

Über die papierchromatographische Trennung von Cumarinen.

Von

K. Riedl und L. Neugebauer.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 2. Mai 1952. Vorgelegt in der Sitzung am 8. Mai 1952.)

Der rasche Aufschwung der Verteilungs- und insbesondere der Papierchromatographie in den letzten Jahren brachte es mit sich, daß über die meisten organischen Verbindungstypen papierchromatographische Versuchsergebnisse vorliegen. Zu den Verbindungsklassen, über die keine diesbezüglichen Angaben in der Literatur enthalten sind, gehören die Cumarine. Untersuchungen über diese Naturstoffe am hiesigen Institut ließen die Verwendung papierchromatographischer Untersuchungsmethoden wünschenswert erscheinen, jedoch haben die Cumarine mit vielen anderen, bereits papierchromatographisch untersuchten Stoffen, wie z. B. den aromatischen Aminen, den höheren Fettsäuren, den Steroiden usw., die schlechte Löslichkeit in wäßrigen bzw. die gute in unpolaren Phasen gemein. Die auf Grund dieser Eigenschaften auftretenden Schwierigkeiten führten dazu, daß derartige Trennungen erst in neuerer Zeit durch folgende zwei Verfahren ermöglicht wurden: die Verteilungschromatographie an imprägniertem Papier¹ und die sogenannte umgekehrtphasige („reversed phase“) Verteilungschromatographie an hydrophoben Trägern².

Wir haben nun die zuerst angeführte Methode zur Auftrennung von Cumarinen versucht und konnten bei geeigneter Präparation des Papiers einige Trennungen bewerkstelligen. Es lag uns vor allem daran, zu zeigen, daß diese Methodik im Prinzip auch für diese Gruppe von Verbindungen

¹ A. Zaffaroni, R. B. Burton, E. H. Keutmann, *Science* (New York) **111**, 6 (1950).

² F. Winteringham, A. Harrison und R. Bridge, *Nature* (London) **166**, 999 (1950). — G. A. Howard und A. J. P. Martin, *Biochemic. J.* **46**, 532 (1950).

brauchbar ist, wenn auch hier eine so große Anwendungsbreite wie bei Zuckern und Aminosäuren nicht zu erwarten ist. Trotzdem stellt die Papierchromatographie auch in diesem Fall ein wertvolles Hilfsmittel zur Beurteilung der Einheitlichkeit bzw. Identität dar und erlaubt oft die rasche Ermittlung verunreinigender Begleitsubstanzen.

Da die Löslichkeit der Cumarine in den meisten bei der Papierchromatographie gebräuchlichen Lösungsmitteln zu groß ist, wodurch die Substanzen an der Lösungsmittelfront zu liegen kommen, verwendeten wir Benzin (Siedeintervall 60 bis 70°) als bewegliche Phase. Die Papiere wurden mit wäßrigen Glykollösungen vorbehandelt, wodurch eine beträchtliche Erhöhung der Löslichkeit der Cumarine in der stehenden Phase erreicht wurde. Die Konzentration an Glykol in der stehenden Phase des gebrauchsfertig präparierten Papiers beträgt schätzungsweise 50 bis 60% und ist für den Trennungsvorgang wesentlich. Es ist möglich, daß durch diese Imprägnierung ein desorbierender Effekt auf die Cumarine ausgeübt wird. Da zwischen den aus den Verteilungskoeffizienten einiger Cumarine berechneten und den experimentell bestimmten R_F -Werten Diskrepanzen bestehen, ist es wahrscheinlich, daß auch hier Adsorptionsvorgänge eine Rolle spielen.

Die zur Chromatographie benötigten Substanzmengen liegen zwischen 10 bis 30 μ /ml Einzelsubstanz. Die Lokalisierung der Verbindungen am Papier ist, gegebenenfalls nach geeigneter Vorbehandlung, mit Hilfe einer UV-Analysenlampe möglich.

Die R_F -Werte von Cumarinen einfacherer Art auf *Whatman* Nr. 1 nach Imprägnierung mit 20%igem wäßrigem Propylenglykol und Benzinentwicklung bei einer Temperatur von etwa 10° C zeigt die Tabelle 1, in der die befriedigende Reproduzierbarkeit einiger Werte zum Ausdruck kommt.

Der Anstieg der R_F -Werte in der Reihenfolge Cumarin, 4-Methylcumarin, 4,7-Dimethylcumarin, 3-Phenylcumarin ist auf Grund der Zunahme hydrophober Substituenten in diesen Verbindungen zu erwarten. Bemerkenswerterweise fällt das 3-Methylcumarin aus dieser Reihe und ermöglicht somit eine gute Trennung vom 4-Methylcumarin.

Die Methoxycumarine wandern viel langsamer und stellen in dieser Hinsicht einen Übergang zu den Oxycumarinen dar. In diesem Zusammenhang wollen wir noch auf den hohen R_F -Wert des Seselins hinweisen, das nach seiner Formel als Äther eines in Stellung 8 alkylierten 7-Oxycumarins aufgefaßt werden kann.

