

Zum Beweis dafür, daß die Trennung auf einer Wirkung von Carboxyl-Gruppen beruht, haben wir das Papier einige Stunden mit Diazomethan in Äther behandelt, wonach die Carboxyl-Bestimmung negativ ausfiel und alle Aminosäuren sich mit der unregelmäßig wandernden Flüssigkeitsfront fortbewegten.

Amine

Die papierchromatographische Trennung von Aminen ist auf Carboxyl-Papier ebenfalls möglich. Wie in einigen orientierenden Versuchen festgestellt wurde, läßt sich Cysteamin vom Histamin glatt in der bei den basischen Aminosäuren bewährten Salzlösung vom gleichen p_H abtrennen. Histamin zeigte hierbei R_f 0,16, Cysteamin R_f 0,45. Auch die Trennung einiger Alkaloide aus Calabassen-Curare konnte ähnlich ausgeführt werden.

Anorganische Ionen

Auch hier wurden nur eine Reihe orientierender Versuche ausgeführt, die die prinzipielle Anwendbarkeit des Carboxyl-Papiers zeigen. Wie aus Bild 4 ersichtlich, lassen sich z. B. Blei, Wismut und Quecksilber in m/10 Ammoniumacetat-Lösung von p_H 3 auf 1%-COOH-haltigem Papier scharf trennen. Das entwickelte, noch feuchte Chromatogramm wurde in eine Atmosphäre von H_2S gebracht. Silber hat sich bei dieser Pufferkonzentration vom Blei schlecht getrennt, kann jedoch im m/20 Puffer vom gleichen p_H vom Blei abgetrennt werden, das dann fast am Ausgangspunkt zurückbleibt. Ein zweidimensionales Vorgehen führt also hier leicht zum Ziel. Auch die Trennung von Arsen, Antimon und Zinn ist bei p_H 5 mit m/20 Ammoniumacetat-Lösung gut möglich, worin Antimon als Antimonyl-Ion nahe dem Startpunkt bleibt und Arsen als Arseniat etwa mit R_f 0,8, Zinn als Zinn(II)-Ion mit $R_f \sim 1$ wandern. Die systematische Durchprüfung weiterer Puffer- oder Salzlösungen, u. U. unter Zuhilfenahme komplexbildender Komponenten wird sicherlich weitere Anwendungsmöglichkeiten des Carboxyl-Papiers bringen.

Die Übertragung der Befunde von Davidson (loc. cit.) bei synthetischen Farbstoffen läßt auch am Carboxyl-Papier bei dieser Stoffklasse gewisse Erfolge erwarten. Ebenso erscheint seine Verwendung für die Trennung von

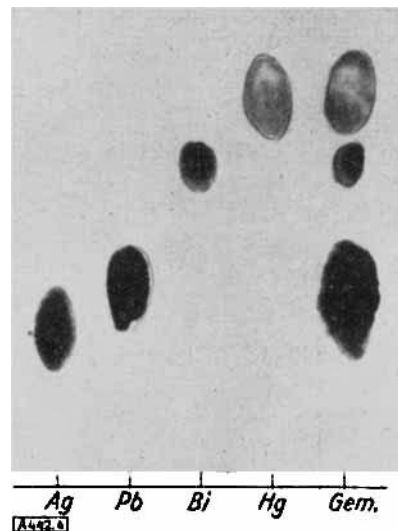


Bild 4
Papierchromatogramm einiger Kationen auf 1% COOH-haltigem Papier mit Ammoniumacetat-Lösung (m/10, p_H 3) entwickelt und mit H_2S sichtbar gemacht

Peptiden mit verschiedenem Gehalt an basischen Aminosäuren aussichtsreich. Neben der Erleichterung gewisser analytischer Aufgaben liegt der Wert des neuen Papiers in der einfachen Ausführung von Vorproben, da eine Übertragung solcher Ergebnisse auf die präparative Chromatographie am Pulver aus demselben Material möglich ist.

