

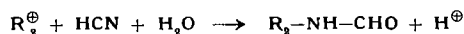
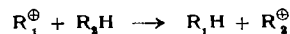
N-Formyl-amine aus Isoparaffinen

Von Dr. W. HAAFF

Maz-Planck-Institut für Kohlenforschung, Mülheim/Ruhr

Olefine bzw. Alkohole reagieren in Gegenwart von konz. Schwefelsäure mit Blausäure unter Bildung von N-Formyl-aminen¹⁾. Diese als Ritter-Reaktion bekannte Umsetzung läßt sich durch einen Carbonium-Ionen-Mechanismus deuten²⁾.

Auch Isoparaffine werden in N-Formylamine überführt, wenn man sie mit geeigneten Olefinen oder Alkoholen nach der Ritter-Reaktion umsetzt. Hierbei übernimmt ein aus dem Olefin bzw. Alkohol gebildetes Carbonium-Ion ein Hydrid-Ion vom Isoparaffin und wird damit zum gesättigten Kohlenwasserstoff, während das Isoparaffin in ein tertiäres Carbonium-Ion übergeht, das Blausäure anlagert.



Als Beispiel sei die Darstellung von 1-Formylamino-adamantan (Fp 140 °C) erwähnt. Dieses läßt sich mit tert. Butyl-Carbonium-Ion (aus tert. Butanol) als Hydrid-Acceptor in 76-proz. Ausbeute aus Adamantan darstellen. Seine Verseifung mit konz. Salzsäure liefert 1-Amino-adamantan, Fp 180–192 °C (Lit.³⁾: 160–190 °C).

Eingegangen am 30. Januar 1961 [Z 41]

¹⁾ R. Graf, DBP 870856 (1940); Chem. Zbl. 1954, 6341. — J. J. Ritter u. P. P. Minieri, J. Amer. chem. Soc. 70, 4045 [1948]. — ²⁾ M. Mouseron, R. Jacquier u. H. Christol, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 235, 57 [1952]. — ³⁾ H. Stetter, J. Mayer, M. Schwarz u. Q. Wulff, Chem. Ber. 93, 226 [1960].

Versamlungsberichte

Moderne Methoden der Analyse organischer Verbindungen

Die Arbeitstagung wurde von der GDCh-Fachgruppe „Analytische Chemie“ vom 26. bis 29. Oktober 1960 in München veranstaltet.

Aus den Vorträgen:

Mikroelementaranalyse; funktionelle Gruppen

Einen Beitrag zur Automatisierung der Elementaranalyse lieferte H. Malissa (Wien) mit seinem Bericht über eine Schnellbestimmung von Kohlenstoff und Schwefel (und evtl. Wasserstoff) in organischen Substanzen. Da der Hauptanteil der Analysendauer bei der Austreibung der Verbrennungsprodukte sowie der Konstantwägung der Absorptionsröhrchen liegt, mußte hier angesetzt werden, um eine wesentliche Zeitverkürzung zu erzielen. Die Substanz wird oberhalb 1000 °C im leeren Rohr mit reinem Sauerstoff verbrannt und die Verbrennungsgase mit entspr. Geschwindigkeit abgesaugt. Eine thermische Dissoziation von Kohlendioxyd, Schwefeldioxyd und Wasser spielt bei der gewählten Temperatur noch keine Rolle. Die Verbrennungsprodukte werden in Elektrolyten absorbiert. Die Leitfähigkeitsänderung wird über Kompensationslinienschreibern zur quantitativen Bestimmung ausgewertet. Die Gesamtanalysendauer liegt einschließlich der zeitraubenden Einwaage bei etwa 8–10 min. Durch Bestimmung des C/H-Verhältnisses nach Unterzaucher ist eine weitere Zeitersparnis zu erzielen.

R. Belcher (Birmingham) besprach die Arbeitsweise im Ultramikrobereich. Als Waage verwendet er die Quarzfaden-Ultramikrowaage der Fa. Oerting Ltd. Die Wägung ist rasch und einfach ausführbar. Bei einer Belastung von 0,5 g kann auf 0,1 µg genau abgelesen werden. Besonders sei die von Belcher entwickelte Fluorbestimmung erwähnt. Diese bisher einzige Reaktion, bei der Fluorid-Ionen eine Färbung liefern, beruht auf der Umsetzung von F⁻ bei pH = 4,3 mit der Chelatverbindung von Cer(III) mit dem sog. „Alizarinkomplexon“ (1,2-Dihydroxyanthrachinon-3-methylamin-N,N-diessigsäure). Nach etwa 30 min ist die Farbentwicklung beendet und die Blaufärbung kann gemessen werden. Auch der Kolbenaufschluß, die Verbrennung der Substanz im O₂-gefüllten Kolben, kann in der Ultramikroanalyse verwendet werden, wenn die Endbestimmung im Kolben ausgeführt wird. Zur quantitativen Bestimmung von Phosphor wird Chinolin-phosphormolybdat dem Ammoniumphosphormolybdat vorgezogen. Zur Bestimmung des Arsens wird die Verbrennung nun auch an einer Quarzhalterung, wie sie Merz¹⁾ vorgeschlagen hat, ausgeführt.

W. Rademacher und A. Hoverath (Essen) entwickelten ein Verfahren zur Bestimmung von Kohlenstoff, Wasserstoff und Schwefel, das eine Bereicherung der Automatisierung der Elementaranalyse verspricht. Die Apparatur ist einfach und im wesentlichen der von Grote und Krekeler nachgebildet. Der Entgasungsraum wird zunächst mit Stickstoff beschickt, während in den Verbrennungsraum sofort Sauerstoff eingeleitet wird. Nach Verbrennen der flüchtigen Anteile wird der Stickstoff-Strom abgestellt und ebenfalls Sauerstoff durchgeleitet. Dadurch werden die Rückstände der Entgasung quantitativ verbrannt. Auf diese Weise ist es möglich, zwischen den vergasbaren Anteilen einer Substanz und dem Rückstand zu unterscheiden. Die Verbrennung dauert etwa 90 sec.

F. Salzer (Marl) verbrennt die Substanz im leeren Rohr und absorbiert die Verbrennungsgase in Pregl'schen Absorptionsröhrchen. Diese Art der Verbrennungsanalyse ist trotz Programmregler des Kurzbreiters für die verschiedensten Stoffe keine vollkommene

Automatisierung, wie sie z. B. von Malissa angestrebt wird. Die Methode verspricht durch Ausschaltung jeglicher subjektiven Beeinflussung bei der Verbrennung aber eine exakte und universelle Arbeitsweise. Voraussetzung ist eine ausreichende Feuchtigkeits- und Temperaturkonstanz, wobei die Luftfeuchtigkeit möglichst niedrig zu halten ist.