Die von uns untersuchten Oxycumarine zeigten bei Verwendung des Phasenpaares Benzin/wäßrige Glykollösung auf *Whatman* Nr. 1 bei 10° C keine Wanderung. Untersucht wurden Umbelliferon, 4-Methylumbelliferon und Bergapton. Der 4-Oxycumarincarbonsäure-3-äthylester konnte von uns auf dem Papier nicht sichtbar gemacht werden.

Tabelle 1. R_F -Werte von Cumarinen auf *Whatman* Nr. 1 bei 10° C.

Verbindung	R_F -Werte			
Cumarin	0,15	0,12	0,13	—
3-Methyl-cumarin	0,41	0,50	0,49	0,46
4-Methyl-cumarin	0,16	0,15	0,18	0,16
3-Phenyl-cumarin	0,49	0,47	—	—
4,7-Dimethyl-cumarin	0,28	—	—	—
7-Methoxy-cumarin	0,07	—	—	—
8-Methoxy-cumarin	0,04	—	—	—
Seselin ³	0,46	—	—	—

Hingegen zeigten unsere Versuche an Furocumarinen R_F -Werte, die zur Identifizierung und Reinheitsprüfung dieser Verbindungen hinreichend verschieden waren. Die R_F -Werte der Tabelle 2 entstammen Versuchen, die mit verschiedenen Lösungsmittelsystemen durchgeführt wurden.

Tabelle 2. R_F -Werte von Furocumarinen auf *Whatman* Nr. 1 bei 10° C.

Verbindung	R_F -Wert	Lösungsmittelpaar
Psoralen ⁴	0,077	Benzin/Propylenglykol
Angelicin ⁴	0,077	„
Imperatorin ⁴	0,21	„
Isoimperatorin ⁴	0,47	„
Pimpinellin ⁵	0,03	„
Isopimpinellin ⁵	0,12	„
Xanthotoxin ⁴	0,05	„
Bergapten ⁴	0,00—0,16 (Streifenbildung)	„
Isobergapten ⁶	0,00—0,22 (Streifenbildung)	„
Angelicin ⁴	0,58 (Streifenbildung nach oben)	Benzin/Äthylenglykol
Oxypeucedanin ⁴	0,63 (Streifenbildung nach oben)	„
Osthol ⁴	0,86	„
Xanthotoxin ⁴	0,35	„ ⁸
Peucedanin ⁴	0,88	„

³ *E. Späth* und *R. Hillel*, Ber. dtsh. chem. Ges. **72**, 963 (1939).

⁴ Zusammenfassende Darstellung: *E. Späth*, Ber. dtsh. chem. Ges. **70**, 83 (1937).

⁵ *F. Wessely* und *F. Kallab*, Mh. Chem. **59**, 589 (1932).

⁶ *F. Wessely* und *E. Nadler*, Mh. Chem. **59**, 141 (1932).

⁷ Unterhalb der Flecken wird nach einiger Zeit eine Gelbfärbung sichtbar.

⁸ Mit Methanolzusatz zur Kammer.

In einigen Fällen konnten isomere Cumarine ohne Schwierigkeiten getrennt werden. So konnten Pimpinellin von Isopimpinellin, Imperatorin von Isoimperatorin, Xanthotoxin von Bergapten und 3-Methyl-cumarin von 4-Methyl-cumarin einwandfrei geschieden werden.

In manchen Fällen zeigten Cumarine selbst nach oftmaliger und sorgfältiger Reinigung eigentümliche Flecken, die, obwohl nur mäßig verzerrt, in sich verschiedene Fluoreszenzfärbungen aufwiesen (z. B. Isobergapten und Isopimpinellin). Dies läßt entweder auf schwer abtrennbare Verunreinigungen oder Zersetzungserscheinungen schließen.

Experimenteller Teil.

Die Trennungen wurden auf *Whatman* Nr. 1-Filterpapier durchgeführt, wobei in der Richtung der kürzeren Seite des Originalbogens auf 10 cm breiten Streifen gearbeitet wurde. Die Anordnung entsprach derjenigen von *Gordon, Martin* und *Synge*⁹. Da eine bestimmte, möglichst immer in gleicher Weise durchgeführte Präparation der Papiere für annähernde Reproduktion der R_F -Werte unerlässlich ist, geben wir eine eingehende Schilderung der Durchführung der Papierchromatogramme.

Die Streifen wurden zuerst in eine wäßr. 20%ige Lösung der Glykole eingetaucht. Dabei diente eine Porzellanwanne von entsprechender Länge (große Porzellanschiffchen) zur Aufnahme des Lösungsmittels, in welcher, um Raum zu sparen, das Papier in Form eines Röllchens eingetragen und unter Aufrollen herausgezogen wurde. Nun wurde frei abtropfen und über Nacht an einem nicht zu warmen Ort (15°) „trocknen“ gelassen, wobei die Papierstreifen derart frei aufgehängt wurden, daß die Stelle, auf der später der Startpunkt zu liegen kommen sollte, unten zu liegen kam. Am Morgen soll sich das Papier schwach feucht anfühlen, da in anderem Falle schlechte Trennergebnisse erzielt werden. Die durch diese Präparation erzielte stehende Phase enthielt zirka 60% Glykol, wie Wägeversuche an gleich großen Stücken des ursprünglichen, des getränkten und abtropfen gelassenen sowie des „getrockneten“ Papiers ergaben, wobei angenommen wurde, daß beim Trocknen nur Wasser verdunstet.

