

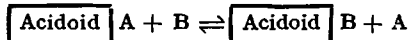
# Über Austausch-Adsorptionen in nichtwässrigen Lösungen

Von Prof. Dr. TH. BERSIN und Hans Georg MEYER\*)

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Marburg a. d. Lahn

Austausch-Adsorptionen in nichtwässriger Lösung sind, abgesehen von der Chromatographie, bisher nur wenig untersucht worden, obwohl zweifellos derartige Vorgänge im biochemischen Geschehen an der Phasengrenze Lipoid/Eiweiß eine Rolle spielen. Will man sich ein klares Bild über die Gesetzmäßigkeiten der Adsorption an Proteinen verschaffen, so ist es zweckmäßig, zunächst Modellversuche an den ihnen verwandten Silicaten vorzunehmen. In der lipoiden Phase gibt es keine Ionenreaktionen; Hydrolysen und Oxydoreduktionen spielen sich lediglich an den Grenzflächen ab. Das Feld wird beherrscht von den Dipolen, welche durch Beeinflussung der dielektrischen Eigenschaften Änderungen der Polarisation herbeiführen.

In apolaren Lösungsmitteln können sich protonenaffine Stoffe A, B an einem Acidoid je nach ihrer „Basizität“ gegenseitig verdrängen, z. B.:



A und B sind in diesem Falle Verbindungen, in welchen Atome mit einsamem Elektronenpaar, wie etwa N und O, vorkommen. Es handelt sich nicht um einen Kationenaustausch<sup>1)</sup> im üblichen Sinne, sondern um Verdrängung von Aminen aus Ammoniumsalzen, Sauerstoff-Verbindungen aus Oxoniumsalzen usw. Unter Anteiligerwerden einsamer Elektronenpaare von B kann als Adsorbens ein saures Silicat, wie Silicagel, eine aktivierte Bleicherde oder Bolus alba reagieren. Benutzt man eine farbige N-Base, etwa Dimethylaminoazobenzol (A), so kann das rot gefärbte Adsorbat<sup>2)</sup> für Austausch-Adsorptionen verwendet werden. Äquimolare Lösungen sauerstoff- und stickstoff-haltiger „Basen“ (B) verdrängen dann je nach ihrer „Basizität“ verschiedene Mengen des Azo-Farbstoffes, dessen Konzentration photometrisch gemessen werden kann. Daß es sich wirklich um eine Austausch-Adsorption handelt, kann bewiesen werden, indem man zunächst eine benzolische Lösung des polaren Stoffes mit dem Adsorbens zusammenbringt und die nun vom desorbierenden Stoff befreite Lösung zu dem roten Adsorbat gibt. Es findet alsdann kein Austausch statt. Die Menge des Verdrängungsmittels kann so gewählt werden, daß stets nur ein Teil des gesamten adsorbierten Farbstoffes desorbiert wird. Zur Ermittlung der Gesamtmenge des adsorbierten Farbstoffes wird dieser mit Aceton vollständig herausgewaschen. Dadurch ergibt sich eine Vergleichsmöglichkeit für die Basizität; es wird diese davon abhängig sein, inwieweit das einsame Elektronenpaar von Kräften der am O oder N stehenden Gruppen beansprucht wird. Es wird von der Basizität die Festigkeit der Wasserstoff-Brücke zum sauren Adsorbens abhängen.

Im Vordergrund des Interesses standen die lipoid-löslichen Wirkstoffe, Alkaloidbasen, Steroid-Hormone und öllösliche Vitamine, von denen anzunehmen war, daß sie als Enzym-Effektoren an der Phasengrenzfläche zur Wirkung kommen.

