

- 10 R. A. KONYASHINA, T. S. NIKIFOROVA AND V. P. PAKHOMOV, *Khim. Tverd. Topl.*, 3 (1967) 60; *C.A.*, (1967) 9593.
 11 O. T. CHORTYK, W. S. SCHLOTZHAUER AND R. L. STEDMAN, *J. Gas Chromatog.*, 3 (1965) 394.
 12 A. ZANE, *Tobacco Sci.*, 12 (1968) 77.
 13 A. V. KISELEV, J. JANAK, K. TESARIK AND F. ONUSKA, *J. Chromatog.*, 34 (1968) 81.
 14 A. ZANE, *Tobacco Sci.*, 12 (1968) 54.

Received August 19th, 1968

J. Chromatog., 38 (1968) 130-133

CHROM. 3756

Gaschromatographische Trennung aller neun struktur- und stereoisomeren Cyclohexantricarbonsäuren

Im Verlauf unserer Arbeiten über Cyclohexanpolycarbonsäuren* konnten wir die drei strukturisomeren Cyclohexantricarbonsäuren gaschromatographisch in die neun möglichen stereoisomeren Formen auftrennen und bestimmen.

In Fig. 1 sind die Strukturformeln aufgezeichnet. Man erkennt, dass es für die Cyclohexantricarbonsäure-1,3,5 zwei, für die Cyclohexantricarbonsäure-1,2,3 drei

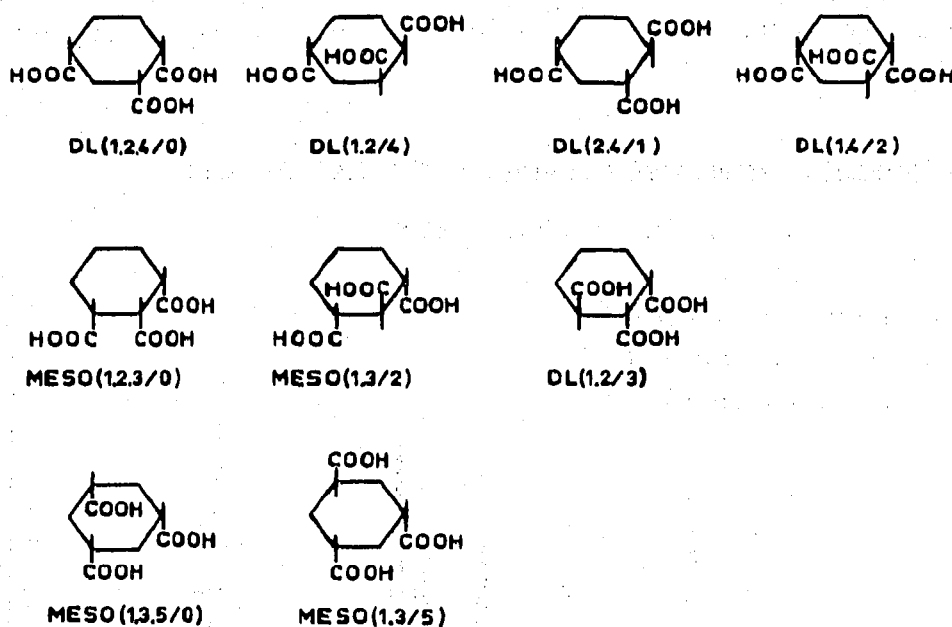


Fig. 1. Strukturformeln der neun isomeren Cyclohexantricarbonsäuren.

und für die Cyclohexantricarbonsäure-1,2,4 vier *cis-trans* isomere Formen gibt. Die Nomenklatur entspricht einem Vorschlag von McCASLAND¹, nach der die Substituenten in *cis*-Stellung vor und die Substituenten in *trans*-Stellung hinter dem Schrägstrich angegeben werden.

* Veröffentlichung in Vorbereitung.

Fig. 2 zeigt das Gaschromatogramm eines Gemisches (A) aller isomeren Cyclohexantricarbonsäuren, die in Form ihrer Methylester mit einer 100 m Kapillare isotherm analysiert wurden.

Nachfolgend sind die gaschromatographischen Bedingungen aufgeführt:

Gaschromatograph: WCLID 1680 (Warner-Chilcott).
 Trennsäule: Material Edelstahl (SH 2); Länge 100 m; Innendurchmesser 0.5 mm; stationäre Phase Ucon LB 1715.
 Trägergas: Helium; Durchflussmenge 10 ml/min.
 Detektor: Flammenionisation.
 Temperatur: Säule: $170^{\circ} \pm 2\%$.
 Verdampfer: $410^{\circ} \pm 2\%$.
 Detektor: $250^{\circ} \pm 2\%$.
 Einspritzmenge: 1.8 μ l; Probenteilung 1:40.
 Schreiber: Honeywell-Brown 1-mV Kompensations-Schreiber; Dämpfung 100.