A. Götz (Knapsak) berichtete über eine Verkürzung der Analysendauer bei der Sauerstoff-Bestimmung nach Schülze-Zimmermann-Unterzaucher durch gaschromatographische Endbestimmung der mit Kohle bei 1120 °C umgesetzten Crackprodukte. Als Trägergas kann Argon oder auch Wasserstoff verwendet werden, wobei letzteres den Sauerstoff rascher von der Kohle desorbiert. Als stationäre Phase dient Aktivkohle (Bayer, Leverkusen), die Arbeitstemperatur beträgt 30 °C, ausgewertet wird durch Messung der Wärmeleitfähigkeit.

S. Gorbach (Frankfurt/M.-Höchst) schlug eine weitgehende Rationalisierung der Sauerstoff-Bestimmung durch automatische Titration vor. Das laufend gebildete Kohlendioxyd wird in eine Titrationszelle mit Bariumhydroxydlösung eingeleitet und die durch ausfallendes Bariumcarbonat eintretende Spannungsdifferenz durch Zugabe von frischem Bariumhydroxyd eliminiert. Der pH-Wert wird immer auf 11 gehalten. Auf diese Weise ist auch genau zu erkennen, wann die Verbrennung bzw. Austreibung der Pyrolyseprodukte beendet ist. Die Bariumhydroxydlösung wird mittels einer Motorburette zugepumpt, die über einen Photoregler gesteuert wird. Die Titrationszelle faßt 50 ml. Diese Art der Endbestimmung kann selbstverständlich auch auf eine reine Kohlendioxyd-Bestimmung, z. B. in Abwässern angewendet werden. Die Apparatur weist als weitere Neuerung eine Einführschleusengabel auf, mit der gleichzeitig eine Probe eingeführt und die zweite luftfrei gespült werden kann, so daß eine Umkehrspülung überflüssig wird.

M. Hermann (Frankfurt/M.-Höchst) erreicht durch Anwendung der Röntgenfluoreszenzanalyse eine Zeitersparnis bei der Bestimmung von Brom neben Chlor. Die Substanz wird mit Natriumperoxyd aufgeschlossen, in einem aliquoten Teil der Gesamtalogengehalt mit Silbernitrat bestimmt und im Rest der Bromgehalt röntgenographisch ermittelt.

H. Balczó (Wien) besprach die Fluorbestimmung in organischen Substanzen. Um eine Destillation zur Abtrennung störender Begleitungen wird man im Mikrobereich in keinem Falle herumkommen; die Destillation ohne Destillat stellt einen wesentlichen Fortschritt dar. Das Wasserdampf-Fluorwasserstoff-Gemisch wird bei solcher Temperatur durch einen Intensivabsorber geleitet, daß der Wasserdampf nicht mehr kondensieren kann, das Fluorid jedoch durch Komplexierung mit Aluminiumchloridlösung zurückgehalten wird. Die Endbestimmung kann dann kolorimetrisch mit Chromazurol S oder nach Belcher mit Alizarinkomplexon erfolgen. Auch kann der Fluoridgehalt durch Titration mit Thoriumnitrat rasch und relativ genau bestimmt werden.

W. Merz (Ludwigshafen/Rhein) führte substituierte Alanate zur mikroanalytischen Bestimmung von aktivem Wasserstoff ein. Das stärker und auch rascher als Methylmagnesiumjodid reagierende Lithiumaluminiumhydrid konnte sich trotz vieler Vorteile nicht allgemein durchsetzen, da Lithiumalanat nur in wenigen Lösungsmitteln, die zudem wegen ihres hohen Dampfdruckes für eine exakte Bestimmung ungeeignet sind, löslich ist. Ersetzt man jedoch ein oder mehrere H-Atome des Alanats durch eine Alkyl- bzw. Alkoxygruppe, so erhöht sich die Löslichkeit wesentlich. Insbes. das Natrium-aluminiumdiäthylidhydrid entspricht den Anfor-

¹⁾ W. Merz, Mikrochim. Acta, 1959, 640.

derungen, die an ein universell anwendbares Reagens gestellt werden müssen. Es ist in Kohlenwasserstoffen wie auch in stark polaren Lösungsmitteln gut löslich und reagiert bereits in der Kälte mit fast allen Substanzen mit aktivem H, ohne jedoch ein zu energisches Reduktionsmittel zu sein. Aus vergleichenden Analysen mit Methylmagnesiumjodid kann in manchen Fällen auf eine bestimmte Stellung oder auch sterische Hinderung der funktionellen Gruppe in der Molekel geschlossen werden. Die Genauigkeit der Methode beträgt 2 %. Die Erfassungsgrenze liegt bei etwa 0,05 % aktivem Wasserstoff. Als Apparat kann sowohl die von Roth als auch die von Soltys beschriebene Anordnung verwendet werden.

W. Schöniger (Basel) berichtete über die Mikro-Kolbenverbrennung. Die Substanz wird in aschefreies Filtrierpapier eingewickelt und aus einer Halterung aus Platin oder Quarz, die mit einem Schliffstopfen verbunden ist, befestigt. Das Filtrierpapier wird entzündet und der Schliffstopfen sofort in einen mit Sauerstoff gefüllten Erlenmeyer-Kolben eingesetzt. Die Verbrennungsprodukte werden in einer Vorlage absorbiert und anschließend direkt bestimmt. Bis jetzt lassen sich folgende Elemente quantitativ erfassen: F, Cl, Br, J, S, P, As, B, C, Hg, Zn, Mg, Cd und Se (allgemein alle Elemente, die bei der Verbrennung definierte saure oder basische Oxyde bilden). Auch zur Spurenbestimmung erwies sich die Methode als sehr geeignet, da jegliches Einschleppen von Ballastsalzen und dadurch auch Verunreinigung unterbleibt. Durch Zuschläge zur Substanz einwaage lassen sich auch schwer verbrennbare Substanzen aufschließen.

H. Simon und G. Müllhofer (München) entwickelten eine manometrische C—H-Bestimmung, die bes. für die Ultramikroanalyse eine wertvolle Bereicherung darstellt. Die ursprünglich zur Bestimmung von ^{14}C und Tritium²⁾ ausgearbeitete Methode ist für die normale Mikro-C—H-Bestimmung anwendbar und liefert bei Einwaagen von etwa 0,5 bis 25 mg sehr gute Werte. Die Substanz wird im geschlossenen Rohr unter Zugabe von Kaliumperchlorat und Kupferoxyd bei 850 °C verbrannt und anschließend das Kohlendioxyd und Wasser manometrisch gemessen. Die Apparatur ist wenig störänfällig, einfach zu bedienen und speziell für solche Laboratorien zweckmäßig, in denen nur wenige C—H-Analysen anfallen.