## Alkaloide.

Substanz	Extinktion	Bemerkungen
Papaverin .....	0,066	1 tert. N, 4 Äther-O
Narkotin .....	0,066	1 tert. N, 5 Äther-O, 1 Lacton
Veratrin .....	0,062	1 tert. N
Cocain .....	0,060	1 tert. N, 2 Estergr.
Brucein .....	0,057	2 tert. N, 3 Äther-O, 1 Carbonyl
Strychnin .....	0,055	2 tert. N, 1 Äther-O, 1 Carbonyl
Kodein .....	0,055	1 tert. N, 2 Äther-O, 1 phenol. OH
Chelidonin .....	0,055	1 tert. N, 4 Äther-O, 1 phenol. OH
Nicotin .....	0,052	2 tert. N
Thebain .....	0,051	1 tert. N, 3 Äther-O
Atropin .....	0,051	1 tert. N, 1 Estergr., 1 alkohol. OH
Aconitin .....	0,051	1 tert. N, 4 Äther-O, 2 Estergr., 3 OH

\*) D 4.

1) G. Hesse: Adsorptionsmethoden im chemischen Laboratorium. Berlin 1943, S. 107.

2) Weis u. Mitarb., Ber. dtsch. chem. Ges. 72, 1740, 2099 [1939]; Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. 47, 65 [1941].

Für die untersuchten Substanzen ließ sich als Konzentrations-optimum die  $m/1000$ -Lösung ermitteln, von der immer gleiche Mengen (2 ml) auf gleiche Adsorbatmengen (200 mg) einwirkten, so daß eine gute Vergleichsmöglichkeit gegeben war. Die Prüfung der Eichkurve der Lösung von p-Dimethylaminoazobenzol in Benzol ergab die Gültigkeit des Beerschen Gesetzes, so daß nachfolgend lediglich abgelesene Extinktionswerte angeführt werden.

Im Gegensatz zu den gefundenen hohen Basizitätswerten der bisher untersuchten Alkaloide stehen die niedrigen Werte von Colchicin, Piperin und dem zum Vergleich untersuchten Acetanilid.

## Säureamide.

Substanz	Extinktion	Bemerkungen
Acetanilid .....	0,017	N-Acetyl
Piperin .....	0,013	1 N-Acyl, 2 Äther-O
Colchicin .....	0,013	1 N-Acetyl, 3 Äther-O, 1 Carbonyl

Weiterhin wurden zur Orientierung noch verschiedene aliphatische und aromatische Amine untersucht.

## Amine.

Substanz	Extinktion	Substanz	Extinktion
<b>aliphatische</b>		<b>sekundäre aromatische</b>	
Trimethylamin .....	0,054	o-Amino-diphenylamin .....	0,042
Äthylamin .....	0,053	Monomethylamin .....	0,041
Colamin .....	0,041	2-Amino-diphenylamin-4'-carbonsäure .....	0,024
Ammoniak .....	0,041		
Urethan .....	0,024	<b>primäre aromatische</b>	
<b>tertiäre aromatische</b>		p-Amino-phenol .....	0,048
Dimethylanilin .....	0,067	Benzidin .....	0,042
Pyridin .....	0,064	Anilin .....	0,040
Acridin .....	0,062	2,2'-Diamino-diphenylsulfid .....	0,023
Urotropin .....	0,059	p-Nitranilin .....	0,019
Chinolin .....	0,056	m-Nitranilin .....	0,004
o-Oxy-chinolin .....	0,050		
p-Dimethylamino-benzaldehyd .....	0,021		

Wie ein Überblick über die erhaltenen Werte zeigt, gelingt es mit Hilfe dieser Methode, den Einfluß verschiedenartiger Substituenten auf die Basizität vorläufig rein qualitativ in der erwarteten Richtung abzuschätzen. Am stärksten basisch sind demnach die Verbindungen mit tertiären Stickstoff-Atomen. Bemerkenswert ist das Herausfallen des Colchicins und Piperins aus der Reihe der Alkaloide, denn beide enthalten kein tertiäres Stickstoff-Atom, sondern sind Säureamide. Eine ähnliche Verringerung der Basizität zeigen die Urethan-Gruppe und der aromatische Benzol-Ring; verstärkt wird die Wirkung des aromatischen Ringes noch durch Nitro-Gruppen. Auch freie Carboxyl-Gruppen setzen die Basizität herab. Beim Vorhandensein mehrerer Stickstoff-Atome in der Molekel wirkt sich immer nur eines aus.

