der einen Flüssigkeit in der andern sorgt.

Nachdem die Leistung verschiedener Apparatetypen an Modellmischungen wie Benzamid und Nicotinamid und verschiedenen Aminosäuregemischen bestimmt worden ist, wird jetzt versucht, die Apparate bei aktuellen Trennproblemen einzusetzen. Über die Trennung der Thevetine A und B (Cerberosid), die gemeinsam mit der organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel (O. SCHINDLER) durchgeführt wurde, wird im folgenden berichtet.

Die Trennung des «Thevetins» in die Komponenten A und B durch Gegenstromverteilung im System Chloroform-Alkohol-(2:1) und Wasser wurde zuerst von C. H. BOEHRINGER SOHN beschrieben⁵). SCHINDLER und Mitarbeiter haben gezeigt, dass «Thevetin B» mit Cerberosid identisch ist, und seine Konstitution ermittelt⁶).

Die Isolierung kleiner Mengen beider Komponenten war mit Hilfe von Verteilungschromatographiesäulen in Basel durchgeführt worden, wobei als stationäre Phase Wasser und als bewegte Phasen Benzol-n-Butanol-Gemische im Volumverhältnis 1:1 sowie reines n-Butanol zur Anwendung kamen. Die Verteilungskoeffizienten im Phasenpaar Wasser/Benzol-Butanol-(1:1) wurden ebenfalls früher an weitgehend gereinigten Stoffen bestimmt. Für die Komponente A ergab sich das Konzentrationsverhältnis in der organischen zur wässrigen Phase zu 0,054 und für die B-Komponente zu 0,53. Die Zerlegung einer grösseren Menge der Thevetinmischung, wie sie für eine pharmakologische Prüfung nunmehr durchgeführt werden sollte, hätte mit den im Basler Institut vorhandenen Verteilungschromatographiesäulen mehrere Monate in Anspruch genommen und bei der geringen Löslichkeit der Substanzen mehrere hundert Liter Lösungsmittel erfordert. 1 g des Gemisches löst sich in etwa 100 ml Wasser. Mit den in Bern entwickelten Apparaten sollte sich die gewünschte Trennung nach den Erfahrungen an Modellmischungen in einem Bruchteil

¹) RUDOLF SIGNER, *Chimia* 6, 243 (1952); RUDOLF SIGNER, KURT ALLEMANN, ERNST KÖHLI, WALTER LEHMANN, WERNER RITSCHARD & HEINZ MEYER, *Chimia* 10, 95 (1956).

²) RUDOLF SIGNER, *Chimia* 12, 83 (1958).

³) RUDOLF SIGNER, KURT ALLEMANN, ERNST KÖHLI, WALTER LEHMANN, HEINZ MEYER & WERNER RITSCHARD, *Dechema Monographien* 27, 32 (1956).

⁴) RUDOLF SIGNER, Schweizer Patente 295 646 und 306 626.

⁵) C. H. BOEHRINGER SOHN, Ingelheim, Österr. Patent 195 577.

⁶) OTHMAR SCHINDLER u. Mitarbeiter, *Helv.* 43, 652 (1960).

der Zeit und mit viel geringerem Lösungsmittelaufwand durchführen lassen. Das Trennproblem war noch dadurch von besonderem Interesse, als die Thevetine im Zweiphasensystem aus Wasser und Benzol-Butanol starke Emulgierung verursachen und sich dadurch die Verwendbarkeit der neuen Apparate auch für derartige Gemisch- und Lösungsmittel-Kombinationen feststellen liess.

Für die Trennung standen zur Verfügung ein Apparat für grössere Mengen vom Typus der rotierenden Trommel von 40 cm Durchmesser und 15 cm Länge mit 30 Kammern eines Wirkungsgrades von rund 50%²⁾, sowie ein Laboratoriumsapparat für kleinere Mengen mit ruhendem Trog und rotierenden Scheiben in den 29 Kammern³⁾.