Chromatographische Methoden; Verteilung

Die Vorträge über chromatographische Verfahren in der organischen Chemie wurden durch G. Hesse, Erlangen, eingeleitet. An der Trennung der stereoisomeren α -Carotine wurden drei Stufen unterschieden: Die „Bereitstellung“ der Substanzen auf der Trennsäule durch vollständige Adsorption; ihre Trennung durch Nachwaschen mit einem Lösungsmittelgemisch, bei dem jeder Stoff nur teilweise sorbiert ist, und die vollständige Ablösung der getrennten Stoffe vom Träger. Meist läßt sich die Trennung mit einer einzigen Waschflüssigkeit nicht erreichen; man muß die Elutionskraft dann stufenweise oder kontinuierlich steigern. Lösungsmittel- und Adsorbensreihen erleichtern das Auffinden passender Bedingungen. Bei Adsorptionsmitteln, die durch Vorbeladung mit Wasser auf bestimmte Aktivitäten eingestellt sind, sollen Waschflüssigkeiten mit passendem Wassergehalt angewandt werden. Die Sorptionsanalyse wird nach anderen Gesichtspunkten programmiert, wenn Wasserstoffbindungen, Ionenaustausch, Verteilung, Bildung von Einschlußverbindungen oder Dialyse grundeliegen.

E. Hecker, München, berichtete über die Stofftrennung durch multiplikative Verteilung. Besondere Fortschritte gegenüber der ursprünglichen Craig'schen Methode brachte die Gegenstromausführung nach O'Keeffe. Bei dieser wird das Substanzgemisch kontinuierlich in der Mitte der Verteilungsbatterie aufgegeben. Beide Phasen werden gegeneinander bewegt. Verglichen mit der Craig-Verteilung sind hier nur 10 % und weniger Verteilungsschritte für gleiche Trennschärfe erforderlich.

H. Endres, München, untersuchte Polyamide als Sorptionsmittel. Polyhydroxyphenole, Chinone und Hydroxychinone werden vorwiegend durch Wasserstoff-Bindung an die Säureamidgruppen getrennt. Bei chinoiden Verbindungen ergibt sich eine Störung durch die freien Aminogruppen des Säulenmaterials, die in noch nicht endgültig geklärter Weise eine irreversible Reaktion eingehen. Sie wird vermieden, wenn man acetylierte Polyamide verwendet.

E. Stahl, Saarbrücken, behandelte die Dünnschichtchromatographie. Man löst mit ihr etwa die gleichen analytischen Aufgaben wie mit der Papierchromatographie, das Verfahren ist aber rascher (30–60 min) und um 1 bis 2 Zehnerpotenzen empfindlicher. Die Fläche der Flecken entspricht nicht den Mengen, aber durch Abschaben und Eluieren der belegten Bereiche mit nachfolgender colorimetrischer oder spektralphotometrischer Auswertung kann man zu guten quantitativen Näherungen (Genauigkeit

etwa $\pm 5\%$) kommen, wie K. Teicher, E. Mutschler und H. Rochelmeyer, Mainz, zeigten. Sie befaßten sich speziell mit der Anwendung auf Naturstoffgemische, z. B. Mutterkorn-, Opium- und Aloe-Extrakt und Digitalis-Tinktur.

Die Papierchromatographie kam mehrfach zu Wort. K. Schoenemann, G. Jeschek und K. Frommhold, Darmstadt, berichteten über die quantitative Trennung und Bestimmung von Zuckern und Zuckeralkoholen. Als gemeinsames Reagens wird ammoniakalische Silberlösung verwendet, ausgewertet wird photometrisch. F. Cramer, Darmstadt, kombinierte bei Oligonucleotiden die Papierchromatographie mit enzymatischen Methoden unter Verwendung von basisch substituiertem Trägermaterial. Durch Verwendung von Ecteola-Säulen konnte die Trennung von Polythymidylsäuren bis etwa zum Hexanucleotid auch präparativ erreicht werden. K. H. Lieser und E. Elias, Darmstadt, trennen und bestimmen ^{14}C -markierte Hexachlorcyclohexane auf dem Papierchromatogramm unter Anwendung eines 4π -Methan-Durchflußzählers; die Impulsraten wurden mit einem Schreiber registriert und die Radiogramme ausplanimetriert. Bei 500 μg eines Isomeren-gemisches mit einer Aktivität von ca. 1 μC war die Genauigkeit etwa $\pm 1\%$.

Über die trägerfreie kontinuierliche Trennung durch Elektrophorese berichtete K. Hannig, München. Sie eignet sich besonders für große Teilchen wie Viren, gelöste Faserproteine, Bakteriensuspensionen und Blutkörperchen, bei denen durch Adsorption an einem Trägermaterial erhebliche Störungen eintreten würden. Der Durchsatz erreichte bei Aminosäuren 1,5 g/Tag, bei Abbaupeptiden 2 g/Tag.

Gaschromatographie

Der gaschromatographische Teil hat bekräftigt, was schon in Edinburgh³⁾ klar geworden war: Die methodische Entwicklung der Gaschromatographie hat sich sehr verlangsamt, während ihre Anwendung sich immer rascher ausbreitet.

Der Plenarvortrag von A. I. M. Keulemans, Eindhoven, zeigte, inwieweit die gaschromatographische Methode allen billigerweise zu stellenden Anforderungen genügen kann und wo noch Wünsche offen bleiben. Die erreichbare Trennwirkung der Säulen ebenso wie die erzielbare Schnelligkeit der Analyse ist i. allg. ausreichend. Weniger befriedigend ist das quantitative Ergebnis, und zwar besonders bei Anordnungen, die Kapillarsäulen und Ionisationsdetektoren miteinander kombinieren. Dadurch kann wohl ein sehr hohes Trennvermögen bzw. eine kurze Analysenzeit erreicht werden, aber die quantitative Aussage ist noch ziemlich unzuverlässig und auch die Störungsanfälligkeit ist beträchtlich. Die Schwierigkeiten in quantitativer Hinsicht liegen vor allem in der Einführung kleiner Probemengen und der Linearität der Anzeige. Die überzogenen Kapillaren lassen sich noch nicht einigermaßen reproduzierbar herstellen und von den beiden Ionisationsdetektoren, Flammen- und Argon-Detektor, scheint der erste betriebssicherer zu sein, der zweite die größere Anzeigeempfindlichkeit zu haben.

Die qualitative Analyse mit Hilfe der Gaschromatographie ist i. allg. unbequem und häufig auch schwierig. Zur Erleichterung hat E. Kovats, Zürich, schon früher die Einführung von „Retentionsindices“ vorgeschlagen. Dabei wird die zu identifizierende Substanz auf eine Standardreihe, für welche die n-Alkane gewählt wurden, bezogen. Der Münchener Vortrag befaßte sich vor allem mit der Abhängigkeit der Retentionsindices verschiedener Versuchssubstanz-Klassen von der „Polarität“ der stationären Flüssigkeiten. Es wurde versucht, den Einfluß verschieden polarer stationärer Phasen auf den Retentionsindex einer Verbindung strukturell zu interpretieren.

Auf einer besonderen gaschromatographischen Diskussionssitzung wurden u. a. die Fragen der Temperaturprogrammierung und des Zusammenwirkens von festem Träger und stationärer Flüssigkeit bei der Trennung behandelt.

ERNST BAYER, K.-H. HUPE und H.-G. WITSCH, Karlsruhe: Präparative Gaschromatographie.