Onodera<sup>3)</sup> und Smorodinzew<sup>4)</sup> haben bei ihren Untersuchungen über die Wirkung von Alkaloiden auf Fermente gefunden, daß die freien Basen eine starke Hemmwirkung zeigen, während Salze meist nur schwächer wirkten. Hesse<sup>5)</sup> hat für die Opiumbasen eine bestimmte Reihenfolge in bezug auf ihre Wirkung angegeben. Wenn man diese Reihenfolge mit den gefundenen Basizitätswerten vergleicht:

in Richtung des Pfeiles zunehmende Analgesie	↑	Papaverin 0,066	in Richtung des Pfeiles zunehmende Krampfwirkung
		Kodein 0,055	
		Narkotin 0,066	
		Thebain 0,051	

so fällt nur der Narkotin-Wert aus der Reihe heraus.

Im Zusammenhang mit den neueren Arbeiten von Lettré<sup>6)</sup> über die Mitosehemmung durch Colchicin, Narkotin und Basen der Adrenalin-Reihe gewann auch eine Beobachtung von

3) Biochemic. J. 9, 544 [1915].

4) Biochem. Z. 181, 149 [1927].

5) Die Rausch- und Genußgifte. 1938.

6) Naturwiss. 30, 184 [1942].

v. Möllendorff<sup>7)</sup> über Mitosestörungen durch Steroid-Hormone Interesse. Es wurde daher eine Reihe von Carbonyl-Verbindungen nach der obigen Methode auf ihre Basizität untersucht. Die Ergebnisse werden an anderer Stelle veröffentlicht. Hier seien lediglich die Extinktionswerte von Testosteron = 0,031 und Cholestenon = 0,008 mitgeteilt, aus denen zu ersehen ist, daß das hormonal wirksame Sterin im Gegensatz zum unwirksamen und auch keine Mitosestörungen hervorrufenden Cholestenon beträchtlich basische Eigenschaften zeigt; ähnliche Werte zeigen Progesteron und Desoxycorticosteronacetat. Bereits Tschelinzew<sup>8)</sup> wies auf die Löslichkeit von Ketonen in konz. Salzsäure hin und zeigte, daß die Basizität der Sauerstoff-Verbindungen in folgender Reihenfolge fällt: Aldehyde und Ketone > Carbonyl-Alkoxyl-Verbindungen (Ester) > Hydroxyl-Verbindungen (Alkohole) > Äther. Einen gleichen Einfluß findet man bei der Untersuchung der Redoxpotentiale (Proske<sup>9)</sup>) und der Raman-Spektren (Kohlrausch<sup>10)</sup>).

Die bisherigen Untersuchungen erstreckten sich alle auf ein unbiologisches Adsorbens. Es soll weiterhin gezeigt werden, daß auch an biologischem Material Austausch-Adsorptionen stattfinden können. Zu diesem Zweck wurde ein Adsorbat von Carotin (Hoffmann-La Roche) an Ovo-Vitellin (Eigelb) benutzt. Als Lösungsmittel diente wieder absolutes Benzol. Es zeigte sich, daß man mit Hilfe von Alkaloidbasen den Kohlenwasserstoff Carotin vom Protein verdrängen kann.

Substanz	Extinktion	entspr. mg Carotin/5 ml
Cocain	0,320	0,063
Narkotin	0,178	0,034

Zweifellos wird durch die konjugierten Doppelbindungen in der Carotin-Molekel ebenso wie bei den Carbonyl-Verbindungen<sup>11)</sup> die Polarisierbarkeit und damit das Auftreten mesomerer Grenzformen mit Protonenaffinität begünstigt. Wir dürfen also auch die Äthylen-Verbindungen in unserem Sinne als „C-Basen“ in nichtwässrigen Lösungsmitteln ansehen und ihre Verdrängung durch N-Basen aus Adsorbaten als Basenaustausch bezeichnen.