Die Identifizierung der einzelnen Banden des in Fig. 2 dargestellten Chromatogramms gelang uns nur teilweise. Wir wissen zwar, welche Peaks zu den einzelnen strukturisomeren Cyclohexantricarbonsäuren gehören, können aber bisher nicht mit Sicherheit angeben, welche von diesen den *cis*- und welche den *trans*-Isomeren zuzuordnen sind, da wir über reine *cis*- und *trans*-Testsubstanzen nicht verfügen.

Die Zuordnung der strukturisomeren Cyclohexantricarbonsäuren geschah folgendermassen:

Gaschromatogramm aller struktur- und stereoisomeren

Cyclohexantricarbonsäuren

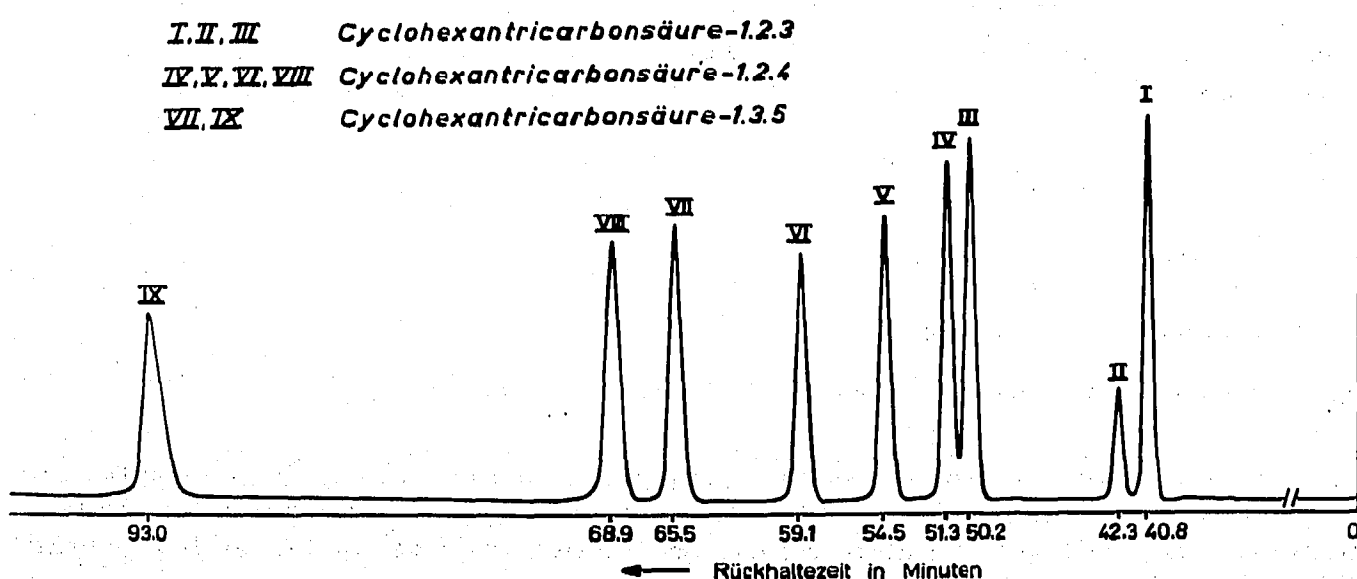


Fig. 2. Gaschromatogramm der neun struktur- und stereoisomeren Cyclohexantricarbonsäuremethylester.

Bei der Untersuchung des Reaktionsproduktes (B) der Hydrocarboxylierung von Δ^4 -Tetrahydrophthalsäureanhydrid erhielten wir unter den gleichen gaschromatographischen Bedingungen im Chromatogramm sieben Peaks, die aufgrund der Reaktionsbedingungen nur von den strukturisomeren Cyclohexantricarbonsäuren-1,2,4 bzw. Cyclohexantricarbonsäuren-1,2,3 herrühren konnten. Damit waren zwei von den neun Banden (VII, IX) des Gaschromatogramms (Gemisch A, Fig. 2) der Cyclohexantricarbonsäure-1,3,5 zuzuordnen und die übrigen sieben Peaks den genannten strukturisomeren Säuren.

Zur weiteren Identifizierung wurde die Benzoltricarbonsäure-1,2,3 mit Raney-Nickel hydriert und unter den gleichen Bedingungen wie die Gemische A und B gaschromatographiert. Dabei erhielten wir drei Peaks, deren Retentionszeiten denen der drei ersten Peaks (I, II, III) der obigen Gaschromatogramme entsprachen.

Die Anreicherung des Gemisches A mit dem Hydrierprodukt der Benzoltricarbonsäure-1,2,3 bestätigte die Identität der Verbindungen.

Das Hydrierprodukt der Benzoltricarbonsäure-1,2,4 ergab bei der gaschromatographischen Analyse vier Peaks, die identisch waren mit den restlichen vier Peaks (IV, V, VI, VIII) des Ausgangschromatogramms.