Über die Trennwirksamkeit dickerer Säulen (Dmr. 1–3 cm) herrschten bisher sehr unterschiedliche Auffassungen. Durch vergleichende systematische Untersuchungen sind nunmehr die Trennleistung von Säulen mit 1 bis 10 cm Durchmesser und die optimalen experimentellen und apparativen Bedingungen festgestellt worden. Die Bodenhöhen der präparativen Säulen liegen mit 2,0 bis 3,5 mm in der gleichen Größenordnung wie bei analytischen gepackten Säulen (HETP = 1 bis 3 mm). Die genannten Trennwirksamkeiten werden auch bei der Trennung von 1 bis 15 g Substanz erzielt. Bei der Trennung von noch größeren Mengen (bis 50 g an der 10 cm-Säule) sinkt die Trennwirksamkeit nur um etwa 25 % ab. — Die Bodenhöhe von 2,0 mm konnte bei den präparativen Säulen nicht unterschritten werden. Dies wird auf die „Rand-

²⁾ Vgl. H. Simon, H. Daniel u. J. F. Klebe, Angew. Chem. 71, 303 [1959].

³⁾ Vgl. Angew. Chem. 72, 527 [1960].

gängigkeit“ der Säulen zurückgeführt, die bei größeren Querschnitten nicht mehr durch Querdiffusion ausgeglichen werden kann und daher zu einem konkaven Strömungsprofil führt. Es wurden zwei Geräte zur präparativen Gaschromatographie angegeben. Die eine Apparatur ist zur Trennung von maximal 10 bis 20 g Substanzgemisch als Laboratoriumsgerät geeignet und mit einem vollautomatisch, durch den Schreiber gesteuerten, Fraktionssammler versehen. Die andere Apparatur ist zur Trennung von Mengen bis 120 g Substanzgemisch ausgelegt und erlaubt die cyclische Wiederholung des Trennprozesses.

ERNST BAYER und **LEONORE BÄSSLER**, Karlsruhe: *Systematische Identifizierung verdampfbarer organischer Substanzen*.

Am Beispiel der im Weinaroma enthaltenen Verbindungen wurde ein systematischer Arbeitsgang zur Analyse komplizierter Substanzgemische aufgezeigt. Während für Alkohole, Ketone, Aldehyde und Säuren die schon früher beschriebene Ausscheidungsanalyse⁴⁾ verwendet wurde, ließen sich die hauptsächlich für das Weinaroma verantwortlichen Ester durch Kombination von Gaschromatographie, Papierchromatographie und Infrarotspektroskopie identifizieren. Die Weinextrakte werden zunächst gaschromatographisch getrennt und aus den Infrarotspektren die Fraktionen, welche Ester enthalten, festgestellt. Aus dem Retentionsvolumen wird mittels Eichkurven aus der $\log V_R^{\text{Kohl}}$ -Kohlenstoffzahl-Beziehung die Gesamtkohlenstoffzahl der Ester ermittelt. Nach Spaltung der Ester mit Hydroxylamin und papierchromatographischer Trennung der Hydroxamsäure-eisen(III)-Komplexe kann aus dem R_F -Wert die Kohlenstoffzahl der Säurekomponente des Esters ermittelt und durch Subtraktion von der Gesamtkohlenstoffzahl die Alkoholkomponente festgelegt werden. Es lassen sich so Zusammenhänge zwischen Estergehalt und Geschmack von Weinen erhalten.

I. HALÁSZ und **G. SCHREYER**, Frankfurt/Main: *Trennleistung und Bodenzahl bei gaschromatographischen Analysen mit Kapillarkolonnen*.

Bei Verwendung von Kapillarkolonnen kann die Anzahl der stationären Phasen weitgehend eingeschränkt werden. So kann man z. B. m- und p-Xylol innerhalb von 23 min an Squalan als stationärer Phase trennen. An Hand von experimentellen und berechneten Daten von Kapillarkolonnen wurde die von *Purnell* abgeleitete Formel für die bei einer bestimmten Trennung nötige theoretische Bodenzahl diskutiert und gezeigt, daß man mit Hilfe einer einfachen Größe, des Trennwertes, wesentlich besser als mit der theoretischen Bodenzahl die Trennleistung einer Kolonne charakterisieren und auch die Möglichkeit einer gewünschten Trennung abschätzen kann. Der Trennwert wird als Verhältnis von Retentionszeit (vom Luft-Peak ab gemessen) zur Peak-Halbwertsbreite definiert.

I. HALÁSZ und **E. E. WEGNER**, Frankfurt/M.: *Aktives Aluminiumoxyd als Träger der flüssigen Phase in der Gaschromatographie*.

Aktives Aluminiumoxyd wurde sowohl mit polaren als auch mit unpolaren Flüssigkeiten imprägniert und auf seine Eignung bei der gaschromatographischen Analyse leichtsiedender Kohlenwasserstoffe untersucht. Flüssigkeit und aktiver Festkörper bilden eine neue Phase, deren Aktivität und Polarität sowohl von der Art und Behandlung des Al_2O_3 , als auch von Art und Menge der hinzugefügten Flüssigkeit abhängen. Die Eluierzeiten der Kohlenwasserstoffe auf dem Gaschromatogramm sind weitgehend symmetrisch. Da die Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Moleküle in einer aktiven stationären Phase größer als in einer reinen stationären Flüssigkeitsphase ist, kann man brauchbare Kohlenwasserstoffanalysen bereits mit Kolonnen von 2 bis 3 m Länge bewerkstelligen, was nicht nur wegen der resultierenden kurzen Analysenzeiten vorteilhaft ist. So ließen sich z. B. innerhalb von 6 min zehn Aliphaten vom Methan bis einschließlich der Butene trennen. Die Herstellung einer aktiven Kolonne nimmt höchstens 1 h in Anspruch, ihre Brauchbarkeit beträgt bei Feuchtigkeitsausschluß etwa 6 Wochen.

Spektroskopie

Die molekulspektroskopischen Vorträge wurden durch einen Plenarvortrag von **H. Dannenberg**, München, eingeleitet, in dem die Anwendung der physikalischen und chemischen Analysemethoden auf die Strukturaufklärung unbekannter Substanzen, vor allem von Naturstoffen demonstriert wurde. In vielen Fällen liefern die Absorptionsspektren unbekannter, in definierte Derivate umgewandelter Proben wertvolle Hinweise oder schlüssige Alternativen, die aus der Auswertung der unveränderten Spektren allein nicht zu gewinnen wären.

⁴⁾ E. Bayer, G. Kupfer u. K.-H. Reuther, Z. analyt. Chem. 164, 1 [1958].

Die massenspektroskopische Bestimmung des Molekulargewichts und der Struktur von Fettsäuren, ihren Estern sowie von Aminosäuren und Peptiden wurde von **E. Stenhagen**, Göteborg, bearbeitet (Vortrag verlesen durch **F. Weygand**). Aus dem Molekulargewicht und der Intensität der Bruchstücke läßt sich — in Analogie zu den Massenspektren verwandter Produkte — auf Art und Lage von funktionellen Gruppen und Verzweigungen schließen. Die schwer flüchtigen Aminosäuren und Peptide wurden als N-Trifluoracetyl-Verbindungen untersucht, die einen selbst für gaschromatographische Untersuchungen ausreichenden Dampfdruck und hinreichende Stabilität besitzen; überhaupt eröffnet die Überführung schwer flüchtiger, insbesondere polarer Verbindungen in Derivate mit niederem Dampfdruck, z. B. auch durch Verätherung oder Veresterung von Hydroxylgruppen der Massenspektroskopie zahlreiche neue Anwendungsgebiete.