Zur Trennung der 25,4 g des Thevetingemisches, das aus etwa einem Drittel A und zwei Dritteln B besteht, und uns in 4,1 l Wasser gelöst übergeben wurde, kam der grosse Apparat in Frage. Da er die Gemischzugabe im Gegensatz zum kleinen Apparat nur in einer der Endkammern erlaubt, war zur Reinherstellung beider Komponenten eine zweifache Extraktion erforderlich. Zuerst wird die organische Phase so rasch gegen die wässrige Lösung beider Komponenten strömen gelassen, dass die Komponente B praktisch vollständig in das Benzol-Butanol übergeht, die Komponente A aber noch zu einem beträchtlichen Teil im Wasser bleibt und mit diesem den Apparat verlässt und frei von B gewonnen werden kann. Die bei dieser ersten Extraktion anfallende Benzol-Butanol-Lösung, welche praktisch das gesamte B, aber auch etwas A enthält, wird hierauf gegen Wasser mit solcher Geschwindigkeit strömen gelassen, dass alles A in das Wasser übergeht, vom B aber ein wesentlicher Teil im Benzol-Butanol bleibt und daraus A-frei anfällt. Durch die zweifache Extraktion wird also viel reines A und reines B und ein Restgemisch mit A zu B im ursprünglichen Mengenverhältnis gewonnen.

Aus dem Verteilungskoeffizienten einer Komponente, dem Geschwindigkeitsverhältnis der beiden Flüssigkeitsströme und der Zahl n der theoretisch wirksamen Kammern lässt sich die Aufteilung jeder Komponente nach folgender Gleichung berechnen:

$$c_n = c_1 \frac{\frac{v}{v_s} \cdot \frac{c}{c_s} - 1}{\left(\frac{v}{v_s} \cdot \frac{c}{c_s}\right)^n - 1}$$

c_1 = Konzentration in der ersten Kammer in der Phase mit der die Substanz eintritt (c_1 kann mit guter Näherung gleich der Konzentration der Komponente in der eintretenden Lösung gesetzt werden).

c_n = Konzentration in der gleichen Phase in der n -ten, also letzten Kammer = Konzentration in der austretenden Lösung.

$\frac{c}{c_s}$ = Verteilungskoeffizient (c_s = Konzentration in einer beliebigen Kammer in der Phase mit der die Substanz in den Apparat eintritt).

c = Konzentration in derselben Kammer in der Gegenphase).

$\frac{v}{v_s}$ = Verhältnis der Fließgeschwindigkeit der beiden Phasen (v_s = Fließgeschwindigkeit der Phase, mit der die Substanz in den Apparat eingeführt wird; v = Fließgeschwindigkeit der Gegenphase).

In der Tabelle sind die Konzentrationen c_n für die Thevetine A und B unter Verwendung der obigen Gleichung und der eingangs erwähnten Verteilungskoeffizienten für verschiedene Verhältnisse der Fließgeschwindigkeiten ausgerechnet. Die Zahl

n der wirksamen Trennstufen wird als 10 angenommen, also etwas niedriger als nach den Versuchen mit Modellmischungen im grossen Apparat, wobei ca. 15 theoretisch wirksame, also 50% der konstruierten 30 Kammern gefunden wurden. c_1 wird bei den Berechnungen der Tabelle gleich eins gesetzt. Der Anreicherungsfaktor gibt an, wie vielfach sich die eine Komponente im Verhältnis zur andern durch die Extraktion anreichert. Die Ausbeute sagt aus, wieviel Prozent der am einen Apparatende eingeführten Komponente am andern Ende angereichert gefasst werden kann. Der Rest zu 100% verlässt den Apparat mit der Gegenphase, in der sich auch die Hauptmenge der andern Komponente befindet.