Ausserdem konnten wir bei dieser Säure die *cis-trans*-Isomerenpaare aufgrund folgender Versuche identifizieren:

Die stöchiometrische Normaldruckhydrocarboxylierung von *cis*- Δ^4 -Tetrahydrophthalsäureanhydrid ergab ein Reaktionsprodukt, das nur aus zwei der vier stereoisomeren Cyclohexantricarbonsäuren-1,2,4 bestand. Der Schluss lag nahe, dass unter den milden Reaktionsbedingungen die *cis*-Konfiguration der Substituenten in 1,2-Stellung im Ausgangsprodukt erhalten geblieben ist, während der dritte Substituent sowohl in axialer als auch äquatorialer Lage eintreten kann. Somit würden zwei Stereoisomere gebildet, deren Substituenten in 1,2-Stellung *cis*-ständig sind.

Bei der stöchiometrischen Normaldruckhydrocarboxylierung von *trans*- Δ^4 -Tetrahydrophthalsäuredimethylester blieb die *trans*-Konfiguration der Substituenten in 1,2-Stellung erhalten und wir erhielten im Gaschromatogramm dieses Reaktionsproduktes die zwei restlichen Peaks der stereoisomeren Cyclohexantricarbonsäuren-1,2,4.

Somit konnten wir den Peaks VI und VIII in Fig. 2 die *cis*-Konfiguration in 1,2-Stellung und den Peaks IV und V die *trans*-Konfiguration in 1,2-Stellung zuzuordnen.

TABELLE I

Peak-No. (s. Fig. 2)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Retentionsindex	1937	1945	1986	1992	2005	2024	2048	2060	2131

Eine Bestätigung ergab das Produkt der partiellen Hydrierung der Benzoltricarbonsäure-1,2,4 mit Platin, das im Gaschromatogramm ebenfalls nur zwei Peaks ergab, da in 1,2-Stellung nur die *cis*-Konfiguration gebildet wurde².

Um ganz sicher zu gehen, dass es sich bei den Peaks VII und IX um die zwei möglichen Isomeren der Cyclohexantricarbonsäuren-1,3,5 handelte, hydrierten wir die entsprechende Benzoltricarbonsäure mit Raney-Nickel und reicherten Gemisch B

mit diesem Hydrierprodukt an. Das Gaschromatogramm zeigte neun Banden und war deckungsgleich mit dem Gaschromatogramm in Fig. 2.

Tabelle I enthält die Retentionsindices der neun isomeren Cyclohexantricarbonsäuren, die nach dem Verfahren von KOVATS^{3,4} unter Zuhilfenahme der Retentionszeiten des *n*-Octadecans und des *n*-Eikosans berechnet wurden.

*Institut und Lehrstuhl
für Technische Chemie und Petrolchemie,
Technische Hochschule Aachen (Deutschland)*

E. BENDEL
W. MELTZOW
V. VOGT

- 1 G. E. McCASLAND, M. O. NAUMANN UND L. J. DURHAM, *J. Org. Chem.*, 31 (1966) 3079.
- 2 R. WILLSTÄTTER, D. HATT AND J. JAQUET, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 45 (1912) 1476; *ibid.*, 51 (1918) 767.
- 3 A. WEHRLI UND E. KOVATS, *Helv. Chim. Acta*, 42 (1959) 2709.
- 4 R. KAISER, *Chromatographie in der Gasphase*, 3. Teil, Hochschultaschenbücher-Verlag Bd. 24/24a.

Eingegangen am 22. August 1968

J. Chromatog., 38 (1968) 133-136

CHROM. 3739

Gas chromatography of cytokinins

We have sought a rapid sensitive means of identifying cytokinins in plant extracts as an adjunct to bioassay methods. The trimethylsilyl (TMS) derivatives of bases and nucleosides have been successfully separated by gas chromatography¹⁻³. We therefore examined the possibility of separating the TMS derivatives of isopentenyladenine (2iP), dihydrozeatin, zeatin, isopentenyladenosine (2iPA) and zeatin riboside by this method. Pyrene, kinetin and kinetin riboside were included as standards.

Retention times were determined with a F and M 5750 dual column gas chromatograph fitted with flame ionization detectors. Silanized glass columns (2 m × 6 mm O.D.) were packed with 3% SE 52 (phenyl methyl silicone gum rubber) on 80-100 mesh Diataport S (a silanized diatomaceous earth). The flow-rate of helium was 60 ml/min. The injection port was maintained at 230° and the flame detector at 310°. Retention times were determined both isothermally and by temperature programming at 10°/min from 150° to 300° and then holding at 300° for 5 min.

The free bases and ribosides were dried over P₂O₅ to avoid the formation of small side peaks due to hydrolysis of the TMS derivatives³. A mixture of bis(trimethylsilyl) acetamide and methyl cyanide in the ratio 1:2 was added at the rate of 1 μl reagent to 1 μg of sample. The mixture was heated at 60° for 5 min, then centrifuged before sampling for injection into the gas chromatograph. Results are expressed as (a) the absolute retention time in min, (b) the retention time relative to pyrene (*R_e* Pyrene), and (c) the retention time relative to kinetin (*R_e* Kinetin). The separation achieved with temperature programming is shown in Table I and isothermally in Table II.

J. Chromatog., 38 (1968) 136-138