Über IR- und UV-Chromatographie berichteten **G. Bergmann**, **Helga Spieker** und **F. Zöhrer**. Die Trennung von Isomeren- und Homologengemischen durch Säulenchromatographie läßt sich in vielen Fällen mit der unmittelbaren spektralphotometrischen qualitativen und quantitativen Analyse des Eluats in einer Durchflußküvette kombinieren. Dadurch wird sowohl die Trennschärfe des chromatographischen Prozesses wie auch die Selektivität der Spektralphotometrie voll ausgenutzt. An Phenolhomologen- und Aromatengemischen wurden verschiedene differentielle und integrale Auswertmethoden erprobt, bei denen durch Wahl geeigneter Meßpunkte innerhalb der Absorptionsspektren sowohl Spurenanalysen, z. B. in Abwässern, als auch Analysenvorschriften für hochkonzentrierte Lösungen erarbeitet werden konnten. Durch ein automatisches Analogrechenverfahren⁵⁾ in unmittelbarer Kopplung mit dem Spektralphotometer als Meßwertgeber können nicht oder nur teilweise aufgetrennte Fraktionen ebenso analysiert werden wie Reinkomponenten.

Quantitative infrarotspektroskopische Analysen von Isomeren in Kautschuktypen wurden von **W. Kimmer** und **E. O. Schmalz**, Merseburg, ausgeführt. Die Analyse unlöslicher oder nur quellfähiger Proben bereitet wegen der unsicheren Schichtdickenbestimmung besondere Schwierigkeiten bei der IR-Analyse. Es wurde ein Rechenverfahren angegeben, nach dem aus der Untersuchung von Eichproben bekannten Gehalts auf die Konzentration der Isomeren in Zwei- und Dreistoffsystemen geschlossen werden kann, ohne daß die Schichtdicke der untersuchten Proben jeweils bestimmt werden muß.

S. Läufer und **F. Lingens**, Rheinfelden, berichteten über die Struktur von Kondensationsprodukten von Aminen mit Carbonylverbindungen. Aus aromatischen Aminen und Glykolaldehyd entstehen nicht *Schiffsche* Basen, sondern 2,5-substituierte Dioxanderivate, wie sich aus den IR-Absorptionsspektren und aus Molekulargewichtsbestimmungen nachweisen läßt. Mit Methoxyacetaldehyd erhält man ebenfalls keine *Schiffschen* Basen, sondern Enamine. UV-Absorptionsspektren wurden zum Beweis herangezogen, wobei die fehlende Konjugation der C=C-Bindung die C=N-Struktur auszuschließen gestattet.

S. Läufer berichtete ferner über die IR-Spektren von Purinkörpern im KBr-Bereich. Gesetzmäßigkeiten für Bandenverschiebungen durch Substitution wurden angegeben. Die geringe Zahl von Absorptionsbanden im untersuchten Gebiet läßt eine relativ zuverlässige Beobachtung und Interpretation zu. Insbesondere wurde die Änderung der Spektren beim Übergang von Lactam- zu Lactimformen studiert. Während 6-substituierte Purine — wie der Grundkörper — zwischen 670 und 600 cm^{-1} absorbieren, zeigen Lactam-Strukturen — ohne aromatisches System — keine Absorption in diesem Bereich. Dafür tritt in den meisten Fällen eine starke Absorption bei 500 cm^{-1} auf, mit deren Hilfe eine Zuordnung möglich wird.

R. Mecke und **M. Kuhn**, Freiburg i. Br., haben durch IR-spektroskopische Untersuchungen die Existenz des 1,2,3,4-Thiatriazolringsystems nachgewiesen, das — als 5-Aminoderivat — aus Thiosemicarbazid und HNO_2 entsteht und unter Stickstoffabspaltung in saurem Medium in das Hydrochlorid des Formamidiniumdisulfids übergeht. Aus Semicarbazid entsteht im Gegensatz zum Thiosemicarbazid das Carbaminsäureazid. Die Untersuchungen wurden ergänzt und gestützt durch Kernresonanzmessungen von **G. Englert** an Derivaten des Thiatriazols sowie einiger anderer Derivate.

Ein interessantes Beispiel für die einander ergänzende Anwendung der IR- und Kernresonanz-Spektroskopie bei der Aufklärung von Reaktionsmechanismen gab **V. Franzen**, Heidelberg. Bei der Abspaltung von Protonen aus Triäthylsulfoniumbromid (I) mittels Triphenylmethylnatrium entstehen durch Zerfall des intermediär gebildeten Ylids Äthen und Diäthylsulfid neben Triphenylmethan. Durch quantitative infrarotspektroskopische Analyse des beim Zerfall von α -perdeuteriertem I gebildeten H- oder D-Triphenyl-

⁵⁾ Vgl. Angew. Chem. 72, 462 [1960].

methans wurde nachgewiesen, daß sich der Angriff der Base an den α -C-Atomen zu dem an den Methylgruppen wie 3:1 verhält. Die quantitative IR-Analyse war hier der Kernresonanzspektroskopie erheblich überlegen. Dagegen konnte der Zerfallsmechanismus des Ylids einwandfrei durch Untersuchung der Protonenresonanz geklärt werden. Als Zerfallsprodukt wurde Diäthylsulfid mit α -ständigem Wasserstoff gefunden, das nur durch α' - β -Eliminierung unter gleichzeitiger Bildung von 1.1-Dideutero-äthen entstanden sein kann. Zum Beweis wird die Aufspaltung der Resonanzlinien der Methylgruppe unter dem Einfluß des Protons der benachbarten CHD-Gruppe angeführt. Unmittelbarer Carben-Zerfall, der zu Deuteroäthen und Diäthylsulfid ohne H-Atom am α -C führen müßte, konnte nicht in nennenswertem Umfang beobachtet werden.

Die Strukturbestimmung von 7-substituierten Cycloheptatrien-Derivaten, die aus Tropyliumbromid dargestellt wurden, ist kernresonanzspektroskopisch möglich, wie W. Weitkamp, Birlinghoven, zeigte. Durch Vergleich mit Alkylierungsprodukten, die auf verschiedenen Wegen erzeugt wurden, ließ sich der Strukturbeisweis führen. Hierzu wurden insbesondere die Linienaufsplattungen unter dem Einfluß benachbarter Protonen und das Intensitätsverhältnis der Multiplcttkomponenten herangezogen.