Die Cumarine wurden in Mengen von 10 bis 20 γ 7 cm vom oberen Rande mit einer Mikropipette aufgetragen. Als Lösungsmittel verwendeten wir Pyridin, das uns teils wegen seiner guten Lösungseigenschaften, teils wegen der zu erwartenden desorbierenden Wirkung vorteilhaft schien. Nach dem Eintrocknen wurden die Papiere sofort in den Entwicklungstrog gebracht und nach Zusatz von einigen Milliliter Pyridin zur Kammer mit der Entwicklung begonnen. Das verwendete Benzin wurde destilliert (65 bis 70°). Die Entwicklung der Chromatogramme wurde stets im Dunkeln durchgeführt, da mit einer Zersetzung der Cumarine durch Lichteinwirkung gerechnet werden muß. Die Entwicklung geht sehr rasch vor sich (3 bis 4 Std.), so daß leicht mehrere Chromatogramme an einem Tag im selben Trog durchgeführt werden können. Nach dem Abhängen wird kurz bei Zimmertemp. getrocknet und das Papier unter der Analysenlampe begutachtet. Nach Markierung der sichtbaren Zonen wird das Papier mit konz. methylalkohol. KOH besprüht und nach mehrstündigem Hängen über dem Gasofen (zirka

⁹ *R. Consden, A. H. Gordon* und *A. J. P. Martin*, *Biochemic. J.* **38**, 224 (1947).

40°) nochmals untersucht. Während die Furocumarine meist schon ohne Vorbehandlung im UV-Licht sichtbar sind, erscheinen die anderen Cumarine im UV-Licht meistens erst nach Behandeln mit Alkali in der Wärme, wobei besonders die Methylcumarine längere Zeit benötigen.

Es sei noch darauf hingewiesen, daß es uns aus Gründen der Präparations-technik bequemer schien, immer nur 3 Substanzen oder Substanzgemische nebeneinander laufen zu lassen, wodurch allerdings ein Vergleich der R_F -Werte untereinander schwieriger wird.

Für wertvolle Unterstützungen und Anregungen dieser Arbeit danken wir ergebenst Herrn Prof. Dr. F. Wessely, Vorstand des II. Chemischen Universitätslaboratoriums, Wien.

Das Fluorid der Perchlorsäure — Perchlorylfluorid.

(Kurze Mitteilung.)

Von

A. Engelbrecht und H. Atzwanger.

Aus dem Chemischen Institut der Universität Innsbruck.

(Eingelangt am 13. Juni 1952. Vorzulegen in der Sitzung am 16. Okt. 1952.)

Bei Betrachtung der Fluoride bzw. Oxyfluoride SiF_4 , POF_3 , SO_2F_2 fällt eine zunehmende Stabilisierung des Moleküls, besonders gegen Hydrolyse auf, die im Sulfurylfluorid zur Ausbildung eines fast inerten Charakters dieses Gases führt. Das nächste Glied dieser Reihe wäre das Fluorid der Perchlorsäure: ClO_3F , das unseres Wissens bisher in der Literatur noch nicht beschrieben ist und dessen Eigenschaften im Hinblick auf die zunehmende Beständigkeit innerhalb dieser Verbindungs-klasse interessant erscheinen. Die einzige, uns bekannte Erwähnung dieser Verbindung stammt von H. Bode und E. Klesper¹, die durch Reaktion von Fluor mit Alkalichloraten bei tiefer Temperatur eine Substanz derselben Zusammensetzung erhielten, ihrer Verbindung aber auf Grund der chemischen Reaktionen die Struktur $\text{O}_2\text{Cl}-\text{O}-\text{F}$ zuschreiben, also mit einer Sauerstoff-Fluor-Bindung, und für sie den Namen Chloryl-oxy-fluorid vorschlagen.

Von den zwei, wahrscheinlich zu der gewünschten Verbindung führenden Reaktionen, der Umsetzung von Dichlorheptoxyd mit wasserfreier Flußsäure und der Elektrolyse eines Perchlorats in wasserfreier Flußsäure, wählten wir zur Vermeidung der schwierigen Handhabung größerer Mengen des Heptoxyds den zweiten Weg.

Die Elektrolyse wurde in einer, etwa 1 l fassenden Stahlzelle mit Nickelanode durchgeführt. Als Elektrolyt diente eine ungefähr 10%ige Lösung von Natriumperchlorat in wasserfreier Flußsäure, die angelegte

¹ Z. anorg. allg. Chem. 266, 275 (1951).