Konzentrationen und Anreicherungen der Thevetine A und B bei der 10-stufigen Verteilung zwischen Wasser und Benzol-Butanol in Abhängigkeit des Fließgeschwindigkeitsverhältnisses

Nr. der Extraktion	$\frac{v}{v_s}$	c_n		Anreicherungsfaktor		Ausbeute in%	
		A	B	A	B	A	B
Erste	5,9	0,681	0,000024	28000		68	
	5,0	0,728	0,000100	7280		73	
	4,0	0,784	0,000635	1230		78	
	3,0	0,836	0,00601	139		84	
	2,0	0,891	0,0775	12		89	
Zweite	1/5,9	0,000025	0,680		27200		68
	1/7,0	0,000103	0,729		7080		73
	1/8,0	0,000312	0,763		2440		76
	1/10,0	0,00189	0,811		429		81
	1/12,5	0,0101	0,848		84		85

Aus der Tabelle entnimmt man, dass bei der ersten Extraktion der 25,4 g des Gemisches mit rund 8,5 g A und 16,9 g B unter Verwendung eines Geschwindigkeitsverhältnisses von Benzol-Butanol zu Wasser gleich 5,9:1 in der wässrigen Phase rund 5,8 g A mit einer verschwindend kleinen Menge von 0,4 mg B zu erwarten sind. In der Benzol-Butanol-Phase sollen sich 2,7 g A mit den 16,9 g B befinden. Wird jetzt diese Benzol-Butanol-Phase in der zweiten Extraktion gegen Wasser fließen gelassen mit dem Geschwindigkeitsverhältnis Wasser zu Benzol-Butanol gleich 1:5,9, so wird A nach Tabelle bis auf 0,07 mg ausextrahiert, während von B 68%, also 11,5 g im Benzol-Butanol verbleiben. Aus der organischen Phase sollte sich also viel sehr reines B gewinnen lassen. Die wässrige Phase der zweiten Extraktion enthält nach der Berechnung 2,7 g A und 5,4 g B, also rund einen Drittel der beiden Komponenten im ursprünglichen Mengenverhältnis. Mit der Restmischung könnten dann wieder zwei entsprechende Extraktionen durchgeführt werden, die etwa 1,8 g reines A und 3,7 g reines B ergeben sollten mit einer Restmischung von 0,9 g A und 1,7 g B.

Mit Hilfe der Tabelle lassen sich auch andere Zerlegungsarten unter Verwendung weiterer Geschwindigkeitsverhältnisse vorausberechnen.

Experimentelles. – Die erste Extraktion wurde, um eine hohe Ausbeute an A zu erhalten, mit einem Geschwindigkeitsverhältnis von rund 2,5 durchgeführt. Die Füllung der rotierenden Trommel betrug je 3 l jeder Phase. Die Strömungsgeschwindigkeiten waren 120 ml/h für die mit organischem Lösungsmittel gesättigte Wasserphase und 300 ml/h für das mit Wasser gesättigte Benzol-Butanol. Nach Einlaufen der Wasserlösung während 1½ Tagen wurden wässrige und

organische Phase noch weitere $2\frac{1}{2}$ Tage strömen gelassen, um die Substanz aus dem Apparat praktisch vollständig in die austretenden Lösungsmittel überzuführen. Die Trommel rotierte mit 1 U/min. Während der ganzen Extraktion trat keinerlei Emulgierung der Flüssigkeiten auf. Es resultierten rund 10 l Wasserphase und gegen 30 l organische Phase.

Die Wasserphase ergab 6,6 g Trockensubstanz. Diese und die Trockensubstanzen der folgenden Trennungen wurden in Basel chromatographisch auf Reinheit geprüft. Mit diesem Verfahren lassen sich Mengen von etwa 1% der Komponenten A oder B in der andern Komponente erkennen. Beim Vorliegen grösserer Beimengungen kann ihre Quantität ganz roh geschätzt werden.