Verschiedene Methoden

G. KRESZE und V. SCHMIDT, Berlin: Anwendung von Trifluoressigsäure bei der Analyse von Aminosäuren und Peptiden.

Die von F. Weygand in die Peptidechemie eingeführte Trifluoressigsäure läßt sich auch für analytische Aufgaben verwenden. Äquivalenzgewichte können durch potentiometrische Titration von Aminosäuren in Trifluoressigsäure bestimmt werden. Die Verfolgung der Hydrolyse von N-Trifluoracetylaminosäuren und Peptiden ist durch Leitfähigkeitsmessungen möglich. Die Anzahl der Aminosäuren in einer Peptidkette kann durch Messung des Intensitätsverhältnisses $\nu(\text{CF})/\nu(\text{Amid I})$ der IR-Banden ihrer N-Trifluoracetyl-Derivate bestimmt werden.

H. HARTMANN, J. HEIDBERG, J. HEINTGES und H. JUNG, Frankfurt/Main: Analytische Probleme bei Untersuchungen über die Kinetik der Spaltung niedermolekularer Peptide.

Bei Untersuchungen über die Kinetik der Hydrolyse niedermolekularer Peptide ist die quantitative Erfassung einer gewissen, sich aus den Zeitgesetzen und der Stöchiometrie der Reaktion ergebenden Mindestanzahl von Hydrolyseprodukten als Funktion der Zeit notwendig. Wegen der Unspezifität der Analysemethoden für Peptidbausteine müssen die Hydrolyseprodukte vor ihrer quantitativen Bestimmung getrennt werden. Die Hochspannungs-Zonenelektrophorese und die Papierchromatographie zur Trennung sowie die Radioaktivität markierter Peptide zur quantitativen Erfassung der Hydrolyseprodukte erfüllen weitgehend die Forderung, daß während der Analyse keine weitere Hydrolyse eintritt. Über dies gestatten die Elektrophorese und die Chromatographie häufig den direkten Nachweis von Neben- und Zwischenverbindungen und in gewissem Umfang auch deren Strukturermittlung. Die Markierung der Peptide mit ^{14}C bietet den Vorteil einer weiteren effektiven Trennmöglichkeit sowie die Möglichkeit der quantitativen Erfassung von zunächst unbekannten Verbindungen (Depsipeptiden). Um die Peptide im Hinblick auf die Trennbarkeit ihrer Hydrolyseprodukte richtig zu indizieren, wurden zunächst Hydrolysate der inaktiven Peptide elektrophoresiert bzw. chromatographiert. Die Darstellung der ^{14}C -markierten Peptide gelang in guten Ausbeuten nach dem Anhydrid- bzw. Carboimidverfahren; ihre spezifische Aktivität wurde so eingestellt, daß bei hinreichenden Zählraten die Strahlungsselbstabsorption noch nicht ins Gewicht fiel.

Bei der Aufarbeitung der Hydrolysatlösungen für die elektrophoretische und chromatographische Trennung wurde beobachtet, daß bei der Lyophilisation verdünnt salzsaurer, mindestens $\sim 0,01$ m Serinepeptid-Lösungen — vermutlich wegen der tiefen eutektischen Temperatur des Systems Wasser-Chlorwasserstoff — eine N \rightarrow O-Peptidyl-Wanderung und eine teilweise Kondensation zu Depsipeptiden stattfinden. Bei der Trennung der Hydrolysate auf dem Pherographen nach Th. Wieland und G. Pfeleiderer im Pyridin-Essigsäure-Puffer ($\text{pH} = 3,2$) spalteten DL-Alanyl-DL-serin und DL-Alanyl-DL-alanin in Diastereomerenpaare auf.

Da die Aktivität wegen der geringen Härte der ^{14}C -Strahlung und der schwankenden Papierdicke nicht auf dem Papier gemessen werden konnte, wurden die Peptidbausteine mit bidestilliertem Wasser aus dem ausgewaschenen Papier eluiert, die Eluate nach Zusatz eines Netzmittels eingedampft und die Rückstände im fensterlosen 2 π -Methandurchflußzähler (FH 512) ausgezählt. Die Genauigkeit der quantitativen Relativbestimmung der Peptidbausteine betrug im Mittel etwa 3 %.

H. FASOLD und G. TURBA, Würzburg: Spaltung von Dinitrophenylaminosäuren.

Die Rückspaltung der bei der Endgruppenbestimmung von Proteinen nach Sanger anfallenden Dinitrophenylaminosäuren gelingt durch Hydrierung der Substanzen mit Platin in Methanol und Einwirkung von Eisessig (ca. 4 min) bei Zimmertemperatur nach Verdampfen des Methanols im Vakuum. Die Dauer der sauren Spaltung ist möglichst kurz zu halten, der Eisessig wird im Vakuum verdampft. Zur Ausbeutemessung wurden die Aminosäuren papierchromatographiert und der Ninhydrinfleck in einem Extinktionschreiber ausgemessen. Ausgewertet wurde an Hand von Eichkurven der Aminosäuren im Bereich von 0,5–2,0 γ . In diesen Grenzen ist die Eichkurve linear und reproduzierbar. Das schonende Verfahren läßt sich auch auf Peptide anwenden, als Beispiel wurde DNP-Leu-gly-gly-gly mit 47,5 % Ausbeute gespalten. Bei den Aminosäuren stehen einer Gruppe von 14 Aminosäuren mit 60 bis 89 % Ausbeute die drei basischen und das Methioninsulfon mit etwa 35–40 % Ausbeute gegenüber. Als zweites Bruchstück bei der Spaltung ließ sich ein aromatisches Amin durch Diazotierung und Kupplung mit α -Naphthol als roter Farbstoff nachweisen. Auf den Papierchromatogrammen war es stets völlig von den Aminosäuren abgetrennt.

A. NIEMANN, Hannover: Über die Hydrolyse der Peptidbindung.

Eine vereinfachte Anwendung der Methode von Stein und Moore zur Trennung von freien Aminosäuren und Zuckern aus Pflanzensäften mit Hilfe der Kationenaustauscher Lewatit S 100 oder Dowex 50 führte zur näheren Untersuchung des Temperatureinflusses bei Adsorption und Elution der Aminosäuren am Austauscher. Die Säureamide Glutamin und Asparagin wurden am wasserstoffbeladenen, neutral gewaschenen Austauscher z. B. bei 70 °C bereits nach 2 h in die Aminosäuren überführt. Für die gleiche Hydrolyse im geschlossenen Rohr war 4 bis 5 n Salzsäure erforderlich. Ähnlich wurde auch die Spaltung der Peptide Glycylglycin, Glycylleucin und Leucylglycin untersucht, die nach anderen Autoren mit 1 n Salzsäure im Verhältnis 1:4:7 hydrolysiert werden, während bei der Spaltung am Austauscher ein Verhältnis von 1:2:2,5 gefunden wurde. Orientierende Versuche mit Glutathion und Diglycylglycin zeigten ebenfalls, daß bei der Hydrolyse am Austauscher die Festigkeit der Peptidbindung unterschiedlich beeinflusst wird.

G. R. SCHULTZE und W. IRION, Hannover: Polarographische Bestimmung von Schwefel und schwefelhaltigen Verbindungen in Erdöl und Erdölprodukten sowie von metallischem Abrieb in Alölen.