Eingeg. am 5. Juli 1952 [A 442]

Zuschriften

Kristallisation von Diphosphopyridinnucleotid (Cozymase)

Von Priv.-Doz. Dr. KURT WALLENFELS
und WALTER CHRISTIAN

Aus dem biochemischen Laboratorium Tutzing der C. F. Boehringer & Soehne G. m. b. H., Mannheim-Waldhof

Die Reinigung roher Cozymase-Präparate zu solchen hohen Reinheitsgrades, wie sie für gewisse enzymchemische Untersuchungen benötigt werden, ist eine mühsame und langwierige Laboratoriumsarbeit, bei welcher man von der fraktionierten Fällung als Metallsalz, der Adsorption an Aktivkohle¹⁾, der Gegenstromverteilung²⁾, der fraktionierten Elution aus Ionenaustauschern^{3, 4)} bzw. von der Kombination mehrerer derartiger Schritte Gebrauch macht. Die Reinheitsbestimmung der so erhaltenen Präparate beruht auf der Bestimmung des Extinktionskoeffizienten der hydrierten Verbindung (DPN red) bei der Wellenlänge 340 m μ , den man nach Reduktion mit Natriumdithionit oder einem geeigneten Enzym in Gegenwart eines entsprechenden Wasserstoff-Donators messen kann. Der diesen Bestimmungen zugrunde liegende Extinktionskoeffizient ϵ von reinem DPN red wird von verschiedenen Autoren verschieden hoch angegeben und schwankt zwischen 6.3 und 9.4 cm²/mg⁵⁾. Diese Differenzen beruhen offenbar darauf, daß alle benutzten Cozymase-Präparate amorph waren, so daß sich der wahre ϵ -Wert bisher noch nicht sicher festlegen ließ.

Durch Anwendung geeigneter Bedingungen⁶⁾ ist es uns gelungen, aus einem 75 %igen DPN des Handels⁷⁾ den Wirkstoff als kristallisiertes Chininsalz nahezu quantitativ abzuscheiden. Hierbei bleiben das überschüssige Chinin, die das DPN hartnäckig begleitenden anderen Nukleotide und etwa 10 % der DPN-Aktivität in der Mutterlauge zurück.

Das Chininsalz des DPN kristallisiert in feinen, meist zu fächer- und kugelförmigen Büscheln angeordneten Nadeln (Bild 1). Es weist einen DPN-Gehalt von 57.0 %, entsprechend einem DPN : Chinin-Verhältnis von 2 : 3, auf und schmilzt zwischen 162 und 170° C unter Zersetzung.



Bild 1
Chininsalz des DPN

¹⁾ G. A. LePage, J. biol. Chemistry 168, 623 [1947]; Biochemical Preparations, New York, 1949 S. 28.

²⁾ G. H. Hogeboom u. G. T. Barry, J. biol. Chemistry 176, 935 [1948].

³⁾ J. B. Neilands u. Ake Akeson, ebenda 188, 307 [1951].

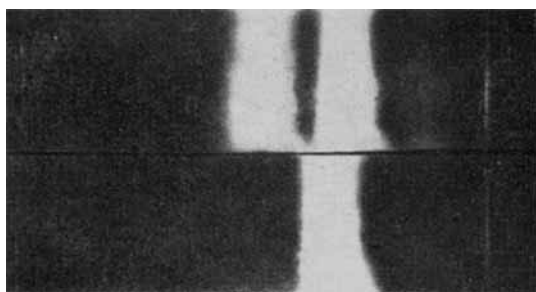
⁴⁾ K. Wallenfels u. W. Christian, unveröffentlicht.

⁵⁾ F. Schlenk, in Sumner-Myrbäck: The Enzymes, Vol. II, Part I New York 1951, S. 263.

⁶⁾ Die ausführliche Beschreibung erfolgt a. a. O.

⁷⁾ Präparat der Fa. C. F. Boehringer & Soehne G. m. b. H., Mannheim-Waldhof.

Die Zerlegung des Chininsalzes gelingt an einer Säule eines schwach basischen Anionenaustauschers (Amberlite IR 4B), wobei 100% der DPN-Aktivität zurückgewonnen werden. Nach der üblichen Fällung mit Aceton aus wäßriger Lösung wird ein vollkommen farbloses Präparat erhalten, welches nach der Reduktion mit Äthylalkohol und kristallisierter Alkoholdehydrogenase⁷⁾ unter Berücksichtigung des Wassergehaltes einen Wert von $\epsilon = 9.43 \text{ cm}^2/\text{mg}$ ergibt. Das Präparat zeigt nach der Elektrophorese in Filtrierpapier nur eine, bei 260 m μ absorbierende Bande, während im Ausgangsmaterial 3 Komponenten mit dieser Eigenschaft enthalten sind (Bild 2).