## Versuchsteil.

### Adsorbat-Herstellung

#### Bolus-Adsorbat.

100 g Bolus alba werden mit einer Lösung von 500 mg p-Dimethylamino-azobenzol in 125 ml abs. Benzol übergossen, kurz geschüttelt (2 min) und auf einer Glassinternutsche abgesaugt, mit etwa 200–300 ml abs. Benzol ausgewaschen und im Exsiccator über Silicagel oder Kohle getrocknet. Es ist dabei, besonders beim Absaugen, darauf zu achten, daß keine Feuchtigkeit hinzutritt (CaCl<sub>2</sub>-Rohr). Das Adsorbat ist so lange auszuwaschen, bis das abgesaugte Benzol farblos abläuft. Feuchtigkeit entfärbt, deshalb trockene Aufbewahrung, am besten im Pulverglas. Zu starke Trocknung entfärbt ebenfalls. Mit Aceton läßt sich der Farbstoff vollkommen verdrängen. Man kann dadurch die vorhandenen Farbstoff-Gesamtmengen bestimmen. Es wurden Adsorbat-Mengen im Verhältnis 2 : 3 (z. B. 200 mg und 300 mg) durch Desorption mit Aceton auf ihren Farbstoffgehalt geprüft und das Verhältnis der Extinktionen zu 0,093/0,14 [2/3] gefunden. Das Adsorbat ist also homogen.

#### Vitellin-Adsorbat.

Ein Eigelb wird im Becherglas unter Umrühren mit 20 ml Alkohol vermischt (tropfenweise), nach Homogenisierung mit 50 ml Äther versetzt (Vitellin fällt dadurch aus), durch Faltenfilter filtriert und mit 30 ml Äther nachgewaschen. Der Filterrückstand wird mehrmals mit Alkohol—Äther (1 : 1) ausgewaschen und abzentrifugiert, zuletzt mit abs. Benzol ausgewaschen bis zur Entfärbung und im Exsiccator über Silicagel getrocknet (weißes Pulver).

1,5 g Vitellin werden mit einer Lösung von 20 mg Carotin in 10 ml abs. Benzol übergossen, längere Zeit geschüttelt, abzentrifugiert und im Exsiccator über Kohle getrocknet. Das Adsorbat ist vor Licht und Sauerstoff zu schützen, am besten im dunklen Exsiccator aufzubewahren!

## Versuche.

**Methodik für Bolus-Adsorbat:** Zur Untersuchung jeder Substanz nimmt man 2 Zentrifugierröhrchen mit je 200 mg Bolus-Adsorbat. In das erste Röhrchen werden 2 ml einer m/1000-Lösung der betreffenden Substanz in abs. Benzol, in das zweite Röhrchen 2 ml abs. Benzol (als Kompensationsflüssigkeit) pipettiert, mehrmals gut aufgeschüttelt und etwa 3 min zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird in je eine Küvette mit 2,49 mm Schichtdicke gegossen und im Pulfrich-Photometer der Extinktionswert E ermittelt. Mittel aus 10 Ablesungen (5 links, 5 rechts), Filter S 47. An Hand einer Eichkurve kann die Menge des desorbierten Farbstoffes abgelesen werden. Zum Vergleich genügen aber auch die Extinktionswerte allein infolge Gültigkeit des Beerschen Gesetzes.

Die Zentrifugierröhrchen müssen gut trocken sein und zum Schutz gegen Feuchtigkeit mit Korken versehen werden, die zur Vermeidung von Verwechslungen gekennzeichnet werden. Zweckmäßig wird die Kompensationsküvette mit Deckglas versehen. Das Adsorbat muß kurz vor dem Versuch abgewogen werden, längeres Stehen in den Zentrifugierröhrchen führt wegen Feuchtigkeitszutritt zu niedrigen Werten.

**Apparaturfehler:** Das Pulfrich-Photometer ist durch Verschieben eines Rohrstutzens so einzustellen, daß der E-Blindwert (10 Ablesungen ohne Küvette) nicht mehr als 0,002 bis 0,003 ergibt.

Der mittlere Fehler der Einzelmessung ( $f_m$ ) wurde von 4 Extinktionswerten für Codein zu  $\pm 10,7\%$  errechnet.

Einzelwerte	0,0550	$f_1 = 0,0054$	$f_1^2$	0,000025
	0,0554	$f_2 = 0,0050$	$f_2^2$	0,00002516
	0,0643	$f_3 = 0,0039$	$f_3^2$	0,00001521
	0,0679	$f_4 = 0,0075$	$f_4^2$	0,00005625
M = Mittel	0,0604		$\Sigma (f^2)$	0,00012562

$$f_m = \sqrt{\frac{\Sigma (f^2)}{n-1}} = \frac{0,00647}{10,7\%}$$

Die Ausgangsstoffe wurden mit den üblichen Methoden gereinigt und auf Reinheit geprüft.