An Modellschubstanzen der Molekeltypen, die in Erdölen vorkommen, wurde die Polarographierbarkeit von elementarem Schwefel, Polysulfiden, Mercaptanen, Sulfiden, Disulfiden und Thiophenen in verschiedenen Lösungsmittelgemischen untersucht. Die quantitative Bestimmung gelingt bei Einhaltung bestimmter experimenteller Bedingungen. Nur die Thiophene lassen kein „Abscheidungspotential“ erkennen, doch können hier die von W. Lamprecht gefundenen „Wasserstoffwellen“ als Folge der Bildung von Kobalt(II)-Komplexen womöglich weiterhelfen.

Eine Methode zur polarographischen Bestimmung von Abriebmetallen in gebrauchten Alölen, die mit F. Menzinger entwickelt wurde, gestattet nach Veraschung und Aufschließung der Asche die quantitative Analyse sämtlicher Abriebsmetalle nebeneinander.

R. KÖDDING, W. LAMPRECHT, H. P. WOLFF, J. KARL und K. R. KOCZOREK, München: Bestimmung von Corticosteroiden im Blut durch Doppelmarmierung und Messung von ^{14}C und ^3H in der Gasphase.

Zur Verdünnungsanalyse wird dem Plasma das zu bestimmende Corticosteroid als 4- ^{14}C -Steroid zugesetzt. Das Plasma wird durch hochtouriges Rühren dreimal mit dem doppelten Volumen Chloroform extrahiert. An einer Silicagelsäule (3 g) trennt man die Lipide und schwach polaren Steroide ab. Die Corticosteroide werden papierchromatographisch im System Benzol-Methanol-Wasser (2:1:1) getrennt und durch UV-Kontaktphotographie und mit dem Radio-papierchromatographen fixiert. Das Eluat des Steroids wird eingedampft und mit 0,01 ml ^3H -Essigsäureanhydrid in 1- oder 10-proz. Lösung in absolutem Benzol acetyliert. Man reinigt das Steroidacetat durch zweimalige Papierchromatographie im System Cyclohexan-Benzol-Methanol-Wasser (4:2:4:1). Analysiert werden die 21-Monoacetate, beim Aldosteron das 18-21-Diacetat (innere Halbacetalbildung). Untersuchungen der Acetylierung haben gezeigt, daß die Gleichgewichtskonstanten bei Corticosteron, Cortisol und Aldosteron sehr verschieden sind. Um einerseits eine quantitative Acetylierung zu erzielen und andererseits die Bildung von Di- und Triacetaten von Corticosteron und Cortisol zu vermeiden, ist eine genaue Dosierung des Überschusses an ^3H -Acetanhydrid wesentlich. Zu diesem Zweck scheint die Vortrennung der

Corticosteroide unerlässlich, zumal ihre Konzentration im Plasma teilweise sehr unterschiedlich ist (z. B. Cortisol:Aldosteron 400:1). Das Eluat des Steroidacetates wird eingedampft und mit KClO_4 im Bombenrohr verbrannt. $^{14}\text{CO}_2$ und $^3\text{H}_2\text{O}$ werden in einer Vakuumapparatur nach H. Simon durch fraktioniertes Ausfrieren getrennt und — letzteres nach Reduktion mit amalgamiertem Zink zu $^3\text{H}_2$ — im Gaszählrohr gemessen. Die Impulsrate von ^3H gibt die Steroidmenge, die von ^{14}C die Verluste der gesamten Isolierung an. Die Methode ist prinzipiell für alle Corticosteroide — auch nebeneinander — anwendbar. Die untere Nachweisgrenze beträgt ca. 0,005 γ .

G. SCHÄFER, W. LAMPRECHT und K. STUHL-FAUTH, München: Nachweis und Verteilung von Sulfanilylharnstoff in Zellstrukturen und Autoradiographie von Gewebeschnitten mit dem tritiierten oralen Antidiabetikum.

Durch Analyse von Gewebehomogenaten mit dem oralen Antidiabetikum N-Butyl-N'-sulfanilylharnstoff (SuH) belasteter Ratten wird gezeigt, daß eine Anreicherung der Substanz in allen Geweben (außer Gehirn) 6 bis 8 h nach Applikation eintritt. Den Maxima der Anreicherung folgt ein relativ sehr rascher Abfall der Gewebekonzentration, die Ausscheidung im Urin läuft damit parallel. Ein Vergleich der Blutspiegel einerseits und des Gewebegehaltes andererseits zwischen normalen und hungernden Ratten ergab, daß SuH in den intracellulären Raum eindringt. Auch in Mitochondrien der Leber findet sich SuH. Appliziert man in o-Stellung zur NH_2 -Gruppe mit ^3H markiertes SuH (aus markierter Sulfanilsäure synthetisiert), so läßt sich die intracelluläre Lokalisation durch Autoradiographie von Gewebeschnitten unter Verwendung von „stripping emulsions“ sichtbar machen. Die Autoradiographien von Leber-, Pankreas- und Muskelschnitten zeigen eine gleichmäßige statistische Verteilung über die Gewebe, eine Anreicherung in bestimmten Zellen findet nicht statt. Obwohl eine nachweisbare pankreas-stimulierende Wirkung des SuH auf die Insulin-Ausschüttung vorliegt, findet sich im Pankreasgewebe kein relativ höherer SuH-Gehalt. Besonders geschwärzt erscheinen im Leberschnitt einzelne Gallengänge, was auf einen Eintritt des Pharmakons in den enterohepatischen Kreislauf schließen läßt.

W. LAMPRECHT, S. GUDBJARNASON und H. KATZLMEIER, München: Polarographie niedermolekularer SH- und -S-S-Verbindungen. Messung und Differenzierung katalytischer Wasserstoffwellen.

Bei der Polarographie katalytisch wirksamer Verbindungen in ammoniakalisch gepufferter Kobaltsalzlösung hat man zwischen drei charakteristischen Kurvenbildern zu unterscheiden:

- Katalytische Wasserstoff-Weller („Cystein-Welle“)
- Katalytische Wasserstoff-Stufen und
- Katalytische Wasserstoff-Kurven.

Jedem Kurvenzug ist eine definierte Molekülgruppierung zugeordnet.

Katalytische Wasserstoffwellen liefern nicht nur Cystein oder Cystin, wie bisher angenommen wurde, sie entstehen immer dann, wenn Thiole oder Disulfide im Molekül in Nachbarschaft Carboxylgruppen tragen, Komplexbildungsvermögen vorausgesetzt. Ebenso treten bei Hydroxyaldehyden, Hydroxyketonen oder bei Verbindungen zwischen Sulfhydrylgruppen und p-Chlormercuribenzoat katalytische Wasserstoffwellen auf.

Katalytische Wasserstoffstufen liefern Verbindungen, in denen Sulfhydryl- oder Disulfidgruppen zu NH_2 - oder NH -Gruppen benachbart sind. Katalytische Wasserstoffkurven bilden Sulfhydryl- oder Disulfidgruppen tragende Verbindungen, in denen keine anderen funktionellen Gruppen in unmittelbarer Nachbarschaft stehen. Keine katalytischen Effekte auf die Wasserstoffionen-Reduktion haben aliphatische Aldehyde, Ketone, Schiffische Basen, aliphatische Fettsäuren, α - und β -Hydroxyfettsäuren oder Ketosäuren und Thioester.