[Z 40.2]

Bild 2

Eingeg. am 16. Juli 1952

[Z 40]

Die Schmelzpunkte primärer Monothiocarbamid-säure-S-n-alkyl-ester Thiocarbamate. VI. Mitteilung

Von Doz. Dr. RANDOLPH RIEMSCHEIDER und
Dipl.-Chem. G. ORLICK

Freie Universität Berlin-Dahlem

Durch längere Einwirkung 95proz. Schwefelsäure auf Rhodan-Verbindungen in der Kälte und anschließende Hydrolyse der entstandenen Reaktionsprodukte ist in unserem Laboratorium 1948 bis 1952 eine größere Anzahl Monothiocarbamidsäure-S-ester¹⁾, R-S-CO-NH₂ (I), hergestellt und untersucht worden²⁾. Mit dieser einfachen Operation ist die Identifizierung vieler aromatischer Rhodanide möglich (Überführung in entspr. I-Verbindungen). Obwohl auch die meisten aliphatischen und hydroaromatischen Rhodanide derart umgewandelt werden können, eignen sich die entstehenden I-Verbindungen nur teilweise als Derivate zur Identifizierung, da viele aliphatische Thiocarbamate¹⁾ ähnlich schmelzen. Die Schmelzpunkte der von uns synthetisierten primären aliphatischen I-Verbindungen vom Monothiocarbamidsäure-

¹⁾ Thiocarbamate ist eine allgemeine Bezeichnung für Monothiocarbamidsäure-S-R-ester (Monothiokohlenstoff-S-R-esteramide).
²⁾ Z. B. J. Amer. Chem. Soc. 73, 5905 [1951]; Pharmazie 4, 460 [1949]. Weitere Literatur ebenda.

S-methyl-ester bis zum Monothiocarbamidsäure-S-n-hexadecyl-ester unterscheiden sich – mit Ausnahme der n-Propyl-Verbindung – nur wenig³⁾. Diese Übereinstimmung der Schmelzpunkte von Homologen ist auffällig. Im allgem. stellt man in einer homologen Reihe mit steigendem Molekulargewicht einen Anstieg oder eine Oszillation der Schmelzpunkte fest. Eine gewisse Parallele scheint in den Reihen R-CO-NH₂ (II) und R-NH-CO-NH₂ (III) zu bestehen (R = primärer, normaler, aliphatischer Rest). Allerdings ist das in der Literatur für III vorliegende Versuchsmaterial nicht ausreichend; für II läßt sich eine „Schmelzpunktkonstanz“ nur angeben, wenn man von den zahlreichen z.T. stark differierenden Schmelzpunktangaben der Literatur „passende“ herausnimmt. Bei den primären normalen aliphatischen Thiocarbamaten ist der Effekt aber eindeutig. Die Schmelzpunkte der noch nicht hergestellten C₁₃-, C₁₅- und C₁₇-Verbindungen der Reihe werden kaum von den für C₁₂, C₁₄ und C₁₆ beobachteten abweichen (Bild 1). Die für ein Gemisch von zwei benachbarten primären aliphatischen Thiocarbamaten beobachtete Schmelzpunktdepression beträgt in den untersuchten Fällen 3,5 bis 5° (Tabelle 1).

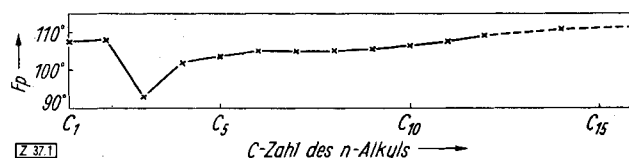


Bild 1

Die Schmelzpunkte primärer Monothiocarbamidsäure-S-n-alkyl-ester

Die weitgehende Übereinstimmung der Schmelzpunkte in dieser homologen Reihe dürfte u. a. damit zusammenhängen, daß die Fixpunkte der höheren Homologen dem wahren Wert zustreben, während sie bei den niederen Gliedern der Reihe infolge stärkerer Assoziation zu hoch liegen. Die höheren aliphatischen I-Verbindungen werden wegen des geringer werdenden Einflusses der funktionellen Gruppe Kohlenwasserstoff-ähnlicher. Ultrarotspektroskopische Untersuchungen dieser Frage sind im Gange.