Die 6,6 g aus der wässrigen Phase der ersten Extraktion zeigten neben viel A merkliche Mengen von B. Die Anreicherung konnte auf etwa das Zehnfache geschätzt werden, wie es die Tabelle für das Strömungsverhältnis 2:1 ergibt. Dass die Anreicherung der Vorausberechnung nicht ganz entspricht, wird in geringen Abweichungen der wirklich vorhandenen von den in die Rechnung eingesetzten Verteilungskoeffizienten liegen. – Ein Anteil der 6,6 g Trockensubstanz, nämlich 5,8 g wurde, wie weiter unten ausgeführt ist, einer weiteren Trennung unterzogen.

Die zweite Extraktion wurde mit etwa 85% der Benzol-Butanol-Lösung, also mit rund 25 l durchgeführt, die 16 g Trockensubstanz enthielten. Die Fließgeschwindigkeiten waren bei der Benzol-Butanol-Lösung 400 ml/h und bei der Wasserphase 40 ml/h. Das Volumverhältnis der Phasen und die Drehzahl des Apparates waren dieselben wie bei der ersten Extraktion. Nach dem Einfließen der Lösung während $2\frac{1}{2}$ Tagen wurde noch 30 h lang organische Phase gegen Wasserphase durch den Apparat gesandt zur weitgehenden Überführung der gelösten Komponenten aus den Kammern in die austretenden Phasen. Es ergaben sich 45 l Benzol-Butanol-Phase und rund 5 l Wasserphase. Die erste enthielt 11,1 g, die zweite 4,2 g Trockensubstanz. Das eingeführte Gemisch wurde also zu 95% wiedergewonnen. Die 11,1 g erwiesen sich chromatographisch als A-frei. Die 4,2 g enthielten A und B etwa im ursprünglichen Mengenverhältnis. Das Ergebnis der zweiten Extraktion entspricht gut den Berechnungen der Tabelle.

Die 4,2 g der Restmischung aus den beiden besprochenen Extraktionen wurden im kleinen Apparat mit 29 Kammern und Rührscheiben weiter zerlegt. Die Phasengeschwindigkeiten waren 32 ml/h der Benzol-Butanol-Phase und 4 ml/h der Wasserphase. Die Drehzahl der Rührscheiben war 20 U/min, das Volumen beider Phasen im Apparat ca. 1,2 l. Es wurden in die mittelständige Kammer alle 12 h ca. 250 mg pulverförmiges Gemisch eingetragen, das sich in den nächsten Stunden auflöste. An die Periode der Substanzzugabe von 8 Tagen wurde eine ebensolange Periode der Phasenzugabe zwecks Ausextraktion angeschlossen. Das Resultat war eine Wasserphase mit 0,9 g B-freiem A und 10 l einer Benzol-Butanol-Phase, in der neben viel A auch etwas B vorhanden war. Bei dieser Extraktionsart unter Zugabe des Gemisches in der Mitte der Kammerreihe sollten bei genügender Zahl der Kammern und richtigem Geschwindigkeitsverhältnis beide Komponenten rein anfallen. Um dies mit dem Thevetingemisch zu erreichen, hätte das Geschwindigkeitsverhältnis statt 8:1 etwas niedriger, nämlich 6:1 gewählt werden müssen.

Die 10 l der Benzol-Butanol-Lösung mit dem stark angereicherten B wurden zur Entfernung des A im gleichen Apparat durch alle 29 Kammern mit Wasserphase nochmals extrahiert, wobei 48 ml Benzol-Butanol pro h gegen 6 ml Wasser pro h flossen, bei einer Drehzahl der Scheiben von 8 U/min. In der organischen Phase verblieben 2,1 g A-freies B und in der Wasserphase eine Restmischung von 1,1 g A und B. Die 4,2 g der Restmischung aus der vorher beschriebenen grossen Extraktion liessen sich also im kleinen Apparat fast verlustlos in 0,9 g reines A, 2,1 g reines B und 1,1 g Restmischung zerlegen.