Reduziertes Glutathion besitzt keine „Cysteinwelle“; auch das Tripeptid reagiert polarographisch nicht als Sulfhydrylverbindung. Reduziertes Glutathion erleidet in Ammoniakpuffer bei etwa $\text{pH} = 10$ unter Wasserabspaltung einen intramolekularen Ring-schluß zum Thiazolin; polarographisch ergibt sich eine katalytische Wasserstoffkurve. Die katalytische Wirksamkeit von oxydiertem Glutathion und Cystinylglycin wird durch die Raumkonfiguration des Moleküls erklärt (katalytische Wasserstoffwelle). Eine unmittelbare Nachbarschaft von Carboxylgruppen und Disulfidgruppen und damit die Möglichkeit zur Komplexbildung mit Co^{2+} ergibt sich aus einem Raummodell, in dem das eine Glutathion-Molekül in der Papierebene liegt, das andere senkrecht dazu steht.

Katalytisch wirksam sind nur solche Verbindungen, die zur Komplexbildung mit Co^{2+} befähigt sind. Die verschiedenen Komplextypen sind — an der Grenzfläche des Quecksilbertropfens ad-

sorbiert — die eigentlichen Katalysatoren, welche die bei der Wasserstoff-Abscheidung auftretenden Ströme mehr oder weniger stark erhöhen.

W. LAMPRECHT und H. KATZLMEIER, München: Polarographie schwefelhaltiger Proteine.

An zahlreichen Beispielen, insbesondere kristallisierten Enzymen, wurde gezeigt, daß nur schwefelhaltige Proteine katalytische Wasserstoffwellen geben. Von den in der Literatur beschriebenen Doppelstufen mit Proteinen besitzt nur die im negativeren Potentialbereich liegende Welle die eigentliche katalytische Funktion. Die erste Vorwelle von Proteinen verschwindet, wenn man bei 0 °C mißt. In Proteinen sind nur Disulfidgruppen katalytisch wirksam. Sog. „reine Sulfhydryl-Enzyme“ haben keinen katalytischen Effekt. Typische „SH-Enzyme“ können jedoch polarographisch als p-Chlormercuribenzoat-Komplexe gemessen werden. Durch Zusatz von Harnstoff gelingt es, zwischen maskierten und freien Sulfhydryl- oder Disulfidgruppen an Enzymen zu differenzieren. „Reine“ Sulfhydryl-Proteine sind: Lactat-Dehydrogenase, Leber-Alkoholdehydrogenase, Glutaminsäure-Dehydrogenase, Katalase, Pyruvatkinase; Disulfid-Proteine: Aldolase, Trypsin, Chymotrypsin, Insulin, Peroxydase, Myokinase, Phosphoglycerat-Kinase; gemischte Sulfhydryl-Disulfid-Proteine: Phosphoglycerinaldehyd-Dehydrogenase, Hefe-Alkoholdehydrogenase, Enolase, Zwischenferment.

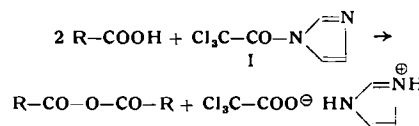
[VB 413]

Max-Planck-Institut für medizinische Forschung Heidelberg

am 16. Januar 1961

H. A. STAAB, Heidelberg: Synthesen mit heterocyclischen Amidin¹⁾.

Carbonsäureanhydride werden erhalten, wenn man die freien Carbonsäuren bei Raumtemperatur im Molverhältnis 2:1 in Tetrahydrofuran mit N-Trichloracetyl-imidazol (I) umsetzt. Es entstehen ausschließlich die symmetrischen Anhydride (z. B. Benzoesäureanhydrid 81 %, Phthalsäureanhydrid 89 % Ausb.) bei gleichzeitiger Bildung des Imidazolium-Salzes der Trichloressigsäure, das in Tetrahydrofuran unlöslich ist und ausfällt:



I (Fp = 38,5–40 °C) entsteht bei Raumtemperatur aus N,N'-Carbonyldimidazol (II) und Chloressigsäure (72 % Ausb.) oder aus Imidazol und Trichloracetyl-chlorid (77 % Ausb.) oder Trichloressigsäure-anhydrid (82 % Ausb.) in Tetrahydrofuran. Die Anhydrid-Synthese kann man auch mit N-Trifluoracetyl-imidazol²⁾ ausführen, das auch Trifluoressigsäure zum Trifluoressigsäureanhydrid zu acylieren vermag. Normale aliphatische und aromatische Imidazolidine reagieren unter den angegebenen Bedingungen nicht mit Carbonsäuren zu Anhydriden. Nur Maleinsäure und Phthalsäure bilden über die Mono-imidazolidine in stark exothermer Reaktion die entsprechenden Anhydride mit praktisch quantitativer Ausbeute, wenn man die Säuren bei Raumtemperatur in Tetrahydrofuran mit II umsetzt.

Ameisensäure reagiert mit II bei Raumtemperatur zu N-Formyl-imidazol (III, Fp = 55 °C, Ausb. 85 %). III ist ein äußerst wirksames Formylierungsmittel, das bei Raumtemperatur Alkohole und Amine in guten Ausbeuten ohne Nebenreaktionen formyliert. III wird in Tetrahydrofuran/Wasser (1:1) bei 20 °C mit einer Halbwertszeit von nur 3,6 min hydrolysiert. III zersetzt sich beim Erhitzen quantitativ in Imidazol und Kohlenmonoxyd. Ähnlich verhalten sich die N-Formyl-Derivate des Benzimidazols und Benztriazols.

Imidazolidine aliphatischer und aromatischer Carbonsäuren reagieren mit Grignard-Verbindungen bei Raumtemperatur im Molverhältnis 1:1 zu Ketonen, wobei die Carbinol-Bildung im Gegensatz zu entsprechenden Umsetzungen anderer Carbonsäure-Derivate völlig zurücktritt; sie lassen sich ferner bei –20 °C mit LiAlH_4 in guten Ausbeuten zu Aldehyden reduzieren. Diese Reaktion ist auch auf Imidazolidine von Polycarbonsäuren übertragbar, z. B. auf Vitamin-A-säure-imidazolid (Fp = 112 °C, aus Vitamin-A-säure und II bei 20 °C in 85 % Ausb.), das zu Retinin reduziert wurde.

¹⁾ Siehe auch a) H. A. Staab u. K. Wendel, Angew. Chem. 73, 26 [1961]; b) H. A. Staab u. W. Benz, Angew. Chem. 73, 66 [1961]; c) H. A. Staab, W. Rohr u. A. Mannschreck, Angew. Chem. 73, 143 [1961].

²⁾ H. A. Staab u. G. Walther, Angew. Chem. 72, 35 [1960].