R ₁ · S · CO · NH ₂	Fp °C	Mischschmelzpunkt mit R ₂ · S · CO · NH ₂					
		R ₂ : n-C ₈ H ₁₇		n-C ₈ H ₁₉		n-C ₁₀ H ₂₁	
R ₁	Fp °C	°C	ΔT	°C	ΔT	°C	ΔT
n-C ₅ H ₁₁	103,5	89,5–91,5	14,5°	—	—	—	—
n-C ₆ H ₁₃	105,0	93,5–95,5	9,5°	92–93	13,0°	—	—
n-C ₇ H ₁₅	105,0	99–101	5,0°	97–98	8,0°	90,5–92,5	15,0°
n-C ₈ H ₁₇	105,0	—	—	100–102	4,5°	96,5–98,5	9,0°
n-C ₉ H ₁₉	105,5	100–102	4,0°	—	—	101,5–102,5	4,5°
n-C ₁₀ H ₂₁	106,5	96,5–98,5	7,5°	101,5–102,5	3,5°	—	—
n-C ₁₁ H ₂₃	107,5	95,5–97,5	8,5°	98–99	7,0°	102,0–103,5	3,7°
n-C ₁₂ H ₂₅	109,0	—	—	95–97	9,5°	97–100	8,0°

Tabelle 1
Mischschmelzpunkte primärer Monothiocarbamidsäure-S-n-alkyl-ester

Eingeg. am 5. Mai 1952

[Z 37]

³⁾ Besonders benachbarter Homologer.

Versamlungsberichte

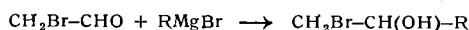
GDCh-Ortsverband Freiburg-Südbaden

am 13. Juni 1952

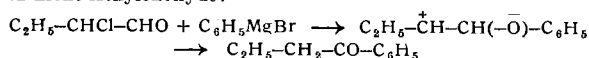
A. KIRRMANN, Straßburg: *Physikalisch-chemische Untersuchungen über α-halogenierte Aldehyde.*

Untersucht wurden gesättigte aliphatische Aldehyde mit 2 bis 7 Kohlenstoff-Atomen, in denen Chlor oder Brom in α-Stellung substituiert ist. In ihrem Raman-Spektrum sind die Carbonyl-Frequenzen deutlich erhöht.

Unter den chemischen Reaktionen führen Grignard-Verbindungen teils zu Bromhydrinen



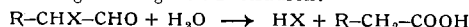
teils zu Ketonen. Zwischenstufen sind instabile polare Formen und nicht Äthylenoxyde:



Die Leichtigkeit der alkalischen Hydrolyse setzt Hydrat-Bildung an der Aldehyd-Gruppe voraus. Die Stabilität der Hydrate wurde durch Ultraviolett-Absorption gemessen. Der qualitative

Vergleich ist auch durch eingehende polarographische Versuche möglich. Monohalogenierte Aldehyde haben polarographisch zwei Wellen, entspr. einer Reduktion des Halogens und des Aldehyds. Beide Wellen sind durch Dissoziation des Hydrats bedingt. Bei Chloral und Bromal verschwindet die Aldehyd-Welle. Eine neue Halogen-Welle ist durch Diffusion bedingt. Sie gehört also dem Hydrat selber an, was durch die Polarographie der Trihalogen-Acetale bestätigt wurde.

Die Hydrolyse führt zu Umlagerungen. Nur stark verdünnte Lauge bildet vorwiegend Oxyaldehyd. Blei-oxynitrat bewirkt durch heterogene (Oberflächen-Kontakt) Katalyse in wäßriger Aufschlammung Bildung von Fettsäuren:



Außerdem findet man Oxyketone.

Kinetische Versuche wurden vorgenommen durch Titrieren des freien Halogen-Ions und durch polarographische Bestimmung des reagierenden Aldehyds. Letzterer verschwindet im Grenzfall zweimal rascher, als Halogen auftritt. Diese Kinetik läßt sich deuten und berechnen durch ein System zweier Simultanreaktionen.

W. [VB 394]