**Herstellung der m/1000-Lösungen:** Feste Substanzen wurden für 15 ml Lösung berechnet, in 15-ml-Meßkölbchen eingewogen und mit abs. Benzol bis zur Marke aufgefüllt. Lösen gegebenenfalls durch vorsichtiges Erwärmen.

Von flüssigen Substanzen wurden 0,01 ml abpipettiert und durch Umpipettierung in 15-ml-Meßkölbchen eine m/1000-Lösung in abs. Benzol hergestellt. (Berücksichtigung von Temperatur und Dichte!)

Gasförmige Stoffe lagen in Form von Lösungen in nicht benzolischen Lösungsmitteln vor (z. B. Trimethylamin in 33%iger wässrig-alkoholischer Lösung). Durch Auftropfen auf BaO wurde das Gas freigesetzt, über Natronkalk und BaO getrocknet und durch vorsichtiges Saugen eingeleitet. (Benzol mit Wasser kühlen!) Der Gehalt der Benzol-Lösung wurde durch Titration mit 0,05 n p-Toluolsulfonsäure (in Chloroform) gegen 5 Tropfen einer 0,05%igen p-Dimethylamino-azobenzol-Lösung (in Benzol) titriert. Genauigkeit der Burette: 0,02 ml. Durch Umpipettierung wurde in 15-ml-Meßkölbchen eine m/1000-Lösung hergestellt.

**Methodik für gefärbte Lösungen:** Ausschaltung der Eigenfarbe der Lösungen. Es werden 3 Zentrifugierröhrchen verwandt. Das erste und zweite enthalten je 200 mg Bolus-Adsorbat, das dritte 200 mg reinen Bolus. In das erste und dritte werden je 2 ml der Untersuchungslösung, in das zweite 2 ml abs. Benzol pipettiert.

Nach mehrmaligem Aufschütteln und anschließendem Abzentrifugieren vergleicht man die überstehenden Lösungen von 1 und 2 miteinander (Pulfrich) und erhält den Extinktionswert:  $E_1$  (2 fungiert als Kompensationsflüssigkeit). Man vergleicht 3 und reines Benzol miteinander (Benzol : Kompensationsflüssigkeit) und erhält den Wert:  $E_2$ .

Der Extinktionswert E ist dann:  $E = E_1 - E_2$ .

**Versuche mit Vitellin-Adsorbat:** Man nimmt für jede Untersuchung 2 Zentrifugierröhrchen mit je 50 mg Vitellin-Adsorbat. In das erste Röhrchen werden 5 ml einer m/1000-Lösung der betr. Substanz in abs. Benzol, in das zweite Röhrchen 5 ml abs. Benzol (als Kompensationsflüssigkeit) pipettiert, mehrmals gut aufgeschüttelt und 3 min abzentrifugiert. Mit der überstehenden Lösung wird im Photometer mit 2,49-mm-Küvetten, Filter S 47, der Extinktionswert wie oben bestimmt. Aus einer Eichkurve kann die Menge des desorbierten Carotins abgelesen werden.

Eingeg. 25. Juli 1944[A24].

<sup>7)</sup> Schweiz. med. Wschr. 71, 329 [1941]; Z. Zellforsch. A. 23, 35 [1942]; vgl. auch Kitagawa, Folia pharmacol. Japon. 81, 17 [1941]; Chem. Zbl. 1942 I, 3106.

<sup>8)</sup> C. R. [Doklady] Acad. Sci. URSS 1934, IV, 304; Chem. Zbl. 1936 I, 2537.

<sup>9)</sup> Diese Zschr. 56, 24 [1943].

<sup>10)</sup> Naturwiss. 22, 161 [1934].

<sup>11)</sup> Vgl. J. Weiß, J. chem. Soc. [London] 1948, 462 [1943]; Chem. Zbl. 1944 I, 532.