Bei der ersten Extraktion der 25,4 g im grossen Apparat fielen 6,6 g A mit etwas B an. Hievon wurden 5,8 g mit 0,8 g aus der letzterwähnten Restmischung von 1,1 g vereinigt. Diese 6,6 g ergaben durch zwei Extraktionen im kleinen Apparat 3,4 g B-freies A, 0,6 g A-freies B und 2,3 g Restmischung. – Im A zeigten sich bei der Chromatographie neue, im Papierchromatogramm kürzer laufende Flecke, die offenbar durch Oxydationsprodukte der in Thevetin A enthaltenen Aldehydgruppe bedingt sind.

Die Autoren sprechen den Herren T. REICHSTEIN und O. SCHINDLER für die Anregung zu dieser gemeinsamen Arbeit und die Mitwirkung den verbindlichsten Dank aus. Die Durchführung der Trennoperationen in Bern wurde durch Mittel aus dem Projekt 1472 des SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ermöglicht, das die Erforschung zwischenmolekularer Kräfte in organischen Flüssigkeiten zum Ziel hat. Die Mittel zur Entwicklung der Gegenstromextraktionsapparate verdanken die Autoren der HACO AG., Gümligen.

SUMMARY

Using a multistage extraction apparatus of a new type, crude Thevetin was separated into the two components Cerberoside (Thevetin B) and Thevetin A. The solvent consumption was low and there was no disturbing emulgation of the phases in each other. The separation efficiency corresponds with the approximate calculations based on distribution coefficients and ratio of flow rates.

Institut für allgemeine und spezielle organische Chemie
der Universität Bern.

175. Etude physico-chimique de sels complexes histamine-argent et histamine-thallium(I)¹⁾

par **Simone Hatem**

(28 II 59)

I. Sels argentiques. – L'histamine (Hi) en solution aqueuse forme, avec les sels d'argent, des complexes qui, dans certaines conditions, présentent des caractères de l'état colloïdal²⁾.

Ainsi, les mélanges ne dialysent pas alors que, pris isolément, les constituants dialysent parfaitement; l'expérience a été faite sur une membrane de cellophane pour des concentrations s'échelonnant de $m/12$ à $m/1000$.

A partir d'une certaine concentration, variant avec la nature du sel d'argent, les mélanges aqueux prennent la consistance d'un gel. Ces gels lyophiles sont complètement insolubles dans l'eau.

On observe sur ces gels une opalescence qui s'accroît avec la concentration des constituants, mais il existe cependant toute une zone où la lumière diffusée est négligeable, ce qui rendra possible l'étude de l'absorption dans l'UV.

D'autres caractères de l'état colloïdal (floculation, rigidité, thixotropie, etc.) seront encore étudiés au cours de cet exposé.

Si l'on met en contact des solutions d'histamine et de *nitrate d'argent* de concentration supérieure à $m/10$, un précipité blanc amorphe se forme où Hi et Ag sont dans les proportions 2Hi pour 3Ag, quelles que soient les proportions des deux solutions mises en contact.

Si les solutions de $AgNO_3$ et de Hi sont de titre inférieure à $m/10$, un gel se développe dans le mélange; ce gel blanc, épais, se clarifie pour devenir à peine opalescent, au fur et à mesure que les solutions mises en contact sont plus diluées. Lorsque cette dilution se situe aux environs de $m/80$, on obtient à l'instant zéro une solution où l'on décèle un léger trouble. Cette solution se prend en masse avec le temps. Aux plus fortes dilutions, les mélanges sont et restent clairs même examinés au diffusio-absorptiomètre de DOGNON.

A l'aide de la méthode des variations continues (méthode de JOB³⁾) nous avons étudié l'absorption lumineuse dans l'UV. de ces mélanges.

¹⁾ Communication présentée à l'assemblée générale de la Société suisse de chimie du 28 II 1959 à Berne, et publiée selon décision spéciale du Comité de rédaction.

²⁾ S. HATEM, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 247, 1392 (1955).

³⁾ P. JOB, Ann. Chim [10], 9, 113 (1928).